



الجمهورية العربية السورية

جامعة دمشق

كلية الهندسة الزراعية

قسم الإنتاج الحيواني

**التنوع الوراثي والتعبير المورثي
لبعض المورثات المرتبطة بالإجهاد الحراري عند الدجاج المحلي**

**Genetic diversity and gene expressions
of some heat stress gene in local poultry**

رسالة أُعدت لاستكمال مستلزمات الحصول على درجة الدكتوراه

في العلوم الزراعية-الإنتاج الحيواني

(تقانات حيوية)

المهندسة الزراعية

فاديا محمد شكري خليل

المشرف المشارك

د. سلام لاوند

كلية الزراعة-جامعة دمشق

المشرف العلمي

أ. د. موسى عبود

كلية الزراعة-جامعة دمشق

دمشق، 2019م-1440هـ

المحتويات

٣	فهرس الجداول
٤	فهرس الأشكال
٥	فهرس الاختصارات والمصطلحات المستخدمة في الرسالة
٧	ملخص البحث باللغة العربية
١١	الفصل الأول المقدمة
١٥	الفصل الثاني الدراسة المرجعية
١٦	١- واقع وآفاق تطور الدواجن في سورية
١٨	٢- أهمية الدجاج المحلي
٢١	٣- خصائص المصادر الوراثية
٢٢	٤- التنوع الوراثي Genetic diversity
٤٠	٥- الإجهاد الحراري:
٤٩	الفصل الثالث مبررات البحث وأهدافه
٥٢	الفصل الرابع مواد البحث وطرائقه
٥٣	١- مكان تنفيذ البحث:
٥٣	٢- دراسة التنوع الوراثي
٦٠	٣- دراسة التعبير المورثي لمورثتي الإجهاد الحراري HSP٩٠ – HSP٧٠
٦٨	الفصل الخامس النتائج والمناقشة
٦٩	١- التباين الوراثي بين مجموعات الدجاج المحلي وهجين أمات دجاج البيض HN:
٧٣	٢- التباين الوراثي ضمن مجموعة الدجاج المحلي الرزي R وهجين أمات دجاج البيض HN:
٨٠	٣- التباين الوراثي ضمن مجموعة الدجاج المحلي بني اللون Br وهجين أمات دجاج البيض HN:
٨٧	٤- التباين الوراثي ضمن مجموعة الدجاج المحلي أسود اللون B وهجين أمات دجاج البيض HN:
٩٦	٥- التعبير المورثي لمورثتي بروتينات الصدمة الحرارية:
٩٦	١-٥ - مقارنة التعبير المورثي لمورثتي بروتين الصدمة الحرارية HSP٩٠ و HSP٧٠ عند الدجاج المحلي الرزي والأسود اللون مع أمات دجاج البيض المستورد HN:
١٠١	٢-٥ - مقارنة التعبير المورثي لمورثتي بروتين الصدمة الحرارية HSP٩٠ و HSP٧٠ عند الدجاج المحلي مريش الأرجل وغير مريش الأرجل:
١٠٣	٣-٥ - مقارنة التعبير المورثي لمورثتي بروتين الصدمة الحرارية HSP٩٠ و HSP٧٠ عند ذكور وإناث الدجاج المحلي:
١٠٥	الاستنتاجات والمقترحات
١٠٩	المراجع
١٢٩	ملخص البحث باللغة الأجنبية

فهرس الجداول

رقم الصفحة	الجدول	رقم الجدول
------------	--------	------------

17	تطور أعداد المداجن في سورية وإنتاجيتها من صيصان الفروج والبيض وتطور أعداد الدجاج المحلي السوري	1
57	التسلسل النكليوتيدي ودرجة حرارة البادئات المستخدمة في تقنية ISSR	2
64	البادئات التي استُخدمت في دراسة الإجهاد الحراري used for qRT-PCR	3
65	مكونات تفاعل الـ Real Time PCR	4
69	التعددية الشكلية الناتجة عن تطبيق تقنية ISSR على مجموعات الدجاج المحلي ومجموعة HN	5
71	مصفوفة النسب المنوية للتوافق (PAV) للمجموعات المدروسة الأربعة	6
73	التعددية الشكلية الناتجة عن تطبيق تقنية ISSR على مجموعة الدجاج المحلي الرزي وهجين أمات دجاج البيض HN	7
75	عدد الحزم الفريدة الموجودة والغائبة لمجموعة الطرز الوراثية من الرزي وهجين أمات دجاج البيض HN	8
76	عدد الحزم الفريدة الكلية لكل بادئ لمجموعة الرزي و HN	9
77	مصفوفة النسب المنوية للتوافق (PAV) للدجاج المحلي الرزي والخلط HN	10
80	التعددية الشكلية الناتجة عن تطبيق تقنية ISSR على مجموعة الدجاج المحلي البني اللون و HN	11
82	عدد الحزم الفريدة الموجودة والغائبة لمجموعة الطرز الوراثية من البني وأما دجاج البيض HN	12
83	عدد الحزم الفريدة الكلية لكل بادئ لمجموعة البني و HN	13
84	مصفوفة النسب المنوية للتوافق (PAV) لمجموعة الطيور المحلية البنية اللون و HN	14
88	التعددية الشكلية الناتجة عن تطبيق تقنية ISSR على مجموعة الدجاج المحلي الأسود اللون وهجين أمات دجاج البيض HN	15
89	عدد الحزم الفريدة الكلية لكل بادئ لمجموعة الدجاج المحلي الأسود اللون وهجين أمات دجاج البيض HN	16
90	عدد الحزم الفريدة لمجموعة الطرز الوراثية من الأسود وهجين أمات دجاج البيض HN	17
91	عدد الحزم الفريدة الموجودة والغائبة التي تميز الطيور المحلية السوداء عن HN	18
92	مصفوفة النسب المنوية للتوافق (PAV) لمجموعة الطيور المحلية السوداء اللون و HN	19
95	متوسط قيم PIC لمجموعات الدجاج المحلي السوري المدروسة	20

فهرس الأشكال

رقم الشكل	مضمون الشكل	رقم الصفحة
1	تباين الصفات الشكلية للدجاج المحلي	19
2	عينة DNA	55
3	جهاز التدوير الحراري PCR	56
4	جهاز الرحلان الكهربائي	58
5	الصيصان المدروسة	60
6	ظهور علامات الإجهاد على طيور المجموعات الثلاث	61
7	جهاز قياس الطيف الضوئي	63
8	جهاز Real Time PCR	65
9	شجرة القرابة الوراثية لمجموعات الطيور المحلية ومجموعة هجين أمات دجاج البيض HN	72
10	شجرة القرابة الوراثية لمجموعة الطيور المحلية الرزي و HN	79
11	شجرة القرابة الوراثية لمجموعة الطيور المحلية البنية اللون مع مجموعة HN	86
12	شجرة القرابة الوراثية لمجموعة الطيور المحلية السوداء اللون مع مجموعة HN	94
13	تعبير مورثات HSP90 و HSP70 عند الدجاج المحلي الأسود والرزي ومجموعة HN	97
14	تعبير مورثات HSP90 و HSP70 عند الدجاج المحلي مريش وغير مريش الأرجل	102
15	تعبير مورثات HSP90 و HSP70 عند ذكور وإناث الدجاج المحلي ومجموعة HN	104

فهرس الاختصارات والمصطلحات المستخدمة في الرسالة

الاختصار	المصطلح باللغة الإنكليزية	المصطلح باللغة العربية
B	local chicken black-color	الدجاج المحلي أسود
Br	local brown-colored chicken	الدجاج المحلي البني
cDNA	Complementary DNA	الحمض النووي الريبى منقوص الأكسجين المكمل
Ct	Cycle threshold	عتبة الحلقات
DNA	Deoxyribo Neuclic Acid	الحمض النووي الريبى منقوص الأكسجين
EDTA	Ethylenediaminetetra-acetic acid	مانع تخثر
HSF	Heat shock factor	عامل الصدمة الحرارية
HSP	Heat shock protein	بروتينات الصدمة الحرارية
ISSR	Inter simple sequence repeat	التكرارات البسيطة الترادفية الداخلية
mRNA	Messenger RNA	الحمض النووي الريبى الرسول
P	Primer	بادئ
PAV	Percent Agreement Values	مصفوفة النسب المتوية للتوافق
PCR	Polymerase chain reaction	تفاعل البلمرة المتسلسل
QTL	Quantitative trait Loci	مواقع الصفات الكمية
R	Local Chicken Rizi	الدجاج المحلي الرزى
RAPD	Randomly Amplified Polymorphic DNA	التضخيم العشوائى للـ DNA المختلف شكلياً
RNA	Ribo Nucleic Acid	الحمض النووي الريبى
RT PCR	Real time PCR	تفاعل البوليميراز المتسلسل فى الوقت الحقيقى
SSR	Simple sequence repeat	التتابع الدقيقة الترادفية

التنوع الوراثي والتعبير المورثي

لبعض المورثات المرتبطة بالإجهاد الحراري عند الدجاج المحلي

**Genetic diversity and gene expressions
of some heat stress gene in local poultry**

ملخص البحث باللغة العربية

تمت دراسة التنوع الوراثي بين وضمن ثلاثة أنماط ظاهرية من الدجاج المحلي (الرزى والبني والأسود)، والتي تم الحصول عليها من مناطق مختلفة من دمشق وريفها، بالمقارنة مع أمات دجاج إنتاج البيض من الهجين المستورد HN. أُجري تفاعل التسلسل البوليميرازي PCR باستخدام 11 بادئة من بادئات ISSR أعطت جميع بادئات ISSR منتجات تضخيم، وأثبتت فعاليتها في إظهار تعددية شكلية بين جميع الطرز المدروسة، حيث بلغت النسبة المئوية للتعددية الشكلية بين مجموعات الدجاج المحلي والهجين HN 96.15 %. وبلغت أعلى قيمة لمصفوفة النسب المئوية للتوافق PAV 0.78 بين مجموعة الهجين HN ومجموعة الطيور المحلية الرزى، أما أصغر قيمة فبلغت 0.49 بين مجموعة الهجين HN ومجموعة الطيور المحلية السوداء اللون. وانقسمت شجرة القرابة الوراثية إلى عنقودين وفقاً للأصل الجغرافي، حيث ضم العنقود الأول مجموعة الطيور المحلية الرزية ومجموعة الهجين HN بمسافة وراثية قدرها 12.00، وضم العنقود الثاني مجموعة الطيور المحلية البنية والسوداء اللون بمسافة وراثية أكبر قدرها 24.06.

عند مقارنة التباين الوراثي ضمن مجموعة الدجاج المحلي الرزى والهجين HN بلغت النسبة المئوية للتعددية الشكلية 94.57 %، وبلغت أعلى قيمة لـ PAV ضمن طرز HN 0.99، بينما بلغت أصغر قيمة لها 0.86، أما ضمن مجموعة الدجاج المحلي الرزى فقد بلغت أعلى قيمة لـ PAV 0.94، بينما بلغت أصغر قيمة لها 0.68، وانقسمت شجرة القرابة الوراثية إلى عنقودين وفقاً لشكل العرف، وعند مقارنة التباين الوراثي ضمن مجموعة الدجاج المحلي البني اللون والهجين HN بلغت النسبة المئوية للتعددية الشكلية 96.26 %، وبلغت أعلى قيمة لمصفوفة النسب المئوية للتوافق ضمن مجموعة الهجين HN 0.95، أما أدنى قيمة لها فكانت 0.84. أما ضمن مجموعة الطيور المحلية البنية اللون فقد بلغت أعلى قيمة لـ PAV 0.93، بينما كانت أدنى قيمة 0.48، وانقسمت شجرة القرابة الوراثية إلى عنقودين، ضم العنقود الأول مجموعة الهجين HN، بينما ضم العنقود الثاني الطيور المحلية البنية اللون.

عند مقارنة التباين الوراثي ضمن مجموعة الدجاج المحلي الأسود اللون والهجين HN بلغت النسبة المئوية للتعددية الشكلية 100 %، وبلغت أكبر قيمة لـ PAV ضمن مجموعة الهجين HN 0.94، أما أدنى قيمة لها فكانت 0.83، أما ضمن مجموعة الطيور المحلية سوداء اللون فقد بلغت أعلى قيمة لـ PAV 0.97، أما أدنى قيمة لها فبلغت 0.51، وقد انقسمت شجرة القرابة الوراثية إلى عنقودين، ضم العنقود الأول الطرازين الوراثيين المميزين شكلياً بشحمة أذن بيضاء بمسافة وراثية 24.98، بينما ضم العنقود الثاني الطرز الوراثية ذات شحمة الأذن الحمراء، حيث انقسم بدوره إلى تحت عنقودين، ضم تحت عنقود الأول الطرز الوراثية لمجموعة الذكور سوداء اللون بغض النظر عن مصدرها، وضم تحت عنقود الثاني الأفراد الإناث، شكلت فيها إناث الهجين HN مجموعة مستقلة عن مجموعة إناث الدجاج المحلي أسود اللون.

دُرس التعبير المورثي لمورثتي بروتينات الصدمة الحرارية HSP70 وHSP90 على مجموعتين من الدجاج المحلي (الرزى والأسود اللون)، ومجموعة الهجين المستورد HN. وأظهرت النتائج أن تعبير مورثة بروتين الصدمة الحرارية HSP90 أعلى من تعبير مورثة بروتين الصدمة الحرارية HSP70 عند جميع المجموعات التجريبية، وقد انخفض تعبير مورثة HSP70 معنوياً عند المجموعات التجريبية المجهدّة مقارنةً بغير المجهدّة، وبلغت قيمة تعبير مورثة HSP70 بنهاية فترة الإجهاد عند المجموعات التجريبية المجهدّة (الهجين HN ومجموعة الدجاج المحلي الرزى والأسود) 0.205 و0.655 و0.790، على التوالي، وكانت الفروقات بين هذه المجموعات معنوية، لذا فإن الدجاج المحلي أكثر قدرة على مقاومة الأجهاد الحراري من الدجاج الهجين HN المستورد بالنسبة لمورثة HSP70، وضمن مجموعتي الدجاج المحليتين فإن الدجاج الأسود اللون أكثر قدرة على مقاومة الإجهاد الحراري من الدجاج الرزى بالنسبة لمورثة HSP70.

ازداد تعبير مورثة HSP90 نتيجة للإجهاد الحراري عند مجموعات الدجاج المحلي الأسود والرزى اللون المجهدّة مقارنةً بغير المجهدّة، بينما انخفض تعبيرها

عند مجموعة الهجين HN. وبلغت قيمة تعبير مورثة HSP90 بنهاية فترة الإجهاد عند مجموعات الدجاج المحلي الأسود والرزى ومجموعة الهجين HN 2.361، 1.958، 0.528، على التوالي، وكانت الفروقات بين هذه المجموعات معنوية، لذا يعد الدجاج المحلي أكثر قدرة على مقاومة الأجهاد الحراري من الهجين HN المستورد بالنسبة لمورثة HSP90، وضمن مجموعتي الدجاج المحليتين فإن الدجاج الأسود اللون أكثر قدرة على مقاومة الإجهاد الحراري من الدجاج الرزى بالنسبة لمورثة HSP90.

بلغت قيمة تعبير مورثة HSP70 بنهاية فترة الإجهاد عند مجموعتي الطيور المحلية غير مريشة الأرجل ومريشة الأرجل 0.291 و 0.188، على التوالي، في حين بلغت قيمة تعبير مورثة HSP90 2.039 و 1.800، على التوالي، وهذا يشير إلى أن الطيور المحلية غير مريشة الأرجل هي الأكثر تحملاً للإجهاد الحراري من الطيور المحلية مريشة الأرجل بالنسبة لمورثتي بروتين الصدمة الحرارية HSP70 و HSP90. وبلغت قيمة تعبير مورثة HSP70 بنهاية فترة الإجهاد عند مجموعتي ذكور وإناث الدجاج المحلي 0.263 و 0.211، على التوالي، مما يشير إلى أن الذكور أكثر تحملاً للإجهاد الحراري من الإناث بالنسبة لمورثة بروتين الصدمة الحرارية HSP70. وبلغت قيمة تعبير HSP90 بنهاية فترة الإجهاد عند إناث الدجاج المحلي 2.171 وكانت أعلى من قيمته عند ذكور الدجاج المحلي 1.551، مما يشير إلى أن الإناث المحلية أكثر مقاومة للإجهاد الحراري من الذكور بالنسبة لمورثة HSP90.

الفصل الأول

المقدمة

تعد صناعة الدواجن أحد أهم فروع الإنتاج الحيواني، فهي تؤمن جزء كبيراً من المنتجات الغذائية ذات القيمة الحيوية العالية (اللحم والبيض) الضرورية لتغذية الإنسان، إضافة لبعض المواد الثانوية كالريش وقشور البيض ومخلفات الذبح والسماذ، والتي تستخدم في مجالات صناعية وزراعية مختلفة، ومن أهم العوامل التي تساعد على تقدم صناعة الدواجن وازدياد أعدادها محلياً وعالمياً تميزها بسرعة النمو، وقصر دورة الإنتاج، وصغر مساحة الأرض التي تحتاجها، تأتي الأهمية الكبيرة للدواجن من قدرتها العالية على تحويل المواد العلفية إلى منتجات نوعية ذات قيمة غذائية عالية، وقد حققت صناعة الدواجن تقدماً كبيراً في الآونة الأخيرة وذلك استجابة لزيادة الطلب على هذه المنتجات، مما أدى إلى التوسع في الإنتاج في ظل ظروف بيئية متنوعة.

تعتمد صناعة الدواجن في سورية على الدجاج بشكل رئيس، وقد تطور هذا القطاع بشكل كبير، إذ يعد قادراً على سد حاجات القطر العربي السوري من اللحم والبيض، كما كان يُصدّر الفائض منه إلى الدول المجاورة في كثير من السنوات.

تعتمد معظم الدول النامية على استيراد الهجن أو الأمات أو الجذات من الدول الصناعية الكبرى، ويكلف ذلك المربين الكثير من المال والوقت والجهد، لذا من الضروري أن تسعى الدول النامية ومنها سورية إلى الاعتماد جزئياً على حيواناتها المحلية ومنها الدواجن في سد جزء من الفجوة الغذائية.

يعد الدجاج المحلي في القطر العربي السوري أسراب خليطة عديدة الألوان والأشكال، ليست لها صفات مميزة كعرق مستقل، وتتم رعاية المجموعات المختلفة الخليطة منه على هامش المزرعة، حيث يفتقد لظروف الرعاية المثالية كما أنه لم يخضع لعمليات التحسين الوراثي، لذا فإنه يتسم بشكل عام بانخفاض قدراته الإنتاجية قياساً مع الهجن التجارية، ومع ذلك فإنه يعد مصدراً رديفاً يسد جزءاً من الاحتياجات الغذائية للأسر الريفية، ويتكاثر الدجاج المحلي بشكل عشوائي، مما أدى إلى التشتت الوراثي والتباين الكبير في صفاته الشكلية والإنتاجية.

تمكنت بعض الدول من تأصيل دجاجها المحلي وتهجينها مع عروق قياسية وبذلك تحسن إنتاجها مثل مصر والعراق وأفغانستان.. إلخ (الحاج، 2016)، إلا أن الدجاج المحلي في سورية مازال مهملاً حتى الآن، إذ لم يلقَ الاهتمام الكافي بهدف تقييمه وتأصيله وحفظه كأحد الموارد الوراثية المحلية في سورية، كما لم يلقَ الاهتمام الكافي من قبل القطاع العام أسوة بالحيوانات الزراعية المحلية كالأغنام والماعز والأبقار والجاموس، والتي أُقيمت لها محطات للتربية تتبع فيها برامج تهدف إلى التحسين الوراثي، والمحافظة على هذه العروق كمخزون وراثي محلي.

وقد سعى الباحثون عامة إلى تحديد التنوع الوراثي والاختلافات الوراثية بين الطرز المحلية كخطوة أولى لحفظ التنوع الوراثي ضمن برامج حماية البيئة العامة، كونها ذخيرة وراثية قد يستفاد منها في برامج التحسين الوراثي مستقبلاً. وقد تشكل مصادر وراثية في الظروف غير المناسبة كالجفاف والأمراض الوبائية والإجهاد الحراري (Olden Broek، 1999).

أجريت دراسات قليلة على الدجاج المحلي، ومعظمها درس صفاته الإنتاجية ضمن ظروف رعايته الواقعية وليس ضمن شروط الرعاية والتغذية المثاليين، لذا فإن نتائج هذه الدراسات لم تعبر عن الطاقة الإنتاجية الحقيقية الكامنة للدجاج المحلي، كما أن الدراسات الجزيئية على الدجاج المحلي في سورية قليلة جداً، مما تبرر الحاجة إلى المزيد من الأبحاث، لتحديد درجة القرابة بين وضمن مجموعاته كمرحلة أولى من أجل توصيفه جزيئياً وتشكيل مجموعات متجانسة من الدجاج المحلي والعمل على تحسينها إنتاجياً وذلك لأهميته كونه أكثر تأقلاً مع الظروف المحلية من الهجن المستوردة وأكثر كفاءةً على تحمل التغيرات البيئية خاصة موجات الحرارة المرتفعة التي يمر بها القطر العربي السوري صيفاً والتي تؤثر سلباً في قطاع الدواجن بشكل عام.

من المعروف أن درجة الحرارة البيئية العالية هي إحدى أهم المشاكل التي تواجه صناعة الدواجن، حيث تؤثر البيئات ذات الحرارة المرتفعة سلباً في حالتها

الفيزيولوجية والإنتاجية، مما قد يؤدي إلى خسائر اقتصادية، خاصة أن المناخ العالمي يتجه نحو الارتفاع في درجات الحرارة، وهذا يزيد من احتمال تعرّضها للإجهاد الحراري.

تبين وجود بعض مواقع التعددية الشكلية التي يمكن استخدامها لتمييز الدجاج الأكثر تحملاً لارتفاع درجات الحرارة (Gaviol وزملاؤه، 2008)، مما سهّل إمكانية استخدام هذا الاختلاف في مجال التربية لإنتاج هجن تجارية أكثر تحملاً للحرارة، وهنا تبرز أهمية دراسة كفاءة الدجاج المحلي في تحمل ظروف الإجهاد الحراري من خلال إجراء مقارنة بين مجموعاته ومقارنتها مع الهجن المستوردة. وبالتالي العمل على استنباط مجموعات من الطيور المحلية المتميزة بمقاومة الإجهاد الحراري.

يعد الدجاج المحلي في سورية مخزوناً وراثياً مهماً يساهم في التنوع الوراثي، لذا لا بد من تطويره وتحسينه وراثياً، كما أنه لم يُدرس إلى الآن بشكل كافٍ على المستوى الجزيئي لمعرفة التنوع الوراثي بين أفرادها، وهنا تبرز أهمية التقانات الوراثة الجزيئية كأسلوب حيوي يساهم في التعرف على هذه الحيوانات وتنوعها وموروثها الجزيئي، واستخدام هذه التقانات المتاحة للكشف عن التنوع الوراثي للدجاج المحلي وتوضيح قدرته على التكيف مع الظروف المحلية وخاصة موجات الحرارة العالية من خلال دراسة التعبير المورثي لمورثة الإجهاد الحراري عنده.

بناءً على ما تقدم فإن هذا البحث يمثل الخطوة الأولى لتحديد التباينات الوراثة لأنماط ظاهرية مختلفة من الدجاج المحلي في سورية لمعرفة التنوع الوراثي داخل وبين مجموعاته، وكذلك لتقدير كفاءته في مقاومة الإجهاد الحراري مقارنة بإحدى الهجن المستوردة، بهدف تطويره وتحسينه وراثياً، وهذا يساعد على حفظه والاستفادة من هذه البيانات لاحقاً نظراً لأهميته.

الفصل الثاني

الدراسة المرجعية

١- واقع وآفاق تطور الدواجن في سورية

تعد سورية من البلدان الزراعية بامتياز حيث يعمل حوالي ثلث سكانها بالزراعة، ويساهم الإنتاج الحيواني بنحو 28-31 % من إجمالي الدخل الزراعي في سورية (المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية، 2007).

ويشكل قطاع الدواجن العمود الفقري للإنتاج الحيواني من حيث التطور السريع على المستويين الكمي والنوعي، ويعتمد هذا القطاع على الدجاج بشكل رئيس، إذ تحولت نظم رعاية الدجاج خلال السنوات الماضية من تربية تقليدية بإنتاجية منخفضة إلى صناعة متطورة ذات إنتاجية عالية وأهمية اقتصادية كبيرة.

تشمل حلقة الإنتاج في سورية المداجن المتخصصة للجذود والأمات والفروج وأما دجاج البيض والدجاج المنتج لبيض المائدة والمفاس والمسالخ ومعامل العلف ومصانع الأدوية واللقاحات.

إلا أن اعتماد معظم المداجن في سورية على النظام المفتوح في الإنتاج يعرّض الدجاج للتقلبات الجوية والمناخية (حرارة وبرودة ورطوبة) مما قد يؤثر في الكفاءة الإنتاجية للقطعان ويعرضها للإصابة بالأمراض المختلفة، والتي قد تسبب خسائر اقتصادية فادحة.

وتوجد في سورية أعداد لا بأس بها من الدجاج المحلي فقد بلغ تعداد الدجاج المحلي في سورية عام 2011 حوالي 7284 ألف دجاجة (المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية، 2018)، وتساهم هذه الأعداد بسد جزء لا بأس به من احتياجات المناطق الريفية من اللحم والبيض، إلا أن أعداد الدجاج المحلي انخفضت عام 2017 إلى 4049 ألف دجاجة (المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية، 2018).

ويبين جدول (1) تطور أعداد المداجن في سورية وإنتاجيتها من صيصان الفروج والبيض وكذلك تطور أعداد الدجاج المحلي السوري.

جدول (1): تطور أعداد المداجن في سورية وإنتاجيتها من صيصان الفروج والبيض وتطور أعداد الدجاج المحلي السوري

العام	أعداد مداجن الفروج	أعداد مداجن أمات الفروج	أعداد صيصان الفروج بالآلاف	أعداد مداجن دجاج بيض بيض المائدة	أعداد مداجن أمات دجاج البيض	إنتاج صيصان البيض بالآلاف	أعداد الدجاج المحلي السوري بالآلاف
2008	6505	309	212539	1469	31	15326	6932
2010	7299	248	146899	1595	28	36861	7186
2011	7243	220	195287	1609	24	20625	7284
2014	6220	268	127901	1378	27	16171	4355
2017	5911	224	183247	1001	10	12651	4049

(المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية، 2018)

فلا بد من زيادة الاهتمام بالدجاج المحلي السوري ودعمه ليبقى مصدر من مصادر التنوع الوراثي إضافة إلى كونه يسد جزء من احتياجات القطر من البروتين الحيواني.

٢- أهمية الدجاج المحلي

يعد الدجاج المحلي في القطر العربي السوري خليط من عروق الدجاج المستأنس، تلك العروق التي انحدرت من النوع البري Gallus Gallus المنتشر في الهند وجنوب شرق آسيا، وبالتالي يشكل أسراب خليطة عديدة الألوان والأشكال، ليست لها صفات مميزة كعرق مستقل، لذلك من الصعب تصنيف أي مجموعة من الدجاج المحلي تحت أي من العروق القياسية المعروفة عالمياً (هاشم والسعدي، 2000).

تتم رعاية المجموعات المختلفة من الدجاج المحلي في القرى والأرياف السورية على هامش المزرعة، حيث يفتقد لظروف الرعاية المثالية، لذا فإنه يتسم بشكل عام بانخفاض قدراته الإنتاجية قياساً مع الهجن التجارية، ومع ذلك فإنه يعد مصدراً رديفاً يسد جزءاً من الاحتياجات الغذائية للأسر الريفية، ربما يعود تدني صفاته الإنتاجية إلى عدم القيام بالتحسين الوراثي وعدم العناية بتأمين متطلبات الرعاية والتغذية وقلة الاهتمام بالناحية الصحية، إذ تعد كل هذه الأمور ضرورية لتحسين الإنتاج.

يخضع الدجاج المحلي للخلط العشوائي، مما أدى إلى التشتت الوراثي والتباين الكبير في صفاته الشكلية والإنتاجية (الحاج، 2016)، واعتماداً على صفاته الشكلية والإنتاجية بين حسن وعبود (2008) أنه يمكن تمييز بعض مجموعات الدجاج المحلي كالدجاج الهندي والدجاج الشركسي والدجاج الرزي.... إلخ

١- الهندي: أُدخل إلى سورية منذ القديم عبر طريق الحرير، وكان يستخدم في المصارعة وقد فقد أهميته كثيراً بعد تقلص هذه الهواية. حجمه كبير نسبياً يصل وزن الديك 3.4 كغ والإناث 2.3 كغ. الديوك قوية البنية بحكم الانتخاب المستمر فيها لأغراض المصارعة، فالصدر بارز عريض والأرجل قوية وصلبة ومرتفعة، والمنقار حاد وكبير، أما الإناث فهي عموماً كبيرة الحجم نسبياً، وغالباً تكون أمات جيدة في الرقاد. ويمكن الاستفادة منه في التربية لإنتاج اللحم.

٢- الشركسي: يرجح أنه أُدخل إلى سورية عبر تركيا، حيث كان يُستخدم في إنتاج اللحم لكبر حجمه وجودة طعمه، يتميز هذا الدجاج بالرقبة الحمراء العارية من الريش وقد توجد سراويل من الريش على الأرجل مما يؤكد أصله الآسيوي. أشهر ألوانه الأبيض والأسود. لحمه مستساغ وسرعة نموه عالية بالمقارنة مع المجموعات المحلية الأخرى.

٣- الرزي: يعتقد أن الدجاج المحلي الرزي أُدخل إلى سورية أيام الحروب الصليبية مع الأوربيين. وهو يشبه اللجهورن من حيث الشكل إلا أنه أصغر منه في الحجم، أشهر عتراته الرمادية ذات النقط البيضاء، وهو يستعمل كدجاج بيض إلا أنه قليل الانتشار. ومنه عترتان إحداهما ذات عرف مفرد والأخرى ذات عرف وردي، يزن الديك البالغ (2.5) كغ والدجاجة (2) كغ.

٤- الطوبي: من ميزاته جمال لونه الطوبي الغامق، يمتلك العرف البسيط ذو اللون الأحمر الغامق، يمتاز بأنه أشد مقاومة للأمراض المستوطنة وأكثر تأقلاً مع الظروف البيئية.



الشكل (1) تباين الصفات الشكلية للدجاج المحلي

أجريت دراسات قليلة على الدجاج المحلي في سورية، ومعظمها تطرّق لصفاته الإنتاجية ضمن ظروف رعايته الواقعية وليس ضمن شروط الرعاية والتغذية المثالية، لذا فإن نتائج هذه الدراسات تعبر عن الطاقة الإنتاجية الحقيقية الكامنة للدجاج المحلي.

وقد أشار كل من الشيخ أمين (2007) و Abdelqader وزملاؤه (2007) إلى أنه يمكن زيادة الإنتاج للدجاج المحلي من خلال تحسين مستوى رعايته وتغذيته، ويمكن أن يتضاعف إنتاجه إذا خضع لبرنامج تحسين وراثي مناسب، وذكر كذلك شيخموس وزملاءه (2008) أن إنتاج البيض في الدجاج المحلي في سورية يمكن أن يرقى للمقارنة مع نظرائه من العروق القياسية فيما لو حُسنَت ظروف رعايتها، وأكد تحسن إنتاج البيض في الدجاج المحلي السوري البني والأسود اللون بتحسين ظروف رعايتهما، إذ بلغ متوسط إنتاج البيض للدجاج بني اللون 197.5 بيضة / سنة متفوقاً على الدجاج أسود اللون الذي بلغ إنتاجه 180.9 بيضة/ سنة. وكذلك أشار الشيخ أمين (2007) إلى تفوق الدجاج أسود اللون على نظيره البني اللون من حيث عدد البيض المنتج شهرياً من الطائر الواحد في مرحلة قمة الإنتاج، في حين تفوق الدجاج بني اللون على الدجاج الأسود في المثابرة على وضع البيض في بقية أشهر السنة.

أما فيما يخص متوسط وزن البيضة، فقد بلغ 59.84 غ للدجاج بني اللون، متفوقاً على الدجاج أسود اللون إذ بلغ 59.18 غ (شيخموس وزملاؤه، 2008). كما أظهرت دراسة مقارنة الدجاج المحلي البني والأسود اللون عدم وجود فروق معنوية ما بين المجموعتين المذكورتين من حيث وزن ومقاييس الجسم بعمر النضج الجنسي، إذ بلغ متوسط وزن الجسم للدجاج ذي اللون البني 1759.9 غ مقابل 1778.8 غ للدجاج ذي اللون الأسود (شيخموس وزملاءه، 2008).

وبالنسبة لمواصفات البيض لم يكن هناك اختلافاً معنوياً بمعظم صفات جودة البيض في كلا اللونين المدروسين (البني والأسود)، وكان استهلاك الدجاج المحلي الأسود من العلف أعلى نسبياً (920 غ/طير/أسبوع) من الدجاج البني (901 غ/طير/أسبوع) خلال قمة إنتاج البيض (الشيخ أمين، 2007).

كما ذكر الشيخ أمين (2007) أن أعلى نسبة نفوق لدى الدجاج المحلي في سورية البني والأسود اللون قد سجلت خلال شهر تموز تحت ظروف البيئة السورية،

حيث بلغت النسبة 22.3 % عند الدجاج البني اللون مقابل 19.3 % لنظيره الأسود اللون، وعزى الباحث النسبة المرتفعة تلك لارتفاع درجات الحرارة في الصيف.

٣- خصائص المصادر الوراثية

يشير مصطلح المصادر الوراثية الحيوانية الزراعية إلى كل الجماعات الحيوانية والأنواع والسلالات المهمة زراعياً واقتصادياً والمرتبطة بالإنتاج الزراعي الحالي أو المستقبلي (Lipner و Rege، 1992). والذي يظهر كاختلافات موروثية بين الأنواع والجماعات والأفراد، ولعل معرفة الخصائص الوراثية لهذه المصادر مهم لتصميم برامج مستقبلية نافعة تضمن حفظ هذه المصادر (Blackburn، 2009).

إن حفظ التنوع الوراثي والاختلافات الوراثية داخل السلالات وفيما بينها هو ضرورة أساسية لتلبية متطلبات السوق الحالية والمستقبلية، إذ إن الاحتفاظ بمخزونات وراثية مختلفة قادرة على الاستجابة والتكيف مع البيئات المتنوعة هو أمر مهم لمواجهة الظروف المناخية غير المناسبة، لأنها ستمثل عندئذ مخزون للتنوع الوراثي وستشكل أساس الانتخاب كالجفاف والأمراض الوبائية. كما أن الزيادة السكانية البشرية عالمياً تتطلب زيادة إنتاج الغذاء من خلال حفظ وتطوير إنتاج الحيوانات المستأنسة (Olden Broek، 1999).

ومن المعلوم أن حفظ التنوع الوراثي يحدث عادةً على مستوى السلالات وليس على مستوى الأنواع. فقد أكد (Carner وزملاؤه، 2005) أن فقدان الحقيقي للتنوع الوراثي يحدث في الجماعة أو في السلالة دليلاً هاماً على بداية إنقراض، لذلك فإن عملية حفظ الحيوانات المستأنسة تركز على تأمين البقاء للجماعات المميزة التي انعزلت جغرافياً وتكيفت بامتياز لتناسب الظروف البيئية التي تعيش فيها، وكذلك فإن حفظ التنوع الوراثي في الأنواع والسلالات سيكشف حدوث الطفرات المتنحية المؤذية في حالة تخالف اللواقح (Yue وزملاؤه، 2006) ويختلف حفظ المصادر الوراثية

للحيوانات المستأنسة بما فيها الدواجن بين البلدان المتقدمة والبلدان النامية، فبينما يجري المحافظة على السلالات النادرة في البلدان المتقدمة (Windig وزملاؤه، 2007) يلاحظ أنّ عملية حفظ المصادر الوراثية في البلدان النامية هي عبارة عن حماية الأنماط الوراثية الموجودة محلياً من أيّة إدخلالات وراثية من خلال استخدام برامج تربية أفضل لتوفير البقاء للسلالات المحلية المتكيفة مع الظروف البيئية المحلية بدون فقدان التنوع داخل السلالات (Lipner و Rege، 1992).

٤-التنوع الوراثي Genetic diversity

هو اصطلاح يدل على الاختلافات الوراثية بين أفراد المجموعة أو داخل خط السلالة، حيث يدل عدم وجود تباين وراثي بين أفراد المجموعة على تطابق الأفراد وراثياً وبالتالي لا يُتوقع حدوث أي تحسين وراثي، لذا فإنه من الأهمية بمكان وجود تباين وراثي، حيث يُعد الأساس للبدء في عملية الانتخاب والتحسين الوراثي للأجيال القادمة.

شكّلت منظمة الأغذية والزراعة (FAO) عام 1995 مجموعة دولية من الخبراء والتي قامت بمهمة تطوير المشروع الدولي للحفاظ على التنوع الحيوي للحيوانات الأليفة (FAO، 1995). وتضمن هذا المشروع دراسة التنوع الوراثي لـ 14 نوعاً أساسياً من الحيوانات المدجنة حول العالم، من بينها أربعة أنواع من الدواجن وذلك باستخدام تقنية تحليل المؤشرات الجزيئية، وبناءً على ذلك اعتمدت منظمة 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).

وفي عام 2000 تم إحداث مشروع دولي لدراسة التنوع الحيوي في خمسين سلالة وعرق دجاج باستخدام 25 واسماً جزيئياً من التوابع الدقيقة SSR. وتم استخدام

نتائج هذا المشروع لإحداث قاعدة بيانات عالمية للتنوع الوراثي في الدجاج ضمن المشروع AVIANDIV [الموقع الإلكتروني <http://aviandiv.tzv.fal.de/>].

وتستخدم تقانات الواسمات الجزيئية المختلفة لتقدير التباين الوراثي في الدواجن، كالبصمة الوراثية للـ DNA (Mafeni وزملاؤه، 1997)، والتضخيم العشوائي للـ DNA المختلف شكلياً RAPDs (Smith، 1996)، والتتابع الدقيقة، التي تعد الأكثر توفراً واستخداماً في الدواجن (Vanhala وزملاؤه، 1998).

٤-١- أهمية دراسة التنوع الوراثي في الدواجن:

لا شك أن التنوع الوراثي *Genetic diversity* يهيء المجال للجماعات الطبيعية من التكيف في البيئات المتغيرة ويزيد من فرص بقائها حية (Ellegren وزملاؤه، 2008)، لذلك فإن دراسة التنوع الوراثي سواء ضمن السلالة أو فيما بين السلالات هو عنصر مهم في وراثة الجماعات (Frankham، 2005)، لأنه يساعد على فهم التغيرات التطورية الدقيقة التي تطرأ على الجماعة، وبالتالي معرفة تاريخ الجماعة والهجرة والطفرات، هذا بالإضافة إلى معرفة تأثير الانتخاب على المورثات لأنه يشير لما يفعله المربون على المستوى الوراثي باستخدام طرائق التربية التقليدية، كما أنه يمكن من تقدير حجم الجماعة الفعالة والتي ستكون عرضة للتدهور المورثي فيما لو قُود التنوع الوراثي فيها.

إنَّ حوادث الهجرة والتدفق المورثي والطفرات هي عوامل أساسية تسبب الاختلافات الوراثية بين الجماعات الحالية (Rendo وزملاؤه، 2004)، كما أن انعزال جماعة في منطقة ما قد يسبب انعزالاً مورثياً لها مؤدياً إلى إنقاص حجم الجماعة الفعالة وميل أكبر للتدهور المورثي (Rege، 2002) لدى تغير الظروف البيئية مع زيادة معدل التربية الداخلية فيها.

ويعد الانتخاب أحد الأدوات الرئيسة المستخدمة في تربية الحيوان فإذا لم يتم اختيار الحيوانات المنتجة للجيل التالي بحذر، سيؤدي الانتخاب آنذاك إلى زيادة التربية الداخلية ضمن الجماعة، وثمة عوامل مرتبطة بالانتخاب يمكن أن تؤثر في التربية الداخلية مثل بنية الجماعة داخل المجموعة واستخدام بضعة آباء فقط (Goyache وزملاؤه، 2003)، وهذه الممارسات ستتناقص بالنتيجة حجم الجماعة الفعالة المنتجة للأعراس وبالتالي إمكانية حدوث التغير الوراثي (Kantanen، 1999)، أما التزاوج العشوائي للحيوانات فيمكن أن يؤدي إلى تثبيت القرائن غير المرغوبة في الجماعة (Crisà وزملاؤه، 2001)، وبدون شك فإن فقدان التنوع الوراثي المستمر سيؤدي إلى تغيرات كبيرة في تكرار المورثات وتكرار الأنماط الوراثية في جماعة ما وقد يؤدي في النهاية إلى انقراض النوع، لذلك اتجه الاهتمام إلى إحداث تطوير سريع في تقنيات التربية لإنتاج هجن حديثة تتميز بإنتاج عالٍ، إلا أن ذلك ترافق مع إنقاص عدد كبير من السلالات المتكيفة محلياً والتي أصبحت عرضة للإنقراض إما من خلال الخطأ أو من خلال الاستبدال المباشر بسلالات مرغوبة (Soysal وزملاؤه، 2005)، وبناءً على ما سبق كان من الضروري دراسة التنوع الوراثي للدجاج المحلي في سورية وتحديد المصادر الوراثية لهذا التنوع بالاعتماد على تقدير التنوع الوراثي لها لأنه يمثل الخطوة الأولى لتحديد المصادر الوراثية ومعرفة الطاقات الوراثية الكامنة فيها بغية تصميم استراتيجيات لحفظها والاستفادة منها نظراً إلى أهميتها الاقتصادية والبيئية.

٤-٢- استخدام المؤشرات الجزيئية للـ DNA:

تقدم المؤشرات الجزيئية معلومات مفيدة عن تركيب الجماعة وعلاقات القرابة بالإضافة إلى التحقق من الأنساب (Feral، 2002) وتساعد في تطبيق الانتخاب (Bünger، 2008)، كما أنها تسمح بدراسة التكوين الوراثي للأفراد على مستوى الحمض النووي الريبي منقوص الأكسجين DNA (Naqvi، 2007) وتزود بمعلومات عن تنوع القرائن لموقع وراثي معين وبالتالي تحدد التنوع الوراثي

الجزئي وتكشف عن المورثة التي تؤثر في الصفات المهمة اقتصادياً (Erhardet وWeimann، 2007) يضاف إلى ذلك أهميتها في تحديد مواقع المورثات ذات الآثار التراكمية (*Quantitative trait Loci (QTL)* (Simianer، 2005) ورسم الخرائط الوراثية (*Genetic Linkage*) (Diez-Tascon وزملاؤه، 2000).

اعتمدت الدراسات المبكرة عن التركيب الوراثي للجماعة على الصفات النوعية الشكلية مثل لون الريش وشكل العرف والداليتين ولون شحمة الأذن، ومن ثم تحليل هذه المؤشرات للتعرف على الأسباب الوراثية، إلا أن ذلك كان ممكناً فقط للصفات الشكلية التي يمكن توصيفها بشكل مباشر بالإضافة إلى أن هذه الصفات لا تعكس دائماً التركيب الوراثي الأساسي للجماعة، فبالاعتماد عليها يمكن أن تصنف سلالات معزولة معاً على أنها متطابقة أو أن تصنف الجماعات المرتبطة بشدة على أنها سلالات منفصلة.

ثم استخدمت مؤشرات الـ *Allozymes* كأول مؤشر حيوي جزئي للدراسات الوراثية في الدواجن، وهي تعتمد على وصف الاختلافات الجزيئية للأنزيمات (Liu وزملاؤه، 1992) كونها تمثل إنتاج المورثات، وبالتالي تعكس الاختلافات في تنابعات الـ DNA إلا أن افتقارها إلى القدرة على دراسة الاختلافات بين الجماعات المرتبطة بشدة ولأنها تزود بمعلومات قليلة عن التباينات الشكلية (*Polymorphism*) فقد حُدَّ من استخدامها في دراسات التنوع الوراثي، لذلك تعد المؤشرات الجزيئية للحمض النووي الريبي منقوص الأكسجين (*DNA Molecular markers*) هي أفضل المؤشرات لأنه يمكن استخدامها مع البيانات الشكلية في برامج إحصائية لتقدير التباين الوراثي لأفراد الحيوانات وتوجيه إدارة المصادر الوراثية الحيوانية (Rege وOkeyo، 2006).

٤-٣- أهمية المؤشرات الجزيئية:

١- عدم تأثر هذه المؤشرات بالشكل الظاهري والمؤثرات البيئية المختلفة.
٢- توفر نتائج مبكرة لمساعدة برامج التربية في تسريع وإنجاح عمليات الانتخاب والتربية، إذ تُزوّد بالمعلومات الوراثية في عمر مبكر حتى في المرحلة الجنينية وبالتالي تختصر الزمن الذي تستغرقه عمليات التربية إضافة إلى خفضها للتكاليف المادية.

٣- الحصول على عدد كبير من المؤشرات في وقت زمني قصير نسبياً.

٤- تعد طرائق غير مباشرة لتتبع أثر قرائن مورثة ما، لأنها تحتل أجزاء من الـ DNA وتورث مع المورثات الوظيفية المسؤولة عن إظهار صفات مرغوبة (Williams وزملاؤه، 1990).

٥- مقدرتها على كشف التباينات الشكلية الجزيئية وبالتالي تحليل الاختلافات الوراثية حتى بين الأفراد المرتبطة بشدة.

٦- مقدرتها على تحليل التنوع الوراثي في الخطوط والسلالات التقليدية والتجارية جزيئياً، وهذا النوع من التحليل مناسب لوضع برامج ناجحة للحفظ وتوجيه التحسين الوراثي (Frankham، 1995).

٧- قد تعكس المؤشرات الجزيئية المكنون الوراثي لصفة كمية أو نوعية للكائنات كالمؤشرات المرتبطة بالمقاومة للأمراض (Hanotte وزملاؤه، 2003).

إنَّ الاستخدام الرئيس للمؤشرات الجزيئية للحمض النووي الريبي منقوص الأكسجين DNA هو في الوصول إلى مواقع المورثات المطلوبة بأقرب مسافة وراثية ممكنة، لأنه كلما تم التوصل إلى مؤشر وراثي جزيئي قريب من المورث كانت احتمالية ارتباطه به أعلى، فإذا كانت الصفة نوعية يتحكم فيها مورثة واحدة أو شفع من المورثات فيكتفى بالاعتماد على هذا الارتباط بين المؤشر والمورثة، أما إذا كانت الصفة كمية يتحكم فيها أكثر من مورثة وتؤثر كل مورثة بنسبة صغيرة في الصفة كما في معظم الصفات الإنتاجية عندئذٍ يجب دراسة توزع المؤشرات الجزيئية المرتبطة بهذه المورثات على الأعراس (سيد، 2001).

٤-٤- المؤشرات الجزيئية للحمض النووي الريبي منقوص الأكسجين DNA:

تعد تقانة الأيزوزيمات isozymes أو الـ Allozymes أول المؤشرات الجزيئية التي استخدمت خلال ستينيات القرن الماضي لتكشف اختلاف القرائن المنتجة للأنزيمات من قبل موقع مورثي (Tanabe وزملاؤه، 1991) بالاعتماد على اختلاف الأوزان الجزيئية لمنتجاتها من الأنزيمات والتي يختلف بعضها عن بعض في الحموض الأمينية المؤلفة للسلاسل الببتيدية المشكلة لها، وبالتالي تبدي اختلافاً في حركتها أثناء ترحيلها ضمن حقل كهربائي عبر هلامة من النشاء، إذ أن منتج كل قرين يتميز بمعدل فريد للحركة (Hartl و Clark، 1989)، ثم تصبغ هذه الهلامة بصبغة نوعية للأنزيم لإظهار الاختلافات في الحزم المرئية على الهلامة والتي تعكس تغيرات في تسلسل الـ DNA (Barker وزملاؤه، 1966)، وبالاعتماد على وجود الحزم أو عدم وجودها واختلاف التكرارات النسبية للقرائن الصبغية يمكن أن يقاس التنوع الوراثي ويميز بين الوحدات الوراثية على مستوى الجماعات والأنواع.

وتعد هذه الطريقة سريعة وغير مكلفة وجديرة بالثقة، لكنها طريقة غير مباشرة لكشف الاختلافات الوراثية، وتحتاج إلى أنظمة أنزيمية مختلفة (Stuber وزملاؤه، 1988) وعينات نسيجية طازجة، كما أن بعض التغيرات في تتابع الـ DNA قد تكون مقنعة عند مستوى البروتين (القرين غير فعال أنزيمياً) مؤديةً بذلك إلى إنقاص التنوع المكتشف، يضاف إليها أن بعض التغيرات الببتيدية لا تبدل الخاصية الحركية للبروتين (الأنزيم) في الرحلان الكهربائي وبالتالي تظهر مستويات منخفضة من التباينات الشكلية عند المواقع المورثية، وهذا ماحد من استخدامهما في دراسات التنوع الوراثي، مما دعا الباحثين للسعي لإيجاد تقانات أخرى أكثر فعالية في الكشف عن الاختلافات الوراثية تعتمد على دراسة القرائن على مستوى المادة الوراثية DNA مباشرة، ومن أهم التقانات المعتمدة على الـ DNA:

أ- التقانات غير معتمدة على تفاعل البلمرة المتسلسل Non PCR based techniques

تطورت تقانة (RFLP) التي لا تعتمد على تفاعل البلمرة المتسلسل PCR في أوائل الثمانينات (Botsteine وزملاؤه، 1980)، وتعد بمثابة الخطوة الأولى في الثورة البيولوجية (Dodgson وزملاؤه، 1997) مشيرةً إلى بداية حقبة مختلفة كلياً في العلوم البيولوجية، وتستند تقانة الـ RFLP إلى إمكانية تقطيع الـ DNA المورثة بعد عزله باستخدام أنزيمات القطع الداخلية، والتي يمكنها أن تتعرف على تتابعات نيوكليوتيدية مؤلفة من أربعة أو خمسة أو ستة أو ثمانية أزواج قاعدية. لذلك فإن هذه المؤشرات تكشف تغيرات الـ DNA لأن استبدال قاعدة أزوتية واحدة في تتابع القطع لأنزيم القطع أو فقدان موقع قطع أو زيادة موقع قطع يغير من أحجام قطع الـ DNA الناتجة بين الأفراد أو الجماعات والتي يمكن أن تكشف من خلال ترحيل القطع الناتجة على هلامة آغاروز عبر حقل كهربائي ومن ثم تنقل إلى فلتر (غشاء نايلوني) (Southern، 1975) وتهجن فيما بعد مع قطع من الـ DNA الموسومة إشعاعياً ذات التسلسل النووي تيدي لموقع محدد هام من الجينوم (Aquadro وزملاؤه، 1992) وتحلل بالتصوير الإشعاعي الذاتي (Rafalski و Tingey، 1993). وبالتالي تسمح بالكشف عن الطفرات بين الأنماط الوراثية من خلال اختلاف حجم قطع DNA الناتجة عن التقطيع.

ومن ميزات هذه التقانة أنها مؤشرات تكشف عن السيادة المشتركة، إذ أنها يمكن أن تظهر كلا القرينين في الأفراد مضاعفة الصيغة الصبغية بالإضافة إلى أن نتائجها ثابتة لدى تكرارها في أي مكان وأي وقت. تحتاج هذه التقنية إلى عمل مخبري مكثف بالإضافة إلى كميات كبيرة من الدنا genomic DNA ذات النوعية العالية الجودة (عموماً تحتاج من ٥-١٠ ميكروغرام) (Rafalski وزملاؤه، 1996)، بالإضافة إلى أن اعتمادها على المسابر الموسومة labeled probes (Sayed و Baum، 1994). وإذا ما قورنت مع المؤشرات الجزيئية الأحدث والأكثر تطوراً فإنها

تزود بمعلومات قليلة عن التنوع الوراثي لذلك ثمة قلائل من الباحثين يستخدمها لمثل هذا النمط من الدراسات، مع العلم أنها مازالت تقنية مرجعية.

ب- التقانات المعتمدة على تفاعل البلمرة المتسلسل PCR based techniques

جرى تطوير تفاعل البلمرة المتسلسل *Polymerase chain reaction* من قبل الباحث (Saiki وزملاؤه، 1985) وهو تقنية فعالة ومفيدة جداً في حقول البيولوجيا الجزيئية والتشخيص الطبي ووراثة الجماعات وتحليل الطب الشرعي (Saiki وزملاؤه، 1985، 1988)، ويمر تفاعل البلمرة المتسلسل PCR في ثلاث خطوات رئيسة يتم من خلالها تصنيع سلاسل جديدة من الدنا ابتداءً من قطعة أولية *Target DNA* (Mullis وزملاؤه، 1986).

- مرحلة انفصال شريطي الدنا عن بعضهما *Denaturation* وذلك بتعريض الدنا إلى حرارة مرتفعة تتراوح بين (90-94)°م تؤدي إلى وقف التفاعلات الأنزيمية وفصل سلسلتي الدنا عن بعضهما من خلال تحطيم الروابط الهيدروجينية لتصبحا سلسلتين مفردتين.

- مرحلة تطويع البادئ *Primer* على القطعة الأصلية الهدف من الدنا *Annealing* وذلك بتخفيض درجة حرارة التفاعل إلى (35-65)°م تبعاً لطول البادئ وتركيبه من الأسس الآزوتية. حيث يلتصق البادئ مع الأسس الآزوتية المتممة له على السلسلة المفردة من الـ DNA الهدف ويقوم أنزيم الـ DNA بوليمراز *DNA Taq polymerase* في إكمال السلسلة المتممة ومضاعفة سلسلة الـ DNA.

- مرحلة تركيب السلسلة الجديدة المكمل للقطعة الهدف من الدنا *extension* وذلك باستخدام نيكليوتيدات مفردة منقوصة الأوكسجين ثلاثية الفوسفات TTP، GTP، CTP، ATP وبوجود PCR buffer وشوارد المغنيزيوم (Mg^{+2}) من خلال رفع الحرارة إلى (70-72)°م تقريباً، وبذلك نحصل على نسخة مضاعفة من قطعة الـ DNA الهدف.

وبالتالي تسمح هذه التقنية بالحصول على ملايين النسخ المضاعفة من قطعة واحدة من الـ DNA التي تتضاعف أسياً وذلك باستخدام دورات حرارية متعددة.

وقد ساعد تصنيع أجهزة التدوير الحراري الآلي واكتشاف أنزيم DNA بوليمراز (Saiki وزملاؤه، 1985، 1988) في تطوير هذه التقنية (Rafalski وزملاؤه، 1996) وفي استخداماتها لتحليل مورثات كل الكائنات من خلال ظهور تقانات تعتمد عليها أهمها تقنية:

١- التضخيم العشوائي للـ DNA المختلف شكلياً Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPDs)

والتي استخدمت في دراسة وراثية الجماعات (Brown و Epifanio، 2003). هذا وتستخدم هذه التقنية بادئاً مفرداً قصيراً مؤلفاً من 10-12 زوج قاعدي طويلاً لتضخيم عشوائي لقطع مجهولة من الـ DNA المورثات باستخدام الـ PCR، ويتم الكشف عن التباينات الشكلية الناتجة من استخدام هذه التقنية من خلال وجود الحزمة *band* أو عدم وجودها (Liu و Cordes، 2004) إذ ينتج هذا التنوع غالباً عن استبدال أساس أزوتي عند مواقع ارتباط البادئ أو بسبب حذف أو إدخال تنابعات نيوكليوتيدية في القطع بين مواقع الارتباط.

ومن ميزات هذه التقنية أنها بسيطة وسريعة ولا تتطلب معرفة مبدئية عن تنابع الـ DNA الهدف كما أنها تنتج عدداً كبيراً جداً من الحزم وغير مكلفة والبادئات متوفرة تجارياً. ويعاب عليها أنها مؤشرات تكشف عن السيادة التامة فقط إذ من الصعب التمييز من خلالها بين الأفراد متماثلة اللواقح AA والأفراد متخالفة اللواقح Aa، وبالتالي لا يمكن تقييم تكرارات القرائن بشكل صحيح كغيرها من التقانات، إذ أنه من الصعب تحديد ما إذا كانت هذه الحزم تمثل مواقع مورثية مختلفة أو أنها قرائن مختلفة لموقع مورثي مفرد، لذلك فإن عدد المواقع المورثية من خلال استخدام هذه المؤشرات قد يحدد خطأ ولأن درجات حرارة ارتباط بوائدها منخفضة نسبياً غالباً

(٣٦-٤٠) م فإنها تعطي نتائج غير نوعية هذا يجعلها قليلة الموثوقية مقارنةً مع غيرها إذ أنه لا يمكن الحصول على نفس النتائج لدى تكرارها في أغلب الأحيان (Wirgin وWaldman، 1994). كما أن التباينات الشكلية المكتشفة باستخدام هذه التقنية محدودة إذا ما قورنت مع التباينات الشكلية الناتجة عن المؤشرات الأخرى مثل الـ SSR والـ AFLP. مما يحد من استخدام مؤشرات RAPDs في دراسات التنوع الوراثي وخاصةً في الحيوانات (Kantanen وزملاؤه، 1995).

٢- التتابع الدقيقة الترادفية أو المايكروساتيليت Simple sequence repeat or (SSRs) microsatellite:

عربت هذه الطريقة باسم التتابع الدقيقة الترادفية (سيد، 2001). وهي عبارة عن مكررات ترادفية قصيرة من الدنا المورثي (كل وحدة تكرارية تتألف من 1-6 أزواج قاعدية تتكرر بشكل ترادفي بعضها وراء البعض الآخر) موزعة عشوائياً في البيضة الملقحة على كل الصبغيات وكل مناطق الصبغي، ويعتقد أنها تلعب دوراً في الحفاظ على بنية الصبغي أو تعمل كوحدة تحكم لتنظيم عمل المورثات (Soysal وزملاؤه، 2005)، وتوجد عموماً في المناطق غير المرمزة من المورثة، لذلك تعد مؤشرات محايدة لاتخضع للانتخاب وأحياناً توجد ضمن مناطق الترميز لمورثة ما (Liu، 2001)، ولاحظ (Wang وزملاؤه، 1994) أن الوحدات التكرارية تحاط بتتال نيكليوتيدي معين ثابت ووحيد في وجوده في أمشاج النوع الواحد، مما يسمح بتصميم بادئات ذات تتال نيكليوتيدي متم لها وبالتالي تضخيم الـ SSR المستهدف باستخدام الـ PCR (Weber و May، 1989).

بيّن (Powell، 1996) وفرة التتابع الدقيقة الترادفية الدناوية (SSRs) المنتشرة عشوائياً في كافة أنحاء الزيغوت من أنواع حقيقيات النوى eukaryotic genomes، وأشار إلى أن عدد مواقع التتابع الدقيقة الترادفية الدناوية (SSRs) يتراوح ما بين 10^3 إلى 10^5 بحسب النوع المدروس وعدد الأسس النيكليوتيدية المترادفة (سيد، 2001). كما أشار (Thiel وزملاؤه، 2003) إلى أن تطوير مؤشرات

جديدة من نوع SSR يتطلب معرفة مسبقة بالتتالي النيكلوتيدي، وهذا ما يتحقق عبر إيجاد التتالي النيكلوتيدي للمقاطع المستنسخة من الـ DNA (النسائل) المحتوية على مقاطع متكررة.

أما (Wang وزملاؤه، 1994، Love وزملاؤه، 1990) فقد أشارا إلى أهمية استخدام هذه التقنية في دراسة الثدييات ولرسم الخرائط الوراثية للإنسان. وفي دراسة على أعراس الإنسان وأعراس الثدييات، بيّن Weber و May (1989) أنّ التتابع الدقيقة الترادفية الدناوية (SSRs) متوفرة وتتوزع باطراد لتعكس معلومات وراثية جمة، إذ أنها عكست في الثدييات عدداً كبيراً من التباينات الشكلية في القطع الترادفية Microsatellite، وكان قد أشير إلى وجودها في زيغوت الثدييات، وتم تحديد مواقعها على خرائط الارتباط الوراثية من قبل (Serikawa وزملاؤه، 1992)، وقد أكد (Liu و Cordes، 2004) أنّ الـ SSR متوفرة في كل الأنواع.

وتعد مؤشرات الـ SSR مؤشرات وراثية هامة بسبب وفرتها ووجودها على كل أجزاء الزيغوت (Wang وزملاؤه، 1994)، كما أن معدل تطورها عالٍ جداً يعكس نسباً عالية للتباينات الشكلية (Sweigart وزملاؤه، 1999) وهذا ما يجعلها تستخدم لكشف الاختلافات في الجماعة وبين الأفراد، وتستخدم كأداة فعالة لدراسات القرابة بين السلالات وهي مؤشرات تكشف عن السيادة المشتركة وتستخدم في الكشف عن القرائن المتعددة (Rafalski و Tingey، 1993) إضافةً إلى أنّ نتائجها ثابتة لدى تكرارها (Liu وزملاؤه، 1996)، كما أنها تتطلب كمية قليلة من الـ DNA (Rafalski و Tingey، 1993) ويمكن أتمنتها بسهولة (Luikart وزملاؤه، 1999)، كما ويمكن لهذه المؤشرات أن تضخم بسهولة باستخدام الـ PCR (Mullis، 1986)، وترحل نواتج التضخيم عبر هلامة من البولي أكريلاميد Polyacrylamide تعكس الاختلافات في أطوال الوحدات التكرارية من خلال اختلاف أحجامها على الهلامة، إذ يمكن إظهارها بتلوينها بالفضة أو بالتصوير

الإشعاعي الذاتي لدى استخدام بادئات موسومة إشعاعياً أو مفلورة (Jones وزملاؤه، 1997).

وهذه الخصائص مجتمعةً تجعل المايكروساتلايت أكثر المؤشرات الوراثية شيوعاً لرسم الخرائط الوراثية (Luty وزملاؤه، 1990)، واختبار الأبوية لحفظ سجلات النسب (Luikart وزملاؤه، 1999)، ودراسة تركيب الجماعات (Arora وBhatia، 2004) وتقدير درجة القرابة بينها (Maudet وزملاؤه، 2002)، بالإضافة إلى تقدير قابلية التغير الوراثي والتربية الداخلية (Mateus وزملاؤه، 2004).

٣- التكرارات البسيطة الترادفية الداخلية (ISSR) Inter simple sequence repeat:

وهي عبارة عن قطع صغيرة غير مشفرة من الحمض النووي الريبسي المنقوص الأكسجين DNA الموجودة في مورث أحد الكائنات الحية بين تكرارين من التسلسل البسيط، تتألف عادة من 2 إلى 3 نيوكليوتيدات، ويمكن أن تظهر من 10 إلى 100 مرة، وتتباين أعداد التكرارات بتباين الأفراد، وبالتالي ينبثق عن الانقسام الأنزيمي الذي يستخدم الأنزيمات القاطعة أطوال مختلفة من قطع الـ DNA. وهي بذلك معلمات ذات طبيعة عشوائية، ومناسبة بشكل خاص لدراسة وتقييم التنوع الوراثي (Raina وزملاؤه، 2001)، وكذلك لتحديد العروق (Wolf وزملاؤه، 1998؛ Blair وزملاؤه، 1999).

إن معلمات ISSR لها قدرة عالية على التضخيم، كذلك تعطي حزمًا ذات تعددية شكلية عالية، وتستخدم بشكل واسع في مجالات تحديد السلالات، ورسم الخرائط الوراثية، ودراسة التنوع الوراثي، وتحديد بادئات التكرارات البسيطة الترادفية SSR (Rakoczy-Trojanowska وPolibok، 2004).

وتتميز هذه التقنية بأنها لا تتطلب وقتاً طويلاً لبناء المكتبة الوراثية، وتعد تقنية بسيطة وسريعة وذات مصداقية عالية وتكاليف منخفضة نسبياً، كما أن جهد تنفيذها منخفض (Van Der وزملاؤه، 2000)، ويمكن تصميم بادئاتها بسهولة دون

معلومات مسبقة عن التسلسل الوراثي لقطعة الحمض الريبي النووي منقوص الأكسجين المستهدف (DNA) (Qian وزملاؤه، 2007).

ب- ٤- AFLPs: (Amplified Fragment Length Polymorphism)

لقد طُوِّرت تقانة الـ AFLP من قبل (Vos و Zabeau، 1993)، وهي مزيج من عدة تقانات. تعتمد هذه التقانة على الكشف عن قطع الدنا المقيدة بأنزيمات التقطيع والمضخمة بتفاعل البلمرة المتسلسل PCR (Vos وزملاؤه، 1995). وتُرحَّل منتجات الـ PCR المضخمة عبر هلامة بولي أكريلاميد Polyacrylamide (Becker وزملاؤه، 1995). وتصور بالتصوير الإشعاعي الذاتي (Vos وزملاؤه، 1995) لتكشف عندها التباينات الشكلية من خلال وجود الحزم أو عدم وجودها، لذلك من غير الممكن أن تكشف النمط الوراثي متخالف اللواقح عن النمط الوراثي متماثل اللواقح.

وتستخدم لتحديد البصمة الوراثية دون معرفة مسبقاً بالتسلسل النيكلوتيدي للبادئات، وذلك باستخدام مجموعة محددة من البادئات المنتجة مخبرياً لأي من الأمشاج (Vos وزملاؤه، 1995). هذا ويتباين عدد القطع المضخمة في كل تفاعل PCR بحسب البادئ المختار وبحسب طريقة تقطيع أنزيم التقيد المستخدم سواء كان EcoRI أم PstI. وتتفوق مؤشرات الـ AFLP على مؤشرات الـ RFLP في توفيرها للوقت والجهد، وعلى مؤشرات RAPD في مصداقية نتائجها وتأمينها لتغطية جيدة من الصبغيات (Manninen، 2000). ومن ميزات هذه التقانة أنها ذات موثوقية عالية إذ أنها غالباً ماتعطي النتائج نفسها لدى إعادتها بالإضافة إلى أنها لا تتطلب معلومات مبدئية عن تسلسل الـ DNA.

وتستخدم هذه التقانة في تحليل خرائط الارتباط (Bleas وزملاؤه، 1998) كما استخدمت في دراسة التنوع الوراثي في أحد سلالات الخنزير الإسباني (Toro

وزملاؤه، 2000). ويعاب عليها أنها مكلفة وتتطلب خبرة فنية لتنفيذها. (De Marchi وزملاؤه، 2006).

٤-٥- استخدام المؤشرات الجزيئية في تقدير التنوع الوراثي في الدجاج:

يعد تقييم وتقدير التنوع الوراثي ضمن أو بين السلالات مهماً لأنه يساعد على فهم التغيرات التطورية الدقيقة التي طرأت على الجماعة، لذلك ومن أجل إدارة أفضل للمصادر الوراثية العالمية اقترحت منظمة الأغذية والزراعة (FAO) برنامجاً عالمياً يعتمد على استخدام طرائق جزيئية لدراسة خصائص السلالات المحلية (FAO، 2005)، إذ اعتمدت على استعمال المؤشرات الجزيئية لتساعد على حفظ التنوع الوراثي وتحمي السلالات المعرضة للانقراض بعد تحديد الوضع الوراثي لها (Hanotte، 2005؛ Joost، 2005). وقد تباينت الدراسات في عدد المؤشرات الجزيئية المستخدمة لهذا الغرض، إذ أشار Rosenberg وزملاؤه (2001) إلى أنه من الممكن نسب الأفراد إلى سلالاتهم الصحيحة مع كفاءة 90 % بالاعتماد فقط على 12 مؤشر SSR وبزيادة عدد المؤشرات إلى 24 ترتفع دقة تحديد النسب إلى 97 % تقريباً.

وبناءً عليه قام Mille وزملاؤه (2007) بتحليل 2000 فرد من 65 عشيرة تمثل أنواعاً مختلفة من الدجاج من مناطق جغرافية متباينة، استخدم فيها 29 مؤشر SSR، وتبين أن العشائر الـ 65 انقسمت إلى مجموعات تبعاً لأصلها الجغرافي وتاريخ استئناسها، كذلك بيّن Tadano وزملاؤه (2007) من خلال استخدامه 40 مؤشراً جزيئياً في دراسة التنوع الوراثي بين خمسة عروق من الدجاج (Leghorn، Cornish، New Hampshire Red، Rhode Island Red، Plymouth Rock) أن هناك اختلاف وراثي كبير ما بين عرق Leghorn والعروق الأخرى، وهي تطابق النتيجة التي حصل عليها Sangwon وزملاؤه (2014) عند دراسة التنوع الوراثي ما بين تسعة عروق منها ستة محلية كورية وثلاثة عروق مستوردة من الدجاج باستخدام ثلاثين مؤشر جزيئي لتقنية التتابع الدقيقة SSR، إذ انقسمت 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، وهي نتيجة أكدتها كثير من الدراسات الأخرى.

ومن خلال دراسة التنوع الوراثي باستخدام (29) بادئة بين Bodzsar وزملاؤه (2009) أن عروق الدجاج الهنغارية تساهم في التنوع الوراثي للعروق الأوروبية أكثر منه في الخطوط التجارية.

إضافة لتحديد الأصل الوراثي أو الجغرافي لكل مجموعة من الدجاج، يمكن أن يساهم استخدام تقنيات الطرائق الجزيئية في برامج الانتخاب، فقد استفاد Bai and Hui (2001) من تقنية ISSR لانتخاب دجاج لحم لصفة أقل كثافة من الليبوبروتين عند الجيل الثالث لنسبين أحدهما نحيل والآخر مكتنز اللحم.

ويمكن كذلك عن طريق استخدام المؤشرات الجزيئية تحديد عدد القرائن في كل موقع ومتوسط حجم القرين، إذ درس Berthouly وزملاؤه (2008) التنوع الوراثي بين عدد من العروق الآسيوية والأوروبية من الدجاج ضمت (14) عرقاً، عرق فرنسي وعرقان صينيان وعرقان يابانيان وستة عروق تايوانية، وذلك باستخدام (22) زوج من بادئات SSR، حيث تم الكشف عن (161) قرين، وكان متوسط عدد القرائن في الموقع (6.6) للسلاسل الفرنسية و (5.6) للسلاسل الآسيوية.

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

كما ودرس Sangwon وزملاؤه (2014) التنوع الوراثي ما بين تسعة عروق منها ستة محلية كورية وثلاثة عروق مستوردة من الدجاج باستخدام ثلاثون مؤشر جزيئي لتقنية التتابع الدقيقة SSR حيث تراوح عدد القرائن ما بين 2-15 لكل

مؤشر بمتوسط قدره 8.13، وفي دراسات أخرى تم الاعتماد على (22) مؤشر جزيئي مع اختلاف الهدف من الدراسة، إذ قدر Hillel وزملاؤه (2003) التنوع الوراثي بين اثنان وخمسون سلالة وهجين من الدجاج باستخدام 22 واسم جزيئي اعتماداً على (22) بادئة من بادئات الـ ISSR وتبين أن متوسط عدد القرائن بين السلالات المختلفة 9.6 ومتوسط حجم القرين 191 pb.

بشكل عام تعد تقنيات استخدام المؤشرات الجزيئية فعالة في الكشف عن التشابهات الوراثية وتزود بمعلومات أساسية عن العلاقات الوراثية بين السلالات والعروق المختلفة من خلال تقدير قيمة التنوع الوراثي والمسافة الوراثية بين العينات المدروسة، فمن خلال استخدام تقنية التتابع الدقيقة SSR لمقارنة سلالات متنوعة من الدجاج المحلي لعدد من الدول، أظهرت النتائج وجود تنوع وراثي كبير داخل عروق الدجاج المحلي في إيران وتركيا وكوريا والسودان (Bao وزملاؤه، 2008؛ Kaya وYildiz، 2008) وذلك بعكس العروق المحلية اليابانية التي أظهرت قرابة وراثية فيما بينها لكنها أظهرت بعداً وراثياً كبيراً عن باقي عروق الدجاج (Tadano وزملاؤه، 2008)، وفي دراسة أخرى قام Zhang وزملاؤه (2002) بدراسة التنوع الوراثي بين ستة عشر مجموعة من الدجاج الصيني المحلي وهجن الفروج والبياض التجاري، وقد بينت النتائج أن التنوع الوراثي كان كبيراً في السلالات الصينية المحلية بينما كان منخفضاً في البياض وأن هناك علاقة قرابة وثيقة ما بين السلالات المحلية الصينية وهجن الفروج، كما وأجريت دراسة التنوع الوراثي بين ثلاثة سلالات دجاج محلية هندية باستخدام 25 زوجاً من بادئات SSR حيث أظهرت النتائج أن جميع هذه المؤشرات أظهرت اختلافاً وراثياً كبيراً بين السلالات المدروسة، إذ بلغ البعد الوراثي بين Jet black، Golden وPencilled، Jet black وPencilled، Golden (0.16;0.09;0.19) على التوالي (Parmar وزملاؤه، 2007).

استخدمت تقنيات أخرى لدراسة التنوع الوراثي، حيث طبقت تقنية RAPD على أربعة مجاميع محلية من الدجاج من المناطق الشمالية والجنوبية والشرقية

والغربية في الأردن وكانت قيم التشابه الوراثي بين أنماط الدجاج في المناطق الشمالية والشرقية ضمن مجال من 0.95 إلى 0.97، في حين سجلت قيم من 0.69 إلى 0.85 بين الأنماط في المناطق الجنوبية والباقية، وقد وجدت المسافة الوراثية الأكبر بين أنماط الدجاج في المناطق الشمالية والجنوبية 0.37، في حين كانت المسافة الوراثية الأصغر 0.04 بين الأنماط في المناطق الشمالية والشرقية، وقد أظهرت هذه الدراسة بأن مؤشرات الـ RAPD كانت فعالة في الكشف عن التنوع الوراثي في أنماط الدجاج المحلي في الأردن (Al-Atiyat وزملاؤه، 2010).

وفي بنغلادش تم تقييم التشابه الوراثي بين سبعة سلالات محلية لإنتاج البيض واللحم باستخدام تقنية RAPD وقُدِّرت قيمة التشابه الوراثي بين السلالات المحلية المتخصصة بإنتاج البيض بين 81.3 % إلى 89.3 %، بينما قُدِّرت بين السلالات المحلية المتخصصة بإنتاج اللحم بين 69 إلى 78.7 % (Monira وزملاؤه، 2011)، كما تم تقييم التشابه الوراثي بين الدجاج البري الهندي الأبيض والرمادي باستخدام خمسة بادئات RAPD، وقُدِّر التشابه الوراثي بين مجموعتي الدجاج بالمتوسط بـ 0.97، وكان متوسط معامل التشابه الوراثي ضمن مجموعة الطيور البيضاء 0.65، في حين أنه قُدِّر ضمن مجموعة الطيور الرمادية بـ 0.64 (Bawej وزملاؤه، 2012).

وفي تركيا قُدِّرت القرابة الوراثية بين 10 خطوط من الدجاج المحلي التركي (RIR_I, RIR_{II}, Barred_I, Barred_{II}, Colombian Rock, Line-54, Blue Line,) (Maroon Line, Blake Line, Brown Line) تم الحصول عليها من قبل مركز أبحاث أنقرة للدواجن، وقد سجلت أعلى وأدنى قيم التشابهات الوراثية 0.38 بين الخطتين (Barred_I-Maroon line) و0.09 بين الخطتين (Colombian-Barred_{II}) على التوالي (Okumu و Kaya، 2005)، كما أشار Dehghanzadeh وزملاؤه (2009) في دراسة لتقييم التنوع الوراثي باستخدام مؤشرات RAPD ضمن وبين خمسة مجموعات من الدجاج المحلي الإيراني، أن أعلى قيمة مسافة وراثية بلغت

0.182 أما أدنى قيمة لها فبلغت 0.066. كما وأظهرت مجموعتين من أصل المجموعات الخمس القيم الأعلى للتنوع الوراثي ضمن المجموعات إذ بلغت 0.208. أُجريت دراسة في مصر على خطي الدجاج عاري الرقبة (N) وطبيعي تربيش الرقبة (F) بعد إخضاعهما لانتخاب مكثف لجيلين لصفة زيادة وزن الجسم، وخط لعشيرة ذات تربية عشوائية (C) حيث تم استخدام خمسة بادئات من RAPD، وقُدِّرت المسافة الوراثية بين الخطين N و F بـ 1.03، في حين قُدِّرت المسافة الوراثية للخطين N و F عن الخط C بـ 1.15 و 0.81 على التوالي (El-Gendy، 2008).

أجرى Jallad وزملاؤه (2012) دراسة على الدجاج المحلي في سورية في منطقة الساحل على نمطين ظاهريين مختلفين الأسود والرمادي باستخدام 10 بادئات SSR، وذلك لتقدير التنوع الوراثي، ووجدوا بأن التنوع الوراثي لدى الدجاج الأسود بلغ (0.245) وكان أعلى من المكتشف لدى الدجاج الرمادي (0.204)، وقد افترقت الأفراد وفقاً للبيانات حسب كل نمط ظاهري.

٥- الإجهاد الحراري:

تعد درجة الحرارة البيئية العالية إحدى أهم المشاكل التي تواجه صناعة الدواجن، لأنها من الحيوانات الحساسة للإجهاد الحراري (حرارة الجسم 40.5-41 درجة مئوية)، ويغطي جسمها الريش، ولا يحتوي على غدد عرقية، مما يعيق التخلص من الحرارة الفائضة من أجسامها (Ajakaiye وزملاؤه، 2010)، لذا تؤثر البيئات ذات الحرارة المرتفعة سلباً في نمو وصحة الدواجن وإنتاجيتها، مما قد يؤدي إلى خسائر اقتصادية (Xie وزملاؤه، 2014)، خاصة أن المناخ العالمي يتجه نحو الارتفاع في درجات الحرارة وهذا يزيد من احتمال تعرضها للإجهاد الحراري (Meehl و Tebaldi، 2004)، لذا يعد الإجهاد الحراري وتأثيره السلبي وطرق تفاديه من الاهتمامات الرئيسة في صناعة الدواجن.

تعد مقاومة الطيور للإجهاد الحراري عملية معقدة والآلية الجزيئية الدقيقة لها لم تفهم بالكامل بعد، فعند تعرض الدواجن للحرارة العالية يحاول مركز تنظيم الحرارة الذاتي إعادة درجة حرارة الجسم إلى النطاقات الطبيعية (Halevy وزملاؤه، 2001) عن طريق تعديل وظيفة القلب والأوعية الدموية (Xie وزملاؤه، 2014)، فيزداد التدفق الدموي إلى الأجزاء العارية من الريش وبعض الأنسجة الأخرى مما يساهم بزيادة طرح الحرارة الفائضة من الجسم (Eggum و Chwalibog، 1989)، كما يزداد معدل التنفس ويبدأ الطير باللهاث (Hilman وزملاؤه، 2000)، إلا أن الإجهاد الحراري المفرط خارج النطاق القابل للتنظيم ولفترة زمنية طويلة نسبياً له أضرار خطيرة إذ يقود إلى تغيرات قد تنتهي بنفوق الطير (Yahav و Tzschentke، 2006).

فدرجات الحرارة المحيطة المرتفعة واحدة من أكثر العوامل البيئية البارزة والتي تؤثر في نمو وصحة الدواجن وإنتاجها، حيث تسبب انخفاض في معدل النمو (Song وزملاؤه، 2012)، وتتناقص كمية العلف المستهلك من الدجاج عند زيادة درجة الحرارة البيئية (Garriga وزملاؤه، 2006)، وانخفاض الشهية بنسبة 1.5 %

لكل 1°م زيادة في درجة الحرارة بين (21-30)°م، وبنسبة 4.6 ٪ لكل 1°م زيادة بين (32-38)°م (Payne، 1985)، كما تؤثر درجات الحرارة المرتفعة بتغيرات في عملية التمثيل الغذائي (Mashaly وزملاؤه، 2004) حيث ينخفض إنتاج البروتين وزيادة تخزين الدهن عند الفروج (Temim وزملاؤه، 2000)، كما ينخفض إنتاج البيض ومتوسط وزن الببضة (Mashaly وزملاؤه، 2004)، وتدني نوعية القشرة الكلسية للبيض (Mashaly وزملاؤه، 2004)، ويتم استنزاف مدخرات البوتاسيوم وبعض المعادن الأخرى في الجسم، مما يؤدي إلى تغير التوازن الشاردي في الجسم، وضعف مناعة الجسم (Young، 1990)، وارتفاع معدل النفوق بشكل عام (Yahav وزملاؤه، 1995).

تتراوح درجة الحرارة المثالية للدواجن بين (16-25)°م (Sahin وزملاؤه، 2006)، بينما حددها Czaririck وFairchild (2008) للدجاج البالغ حوالي 18-23.9 درجة مئوية، وتبدأ معاناة الطير من الإجهاد الحراري وربما النفوق لاحقاً عندما تتجاوز درجات الحرارة 32°م، في حين حدّد الباحث Yalcin وزملاؤه (2005) حدوث الإجهاد الحراري عند الدجاج بتجاوز درجة الحرارة 35°م.

خلال المعاناة من الإجهاد الحراري، تزداد حاجة الطائر إلى طاقة إضافية بسبب زيادة نشاط بعض الأعضاء مثل زيادة معدل التنفس ومعدل ضربات القلب ومعدل الدورة الدموية، وزيادة تركيز هرمونات قشرة الكظر (الكورتيكوستيرون والكورتيزون) والتي تعمل في عملية تحلل السكر والجلوكوجين وتحلل الدهون (Etches وزملاؤه، 2008). كما يتم أثناء الإجهاد الحراري استخدام كل من مخازن الدهون والكربوهيدرات في الكبد لتوليد الطاقة من أجل التخفيف من الآثار السلبية للإجهاد (Manoli وزملاؤه، 2007).

عند استمرار الإجهاد الحراري لفترة طويلة وعدم قدرة مركز التنظيم الحراري الذاتي التعامل معه، فسيتم استخدام المسار الوراثي الذي يعمل فقط أثناء حالة الإجهاد الحرجة (Etches وزملاؤه، 1995)، فقد تبين أنه بتعريض الطيور للحرارة يتغير

تعبير 163 مورثة، حيث يزداد تعبير 77 مورثة بينما ينخفض تعبير 86 مورثة، كما أشار البعض إلى أنه من آليات الدفاع تفعيل أكثر من 500 مورثة في الدقائق العشر الأولى من التعرض للحرارة المرتفعة (Miller وزملاؤه، 2011)، حيث يتم تعزيز أولوية التعبير عن المورثات المتعلقة بالبقاء على قيد الحياة بالمقارنة مع عدم التعبير عن المورثات الأقل أهمية (De Nadal وزملاؤه، 2011)، ومن المورثات التي يزداد تعبيرها مورثات بروتينات الصدمة الحرارية (HSP) Heat shock protein (HSP) (Wang وزملاؤه، 2015)، التي تشكل أحد أهم الدفاعات الرئيسية ضد الإجهاد الحراري (Causton وزملاؤه، 2001).

يتم إنتاج بروتينات الصدمة الحرارية (Hsps) عند جميع الكائنات الحية استجابة للتغيرات البيئية مثل درجة الحرارة المرتفعة (Lee وزملاؤه، 1991)، والتعرض للضغوط التأكسدية (Liao وزملاؤه، 1994)، ونقص أوكسجين عضلة القلب (Mestril وDillmann، 1995). وتوضح الأبحاث الحديثة المستندة إلى تحليل التعبير المورثي أن المئات من المورثات الأخرى تشارك في عملية مقاومة الاجهاد أيضاً (Li وزملاؤه، 2009).

يتم إنتاج بروتينات الصدمة الحرارية HSPs بسرعة، بخلاف بقية أنواع البروتينات التي يقل إنتاجها خلال هذه الفترة، ويبدو أن الاستجابة تكون شاملة في الكائنات الحية المتنوعة من البكتيريا حتى الإنسان (Lindquist، 1986)، وقد حدّد Staib وزملاؤه (2007) استجابة خلايا معظم الكائنات الحية بإنتاج هذه البروتينات عند ارتفاع درجة الحرارة (3-5)°م عن الحد الطبيعي، وبشكل عام تؤلف بروتينات الصدمة الحرارية عائلة كبيرة من البروتينات المختلفة في الوزن الجزيئي (Hsp110 وHsp90 وHsp70 وHsp60 وHsp47) ومجموعة صغيرة من HSPs تتراوح أوزانها الجزيئية بين 16 إلى 40 كيلو دالتون (Arrigo وLandry، 1994)، وتعد أكثر بروتينات الصدمة الحرارية شيوعاً HSP70 وHSP90 وHSP25 (Craig وGross، 1991).

تعد بعض بروتينات الصدمة الحرارية من البروتينات البنائية التي تكون موجودة قبل حدوث الاجهاد الحراري ويتم تعزيز تركيبها بعد الاجهاد، بالإضافة إلى البروتينات المحفزة التي تلاحظ بعد الإجهاد فقط (Yahav وزملاؤه، 1997)، وقد ثبت أن بروتينات HSPs هي من أكثر بروتينات الإجهاد المحفوظة (Craig وGross، 1991)، إذ تبين أن هناك ثباتية قوية في وظيفة بروتينات HSPs في الأنواع المتباينة، كما أن هناك حفظ قوي في تسلسلات وهيكل HSPs الرئيسة في الأنواع المتباينة على نطاق واسع (Hunt و Morimoto، 1985).

وظائف بروتينات الصدمة الحرارية HSPs:

تشارك بروتينات الصدمة الحرارية Hsps في الحماية الخلوية ضد العديد من المؤثرات البيئية أو الفيزيولوجية الضارة (Maloyan وزملاؤه، 1999؛ Palmisano وزملاؤه، 1999)، فهي تقوم بحماية الكائنات الحية من الآثار الضارة للحرارة (Ganter وزملاؤه، 2006)، وهذا ما أكدته (Bagchi، 2001) حيث أشار إلى وجود بروتين HSPs في قشرة المخ وهو وجود مثير للاهتمام، إذ لم يتم الإبلاغ عن أي أنشطة استقلابية يمكن اكتشافها في هذه المنطقة، إنما يقوم HSPs بالتفاعل مع البروتينات في هذه المناطق وحمايتها من التشوه الناجم عن الإجهاد، فالعديد من بروتينات الصدمة الحرارية HSPs تعمل كمرافقات داخل الخلايا فهي تلعب دوراً مهماً في ربط وتفكيك البروتينات، وتنظيم عمل بعض البروتينات الموجودة بين الخلايا (Pelham، 1985)، وتلعب دوراً مهماً في عملية انتقال البروتينات (Murakami وزملاؤه، 1988)، كما وتعمل بروتينات الصدمة الحرارية Hsps في الأنسجة الحية على الحفاظ على سلامة البروتينات الهيكلية، ومنع تراكم البروتين، وتساعد على طي البروتينات التالفة (Morimoto، 2008).

اعتبرت بروتينات الصدمة الحرارية منذ فترة طويلة أهم بروتينات التنظيم الحراري (Sonna وزملاؤه، 2002)، ومن بين العديد من بروتينات الـ HSPs المعبر عنها، والأكثر دراسة عند الدجاج هي التي يبلغ وزنها الجزيئي حوالي 70

كيلو دالتون HSP70 و 90 كيلو دالتون HSP90، إذ يبدو أنها المسؤولة بشكل أساسي عن مقاومة الإجهاد الحراري (Hasheimi وزملاؤه، 2012؛ Gu وزملاؤه، 2012)، ولكل منهما دور مختلف في هذه المقاومة.

- يلعب بروتين HSP70 دوراً في الحماية من الصدمة الأولية، وينتج حالة من مقاومة الإجهادات اللاحقة (Kregel، 2002؛ De Nadal وزملاؤه، 2011). إذ تبين أنه عند تجاوز الصدمة الأولية للحرارة فإن mRNA المتراكم خلال الصدمة الحرارية يتحلل بسرعة، بنصف عمر قدره 1.5 ساعة، وهذا يشير إلى دوره المتخصص ولكنه عابر أثناء حدوث الصدمة الحرارية (Schlesinger و Bond، 1986). لذا فإن أولى علامات الإجهاد على الطير هي زيادة في تعبير مورثة بروتين الصدمة الحرارية HSP70 (Yu و Bau، 2008)، وبالتالي اعتُبر مؤشر مهم على الاستجابة للإجهاد الحراري، حيث يتم التعبير عنه بشكل سريع (Morimoto، 1993).

- يقوم بروتين HSP70 بحماية البروتينات الحساسة للحرارة العالية ومنع تلفها (والتي يمكن أن تؤدي إلى أذية دائمة لوظائف الخلايا) (Seminar و Noor، 2009).

- يرتبط بروتين HSP70 بالبروتينات المركبة حديثاً، ويساعد في طيها لتشكل بنيتها ثلاثية الأبعاد (Hartl و Hayer-Hartl، 2002).

- يتفاعل HSP90 مع البروتينات في المراحل المتقدمة من الطي، ويقوم بتعديل تكوينها (Wegele وزملاؤه، 2004).

- يرتبط بروتين Hsp90 ببروتينات معينة كإنزيمات ومستقبلات الهرمون، وبالتالي ينظم نشاطها.

- يلعب بروتين Hsp90 دوراً في التحكم في وظيفة الخلية والاستجابات المناعية (Galea-Lauri وزملاؤه، 1996)، فهو يحمي الخلايا من الأضرار التأكسدية،

من خلال تعزيز نشاط مضادات الأكسدة في الخلية (Latchman و Yellon، 1992).

- يحافظ بروتين Hsp90 على السلامة الهيكلية ويقوم بتنظيم عمل مجموعة من بروتينات العصارة الخلوية (Matsumiya وزملاؤه، 2009؛ Nguyen وزملاؤه، 2009).

- تم التعبير عن بروتين Hsp90 بقوة في الخلايا البطانية من الأوعية الدموية والشعيرات الدموية لجميع أنسجة الجسم التي تم فحصها، مما يشير إلى أن هناك علاقة بين تضيق الأوعية وتوطين Hsp90، فهو يقوم بتنظيم تدفق الدم في الأوعية الدموية الحساسة للإجهاد الحراري، مما يؤثر على إمدادات الدم لبعض الأعضاء المهمة لتحسين وظيفتها (Lei و Bao، 2009).

- تختلف عملية الحث والتحفيز من بروتين Hsp90 وفقاً لنوع الجهاز ومرحلة التطور في الكائنات الحية المختلفة (Sass وزملاؤه، 1996)، وهذا يشير إلى أنه يمكن أن يقوم بتنظيم عمل مورثات Hsp الأخرى، مما يوحي بأنه قد يلعب دوراً في آليات تنظيمية أشمل (Li وزملاؤه، 2006).

على الرغم من وجود دراسات عديدة لتقييم الوظيفة الوقائية لبروتين Hsp90 وأهميتها في العديد من المسارات التنظيمية، لا يُعرف إلا القليل عن هذا البروتين وتأثيره تحت ظروف الإجهاد الحراري (Lei و Bao، 2009)، لكن ثبت وجوده في كل من السيتوبلازم وفي نواة خلايا الغدة اللعابية Chironomus حتى في الظروف العادية (Fu وزملاؤه، 2004).

أشار (Tamzil وزملاؤه، 2013) أن الدواجن تعاني من الإجهاد الحراري بدءاً من درجة حرارة 29.3°م مسببة ارتفاع درجة حرارة الجسم من 40.5°م إلى 41.18°م، وفي هذا النطاق من درجات الحرارة للجسم (41-42°م)، تم اكتشاف التعبير عن HSP70 إشارة لبدء الإجهاد الحراري لدى الدواجن، وهذا يعني أن التعبير عن HSP70 في الدجاج البالغ سوف يظهر عند تجاوز درجة الحرارة المثالية

ب 5.4°م تقريباً، وقد أكدت إحدى الدراسات على جنين الدجاج ذلك حيث بيّنت أن مستوى mRNA لبروتينات الصدمة الحرارية يزداد بمقدار خمسة أضعاف عند رفع درجة الحرارة خمس درجات فقط (Bond و Schlesinger، 1985)، وبالتالي فإن الاستجابة للإجهاد الحراري تتم عن طريق زيادة تعبير مورثة بروتينات الصدمة الحرارية، فتزيد من نسخ الحمض النووي الريبسي الرسول mRNA وترجمته إلى بروتينات HSPs (Noble و Locke، 1995).

أما الكائنات الحية التي تنمو على نطاق واسع من درجات الحرارة، فإن HSP70 يعطي أقصى استجابة عند تجاوز درجة الحرارة المثالية ب 10-15 درجة مئوية (Ewing وزملاؤه، 1999).

ليس لحجم الطير أو عمره أي تأثير في تعبير المورثات المسؤولة عن تصنيع مجموعة بروتينات الصدمة الحرارية (Soleimani وزملاؤه، 2011)، بينما يختلف تعبير هذه المورثات باختلاف شدة الإجهاد وطول فترة تعرض الطير له، إذ يؤدي الإجهاد الحاد لفترة قصيرة إلى بدء سريع في إنتاج بروتين الصدمة الحرارية، أما التعرض للإجهاد الحراري على المدى الطويل فإنه يحسّن من قدرة الدجاج المحلي على المقاومة (Pirkkala وزملاؤه، 2001)، كما لوحظ وجود ارتباط إيجابي بين التغير في درجة الحرارة ومستويات HSP70 في كبد الطيور ذات الرقبة العارية بعمر خمسة أيام والتي تعد مقاومة للإجهاد الحراري (Dionello، 1998)، أما Tamzil وزملاؤه (2013) فقد ذكروا أن الإجهاد الحراري الحاد 40°م لمدة نصف ساعة لم يزد تعبير HSP70، وزاد التعبير بشكل كبير بعد ساعة من التعرض للإجهاد الحراري الحاد، وفي هذا الصدد ذكر Mahmoud وزملاؤه (2004) أيضاً أن تعبير HSP70 في الدجاج بلغت ذروتها بعد تعرضه للإجهاد لمدة ساعة، بينما ذكر Yu و Bau (2008) أن تعبير HSP70 في بعض أعضاء الدجاج زاد بشكل كبير ووصل إلى ذروته بعد تعرضه للإجهاد الحراري مدة ساعتين، في حين وجد Gabriel وزملاؤه (1996) أن التعبير عن HSP70 قد بدأ بالظهور منذ أول ساعة

من التعرض للإجهاد الحراري وبلغ ذروته بعد ثلاث ساعات من التعرض للإجهاد الحراري، وتؤكد الدراسات أيضاً أن السلالة المدروسة لها دوراً مهماً في مدى الاستجابة للإجهاد الحراري (Franco-Jimenez وزملاؤه، 2007)، لذلك فإن بعض سلالات الطيور تعد أكثر مقاومة للإجهاد الحراري من غيرها، مما يجعل تأثير الإجهاد عليها يكون أقل.

أظهرت دراسات عديدة أن الدجاج العاري الرقبة لديه قدرة أعلى على تبديد الحرارة وتحسين تنظيمها بالمقارنة مع نظرائهم ذات الريش الطبيعي عند التعرض للإجهاد (Deeb و Cahaner، 1999)، كما ويعتقد بشكل عام أن السلالات ذات النمو البطيء من الدجاج (الدجاج المحلي) هي أكثر قدرة على تحمل درجات الحرارة المحيطة العالية من السلالات ذات النمو السريع (Yunis و Cahaner، 1999)، ويُفسر ذلك بعدم تجانس حجم ووظيفة أجهزة الجسم الداخلية مع المعدلات العالية للنمو، خاصة جهاز التنفس والدوران المسؤولين الرئيسيين عن فقد الحراري من جسم الطير (Ojano-Dirain و Waldroup، 2002).

وقد أشارت العديد من الأبحاث إلى أن التعبير المورثي لبروتينات الصدمة الحرارية يختلف باختلاف العضو المدروس، حيث ازداد تعبيرها في خصية الفروج بعد 4 ساعات من الإجهاد الحراري، بما في ذلك HSP25 و HSP90 مخففاً الضرر الناجم عن الإجهاد (Li، 1985). وفي الفئران المجهدة حرارياً أظهر ارتفاع HSP زيادة في حماية الخصية من موت الخلايا المبرمج وساعد HSP70 في إصلاح البروتينات المتأثرة سلباً بالإجهاد (Zaprjanova، 2013).

بيّن Tamzil وزملاؤه (2013) وجود ارتباط سلبي بين الصفات الإنتاجية ومقاومة الحرارة، كما وبيّن Cahaner وزملاؤه (1995) أن الاستئناس والانتخاب قد ينتجان أفراداً أكثر حساسية للإجهاد الحراري وليس الأكثر مقاومة له، وبناء عليه فقد تبين أن تعبير HSP70 عند دجاج الغابة الأحمر البري (الأصل البري للدجاج)

كان أعلى معنوياً من الطيور القروية والفروج التجاري، حتى قبل المعالجة الحرارية (Soleimani وزملاؤه، 2011).

كذلك أشار Cedraz وزملاؤه (2017) إلى أنه تحت بيئة الإجهاد، تعبر مورثات HSP70 و HSP90 بشكل أعلى عند الدجاج المحلي مقارنة مع هجن الفروج، وفسر Ecdj (2013) و Ojano- Dirain و Waldroup (2002) ذلك بأن الهجن التجارية محسنة وراثياً للصفات الإنتاجية، لذا فإن مقاومتها للإجهاد الحراري تنخفض، إذ تصبح عملية الأيض أكثر سرعة، مما يؤدي إلى ضعف التنظيم الحراري (Mariante وزملاؤه، 2009)، بعكس الدجاج المحلي الذي يعد أكثر تكيفاً مع البيئات التي يعيش فيها، إلا أن مؤشرات الإنتاجية منخفضة كونه لم يخضع للتحسين الوراثي (Sagrilo وزملاؤه، 2003)، وقد أثبت أنه مع وجود تعبير عال لمورثة HSP70 لم تظهر أعراض الإجهاد على السلالات المحلية أثناء الإجهاد الحراري، بينما أظهر دجاج الخط التجاري مستوى عالياً من الإعياء، مما يشير إلى أن المورثات لعبت دوراً وقائياً في الدجاج المحلي (Cedraz وزملاؤه، 2017).

هناك بعض مواقع التعددية الشكلية التي يمكن استخدامها لتمييز الدجاج الأكثر تحملاً لارتفاع درجات الحرارة (Gaviol وزملاؤه، 2008)، كما تم ملاحظة وجود ثلاثة قرائن مختلفة لمورثة HSP70 (HSP701, HSP702, HSP703)، مما سهّل إمكانية استخدام هذا الاختلاف في مجال التربية لإنتاج هجن تجارية أكثر تحملاً للحرارة (Mazzi وزملاؤه، 2003).

الفصل الثالث

مبررات البحث

وأهدافه

تعد قلة الدراسات على الدجاج المحلي وأنظمته الإنتاجية سمة من سمات العديد من الدول النامية (Kondombo وزملاؤه، 2003)، إذ يهمل في برامج التحسين الوراثي نتيجة لإدخال الهجن المؤصلة عالية الإنتاج (Horst، 1989).

وهذا ينطبق على الدجاج المحلي في سورية، إذ يمكن أن يكون من الطيور المهمة من حيث مخزونه الوراثي، إلا أنه أهمل خلال السنوات الماضية وخاصةً بعد إدخال الهجن التجارية في السبعينيات من القرن الماضي، ولم يلقَ الاهتمام على المستوى المطلوب من الدراسة والبحث العلمي، ولم يتم توصيفه حتى الآن على المستوى الجزيئي. كما أدى الاعتماد على الهجن المستوردة في الإنتاج إلى تقليل الاعتماد عليه وتناقصت أعدادها مما شكل تهديداً على بقائه، لذا يوجد نقص في المعلومات الوراثية المتعلقة بإنتاجية الدجاج المحلي وتأقلمه ومقاومته للأمراض وتنوعه الوراثي والعلاقات الوراثية بين مجموعاته أو أنماطه الظاهرية.

كما ويبين مربّي الدجاج المحلي أنه أكثر مقاومة للإجهاد الحراري من معظم السلالات والهجن الأجنبية المؤصلة المدخلة، لذلك فإن الفهم العميق للآليات الوراثية التي تستخدمها طيور الدجاج المحلي في الاستجابة لمقاومة الإجهاد الحراري يمكن أن يساعد في تطوير استراتيجيات التدخل المستقبلية لزيادة مقاومة الدجاج للإجهاد، بما في ذلك برامج التحسين الوراثي باستخدام المورثات الفاعلة في زيادة مقاومة الإجهاد الحراري والاستفادة من الطرز الوراثية المحلية المتكيفة مع البيئة المحلية، وبالتالي إمكانية إنتاج مجموعات من الطيور أكثر قدرة على التكيف مع ارتفاع درجات الحرارة.

وهنا تبرز أهمية التقانات الوراثية الجزيئية كأسلوب حيوي يساهم في التعرف على هذه الحيوانات وتنوعها وموروثها الجزيئي، واستخدام هذه التقانات المتاحة للكشف عن التنوع الوراثي للدجاج المحلي وتوضيح قدرته على التكيف مع الظروف المحلية وخاصة موجات الحرارة العالية من خلال دراسة التعبير المورثي لمورثة الإجهاد الحراري عنده.

يسعى الباحثون عامة إلى كشف وتحديد التنوع الوراثي والاختلافات الوراثية بين الطرز المحلية كخطوة في برامج حفظ التنوع الوراثي ضمن برامج حماية البيئة العامة، كونها ذخيرة وراثية قد يستفاد منها في برامج التحسين الوراثي مستقبلاً، وقد تشكل مصادر وراثية في الظروف غير المناسبة كالجفاف والأمراض الوبائية والإجهاد الحراري (Olden Broek، 1999).

لذا فإن هذا البحث يمثل الخطوة الأولى لتحديد التباينات الوراثية لأنماط ظاهرية مختلفة من الدجاج المحلي في سورية وتقدير كفاءته في مقاومة الإجهاد الحراري مقارنة بإحدى الهجن المستوردة، وهذا يساعد على حفظه والاستفادة من هذه البيانات لاحقاً نظراً لأهميته.

لذلك يهدف هذا البحث إلى:

- دراسة القرابة الوراثية لثلاثة أنماط ظاهرية للدجاج المحلي في سورية بالمقارنة مع أمات دجاج البيض للخلط HN المستورد من إسبانيا باستخدام تقنية التكرارات البسيطة الترادفية الداخلية ISSR.
- دراسة التعبير المورثي لبعض المورثات المسؤولة عن تصنيع بروتينات الصدمة الحرارية.

الفصل الرابع

مواد البحث

وطرائقه

١-مكان تنفيذ البحث:

نُفذت تجربة تقدير القرابة الوراثية على عينات دم لثلاثة أنماط ظاهرية من الدجاج المحلي وهجين أمات دجاج البيض HN في مخبر التقانات الحيوية التابع لقسم المحاصيل الحقلية في كلية الزراعة بجامعة دمشق.

وفي تجربة التعبير المورثي، تم رعاية صيصان التجربة وتطبيق الإجهاد الحراري بعمر أربعة أشهر عليها في مزرعة كلية الزراعة أبو جرش، ودُرس التعبير المورثي لمورثات الإجهاد الحراري في مخابر الهيئة العامة للتقانة الحيوية.

٢-دراسة التنوع الوراثي

٢-١- المادة الحيوانية لدراسة القرابة الوراثية:

تم جمع (30) عينة دم [(5) عينات دم من أمات دجاج البيض للخلط المستورد HN من منشأة دواجن صيدنايا التابعة للمؤسسة العامة للدواجن، و(25) عينة دم للدجاج المحلي تم الحصول عليها من مناطق مختلفة من دمشق وريفها (أبو جرش-جديدة عرطوز- يعفور- نهر عيشة)]، قُسمت عينات دم الدجاج المحلي إلى ثلاث مجموعات حسب نمطها الظاهري اللوني [(6) عينات دم للدجاج المحلي الرزي، (10) عينات دم للدجاج المحلي البني فاتح اللون والخالي من التمججات اللونية، (9) عينات دم للدجاج المحلي الاسود لا يحتوي على تموجات لون أحمر أو ألوان أخرى اللون]].

سُحبت عينات الدم من الوريد الجناحي للطيور بمقدار (2) مل، ووضعت في أنابيب تحتوي مانع تخثر EDTA، ثم نُقلت العينات مبردةً في الثلج لتخزن في درجة حرارة (-20)°م حتى موعد استخلاص الـ DNA.

٢-٢- استخلاص الحمض النووي الريبي منقوص الأكسجين DNA:

استُخلص الحمض النووي الريبي منقوص الأكسجين DNA وذلك وفقاً لطريقة (Benson، 1999). حسب الخطوات التالية:

وضع 1 مل دم في أنبوب، وأُضيف إليها 1 مل من محلول حال للخلايا [0.32 mM سكروز، Tris-Hcl 10 mM، PH=7.6، Mgcl₂ 5 mM، 1% (TritonR x-100)]، وتُفل بسرعة 4000 rpm لمدة 5 دقائق، وكُرّرت هذه العملية مرةً ثانيةً، ثم أُضيف بعد ذلك 500 µl من محلول هضم البروتين [Tris-Hcl 10mM، PH=8، Nacl 10 mM، EDTA 10 mM] إلى الأنبوب وتُفل بسرعة 4000 rpm، وبعدها أُضيف 225 µl من محلول هضم البروتين و 25 µl من محلول البروتياز (K) [10 ml/mg] إلى الأنبوب من أجل التخلص من البروتينات، ثم حُصّنت العينات في حمام مائي على درجة حرارة 65° م مع التحريك المستمر لمدة 30 إلى 40 دقيقة، ثم وُضعت العينات في البراد على درجة حرارة 4° م لمدة 5 دقائق، وأُضيفت للعينات كمية من مادة (24:1) Chloroform/Isoamyl Alcohol مماثلة لكمية محلول الاستخلاص، ثم حُرّكت الأنبوب برفق مدة عشر دقائق، وتُركت لمدة عشرين دقيقة مع التحريك في درجة حرارة 4° م.

وُضعت الأنبوب بعد ذلك في جهاز الطرد المركزي على سرعة 10000 rpm لمدة عشر دقائق على حرارة 4° م، حيث تم في هذه المرحلة فصل المزيج إلى طورين، نُقل الطور العلوي بحذر إلى أنابيب Eppendorf جديدة سعة 1.5 مل، وأُعيد تنقيته مرة أخرى بكمية مماثلة من مادة Chloroform/Isoamyl Alcohol (24:1)، ثم أُضيف 500 ميكرو ليتر من isopropanol المبرد على حرارة -20° م مع التحريك بلطف، وتُركت العينات بعدها على درجة حرارة -20° م لليوم التالي، وذلك من أجل ترسيب الحمض النووي، وفي اليوم التالي أُعيد التنقيط بجهاز الطرد

المركزي بسرعة 10000 rpm لمدة عشر دقائق، وتم التخلص من الرشاحة وأضيف 200 µl من محلول إيتانول 70 % لراسب الحمض النووي DNA.

تُفَلَّت بعد ذلك بالمتفلة على سرعة 10000 rpm لمدة عشر دقائق، وجُفِّف راسب الحمض النووي DNA على حرارة 37°م مدة عشر دقائق، حُل الحمض النووي DNA في 50 µl من محلول TE المكون من [10 mM Tris-Hcl، 1 mM EDTA، PH=8] على درجة 4°م. وتم التخلص من الحمض النووي RNA بإضافة 2 µl من أنزيم RNase (10 mg/ml)، والتحصين على درجة 37°م مدة نصف ساعة. ومن ثم حُفِظَت العينات بدرجة حرارة 4°م لمدة 24 ساعة، ثم حُزِنَت على حرارة -20°م لحين الاستخدام.



الشكل (2) عينة DNA

تم تمديد الحمض النووي DNA بالماء المقطر والمعقم، ثم أُجِري تضخيم الـ DNA بجهاز الـ PCR (Polymerase Chain Reaction) باستخدام (11) بادئة ISSR.

٣-٢- تضخيم الحمض النووي الريبي منقوص الأكسجين DNA Amplification:

أُجري تفاعل التسلسل البوليميرازي PCR وفقاً لـ (Williams) وزملائه، (1990) مع بعض التعديلات. وقدّر حجم التفاعل النهائي 25 µl باستخدام Master mix (تم الحصول عليها من شركة Fermentas, Germany)، ويتكون التفاعل من 1 µl من البادئة بتركيز (10 mM)، 12.5 µl من Master mix، و 8.5 µl ماء مقطرو 3.5 µl من الـ DNA بتركيز (40 µl/ng) وتم هذا التفاعل في جهاز التدوير الحراري بالظروف التالية:

- يحدث انفصال سلاسل (DNA) المزدوجة عند درجة حرارة 94 °م لمدة 5 دقائق.

- 40 دورة تتضمن كل منها المراحل التالية:



الشكل (3) جهاز التدوير الحراري PCR

يستمر انفصال السلاسل عند درجة حرارة 94 °م مدة 30 ثانية. ثم يتم التحام (DNA) القالب مع البادئة حسب درجة حرارة البادئات الموجودة في الجدول (2)، وذلك لمدة 30 ثانية. يتم تصنيع السلاسل الجديدة عند درجة حرارة 72 °م لمدة 30 ثانية، ويستمر التفاعل حتى يكتمل على نفس درجة الحرارة 72 °م لمدة عشر دقائق.

جدول (2): التسلسل النكليوتيدي ودرجة حرارة البادئات المستخدمة في تقنية ISSR

متسلسل	رمز البادئ المستخدم	التسلسل النكليوتيدي	درجة الحرارة للبادئ (°م)
1	P _{230/5}	(CT)8GC	50
2	P ₅	(GT)8TC	50
3	P _{230/4}	(GA)8GC	52
4	P _{230/32}	(CT)7CC	52
5	P _{230/33}	(TC)8GC	52
6	P _{230/35}	(GA)8AC	52
7	P _{230/37}	(CTG)3G	52
8	P _{230/43}	(CA)8GC	52
9	P ₆	(GCT)3G	56
10	P ₉	(AG)8CG	56
11	P ₁₄	(GT)8AG	56

بمجرد الانتهاء من تفاعل PCR أُضيف إلى الأنابيب (10 µl) من محلول Stop Sequencing الذي يتكون مما يلي: [9.6 µl من 99 % Formamide ; 0.005 غ Bromophenol Blue ; 0.005 غ Xylene Cyanol ; 384.1 µl ماء مقطر ومعقم]، ثم حُفظت العينات في درجة حرارة (-20°م) لفصل الحزم بعدها بالرحلان الكهربائي على هلام 2 % آغاروز.

٢-٤- الرحلان الكهربائي Electrophoresis:

تم فصل نواتج التضخيم وتحديد الاختلاف في حجم الحزم الناتجة عن تفاعل الـ PCR بالرحلان الكهربائي، حيث تتجه نواتج التضخيم ذات الشحنة السالبة من القطب السالب إلى القطب الموجب اعتماداً على الوزن الجزيئي، ويكون رحلان القطع الصغيرة أسرع من القطع الكبيرة، وباستخدام صبغة الإيثيديوم برومايد (ETBR) يظهر الحمض النووي DNA على شكل حزم على الهلامية عند التعرض للأشعة فوق البنفسجية.

استُخدمت للرحلان هلامية الآغار (2 %)، حُضرت بإضافة 2 غ من الآغاروز إلى 100 ml من المحلول المنظم TBE 1x حيث:

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



الشكل (4) جهاز الرحلان الكهربائي

٥-٢- تلوين هلامة الآغاروز:

تم تلوين الهلامة بوضعها في حوض يحوي 200 مل 1 x TBE ممزوجاً بـ 5 µl صبغة الإيثيديوم برومايد (50 مغ/مل) وترك في الحوض لمدة نصف ساعة. ثم شوهدت حزم الـ DNA بوجود الأشعة فوق البنفسجية UV-light وصوّرت الهلامة الحاوية على الحزم، وحُللت صور الهلامات، وحُدّد الوزن الجزيئي لقطع DNA المكاثرة مع البادئات المختلفة، وجمعت نتائج كل البادئات والبيانات الخاصة بها في جداول خاصة لاستخدامها لاحقاً في التحليل.

٦-٢- التحليل الإحصائي:

تم جمع نتائج عملية الرحلان الكهربائي في جداول اعتماداً على مقارنة وجود أو غياب حزم الحمض النووي DNA بين العينات التي جمعت من مواقع مختلفة، إذ أُعطي الرقم (1) عند وجود حزمة DNA ذات وزن جزيئي محدد عند أي عينة، والرقم (0) لعدم وجودها، وقد نُظّمت الجداول لكل بادئة على حده (Zhi-Peng وزملاؤه، 2007).

حُدّدت درجة القرابة الوراثية، ورسمت شجرة القرابة الوراثية Dendrogram بين طرز الدجاج المدروسة بتطبيق طريقة التحليل العنقودي Cluster Analysis باستخدام برنامج (1.31) Popgene الإحصائي (1988)، إذ يسمح التحليل العنقودي بتقسيم الطرز المدروسة إلى مجموعات، وتعكس هذه المجموعات درجة القرابة الوراثية فيما بينها، ولهذا شكلت مصفوفة النسب المئوية للتوافق Percent Agreement Values (PAV)، وقد تم إنشاء هذه المصفوفة وفقاً لعدد وحدات التضاعف المشتركة، بتطبيق متوسطات المجموعات الزوجية غير الموزونة Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averaging (UPGMA)، إذ أن ارتفاع قيم هذه المصفوفة يدل على وجود قرابة وراثية، وبازديادها تزداد القرابة الوراثية بين العينات المدروسة (Nei، 1987).

وَحُسِبَت قيم معامل التعددية الشكلية Polymorphism Information Content (PIC) للبادئات المستخدمة وفق المعادلة:

$PIC = [\sum 2P_i(1 - P_i)]$ ، حيث P_i تكرارية الحزم i^{th} الناتجة عن استخدام البادئ من جميع العينات المدروسة (Botstein وزملاؤه، 1980؛ Mohammadi وPrasanna، 2003).

وتعكس هذه القيمة قدرة البادئات المستخدمة في الكشف عن التباين الوراثي بين عينات الدجاج المدروسة، فإذا كانت قيمة $PIC < 0.5$ يعتبر البادئ فعال جداً في الكشف عن التباين الوراثي بين العينات المدروسة، وإذا كانت قيمته تتراوح بين 0.25-0.50 فيعتبر البادئ مقبول، أما إذا كانت قيمته أقل من 0.25 فيعتبر البادئ قليل الفائدة في الكشف عن التباين الوراثي بين العينات المدروسة.

٣-دراسة التعبير المورثي لمورثتي الإجهاد الحراري HSP70 – HSP90

٣-١- المادة الحيوانية:



فُرِّخت (100) بيضة من بيض الدجاج المحلي والتي تم الحصول عليها من مناطق مختلفة من ريف دمشق، وتم رعاية الصيصان الناتجة مدة ثلاثة أسابيع، بعدها تم اختيار الطيور المتماثلة باللون لتشكيل

مجموعات التجربة، وهي 10 طيور سوداء لا تحتوي على تموجات لون أحمر أو ألوان أخرى (5 مريشة الأرجل و5 غير مريشة الأرجل) و10 طيور رزية (5 مريشة الأرجل و5 غير مريشة الأرجل)، كما تم الحصول على 10 صيصان من قطيع أمات دجاج البيض HN من مدجنة صيدنايا التابعة للمؤسسة العامة للدواجن،

تمت رعاية المجموعات الثلاث بظروف حظيرة مفتوحة وقدم العلف المحبب والماء بشكل حر (ad libitum).

كان محتوى الخلطة العلفية من الطاقة الاستقلابية 2700 ك.ك/كغ، ونسبة البروتين الخام 17 %، وكانت نسبة ME/P تساوي 158.8.

٣-٢- الإجهاد الحراري وجمع العينات:

بعمر (17) أسبوعاً، أُخذ (2) مل دم من الوريد الجناحي لطيور كل مجموعة قبل تطبيق عملية الإجهاد، ووُضعت في أنابيب تحوي مانع تخثر EDTA، واستُخلص الـ RNA مباشرة باستخدام كيتات الاستخلاص QiAamp RNA Blood Mini Kit (50 حسب التعليمات الموضوعة من قبل الشركة المصنعة (Qiagen الألمانية)، وحُفظ بدرجة حرارة (-4°م) لحين إجراء تفاعل Real Time PCR، ثم طُبّق عليها الإجهاد الحراري لفترة أربعة أيام وذلك برفع درجة الحرارة إلى (40°م ± 2) نهاراً و(27°م ± 2) ليلاً، وكان العلف والماء متاحاً بشكل حر خلال فترة الإجهاد، وفي نهاية فترة الإجهاد أُخذت عينات الدم من الوريد الجناحي للطيور المجعدة، واستُخلص الـ RNA كالسابق وحُفظ حتى موعد إجراء تفاعل Real Time PCR.



الشكل (6) ظهور علامات الإجهاد على طيور المجموعات الثلاث
(مجموعة HN مجموعة الطيور المحلية الرزي، مجموعة الطيور المحلية السوداء اللون)

٣-٣- استخلاص الـ RNA:

تم استخلاص الـ RNA باستعمال كيت (50) QiAamp RNA Blood Mini Kit حسب التعليمات الموضوعة من قبل الشركة المصنعة (Qiagen الألمانية)، وفق برنامج العمل المرفق باتباع الخطوات التالية:

١- مزج (0.3) مل دم مع (1.5) مل من محلول EL في أنابيب (2) مل وحُضنت بالثلج مدة (10-15) دقيقة مع رج مرتين خلالها.

٢- تتفيل بسرعة (500) rpm لمدة (10) دقائق على درجة حرارة (4°م)، ثم التخلص من الرشاحة.

٣- يضاف (1) مل من محلول EL للأنبوب ويرج بهدوء.

٤- تتفيل بسرعة (500) rpm لمدة (10) دقائق على (4°م)، ثم التخلص من الرشاحة.

٥- إضافة (350 µl) من محلول RLT ثم يرج، (يجب إضافة (10 µl) من بيتاميركبتوايثانول لكل (1) مل من RLT قبل الاستعمال مباشرة).

٦- ينقل المزيج السابق إلى عمود الترشيح الموف، ثم طرد مركزي على أعلى سرعة لمدة دقيقتين، والتخلص من عمود الترشيح والحفاظ على الرشاحة.

٧- إضافة (350 µl) إيثانول 70 % للأنبوب ومزج بالماصة.

٨- نقل المزيج إلى عمود الترشيح الأبيض، ثم تتفيل لمدة (15) ثانية على (10000) rpm، ثم التخلص من الرشاحة مع الأنبوب.

٩- نقل عمود الترشيح إلى أنبوب (2) مل جديد، ثم إضافة (700 µl) من محلول RW1 إلى عمود الترشيح، ثم تتفيل لمدة (15) ثانية على (10000) rpm، ثم التخلص من الرشاحة والأنبوب.

١٠- نقل عمود الترشيح إلى أنبوب (2) مل جديد، وإضافة (500 µl) من محلول RPE إلى عمود الترشيح، ثم تثفيل لمدة (15) ثانية على (10000 rpm) والتخلص من الرشاحة فقط.

١١- نقل عمود الترشيح إلى أنبوب (2) مل جديد، وإضافة (500 µl) من محلول RPE إلى عمود الترشيح، ثم تثفيل لمدة (3) دقائق على (25000 rpm). ثم التخلص من الرشاحة فقط.

١٢- تثفيل على أعلى سرعة لمدة دقيقة واحدة والتخلص من الأنبوب.

١٣- نقل عمود الترشيح إلى أنبوب (1.5) مل، وإضافة (50 µl) ماء معقم إلى عمود الترشيح وتثفيل لمدة دقيقة واحدة على (10000 rpm)، ثم التخلص من عمود الترشيح.

٣-٤- تقدير تركيز RNA الكلي والتأكد من نوعيته:

تم تقدير تركيز RNA الكلي بواسطة جهاز قياس الطيف الضوئي (Spectrophotometer) نوع PG INSTRUMENTS LTD، وذلك بقياس الامتصاص عند طول الامواج الضوئية (260) و (280) نانومتر. وكذلك التأكد من نوعية RNA الكلي باستخدام الرحلان الكهربائي على هلامة الأغاروز تركيز (1%). ثم حُزّنت المستخلصات على درجة حرارة (- 20 °م) حتى الاستعمال.



الشكل (7) جهاز قياس الطيف الضوئي

٣-٥- تركيب cDNA (النسخ العكسي من mRNA) ودراسة التعبير المورثي:

تم تصنيع cDNA من mRNA باستخدام تقنية النسخ العكسي (Reverse transcriptase) ومضاعفة المورثات المدروسة ومورثة المقارنة الداخلية (وهي مورثة تعبيرها ثابت دائماً ولا يتغير بتغير عمر الحيوان أو بتغير الظروف البيئية المحيطة) باستخدام بادئات متخصصة جدول (3)

جدول (3) البادئات التي استُخدمت في دراسة الإجهاد الحراري. used for qRT-PCR.

اسم العينة	رمز المورثة	التوصيف	Primer البادئ	Product size (bp)
A_87_P085771	HSP90 AA1	Heat shock protein 90kDa alpha, class A member 1	F: GGTGTTGGTTCCTACTCTGCTTAC R: ACTGCTCATCATCATTGTGCTTGG	76
A_87_P226483	HSP A2	Heat shock 70kDa protein 2	F: CAACCCGATTGTCACAAAACCT R: TTGGCAATGACGTTTTTCCT	182
Internal control gene	GAPDH	Glyceraldehyde-3- phosphate dehydrogenase	F: CATCACAGCCACACAGAAGA R: TGACTTTCCCCACAGCCTTA	122

(Wang وزملاؤه، 2015)



الشكل (8) جهاز Real Time PCR

وذلك باستعمال تقنية Real Time PCR وبواسطة Kapa Sybr Fast One-Step qRT-PCR Protocol بحسب تعليمات الشركة المصنعة في حجم نهائي قدره (20 µl) (جدول 4).

جدول (4) مكونات تفاعل الـ Real Time PCR

المادة	الكمية	التركيز النهائي
KAPA SYBR FAST qPCR Master Mix (2x)	10 µl	1 x
KAPA RTMix (50x)	0.4 µl	1 x
البادئ الأمامي	0.4 µl	200 nM
البادئ العكسي	0.4 µl	200 nM
RNA	2 µl	100 nM
ماء مقطر معقم	6.8 µl	

وذلك وفق البرنامج الحراري التالي:

- المرحلة الأولى (مرحلة تصنيع الـ cDNA): وتتم لمرة واحدة على درجة حرارة (42 °م) لمدة 5 دقائق.
- المرحلة الثانية (مرحلة تثبيط إنزيم النسخ العكسي): وتتم لمرة واحدة على درجة حرارة (95 °م) لمدة 5 دقائق.
- المرحلة الثالثة: وتكرر 40 مرة وتضم الخطوات التالية:
 - مرحلة الفصل: وتتم على درجة حرارة (95 °م) لمدة 3 ثانية.
 - مرحلة الالتحام والاستطالة: تتم على درجة حرارة 60 °م لمدة 20 ثانية.

تم الحصول على قيمة Cycle threshold (C_t) لكل مورثة (وهي عدد حلقات التفاعل التي تبدئ عندها إمكانية قياس الجهاز لشدة التوهج الناتج عن التفاعل)، واستُخدمت هذه القيم في حساب التعبير المورثي للمورثات المدروسة وفق المعادلات التالية:

$$\begin{aligned} C_t &= \Delta C_t \text{ المورثة المدروسة} - C_t \text{ مورثة المقارنة الداخلية} \\ \Delta C_t &= \Delta \Delta C_t \text{ المجموعة المدروسة} - \Delta C_t \text{ الشاهد (HN)} \\ \text{التعبير المورثي} &= 2^{-\Delta \Delta C_t} \end{aligned}$$

وتم دراسة معنوية الفروقات بين متوسطات التعبير المورثي للمورثات المدروسة باستخدام تحليل التباين (ANOVA) وحساب أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى معنوية 99 %.

من أجل دراسة التعبير المورثي لمورثتي بروتين الصدمة الحرارية HSP70 و HSP90 عند الدجاج المحلي مريش الأرجل وغير مريش الأرجل، تم مزج RNA رسول لعينات الدجاج المحلي مريش الأرجل في عينة أولى، ولعينات الدجاج المحلي غير مريش الأرجل في عينة ثانية، ودُرس التعبير المورثي لهاتين المجموعتين دون

حساب الفرق المعنوي بينهما، وطُبق الأمر ذاته عند دراسة التعبير المورثي لمورثتي بروتين الصدمة الحرارية HSP70 و HSP90 عند ذكور وإناث الدجاج المحلي.

الفصل الخامس

النتائج والمناقشة

١-التباين الوراثي بين مجموعات الدجاج المحلي وهجين أمات دجاج البيض HN:

١-١-التعددية الشكلية الناتجة عن تطبيق تقنية ISSR على مجموعات الدجاج

المحلي وهجين أمات دجاج البيض المستورد HN:

تمت الدراسة على ثلاث مجموعات من الدجاج المحلي (رزى R، أسود B، بني Br) إضافة إلى مجموعة أمات دجاج البيض HN، استُخدمت 11 بادئة من بادئات ISSR (جدول 5)، إذ أعطت جميعها منتجات تضخيم في تفاعل البلمرة المتسلسل PCR، وأثبتت فعاليتها في إظهار تعددية شكلية polymorphic بين جميع الطرز المدروسة.

جدول (5) التعددية الشكلية الناتجة عن تطبيق تقنية ISSR على مجموعات الدجاج المحلي ومجموعة HN:

البادئ	عدد الحزم الكلي	عدد الحزم ذات التعددية الشكلية	النسبة المئوية للتعددية الشكلية %	عدد الحزم وحيدة التكرار	النسبة المئوية للحزم وحيدة التكرار %	PIC
P _{230/5}	5	5	100			0.494
P ₅	2	2	100			0.346
P _{230/4}	4	3	75	1	25	0.494
P _{230/32}	5	5	100			0.328
P _{230/33}	2	2	100			0.494
P _{230/35}	15	14	93.33	1	6.67	0.318
P _{230/37}	8	8	100			0.346
P _{230/43}	2	2	100			0.124
P ₆	16	16	100			0.067
P ₉	8	7	87.5	1	12.5	0.452
P ₁₄	11	11	100			0.213
المجموع	78	75		3		
المتوسط	7.09	6.82	96.15		3.85	0.334

وتراوح عدد الحزم لكل بادئة بين 2 حزمة كأقل عدد مع البادئات $P_5, P_{230/33}, P_{230/43}$ ، و16 حزمة كأعلى عدد حزم مع البادئة P_6 ، وبالمتوسط 7.09 حزمة لكل بادئة، ونجم عن استخدام هذه البادئات 78 حزمة، منها 75 حزمة متعددة شكلياً، حيث بلغت النسبة المئوية للتعددية الشكلية 96.15 %، وتراوح عدد الحزم المتعددة شكلياً لكل بادئة بين 2 حزمة مع البادئات $P_5, P_{230/33}, P_{230/43}$ ، و16 حزمة مع البادئة P_6 ، وكانت النسبة المئوية للتعددية الشكلية الأقل 75 % مع البادئة $P_{230/4}$ والأعلى 100 % مع البادئات $P_{230/5}, P_5, P_{230/32}, P_{230/33}$ ، $P_{230/37}, P_{230/43}, P_6, P_{14}$. وكان عدد الحزم وحيدة التكرار 3 حزم، وبلغت النسبة المئوية للحزم وحيدة التكرار 3.85 %، (جدول 5).

وتراوح قيم معامل التعددية الشكلية (PIC) بين 0.067 كأقل قيمة عند البادئ P_6 و 0.494 كأعلى قيمة عند البادئات $P_{230/5}, P_{230/4}, P_{230/33}$ ، وكان متوسط قيمة PIC 0.334، أي أن البادئات المستخدمة مفيدة على نحو مقبول في الكشف عن التباين الوراثي بين عينات الدجاج المدروسة. وقد وُجد أن البادئات $P_6, P_{230/43}, P_{14}$ أعطت قيمة منخفضة لـ PIC وتساوي (0.067-0.124-0.213) على التوالي، وبالتالي لا ينصح باستخدامها لدراسة التنوع الوراثي للدجاج المحلي السوري لاحقاً. أما بقية البادئات فقد أعطت قيمةً متوسطة لـ PIC لذا يمكن استخدامها في الدراسات اللاحقة.

تحديد درجة القرابة الوراثية بين طرز الدجاج المحلي المدروسة وهجين أمات دجاج البيض HN:

دُرست العلاقة الوراثية لطرز الدجاج المحلي وأمات دجاج البيض المدروسة (HN) بتطبيق مصفوفة النسب المئوية للتوافق (PAV) Percent Agreement Values، وبشكل عام يدل ارتفاع قيم هذه المصفوفة على وجود قرابة وراثية ضمن طرز الدجاج المحلي، وبازديادها تزداد القرابة الوراثية بين المجموعات المدروسة، ويتم إنشاء المصفوفة وفقاً لعدد وحدات التضاعف المشتركة، هذا ويمكن الاستفادة من

تحديد درجة القرابة الوراثية ضمن النوع بشكل عام في برامج التحسين الوراثي في حال توفرت قاعدة وراثية كبيرة (تباين وراثي عالي).

١-٢- مصفوفة PAV لمجموعات الدجاج المحلي وهجين أمات دجاج البيض HN:

يُلاحظ من الجدول (6) أن أعلى قيمة لمصفوفة النسب المئوية للتوافق (PAV) بلغت (0.78) بين مجموعة أمات دجاج البيض HN ومجموعة الطيور المحلية الرزي، وبالتالي فإن منشأ الدجاج المحلي الرزي وفقاً للنتائج هو أوروبي، تلاه بين المجموعتين المحليتين البني والأسود، إذ بلغت قيمة PAV (0.64)، وبسبب عدم انفصاله مع المجموعة الأوروبية لذا يُعتقد بأن منشأهما آسيوي، وبلغت أصغر قيمة لمصفوفة النسب المئوية للتوافق (0.49) بين مجموعة HN ومجموعة الطيور المحلية السوداء اللون، حيث أن أحدهما منشؤه أوروبي والآخر آسيوي.

جدول (6) مصفوفة النسب المئوية للتوافق (PAV) للمجموعات المدروسة الأربعة:

مجموعة هجين أمات دجاج البيض HN	مجموعة الطيور المحلية بنية اللون BR	مجموعة الطيور المحلية الرزية R	مجموعة الطيور المحلية سوداء اللون B	
<u>0.49</u>	0.64	0.58	*	مجموعة الطيور المحلية سوداء اللون B
<u>0.78</u>	0.61	*		مجموعة الطيور المحلية الرزية R
0.50	*			مجموعة الطيور المحلية بنية اللون BR
*				مجموعة هجين أمات دجاج البيض HN

٣-١- التحليل العنقودي Cluster analysis:

يسمح التحليل العنقودي بتقسيم العينات المدروسة إلى مجموعات تعكس درجة القرابة الوراثية فيما بينها، وقد تتجمع العينات ضمن مجموعة واحدة بناءً على منشأها أو موطنها الأصلي أو بناءً على أصلها ونسبها، أجري التحليل العنقودي للنتائج التي تم الحصول عليها، وذلك لإنشاء شجرة القرابة الوراثية Dendrogram لتحديد درجة القرابة الوراثية.

١-٣-١- التحليل العنقودي للطرز المدروسة لمجموعة الدجاج المحلي ومجموعة هجين أمات دجاج البيض HN:

انقسمت شجرة القرابة الوراثية لمجموعات الطيور المحلية ومجموعة هجين أمات دجاج البيض HN وفقاً لأصلها الجغرافي إلى عنقودين:

- عنقود أول: ضم مجموعة الطيور المحلية الرزية ومجموعة أمات دجاج البيض HN، بمسافة وراثية قدرها (12.00)، وهما مجموعتان منشأهما أوروبي.
- عنقود ثاني: ضم مجموعة الطيور المحلية البنية اللون والسوداء اللون، بمسافة وراثية أكبر قدرها (24.06)، وهما مجموعتان يُعتقد أن منشأهما آسيوي.



شكل (9) شجرة القرابة الوراثية لمجموعات الطيور المحلية ومجموعة هجين أمات دجاج البيض HN

٢-التباين الوراثي ضمن مجموعة الدجاج المحلي الرزي R وهجين أمات دجاج البيض HN:

٢-١- التعددية الشكلية الناتجة عن تطبيق تقنية ISSR على الدجاج المحلي الرزي وهجين أمات دجاج البيض HN:

تضمنت الدراسة اختبار ستة تراكيب وراثية للدجاج المحلي الرزي وخمسة تراكيب وراثية من أمات دجاج البيض (HN)، استُخدمت (11) بادئةً من بادئات ISSR (جدول 7). أعطت تسع بادئات منها منتجات تضخيم في تفاعل البلمرة المتسلسل PCR، وأثبتت فعاليتها في إعطاء تعددية شكلية بين الطرز المدروسة (جدول 7).

جدول (7) التعددية الشكلية الناتجة عن تطبيق تقنية ISSR على مجموعة الدجاج المحلي الرزي وهجين أمات دجاج البيض HN:

البادئات	عدد الحزم الكلي	عدد الحزم ذات التعددية الشكلية	النسبة المئوية للتعددية الشكلية %	عدد الحزم وحيدة التكرار	النسبة المئوية للحزم وحيدة التكرار %	PIC
P 230/5	6	6	100	-	-	0.500
P 5	2	2	100	-	-	0.496
P 230/4	3	2	66.67	1	33.33	0.334
P 230/32	7	7	100	-	-	0.408
P 230/33	9	9	100	-	-	0.414
P 230/35	12	11	91.67	1	8.33	0.390
P 230/37	12	11	91.67	1	8.33	0.397
P 9	10	9	90	1	10	0.476
P 14	12	12	100	-	-	0.359
المجموع	73	69		4		
المتوسط	8.11	7.67	94.57	0.44	5.43	0.419

نجم عن استخدام هذه البادئات 73 حزمةً، وتراوح عدد الحزم لكل بادئة بين 2 كأقل عدد مع البادئة P_5 و 12 كأعلى عدد مع البادئات P_{14} , $P_{230/37}$, $P_{230/35}$ بمتوسط 8.11 حزمةً لكل بادئة، إذ أعطت جميع هذه البادئات تعددية شكلية Polymorphic، إذ بلغت النسبة المئوية للتعددية الشكلية 94.57 %، وتراوح عدد الحزم المتعددة شكلياً لكل بادئة 2 مع البادئات P_5 , $P_{230/4}$ و 12 مع البادئة P_{14} ، وكانت النسبة المئوية للتعددية الشكلية الأقل 66.67 % مع البادئة $P_{230/4}$ والأعلى 100 % مع البادئات $P_{230/5}$, P_5 , $P_{230/32}$, $P_{230/33}$, P_{14} . بينما وُجد أربع حزم وحيدة التكرار Monomorphic، وبلغت النسبة المئوية للحزم وحيدة التكرار 5.43 %.

وتراوحت قيم معامل التعددية الشكلية (PIC) بين 0.334 كأقل قيمة عند البادئ $P_{230/4}$ و 0.5 كأعلى قيمة عند البادئ $P_{230/5}$ ، وكان متوسط قيمة PIC 0.419، أي أن البادئات المستخدمة مفيدة على نحو مقبول في الكشف عن التباين الوراثي بين عينات الدجاج المدروسة. وقد وُجد أن البادئ $P_{230/5}$ أعطى قيمة مرتفعة لـ PIC وتساوي 0.5، وبالتالي ينصح باستخدامها لدراسة التنوع الوراثي للدجاج المحلي السوري الرزي في الدراسات اللاحقة. أما بقية البادئات فقد أعطت قيمةً متوسطة لـ PIC.

٢-٢- عدد الحزم الفريدة الموجودة والغائبة لمجموعة الطرز الوراثية من الرزي وهجين أمات دجاج البيض HN:

يبين الجدول (8) وجود (26) حزمة فريدة في الطرز المدروسة من الرزي وهجين أمات دجاج البيض HN، منها (23) حزمة موجودة و (3) حزم غائبة، وقد ميزت هذه الحزم معظم الطرز المدروسة.

جدول (8) عدد الحزم الفريدة الموجودة والغائبة لمجموعة الطرز الوراثية من الرزي وهجين أمات دجاج البيض HN:

الطرز الوراثي	عدد الحزم الفريدة الموجودة	عدد الحزم الفريدة الغائبة	المجموع
R ₁	+1	-1	2
R ₂	+8	-	8
R ₃	+4	-	4
R ₄	-	-1	1
R ₅	+9	-	9
R ₆	-	-1	1
المجموع لمجموعة الرزي	22	3	25
HN ₁	-	-	0
HN ₂	-	-	0
HN ₃	-	-	0
HN ₄	+1	-	1
HN ₅	-	-	0
المجموع لمجموعة دجاج أمات البيض HN	1	-	1
المجموع الكلي	23	3	26

يجدر الملاحظة أن مجموعة الطيور المحلية الرزية قد امتلكت (25) حزمة فريدة، بينما هجين أمات دجاج البيض (HN) امتلك حزمة فريدة واحدة فقط عند الفرد HN₄، وهذا يدل على التنوع الوراثي الكبير ضمن مجموعة الطيور المحلية الرزية، والتجانس الوراثي ضمن مجموعة هجين أمات دجاج البيض HN والذي استطاعت البادئات المدروسة الكشف عنه، فكلما زاد عدد الحزم الفريدة دل ذلك على وجود تنوع وراثي كبير، وقد امتلك الطراز R₅ أكبر عدد من الحزم الفريدة بمعدل (9) حزم، بينما بلغ أقل عدد من الحزم الفريدة لمجموعة الرزي حزمة واحدة للطرازين R₄، R₆.

ومن الجدول (9) نلاحظ أن البادئات المستخدمة امتلكت القدرة على تمييز الطرز المدروسة، حيث أعطى البادئ P_{230/35} أكبر عدد من الحزم الفريدة وبلغ عددها (6) حزم، كما أعطت البادئات P_{230/4}، P₅، P_{230/5} حزمة فريدة واحدة فقط.

جدول (9) عدد الحزم الفريدة الكلية لكل بادئ لمجموعة الرزي وHN

عدد الحزم	البادئ
1	$P_{230/5}$
1	P_5
1	$P_{230/4}$
4	$P_{230/32}$
3	$P_{230/33}$
6	$P_{230/35}$
3	$P_{230/37}$
-	$P_{230/43}$
-	P_6
3	P_9
4	P_{14}
26	المجموع

٣-٢- مصفوفة PAV لمجموعة الدجاج المحلي الرزي وهجين أمات دجاج البيض :HN

يُلاحظ من الجدول (10) أن أعلى قيمة لمصفوفة النسب المئوية للتوافق ضمن مجموعة هجين أمات دجاج البيض HN بين التركيبين الوراثيين (HN_3 ، HN_2) بلغت (0.99)، تلاهما بين التركيبين الوراثيين (HN_1 ، HN_2) وكذلك بين (HN_5 ، HN_4)، إذ بلغت (0.95)، وهذا يدل على وجود درجة قرابة عالية بين هذه الأفراد، وبلغت أقل قيمة لمصفوفة النسب المئوية للتوافق ضمن مجموعة هجين أمات دجاج البيض HN بين (HN_4 ، HN_3) إذ بلغت (0.86)، وهذا يدل على التجانس ووجود درجة قرابة عالية ضمن أفراد هجين أمات دجاج البيض HN مما يدل على نقاوة الهجين واعتماده كخُلط في إسبانيا.

أما ضمن مجموعة الدجاج المحلي الرزي، فقد بلغت أعلى قيمة لمصفوفة النسب المئوية للتوافق (0.94) بين الفردين الوراثةيين (R_6, R_1) وهذا يدل على أنهما على درجة كبيرة من القرابة الوراثةية إذ إنهما من منطقة واحدة (منطقة جديدة عرطوز)، تلاهما الفردان (R_6, R_4) بـ (0.89) وهما من منطقتين مختلفتين (أبو جرش وجديدة عرطوز)، بينما بلغت أصغر قيمة للمصفوفة النسب المئوية للتوافق (0.68) بين الفردين (R_5, R_2)، ما يدل على انخفاض نسبة التجانس وجود تباين وراثي كبير بينهما، وبالتالي ليس هناك تجانس وراثي كبير ضمن أفراد الدجاج الرزي بالمقارنة مع الخلط المستورد، وهذا ناتج عن عملية الخلط التي تعرض لها نتيجة التربية العشوائية وعدم تطبيق أو وجود برنامج انتخابي فعال يهدف إلى التحسين الوراثي لأفراد الطراز الرزي في سورية.

جدول (10) مصفوفة النسب المئوية للتوافق (PAV) للدجاج المحلي الرزي والخلط HN:

الأفراد المدروسة	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	HN_1	HN_2	HN_3	HN_4	HN_5
R_1	*	0.82	0.81	0.86	0.71	<u>0.94</u>	0.84	0.89	0.90	0.77	0.80
R_2		*	0.81	0.82	<u>0.68</u>	0.82	0.71	0.76	0.77	0.67	0.67
R_3			*	0.84	0.78	0.80	0.73	0.77	0.76	0.68	0.69
R_4				*	0.74	0.89	0.81	0.84	0.83	0.80	0.78
R_5					*	0.70	0.73	0.72	0.71	0.66	0.68
R_6						*	0.83	0.88	0.89	0.79	0.81
HN_1							*	0.95	0.94	0.89	0.91
HN_2								*	<u>0.99</u>	0.87	0.91
HN_3									*	<u>0.86</u>	0.90
HN_4										*	0.95
HN_5											*

٢-٤- التحليل العنقودي للطرز المدروسة الناتج عن استخدام تقنية ISSR لمجموعة الرزي وHN:

انقسمت شجرة القرابة الوراثية لمجموعة الطيور المحلية الرزي وهجين أمات دجاج البيض HN إلى مجموعتين:

- مجموعة أولى: ضمت فرداً واحداً فقط هو R_5 ، وهي أنثى مصدره مزرعة أبي جرش، وقد تميزت بوجود (9) حزم فريدة موجودة، وهو الفرد الوحيد الذي يمتلك عرف وردي.

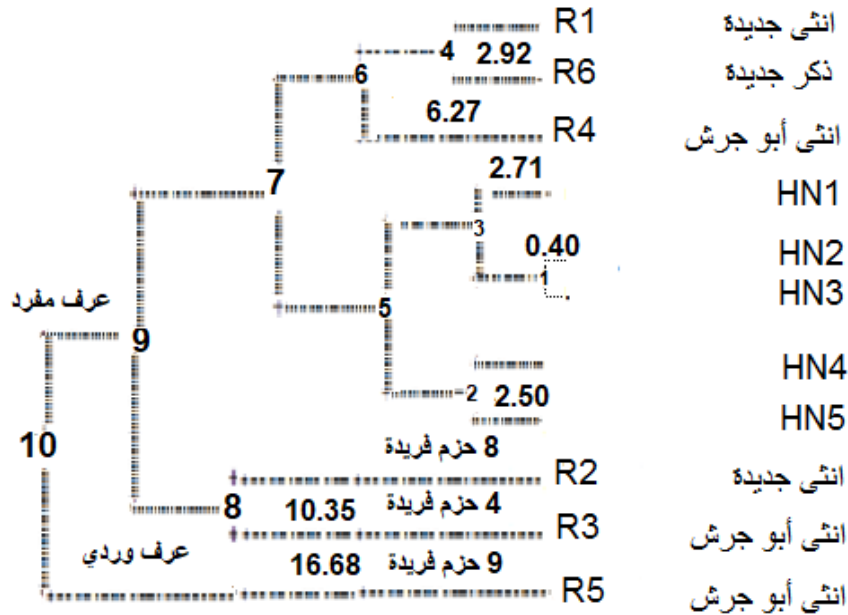
- مجموعة ثانية: ضمت بقية الأفراد ذات العرف المفرد، وقد انقسمت بدورها إلى تحت مجموعتين:

١- تحت مجموعة أولى: ضمت الفردين (R_2) وهي أنثى مصدرها مزرعة جديدة عرطوز و(R_3) وهي أنثى مصدرها مزرعة أبي جرش بمسافة وراثية قدرها (10.35). حيث تميز الفرد R_2 بثمان حزم فريدة وتميز R_3 بأربع حزم فريدة.

٢- تحت مجموعة ثانية: ضمت بقية الأفراد، حيث انفصلت إلى تحت تحت مجموعتين:

■ تحت تحت المجموعة الأولى: ضمت مجموعة هجين أمات دجاج البيض (HN)، وكانت الأقرب وراثياً (HN_2 ، HN_3) بمسافة وراثية بلغت (0.40).

■ تحت تحت المجموعة الثانية: ضمت الأفراد (R_4 ، R_6 ، R_1)، وكان الأقرب وراثياً R_1 و R_6 وهما ذكر وأنثى من مزرعة جديدة عرطوز، وبمسافة وراثية قدرها (2.92)، في حين كان R_4 الأبعد وراثياً بين أفراد هذه المجموعة بمسافة وراثية قدرها (6.27) شكل (10).



شكل (10) شجرة القرابة الوراثية لمجموعة الطيور المحلية الرزي و HN

٣-التباين الوراثي ضمن مجموعة الدجاج المحلي بني اللون Br وهجين أمات دجاج البيض HN:

٣-١- التعددية الشكلية الناتجة عن تطبيق تقنية ISSR على الدجاج المحلي بني اللون وهجين أمات دجاج البيض HN:

تضمنت الدراسة اختبار عشرة طرز وراثية للدجاج المحلي ذي اللون البني وخمسة تراكيب وراثية من أمات دجاج البيض HN. استُخدم 11 بادئة من بادئات ISSR، أعطت جميعها منتجات تضخيم في تفاعل البلمرة المتسلسل PCR، وأثبتت فعاليتها في إظهار تعددية شكلية بين الطرز المدروسة.

جدول (11) التعددية الشكلية الناتجة عن تطبيق تقنية ISSR على مجموعة الدجاج المحلي البني اللون و HN:

البادئ	عدد الحزم الكلي	عدد الحزم ذات التعددية الشكلية	النسبة المئوية للتعددية الشكلية %	عدد الحزم وحيدة التكرار	النسبة المئوية المنوية للحزم وحيدة التكرار %	PIC
P _{230/5}	9	9	100	-	-	0.429
P ₅	3	3	100	-	-	0.320
P _{230/4}	4	4	100	-	-	0.486
P _{230/32}	16	16	100	-	-	0.294
P _{230/33}	20	20	100	-	-	0.295
P _{230/35}	12	12	100	-	-	0.223
P _{230/37}	12	12	100	-	-	0.339
P _{230/43}	5	1	20	4	80	0.461
P ₆	3	3	100	-	-	0.292
P ₉	12	12	100	-	-	0.444
P ₁₄	11	11	100	-	-	0.105
المجموع	107	103		4		
المتوسط	9.73	9.36	96.26	0.36	3.74	0.335

نجم عن استخدام هذه البادئات 107 حزمة، وتراوح عدد الحزم لكل بادئة بين 3 حزمة كأقل عدد مع البادئتين P_5 و P_6 ، وأعلى عدد 20 حزمة مع البادئة $P_{230/33}$ بمتوسط 9.73 حزمة لكل بادئة، وقد أعطت جميع هذه البادئات تعددية شكلية، وتراوحت عدد الحزم المتعددة شكلياً لكل بادئة بين 1 حزمة مع البادئة $P_{230/43}$ و 20 حزمة مع البادئة $P_{230/33}$ ، وبلغت النسبة المئوية للتعددية الشكلية 96.26 %، وكانت النسبة المئوية للتعددية الشكلية الأقل 20 % مع البادئة $P_{230/43}$ والأعلى 100 % مع بقية البادئات. وكان عدد الحزم وحيدة التكرار 4 حزم، وبلغت النسبة المئوية للحزم وحيدة التكرار 3.74 %، جدول (11).

وتراوحت قيم معامل التعددية الشكلية (PIC) بين 0.105 كأقل قيمة عند البادئ P_{14} و 0.486 كأعلى قيمة عند البادئ $P_{230/4}$ ، وكان متوسط قيمة PIC 0.335، أي أن البادئات المستخدمة مفيدة على نحو مقبول في الكشف عن التباين الوراثي بين عينات الدجاج المدروسة. وقد وُجد أن البادئتان $P_{230/35}$ ، P_{14} أعطت قيمة منخفضة لـ PIC وتساوي (0.105-0.223) على التوالي، وبالتالي لا ينصح باستخدامها لدراسة التنوع الوراثي للدجاج المحلي السوري البني لاحقاً. أما بقية البادئات فقد أعطت قيمةً متوسطة لـ PIC لذا يمكن استخدامها في الدراسات اللاحقة.

٢-٣- عدد الحزم الفريدة الموجودة والغائبة لمجموعة الطرز الوراثية من البني وهجين أمات دجاج البيض HN:

يظهر من الجدول (12) وجود 30 حزمة فريدة، منها 27 حزمة موجودة في الطراز المدروس من الدجاج المحلي البني اللون وثلاث حزم موجودة في مجموعة أمات دجاج البيض HN، وهذا يدل على التنوع الوراثي الكبير ضمن مجموعة الطيور المحلية البنية، والتجانس الوراثي ضمن مجموعة أمات دجاج البيض HN والذي استطاعت البادئات المستخدمة الكشف عنه.

جدول (12) عدد الحزم الفريدة الموجودة والغائبة لمجموعة الطرز الوراثية من البني وأمات دجاج البيض HN:

الطرز الوراثي	عدد الحزم الفريدة الموجودة	المجموع
Br ₁	+3	3
Br ₂	+4	4
Br ₃	-	-
Br ₄	+8	8
Br ₅	-	-
Br ₆	-	-
Br ₇	-	-
Br ₈	7+	7
Br ₉	-	-
Br ₁₀	5+	5
المجموع لمجموعة البني	27	27
HN ₁	-	-
HN ₂	-	-
HN ₃	-	-
HN ₄	+2	2
NH ₅	+1	1
المجموع لمجموعة أمات دجاج البيض HN	3	3
المجموع الكلي	30	30

كما يبيّن الجدول (12) أن التراكيب الوراثية من الدجاج البني (Br₁، Br₂، Br₄، Br₈، Br₁₀) قد امتلكت حزماً فريدة بلغت (3، 4، 7، 8) على التوالي، في حين غابت هذه الحزم الفريدة في كل من الطرز بنية اللون (Br₃، Br₅، Br₆، Br₇، Br₉). وتميز الطراز الوراثي البني اللون Br₄ بامتلاكه أكبر عدد من الحزم الفريدة والتي بلغت 8 حزم.

أما بالنسبة للدجاج من مجموعة أمات دجاج البيض HN فقد وجدت الحزم الفريدة في كل من الطرازين (HN₄، HN₅) بـ (2، 1) حزمة فريدة على التوالي، في حين غابت الحزم الفريدة في كل من الطرز (HN₁، HN₂، HN₃).

ويظهر من الجدول (13) أن معظم البادئات المستخدمة امتلكت القدرة على تمييز الطرز المدروسة باستثناء البادئة $P_{230/43}$ التي لم تعط أي حزمة فريدة، في حين أن البادئة $P_{230/33}$ أعطت أكبر عدد من الحزم الفريدة (8) حزم، كما أعطت البادئات $P_{230/4}$ ، $P_{230/37}$ ، P_{14} حزمة فريدة واحدة فقط.

جدول (13) عدد الحزم الفريدة الكلية لكل بادئ لمجموعة البني وHN

البادئ	عدد الحزم الفريدة
$P_{230/5}$	2
P_5	2
$P_{230/4}$	1
$P_{230/32}$	5
$P_{230/33}$	8
$P_{230/35}$	6
$P_{230/37}$	1
$P_{230/43}$	-
P_6	2
P_9	2
P_{14}	1
المجموع	30

٣-٣- مصفوفة النسب المنوية للتوافق (PAV) لمجموعة الدجاج المحلي البني اللون وهجين أمات دجاج البيض HN:

يُلاحظ من الجدول (14) أن أعلى قيمة لمصفوفة النسب المنوية للتوافق PAV ضمن مجموعة أمات دجاج البيض HN (0.95) بين الفردين (HN_2 ، HN_3)، أما أدنى قيمة لها فكانت (0.84) بين HN_4 و(HN_2 ، HN_3)، وهذا يدل على التجانس ووجود درجة قرابة عالية ضمن أفراد هجين أمات دجاج البيض HN كونه خلط معتمد في إسبانيا.

أما مجموعة الطيور المحلية البنية اللون فقد بلغت أعلى قيمة لمصفوفة النسب المئوية للتوافق (0.93) بين الفردين (Br₉، Br₆) وهما من مزرعة واحدة، أما أدنى قيمة لها فبلغت (0.48) بين الفردين (Br₉، Br₄)، وبالتالي تعد طيور التجربة المحلية البنية اللون غير متجانسة نسبياً، وهذا ناتج عن عملية الخلط التي تعرض لها نتيجة التربية العشوائية.

جدول (14) مصفوفة النسب المئوية للتوافق (PAV) لمجموعة الطيور المحلية البنية اللون وHN:

الأفراد المدروسة	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	<u>0.48</u>	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	<u>0.93</u>	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												*	<u>0.95</u>	<u>0.84</u>	0.88
HN ₃													*	<u>0.84</u>	0.88
HN ₄														*	0.93
HN ₅															*

٣-٤- التحليل العنقودي للطرز المدروسة الناتج عن استخدام تقنية ISSR لمجموعة البني وهجين أمات دجاج البيض HN:

انقسمت شجرة القرابة الوراثية حسب التحليل العنقودي إلى مجموعتين:

المجموعة الأولى: هي مجموعة طيور أمات دجاج البيض HN، انقسمت بدورها إلى تحت عنقودين:

- تحت عنقود أول ضم فردين هما (HN₅، HN₄) بمسافة وراثية 3.22.

- تحت عنقود ثاني ضم ثلاثة أفراد (HN₁، HN₃، HN₂) وكانت المسافة الوراثية بين HN₂ و HN₃ 2.12 والمسافة الوراثية للفرد HN₁ كانت 4.35.

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

١- 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 (Br₈، Br₇) وهما من منطقة نهر عيشة بمسافة وراثية (11.02).

❖ تحت تحت عنقود ثاني: ضم Br₂ من منطقة جديدة عرطوز ٢ و Br₄ من منطقة يعفور 1 بمسافة وراثية (7.27). ورغم أنهما من منطقتين مختلفتين إلا أن المسافة الوراثية بينهما أقل من المسافة الوراثية بين الذكرين السابقين المأخوذين من نفس المصدر.

٢- تحت مجموعة ثانية: ضمت جميع الإناث بغض النظر عن مصدر الجمع بالإضافة إلى الذكر Br₅ من يعفور. حيث انقسمت بدورها إلى تحت تحت مجموعتين:

٤-التباين الوراثي ضمن مجموعة الدجاج المحلي أسود اللون B وهجين أمات دجاج البيض HN:

٤-١- التعددية الشكلية الناتجة عن تطبيق تقنية ISSR على الدجاج المحلي أسود اللون وهجين أمات دجاج البيض HN:

تضمنت الدراسة اختبار تسعة طرز وراثية للدجاج المحلي ذو اللون الأسود وخمسة طرز من أمات دجاج البيض HN. تم استخدام 11 بادئة من بادئات ISSR حيث أعطت جميعها منتجات تضخيم في تفاعل البلمرة المتسلسل PCR، وأثبتت فعاليتها في إعطاء تعددية شكلية بين الطرز المدروسة.

نجم عن استخدام هذه البادئات ما مجموعه 85 حزمة، وتراوح عدد الحزم لكل بادئة بين حزمة واحدة كأقل عدد مع البادئة $P_{230/33}$ و 16 حزمة كأعلى عدد مع البادئة P_6 بمتوسط 7.73 حزمة لكل بادئة، أعطت جميع هذه البادئات تعددية شكلية Polymorphic، إذ بلغت النسبة المئوية للتعددية الشكلية 100 %، وتراوحت عدد الحزم المتعددة شكلياً لكل بادئة بين حزمة واحدة مع البادئة $P_{230/33}$ و 16 حزمة مع البادئة P_6 (جدول 15).

وتراوحت قيم معامل التعددية الشكلية (PIC) بين 0.225 كأقل قيمة عند البادئ P_6 و 0.475 كأعلى قيمة عند البادئ $P_{230/5}$ ، وكان متوسط قيمة PIC 0.356، أي أن البادئات المستخدمة مفيدة على نحو مقبول في الكشف عن التباين الوراثي بين عينات الدجاج المدروسة، لذا يمكن استخدامها في الدراسات اللاحقة.

جدول (15) التعددية الشكلية الناتجة عن تطبيق تقنية ISSR على مجموعة الدجاج المحلي الأسود اللون وهجين أمات دجاج البيض HN:

البادئ	عدد الحزم الكلي	عدد الحزم ذات التعددية الشكلية	النسبة المئوية للتعددية الشكلية %	PIC
P _{230/5}	7	7	100	0.475
P ₅	2	2	100	0.293
P _{230/4}	3	3	100	0.459
P _{230/32}	7	7	100	0.325
P _{230/33}	1	1	100	0.459
P _{230/35}	14	14	100	0.343
P _{230/37}	11	11	100	0.363
P _{230/43}	5	5	100	0.302
P ₆	16	16	100	0.225
P ₉	8	8	100	0.401
P ₁₄	11	11	100	0.272
المجموع	85	85	100	
المتوسط	7.73	7.73	100	0.356

٤-٢- عدد الحزم الفريدة الموجودة والغائبة لمجموعة الطرز الوراثية من الأسود وهجين أمات دجاج البيض HN:

يبين الجدول (16) أن معظم البادئات المستخدمة امتلكت القدرة على تمييز الطرز المدروسة باستثناء البادئات P_{230/4}، P_{230/33}، P_{230/37} حيث لم تعط أي حزمة فريدة، في حين أن البادئة P₁₄ أعطت أكبر عدد من الحزم الفريدة (7 حزم)، كما أعطت البادئات P_{230/5}، P₅، P₉ حزمة فريدة واحدة فقط.

جدول (16) عدد الحزم الفريدة الكلية لكل بادئ لمجموعة الدجاج المحلي الأسود اللون وهجين أمات دجاج البيض HN:

البادئ	عدد الحزم الفريدة
P _{230/5}	1
P ₅	1
P _{230/4}	-
P _{230/32}	2
P _{230/33}	-
P _{230/35}	2
P _{230/37}	-
P _{230/43}	3
P ₆	6
P ₉	1
P ₁₄	7
المجموع	23

كما ويُظهر الجدول (17) وجود 23 حزمة فريدة موجودة في الطراز المدروس من الدجاج المحلي الأسود اللون، حيث امتلكت الطرز الوراثية من الدجاج الأسود B₆، B₅، B₄، B₇ حزمًا فريدة بلغت (2،4،8،9) على التوالي، وهذا يشير إلى تميز هذه الأفراد بصفات تميزها عن باقي المجموعة، في حين غابت هذه الحزم الفريدة في بقية الطرز سوداء اللون وعند جميع الطرز الوراثية لمجموعة أمات دجاج البيض HN.

جدول (17) عدد الحزم الفريدة لمجموعة الطرز الوراثية من الأسود وهجين أمات دجاج البيض HN:

الطرز الوراثي	عدد الحزم الفريدة الموجودة	المجموع
B ₁	-	
B ₂	-	
B ₃	-	
B ₄	4+	4
B ₅	8+	8
B ₆	9+	9
B ₇	2+	2
B ₈	-	
B ₉	-	
B ₁₀	-	
المجموع لمجموعة الطيور السوداء	23	23
HN ₁	-	
HN ₂	-	
HN ₃	-	
HN ₄	-	
NH ₅	-	
المجموع لمجموعة أمات دجاج البيض HN	-	-
المجموع الكلي	23	23

يبين الجدول (18) أن البادنتين P_{230/4} و P_{230/33} أعطتا (1،3) حزمة موجودة على التوالي عند جميع التراكيب الوراثية لمجموعة أمات دجاج البيض HN، في حين غابت هذه الحزم عند التراكيب الوراثية لمجموعة الدجاج المحلي الأسود اللون، لذا فإن هاتين البادنتين تملكان القدرة على تمييز المجموعتين عن بعضهما.

جدول (18) عدد الحزم الفريدة الموجودة والغائبة التي تميز الطيور المحلية السوداء عن الشاهد

البادئ	مجموعة أمات دجاج البيض HN	مجموعة الدجاج المحلي الأسود
P _{230/5}	-	-
P ₅	-	-
P _{230/4}	+3	-3
P _{230/32}	-	-
P _{230/33}	+1	-1
P _{230/35}	-	-
P _{230/37}	-	-
P _{230/43}	-	-
P ₆	-	-
P ₉	-	-
P ₁₄	-	-
المجموع	-	-4

٤-٣- مصفوفة PAV لمجموعة الدجاج المحلي الأسود اللون والخُلط HN:

بلغت أكبر قيمة لمصفوفة النسب المئوية للتوافق ضمن مجموعة أمات دجاج البيض HN (0.94) بين التركيبيين الوراثةيين HN₄ و HN₅ وكذلك بين HN₂ و HN₃، أما أدنى قيمة لها فكانت (0.83) بين التركيبيين الوراثةيين HN₄ و HN₃، ومن الملاحظ أن قيم مصفوفة النسب المئوية للتوافق ضمن هذه المجموعة متقاربة جداً، إذ تعد أفراد هذه المجموعة متجانسة نسبياً فهي مصنفة كخُلط تجاري.

أما مجموعة الطيور المحلية سوداء اللون فقد بلغت أعلى قيمة لمصفوفة النسب المئوية للتوافق (0.97) بين الطرازين الوراثيين B₁ و B₂ وكلاهما إناث من مزرعة جديدة عرطوز ٢، أما أدنى قيمة لها فبلغت (0.51) بين الطرازين الوراثيين B₃ و B₆ وهما إناث من مزرعتين مختلفتين (جديدة عرطوز ٢، جديدة عرطوز ١) ومن الملاحظ وجود فرق كبير بين قيم مصفوفة النسب المئوية للتوافق ضمن هذه المجموعة وهذا يشير إلى أن الطيور المحلية السوداء اللون غير متجانسة نسبياً وهذا ناتج عن عملية الخلط التي تعرض لها نتيجة التربية العشوائية.

جدول (19) مصفوفة النسب المئوية للتوافق (PAV) لمجموعة الطيور المحلية السوداء اللون وHN:

	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	B ₅	B ₆	B ₇	B ₈	B ₉	HN ₁	HN ₂	HN ₃	HN ₄	HN ₅
B ₁	*	<u>0.97</u>	0.80	0.62	0.65	0.61	0.59	<u>0.93</u>	0.73	0.73	0.78	0.79	0.67	0.68
B ₂		*	0.78	0.65	0.65	0.61	0.61	<u>0.93</u>	0.73	0.70	0.76	0.77	0.65	0.66
B ₃			*	0.59	0.73	<u>0.51</u>	0.56	0.78	0.60	0.67	0.64	0.65	0.61	0.60
B ₄				*	0.57	0.58	0.78	0.69	0.80	0.53	0.59	0.62	0.50	0.51
B ₅					*	0.60	0.53	0.67	0.58	0.56	0.52	0.53	0.52	0.51
B ₆						*	0.64	0.64	0.59	0.48	0.56	0.57	0.53	0.55
B ₇							*	0.66	0.75	0.57	0.58	0.61	0.56	0.57
B ₈								*	0.79	0.68	0.74	0.75	0.62	0.64
B ₉									*	0.61	0.67	0.66	0.58	0.59
HN ₁										*	0.92	0.88	0.87	0.88
HN ₂											*	<u>0.94</u>	0.84	0.87
HN ₃												*	<u>0.83</u>	0.86
HN ₄													*	<u>0.94</u>
HN ₅														*

٤-٤- التحليل العنقودي للطرز المدروسة الناتج عن استخدام تقنية ISSR لمجموعة الطيور السوداء وهجين أمات دجاج البيض HN:

انقسمت شجرة القرابة الوراثية حسب التحليل العنقودي إلى عنقودين:

١-العنقود الأول: ضم الطرز الوراثية من منطقة جديدة عرطوز B₆ و B₅ الذين تميزا شكلياً بشحمة أذن بيضاء بمسافة وراثية 24.98، وامتلك كل منهما (8-9) حزم فريدة على التوالي.

٢- العنقود الثاني: ضم بقية الطرز الوراثية ذات شحمة الأذن الحمراء، حيث انقسم بدوره إلى تحت عنقودين:

- تحت عنقود أول: ضم الطرز الوراثية لمجموعة الأفراد السوداء اللون الذكور

بغض النظر عن مصدرها (B₄ أبو جرش، B₉ نهر عيشة، B₇ جديدة

عرطوز ١)، وقد كان B₄ و B₉ هما الأقرب بمسافة وراثية قدرها 10.59.

- تحت عنقود ثاني: ضم جميع الأفراد الإناث، انقسم إلى تحت عنقودين:

• تحت عنقود أول: ضم جميع أفراد هجين أمات دجاج البيض

HN، شكل فيه HN₄، HN₅ مجموعة مستقلة بمسافة وراثية 2.89.

• تحت عنقود ثاني: ضم الإناث السوداء اللون، شكلت الأنثى B₃

من منطقة جديدة عرطوز ٢ مجموعة مستقلة عن الأفراد الثلاثة الباقية

(B₁، B₂، B₈) حيث كان B₁ و B₂ هما الأقرب لبعضهما بمسافة

وراثية 1.13 وكلاهما إناث من جديدة ٢، قد تشير هذه القيمة لوجود قرابة

وراثية عالية بينهما لاحتمال كونهما ينحدران من نفس الأم والأب

والتزاوج الداخلي وقد تشير إلى وجود أصل مشترك بينهما. ونلاحظ أن

الإناث السوداء اللون كانت أقرب إلى أمات دجاج البيض HN من

الذكور السوداء اللون لأنها من نفس الجنس.

٤-٥ قدرة البادئات المستخدمة في الكشف عن التباين الوراثي بين وضمن مجموعات الدجاج المحلي السوري:

يتبين من الجدول (20) أن متوسط عامل PIC للمجموعات المدروسة بلغ 0.342، أي أن البادئات المستخدمة مفيدة على نحو مقبول في الكشف عن التباين الوراثي بين عينات الدجاج المدروسة. وقد وُجد أن البادئات P_6 ، $P_{230/43}$ ، P_{14} أعطت قيم منخفضة لـ PIC بلغت (0.146، 0.222، 0.237) على التوالي، وبالتالي لا ينصح باستخدامها لدراسة التنوع الوراثي للدجاج المحلي السوري لاحقاً. أما بقية البادئات فقد أعطت قيمةً متوسطة لـ PIC لذا يمكن استخدامها في الدراسات اللاحقة.

جدول (20) متوسط قيم PIC لمجموعات الدجاج المحلي السوري المدروسة

البادئ	مجموعات	رزي	بني	اسود	PIC
$P_{230/5}$	0.494	0.5	0.429	0.475	0.475
P_5	0.346	0.496	0.32	0.293	0.364
$P_{230/4}$	0.494	0.334	0.486	0.459	0.443
$P_{230/32}$	0.328	0.408	0.294	0.325	0.339
$P_{230/33}$	0.494	0.414	0.295	0.459	0.416
$P_{230/35}$	0.318	0.39	0.223	0.343	0.319
$P_{230/37}$	0.346	0.397	0.339	0.363	0.361
$P_{230/43}$	0.124	0.000	0.461	0.302	0.222
P_6	0.067	0.000	0.292	0.225	0.146
P_9	0.452	0.476	0.444	0.401	0.443
P_{14}	0.213	0.359	0.105	0.272	0.237
المتوسط					0.342

٥-التعبير المورثي لمورثتي بروتينات الصدمة الحرارية:

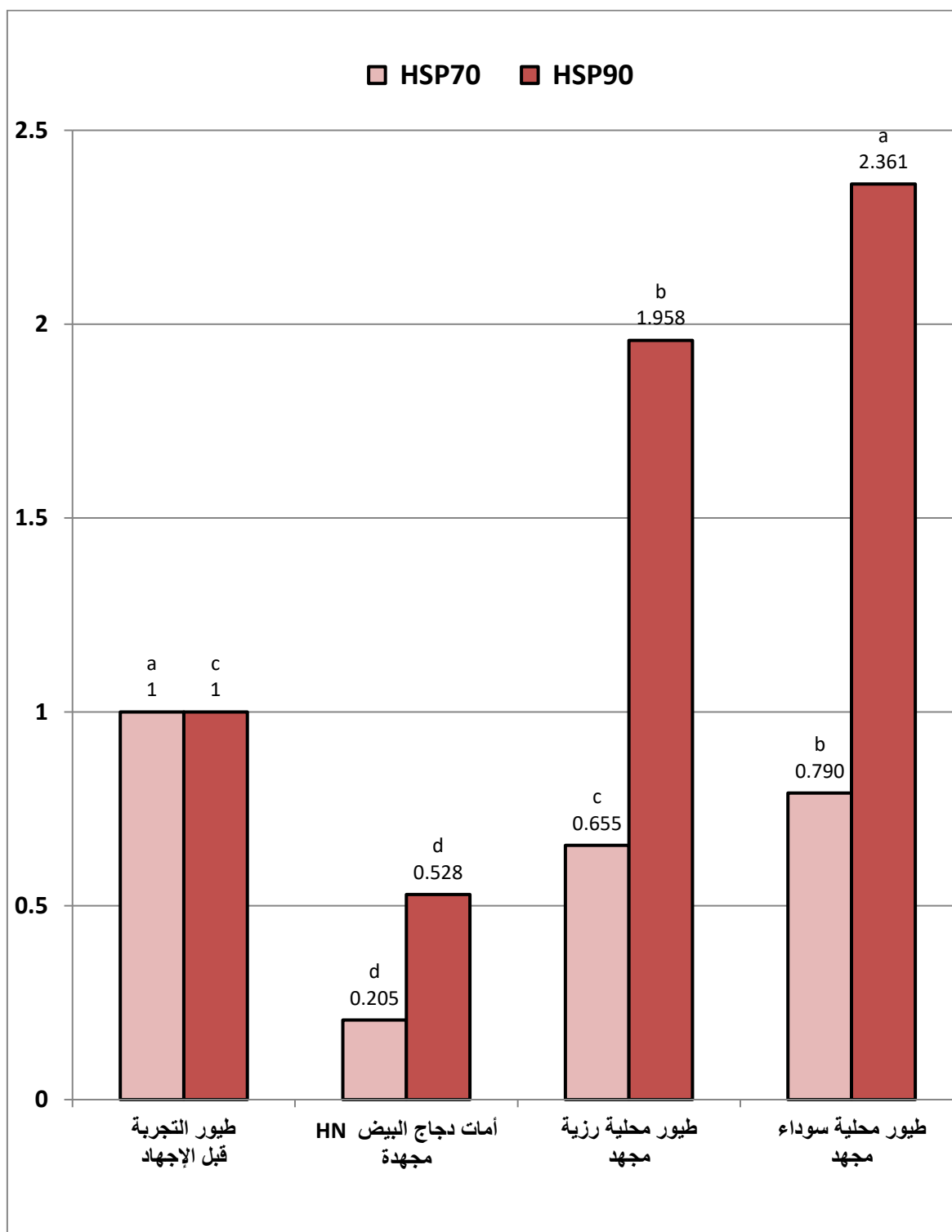
يتم دراسة تعبير مورثة ما عن طريق تعقب الحمض النووي الريبسي الرسول (mRNA) المنسوخ عن هذا المورث، لذا استُخلص الحمض النووي الريبسي الكلي (Total RNA)، وتم تحويل الحمض النووي الريبسي الرسول (mRNA) الى الحمض النووي الريبسي منقوص الاكسجين المكمل (cDNA;Complementary DNA)، وذلك لدراسة تعبير المورثات المدروسة باستخدام تقنية تفاعل البوليميراز المتسلسل في الوقت الحقيقي (Real time PCR)، وذلك باستعمال بادئات خاصة بكل مورث.

٥-١- مقارنة التعبير المورثي لمورثتي بروتين الصدمة الحرارية HSP90 وHSP70 عند الدجاج المحلي الرزي والأسود اللون مع أمات دجاج البيض المستورد HN:

يوضح الشكل (13) التعبير المورثي لمورثتي بروتين الصدمة الحرارية HSP90 وHSP70 عند الدجاج المحلي الرزي والأسود اللون بالمقارنة مع أمات دجاج البيض المستورد HN بنهاية فترة تطبيق الإجهاد (أربعة أيام).

يُلاحظ من الشكل (13) أن تعبير مورثة بروتين الصدمة الحرارية HSP90 أعلى من تعبير مورثة بروتين الصدمة الحرارية HSP70 عند المجموعات التجريبية الثلاث، وهذا يشير إلى أنه يلعب في فترة الإجهاد الطويلة دوراً أكبر من HSP70 في مقاومة الإجهاد الحراري، وهي نتيجة تخالف ما ذكره Ali و Banu (1991)، حيث أشارا إلى أنه في البيئات الحارة يلعب التعبير المورثي لمورثة HSP70 دوراً أكبر في الوظائف الخلوية من HSP90، وربما يعود ذلك إلى أنهما قاما بدراسة التعبير المورثي لهاتين المورثتين خلال عدة ساعات من تطبيق الإجهاد أي مرحلة الصدمة الأولية والتي يكون فيها لـ HSP70 الدور الرئيس بالحماية من الصدمة الأولية، لذا يكون تركيزه عالياً خلالها (Kregel، 2002)، أما HSP90 فهو يتفاعل مع البروتينات في المراحل المتقدمة من الإجهاد ويقوم بتعديل تصنيع هذه البروتينات

(Wegele وزملاؤه، 2004)، لذا فدوره الرئيس يكون بعد تجاوز الصدمة الأولية للحرارة لذلك كان تركيزه أعلى من HSP70 في هذه التجربة.



الأحرف غير المتشابهة ضمن حدود اللون الواحد تدل على الفروق المعنوية

الشكل (13) تعبير مورثات HSP70 و HSP90 عند الدجاج المحلي والأسود والرزي ومجموعة HN

كما يُلاحظ من الشكل (13) أنه نتيجةً للإجهاد الحراري مدة أربعة أيام، انخفض تعبير مورثة HSP70 معنوياً عند المجموعات التجريبية الثلاث المجردة مقارنةً بغير المجردة (مجموعة أمات دجاج البيض HN ومجموعة الدجاج المحلي الرزي والأسود)، إذ بلغت قيمته 0.205 و 0.655 و 0.790، على التوالي. وهذا يتفق مع (Schlesinger و Bond، 1986) حيث ذكروا أن بروتين الصدمة الحرارية HSP70 له دور متخصص، ولكنه عابر مع استمرار الإجهاد الحراري، إذ يتحلل mRNA المتراكم لهذه المورثة خلال الصدمة الحرارية بسرعة وينصف عمر قدره 1.5 ساعة، لذا من المنطقي أن ينخفض تركيزه عند المجموعات التجريبية في هذه التجربة باعتبار أن تعبير المورثة دُرس بعد تطبيق الإجهاد مدة أربعة أيام متواصلة أي بعد تجاوز الصدمة الأولية. وهذا ما أكدته Gu وزملاؤه (2012) الذين أشاروا إلى أنه عندما طبق الإجهاد الحراري الحاد على الفروج كان تعبير مورثة HSP70 أعلى بشكل ملحوظ بعد 2 - 3 ساعة من الإجهاد الحراري ولكن انخفض بعد 5 ساعات من الإجهاد. كذلك أجرى Felver-Gant وزملاؤه (2012) دراسة على دجاج البيض ذكر فيها أن الإجهاد الحراري مدة أسبوع زاد نسخ mRNA من HSP70 في الكبد، إلا أن هذا التعبير لم يبق عند نفس المستوى العالي في نهاية الأسبوع الثاني من التعرض للإجهاد الحراري، وفسّر ذلك بأن الدجاج ربما يكون قد تكيف للحفاظ على التوازن الحراري الطبيعي عند درجة الحرارة المرتفعة، وبالتالي لم يظهر تعبيراً عالياً للمورثة HSP70. وأكد ذلك Rimoldi وزملاؤه (2015) حيث لم يكن هناك أي تغيير في نسخ mRNA من HSP70 بعد أربعة أسابيع من الإجهاد الحراري بدرجة حرارة 34 درجة مئوية، بعمر 8 أسابيع.

يُلاحظ من الشكل (13) أيضاً ازدياد تعبير مورثة HSP90 نتيجةً للإجهاد الحراري عند مجموعات الدجاج المحلي الأسود والرزي اللون، باعتبار أن HSP90 يتفاعل مع البروتينات في المراحل المتقدمة من الصدمة الحرارية ويقوم بتعديل تكوين هذه البروتينات (Wegele وزملاؤه، 2004) لذا ارتفع تعبيره عند مجموعات الدجاج المحلي الأسود والرزي بعد أربعة أيام من الإجهاد.

يتم التعبير عن مورثة HSP90 عادة بمستويات منخفضة في ظل الظروف الطبيعية، ولكنه يزيد عند التعرض للإجهاد، ومع ذلك سُجِّل انخفاض تعبير مورثة HSP90 عند مجموعة هجين أمات دجاج البيض HN، وبما أنه لم يتم تقدير تعبير هذه المورثة على مراحل متعددة من الإجهاد فربما أنه قد ارتفع في مرحلة من المراحل ثم عاد وانخفض تعبيرها بنهاية فترة الإجهاد، أي انخفضت قدرة مجموعة هجين أمات دجاج البيض HN على مقاومة الإجهاد لفترة طويلة، وقد أشار Rimoldi وزملائه (2015) إلى ازدياد تعبير مورثة HSP90 في كبد الفروج المجهد بالحرارة بعد 2 ساعة من الإجهاد الحار الحاد، ثم أظهر انخفاضاً مستمراً بعد 3، 5، و10 ساعات من الإجهاد الحار. وهذا يتوافق مع (Alani وزملائه، 2014) إذ أشاروا إلى أن انخفاض تعبير مورثة HSP90 بعد الإجهاد الحاد أو المزمن يرتبط مع انخفاض مستوى موت الخلايا المبرمج الناجم عن الإجهاد، ففي الظروف العادية يرتبط HSP90 بعامل الصدمة الحرارية العامل غير النشط (-HSF) (1) ورداً على الإجهاد ينفصل HSF-1 عن المركب HSP90، وينتقل إلى النواة فيعمل على الحد من نسخ HSP90 وتفعيل النسخ من HSP70، والذي يمنع موت الخلايا المبرمج على الفور ويسمح بالتكيف الخلوي لضمان بقاء الخلية (Kitamei وزملائه، 2007).

تعد بعض سلالات الطيور أكثر مقاومة للإجهاد الحراري من غيرها، وبالتالي فإن تأثير الإجهاد عليها يكون أقل، حيث تختلف الاستجابة وفقاً للتركيب الوراثي (Franco-Jimenez وزملائه، 2007). وهذا ما يُلاحظ من الشكل (13) عند مقارنة المجموعات التجريبية الثلاث حيث بلغت قيمة تعبير مورثة HSP70 (0.790، 0.655، 0.205) وبلغت قيمة تعبير مورثة HSP90 (2.361، 1.985، 0.528) لمجموعات الدجاج المحلي الأسود اللون والرزي ومجموعة أمات دجاج البيض HN التجارية على التوالي، وبشكل عام وُجد أن أعلى تعبير للمورثتين عند الدجاج المحلي الأسود اللون يليه الدجاج المحلي الرزي، بينما وجد أقل تعبير للمورثتين عند هجين أمات دجاج البيض HN، وقد كانت الفروقات بين المجموعات

معنوية، لذا يمكن القول أنّ الطيور المحلية بشكل عام قادرة على تحمل الإجهاد الحراري أكثر من أمات دجاج البيض المستورد HN. وقد اتفقت نتائج هذه الدراسة مع Cedraz وزملاؤه (2017) حيث عبرت مورثات بروتينات الصدمة الحرارية HSP70 و HSP90 بشكل أعلى عند الدجاج المحلي البرازيلي (Caneluda و Peloco) مقارنة مع هجين فروج Cobb 500 التجاري أثناء الإجهاد الحراري فبلغت قيمة تعبير HSP70 15.71 و 22.67 و 7.54، على التوالي، وبلغت قيمة تعبير HSP90 5.92 و 5.01 و 4.92، على التوالي.

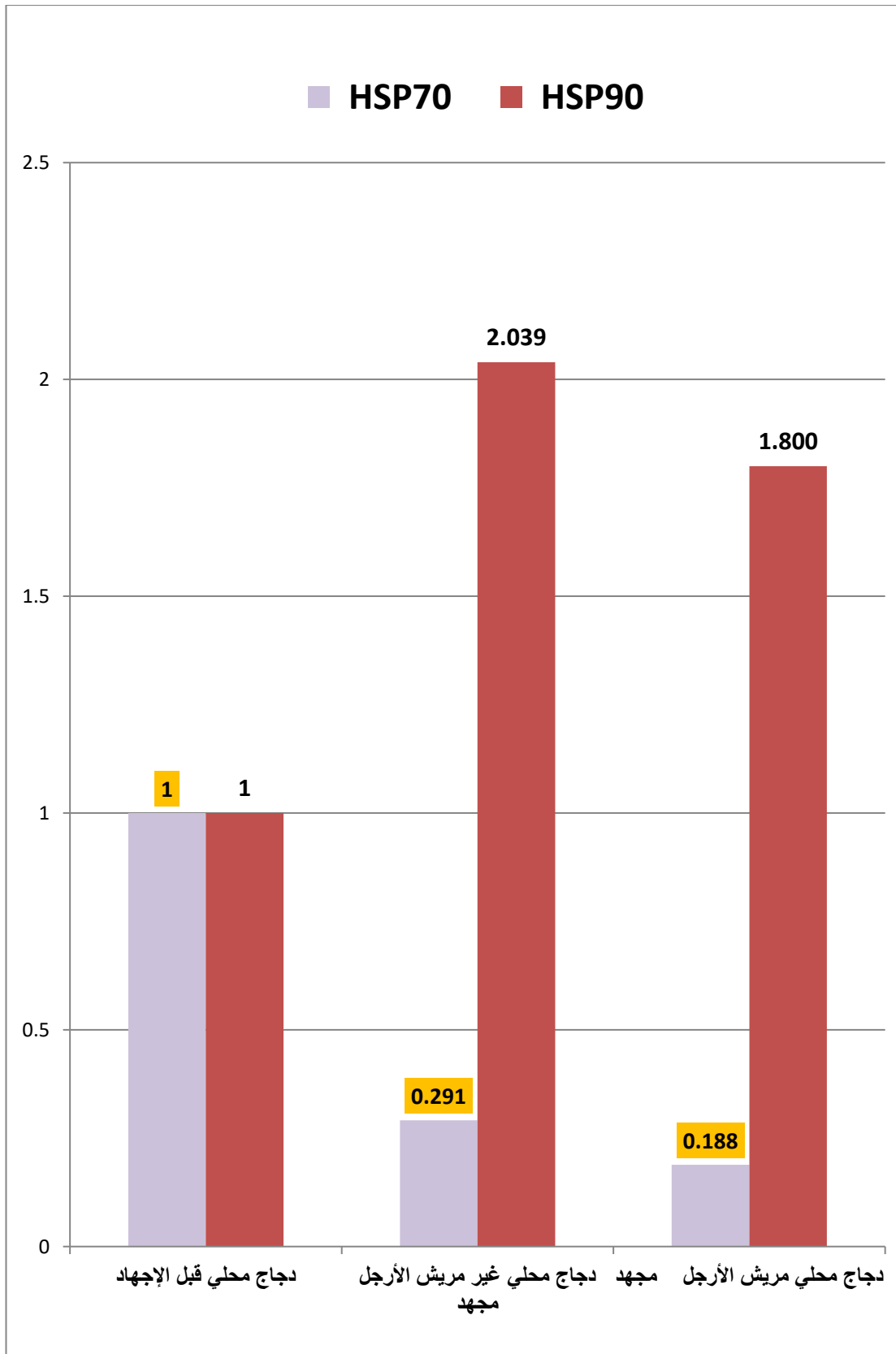
بشكل عام تعد الهجن التجارية سريعة النمو أقل قدرة على تحمل الحرارة العالية من السلالات المحلية ذات النمو البطيء (Yunis و Cahaner، 1999) نتيجة عدم تجانس حجم ووظيفة أجهزة الجسم الداخلية مع المعدلات العالية للنمو والإنتاج خاصة جهاز التنفس والدوران المسؤولين الرئيسيين عن الفقد الحراري من جسم الطير (Ojano-Dirain و Waldroup، 2002)، كما أن التحسين الوراثي للهجن جعلها تتميز بكفاءة إنتاج عالية لكنها بالوقت ذاته أصبحت أكثر حساسية لارتفاع درجات الحرارة المحيطية خاصة في الفترة الأخيرة من مراحل نموها (Mariante وزملاؤه، 2009؛ ECDJ، 2013) لوجود ارتباط سلبي بين صفات الإنتاج ومقاومة الحرارة (Tamzil وزملاؤه، 2013).

كما تشير النتائج من الشكل (13) أن الطيور المحلية السوداء كانت أكثر مقاومة للإجهاد الحراري من الطيور المحلية الرزي وكان الفرق بينهما معنوياً ($P < 0.01$).

٢-٥- مقارنة التعبير المورثي لمورثتي بروتين الصدمة الحرارية HSP90 و HSP70 عند الدجاج المحلي مريش الأرجل وغير مريش الأرجل:

يوضح الشكل (14) التعبير المورثي لمورثتي بروتين الصدمة الحرارية HSP90 و HSP70 عند مجموعتين من الدجاج المحلي إحداهما ذات أرجل مريشة والأخرى ذات أرجل غير مريشة بنهاية فترة الإجهاد لمدة أربعة أيام.

يُلاحظ من الشكل (14) أن بروتين الصدمة الحرارية HSP90 يلعب دوراً أكبر من HSP70 في مقاومة الاجهاد الحراري عند المجموعتين المدروستين لأن التعبير المورثي للمجموعتين دُرس بعد تجاوز الصدمة الأولية، وظهر ازدياد تعبير HSP90 نتيجة التعرض للإجهاد عند كلا المجموعتين إلا أن تعبيره عند الدجاج المحلي غير المريش الأرجل (2.039) كان أعلى من الدجاج المحلي المريش الأرجل (1.800)، في حين انخفض تعبير HSP70 عند كلا المجموعتين نتيجة التعرض للإجهاد ولكن بقي تعبيرها عند مجموعة الطيور المحلية غير مريشة الأرجل (0.291) أعلى من مجموعة الطيور المحلية مريشة الأرجل (0.188)، لذا تعد الطيور المحلية غير مريشة الأرجل هي الأكثر تحملاً للاجهاد الحراري من الطيور المحلية مريشة الأرجل، حيث أن وجود كمية أكبر من الريش يعني مزيد من العزل، كما أن عملية إعادة درجة حرارة الجسم إلى النطاقات الطبيعية عن طريق زيادة التدفق الدموي إلى الأجزاء العارية من الريش تصبح أقل فاعلية في حال وجود الريش على الأرجل. وهو ما وجدته Deeb و Cahaner (1999) حيث أظهروا أن الدجاج العاري الرقبة لديه معدلاً أعلى من تبديد الحرارة وتحسين تنظيم الحرارة بالمقارنة مع نظرائهم ذات الريش الطبيعي.



شكل (14) تعبير مورثات HSP70 و HSP90 عند الدجاج المحلي مريش وغير مريش الأرجل
(لم يتم المقارنة لكل لون على حدى بسبب التكاليف الباهظة)

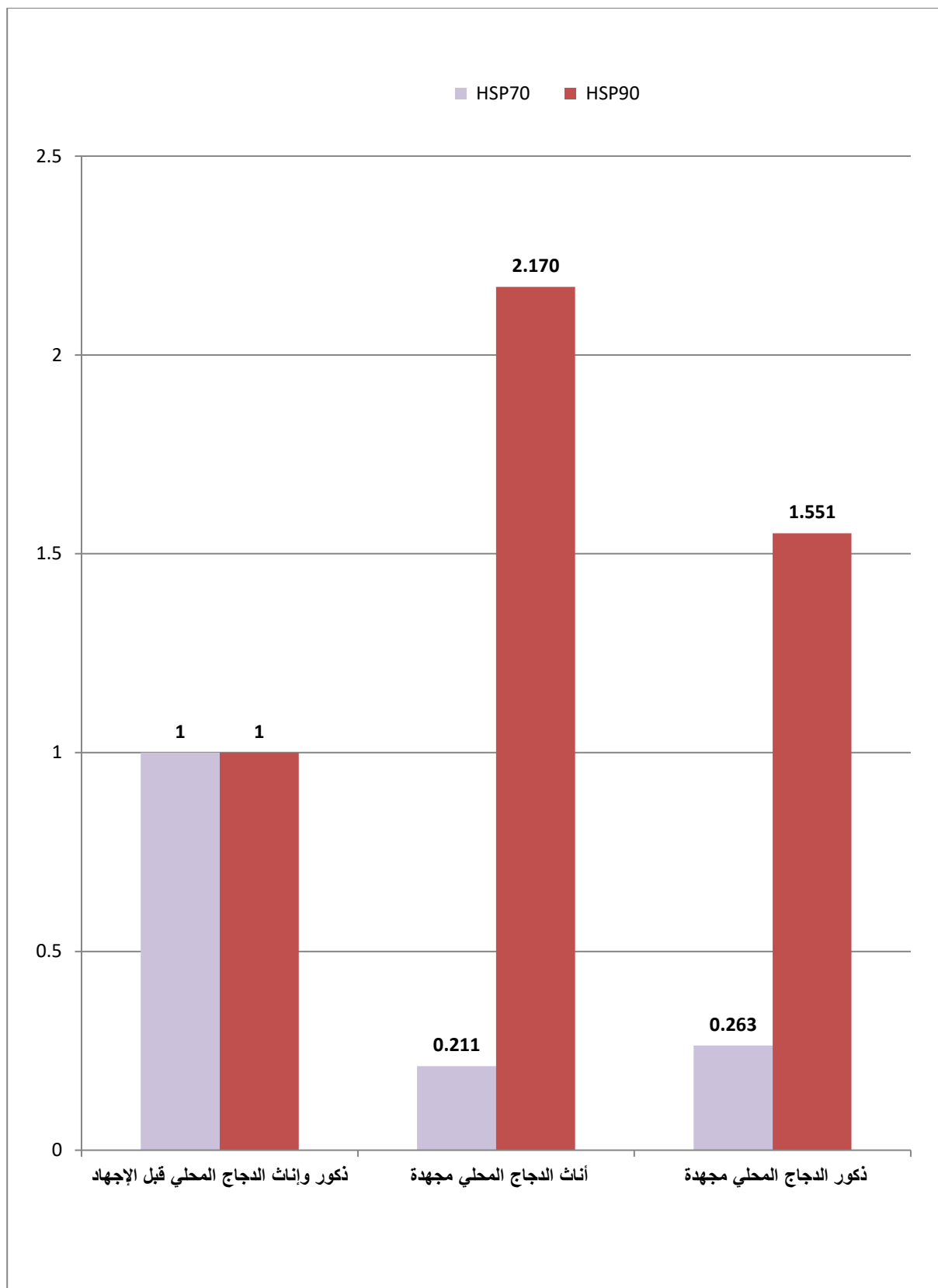
٣-٥- مقارنة التعبير المورثي لمورثتي بروتين الصدمة الحرارية HSP90 و HSP70 عند ذكور وإناث الدجاج المحلي:

يوضح الشكل (15) التعبير المورثي لمورثتي بروتين الصدمة الحرارية HSP90 و HSP70 عند ذكور وإناث الدجاج المحلي بنهاية فترة إجهاد لمدة أربعة أيام.

يلعب بروتين الصدمة الحرارية HSP90 أيضاً دوراً أكبر من HSP70 في مقاومة الإجهاد الحراري عند ذكور وإناث الدجاج المحلي، حيث يُلاحظ ازدياد تعبيره نتيجة التعرض للإجهاد عند كلا المجموعتين، في حين انخفض تعبير HSP70 عند كلا المجموعتين بعد التعرض للإجهاد.

ومن الشكل (15) يُلاحظ ازدياد تعبير بروتين الصدمة الحرارية HSP90 عند إناث الدجاج المحلي (2.171) بشكل أكبر من ذكور الدجاج المحلي (1.551) نتيجةً للإجهاد على الرغم من عدم إمكانية دراسة المؤشر وفقاً للون الريش، وبالتالي يُستنتج أن الإناث المحلية أكثر مقاومة للإجهاد الحراري من ذكور الدجاج المحلي بالنسبة لبروتين الصدمة الحرارية HSP90، أما بروتين الصدمة الحرارية HSP70 فرغم انخفاض تعبيره عند المجموعتين إلا أنه كان أعلى عند الذكور (0.263) مقارنة مع الإناث (0.211)، لذا فالذكور أكثر تحملاً للإجهاد الحراري بالنسبة لبروتين الصدمة الحرارية HSP70.

يمكن من ذلك أن نستنتج أن الذكور أقدر من الإناث على تحمل الصدمة الأولية للإجهاد الحراري، إلا أن الإناث هي الأكفأ في تحمل استمرار الإجهاد بعد ذلك، وبما أن متوسط وزن الجسم عند الذكور أعلى من الإناث، لذا تعد أقل قدرة على التحكم في الإجهاد الحراري، لأن نسبة مساحة سطح الجسم إلى وزن الجسم أصغر من الإناث وهذه النسبة تؤثر على معدل فقدان الحرارة (Tamzil وزملاؤه، 2013).



شكل (15) تعبير مورثات HSP70 و HSP90 عند ذكور وإناث الدجاج المحلي ومجموعة HN

(لم يتم المقارنة لكل لون على حدى بسبب التكاليف الباهظة)

الاستنتاجات والمقترحات

١- الاستنتاجات

- أثبتت مؤشرات ISSR المُستخدمة فعاليتها على نحو مقبول في الكشف عن التنوع الوراثي في أنماط الدجاج المحلي في سورية.
- استطاعت البادئات المدروسة تمييز الطرز الوراثة السوداء اللون ذات شحمة الأذن الحمراء عن الطرز الوراثة ذات شحمة الأذن البيضاء.
- استطاعت البادئات المدروسة تمييز الطرز الوراثة الرزية ذات العرف المفرد عن الطرز الوراثة ذات العرف الوردي.
- أبدت الطيور المستوردة (أمات دجاج البيض HN) تجانساً وراثياً مرتفعاً وذلك لأن أصولها مؤصلة وراثياً وخضعت لبرامج تحسين وراثي لهدف محدد.
- أبدت الطرز الوراثة للدجاج المحلي الرزي والبنّي والأسود بعداً وراثياً ضمن كل مجموعة منها، ويعود ذلك نتيجةً للتربية العشوائية وعدم تطبيق برنامج انتخابي فعال للدجاج المحلي في سورية.
- تبين أن هناك أفراد ضمن مجموعات الدجاج المحلي على درجة عالية من القرابة الوراثة رغم اختلاف مصدرها.
- لعب بروتين الصدمة الحرارية HSP90 دور أكبر من HSP70 في مقاومة الإجهاد الحراري الذي استمر مدة أربعة أيام.
- أظهرت الطيور المحلية قدرة أعلى لتحمل الإجهاد الحراري بالمقارنة مع هجين أمات دجاج البيض HN، وكانت مجموعة الطيور المحلية السوداء اللون أكثر تحملاً للإجهاد الحراري من الطيور المحلية الرزية.
- تعد الطيور المحلية غير مريشة الأرجل هي الأكثر تحملاً للإجهاد الحراري من الطيور المحلية مريشة الأرجل.

-تبين أن ذكور الطيور المحلية أكثر قدرة من الإناث على تحمل الصدمة الأولية للإجهاد الحراري، إلا أن إناث الدجاج المحلي أكثر قدرة على تحمل استمرار الإجهاد لفترات طويلة.

٢-المقترحات والتوصيات

- إدراج تحسين الدجاج المحلي ضمن المخططات البحثية لكل من وزارة الزراعة ووزارة التعليم العالي بهدف المحافظة على الأصول الوراثية وتحسينها.
- **حصر التراكيب الوراثية الموجودة في الدجاج المحلي، وتقييم المؤشرات الإنتاجية** وانتخاب الأفراد ذات الإنتاجية العالية والاعتماد على المؤشرات الجزيئية لها بهدف تشكيل نواة لخطوط من دجاج محلي.
- **يستفاد من درجة القرابة المرتفعة ضمن مجموعات الدجاج المحلي من مناطق مختلفة في برامج التحسين الوراثي.**
- **تطبيق تقنية ISSR على الدجاج، إذ أعطت البادئات مستوى عالٍ من التعددية الشكلية، مما يشير إمكانية اعتمادها في دراسة التنوع الحيوي عند الدجاج المحلي.**
- **أعطت البادئات P6، P230/43، P14 قيم منخفضة لـ PIC بلغت (0.146، 0.222، 0.237) على التوالي، وبالتالي لا ينصح باستخدامها لدراسة التنوع الوراثي للدجاج المحلي السوري لاحقاً. أما بقية البادئات فقد أعطت قيماً متوسطة لـ PIC لذا يمكن استخدامها في الدراسات اللاحقة.**
- **إجراء مزيد من البحوث المتعمقة لبناء صورة جزيئية فيما يتعلق بمقاومة الإجهاد الحراري، بتطبيق تقنية Real Tim PCR لمجموعة مورثات بروتينات الصدمة الحرارية، ومجموعات أخرى من المورثات كعوامل الصدمة الحرارية HSFs التي تبين أن لها علاقة بإنتاج HSPs.**

المراجع

١-المراجع العربية Arabic References

- ١- الحاج، آلاء. (2016). التحسين الوراثي بالانتخاب لبعض صفات إنتاج البيض وتحديد تبايناتها الجزيئية في الدجاج المحلي في سورية. رسالة دكتوراه، قسم الإنتاج الحيواني (دواجن)، كلية الزراعة، جامعة حلب.
- ٢- الشيخ أمين، محمد. (2007). دراسة الموصفات الشكلية والإنتاجية للدجاج المحلي في شمال سورية. رسالة ماجستير، قسم الإنتاج الحيواني، كلية الزراعة، جامعة حلب.
- ٣- المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية. (2007). وزارة الزراعة، مديرية الاقتصاد الزراعي، قسم الإحصاء والتخطيط.
- ٤- المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية. (2018). وزارة الزراعة، مديرية الاقتصاد الزراعي، قسم الإحصاء والتخطيط.
- ٥- حسن، عيسى وموسى عبود. (2008). إنتاج الدواجن، الجزء النظري ص 29-36، منشورات جامعة دمشق.
- ٦- سيد محمود هيثم، (2001) استخدام مؤشرات من الدنا DNA في انتخاب مورثات المقاومة للأمراض في الشعير، رسالة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة دمشق.
- ٧- شيخموس، حسين؛ أحمد غسان غادري ومحمد الشيخ أمين، (2008). خصائص إنتاج بيض الدجاج المحلي السوري. كلية الزراعة جامعة حلب. أسبوع العلم 48 مؤتمر الثروة الحيوانية في سورية الواقع وآفاق التطوير كلية الطب البشري جامعة حلب.
- ٨- هاشم، ياسين، ومحمد أيمن السعدي. (2000). الدواجن إنتاج اللحم (الجزء النظري)، منشورات جامعة دمشق.

٢-المراجع الأجنبية English References

- 1- Abdelqader,A., Wollny,C.B.A and Gauly,M. (2007). Characterization of local chicken production systems and their potential under different levels of management practice in Jordan, Springer Science + Business Media B.V.
- 2- Ajakaiye,J.J., Ayo,J.O and Ojo,S.A. (2010). Effects of heat stress on some blood parameters and egg production of Shica Brown layer chickens transported by road. Biol. Res., 43: 183-189.
- 3- Al-Atiyat,R. (2010). Genetic diversity of indigenous chicken ecotypes in Jordan. Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Mutah University, P.O. Box 7. Muath 61710, Al-Kark, Jordan. ISSN1684-5315. African Journal of Biotechnology Vol.9(41), pp.7014-7019.
- 4- Alani,B., Salehi,R., Sadeghi,P., Zare,M., Khodagholi,F., Arefian,E., Hakemi, M.G and Digaleh,H. (2014). Silencing of Hsp90 chaperone expression protects against 6-hydroxydopamine toxicity in PC12. J. Mol. Neurosci.52, 392–402.
- 5- Ali,N and Banu,N. (1991). Heat Shock Proteins: Molecular Chaperones. Aligarh Dep. Biochem. 19:166±72.
- 6- Aquadro,C.F., Jennings,R.M., Bland,M.M., Laurie,C.C and Langley,C.H. (1992). Patterns of naturally occurring restriction map variation, dopa decarboxylase activity variation and linkage disequilibrium in the Ddc gene region of *Drosophila melanogaster*, Genetics 132:443-452.
- 7- Arora,R and Bhatia,S. (2004). Genetic structure of Muzzafarnagri sheep based on microsatellite analysis. Small Rum. Res. 54: 227-230.
- 8- Arrigo,A.P and Landry,J. (1994). Expression and function of the low-molecular-weight heat shock proteins. Pages 335-373 in: The Biology of Heat Shock Proteins and Molecular Chaperones. Morimoto, R.I., Tissieres, A., and Georgopoulos, C., d. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- 9- Bagchi,M., Lreland,M., Katar,M and Maisel,H. (2001). Heat shock proteins of chicken lens. J cell Biochem, 82(3): 409-414.
- 10- Bai,X and Hui,L.I. (2001). Study on ISSR fingerprinting of broiler chicken divergently selected for very low density lipoprotein (VLDL). Journal Jilin Agricultural University, S831, 1000-5684.
- 11- Bao,W.B., Chen,G.H., LiB,C., Wu,X.S., ShuJ,T., Wu,S.L., Xu,Q and Weigend,S. (2008). Analysis of genetic diversity and phylogenetic relationships among red jungle fowls and

- Chinese domestic fowls. *Sci. China Life*. 51:560–568.
- 12- Barker,C.M.A., Manwell,C., Labrisky,R.F and Harper,J.A. (1966). Molecular genetics of avian proteins-V.Egg, blood and tissue proteins of the Ring-necked Pheasant, *Phasianus colchicus* L.Comp. Biochem. Physiol.17:467-499.
- 13- Bawej,M., Kokoszynski,D and Bernacki,Z. (2012). Evaluation of genetic similarity between white and grey varieties of Guinea fowl (*numida meleagris*). *Journal of Central European Agriculture*. 13(4). P.654-661.
- 14- Becker,J., Vos,P., Kuiper,M., Salamini,F and Heun,M. (1995). Combined mapping of AFLP and RFLP markers in barley. *Molecular and General Genetics*, 249: 65-73.
- 15- Benson, G. (1999). Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences. *Nucleic Acids Res*. 27, 573-580.
- 16- Berthouly,C., Bed'Hom,B., Tixier-Boichard,M., Chen,C.F., Lee,Y.P., Laloe,D., Legros,H., Verrier,E and Rognon,X. (2008). Using molecular markers and multivariate methods to study the genetic diversity of local European and Asian chicken breeds. *Anim. Genet.*, 39:121–129.
- 17- Blackburn,H.D. (2009). Genebank development for the conservation of chicken genetic resources in the United States of America. *chicken science*,120:196- 203.
- 18- Blair,M.W., Panaud,O and Mccouch,S.R. (1999). Inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of microsatellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L). *theor. Appl. Genet*, 98:780-792.
- 19- Blears,M.J., De Grandis,S.A., Lee,H and Trevors,J.T. (1998). Amplified fragment length polymorphism (AFLP): a review of the procedure and its applications. *J. Indus. Microbiol. Biotechnol* . 21: 99-114.
- 20- Bodzsar,N., Eding,H., Revay,T., Hidas,A and Weigend,S. (2009). Genetic diversity of Hungarian indigenous chicken breeds based on microsatellite markers. *Anim. Genet.*, 40:516–523.
- 21- Bond,U and Schlesinger, M.J. (1985). Ubiquitin is a heat shock protein in chicken embryo fibroblasts. *Mol. Cell. Biol*. 5:949-956.
- 22- Bond,U and Schlesinger,M.J. (1986). The chicken Ubiquitin gene contains a heat shock promoter and expresses an unstable mRNA in heat-shocked cells. *Molecular and Cellular Biology*, Vol. 6, No. 12. p. 4602-4610.
- 23- Botsteine,D., White,R.L., Skolnick,M and Davis,R.W. (1980). Constraction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *American Journal of Human Genetics*, 32: 314-331.

- 24- Brown,B and Epifanio,J. (2003). Nuclear DNA. In: Hallermann, E.M(Ed.), Population Genetics: Principles and Applications for Fisheries Scientists. American Fisheries Society, Bethesda, MD. PP 458.
- 25- Bünger,L. (2008). New technologies in sheep breeding from molecular genetic tools to computed tomography and video image analysis, Conference on The Animal Wealth in Syria Current Status and prospects for Future Development,17-20 November, Aleppo, Syria.
- 26- Cahaner,A., Pinchasov,Y., Nir,I and Nitsan,Z. (1995). Effects of dietary protein under high ambient temperature on body weight, breast meat yield, and abdominal fat deposition of broiler stocks differing in growth rate and fatness. Poult. Sci. 74, 968–975.
- 27- Carner,A., Rachlow,J.L and Hicks,J. (2005). Patterns of genetic diversity and its loss in mammalian populations. *conserv Biol* 19:1215-1221.
- 28- Causton,H.C., Ren,B., Koh,S.S., Harbison,C.T., Kanin,E and Jennings,E.G. (2001). Remodeling of yeast genome expression in response to environmental changes. *Mol Biol Cell*. 12:323±37. Available from:
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11179418. PMID:11179418.
- 29- Cedraz,H., romboni,J.G.G., Garcia,A.A.P., Junior Farias., Filho,R.V., Souza,T.M., Oliveira,E.B.D., Nascimento,C.S.D., Meneghetti,C and Wenceslau,A.A. (2017). Heat stress induces expression of HSP genes in genetically divergent chickens. *PLoS ONE* 12(10): e0186083.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186083>.
- 30- Chwalibog,A and Eggum,B.O. (1989). Effect of temperature and performance heat production, evaporative heat loss and body composition in chickens. *Archive fur GeflUgelkunde* 53:179-184.
- 31- Craig,E.A and Gross,C.A. (1991). Is hsp70 the cellular thermometer? *TIBS* 16:135-40.
- 32- Crisà,A., Pariset,L., Marchitelli,C., Savarese,M.C and Valentini,A. (2001). Analisi della distribuzione dell allele D della Caseina aifa s1 in un campione di allevamenti nell alto Lazio mediante ACRS. *Proceedings, VI Convegno Nazionale sulla Bio diversità "opportunità disviluppo sostenibile"* 6-7 September, Bari, Italy.
- 33- Czaririck,M and Fairchild,B.D. (2008). Poultry Housing for Hot Climates. In: Nuhad J. Dagher (Ed.), *Poultry Production in Hot Climates*, pp: 81-131.

- 34- De Marchi,M., Dalvit,C., Targhetta,C and Crassandro,M. (2006). Assessing genetic diversity in indigenous Veneto chicken breeds using AFLP markers, *Animal Genetics* ,37:101-105.
- 35- De Nadal,E., Ammerer,G and Posas,F. (2011). Controlling gene expression in response to stress. *Nat. Rev. Genet.* [Internet]. Nature Publishing Group; 12:833±45. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrg3055>.
- 36- Deeb,N and Cahaner,A. (1999). The effect of naked-neck genotypes, ambient temperature, feeding status and their interactions on body temperature and performance of broilers. *Poult. Sci.* 78, 1341–1346.
- 37- Dehghanzadeh,H., Mirhoseini,S.Z., Romanov,M.N and Ghorbani,A. (2009). Evaluation of genetic variability and distances among five Iranian native chicken populations using RAPD markers. *Pakistan Journal of biological sciences* 12(11):866-871. ISSN 1028-8880.
- 38- Diez-Tascon,C., Littlejohn,R.P., Almeida,P.A.R and Crawford,A.M. (2000). Genetic Variation within the Merino sheep breed :analysis of closely related populations using microsatellites, *Animal Genetics*, Vol.(31) ,pp.243-251.
- 39- Dionello,N.J.L. (1998). Efeito do estresse calórico agudo em frangos de corte (2-5 dias de idade) sobre a síntese da proteína de choque térmico de 70 kD (Hsp70) e de seu RNA mensageiro em tecido hepático e cerebral. Thesis, Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul.
- 40- Dodgson,J.B., Cheng,H.H and Okimoto,R. (1997). DNA marker technology: A revolution in animal genetics. *Poult. Sci.*76:1108-1114.
- 41- Ecdj,A. (2013). Diversidade Fenotípica de galinhas nativas da raça peloca com base em descritores fenotípicos sob análise multivariada. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.
- 42- El-Gendy,E.A. (2008). A genome scan inference to the genetic evaluation of selected and randombred chicken populations. Department of animal production. Faculty of Agriculture. Cairo university. Giza,Egypt. *Arab J. Biotech.* Vol.12 No(1)Jan.1-12.
- 43- Ellegren,H., Waits,L., Einarsson,A and Väli,Ü. (2008). To what extent do microsatellite markers reflect genome-wide genetic diversity in natural populations?, *Molecular Ecology* , 17: 3808-3817.
- 44- Erhardet,G and Weimann,C. (2007). Use of molecular markers for evaluation of genetic diversity and in animal production , *Arch. Latinoam. Prod. Anim*, vol. 15(1), pp:63-66.

- 45- Etches,R.J., John,T.M and Gibbins,A.M.v. (1995). Behavioural, physiological, neuroendocrine and molecular responses to heat stress. In: Daghir, N.J.(Ed), Poultry production in hot climates> CAB International, Wallingford, UK.pp.31-65.
- 46- Etches,R.J., John,T.M and Verrinder Gibbins,A.M. (2008). Behavioural, Physiological, Neuroendocrine and Molecular Responses to heat stress in: Nuha J. Daghir (Ed), Poultry Production in hot climates. Trowbridge. Cromwell Press,PP:49-69.
- 47- Ewing,S.A., Donald,C., Lay,Jr and Von Borrel,E. (1999). Farm Animal Well-Being: Stress Physiology, Animal Behaviour and Environmental Design. Prentice Hall.
- 48- 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>).
- 49- 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).
- 50- FAO. (Food and Agriculture organization of the United Nations). (2005). Measurement of domestic animal diversity (MoDAD): Recommended microsatellite markers.
- 51- Felver–Gant,J.N., Mack,L.A., Dennis,R.L., Eicher,S.D and Cheng,H.W. (2012). Genetic variations alter physiological responses following heat stress in 2 strains of laying hens. Poult. Sci. 91, 1542–1551.
- 52- Feral,J.P. (2002). How useful are the genetic markers in attempts to understand and manage marine biodiversity, J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 268:121-145.
- 53- Franco-Jimenez,D.J., Scheideler,S.E., Kittok,R.J., Brown–Brandl,T.M., Robeson,L.R., Taira,H and Beck,M.M. (2007). Differential effects of heat stress in three strains of laying hens.J. Appl. Poult. Res. 16: 628–634.
- 54- Frankham,R. (1995). Inbreeding and extinction: a threshold effect, Conserv. Biol, 9:792-799.
- 55- Frankham,R. (2005). Stress and adaptation in conservation genetics.JE vol Biol ,18:750-755.
- 56- Fu,X.B., ZHANG,H.B., BAO,E.D and WANG,Z.L. (2004). Advance in research on the HSP90 family. Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 36: 39–41 (in Chinese).
- 57- Gabriel,J.E., Ferro,J.A., Stefani,R.M.P., Ferro,M.I.T., Gomes,S.L and Macari,M. (1996). Effect of acute heat stress on heat shock protein 70 messenger RNA and on heat shock protein expression in the liver of broilers. Br.Poult. Sci. 37: 443–449.

- 58- Galea-Lauri,J., Latchman,D.S. and Katz,D.R. (1996). The role of the 90-kDa heat shock protein in cell cycle control and differentiation of the monoblastoid cell line U937. *Experimental Cell Research*, 226: 243–254.
- 59- Ganter,M.T., Ware,L.B., Howard,M., Roux,J., Gartland,B., Matthay,M.A., Fleshner,M and Pittet,J. (2006). Extracellular heat shock protein 72 is a marker of the stress protein response in acute lung injury. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 291: 354–361.
- 60- Garriga,C., Hunter,R.R., Amat,C and Planas,J.M. (2006). Heat stress increases apical glucose transport in the chicken jejunum. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 290: 195-201.
- 61- Gaviol,H.C.T., Gasparino,E., Prioli,A.J and Soares,M.A.M. (2008). Genetic evaluation of the HSP70 protein in the Japanese quail (*Coturnix japonica*).*Genet. Mol. Res.*, 7: 133-139.
- 62- Goyache,F., Gutiérrez,J.P., Fernández,I., Gomez,E., Álvarez,I., Díez,J and Royo,J. (2003). Monitoring pedigree information to conserve the genetic variability in endangered populations: the Xalda sheep breed of Asturias as an example , *J. Anim. Breed. Genet*, 120: 95-103.
- 63- Gu,X.H., Hao,Y and Wang,X.L. (2012). Overexpression of heat shock protein 70 and its relationship to intestine under acute heat stress in broilers: 2. Intestinal oxidative stress. *Poult. Sci.* 91: 790–799.
- 64- Halevy,O., Krispin,A., Leshem,Y., McMurtry,J.P and Yahav,S. (2001). Early-age heat exposure affects skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation in chicks. *Am. J. Physiol. Regul.Integr. Comp. Physiol.* 281:302–309.
- 65- Hanotte,O., Ronin,Y., Agaba,M., Nilsson,P., Gelhaus,A., Horstmann,R., Sugimoto,Y., Kemp,S., Gibson,J., Korol,A., Soller,M and Teale,A. (2003). Mapping of quantitative trait loci controlling trypanotolerance in a cross of tolerant West African N'Dama and susceptible East African Boran Cattle. *Proc Natl Acad Sci USA*,100:7443-7448.
- 66- Hanotte,O. (2005). Genetic characterization of livestock populations and its use in conservation decision-making ,*The Role of Biotechnology*,pp:131-136, 5-7 March ,Villa Gualino,Turin, Italy.
- 67- Hartl,D.L and Clark,A.G. (1989). *Principles of population genetics*, 2nd edition. Sinauer, Sunderland, Mass.
- 68- Hartl,F.U and Hayer-Hartl,M. (2002). Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein. *Sci* 295: 1852-1858.
<http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1068408>.

- 69- Hasheimi,S.R., Zulkifli,I., Somchit,M.N., Zunita,Z., Loh,T.C., Soleimani,A.F and Tang,S.C. (2012). Dietary supplementation of *Zingiber officinale* and *Zingiber zerumbet* to heat-stressed broiler chickens and its effect on heat shock protein 70 expression, blood parameters and body temperature. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 97: 632–638.
- 70- 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 and Weigend,S. (2003). Biodiversity of 52 chicken populations assessed by microsatellite typing of DNA pools. *Genet. Select.* vol., 35: 533–557.
- 71- Hilman,P.E., Scot,N.R and Van Tienhoven,N.R.A. (2000). Physiological, Responses and adaption to hot and cold Environments. In: Yousef, M.K. (Ed.), *Stress Physiology in Livestock*. Vol.3, Poultry. CRC press, Florida, pp:1-71.
- 72- Horst,P. (1989). Native fowl as reservoir for genomes and major genes with direct and indirect effects on the adaptability and their potential for tropically oriented breeding plans, *Archiv für Geflügelkunde*, 53(3), 93–101.
- 73- Hunt,C and Morimoto,R.I. (1985). Conserved features of eucaryotic hsp70 genes revealed by comparison with the nucleotide sequence of human hsp 70. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:6455-6459.
- 74- Jallad,T., Choumane,W and Hmeshe,M. (2012). Characterization and Estimation of genetic diversity in two Syrian chicken phenotypes using molecular markers. Faculty of Agriculture, Tishreen university, Lattakia, Syria. *International Journal of poultry science* 11(1): 16-22,2012.ISSN 1682-8356.
- 75- Jones,C.J., Edwards,K.J., Castaglione,S., Winfield,M.O., Sala,F., Vandewiel,C., Bredemeijer,G., Vosman,B., Matthes,M., Daly,A., Brettschneider,R., Bettini,P., Buiatti,M., Maestri,E., Malcevski,A., Marmiroli,N., Aert,R., Volckaert,G., Rueda,J., Linacero,R., Vazquez,A and KarpMA. (1997). Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. *Molecular breeding* 3:381-390.
- 76- Joost,S. (2005). Combining biotechnologies and giscience to contribute to sheep and goat genetic resources conservation, *The Role of Biotechnology*,pp:109-116,5-7 March, Villa Gualino, Turin, Italy.
- 77- Kantanen,J., Vilkki,J., Elo,K and Maki- Tanila,A. (1995). Random amplified polymorphic DNA in cattle and sheep: application for detecting genetic variation . *Animal Genetics*. 25:315-320.

- 78- Kantanen,J. (1999). Genetic diversity of domestic cattle (*Bos taurus*) in North Europe. PhD Thesis, University of Joensuu publications in Sciences, 52, University of Joensuu.
- 79- 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
- 80- Kitamei,H., Kitaichi,N., Yoshida,K., Nakai,A., Fujimoto,M., Kitamura,M., Iwabuchi,K., Miyazaki,A., Namba,K., Ohno,S and Onoé,K. (2007). Association of heat shock protein 70 induction and the amelioration of experimental autoimmune uveoretinitis in mice. *Immunobiology* 212, 11–18.
- 81- Kondombo,S.R., Nianogo,A.J., Kwakkel,R.P., Udo,H.M and Slingerland,M. (2003). Comparative analysis in village chicken production in two farming systems in Burkina Faso. *Tropical Animal Health and Production*, 35, 563–574.
- 82- Kregel,K.C. (2002). Heat shock proteins: Modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *J. Appl.Physiol.* 92:2177–2186.
- 83- Lee,W.C., Lin,K.Y., Chen,C.M., Chen,Z.T., Liu,H.J and Lai,Y.K. (1991). Induction of heat-shock response and alteration of protein phosphorylation by a novel topoisomerase II inhibitor, with angulatin A, in 9L rat brain tumor cells. *Journal of Cell Physiology*, 149: 66–76.
- 84- Lei,J.Yu and Bao,E. (2009). Expression of heat shock protein 90 (Hsp90) and transcription of its corresponding mRNA in broilers exposed to high temperature. *Br Poult Sci* 50: 504-511.
- 85- Li,G.C. (1985). Elevated levels of 70,000 dalton heat shock protein in transiently thermotolerant Chinese hamster fibroblasts and in their stable heat resistant variants. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 11:165–177.
- 86- Li,Y.B., Bao,E.D., Wang,Z.L and Zhao,R.Q. (2006). Detection of HSP mRNA transcription in transport stressed pigs by fluorescence quantitative RT-PCR. *Agricultural Sciences in China*, 39: 187–192.
- 87- Li,Y., Zhou,Q., Hively,R., Yang,L., Small,C and Griswold,M.D. (2009). Differential gene expression in the testes of different murine strains under normal and hyperthermic conditions. *J. Androl.*30:325–337.
- 88- Liao,F., Andalibi,A., Qiao,J.H., Allayee,H., Fogelman,A.M and Lusi,A.J. (1994). Genetic evidence for a common pathway mediating oxidative stress, inflammatory gene induction, and aortic fatty streak formation in mice. *Journal of Clinical Investigation*, 94: 877–884.
- 89- Lindquist,S. (1986). The heat shock responses. *Ann. Rev. Biochem.* 55:1151–1191.

- 90- Liu,Q., Goudie,C.A., Simco,B.A., Davis,K.B and Morizot,D.C. (1992). Gene-centromere mapping of six enzyme loci in gynogenetic channel catfish. *J. Heredity* 83:245-248.
- 91- Liu,Z.W., Biyashev,R.M and Saghai Maroof,M.A. (1996). Development of simple sequence repeat DNA markers and their integration into a barley linkage map. *Theor Appl Genet* 93:869-876.
- 92- Liu,Z.J., Li,P., Kocabas,A., Ju,Z., Karsi,A., Cao,D and Patterson,A. (2001). Microsatellite – containing genes from the channel catfish brain: evidence of trinucleotide repeat expansion in the coding region of nucleotide excision repair gene RAD23B. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 289:317-324.
- 93- Liu,Z.J and Cordes,J.F. (2004). DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics, *Aquaculture*, 238: 1-37.
- 94- Locke,M and Noble,E.G. (1995). Stress proteins: the exercise response. *Canad. J.Appl. Physiol.* 20:155-167.
- 95- Love,J.M., Knight,A.M., McAleer,M.A and Todd,J.A. (1990). Towards construction of a high resolution map of the mouse genome using PCR-based analysed microsatellites . *Nucleic Acids Res.*18:4123-4130.
- 96- Luikart,G., Biju-Duval,M.P., Ertugrul,O., Zagdsuren,Y., Maudet,C and Taberlet,P. (1999). Power of 22 microsatellite markers in fluorescent multiplexes for parentage testing in goats (*Capra hircus*). *Animal Genetics* 30:431-438.
- 97- Luty,J.A., Guo,Z., Willard,H.F., Ledbetter,D.H., Ledbetter,S and Litt, M. (1990). Five polymorphic microsatellite VNTRs on the human X chromosome. *Am. J. Hum.Genet.* 46: 776-783.
- 98- Mafeni,M.J., Wimmers,K and Horst,P. (1997). Genetic diversity in indigenous Cameroon and German Dahlem rRed Fowl populationseastmated from DNA fingerprints, *Arch Tierz*, 40: 581-589.
- 99- Mahmoud,K.Z., Eden,F.W., Eisen,E.J and Havenstein,G.B. (2004). The effect of dietary phosphorus on heat shock protein mRNAs during a cut heat stress in male broilers chickens (*Gallus gallus*). *Comp. Biochem. Physiol.* 137:11-18.
- 100- Maloyan,A., Palmon,A and Horwitz,M. (1999). Heat acclimation increase the basal HSP72 level and alters its production dynamics during heat stress. *American Journal of Physiology*, 276: R1505–R1515.
- 101- Manninen,O. (2000). Genetic mapping of traits important in barley breeding. Doctoral Thesis, University of Helsinki, Department of Biosciences, Division of Genetics, Helsinki, Finland.

- 102- Manoli,I., Alesci,S., Blackman,M.R., Su,Y.A., Rennert,O.M and Chrousos,G.P. (2007). Mitochondria as key components of the stress response. Trends Endocrinol. Metab. 18, 190–198.
- 103- Mariante,A.S., Albuquerque,M.S.M., Egito,A.A and Mcmanus,C. (2009). Present status of the conservation of livestock genetic resources in Brazil . Livest. Sci. Elsevier B.V. 120:204±12. Available from:<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci>.
- 104- Mashaly,M.M., Hendricks,G.L., Kalama,M.A., Gehad,A.E., Abbas,A.O.P and Patterson,P.H. (2004). Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens. Poult. Sci. 83: 889–894.
- 105- Mateus,J.C., Penedo,M.C.T., Alves,V.C., Ramos,M and Rangel-Figueiredo,T. (2004). Genetic diversity and differentiation in Portuguese cattle breeds using microsatellites, Anim Genet, 35: 106-113.
- 106- Matsumiya,T., Imaizumi,T., Yoshida,H., Satoh,K., Topham,M.K and Stafforini,D.M. (2009). The levels of retinoic acid-inducible gene I are regulated by heat shock protein 90-alpha. The Journal of Immunology: Official Journal of the American Association of Immunologists 182, 2717–2725.
- 107- Maudet,C., Miller,C., Bassano,B., Breitenmoser-Würsten,C., Gauthier,D., Obexer-Ruff,J., Michallet,J., Taberlet,P and Luikart,G. (2002). Microsatellite DNA and recent statistical methods in wildlife conservation management: applications in Alpine ibex [*Capra ibex(ibex)*], Molecular Ecology, 11:421-436.
- 108- Mazzi,C.M., Ferro,J.A., Ferro,M.I.T., Savino,V.J.M., Coelho,A.A.D and Macari,M. (2003). Polymorphism analysis of the hsp70 stress gene in broiler chickens (*Gallus gallus*) of different breeds. Genet. Mol. Biol. 26: 275–281.
- 109- Meehl,G.A and Tebaldi,C. (2004). Science 305: 994-997.
- 110- Mestril,R and Dillmann,W.H. (1995). Heat shock proteins and protection against myocardial ischemia. Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 27: 45–52.
- 111- Mille,T., You,L., Myerburg,R., Benke,P and Bishopric,N. (2007). Whole blood RNA offers a rapid, comprehensive approach to genetic diagnosis of cardiovascular diseases. Genet Med. Jan;9(1):23-33
- 112- Miller,C., Schwalb,B., Maier,K., Schulz,D., DuÈmcke,S and Zacher,B. (2011). Dynamic transcriptome analysis measures rates of mRNA synthesis and decay in yeast. Mol. Syst. Biol. 7:458. <https://doi.org/10.1038/msb.2010.112> PMID: 21206491 .
- 113- Mohammadi. S.A.; Prasanna. B.M. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants: salient statistical tools and considerations crops. 43: 1235-1248.

- 114- Monira,K.N., Islam,M.N., Khatun,R and Ahmed,S. (2011). Genetic relationship and similarity of som selected chicken strains. Poultry Production Research Division. Bangladesh Livestock Research Institute. Savar. Dhaka-1341. E-mail:monirablri@Yahoo.com.J.Bangladesh Agril. Univ.9(2):217-220
- 115- Morimoto,R. (1993). Cells in Stress: Transcriptional Activation of Heat Shock Genes. Science (80-.). [Internet]. 259:1409±10. Available from:
<http://www.biochem.northwestern.edu/ibis/morimoto/research/Publications/MorimotoScience93.pdf>.
- 116- Morimoto,R.I. (2008). Proteotoxic stress and inducible chaperone networks in neurodegenerative disease and aging. Genes & Development 22, 1427– 1438.
- 117- Mullis,K., Faloona,S., Scharf,S., Saiki,R., Horn,G and Erlich,H. (1986). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The polymerase chain reaction. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.51:263-273.
- 118- Murakami,H.K., Pain,D and Blobel,G. (1988). 70–kDa heat shock–related protein is one of at least two distinct cytosolic factors stimulating protein import into mitochondria. J. Cell Biol. 107: 2051–2057.
- 119- Naqvi,A.N. (2007). Application of Molecular Genetic Technologies in Livestock Production: Potentials for Developing Countries, Advances in Biological Research ,1(3-4) :72-84.
- 120- Nei,S.M. (1987). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics 89: 583-590.
- 121- Nguyen,N., Francoeur,N., Chartrand,V., Klarskov,K., Guillemette,G and Boulay,G. (2009). Insulin promotes the association of heat shock protein 90 with the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor to dampen its Ca²⁺ release activity. Endocrinology 150, 2190– 2196.
- 122- Noor,R.R and Seminar,K.B. (2009). Rahasia dan Hikmah Pewarisan Sifat (Ilmu Genetika dalam Al-Qur'an). Bogor. Penerbit IPB Press, Pages: 109.
- 123- Ojano-Dirain,C.P and Waldroup,P.W. (2002). Protein and amino acid needs of broilers in warm weather. Poult. Sci. 1:40-46.
- 124- Okumu,S and Kaya,M. (2005). Genetic similarity by RABD between pure lines of chickens. Department of Biometry-Genetics, Faculty of Agriculture. Journal of Biological Sciences 5(5): 424-426.ISSN 1727-3048.

- 125- Olden Broek, J.K. (1999). Genebanks and the conservation of Farm Animal Genetic Resources. DLO Institute for animal Science and Health, Lelystad, The Netherlands.
- 126- Palmisano, A.N., Winton, J.R. and Dickhoff, W. (1999). Sequence features and phylogenetic analysis of the stress protein Hsp90a in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*), a poikilothermic vertebrate. *Biochemical and Biophysics Research Communications*, 258: 784–791.
- 127- Parmar, S.N.S., Tolenkhomba, T.C., Thakur, M.S., Joshi, C.G., Rank, D.N., Solanki, J.V., Srivastava, P.N. and 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.
- 128- Payne, C.G. (1985). Practical aspects of environmental temperature for laying hens. *World's Poultry Science Journal*, vol. 22, no. 2, pp. 126–139, 1966.
- 129- Pelham, H.R.B. (1985). Activation of heat-shock genes in eukaryotes. *Trends Genet.* 1: 31–35.
- 130- Pirany, N., Michael, N.R., Suhash, P.G., Govindaiah, D. and Doddananjappa, T.P. (2007). Microsatellite Analysis of Genetic Diversity in Indian Chicken Populations. *Poult Sci*, 44:19-28.
- 131- Pirkkala, L., Nykanen, P. and Sistonen, L. (2001). Roles of the heat shock transcription factors in regulation of the heat shock response and beyond. *Faseb. J.* 15:1118-1131.
- 132- Powell, W., Machray, G.C. and Provan, J. (1996). Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Elsevier Trends Journals* 1(7): 215-222.
- 133- Qian, Z., Hong, D. and Dong Hang, Z. (2007). ISSR Molecular Marker and its application in plant researches. *Molecular Plant Breeding*, V.(5). 6:123-129.
- 134- Rafalski, J.A. and Tingey, S.V. (1993). Genetic diagnostics in plant breeding : RAPDs, microsatellites and machines. *Trends Genetics*. 9(8) :275-280.
- 135- Rafalski, J.A., Vogel, J.M., Morgante, M., Powell, W., Andre, C. and Tingey, V. (1996). Generating and using DNA markers in plants. *Nonmammalian Genomic Analysis: A practical Guide*. 4:75-134.
- 136- Raina, S.N., Rani, V., Kojima, T., Ogihara, Y., Singh, K.P. and 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.

- 137- 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.
- 138- Rege,J.E.O and Lipner,M.E. (1992). African animal genetic resources:their characterization , conservation and utilisation .Proceeding of the research Planning Workshop,19-21 February 1992,Addis Ababa,Ethiopia, International Livestock Centre for Africa, AddisAbaba, Ethiopia.pp172.
- 139- Rege,J.E.O. (2002). Defining livestock breeds in the context of community-based management of farm animal genetic resources.In: Animal genetic resources virtual library CD-Rom. Gtz,Saccar and ILRI, ILRI-Ethiopia & Cgiar.Org,Nairobi.
- 140- Rege,J.E.O and OkeyomA.M. (2006). Improving our knowledge of tropical indigenous animal genetic resources,Animal Genetics Training Resource version 2, International Livestock Research Institute (ILRI) ,pp.1-28.
- 141- Rendo,F., Iriondo,M., Jugo,B.M., Mazon,L.I., Aguirre,A and Vicario,A. (2004). Ebreds from the North Iberian Peninsula through DNA variation. Small Rumin.Res.52:195-202.
- 142- Rimoldi,S., Lasagna,E., Sarti,F.M., Marelli,S.P., Cozzi,M.C., Bernardini,G and Terova,G. (2015). Expression profile of six stress-related genes and productive performances of fast and slow growing broiler strains reared under heat stress conditions.
- 143- Rosenberg,N.A., Burke,T and Elo,K. (2001). Power of 12 microsatellite markers in fluorescent multiplexes for parentage testing in chickens. Animal Genetics 30:431-438.
- 144- Sagrilo,E., Girão,E.S., Barbosa,F.J.V., Ramos,G.M., Azevedo,J.N.D and Medeiros,L.P. (2003). Agricultura FamiliarDGalinha Caipira [Internet]. MinisteÂ rio do Desenvolv. Soc. e Combat. à Fome. p. 1±2.
<http://www.mds.gov.br/falemds/perguntasfrequentes/bolsafamilia/programascompleme ntares/beneficiario/agricultura-familiar> .
- 145- Sahin,K., Onderci,M., Sahin,N., Gursu,M.F., Khachik,F and Kucuk,O. (2006). Effects of lycopene supplementation on antioxidant status, oxidative stress, performance and carcass characteristics in heat-stressed Japanese quail,” Journal of Thermal Biology, vol. 31, no. 4, pp. 307–312.
- 146- Saiki,R.K., Scharf,S., Faloona,F., Mullis,K.B., Horn,G.T., Erlich,H.A and Arnheim,N. (1985). Enzymatic amplification of b-globulin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anaemia , Science 230:1350-1354.

- 147- Saiki,R.K., Gelfand,D.H., Stoffel,S., Scharf,S.J., Higuchi,R., Horn,G.T., Mullis,K.B and Erlich,H.A. (1988). Prime-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239:487-491.
- 148- 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 and 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.
- 149- Sass,J.B., Weinberg,E.S and Krone,P.H. (1996). Specific localization of zebrafish Hsp90-alpha mRNA to myo D-expressing cells suggests a role for Hsp90-alpha during normal muscle development. *Mechanisms of Development*,54:195–204.
- 150- Sayed,H and Baum,M. (1994). RFLP-analysis in barley using a non-radioactive protocol. Presented in :Workshop on biotech application, Safawi, November 11-15 ,1994, Jordan.
- 151- Serikawa,T., Kuramoto,T., Hilbert,P., Mori,M., YamadaJ., Dubay,C.J., Lindpainter,K., Ganten,D., Guenet,J.L., Lathrop,G.M and Beckman J.S. (1992). Rat gene mapping using PCR-analyzed microsatellites. *Genetics* 131: 701- 721.
- 152- Simianer,H. (2005). Use of molecular markers and other information for sampling germplasm to create an animal genebank, *The Role of Biotechnology*, pp: 37-42, 5-7 March ,Villa Gualino, Turin, Italy.
- 153- Smith,E.J., Jones,C.P., Barlett,J and Nestor,K.E. (1996). Use of randomly amplified polymorphic DNA markers for the genetic analysis of relatedness and diversity in chicken and turkeys.*Poult Sci*, 75: 579-84.
- 154- Soleimani,A.F., Zulkifli,I., Omar,A.R and Raha,A.R. (2011). Physiological responses of 3 chicken breeds to acute heat stress. *Poult. Sci.* 90: 1435–1440.
- 155- Song,Z., Lei Liu,L., Sheikhahmadi,A., Hongchao Jiao,H and Lin,H. (2012). Effect of Heat Exposure on Gene Expression of Feed Intake Regulatory Peptides in Laying Hens. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* Volume 2012, Article ID 484869, 8 pages doi:10.1155/2012/484869.
- 156- Sonna,L.A., Fujita,J., Gaffin,S.L and Lilly,C.M. (2002). Effects of heat and cold stress on mammalian gene expression. *J. Appl. Physiol.* 92:1725–1742.
- 157- Southern,E.M. (1975). Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *Journal of Molecular Biology* 98:503-517.

- 158- Soysal,M.I., Tuna,Y.T., Özkan,E., Gürcan,E.K., Tong,I and Altunok,V. (2005). A Study on the Wool Characteristics of Several Turkish Sheep Breeds According to the Microsatellite DNA Types, Pakistan Journal of Biological Sciences,Vol.8 (2), pp.186-189.
- 159- Sweigart,A., Karoly,K., Jones,A and Willis,H.J. (1999). The distribution of individual inbreeding coefficients and pairwise relatedness in population of *Mimulus guttatus* . Heredity 83:625-632.
- 160- Staib,J.L., Quindry,J.C., French,J.P., Criswell,D.S and Powers,S.K. (2007). Increased temperature,not cardiac load, activates heat shock transcription factor 1 and heat shock protein 72 expression in the heart. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 292: 432–439.
- 161- Stuber,C.W., Wendel,J.F., Goodman,M.M and Smith,J.S.C. (1988). Techniques and scoring procedures for starch gel electrophoresis for maize (*Zeamays L.*) Tech. Bull.286. Raleigh,NC.
- 162- Tadano,R., Nishibori,M., Nagasaka,N and Tsudzuki,M. (2007). Assessing genetic diversity and population structure for commercial chicken lines based on forty microsatellite analyses. Poult Sci. 86: 2301–2308.
- 163- Tadano,R., Nishibori,M., Imamura,Y., Matsuzaki,M. Kinoshita,K., Mizutani,M., Namikawa,T and 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.
- 164- Tamzil,M.H., Noor,R.R., Hardjosworo,P.S., Manalu,W and Sumantri,C. (2013). A cute heat stress responses of three lines of chickens with different heat shock protein (HSP)-70 genotypes. Int.J.Poult.Sci., 12(5):264-272.
- 165- Tanabe,S., Sugo,T and Matsuda,M. (1991). Synthesis of protein C in human umbilical vein endothelial cells, Journal of Biochemistry 109(6):924-928.
- 166- Temim,S., Chagneau,A.M., Peresson,R and Tesseraud,S. (2000). Chronic heat exposure alters protein turnover of three different skeletal muscles in finishing broiler chickens fed 20 or 25% protein diets. J Nutr. 130: 8 13-19.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10736335> PMID:10736335
- 167- Thiel,T., Michalek,W., Varshney,R. K and Graner,A. (2003). Exploiting EST databases for the development and characterization of gene-derived SSR-markers in barley (*Hordeum vulgare* L.). Theoretical and Applied Genetics, 106: 411-422.

- 168- Toro,M.A., Barragàn,M.C., Ovilo,C., Castellanos,C., Rodriguez,M.C and Silió,L. (2000). Application of molecular markers (RAPD, AFLP and Microsatellites) to Iberian pig genotype characterization. *Ciheam- Options Mediterraneennes* , pp:79-84.
- 169- Van Der Nest,M.A., Steenkamp,E.T., Wigfield,B.D and 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.
- 170- Vanhala,T., Tuiskula-Haanisto,M., Elo,K., Vilkki,J and Maki,A.T. (1998). Evaluation of genetic variability and genetic distances between eight chicken lines using microsatellite markers. *Poult Sci*. 77: 783-790.
- 171- Vos,P., Hogers,R., Bleeker,M., Reijans,M., Van de Lee,T., Hornes,M., Frijters,A., Pot,J., Peleman,J., Kuiper,M and Zabeay,M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res*.23:4407- 4414.
- 172- Wang,Z., Weber,G., Zhong,G and Tanksley,S.D. (1994). Survey of plant short tandem DNA repeats. *Theor Appl Genet* 88:1-6.
- 173- Wang,Shih-Han., Chuen-Yu,Cheng., Pin-Chi,Tang., Chih-Feng,Chen., Hsin-Hsin,Chen., Yen-Pai, Lee and San-Yuan,Huang. (2015). Acute Heat Stress Induces Differential Gene Expressions in the Testes of a Broiler-Type Strain of Taiwan Country Chickens.
- 174- Weber,J.L and May,P.E. (1989). Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction , *Am J Hum Genet* 44:388-396.
- 175- Wegele,H., Muller,L and Buchner,J. (2004). Hsp70 and Hsp90- a relay team for protein folding *Rev. physiol. Biochem, Pharmacol*. 151: 1-44. <https://doi.org/10.1007/s10254-003-0021-1> PMID: 14740253
- 176- Williams,J.G.K., Kubelik,A.R., Rafalski,J.A and Tingey,V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Res.*, Vol(18) PP:6231-6235.
- 177- Windig,J.J., Meuleman,H and Kaal,L. (2007). Selection for scrapie resistance and simultaneous restriction of inbreeding in the rare sheep breed “Mergellander”. *Preventive veterinary medicine* 78:161-171.
- 178- Wirgin,I.I and Waldman,J.R. (1994). What DNA can do for you. *Fisheries* 19:16-27.
- 179- Wolf,A.D., Xiang,Q-Y and Kephart,S.R. (1998). Assessing hybridization in natural populations of *Penstemon* (Scrophulariaceae) using hypervariable Inter Simple Sequence Repeat Markers. *Mol. Ecol*, 71:1107-1125.

- 180- Xie,J., Tang,L., Lu,L., Zhang,L., Xi,L., Hsiao-Ching,L., Jack,O and Xugang,L. (2014). Differential expression of heat shock transcription factors and heat shock proteins after a cute and chronic heat stress in laying chickens (*Gallus gallus*). PLoS one 9(7): e102204. Doi: 10.1371/journal. Pone.0102204.
- 181- Yahav,S., Goldfeld,S., Plavnik,I and Hurwitz,S. (1995). Physiological responses of chickens and turkeys to relative humidity during exposure to high ambient temperature. *J. Therm. Biol.* 20, 245–253.
- 182- Yahav,S., Shamay,A., Horev,G., Bar-Ilan,D., Genina,O and Friedman-Einat,M. (1997). Effect of acquisition of improved thermotolerance on the induction of heat shock proteins in broiler chickens. *Poult. Sci.* 76:1428-1434.
- 183- Yahav,S and Tzschentke,B. (2006). Perinatal thermal manipulations in poultry, does it cause long-lasting thermoregulatory memory. *Proc. EPC, Verona, Italy. WPSA, Italian Branch, Verona.*
- 184- Yalcin,S., Ozkan,S., Cabuk,M., Buyse,J., Decuyper,E and Siegel,P.B. (2005). Pre-and postnatal conditioning induced thermos tolerance on body weight physiological responses and relative asymmetry of broilers originating from young and old breeder flocks. *Poult. Sci.* 84: 967-976.
- 185- Yellon,D.W and Latchman,D.S. (1992). Whole body heat stress fails to limit infarct size in the reperfused rabbits heat. *Cardiovascular Research*, 26: 339–342.
- 186- Young,R.A. (1990). Stress proteins and immunology. *Immunol. Annu. Rev. Immunol.* 8, 401–420.
- 187- Yu,J and Bau,E. (2008). Effect of acute heat stress on heat shock protein 70 and its corresponding mRNA expression in the heart, liver and kidney of broilers. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 21: 1116-1126.
- 188- Yue-Hui,M., Shao-Qi,R., Shen-Jin,L., Guan-Yu,H., Wei-Jun,G., Hong-Bin,L., Xia,L., Qian-Jun,Z and Jun,G. (2006). Phylogeography and origin of sheep breeds in Northern China ,*Conservation Genetics* 7:117-127.
- 189- Yunis,R and Cahaner,A. (1999). The effects of the naked neck (Na) and frizzle (F) genes on growth and meat yield of broilers and their interactions with ambient temperatures and potential growth rate. *Poult. Sci.* 78:1347–1352.
- 190- Zabeau,M and Vos,P. (1993). Selective restriction fragment amplification : a general method for DNA fingerprinting, European Patent Application number: 92402629.7, publication number 0 534 858.

- 191- Zaprjanova,S., Rashev,P., Zasheva,D., Martinova,Y and Mollova,M. (2013). Electrophoretic and immunocytochemical analysis of Hsp72 and Hsp73 expression in heat-stressed mouse testis and epididymis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2013; 168: 54–59. doi: 10.1016/j.ejogrb.2012.12.021 PMID: 23352621.
- 192- Zhang,X., Leung,F.C., Chan,D.K.O., Yang,G and Wu,C. (2002). Genetic Diversity of Chinese Native Chicken Breeds Based on Protein Polymorphism, Randomly Amplified Polymorphic DNA, and Microsatellite Polymorphism. *Poult. Sci* 81:1463–1472.
- 193- Zhi-Peng,L., Gong-She,L and Qing-Chaun,Y. (2007). A novel statistical method for assessing SSR variation in auto tetraploid Alfalfa (*Medicagosativa* L.). *Genetics and Molecular Biology.* 30(2): 385-391.
- 194- Zhong,J., Lv,X., Liu,R and Chen,H. (2009). Genetic relationship of sweet Cherry (*Prunusavium* L.) based on SSR markers. *Plant Sciences Research.* 2(1): 6-10.

ملخص البحث باللغة الأجنبية

Summary

The genetic diversity was studied between and within three phenotypes of local chickens (Rizi, brown and black), obtained from different areas of Damascus and its countryside as compared to imported hybrid of laying hen (HN). The PCR technique was carried out using 11 primers of ISSR. All ISSR primers gave amplification products, and demonstrated their effectiveness in showing the polymorphism between all studied types. The percentage of polymorphism between local chicken groups and HN group was 96.15 %. The highest value of PAV was 0.78 between HN and local Rizi, while the smallest value of PAV was 0.49 between the HN group and the local black birds. The dendrogram was divided into two main clusters according to geographical origin, the first cluster included the Rizi group and the HN group with a genetic distance of 12.00. The second cluster included the brown and black groups of domestic birds, with a larger genetic distance of 24.06.

When comparing the genetic variance within Rizi local group and HN group, the percentage of polymorphism was 94.57 %. The highest value of PAV in the HN group was 0.99, and the smallest was 0.86. In Rizi domestic group, the highest value of PAV was 0.94 and the smallest was 0.68. The dendrogram was divided into two main clusters according to comb form. When comparing the genetic variance within brown local group and HN group, the percentage of polymorphism was 96.26%. The highest value of PAV in the HN group was 0.95, and the smallest was 0.84. Among brown local group, the highest value of PAV was 0.93, while the lowest value was 0.48. The dendrogram was divided into two main clusters, the first cluster included the HN group, while the second cluster included brown local group.

When comparing the genetic variance within black local group and HN group, the percentag of polymorphism was 100 %. The highest value of PAV in the HN group was 0.94, and the lowest value was 0.83. Among black local group, the highest value of PAV was 0.97, while the lowest value was 0.51. The dendrogram was divided into two main clusters, the first cluster included the two genotypes that were characterized by a white hepatic placenta with a genetic distance of 24.98. While the second cluster included the genotypes of the red earlobe, and it was divided into two subclusters, the first subcluster included black males regardless of its origin, the second subcluster included the females, in which HN females formed a group separeted of the group of local black females.

The study of the genetic expression of HSP70 and HSP90 genes has been carried out on two local chicken groups (black and brown), and the imported hybrid group HN. The results of showed that HSP90 gene expression is higher than HSP70 gene expression in all experimental groups, indicating that it plays a greater role than HSP70 in thermal stress resistance. The expression of the HSP70 gene was significantly reduced in the experimental groups compared to the unstressed group. The HSP70 gene expression at the end of stress period in HN, black and Rizi was 0.205, 0.655 and 0.790, respectively, the differences between these groups were significant, so local chickens were more resistant to heat stress than HN importer for the HSP70 gene. Within the two local chicken groups, the black chicken is more resilient to the heat stress than the Rizi chicken for HSP70 gene.

HSP90 gene expression was increased due to thermal stress in local black and Rizi groups compared to unstressed, while its expression decreased in the HN group. The HSP90 gene expression at the end of the stress period in the local black, Rizi, and HN chicken groups was 2.361,

1.958 and 0.528, respectively and the differences between these groups were significant, so local chickens were more resistant to thermal stress than HN for HSP90 gene, and within the two local chicken groups, the black chicken is more resistant to thermal stress than the Rizhi chicken for the HSP90 gene.

HSP70 gene expression at the end of the stress period in the two groups of non-naked and naked legs domestic birds was 0.291 and 0.188, respectively, while the value of HSP90 expression was 2.039 and 1.800, respectively, so that domestic non- naked legs birds are more resistant to heat stress than legless domestic birds for the HSP70 and HSP90 genes. The HSP70 gene expression at the end of the stress period in the male and female domestic chickens was 0.263 and 0.211, respectively, so the males were more resistant to heat stress than female for the HSP70 gene. The value of HSP90 gene expression at the end of stress period in the female domestic chickens was 2.171 and was higher than the value of local male chickens (1.551), so the females were more resistant to heat stress than males for the HSP90 gene.