جامعـــة دمشق

كليـــة الزراعـــة

قسم الإنتاج الحيوانـي

تحليل التنوع الوراثي للماعز الشامي في سورية

Analysis of The Genetic Diversity in Syrian Shami Goats

رسالة أعدت للحصول على درجة الدكتوراه في الإنتاج الحيواني

(تقانات حيوية)

إعداد المهندس

علي عقيل كنعان

المشرف العلمي

أ.د. بسام عيسى

المشرف المشارك

د. سلام لاوند

شهادة

نشهد بأن العمل الموصوف في هذه الرسالة:

«تحليل التنوع الوراثي للماعز الشامي في سورية»

جاء نتيجة بحث علمي قام به المرشح علي عقيل كنعان بإشراف:

الأستاذ الدكتور بسام عيسى:

أستاذ التحسين الوراثي في قسم الإنتاج الحيواني، كلية الزراعة- جامعة دمشق

والدكتورة سلام لاوند:

الأستاذ المساعد باختصاص البيولوجيا الجزيئية في قسم المحاصيل الحقلية، كلية الزراعة- جامعة دمشق.

وإن المراجع المستخدمة في هذه الرسالة موثقة أصولاً ضمن النص.

المرشح	المشرف المشارك	المشرف العلمي
علي كنعان	د. سلام لاوند	أ.د . بسام عيسى

CERTIFICATE

It is hereby certificated that the work described in this thesis:

Is the result of the scientific research done by candidate

ALI AKEEL KANAAN

Under the supervision of Prof. Bassam Isa , Horticulture Department, Faculty of Agriculture, Damascus University, and Prof. Salam Lawand, Horticulture Department, Faculty of Agriculture, Damascus University, and any reference to other research works has been duly acknowledged in the text

Candidate	Supervisor	
Ali Akeel Kanaan	Prof. Salam Lawand	Prof. Bassam Isa

شهادة

قدمت هذه الرسالة والتي عنوانها:

((تحليل التنوع الوراثي للماعز الشامي في سورية))

من قبل السيد علي عقيل كنعان استكمالاً لمتطلبات نيل درجة الدكتوراه في الهندسة الزراعية في قسم الإنتاج الحيواني (تقانات حيوية) – كلية الزراعة – جامعة دمشق، وأجيزت من قبل السادة أعضاء لجنة الحكم.

This thesis has been submitted by Ali Akeel Kanaan as partial fulfillment of the requirements for the Ph.D. Degree In Horticulture science (Biotechnology) , Faculty of Agriculture– Damascus University. The thesis has been approved by referee committee.

((نوقشت هذه الرسالة يوم الأحد بتاريخ 1- 9 - 2013))

تصريح

أصرح بأن البحث الموصوف في هذه الرسالة تحت عنوان:

«تحليل التنوع الوراثي للماعز الشامي في سورية»

لم يسبق أن قدم للحصول على أية درجة جامعية أخرى، وغير مقدم حالياً لذلك، وأن كافة الأعمال والنتائج المذكورة هي جهودي الشخصية، وبتوجيه من المشرف العلمي والمشرف المشارك، وأن المراجع التي ذكرت في الأطروحة نسبت إلى مصادرها ضمن النص وفي قائمة المراجع.

المرشح علي عقيل كنعان

لجنة الحكم:

أ.د. محمد ربيع المرستاني

أ.د. عصام قاسم

أ.د. موسى عبود

أ.د. بسام عيسى

د. رمزي مرشد

الفهـــرس

العنـــوان	رقم الصفحة
المقالات المنشورة	15
الملخص العربي	16
المقدمة	18
أهمية البحث ومبرراته	22
أهداف البحث	24
الدراسة المرجعية	25
تصنيف الماعز	27
صبغيات الماعز	28
الوصف الشكلي للماعز	31
تقانة الوراثة الجزيئية	33
صفات المؤشر الوراثي المثالي	34
كيفية اختيار المؤشر الوراثي المثالي	35
تطبيقات المؤشرات الوراثية	35
أنماط المؤشرات الوراثية	37
المؤشرات الشكلية	37
المؤشرات البيوكيميائية	37
المؤشرات الجزيئية التي تعتمد على الـ DNA	38
المؤشرات الجزيئية التي لا تعتمد على الـ PCR	38
المؤشرات الجزيئية التي تعتمد على الـ PCR	39
تقنية المكاثرة العشوائية ذات التعددية الشكلية لـ DNA (RAPD)	40
تقنية المكاثرة للقطع ذات التعددية الشكلية لـ DNA (AFLP)	40
مؤشرات التسلسلات البسيطة المتكررة الـ SSR	42
أسباب مثالية مؤشر الـ SSR	43
التكرارات البسيطة الترادفية الداخلية الـ ISSR	47

المعلمات الوراثية الجزيئية	54
مزايا المعلمات الوراثية	52
الانتخاب بمساعدة العلامة MAS	53
الواسمات الوراثية الجزيئية الـ SNAPs	54
مواد البحث وطرائقه	57
مكان تنفيذ البحث	58
المادة الحيوانية واستخلاص الـ DNA	59
خطوات استخلاص الـ DNA	59
التقدير الكمي للـ DNA ونوعيته	60
تضخيم الـ DNA	61
تفاعل البلمرة المتسلسل الـ PCR	61
أهم استخدامات الـ PCR	62
خطوات الـ PCR	63
الرحلان الكهربائي	66
تطبيق تقنية الـ ISSR المعتمدة على تفاعل الـ PCR	69
تطبيق تقنية الـ SSR المعتمدة على تفاعل الـ PCR	70
التحليل الاحصائي	74
النتائج والمناقشة	75
تحديد التغيرات الوراثية باستخدام تقنية الـ ISSR وتحديد درجة القرابة الوراثية	76
اختبار جودة الـ DNA المستخلص على هلامة الآغاروز بواسطة الرحلان الكهربائي	79
نتائج تطبيق تقنية الـ ISSR	80
تحليل العينات المدروسة باستخدام تقنية الـ ISSR	81
التحليل العنقودي ورسم شجرة القرابة الوراثية لعينات الإناث والذكور العادية باستخدام تقنية الـ ISSR	91
التحليل العنقودي ورسم شجرة القرابة الوراثية لعينات الإناث والذكور	96

الكزمة باستخدام تقنية الـ ISSR	
التحليل العنقودي ورسم شجرة القرابة الوراثية لعينات الذكور العادية والكزمة باستخدام تقنية الـ ISSR	100
تحليل العينات المدروسة باستخدام تقنية الـ SSR	103
التحليل العنقودي ورسم شجرة القرابة الوراثية لعينات الإناث والذكور العادية باستخدام تقنية الـ SSR	110
التحليل العنقودي ورسم شجرة القرابة الوراثية لعينات الإناث والذكور الكزمة باستخدام تقنية الـ SSR	115
التحليل العنقودي ورسم شجرة القرابة الوراثية لعينات الذكور العادية والكزمة باستخدام تقنية الـ SSR	119
مواقع موروثات الماعز الشامي على صبغياته	121
الاستنتاجات	124
المقترحات والتوصيات	125
المراجع العربية	127
المراجع الأجنبية	128
الملخص الانكليزي	151

أرقام الجداول ومحتوياتها

رقم الجدول	العنـــوان	الصفحة
1	الرموز والتسلسل النيوكليوتيدي والبادئات المستخدمة ودرجة حرارة الالتحام المستخدمة في تقنية الـ ISSR	69
2	الرموز والتسلسل النيوكليوتيدي والبادئات المستخدمة ودرجة حرارة الالتحام المستخدمة في تقنية الـ SSR	70
3	مواقع البادئات المستخدمة على صبغيات الحيوانات	72
4	قراءات المطياف الضوئي لعينات الـ DNA ضمن أطوال الموجات 260-280 لحساب تركيز ونقاوة الـ DNA للعينات	77
5	الحزم الناتجة عن بادئات الـ ISSR المستخدمة و% للتحددية الشكلية	82
6	الحزم الفريدة الناتجة عن بادئات الـ ISSR المستخدمة و% للحزم الفريدة	84
7	الحزم الفريدة الناتجة عن استخدام تقنية الـ ISSR	85
8	الحزم الفريدة الناتجة عن استخدام تقنية الـ ISSR في عينات الإناث والذكور العادية	86
9	الحزم الفريدة الناتجة عن استخدام تقنية الـ ISSR في عينات الإناث والذكور الكزمة	87
10	الحزم الفريدة الناتجة عن استخدام تقنية الـ ISSR في عينات الذكور العادية والكزمة	88
11	مصفوفة المتوسط العام لنسب عدم التوافق الناتجة عن دراسة متوسط التشابه الوراثي للصفات الجزيئية لعينات الإناث والذكور العادية المدروسة باستخدام تقنية الـ ISSR	90
12	مصفوفة المتوسط العام لنسب عدم التوافق الناتجة عن دراسة متوسط التشابه الوراثي للصفات الجزيئية لعينات الإناث والذكور الكزمة المدروسة باستخدام تقنية الـ ISSR	95

13	مصفوفة المتوسط العام لنسب عدم التوافق الناتجة عن دراسة متوسط التشابه الوراثي للصفات الجزيئية لعينات الذكور العادية والكزمة المدروسة باستخدام تقنية الـ ISSR	99
14	الحزم الناتجة عن بادئات الـ SSR المستخدمة و% التعددية الشكلية	105
15	الحزم الفريدة للعينات والبادئات المدروسة بتقنية الـ SSR	107
16	مصفوفة المتوسط العام لنسب عدم التوافق الناتجة عن دراسة متوسط التشابه الوراثي للصفات الجزيئية لعينات الإناث والذكور العادية المدروسة باستخدام تقنية الـ SSR	109
17	مصفوفة المتوسط العام لنسب عدم التوافق الناتجة عن دراسة متوسط التشابه الوراثي للصفات الجزيئية لعينات الإناث والذكور الكزمة المدروسة باستخدام تقنية الـ SSR	114
18	مصفوفة المتوسط العام لنسب عدم التوافق الناتجة عن دراسة متوسط التشابه الوراثي للصفات الجزيئية لعينات الذكور العادية والكزمة المدروسة باستخدام تقنية الـ SSR	118
19	يوضح بعض مواقع مورثات الماعز الشامي على صبغياته	122

أرقام الأشكال ومحتوياتها

رقم الشكل	العنـــوان	الصفحة
1	صبغيات الماعز	28
2	صبغيات الماعز	29
3	آلية عمل تقنية الـ SSR	44
4	آلية عمل تقنية الـ ISSR	49
5	مراحل الـ PCR	65
6	مراحل الـ PCR	65
7	هجرة جزيئات الـ DNA حسب وزنها الجزيئي على الهلامة	67
8	هجرة جزيئات الـ DNA حسب وزنها الجزيئي على الهلامة	68
9	جودة عينات الـ DNA	79
10	صورة هلامة الآغاروز 2 %	80
11	التحليل العنقودي لعينات الإناث والذكور العادية	93
12	التحليل العنقودي لعينات الإناث والذكور الكزمة	97
13	التحليل العنقودي لعينات الذكور العادية والكزمة	102
14	صورة هلامة الميتافور آغاروز 4 %	104
15	التحليل العنقودي لعينات الإناث والذكور العادية	112
16	التحليل العنقودي لعينات الإناث والذكور الكزمة	116
17	التحليل العنقودي لعينات الذكور العادية والكزمة	120

جدول الإختصارات

الرمز	المصطلح
bp	base pair
DNA	Deoxyribo Nucleic Acid
EDTA	Ethylenediaminetetaacetic Acid Disodium Salts hydrate
SSR	Simple Sequence Repeats
ISSR	Inter Simple Sequence Repeat
STMS	Sequence Tagged Microsatellites Site
STR	Simple Tandem Repeat
QTL	Qualitative Trait Loci
MAS	Markers Assisted Selection
mt	Mitochondrial
SNPs	Single Nucleotide Polymorphism
OD	Optical Density
PCR	Polymerase Chain Reaction
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RAPD	Randomly Amplified Polymorphism-DNA
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
GMM	Genetic Molecular Markers
PDV	Percent Disagreement Values
UPGMA	Unweighted Pair Group Method With Arit

كلمة شكر

في أقل من تعبير عن امتناني وشكري لكل الذين قدموا لي كل أشكال النصيحة والمساعدة والتوجيه لإنجاز هذا العمل المتواضع وإخراجه بأفضل شكل ممكن وأخص بالذكر عمادة كلية الزراعة ورئاسة قسم الإنتاج الحيواني والمشرف العلمي والمشرف المشارك وأهلي وزوجتي وعائلتي الملاك لوتس.

الإهـــداء

إلى روح والدي الغالي رحمه الله

إلى والدتي الغالية أطال الله عمرها

إلى زوجتي العزيزة

إلى ملاكي الصغير الطاهر

إلى إخوتي الأحبة

أهدي هذا العمل

المقالات العلمية المقبولة للنشر

1- ((التنوع الوراثي عند الماعز الشامي السوري باستخدام تقانة SSR)). المجلة العربية للبيئات الجافة المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة (أكساد). تاريخ 2013/6/15.

2- ((تقييم التنوع الوراثي عند الماعز الشامي السوري باستخدام تقانة التكرارات البسيطة الترادفية الداخلية ISSR)). مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية. جامعة دمشق. تاريخ 2012/9/5.

3- ((تحليل التنوع الوراثي عند ذكور الماعز الشامي السوري باستخدام تقانة SSR)). مجلة الكيمياء البيولوجية والعلوم البيئية. جمعية الكيمياء الزراعية وحماية البيئة- كلية الزراعة- جامعة عين شمس. تاريخ 2012/2.

4- ((تقييم التنوع الوراثي عند ذكور الماعز الشامي السوري باستخدام تقانة التكرارات البسيطة الترادفية الداخلية ISSR)). مجلة بحوث جامعة حلب. جامعة حلب. تاريخ 2012/2/28.

الملخص

يعد الماعز الشامي في سورية من الحيوانات الزراعية المحلية الهامة، لما يملكه من مزايا ومواصفات تمكنه من الإنتاج والتناسل تحت الظروف البيئية القاسية، لهذا فقد استخدم في برامج الخلط التربوي مع الماعز الجبلي كمعطي لمورثات صفة إنتاج الحليب الجيدة للحيوانات الخليطة. رغم ذلك مازال هذا الحيوان بعيداً عن ساحة البحث العلمي، فضلاً على تعرضه من مربي الماعز لعملية خلط عشوائي مع الماعز الجبلي، مما قد يؤدي وعلى المدى الطويل إلى ضياع مصدر وراثي حيواني محلي هام لم تكتشف كل مزاياه.

تم في هذا البحث دراسة التنوع الوراثي عند 30 فرداً من مجموعات مختلفة من الماعز الشامي النقي (10 إناث+ 10 ذكور عادية+ 10 ذكور طويلة الفك (كزمة)). باستخدام تقنية التكرارات البسيطة الترادفية الداخلية (ISSR) حيث استخدم 15 بادئاً لهذه التقنية، أعطى 11 بادئاً منها نتائج تضخيم. وبلغ عدد الحزم الكلية الناتجة عن هذه البادئات 96 حزمة. وأظهرت تقانة ISSR إمكانية جيدة في إظهار التباينات بين عينات الماعز المدروسة حيث بلغت التعددية الشكلية 100 %.

كما استخدمت تقنية التوابع البسيطة الترادفية (SSR)، حيث استخدم 54 من بادئاتها، أعطى منها 30 نتائج تضخيم. وبلغ عدد الحزم الكلية الناتجة عن هذه البادئات 41 حزمة.

أظهرت الدراسة وجود تنوع وراثي بين عينات الماعز المدروسة، كما أمكن التمييز بين العينات المدروسة فيما إذا كانت إخوة أو توائم باستخدام تقنيتي الـ ISSR و الـ SSR.

علماً أن نسبة التشابه تراوحت بين (0- 100 %)، وبلغت التعددية الشكلية (100 %).

الكلمات المفتاحية: ماعز شامي سوري, التنوع الوراثي, تقنية (ISSR)، تقنية (SSR) .

الفصل الأول

المقدمـــــة

INTRODUCTION

تعد الحيوانات الزراعية (الأبقار، الأغنام، والماعز) من أهم مكونات الثروة الحيوية في سورية، لأنها تمد الإنسان بأهم المنتجات الحيوانية ذات القيمة الغذائية المرتفعة. كما تعد صيانة وتطوير الموارد الوراثية الحيوانية المحلية من أولويات العمل للمؤسسات العلمية لما تمتلكه هذه الموارد الوراثية من أهمية تجعلها في مرتبة الثروة الحيوية والاقتصادية والحكومية ذات الصلة.

ويبرز الماعز الشامي كأحد هذه الثروات الوراثية المحلية في سورية، رغم انخفاض نسبة ما يشكله الماعز الشامي من إجمالي الماعز، فإنه يمتلك عدداً من المزايا والصفات التي جعلته مرغوباً إقليمياً وعالمياً.

ماتزال الدراسات المنفذة على هذا الحيوان الزراعي المهم دون مستوى الطموح، من حيث أنها لا تساهم كثيراً في تطويره. وما زالت الدراسات والبحوث العلمية قاصرة عن تقديم البرامج والمناهج الكفيلة بتطويره، وكذلك التعليمات الادارية التي ماتزال بعيدة عن هذا الشأن.

ويتم استخدام أسلوب الانتخاب الصنعي من خلال تقدير القيمة التربوية لحيوان بالنسبة لصفة أو مجموعة صفات محددة انطلاقاً من القيم المظهرية للصفات بدون معرفة أو تحديد المورثات المسؤولة عن هذه الصفات.

ويشير Suzuki and Griffiths (1996) وعيسى (a2001) في مجال تحسين وتطوير الموارد الوراثية إلى أهمية استخدام تقانة الوراثة الجزيئية والتي تعد جزءاً مكملاً لطرائق التحسين الوراثي الحديث وهي تساهم مع العلوم الأخرى في تحقيق انجازات مهمة سواء على صعيد تطوير القدرات الوراثية للحيوان، أو على صعيد الصيانة والمحافظة عليه من الانقراض.

تعتمد طرائق التربية الحديثة على دمج الأسلوبين بهدف تحقيق نجاح أكبر وخاصة بالنسبة لتلك الصفات التي تتحدد من نوع قليل من المورثات وفق عيسى (2008; b2001) و Suzuki and Griffiths (1996).

ولتحقيق هذين الهدفين (التطوير والصيانة) عمدت الدراسة الحالية إلى استخدام تقنيات الوراثة الجزيئية للكشف عن بعض الاختلافات الوراثية داخل عرق الماعز الشامي للاستفادة منها في التعرف على هذا الحيوان، واستثمار ذلك لصيانته وتحسينه قدر المستطاع (Suzuki and Griffiths 1996).

يستخدم الانتخاب الاصطناعي حين يحدد المربون آباء الحيوانات التي لها قيمة تربوية أعلى لصفة هامة أو لمجموعة صفات، بهدف رفع متوسط إنتاج هذه الصفة في نسل الآباء المنتخبة (عيسى، b2001 ;عيسى، 2008).

ومن المعروف أنّ القيمة التربوية الحقيقية لحيوان بالنسبة لصفة معيّنة مجهولة،

لكن يمكن أَن تُخَمّن من القيمِ المظهرية (عيسى، a2001).

وتستخدم برامج التحسين الوراثية الكلاسيكية مصادر المعلومات التالية لتقدير القيمة التربوية والوراثية: الإنتاج الخاص بالأفراد، معلومات من الأقرباء (لإنتاج نسل و أقرباء جانبيين) مع الصفات الانتخابية، معلومات عن الصفات المرتبطة، ويُنفّذ الانتخاب اعتماداً على الأنماط الظاهرية الملاحظة بدون معرفة أَيّ مورثة قد تم اختيارها (عيسى، b 2001).

أهمية البحث ومبرراته

IMPORTANCE AND JUSTIFICATION OF THE RESEARCH

أهميـــة البحـــث ومبرراتـــه

IMPORTANCE AND JUSTIFICATION OF THE RESEARCH

إن هذه الثروة المحلية الهامة (الماعز الشامي) (Capra Domesticus) كبقية الثروات تحتاج إلى متابعة علمية ضمن برامج التنمية المستدامة، توفر لها استمرار البقاء والتطور، لاسيما أن بعض النتائج الأولية لبرامج التحسين الوراثي قد أشارت إلى امتلاكه إمكانيات وراثية يمكن أن تستثمر لتطويره.

يعد الماعز الشامي أحد أهم المصادر الوراثية المحلية في الجمهورية العربية السورية، وهي تحتاج لمتابعة علمية حثيثة للنهوض بواقعها المتدهور، وتوفر لها استمرار البقاء والتطور، خاصة أن العديد من أفرادها تمتلك إمكانيات وراثية جيدة يمكن أن تستثمر لتطويرها. وهنا تبرز أهمية التقانات الوراثية الجزيئية كأسلوب حيوي يساهم في التعرف على هذه الحيوانات بطريقة غير تقليدية لأنه يكشف عن أحد أهم مواقع تطويرها وما هو موروثها الجزيئي، إذ أنه مع التطور الحاصل في تقانة التجارب انتقلت الدراسة من المستوى الشكلي والخليوي والفيزيولوجي إلى المستوى الجزيئي الذي يدرس الحمض الريبي النووي بشكل رئيسي. ونظراً لما تقدمه الوراثة الجزيئية من إمكانيات سواء لتطوير إنتاج الحيوانات الزراعية، أو لصيانتها من خلال الكشف عن الاختلافات بين الحيوانات على المستوى الجزيئي. ونظراً لأهمية الماعز الشامي كمورد وراثي حيواني ذو أهمية اقتصادية وثقافية وحيوية. فقد اعتمدت في هذه الدراسة تقانات الوراثة الجزيئية أسلوباً للكشف عن التنوع الوراثي في الماعز الشامي، ووضع نتائج هذه الدراسة في تصرف المرجعيات المسؤولة عن هذا الحيوان لاستثمارها في تطويره والمحافظة عليه في آن واحد.

أهداف البحث

RESEARCH OBJECTIVES

أهداف البحث

RESEARCH OBJECTIVES

نتيجة للأهمية الاقتصادية لهذا العرق وضرورة المحافظة عليه وراثياً ، وحيث أن الدراسات على المستوى الجزيئي في الحيوانات وخاصة العروق المحلية قليلة جداً. فقد حددت أهداف البحث كالتالي:

1- **تحديد درجة القرابة الوراثية لعينات الماعز الشامي باستخدام تقنية الـ ISSR**

2- **التنوع الوراثي في الماعز الشامي باستخدام تقنية الـ SSR**

الفصل الثاني

الدراسة المرجعية

REVIEW OF LITERATURE

الدراســـة المرجعيـــة REVIEW OF LITERATURE

ينتمي الماعز إلى عائلة الحيوانات المجترة ذات الظلف، ويرجع أصل الماعز إلى المناطق الجبلية في قارة آسيا الصغرى، وانتشرت منها إلى مختلف دول العالم. وساعدها في ذلك تكيفها مع المناخ الحار والبارد، وقدرتها على رعي مختلف أنواع النباتات الصحراوية الشوكية والأشجار والحشائش الجافة، عكس الأبقار والأغنام.

يعتقد أن جنس Capra hircus هو أصل الماعز المستأنس وذكر العديد من الباحثين (Dimeo *et al.*, 2005; Lannuzzi and Dimeo 1995; Mason, 1981) أن أكثر من 62 عرقاً من الماعز منتشرة في العالم، وحوالي 30 عرقاً منها تربى بهدف إنتاج الحليب.

تصنيف الماعز:

المملكة الحيوانية	Animal
تحت مملكة الحيوانات كثيرات الخلايا	Metazoa
شعبة الحبليات	Chordata
تحت شعبة الفقاريات	Vertebrata
صف الثديات	Mammalia
تحت صف المشيميات	Placentulia
رتبة مزدوجات الحافر	Artiodactyla

تحت رتبة المجترات	Ruminuntia
العائلة البقرية	Bovida
تحت عائلة الأغنام والماعز	Caprinae
جنس الماعز	Capra

ويتبع لهذا الجنس الأنواع التالية: (Lannuzzi and Dimeo, 1995)

الماعز الحقيقي (Real goat)- القوقازي (Kokazi goat)- الماركوري (Markori goat)- الإسباني (Espani goat)- الوعل (Wael goat).

صبغيات الماعز:

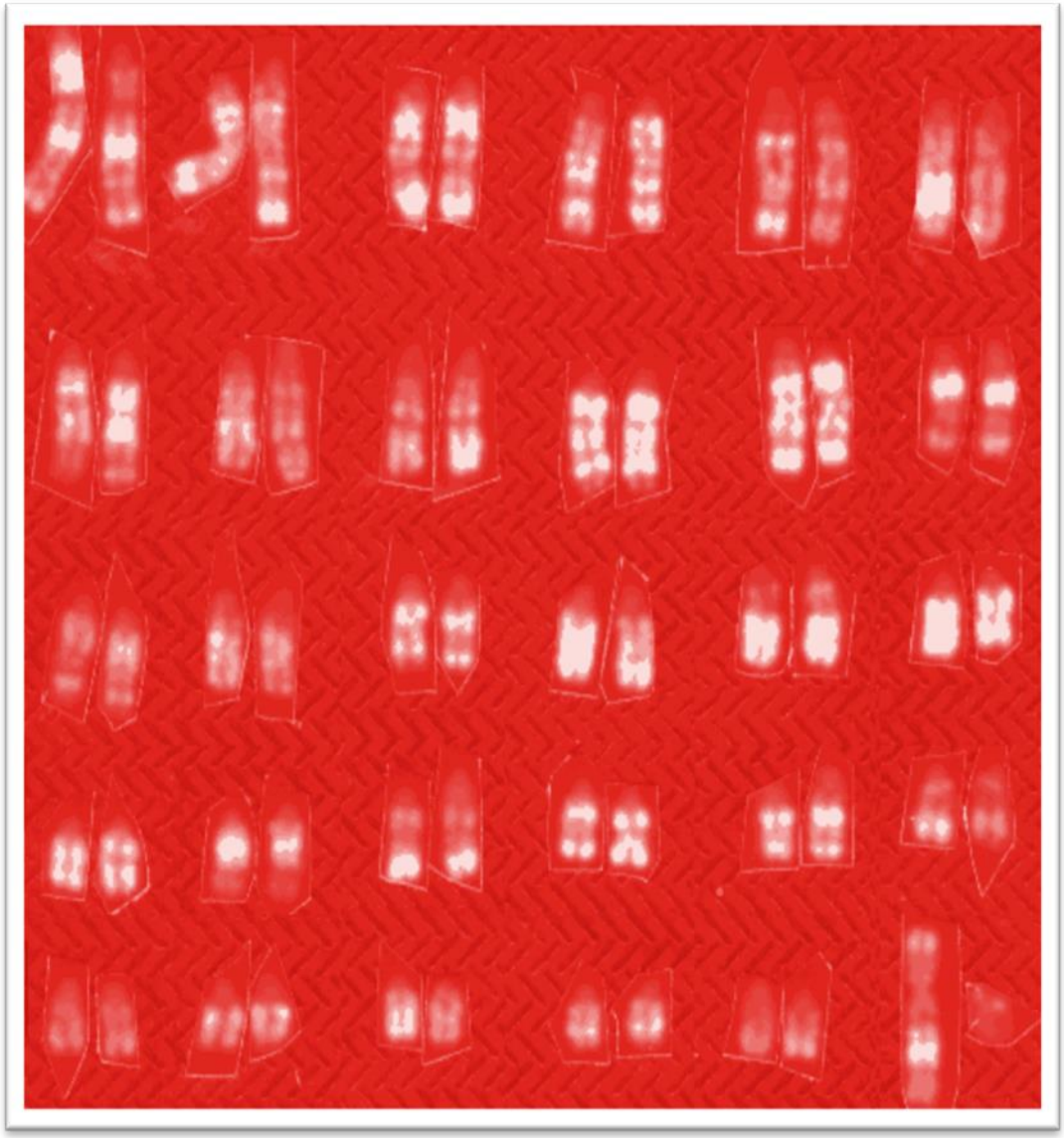
يبلغ عدد الصبغيات في الماعز البري من نوع Capra Hircus (60 صبغياً) (أي 30 شفعاً) وذلك حسب (Dimeo *et al.*, 2005; Schibler *et al.*, 2009)

ووجد (Lannuzzi and Dimeo 1995 وParra وآخرون 2007) أنه يوجد 450 عصابة على الصبغيات الجسمية متشابهة بين الأبقار والأغنام والماعز، والاختلاف الكبير يوجد في توضع الجزء المركزي في الصبغيات الجنسية.

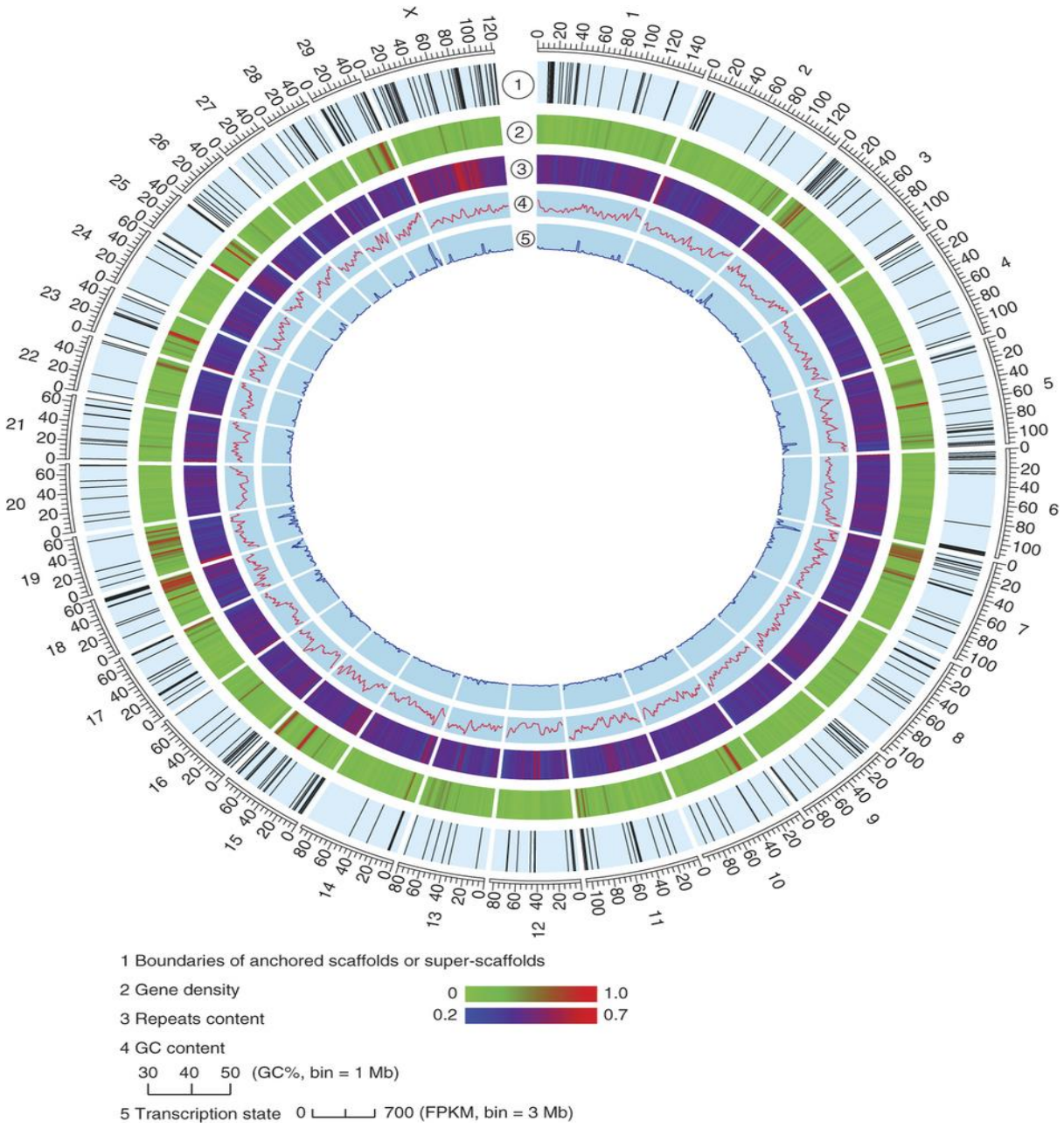
ويلاحظ أن الذراع القصير للصبغيات قرب المركزية عند الأغنام مشابهة للصبغيات الطرفية عند الماعز بالترتيب وعدد العصابات G (Pranisha, 2004)

(MacHugh Bradley., 2001).

يلاحظ من الشكلين (1 و2) أن الماعز يمتلك (30) شفعاً من الصبغيات، منها (29) شفعاً جسمياً و شفعاً جنسياً واحداً.



شكل (1) يوضح صبغيات الماعز: (Zeder and Hesse, 2000)



شكل (2) يوضح صبغيات الماعز: (Dong *et al.*, 2013)

يوجد في سورية عرق نقي ومتميز من الماعز هو الشامي (الدمشقي). وقد نشأ عرق الماعز الشامي في منطقة غوطة دمشق ويحمل صفات إنتاجية جيدة، وخاصة فيما يتعلق بإنتاج الحليب وإنتاج التوائم، محققاً بذلك شهرة عالمية واسعة.

وقد سجل خلال السنوات الأخيرة تناقصاً واضحاً في أعداد الماعز الشامي، لأسباب مختلفة (التصدير الجائر، الخلط العشوائي مع العروق الأخرى، أساليب التربية والرعاية الخاطئة والبدائية، طرائق التغذية العشوائية).

لذلك وبهدف المحافظة على هذا العرق من الانقراض والعمل على زيادة أعداده وإعادة نشر تربيته في مختلف المحافظات السورية، قامت وزارة الزراعة بإنشاء عدة محطات لتحسينه وفق برنامج تربوي محدد يشمل المربين في القطاع الخاص والتعاوني.

الوصف الشكلي والإنتاجي:

لون الماعز الشامي السائد والمفضل من قبل المربين هو العسلي الغامق (الدبسي)، ويوجد اللون الأسود والأبيض بنسبة بسيطة (1-2 %)، وكذلك يوجد خليط بين الألوان الثلاثة. والعنزة الشامية هادئة الطباع سلسة القيادة معظمها بلا قرون، والأنف مقوس والفك السفلي متقدم للأمام عن الفك العلوي بمقدار 0.5 سم، ويسمى الشكل المتطرف لهذه الصفة بالفك الأكزم والذي يؤثر سلباً في تناول العلف والرعي بشكل جيد. العيون كبيرة بيضاء اللون تدل على غزارة إنتاج الحليب، والبؤبؤ كحلي دليل على نقاوة العرق ، والأذن طويلة (25-30) سم. الرقبة طويلة نحيفة مزودة بزائدتين (عنابتين أو حلق) بطول (6-9) سم. علماً أن العنابات الطويلة والرفيعة إنما تدل على إنتاجية عالية من الحليب، أما العنابات القصيرة والثخينة فتدل على إنتاجية جيدة من اللحم (الخوري، 1998). الأرجل طويلة نحيفة، الضرع كبير مكعب الشكل أو كروي حلماته كبيرة يختزن كمية كبيرة من الحليب، والأضلاع واسعة تدل على بطن متسع، وتحمل مواليد عديدة، والمسافة بين العظام الدبوسية كبيرة (الخوري، 1998). يبلغ ارتفاع الذكر بحدود (75-80) سم والأنثى بحدود (60-70) سم. ويبلغ وزن الذكر بحدود (60-70) كغ والانثى (40-50) كغ، الخوري (1998). ومتوسط وزن المولود بحدود (3.5) كغ للإناث و(4) كغ للذكور، (السبع، 1997).

هذا ويعتبر الماعز الشامي أحد أهم وأفضل عروق الماعز بالنسبة لإنتاج الحليب حيث يبلغ متوسط كمية الحليب اليومية (2.5 كغ)، وتتراوح بين (2–5 كغ)، وإجمالي الحليب في الموسم الأول يصل إلى (265 كغ) و يرتفع في الموسم الثاني ليصل إلى (500 كغ). كما توجد بعض العنزات التي يمكن أن يصل إنتاجها إلى (1000 كغ) خلال الموسم والبالغ طوله (250 يوماً)، (فتال، 2003). وبالنسبة لصفة الولادات التوأمية فإنها تصل إلى (80 %) منها الثنائي والثلاثي والرباعي، (فتال، 2003). واللحم جيد النوعية وأفضله لحم الجدي بعمر السنة وحتى وزن (40 كغ)، وتبلغ نسبة التصافي (50 %)، (السبع، 1997). أما بالنسبة لشعر الماعز الشامي فيظهر وبر ناعم ينمو في الربيع للحماية من حر الصيف، وينمو في الخريف للحماية من برد الشتاء ويسمى الوبر (الباشمينا). ولذلك يعد الماعز الشامي من الحيوانات ثنائية الغرض لأنه يربى للحليب واللحم ويستعمل شعره كذلك في صناعة الخيام، (العوا، 1965). وأخيراً يتصف الماعز الشامي بتأقلمه الجيد مع الظروف البيئية المحلية، ومقاومته لبعض الأمراض، وقلة إصابته بالمشاكل التناسلية كاحتباس المشيمة، والتهابات الرحم، أو خمول المبايض، وسهولة الولادة (العوا، 1965).

تقانات الوراثة الجزيئية:

تدرس الوراثة الجزيئية بنية ووظيفة المورثات على المستوى الجزيئي وهي توظف طرائق علم الوراثة والبيولوجيا الجزيئية لتوضيح وظيفة الجزيئي والتفاعلات بين المورثات وكذلك لفهم كيفية ترتيب المورثات و ماهي التعديلات التي تعرضت لها (الطفرات).

هذا وقد نجح علم الوراثة الجزيئي في فك رموز الشيفرة الوراثية ووفر لنا صورة واضحة عن طبيعة المورثة. ولكن ما يزال هناك الكثير الذي يمكن تعلمه عن آليات عمل المورثات الأساسية.

ورغم أهمية الصفات الشكلية والخصائص الفيزيولوجية وكذلك الخصائص الشكلية المظهرية الزراعية، إلا أن الحاجة للمؤشرات الجزيئية أصبحت أكثر أهمية وإلحاحاً ويرجع ذلك للأسباب التالية (Degani *et al.*, 1998):

1- توفر المؤشرات الجزيئية نتائج مبكرة تساعد في الإسراع بعمليات الانتخاب والتربية وبذلك تختصر الزمن الذي تستغرقه، إضافة إلى خفض الكلفة المادية التي تحتاجها الدراسات المورفولوجية.

2- عدم وجود أي علاقة بين الأطوار الفيزيولوجية للحيوان والمؤشرات الجزيئية وبالتالي يمكن استخلاص المادة الوراثية من الحمض الريبي النووي (DNA) في أي مرحلة عمرية أو فيزيولوجية.

3- سهولة تحديد موقع وراثي مطلوب لنموذج وراثي معين (Geno type) مباشرة.

4- عدم تأثر المؤشرات الوراثية، بالشكل الظاهري للحيوانات، أو بالمؤشرات البيئية، كما في برامج التربية التقليدية.

5- الحصول على عدد كبير من المؤشرات بزمن قصير نسبياً.

6- يكمن جوهر العمل التربوي في تربية العرق المتفوق أو النموذج الوراثي المفضل في البيئة حيث تسمح له بالتعبير عن إمكاناته الإنتاجية الكامنة، (Boyer، 1982).

وبما أن تطوير هذا العرق يعتمد على نقل المورثات المتحكمة بالصفة المطلوبة للوصول إلى عروق جديدة أفضل وبالتالي فإن معرفة مواقع هذه المورثات في الحيوان المانح ضرورية لتسريع برنامج العمل التربوي.

إن الاستخدام الرئيسي للمؤشرات الجزيئية هو في الوصول إلى مواقع المورثات المطلوبة بأقرب مسافة وراثية ممكنة لأنه كلما تم التوصل إلى مؤشر جزيئي قريب من المورث كلما كانت احتمالية ارتباطه به أعلى فإذا كانت الصفة نوعية Qualitative trait ويتحكم بها مورث واحد أو زوج من المورثات فيكتفى بالاعتماد على هذا الارتباط بين مؤشر ومورث أما إذا كانت الصفة كمية Quantitative trait ويتحكم بها أكثر من مورثتين فيجب دراسة توزع المؤشرات الجزيئية لهذه المورثات وربطها مع الأداء البيئي لهذه الصفة للمساعدة في استخدامها في عمليات الانتخاب والتربية والتحسين وغربلة الطرز والأصناف بوقت مبكر.

صفات المؤشر الوراثي المثالي:

يعد المؤشر الوراثي مثالياً عند تمتعه بالصفات التالية (Migdadi, 2001):

1- ليس له أثر على الشكل الظاهري،
2- يظهر تعبيراً متساوي السيادة،
3- يظهر بشكل نسخة واحدة،
4- اقتصادي،
5- يظهر تعدديات شكلية كثيرة،
6- يمكن تقديره بسهولة،
7- ذو وظائف عديدة،
8- يتوفر بسهولة لمن يريد العمل عليه،
9- ذو تخصصية بالنسبة للجينوم وخاصة عند العمل على الـ (Polyploidy)،
10- إمكانية الأتمتة.

كيفية اختيار المؤشر الوراثي:

يعتمد اختيار المؤشر الوراثي على:

1- أهداف المشروع.

2- بنية المجموع الوراثي.

3- التنوع الوراثي لجينوم النوع المدروس.

4 - توفر نظام المؤشر الوراثي.

5- توفر الوقت المتاح للتحليل.

6- كلفة وحدة المعلومة.

تطبيقات المؤشرات الوراثية:

استخدمت المؤشرات الوراثية بشكل فعال في تحاليل التنوع الوراثي وتقدير التشابه الوراثي كمؤشرات لتقويم قوة الهجين وفي إنشاء الخرائط الوراثية لتوضع المواقع المسؤولة عن صفات بسيطة التوريث وفي تحاليل الـ QTLs. كما تقدم أنظمة المؤشرات الإمكانية لتنسيل بعض المورثات استناداً للخرائط الوراثية (Bahary *et al.*, 1992).

وأمكن مؤخراً تمييز الحيوانات المتماثلة وراثياً عن تلك غير المتماثلة بوساطة تقنية السيادة المشتركة والتي ستوفر على مربي الحيوانات الوقت والجهد والمال الذي كان يصرف لضمان أن ثرواتهم الحيوانية متماثلة وراثياً، أي أن الأنسال الناجمة عنها ستظهر دوماً نفس الخصائص عبر الأجيال (Frankel *et al.*, 1990).

وتستخدم المؤشرات الجزيئية بشكل واسع للبحث في القاعدة الوراثية للصفات الزراعية وفي تسريع نقل وتراكم الصفات المرغوبة في سلالات التربية.

وتستخدم هذه المؤشرات بالترافق مع تحليل الانعزال المجمع Bulked Segregant Analysis BSA) والخرائط الوراثية المفصلة كطريقة فعالة جداً في توصيف وتحديد مورثات (سواء منها المحايدة أو المطفرة) والتي تتحكم في صفات تربوية هامة (Brown *et al.*, 2011).
كما تستخدم أيضاً في تحديد مورثات تتحكم في صفات كمية مثل النضج والإنتاجية ومقاومة الأمراض في معظم الحيوانات الرئيسة (Frankel *et al.*, 1990).

بشكل خاص كانت المؤشرات التي تعتمد على الـ PCR مفيدة في دراسات التنوع الحيوي وفي دراسة المجاميع الحيوانية. نجم عن تقانات الدنا المضخم مواقع محددة ذات تسلسلات معروفة وخدمت كنقاط علام في وضع الخرائط الوراثية (Lawrence *et al.*, 2006).

لقد فسحت التطورات الحديثة في أبحاث الجينوم المجال لإيجاد كمٍ هائل من المعلومات فيما يتعلق بتسلسلات الـ DNA وكذلك فيما يتعلق بوظائف المورثات وتداخلاتها Gene interaction وفي نشوء وتطور المناطق الفعالة Functional Domains والصبغيات والجينومات (Anantharaman *et al.*, 1999).

وفي هذا المجال فإن مقارنة الجينومات ووظائفها يمكن أن يساعد في وضع الخرائط الوراثية المقارنة وفي تحاليل الارتباط للصفات الهامة.

وتتوفر الآن بيانات ضخمة عن تسلسلات تحاليل المقارنة وهي في تزايد مستمر وتعتبر مصدراً غنياً جداً لتوصيف المجاميع الوراثية مما سيلعب دوراً هاماً في تقدم كثير من الأبحاث في هذا المجال (Anderson *et al.*, 2004).

حيث تعد التباينات الشكلية من المعايير الأولى التي استخدمت في عملية التوصيف والتصنيف ودراسة التباينات بين وضمن الأنواع المختلفة.

إلا أنه في الآونة الأخيرة وفي ظل التطور المتسارع في علم التقنيات الحيوية، فقد اكتشفت معايير ومؤشرات أكثر دقة يمكنها تحقيق هذا الهدف وتطويره، وأهمها التقنيات الحيوية التي تعتمد على التفاعل التسلسلي البوليميرازي PCR

(Bartlett and Stirling, 2003).

أنماط المؤشرات الوراثية:

أ- المؤشرات الشكلية:

يمكن أن تستخدم الصفات الشكلية المسؤول عنها موقع وراثي واحد كمؤشرات وراثية إذا كان تعبيرها ثابتاً في مدى واسع من البيئات. ولكن غالباً ما تتأثر المؤشرات الشكلية بالعوامل البيئية والوراثية. بالتالي فإن وصف مثل هذه الصفة له معنىً فقط عندما تتوفر معلومات موثقة عن النسب والظروف البيئية. وبما أن هذه العوامل تستطيع أن تعدل تعبير المورثة فإن ذلك يحد من استخدامها كمؤشر وراثي.

ب- المؤشرات البيوكيميائية:

وهي جزيئات بروتينية معقدة ذات شحنات مختلفة يمكن فصلها عن طريق الرحلان الكهربائي إلى حزم عديدة و يمكن فصلها إلى نوعين:

1- الإيزوزايمز:

تستخدم الأيزوزيمات Isozymes لكشف وتحليل التباينات الوراثية عن طريق استخلاص البروتين الخام من البذور وفصله باستخدام الرحلان الكهربائي عبر هلامة من النشاء Starch أو البولي أكريلاميد Polyacrylamid ثم تصبغ الهلامة مظهرة اختلاف الخاصية الحركية أثناء عملية الرحلان وبالتالي الاختلافات الموجودة على العصابات المرئية على الهلامة (Liu *et al.*, 1996).

تتحكم الأنزيمات بتفاعلات كيميائية محددة، ويمكن كشف موقع الأنزيم المحدد على الهلامة إذا وضعت الركيزة Substrate والعوامل المساعدة من خلال تفاعل يظهر بشكل لوني في الهلامة بشكل حزمة يتوضع فيها أنزيم معين من خلال الرحلان الكهربائي.

تمثل الحزم الناتجة عن أنزيمات محددة نواتج بروتينية ولها أساس وراثي وبالتالي يمكن أن تقدم معلومات وراثية بشكل مؤشرات متساوية السيادة إلا أن قلة عدد مواقعها الوراثية وحقيقة تعرضها لتعديلات ما بعد الترجمة واختلاف نتائجها بحسب طور النمو للحيوان ناهيك عن كونها محدودة الإمكانيات لأنها تعنى بجزء محدد فقط من المجموع الوراثي للفرد (genome) (Liu *et al*.,1996 ؛ Tanksley and Young, 1989).

2- بروتينات التخزين:

أظهرت العديد من الدراسات أنها طريقة بسيطة و فعالة في تمييز الأصناف والأنواع كما يمكن اعتبارها وسيلة مفيدة في دراسات النشوء لتقدير العلاقات بين الأنواع. وقد اقترح Crawford (1990) أنماطاً للبروتين تعكس القرابات الوراثية ضمن التقسيم الواحد (taxon) وحتى بين أشكال بيولوجية مختلفة استناداً إلى الفرضية بأن الأنواع القريبة من بعضها تظهر أنماط ترحيل بروتينية أكثر تشابهاً من تلك الأقل قرابة.

كما أمكن استخدام هذه التقنية في الكشف عن درجة الخلط الميكانيكي و/ أو الوراثي في صنف ما كما أظهرت بعض الدراسات إلى أنه يمكن استخدام هذه التقنية في التنبؤ بنظام التهجين في بعض الأنواع و ذلك بتطبيق النسبة بين الاختلافات ضمن المدخلات إلى الاختلافات بين المدخلات، Crawford (1990).

ج- المؤشرات الجزيئية التي تعتمد على الـ DNA:

1- مؤشرات جزيئية لا تعتمد على الـ PCR:

- تقنية RFLPs: Restriction Fragment Length Polymorphism

وتعتبر الجيل الأول من المؤشرات التي تعتمد على التهجين الجزيئي Molecular hybridization طورت في الثمانينات لتطبيقها في الدراسات الوراثية على الإنسان وطبقت فيما بعد على الحيوان.

يمكن تكسير الدنا الكلي بأنزيمات قطع متخصصة Restriction Enzymes للحصول على أعداد لا متناهية من شدف دنا صغيرة الحجم وذات طبيعة وراثية متساوية السيادة.

وإذا اختلف فردان بقاعدة نيوكليوتيدية واحدة في موقع القطع فإن أنزيم القطع سيقطع الـ DNA لفرد ولا يقطعه للفرد الآخر. وبذلك ينجم شدف قطع بأطوال مختلفة.

يتم تمييز شدف الدنا الجينومي من خلال تلطيخ ساذرن (Southern, 1975) وهي الطريقة التي يتم بها نقل شدف الدنا المرحَّلة بالرحلان الكهربائي إلى فيلتر نايلون أو نتروسيللوز، حيث يسمح لهذا الـ DNA بأن يهجن مع مسابر دنا مشعة أو باستخدام مسابر يستخدم فيها أنزيمات مرتبطة بالمسبر يمكن أن يكشف عنها لونياً.

تعطي كلتا الطريقتين نفس النتائج ويعتمد استخدام أيٍ منهما على توفر المادة المطلوبة في المخبر (Nagoaka *et al.*, 1997). وتكون المسابر عادة (بطول بين500 و3000 زوج قاعدي bp) وهي أجزاء من الـ DNA منسل (إما جينومية أو من cDNA).

وتمتاز بقدرتها على كشف التعدد الشكلي Polymorphisms للمقاطع النيوكليوتيدية لقطع المادة الوراثية DNA المقيدة من خلال استخدام أنزيمات التقطيع أو التحديد الداخلية Endonucleoses restriction enzymes دون استخدام التفاعل التسلسلي البوليميرازي (PCR) (Botstein *et al.*, 1980). وتتسم هذه التقانة بدقتها والنتائج المؤكدة والثابتة التي تعطيها (Zhang *et al.*, 1994) (Saghai *et al.*, 1994).

إلا أنه يؤخذ عليها صعوبة تطبيقها عند دراسة مجتمعات ذات عدد كبير من الأفراد كونها تحتاج إلى كميات كبيرة نسبياً من المادة الوراثية DNA عالي النقاوة كما أنها تحتاج لوقت وجهد كبيرين في الحصول على النتائج (Rafalskey *et al*;1993: 1996).

2- مؤشرات جزيئية تعتمد على الـ PCR:

كان لتطوير تقانة التفاعل التسلسلي البوليميرازي Polymerase Chain Reaction (PCR) من قبل (Saiki *et al.*, 1985) واكتشاف أنزيم الـ Taq Polymerase DNA (Saiki *et al.*, 1988) الأثر المهم على صعيد الدراسات الوراثية الجزيئية، حيث اعتبر هذا الإنجاز تطوراً هاماً خاصة عندما أمكن تضخيم Amplification قطع محددة من الـ DNA باستخدام بادئات عشوائية أو متخصصة مصممة لهذا الهدف (Ayad *et al* ., 1997 ; Karp *et al* ., 1997) إن إيجاد تقانة التفاعل التسلسلي البوليميرازي الـ (PCR) لتضخيم قطع صغيرة من الدنا فسح المجال أمام جيل ثان من المؤشرات الذي كان أسرع وأقل تكلفة ويجب أن يكون واضحاً أن هذه التقانة في تطور مستمر حيث يظهر دائماً أنظمة أحدث في البحث المستمر عن مؤشرات أكثر اقتصادية بين أيدي مربي الحيوان في القرن الحادي والعشرين.

ومن أهم المؤشرات الجزيئية التي تعتمد على الـ PCR والمستخدمة حالياً نذكر:

أ- تقنية التضخيم العشوائي ذات التعدد الشكلي للـ DNA

Randomly Amplified Polymorphism DNA: (RAPD – PCR)

وتعتمد على إكثار قطع من الـ DNA المتباينة في تسلسلها النيوكليوتيدي عشوائياً مع تضخيم قطع النيوكليوتيدات الحاوية على تتاليات نيوكليوتيدية والتي يمكنها أن تشكل مع البادئات العشوائية سلسلة يمكن رؤيتها على شكل حزم Bands مختلفة الوزن الجزيئي على هلامة من الآغاروز (Williams *et al.*, 1990) و (Elsik *et al.*, 2009) .

وتمتاز هذه التقانة بإمكانية أتمتتها (Williams *et al.*, 1991) وتوفر عدد كبير من البادئات التي يمكن تبادلها بين مراكز البحث لسهولة معرفة التسلسل النيوكليوتيدي للبادئ كما تتسم بالبساطة والسرعة وعدم الحاجة لكميات كبيرة من المادة الوراثية الـ DNA (Alkan *et al.*, 2011; Williams *et al*, 1990; Jain *et al* ,1999)

لكنه يؤخذ عليها عدم ثبات النتائج عند تكرارها لتأثرها بعوامل عديدة الأمر الذي جعلها لا تتمتع بثقة الباحثين (Williams *et al*., 1990).

ب- تقنية تضخيم قطع الـ DNA ذات الأطوال المختلفة:

Amplified Fragment Length Polymorphism DNA (PCR-AFLP):

طور هذه التقانة (Zabeau and Vos, 1993 ; Vos *et al*., 1995) ومن ثم أكمل تطويرها (Powel *et al*., 1996)، وتعتمد على الكشف عن قطع من الـ DNA المقطعة بأنزيمات القطع والمضخمة بالتفاعل التسلسلي البوليميرازي (PCR) Polymerase Chain Reaction (Vos *et al*., 1995)، ومن ثم تحميلها على هلامة من البولي أكريلاميد Polyacrylamid (Becker and Heun., 1995).

حيث يتم هضم الـ DNA بأنزيمي تحديد يختلفان بنسبة تواجد المقاطع التي يتعرفان عليه في مجين الحيوان وبالتالي يتميز الأول بإعطائه عدداً كبيراً من القطع المتباينة ذات الوزن الجزيئي الصغير في حين يعطي الثاني عدداً قليلاً من القطع المتباينة ذات الوزن الجزيئي الكبير نسبياً ونحصل في نهاية الهضم على ثلاثة أنواع من القطع، تلك الناتجة إما عن الأنزيم الأول فقط أو عن الثاني فقط أو بالأنزيمين معاً. وبالنتيجة تحمل هذه الأخيرة بأحد طرفيها نيوكليوتيدات مكملة لمقطع الأنزيم الأول ومن طرفها الثاني نهاية مكملة لمقطع الأنزيم الثاني. وفي المرحلة التالية يتم اختيار القطع التي تحمل نهايتين مختلفتين فقط لمكاثرتها وتستبعد القطع الأخرى، ومن ثم تتم مكاثرة القطع المنتخبة باستخدام بادئات مختلفة.

وتمتاز هذه التقانة بأنها تسمح بإظهار عدد كبير من التعددات الشكلية حيث تستخدم في تحديد البصمة الوراثية دون معرفة مسبقة بالتسلسل النيوكليوتيدي للبادئات المنتخبة مخبرياً لأي من المورثات بسيطاً كان أو معقداً. ويتباين عدد القطع في كل تفاعل حسب البادئ الذي تم اختياره (Vos *et al*,1995) (Baraket *et al*., 2009).

يفيد أنزيم القطع المستخدم سواء كان EcoR1 أو PstI في الكشف عن صبغيات لم يكن ممكناً الكشف عنها بطريقة RFLP (Becker and Heun 1995). لذا يجب دراسة التنوع الوراثي وذلك باستخدام المعلمات الجزيئية، وتعتمد تقنيات المعلمات الجزيئية على

التفاعل التسلسلي البوليميرازي Polymerase Chain Reaction حيث يتم تضخيم قطعة محددة من الحمض الريبي النووي DNA وذلك بوجود بادئات محددة

(Weising *et al.*, 1995) ويتم التفاعل التسلسلي البوليميرازي PCR بوجود مكونات أساسية هي كلوريد المغنيزيوم MgCl2، النكليوتيدات ثلاثية الفوسفات Deoxynucleocaside Triphosphates (dNTPs) وأنزيم Taq-Polymerase كما يتم تضخيم الحمض النووي DNA عبر عدد من الدورات يصل لـ 40 دورة .

لقد أدى تطور التقنيات الحيوية إلى ظهور عدد كبير من المؤشرات الجزيئية الهامة التي تسمح بتوصيف الكائنات الحية والتمييز حتى بين الوحدات التصنيفية الصغيرة، ومن بينها:

أولاً: مؤشرات التسلسلات البسيطة المتكررة (SSR) Simple Sequence Repeats:

وقد أطلق Weber و May (1989) المرادفات التالية على هذه التقنية:

-Simple Sequence Repeats (SSR) or Microsatellites markers
-Sequence Tagged Microsatellites Site (STMS) markers.

- Short Tandom Repeats (STRs) markers.

و**(SSR)**: عبارة عن تسلسل قصير من الحمض النووي الـ DNA غير المشفر والذي يتكرر في المجموع الوراثي للكائن الحي عشرات المرات. وغالبا ما تتركز التكرارات الكثيرة في نفس الموقع الوراثي Locus. وهذا التسلسل المتكرر الصغائر بسيط جداً لأنه يتألف من 2- 4 نكليوتيدات فقط.

وتعد مؤشرات التسلسلات البسيطة المتكررة (SSR) من المؤشرات الجزيئية الهامة جداً والواسعة الانتشار حالياً، تتكون هذه المؤشرات من مقاطع صغيرة متكررة، تسمى وحدات متكررة، تتكون من توليفات مختلفة من أربع وحدات هي قواعد الحمض النووي DNA الأدينين (A)، السيتوزين (C)، الجوانين (G) والتيامين (T)،

وهي توجد بكثرة في المجينات وتتوزع على جميع الصبغيات سواء في المناطق المشفرة أو غير المشفرة (Adelson *et al.*, 2009; Powell *et al.*, 1996).

تتكون الوحدات المتكررة من عدد من أزواج النيوكليوتيدات يتراوح بين (1-6) أزواج نيوكليوتيدية تتوالى مراراً وتكراراً من طرفيها، كما تحاط هذه الوحدات بمقاطع نيوكليوتيدية (تتالي نكليوتيدي) توجد بمنطقة وحيدة في مجين أفراد النوع الواحد.

تختلف مؤشرات التسلسلات البسيطة المتكررة SSR فيما بينها من حيث، أماكن وجودها ضمن المجين وعدد الوحدات المتكررة المكونة لها، ونوعية نيوكليوتيدات الوحدات المتكررة. وقد أشار (Powell *et al.*, 1996) إلى أن الاختلاف في عدد الأزواج النيوكليوتيدية المتكررة ينتج عن التباين في أنواع البادئات قليلة النيوكليوتيدات Oligonucleotide المستخدمة والمحيطة بالتسلسل النيوكليوتيدي للتابع البسيط الترادفي.

وأشار (Russell *et al.*, 1997a) إلى أهمية المؤشرات الجزيئية من التسلسلات البسيطة المتكررة (SSR) لتمييز الكثير من الأنواع الحيوانية عن بعضها البعض.

وتعد التسلسلات البسيطة المتكررة (SSR) مؤشرات جزيئية مثالية للأسباب التالية:

1- ارتفاع معدل تطفيرها، حيث أن كسب أو فقد تكرار واحد بين جيل وآخر، يفوق عشرة آلاف مرة احتمال حدوث طفرة تصيب قاعدة آزوتية واحدة في مورثة ما في الحالات العادية (Sweigart *et al.*, 1999).

2- كما أن لهذه التسلسلات البسيطة المتكررة للحمض النووي (SSRs) إمكانية الكشف عن التتاليات النيكليوتيدية ذات السيادة المشتركة Codominant في التوريث، كما وتكشف عن وجود الأليلات المتعددة Multiallelic (Rafalski and Tingey, 1993)

3- وفرتها وتواجدها على كل أجزاء المجين الحيواني (Wang *et al.*,1994) وتوزعها بشكل منتظم أو شبه منتظم في المجينات الحيوانية كافة (Wang *et al.*, 1994; Weber, 1990).

4- نتائجها ثابتة عند تكرارها (Yu *et al.*, 1994).

5- تتطلب كمية قليلة من الحمض النووي منقوص الأوكسجين DNA.

6- إمكانية أتمتتها Automation (Rafalski and Tingey, 1993) وحيث أنه يمكن نشر البادئات Primers وتبادلها بسهولة بين المخابر بمجرد معرفة التسلسل النيوكليوتيدي لها (Yu *et al.*, 1994).

7- التكاليف منخفضة وجهد تنفيذها منخفض (Van Der Nest *et al.*, 2000)

8-مناسبة بشكل خاص لدراسة علم الوراثة العرقي وتقييم التنوع الوراثي وتحديد الأصناف (Jain *et al.*, 1999)

9- تحوي المؤشرات الجزيئية من التوابع البسيطة الترادفية طاقة كامنة في الثدييات (Yu *et al.*,1994)

10- تستخدم هذه الطريقة في زيادة دقة دراسة المجاميع الوراثية السكانية

(Pemberton and Schlötterer,1994).

إلا أنه يعاب عليها في أنها تحتاج إلى بادئات ذات تسلسل نكليوتيدي محدد يحدد مكان التابع البسيط الترادفي SSR.

استخدمت هذه المؤشرات في العديد من الدراسات ذات الأهداف المختلفة مثل إنشاء خرائط الارتباط الوراثية لعدد من الصفات الهامة ولأنواع حيوانية مختلفة (Liu *et al.*, 1996; Ramsay *et al.*, 2000; Von-Korff *et al.*, 2006; Baum, *et al.*, 2004; Emebiri *et al.*, 2005).

وفي دراسة التنوع الوراثي (Choumane *et al.*, 2000; Struss and Plieske, 1998; Khlestkina *et al.*, 2004; Ordon *et al.*, 2005; Ozkan *et al.*, 2005). وكذلك في التمييز بين الأنواع وتوضيح العلاقات التطورية وتصنيف المجموعات الوراثية (Russell *et al.*, 1997b; Struss and Plieske, 1998; Choumane, *et al.* 2002; Matus and Hayes, 2002; Feng *et al.* 2006a,b; Malysheva-Otto *et al.*, 2006).

وقد قام كل من Akkaya *et al.*, (1992); Wu and Tanksley a, (1993); Zhao and Kochert (1993); Morgante and Oliveri, (1993); Morgante *et al*, (1994); Saghai – Maroof *et al.*, (1994); Becker and Heun, 1995)

بغربلة مكتبات الحموض النووية DNA libraries وقاعدة بياناتها Public databases لتحديد التتاليات المحيطة بالتسلسلات البسيطة المتكررة للحمض النووي (SSRs) لعدة أنواع حيوانية.

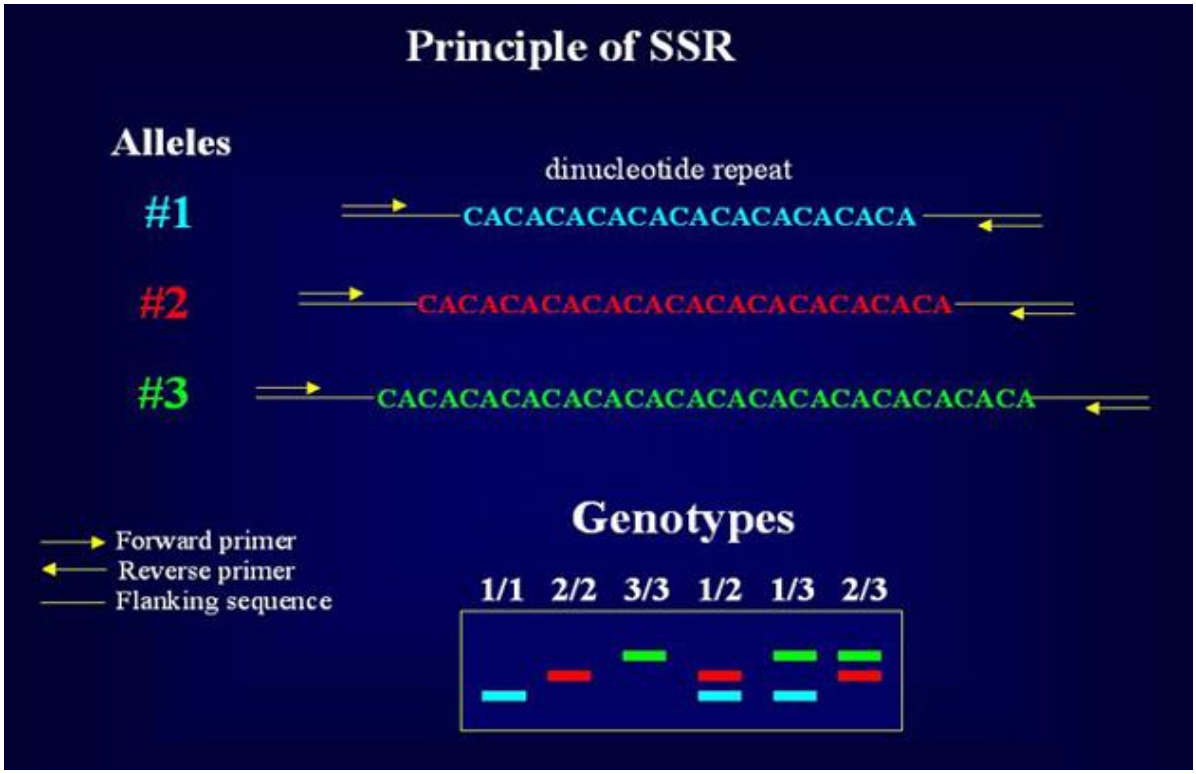
وهكذا بين (Powell *et al.*, 1996) وفرة التسلسلات البسيطة المتكررة للحمض النووي(SSRs) المنتشرة عشوائياً في كافة أنحاء المجينات من الأنواع, وأشار إلى أن عدد مواقع التسلسلات البسيطة المتكررة للحمض النووي (SSRs) يتراوح ما بين 10^3 إلى 10^5 حسب النوع المدروس, وعدد الأسس النيوكليوتيدية المتكررة.

أما Morgante and Oliveri (1993) فقد بحثا في التتاليات النيوكليوتيدية للتسلسلات البسيطة في قاعدة البيانات databases الموجودة في البنك الوراثي Gen Bank حتى التكرار الأسي رقم (4)، ووجدا أن التسلسلات البسيطة المتكررة للحمض النووي (SSRs) تتواجد بشكل متكرر في أغلب الأنواع الحيوانية, حيث يتواجد تسلسل متكرر للحمض النووي في كل 50 kb (كيلو زوج نيوكليوتيدي) (1 kb= 1000 bp).

إن التسلسلات البسيطة المتكررة للحمض النووي (SSR) متوفرة وتتوزع باطراد لتعكس معلومات وراثية جمة (Tatuz., 1989; Weber and May., 1989).

وفي مجال استخدام SSR عند الماعز فقد تمكن (Wang Jie *et al.*, 2009) من استخدام (10 بادئات) من SSR لتحديد الاختلاف الوراثي الجزيئي في صفة ارتفاع التصالب الحوضي بين أفراد الماعز التيبيتي، التي تعيش في مناطق مختلفة الارتفاع.

يبين الشكل (3) مبدأ عمل تقنية الـ SSR بوجود البادئتين اللتين تحصران فيما بينهما المناطق المكررة.



شكل (3) يوضح مبدأ عمل تقنية الـ SSR

ثانياً: التكرارات البسيطة المتراصفة الداخلية (ISSR):

(Inter simple sequence repeat):

هي قطع صغيرة غير مشفّرة من الحمض الريبي النووي الـ DNA الموجودة في موروث أحد الكائنات الحية بين تكرارين من التسلسل البسيط تتألف عادة من نيوكليوتيدين أو ثلاث نيوكليوتيدات ويمكنها 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 ونتيجة لذلك يلاحظ وجود أشكال عديدة في الـ DNA. لقد طال استخدام التقانات الحيوية وخاصة تقانة الوراثة الجزيئية أغلب الحيوانات الزراعية، وذلك لأسباب واهتمامات مختلفة. فقد استخدم كل من: (Luikart *et al.*, 1999) و(Luikart *et al*., 2011) (Mannen *et al.,* 2001) تقانة تحليل mt-DNA لتقصي الأسلاف البرية للماعز المستأنس ليثبت بالنتيجة أنها تنحدر من ثلاثة خطوط نسب أمومية. وفي نفس المجال تقصى الباحثون اليابانيون (Takadda *et al*., 1997) في موضوع تحديد السلف الأم الرئيسة للماعز ووجد بعد التحليل الوراثي لـ mt-DNA أن الماعز الإيراني (ألباز) Bezoar هو المرشح القوي لذلك. علماً أن هذه النتيجة قد أكدت من قبل (Mannen *et al*., 2001) (Sofalian *et al*., 2008). وفي دراسة أخرى لـ (mt-DNA & D-G-Loop) تناولت الماعز الباكستاني نفذها الباحثون (Sultana and Mannen., 2004) أدت نتيجتها إلى أن التحليل العشائري الوراثي يشير إلى انحدار الماعز الباكستاني من أربعة أنساب mt.

وفي مجال استخدام الواسمات الوراثية Microsatellite يشير الباحثون

(Moradi *et al.,* 2007) (Agha *et al.,* 2007) إلى استخدام سبع بادئات وراثية لدراسة الاختلاف الوراثي لثلاث سلالات من الماعز المصري وسلالتين من الماعز الإيطالي. هذا وتعتبر عملية التهجين عبارة عن إعادة ترتيب للمورثات، وعادة ما يتم تغيير في mt-DNA من الأم إلى الأبناء. حيث يتم نسخ mt-DNA ضمن نفس الميتوكوندريا. ونظراً لأن طفرة الـ mt-DNA الحيوانية تملك معدلاً أعلى من الحمض النووي فيعتبر الـ mt-DNA أداة قوية لتتبع الأصل من خلال الإناث (الأمات) بشكل واضح، ويتم من خلاله معرفة أصل الكثير من الأنواع والعودة إلى مئات من الأجيال

وبالتالي إمكانية تحديد هوية الأفراد. كما بين (Michael *et.al.*, 2005) في معلق على نتائجه حول أهمية استخدام الـ mt-DNA في أبحاث المناعة عند الانسان، وكذلك حول التنوع الوراثي أيضاً.

واستخدم في هذه الدراسة تقنية الـ (Inter Simple Sequence Repeats) (ISSR) (أي التكرارات البسيطة الترادفية الداخلية) التي تعتمد على تضخيم المواقع (100-3000 bp) بين التوابع الدقيقة المتقاربة والمتوضعة بشكل متعاكس (Zietkiewicez *et al.*, 1994) باستخدام بادئات وحيدة طولها (16-18 bp) ومؤلفة من نكليوتيدات متكررة، ومحاطة في أغلب الأحيان بـ (2-4) نكليوتيدات إما في المنطقة (3′)أو (5′) (Nagaraju *etal.*, 2002 ; Bornet *etal.*, 2002).

وعادة ما يضخم (25-50) (ISSR) منتجاً في التفاعل الواحد ويمكن أن يكون عدد الحزم المنتجة مرتبطاً بشكل عكسي مع عدد النيوكليوتيدات في وحدة تكرار المحضر.

إن الفائدة الرئيسية لهذه التقنية هي أنها لا تتطلب وقتاً طويلاً لبناء المكتبة الوراثية، وعلى الرغم من حقيقة كونها تورث كمعلمات سائدة وأحياناً غير سائدة, إلا أنها معلمات ذات طبيعة عشوائية, فهي مناسبة بشكل خاص لدراسة علم الوراثة العرقي وتقييم التنوع الوراثي وتحديد الأصناف، (Gupta *et al* (1994), Fang and Roos, (1997), Wolf *et al* (1998), Blair *et al* (1999), Jain *et al* (1999), Cavan *et al* (2000), Raina *et al* (2001), Korben *et al* (2002)).

كذلك فإن بساطة معلمات ISSR تزيد من إمكانية استخدامها في الوسم المجيني (Ammiraju, *et al.*, 2001) إضافة إلى أن معلمات ISSR تتميز بأنها غزيرة فهي تعطي عدداً كبيراً من الحزم, ومستوى التعددية الشكلية عالي إلى متوسط, وطبيعة التوريث سائد إلى متنحي, والقدرة على التضخيم عالية إلى متوسطة, والتكاليف منخفضة كما أن جهد تنفيذها منخفض(Van Der nest *et al.*, 2000).

باختصار تعد هذه التقنية بسيطة وسريعة وذات مصداقية عالية ولها الميزات نفسها لمعلمات التعددية الشكلية (DNA) المضخم عشوائياً Amplified (Random) (RAPD Polymoirphic DNA) والتعددية الشكلية لقطع (DNA) المهضومة بأنزيمات التقييد

المضخمة (Amplified Fragment) (Length Polymoirphic AFLP) و(Simple Sequence Repeated)(SSR).

ويمكن تصميم بادئاتها بسهولة وبدون معلومات مسبقة عن التسلسل الجيني لقطعة الحمض الريبي النووي منقوص الأوكسجين المستهدف, كما أنها تعطي حزماً ذات تعددية شكلية عالية , وتستخدم وبشكل واسع في مجالات تحديد الأصناف, ورسم الخرائط الوراثية, والتنوع الوراثي, ووضع بادئات التكرارات البسيطة الترادفية (SSR)

Rakoczy – Troganowska and Polibok, (2004)

(Qian *et al.*, 2007). وبالحديث عن استخدامات تقنية ISSR في التحاليل الوراثية عند الحيوانات فقد تعددت أهدافها وتعددت موادها.

حيث استفاد Bai and Hui, (2001) من تقنية ISSR عند دجاج اللحم للانتخاب لصفة أقل كثافة من الليبوبروتين عند الجيل الثالث لنسبين أحدهما نحيل والآخر مكتنز. كما وقام (Glazko *et al.*, 1999) بتحاليل مقارنة للتمايزات الوراثية بين ثلاثة أنواع بقرية: ذكور أوروبية وأمريكية من الأبقار، وذلك باستخدام أنماط مختلفة من المعلمات الوراثية الجزيئية والكيمياء الحيوية التوريثية ومعلمات الـ (DNA) مثل: (ISSR) و(RAPD) حيث ظهر أن تقدير المعلمات الوراثية داخل الأنواع كانت مرتبطة مع المعلمات الوراثية الجزيئية المحددة التي تضمنتها الدراسة بشكل أكبر عند مقارنتها مع معلمات تنتمي لنموذج لا على التعيين.

كما قام Bai (2004) باستخدام تقنية (ISSR) لدراسة التشابه الوراثي بين النمور الموجودة في مركز (Hengdaohezi Breeding Center) وبين النمور الموجودة في مقاطعة (Heilongjiang) الصينية.

وفي مجال استخدام ISSR عند الماعز فقد تمكن (Wang Jie *et al.*, 2009) من استخدام (10 بادئات) من ISSR لتحديد الاختلاف الوراثي الجزيئي في صفة ارتفاع التصالب الحوضي بين أفراد الماعز التيبيتي التي تعيش في مناطق مختلفة الارتفاع. أما فيما يتعلق بدراستنا الحالية وبشكل مباشر أي عن دراسة التنوع الوراثي عند الماعز الشامي وباستخدام تقنية (ISSR)، فقد استخدم (Wang *et al* ., 2010) هذه التقنية

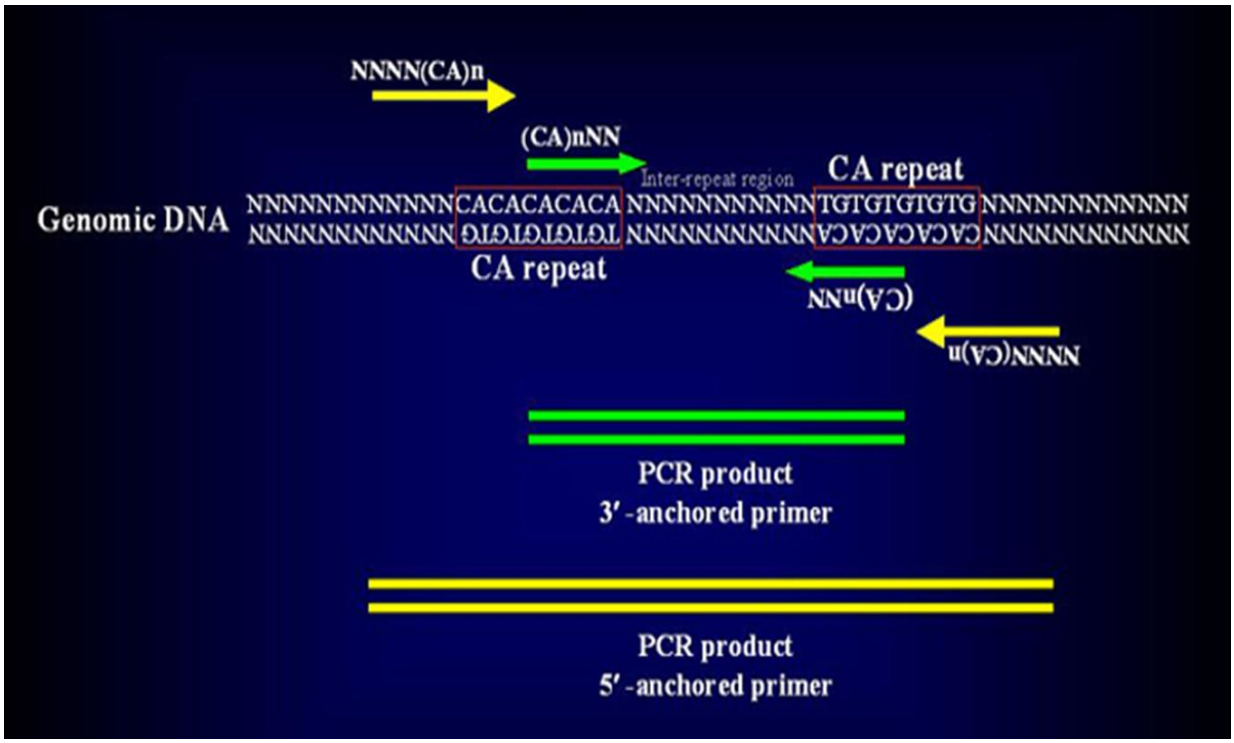
لتحليل التنوع الوراثي عند مجتمعات الماعز التيبيتي في منطقة (ريتو كونتي) حيث اختيرت (10 بادئات) من بين (93 بادئة ISSR) ثم استخدمت للكشف عن التنوع الوراثي في (107) عينات من الماعز التيبيتي, حيث أعطت هذه الـ (10 بادئات) (112 حزمة DNA) من ضمنها (75 حزمة) متعددة شكلياً وكان حجم القطع المضخمة يتراوح بين (219– 534 bp), مما يؤكد نوعية هذه البادئات التي استطاعت إنتاج حزم متعددة شكلياً فقط, كما أكدت النتائج أيضاً أن مجتمع الماعز المدروس أبدى مستوىً عالياً من التنوع والاختلاف الوراثي الموجود ضمن الأفراد.

وقد ذكر كل من: (Powell *et al.,* 1996) (Gao *et al.,* 2010) أن استخدام التقانات الحيوية على المستوى الجزيئي للمادة الوراثية DNA أدى إلى تسريع وتحسين التربية، إذ تعد المؤشرات الجزيئية Molecular markers ذات أهمية قصوى على صعيد التربية إضافة إلى أنها تعد مؤشرات مساعدة في تسريع عمليات الانتخاب والتربية، وهي بذلك تختصر الزمن الذي تستغرقه عمليات التربية إضافة إلى خفضها للتكاليف المادية (سيد، 2001).

كما أوضح كل من: (Graner *et al*., 1991; Qi *et al*., 1996; Ramsay *et al*., 2000) أن استخدام تقانات المؤشرات الجزيئية، يمكن أن يقلل من تعقيدات إدخال عدد من الصفات المرغوبة في النمط الوراثي الواحد.

كذلك يمكن استخدام المؤشرات الجزيئية بشكل فعال في تحاليل التنوع الوراثي وتقدير التشابه الوراثي (Powell *et al.,* 1996; Eleuch *et al.,* 2008).

يبين الشكل (4) مبدأ عمل تقنية الـ ISSR التي يلاحظ فيها أن البادئ المستخدم يدل على المنطقة المكررة.



شكل (4) يوضح مبدأ عمل تقنية الـ ISSR

تتحدد الصفات الإنتاجية في الحيوانات الزراعية بإنتاج اللحم، الحليب، البيض، الصوف، والجلد. حيث تكون كل خصائص الأداء التي تتعلّق بتلك المنتجات تحت تأثير المورثات.

إن تحديد وكشف وظائف المورثات المؤثرة في هذه الصفات سيكون مساعداً في فهم الآلية الوراثية للتوريث، والتحسين الممكن لها. لهذا الغرض تستخدم النظريات الوراثية الجزيئية والإحصائية أَو الوراثية الكمية لتَقييم الحيوانات والمجاميع الحيوانية للمصادر الوراثية.

وفي مجال الوراثة الجزيئية يتم العمل على أربعة مشاريع رئيسية هي:

1- تطوير علامات التعريف التربوية في الماشية

2- التنوع الحيوي للأبقار والماعز

3- تطوير المعلمات الوراثية التي ترتبط بالصفات الهامة اقتصادياً في الماشية

4- بناء الخريطة الوراثية، (عيسى، 2008).

يعد التنوع الوراثي من أهم متطلبات تربية الحيوان، إذ إن التنوع الوراثي المرتفع ضروري جداً من أجل القيام بأعمال التحسين الوراثي في الحيوانات (Askari *et al*.,2011).

وتكون المجتمعات الحية منخفضة التنوع الوراثي بمستوى غير كاف للتكيف مع تغير الظروف البيئة أو بعض الظروف الأخرى (Schaal *et al*., 1991)،

كما لوحظ أن قدرة المجتمع الحي على الاستجابة للتغيرات البيئية يعتمد على مستوى التنوع الوراثي الذي يحويه هذا المجتمع، لذلك فإن الدراسات عن التنوع الوراثي للمجتمعات يوضح كيفية وميكانيكية تطور هذه المجتمعات ويعطي أيضاً معلومات هامة عن بيولوجية استمرار والحفاظ على الكائنات الحية (Notter، 1999).

المعلمات الوراثية الجزيئية: Genetic Molecular Markers

في السنوات الأخيرة تم استخدام المعلمات الوراثية (Markers) بشكل كبير من أجل دراسة التنوع الوراثي، وأكثر من ذلك فإن التعددية الشكلية (Polymorphism) المحددة بهذه المعلمات هي من أهم المؤشرات المستخدمة لدراسة المجتمعات ومعرفة الاختلافات الوراثية بينها (Askari *et al.*, 2011).

المعلمات الوراثية هي تكرارات من الـ DNA، وجدت في مواقع معيّنة من المورث (Genome) وتنتقل وفق القانون القياسي (الماندلية) للتوريث من جيل لآخر ويتم اختيارها نتيجة قربها من مواقع الصفات الكمّية الهامة QTL (Cano et al., 2007)، فهي معروفة الموقع على الصبغي وترتبط بمورثة أو صفة معينة. و يمكن أَن توصَف على أنها اختلاف قد يظهر بسبب تغير أَو تعديل في الموقع الوراثي loci.

قد تكُون العلامة الوراثية سلسلة قصيرة من الـ DNA ، مثل تغير زوج وحيد من الأسس (نكليوتيد وحيد Polymorphism، SNP)، أَو أسس طويلة مثل (Minisatellites).

ومكّنت التطورات الحديثة في تقنياتِ الـ DNA من كشف عدد كبير من التعدد الشكلي الوراثي (Polymorphisms) في مستوى سلسلة الـ DNA، واستعمالهم كعلامات لتقييمِ القاعدة الوراثية لتغيّر النمط المظهري (Phenotypic) المُلاحظ.

وتسمى المعلمات التي تَكْشف الاختلافات في مستوى الـ DNA المعلمات الجزيئية.

وفي استراتيجيات التربية التقليدية، للعلامات جزيئية عِدّة تطبيقات قصيرة المدى أَو فورية، (بمعنى: تحديد الأبوة، تقدير المسافة الوراثية، تحديد التوأم الحقيقي وظاهرة الخنوثة وFreemartinism، وتحديد جنس الجنين قبل الزرع) وتطبيقات بعيدة المدى (بمعنى: الخريطة الوراثية والانتخاب بمساعدة العلامة).

كما يمكن أَن تستَعمل المعلمات الجزيئية في تربية المورثة المنقولة (Transgenes) كنقاط مرجع للتعريف وعزل وادراك تغير المورثات ذات العلاقة، وكذلك لتعريف الحيوانات التي تحمل المورث المنقول. ويشير التقدّم في تطوير المعلمات الجزيئية إلى إمكانية استعمالهم للتحسين الوراثي في كافة أنواع الماشية.

إن الاستخدام الرئيسي للمؤشرات الجزيئية هو في الوصول إلى مواقع المورثات المطلوبة بأقرب مسافة وراثية ممكنة لأنه كلما تم التوصل إلى مؤشر جزيئي قريب من المورث كلما كانت احتمالية ارتباطه به أعلى فإذا كانت الصفة نوعية (Qualitative Trait) ويتحكم بها مورث واحد أو زوج من المورثات فيكتفى بالاعتماد على هذا الارتباط بين مؤشر ومورث أما إذا كانت الصفة كمية (Quantitative Trait) ويتحكم بها أكثر من مورثتين فيجب دراسة توزع المؤشرات الجزيئية لهذه المورثات وربطها مع الأداء البيئي لهذه الصفة للمساعدة في استخدامها في عمليات الانتخاب والتربية والتحسين وغربلة الطرز والأصناف بوقت مبكر.

وتبين الدراسات المرجعية أن هذه المعلمات الوراثية يمكن أن توجد سواءً في الجزء غير النشط من الحمض الريبي النووي أي الإنترون (Intron) وفي هذه الحالة قد لا تملك أي تأثير مباشر على النموذج المظهري (Yahyaoui, 2003)، أوفي الجزء النشط من الحمض الريبي النووي أي الإكسون (Exon) مؤثرة في كثير من العمليات الحيوية وهذا ما أشار إليه الباحث (Guo *et al*., 2010) عند دراسته للنكليوتيد المفرد المتعدد الأشكال لمورثة اللاكتوفيرين في ماعز الحليب الصيني حيث اكتشف وجود ارتباط بين (SNP) في هذه المورثة ومتوسط قيمة بروتين الحليب، واقترح بناءً على ذلك استخدام هذا النيوكليوتيد كدليل انتخابي لتحسين تركيب الحليب في الماعز.

مزايا المعلمات الجزيئية:

تشمل المعلمات الجزيئية على أنواع مختلفة من المعلمات الوراثية مثل الشكلية والكروموزومية Chromosomal، والكيماوية الحيوية والجزيئية.

أما بالنسبة للعلامات الجزيئية الوراثية فهي قادرة على اكتشاف الاختلافات الوراثية في مستوى الـ DNA، وتمتلك مزايا وراثية فريدة أيضاً تجعلها مفيدة أكثر من المعلمات الوراثية الأخرى. علاوة على ذلك، أعدادها كثيرة وموزعة في كافة أنحاء المورث. ويتبع توريثها قوانين ماندل في حال السيادة المشتركة، كما أنها لا تتأثر بالعوامل البيئية. وعموماً لا تمتلك ظاهرة التوريث المتعدد Pleiotropic على المواقع الوراثية للصفات الكمية (QTL) (Hayes *et al.*, 2006).

وتصنف هذه المعلمات بحسب التقنية المستخدمة للكشف عنها في صنفين رئيسين:

علامات أساسها التهجين (Hybridization)، وعلامات أساسها (PCR).

تمتلك المعلمات الجزيئية ملكيات وراثية فريدة ومزايا تطبيقية و Methodological مما يجعلهم أكثر فائدة وطاعة للتحليل الوراثي مقارنة بالمعلمات الوراثية الأخرى.

إن التطبيقات الممكنة للعلامات الجزيئية في تحسين الماشية ترجع إلى استراتيجية التربية التقليدية واستراتيجية نقل المورثات (Transgenic).

الانتخاب بمساعدة المعلمات (Markers Assisted Selection) (MAS):

تستعمل المعلومات الناتجة من المعلمات الوراثية بشكل عام للمساعدة على اتخاذ قرارات انتخاب الحيوانات للتحسين الوراثي وذلك بعد إجراء التحليلات المفصّلة وبتقويم التنوع الوراثي فضلاً على كشف المورثات التي تؤثر في الصفات الهامة اقتصادياً.

وغالباً ما يشمل المورثات الرئيسية المعروفة وكلّ المورثات المجهولة، لأن المعلمات الوراثية تشير إلى الاختلافات في القرائن الوراثية في المواقع الوراثية المفترضة. لذلك يكون من الضروري توفر المعلومات وبشكل مستمر عن المعلمات الوراثية.

إن أغلب المعلمات الجزيئية التي استخدمت في الوقت الحاضر هي علامات Microsatellite (STR) (Simple Tandem Repeat), أما بقية المعلمات مثل (AFLPs) (RFLPs), (SSCPs), (RAPD), (VNTRs) لم تطبق عموماً في الحيوانات الزراعية.

علاوةً على ذلك وفي مجال دراسة التنوع وتاريخ النسب استخدمت علامات mtDNA والصبغي الجنسي Y لتحديد الأنساب الأمومية والأبوية وفي مجال غير دراسة التنوع تستخدم المعلمات الجزيئية أيضاً لتخطيط مواقع الصفات الكمية (QTL) ومن خلالها المعلمات المساعدة للانتخاب (MAS).

وحتى فترة قريبة كانت المعلمات Microsatellites تستعمل لتخطيط مواقع الصفات الكمية للصفات الإنتاجية والصفات الوظيفية في الحيوانات الزراعية كما أشار إلى ذلك كل من (Hiendleder *et al*., 2003) (Kùhn *et al*., 2003).

الواسمات الوراثية (SNPs): (Single nucleotide polymorphism):

إن هذه الواسمة تظهر أيضاً في الجزء غير النشط، غير المشفر. من المادة الوراثية والتي تسمى إنترون (Intron) وهي تستبعد قبل عملية الترجمة عند نضج (RNA الرسول)، لذلك لا تترجم إلى أحماض أمينية أو بروتينات.

استخدمت الواسمات الوراثية (SNPs) في دراسات مختلفة ولغايات مختلفة، فقد صرح (Vignal *et al*., 2002) في دراسة له عن أهمية الواسمات الوراثية الجزيئية واستخداماتها في الوراثة الحيوانية عن أهمية (SNPs) كنموذج جديد من الواسمات، واكتسب شعبية واسعة.

حيث استخدم العديد من العلماء والباحثين طريقة تحليل (SNPs) عند عدة أنواع حيوانية وفي مجالات مختلفة.

أما تحاليل (SNPs) عند الماعز فقد كانت كثيرة ومتنوعة ومتعددة المجالات أيضاً, وخاصة في المجال الوراثي ودراسة التنوع والحفاظ على المصادر الوراثية.

أشار (Maddox and Cockett., 2007) أن عدداً كبيراً من تجارب وضع خرائط للصفات قد تمت أو تتم حالياً بمساعدة تحاليل (SNPs).

وذكر (Pariset *et al.*, 2006) أن تحاليل (SNPs) قد تستخدم في دراسات التنوع الحيوي ومهام تجارية أخرى مثل: اقتفاء الأثر الوراثي، واختبار الأبوة، واختيار النموذج الوراثي المناسب.

وقد استخدم (Fu-Jun *et al.*, 2009) تقنية (SNPs) لتعريف بعض النكليوتيدات المفردة ذات الأشكال المتعددة في مورثة الميلانوفيلين عند الماعز, وتكملة لهذا البحث قد اكتشف (Xiang-Long *et al.*, 2010) تسعة نكليوتيدات مفردة متعددة الأشكال (SNPs) في مورثة الميلانوفيلين عند الماعز الصيني ولكنه لم يتم اكتشاف أي طفرة متماثلة الأليل لهذه النكليوتيدات التسعة، مما دعى لافتراض أن النكليوتيدات المطفرة ربما تكون مميتة أو مرتبطة بمورثة متنحية مميتة.

كما يمكن استخدام المعلمات الوراثية (SNPs) كمؤشرات انتخابية لتحسين العديد من الصفات كما يؤكد ذلك كل من (Pariset *et al.*, 2009)، (Lan *et al.*, 2007)، (Gupta *et al.*, 2009) و (Lan *et al.*, 2008).

ولابد من الإشارة إلى استخدام (SNPs) في تقدير بناء العشيرة وتحديد نسب الأفراد للعشائر، كما ورد في دراسة قام بها (Pariset *et al.*, 2006) حول هذا الموضوع عند الماعز.

مع كل ما تقدم يبقى عدد هذه المعلمات المكتشفة من الماعز غير كافٍ لإجراء تحسينات جذرية كما يشير إلى ذلك (Bai *et al.*, 2001) و (Lan *et al.*,2007) لكن مع تطور الأبحاث والدراسات في هذا المجال يمكن تنفيذ تغطية شاملة للخريطة الوراثية عند الماعز.

وفيما يخص أساليب الدراسات المستخدمة تشير المراجع العلمية المختصة إلى وجود عدة طرائق لدراسة هذا التنوع، وتبرز تلك التي تعتمد على وظائف الجينوم في الحيوانات.

تساعد هذه التقنيات في الكشف عن المؤشرات الجزيئية على مستوى الحمض النووي DNA وهي تقانات متاحة حالياً للباحثين لاستخدامها في مجالات التحليل الوراثي وتربية الحيوان (Kurata *et* Rafalski and Tingey, 1993; Tanksley *et al.*, 1989; *al.*, 1994).

إن أهم محددات استخدام تقانة التفاعل التسلسلي البوليميرازي (PCR) هي حاجتها لمعلومات عن التسلسلات النيكليوتيدية لتصنيعها واستخدامها كبادئات مناسبة لكل تقانة على حده (Williams *et al.*, 1991).

وتستخدم الواسمات الجزيئية مثل الواسمات الميتوكوندرية والتوابع الدقيقة في الحمض النووي الجينومي Microsatellite.

والخريطة الوراثية هي التي تحدد تسلسل توضع المورثات على الصبغيات.

وهنا يمكن أن يميز بين مجموعة من المعلمات الجزيئية الوراثية، حيث يمكن الحديث عن المعلمات المناعية كما هو في الزمر الدموية، والمعلمات الكيميا حيوية التي تصف تباين كل من البروتين والأنزيمات.

ومن ناحية اخرى يمكن الحديث عن الميكروستاليت والذي اشتق من سلوك مقاطع الـ DNA في تدرج الكثافة في الطرد المركزي، حيث تنفصل الـ RNA و DNA DNA الميكروستاليت (تكرارات الأسس متعددة الجينوم للكائنات الحية الراقية). وبشكل عام وعلى الأغلب تظهر الميكروستاليت في مناطق الجينوم غير المشفرة للبروتين لذلك تسمى المعلمات الوراثية الحيادية.

وخلال عملية تضاعف الـ DNA للميكروستاليت يحدث انزلاق وإعادة توضع لأنزيم الـ Taq – Polymerase DNA الذي يهتم بتضاعف الـ DNA خلال الانقسام الميتوزي. وخلال هذه العملية يحدث تجمع أو شطب لأسباب الميكروستاليت وبالتالي تغير في التكرار.

ومن المعلوم فإن تحاليل الميكروستاليت هي من أكثر المعلمات المستخدمة لسهولة آلية إجراؤها وانخفاض تكاليفها. علماً أنها تتواجد في اختبارات التطابق وتحديد النسب وأبحاث التباين الوراثي. وتكون نتائج تحاليل الميكروستاليت في طول القطع التي تصف الآليلات كأزواج من الأسس، فإذا ورث الحيوان أليلاته من أبيه وأمه نتحدث عن النموذج الوراثي متخالف اللواقح، في حين تؤدي الأليلات المتماثلة إلى النموذج متماثل اللواقح.

وقد ذكر (Powell *et al.*, 1996) أن استخدام التقانات الحيوية على المستوى الجزيئي للمادة الوراثية DNA أدى إلى تسريع وتحسين التربية. إذ تعد المؤشرات الجزيئية Molecular markers ذات أهمية قصوى على صعيد تربية الحيوان، إضافة إلى أنها تعد مؤشرات مساعدة في تسريع عمليات الانتخاب والتربية وهي بذلك تختصر الزمن الذي تستغرقه عمليات التربية إضافة إلى خفضها للتكاليف المادية (سيد، 2001).

كما أوضح كل من: (Ramsay *et al.*, 2000) و (Graner *et al.*, 1991) أن استخدام تقانات المؤشرات الجزيئية، يمكن أن يقلل من تعقيدات إدخال عدد من الصفات المرغوبة في النمط الوراثي الواحد. كذلك يمكن استخدام المؤشرات الجزيئية بشكل فعال في تحاليل التنوع الوراثي وتقدير التشابه الوراثي (Eleuch *et al.*, 2008).

الفصل الثالث

مواد البحث وطرائقه

MATERIALS AND METHODS

أولاً: مكان تنفيذ البحث Search Site:

نفذ البحث في قسم الإنتاج الحيواني، وأجريت تحاليل التوصيف الجزيئي في مخبر البيولوجيا الجزيئية Molecular Biology في كلية الزراعة بجامعة دمشق.

ثانياً: المادة الحيوانية واستخلاص الحمض الريبي النووي منقوص الأوكسيجين DNA الـ:

جمعت (90) عينة من دم الماعز الشامي النقي (Capra Domesticus) (غير الخليط) من محطة بحوث قرحتا لتربية الماعز الشامي. واختيرت منها (30) عينة، كانت هذه العينات تمثل إناثاً وذكوراً و ذكوراً ذوات الفك الطويل (كزمة).

(من1-10 إناثاً، ومن11-20 ذكوراً عادية، ومن 21-30 ذكوراً كزمة).

وتجدر الإشارة إلى أن هذه الحيوانات تنحدر من خطوط تربوية مختلفة بحسب سجلات التربية الموجودة في المحطة.

وتم مراعاة ذلك عند تحديد أعداد العينات الضرورية الواجب تحليلها، إذ تم الاستغناء عن جزء من العينات المنحدرة من نفس الخط لإتاحة المجال لاستخدام أعداد أكبر من البادئات (Primers) بهدف الكشف عن أكبر قدر ممكن من التنوع الوراثي. وضعت عينات الدم في أنابيب مخلاة من الهواء وتحوي مانع تخثر (EDTA)،

ثم تم استخلاص الحمض الريبي النووي منقوص الأوكسجين (DNA) وذلك وفق (Nonorganic extraction of DNA from whole blood salting out method)، حسب الخطوات التالية: (Benson, 1999)

تم وضع (1 ml) من الدم الكامل في أنبوب, وتم إضافة (1 ml) من محلول حال للخلايا (0.32 mM سكروز ، Tris-Hcl 10mM، PH=7.6، Mgcl2 5mM، 1% (100- TritonR x)) إلى الأنبوب، وثقل الأنبوب بسرعة (4000 rpm) لمدة 5 دقائق. ثم أعيدت هذه المرحلة مرة ثانية. وأضيف بعد ذلك (500 µl) من محلول هضم البروتين (Tris-Hcl 10mM ، PH=8 ، Nacl 10mM ، EDTA 10mM) إلى الأنبوب. و يثقل الأنبوب بسرعة (4000 rpm). وبعدها يضاف (225 µl) من محلول هضم البروتين، و (25 µl) من محلول البروتيناز (k) (10 mg/ml) إلى الأنبوب من أجل التخلص من البروتينات. ثم حضنت العينات في الحمام المائي على درجة حرارة 65° م مع التحريك المستمر لمدة 30-40 دقيقة، ثم وضعت العينات في البراد على درجة حرارة 4° م لمدة 5 دقائق، ثم أضيف للعينات كمية من مادة Chloroform/ Isoamyl Alchohol (24 :1) مماثلة لكمية محلول الاستخلاص، وحركت الأنابيب برفق مدة عشر دقائق وترك لمدة 20 دقيقة مع التحريك في وسط حراري 4°م، بعد ذلك وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي (Centrifuge) نوع Heraeus على سرعة (10000 rpm) ولمدة 10 دقائق على درجة حرارة 4° م، حيث تم في هذه المرحلة فصل المزيج إلى طورين، نقل بعدها الطور العلوي المنفصل بحذر إلى أنابيب Eppendorf جديدة سعة 1.5 مل، وأعيد تنقيته مرة أخرى بكمية مماثلة من مادة Chloroform/ Isoamyl Alchohol (24 :1)، ثم أضيف 500 ميكرو ليتر من isopropanol المبرد على حرارة – 20° م مع التحريك بلطف وتركت العينات بعدها على درجة حرارة – 20° م لليوم التالي وذلك من أجل ترسيب الحمض النووي. وفي اليوم التالي أعيد تثفيلها بجهاز الطرد المركزي بسرعة (10000 rpm) ولمدة 10 دقائق.

تم التخلص من الرشاحة وإضافة (200 µl) من محلول إيتانول 70 % لراسب الحمض النووي DNA، ثفلت الأنابيب بعد ذلك بالمثفلة عند سرعة (10000 rpm) مدة (10) دقائق ، وجفف راسب الحمض النووي DNA عند حرارة (37 °م) مدة (10) دقائق. حل الحمض النووي DNA في (50 µl) من محلول TE المكون من (10 mM Tris-

HCl, PH=8 1mM EDTA) على درجة (4° م). تم التخلص من الحمض النووي RNA بإضافة (2 µl) من أنزيم RNase (10 mg/ml) والتحضين على درجة (37° م) مدة نصف ساعة. بعد ذلك حفظت العينات بدرجة حرارة 4 °م لمدة 24 ساعة، ثم خزنت على درجة حرارة – 20°م لحين الاستخدام.

تقدير كمية الحمض الريبي النووي الـ DNA ونوعيته:

Spectrophotometric determination of the amount and quality of DNA

لتقدير كمية الحمض النووي DNA في العينات استخدم جهاز المطياف الضوئي (UV Spectrophotometer) نوع HITACH الذي يعتمد في عمله على قياس كمية الحمض النووي الموجودة عن طريق امتصاصه للأشعة فوق البنفسجية Ultra Violet بموجات طولها 260 و 280 نانومتر.

تسمح قراءة الامتصاص على طول الموجة 260 نانومتر بحساب تركيز الحمض النووي Nucleic Acid في العينة بحيث أن كل وحدة واحدة من الكثافة الضوئية (OD) Optical Density تقابل حوالي 50 ميكرو غرام/ مل لسلاسل الحمض النووي DNA المضاعفة. كما أن القراءة على طول الموجة 280 يسمح بالكشف عن التلوث بالبروتينات والفينولات. ويمكن حساب كمية الحمض النووي DNA من المعادلة التالية:
(Maniatis, *et al.*, 1982):

$$\text{DNA concentration (mg / ml)} = \frac{\text{OD 260} \times \text{50(عامل التمديد)} \times \text{50 (g/ml)}}{1000}$$

حيث أن OD 260 تمثل الكثافة الضوئية لامتصاص الحمض النووي عند الموجة 260 نانومتر.

إن النسبة بين قراءة الموجة 260 نانومتر/ إلى280 نانومتر تساعد في تقدير نسبة نقاوة الحمض الريبي النووي والتي يجب أن تتراوح بين (1.8 -2.0) لكل عينات الحمض الريبي النووي الـ DNA.

حملت كمية قليلة من الحمض الريبي النووي الجينومي Genomic DNA في هلامة من الآغاروز تركيزها (1 %) لتحديد نوعية الحمض الريبي النووي DNA.

تضخيم الحمض الريبي النووي منقوص الأوكسجين DNA Amplification:

تمت عملية تمديد الحمض الريبي النووي (DNA) في الماء المقطر والمعقم للوصول إلى التركيز (40 ng/µl).

ثم أجري تضخيم (DNA) باستخدام (15 بادئة) (ISSR) موضحة بالجدول (1)، وكذلك باستخدام (27) زوجاً من بادئات (SSR) موضحة بالجدول (2)، حيث تم الحصول على هذه البادئات من الهيئة العامة للطاقة الذرية السورية.

ثالثاً: تفاعل البلمرة المتسلسل: (PCR) (Williams *et al.*, 1990):

يقوم الحمض النووي (DNA) بحفظ المعلومات الوراثية والحفاظ عليها، وتقوم الخلية بمضاعفة كمية الحمض النووي وقت انقسام الخلية بشكل تلقائي وسريع مع وجود نظام تصحيح للأخطاء خلال عملية النسخ.

وتبلغ سرعة النسخ والمضاعفة الـ 1000 قاعدة نيتروجينية في الثانية (داخل النظام الحيوي). وهي تحدث في الخلية وقت التكاثر والانقسام فقط.

ومع التطور الكبير في مجال التكنولوجيا الحيوية والذي يقوم على التعامل مع الحمض الريبي النووي الـ DNA بشكل أساسي، استدعى ذلك العلماء للبحث عن طريقة أو تقنية تقوم على مضاعفة كمية الحمض الريبي النووي بشكل كبير، وبعد عدة محاولات، توصل Dr.Kerry Mullis في عام 1985 إلى تقنية الـ PCR حيث حصل على جائزة نوبل في الكيمياء عام 1993 بنشر اختراعه لهذه التقنية التي كانت بوابة لكثير من التطورات المتسارعة في مجال التكنولوجيا الحيوية.

ومن أهم الأسباب التي ساعدت هذه التقنية على الانتشار:

1- عدم اعتمادها على النظام الحيوي (الخلية)
2- إمكانية التحكم في كمية الحمض الريبي النووي الـ DNA
3- سهولة وسرعة الإنتاج من هذه التقنية.

وكان من أهم عيوب هذه التقنية هو عدم وجود نظام إصلاح أخطاء الارتباط الخاطئ Miss match.

وتقانة الـ PCR تقوم على إكثار نسخ الحمض الريبي النووي DNA خارج النظام الحيوي، أي أنها طريقة لنسخ الحمض الريبي النووي في المختبر.

لذلك فهي تقنية حيوية لاستنساخ قطعة محددة من الحمض الريبي النووي ومضاعفة إنتاجها كي يتسنى إجراء اختبارات وفحوصات إضافية عليه.

ويسمح تفاعل البلمرة المتسلسل بتضاعف قطعة مفردة أو عدة قطع من الحمض الريبي النووي ليعطي ملايين النسخ من هذه القطع.

الوظيفـــة	PCR
تكسير الروابط الهيدروجينية	بالحرارة
بلمرة الـ DNA	Taq polymerase
الإمداد بالبادئ	بإضافة البادئ لخليط التفاعل
ارتباط القطع	تبقى القطع صغيرة قصيرة

أهم استخدامات الـ PCR:

1- الكشف عن الأمراض التي تصيب الانسان والحيوان والنبات
2- الكشف عن الأمراض الوراثية
3- تعريف السلالات والتفرقة بين العزلات الميكروبية
4- عزل تتابعات الـ DNA وتدير كميته
5- تحليل عينات الـ DNA حتى من كميات صغيرة جداً من المادة البادئة (Staring material)، حيث يتم مضاعفة هذه الكميات الصغيرة
6- تعريف تتابعات الـ DNA
7- عمل البصمة الوراثية (Genetic Fingerprinting): وهي تكنيك يستخدم للتعرف على شخص أو كائن بمقارنة الـ DNAs التجريبي ويستخدم في اختبارات الأبوة

8- يستخدم في تحديد العلاقات التطورية بين الكائنات

9- يستخدم في التحليل التخطيطي أو تتابعات الـ DNA لجينوم الفيروس

10- يستخدم في التقدير الكمي لمستويات التعبير الجيني (Gene expression)

11- يستخدم في تغيير نهايات الجين لتصبح متوافقة مع أنزيمات القطع (Restriction enzyme).

خطوات تفاعل البلمرة المتسلسل الـ PCR:

1- Denaturation **(الانفصال):** على درجة حرارة 94 – 98 °م

2- Annealing **(الالتحام):** على درجة حرارة مختلفة حسب درجة حرارة البادئة حيث ترتبط البادئات (Primers) بالمناطق المكملة لها على قطع الـ DNA

3 – Elongation **(الاستطالة):** وتتم على درجة حرارة 72 °م حيث تتكامل القواعد المكملة لخيط الـ DNA (أنزيم البوليميراز يضيف النيوكليوتيدات في اتجاه الطرف 5´ إلى3´ ويقرأ الخيط القالب 3′ إلى 5′).

وعادة ما تشمل عملية الـ PCR من 20 إلى 30 دورة وفق الخطوات التالية:

- **الخطوة الابتدائية:** يحدث فيها تسخين خليط التفاعل حتى درجة 94 – 96 °م وقد تصل حتى 98 °م. إذا كان أنزيم البلمرة المستخدم ثابتاً في درجات الحرارة العالية، وتستغرق من 1- 9 دقائق حيث تحتاج أنزيمات بلمرة الـ DNA لتنشيط حراري بواسطة (Hot start PCR).
- **خطوة Denaturation:** يتم فيها تسخين التفاعل إلى 94-98 °م ولمدة 30 ثانية. وهي تسبب انفصال خيطي الـ DNA والبادئات حيث يحدث تكسير للروابط الهيدروجينية بين الأزواج المتكاملة لخيوط الـ DNA ونتيجتها الحصول على خيوط مفردة من الـ DNA.
- **خطوة Annealing:** حيث يتم خفض درجة حرارة التفاعل إلى 50-65 °م لمدة 20-40 ثانية مما يسمح للبادئات بالارتباط مع قالب الـ DNA المفرد، والروابط الهيدروجينية بين DNA-DNA تتكون فقط عندما يكون تتابع نيوكليوتيدات البادئ

قريب جداً من تتابع القالب فيقوم أنزيم البلمرة بربط البادئ مع القالب ويبدأ تخليق الـ DNA.

- **مرحلة الاستطالة Elongation:** تعتمد درجة الحرارة المستخدمة في هذه الخطوة على أنزيم بلمرة الـ DNA المستخدم، فأنزيم Taq polymerase يكون أعلى نشاط له عند درجة 75–80 °م وهنا يقوم الأنزيم بتخليق خيوط الـ DNA الجديد مكملاً لقالب الـ DNA الأصلي بواسطة إضافة DNTPs التي تتكامل مع القالب الأصلي في اتجاه 5′-3′ رابطاً مجموعة الفوسفات عند النهاية 5′ لـ DNTPs مع مجموعة الهيدروكسيل في النهاية 3′ لخيط الـ DNA المستطيل.

ويعتمد زمن الاستطالة على:

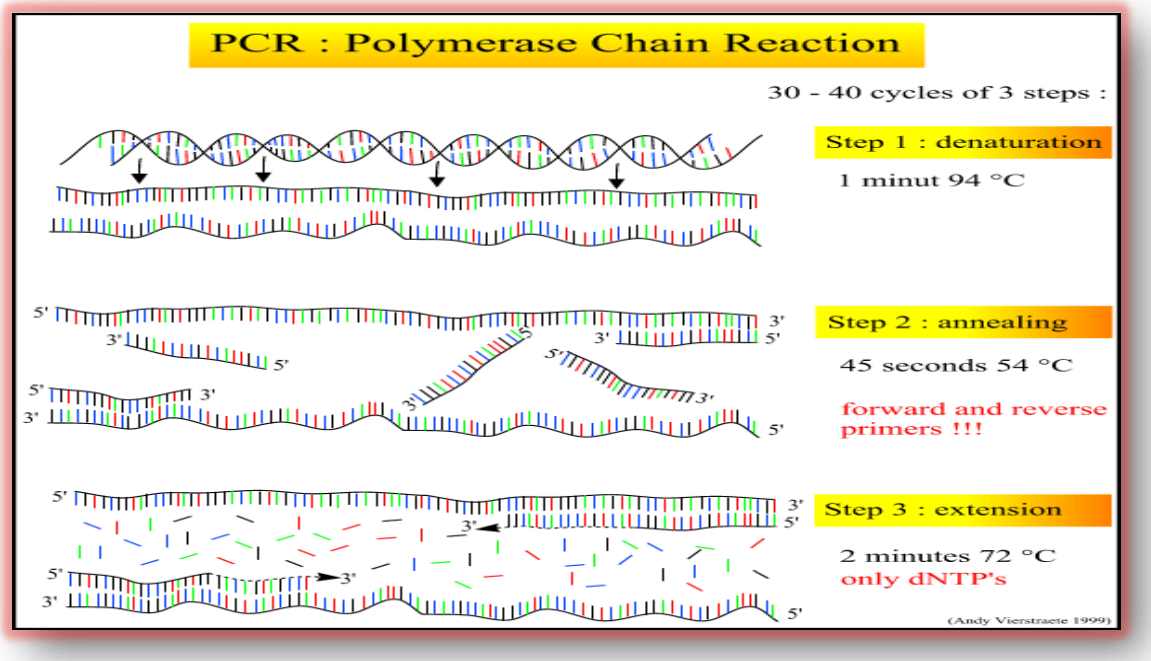
1–نوع أنزيم البلمرة المستخدم
2–طول قطعة الـ DNA القالب المراد مضاعفتها.

(في درجة الحرارة المثلى يقوم أنزيم البلمرة بإدماج آلاف القواعد في الدقيقة الواحدة).

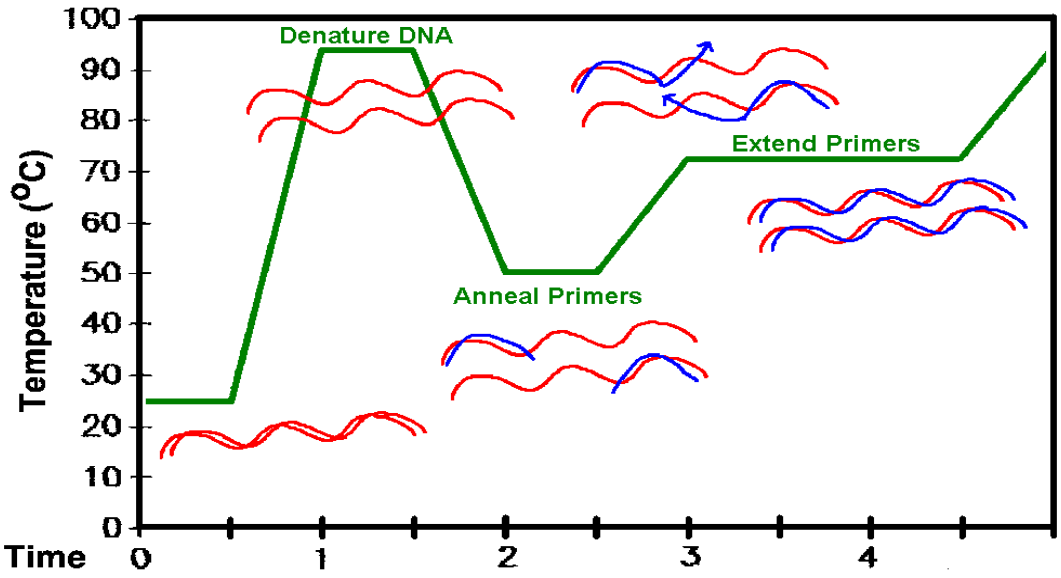
- **خطوة الاستطالة النهائية Final Elongation:**

تحدث هذه الخطوة على درجة حرارة 70–74 ° م لمدة 5–15 دقيقة بعد آخر دورة لـ PCR للتأكد من أن أي قطعة باقية من الـ DNA مفردة الخيط قد تم عمل استطالة لها بالكامل.

- **Final Hold:** تجري على درجة 4–15°م ولمدة غير محددة وربما تستخدم للتخزين القصير لخيط التفاعل.



شكل (5) يمثل مراحل تفاعل البلمرة المتسلسل PCR



شكل (6) يبين مراحل تفاعل الـ PCR

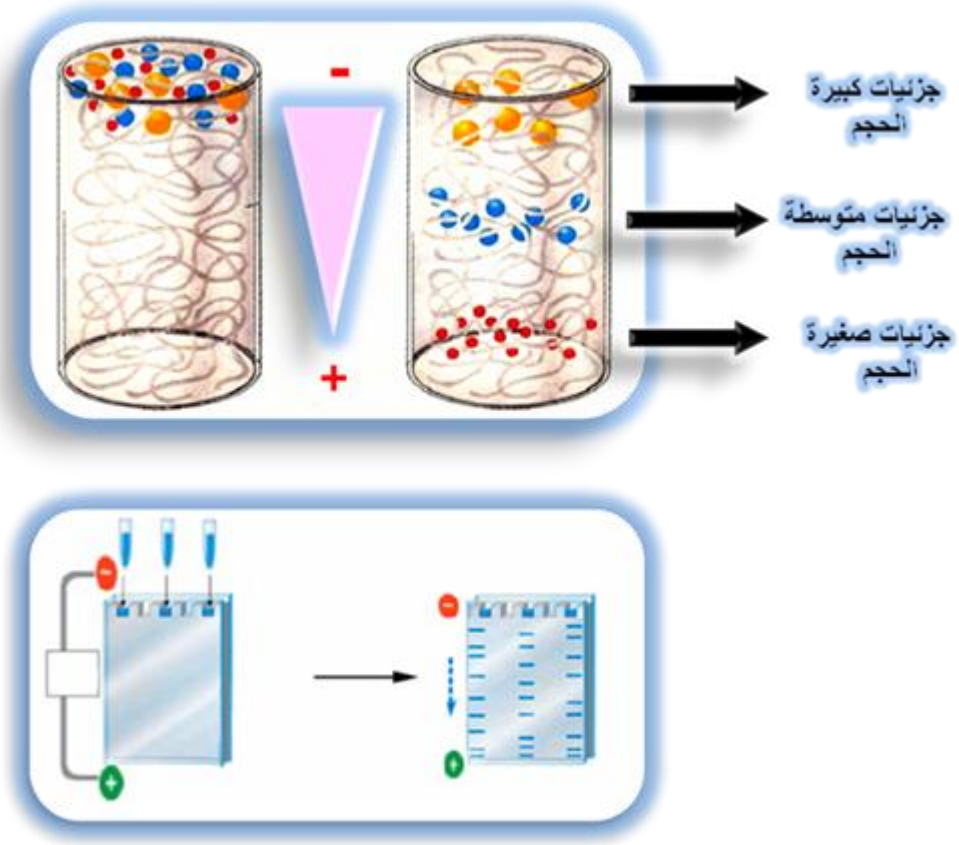
رابعاً: الرحلان الكهربائي: (Gel Electrophoresis):

تم تحديد نجاح عملية تضخيم DNA الناتج من بادئات ISSR و SSR باستخدام جهاز الرحلان الكهربائي الأفقي ومحلول (Tris Borate EDTA) (TBE 1X) ويتم تحضير محلول (TBE 10X) الذي يتكون من ليتر من الماء المقطر مضافاً إليه: (g 108 Tris +g 55 Acid Borique +g 9.3 EDTA)،

ثم يخفف المحلول الناتج بالماء المقطر عشرة أمثال ليستخدم (TBE 1X) بعد ذلك. حيث ينفصل الحمض النووي DNA خلال هلامة الآغاروز (2 %) بالنسبة لنواتج التضخيم باستخدام بادئات ISSR كما تم إضافة صبغة الإيثيديوم بروماید ETBR ذات التركيز (mg/ml 50) حيث أضيفت بمقدار (µl 5) لكل (100 ml) من هلامة الآغاروز.

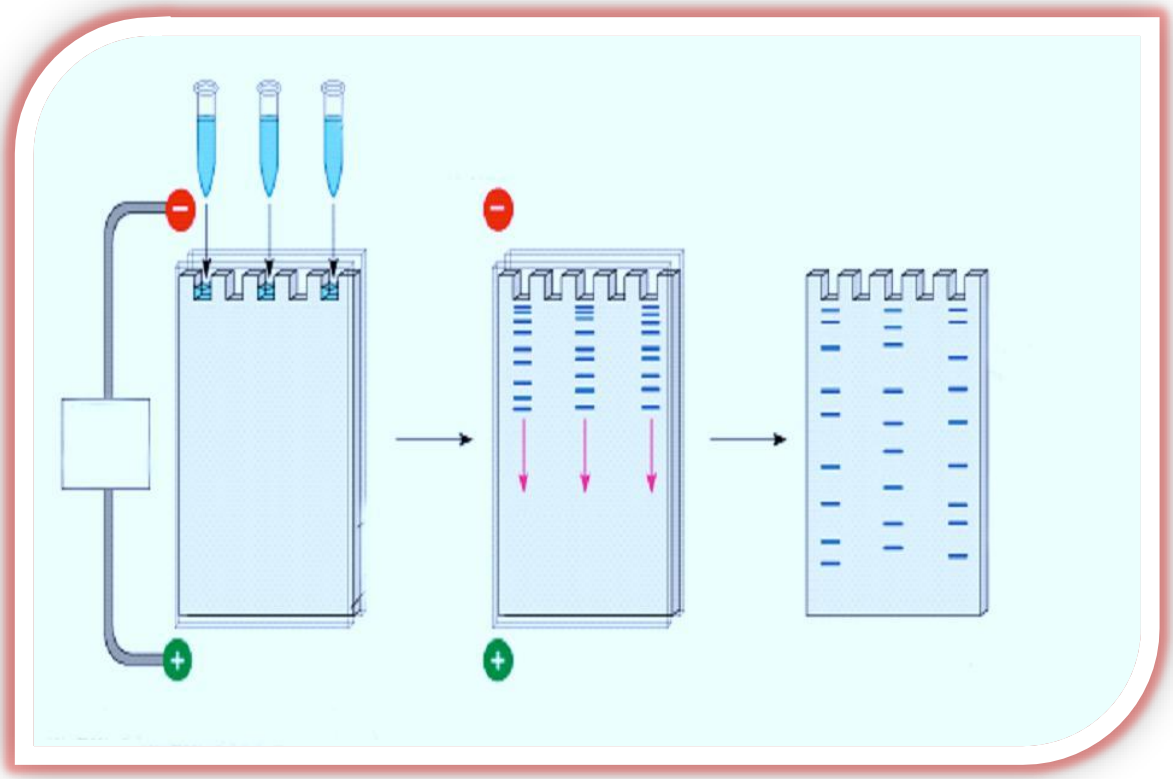
أما الهلامة المستخدمة لفصل نواتج التضخيم باستخدام بادئات SSR فهي هلامة الميتافور آغاروز (4 %)، التي تتميز بقدرة كبيرة على الفصل وذلك بسبب صغر مساماتها، حيث أن هذه الميزة تمكنها من فصل جزيئات الـ DNA التي تختلف عن بعضها بنيوكليوتيد واحد، ويضاف للهلامة صبغة الإيثيديوم بروماید ETBr بمقدار (µl 5) لكل (ml 100) من الهلامة.

وعلى ذلك فإنه يتم فصل نواتج التضخيم ذات الشحنة السالبة متجهةً من القطب السالب إلى القطب الموجب، اعتماداً على الوزن الجزيئي إذ ترحل القطع الكبيرة (ذات الوزن الجزيئي المرتفع) ببطء أكثر من القطع الصغيرة (ذات الوزن الجزيئي المنخفض) ثم يتم كشف الحمض النووي DNA باستخدام صبغة الإيثيديوم بروماید (ETBr) ليظهر الحمض النووي DNA على شكل حزم على الهلامة عند التعريض للأشعة فوق البنفسجية (UV)، الشكل (10)، ولابد من إضافة سلم جزيئي يعبر عن الطول الجزيئي (ladder) إلى الهلامة ، وهو عبارة عن محلول تجاري يتألف من قطع من الحمض النووي DNA بأطوال معروفة.



\

شكل (7) يوضح هجرة جزيئات الـ DNA حسب وزنها الجزيئي على الملامة في جهاز الرحلان الكهربائي.



شكل (8) تمثيلي لهجرة جزيئات الـ DNA حسب وزنها الجزيئي على الهلامة في جهاز الرحلان الكهربائي

تطبيق تقنية الـ ISSR المعتمدة على تفاعل الـ PCR:

تضمنت هذه الدراسة تطبيق تقنية الـ ISSR والتي تعتمد بشكل أساسي على التفاعل التسلسلي البوليميرازي (Polymerase Chain Reaction) (PCR) حيث أُختبرت (15) بادئة تم الحصول عليها من الهيئة العامة للطاقة الذرية السورية.

الجدول (1) الرموز والتسلسل النيكليوتيدي ودرجة الحرارة والبادئات المستخدمة في تقنية الـ ISSR (Primers)

(Luikart *et al.*,1999; Allendorf and Ryman, 2000)

رقم البادئة	التسلسل النيكليوتيدي للبادئات	درجة حرارة الالتحام ^{o}م
ISSR- IR (01)	$(AG)_8T$	50
ISSR- IR (02)	$(GA)_8AT$	51
ISSR- IR (03)	$(CA)_8A$	50
ISSR- IR (05)	$(AC)_8T$	50
ISSR- IR (09)	$(GA)_8CG$	56
ISSR- IR (10)	$(TC)_8GA$	54
ISSR- IR (11)	$(TC)_8AG$	52
ISSR- IR (12)	$(GA)_8CG$	52
ISSR- IR (15)	$CCAG(GT)_7$	52
ISSR- IR (32)	$(AC)_8GG$	52
ISSR- IR (33)	$CCAG(GT)_7$	52
ISSR- IR (34)	$(GT)_4(GA)_5$	52
ISSR- IR (35)	$(AC)_7(AT)_3$	52
ISSR- IR (36)	$(CT)_8G$	52
ISSR- IR (37)	$(TC)_8C$	51

تطبيق تقنية الـ SSR المعتمدة على تفاعل الـ PCR:

تضمنت هذه الدراسة تطبيق تقانة الـ SSR والتي تعتمد بشكل أساسي على التفاعل التسلسلي البوليميرازي (Polymerase Chain Reaction) (PCR) حيث أُختبرت (54) بادئة (27) زوجاً، تم الحصول عليها من الهيئة العامة للطاقة الذرية السورية.

الجدول (2) الرموز والتسلسل النيكليوتيدي ودرجة الحرارة والبادئات (Primers) المستخدمة في تقنية الـ SSR:

(Road *et al.*, 1998; Maudet *et al*, 2011)

رقم البادئة	التسلسل النيكليوتيدي ('5-'3)	درجة حرارة التمجين °م
2-1	F: GGGTGTGACATTTTGTTCCC R: CTGCTCGCCACTAGTCCTT	63
4-3	F: ACCTGGGAAGCCTCCATATC R: CTGCAGGCAGATTCTTTATCG	56.9
6-5	F: AGTTGAACCTGGGTCTCCTG R: TGCAATGGCAGTGAAAAAAG	64
8-7	F: GAATTCCCATCACTCTCTCAGC R: GTTCTCCATTGAACCAACTTCA	64
10-9	F: TGGTTTAGCAGAGAGCACATG R: GCTCCTAGCCCTGCACAC	58
12-11	F: GCTACAGCCCTTCTGGTTTG R: GAGCTAATCACCAACAGCAAG	63
14-13	F: TTGTTTAGGCAAGTCCAAAGTC R: AACACCGCAGCTTCATCC	63
16-15	F: ATGCACCCTTAACCTAATCCC R: GCACTTTATAAGCACCACAGC	54
18-17	F: GAGAATCACCTAGAGAGGCA R: CTTTCTCTTTAAATTCTATATGGT	55.6
20-19	F: ATCCTCACCCTTCAAACAG R: CTGGGGAGTTTTCTCTGAC	62
22-21	F: ATCTTACTTACCTTCTCAGAGCT R: GGGACAAAATTTTACATATACACTT	59.6

55	F: TGCGGTCTGGTTCTGATTTCAC R: CCTGCATGAGAAAGTCGATGCTTAG	24-23
55	F: AGCAAGAAGTGTCCACTGACAG R: TCTAGGTCCATCTGTGTTATTGC	26-25
55	F: CTTTACTTCTGACATGGTATTTCCC R: TGCCACTCAATTTAGCAAGC	28-27
45	F: CTAATTTAGAATGAGAGAGGCTTCT TTGGTCTCTATTCTCTGAATATTCC	30-29
45	F: TTATCTTGGCTTCTGGGTGC R: ATCTTCACTTGGGATGCAGG	32-31
45	F: TGAACGGGTAAAGATGTG R: TGTTTTTAATGGCTGAGTAG	34-33
45	F: TCAGTCTCCAGGAGAGAAAAC R: CTCTGCCCTGGGGATGATTG	36-35
45	F: TGATGAGGATGGATGCTAACT R: CTGCAAATAAGAAAACTGAATAAA	38-37
55	F: GTTTCTTTTCATCTCAGACTGGGATTCAGAAAGGC R: GCTTGGAAATAACCCTCCTGCATCCC	40-39
55	F: GACTCTAGAGGATCGCAAAGAACCAG R: GAGTTAGTACAAGGATGACAAGAGGCAC	42-41
55	F: ACAGAGGTGAAGAATAAGGAGAGTG R: GATAGTTTCAGAAGACCCAGTTGAG	44-43
55	F: GTTCAGGACTGGCCCTGCTAACA R: CCTCCAGCCCACTTTCTCTTCTC	46-45
55	F: TGTTTTGATGGAACACAGCC R: TGGATTTAGACCAGGGTTGG	48-47
50	F: AGCTGGGAATATAACCAAAGG R: AGTGCTTTCAAGGTCCATGC	50-49
50	F: CAATCTTGCTCCCACTATGC R: CTCCTAAAACACTCCCACACTA	52-51
50	F: GCTGCCTTCTACCAAATACCC R: CTTCCTGAGAGAAGCAACACC	54-53

الجدول (3) مواقع البادئات على صبغيات بعض الحيوانات

رقم البادئات	رقم الصبغي الحامل للبادئات	الحيوان المتخصص بالبادئات
2-1	6	Bovine
4-3	6	Bovine
6-5	6	Bovine
8-7	28	Bovine
10-9	غير معروف	Bovine
12-11	غير معروف	Bovine
14-13	غير معروف	Bovine
16-15	غير معروف	Caprine
18-17	غير معروف	Bovine
20-19	غير معروف	Caprine
22-21	غير معروف	Bovine
24-23	غير معروف	Caprine
26-25	غير معروف	Caprine
28-27	غير معروف	Caprine
30-29	20	Bovine
32-31	26	Bovine

Caprine	غير معروف	34-33
Bovine	2	36-35
Bovine	25	38-37
Ovine	11	40-39
Ovine	17	42-41
Caprine	غير معروف	44-43
Bovine	5	46-45
Ovine	3	48-47
Bovine	23	50-49
Bovine	18	52-51
Bovine	2	54-53

التحليل الإحصائي:Statical Analysing:

جرت دراسة التنوع الوراثي وتحديد درجة البعد الوراثي اعتماداً على بياناتها الجزيئية، وحللت النتائج باستخدام برنامج (PopGen 32) الجزيئي، وذلك بعد تحويل البيانات إلى صيغ رقمية، بوجود الحزمة أو عدم وجودها (1) أو (0) على التوالي، كما رسمت شجرة القرابة الوراثية Dendrograma اعتماداً على هذا البرنامج باستخدام معامل عدم التشابه (Nei, 1978).

وأنشئت مصفوفة نسب عدم التوافق PDV (Percent Disagreement Values) بتطبيق UPGMA (Unweighted Pair Group Method With Arit).

الفصل السابع

النتائج والمناقشة

RESULTS AND DISCUSSION

أولاً: تحديد درجة القرابة الوراثية بين الأفراد المدروسة باستخدام تقنية الـ ISSR:

في هذا الجزء أجريت الدراسة الجزيئية باستخدام تقنية الـ ISSR ، حيث تمت الدراسة الوراثية على مستوى الحمض النووي وتقانة التضخيم لسلسلة الحمض النووي DNA المتباينة شكلياً، والتعددية الشكلية Polymorphic وتحديد درجة القرابة الوراثية بين العينات المدروسة والتحليل باستخدام هذه التقنية.

الدراسة الوراثية على مستوى الحمض الريبي النووي DNA:

اختبارات الـ DNA الكمية والنوعية:

أظهر حساب النسبة بين قراءات تركيز عينات الـ DNA المستخلص من العينات المدروسة في التجربة عند أطوال موجة ضوئية 260، 280 نانومتر وباستخدام المطياف الضوئي قيماً تتراوح بين 1.769 و 2.049 كما هو موضح في الجدول (4).

وهي تشير الى نوعية جيدة من الـ DNA من حيث النقاوة، كما قدرت تراكيز عينات الـ DNA ما بين 0.265 و 1.431 ميكروغرام / ميكرو ليتر في المحلول TE المنظم والمخزنة فيه هذه العينات.

الجدول(4) قراءات المطياف الضوئي لعينات الـ DNA عند أطوال الموجات 260 و280 لحساب تركيز ونقاوة العينات.

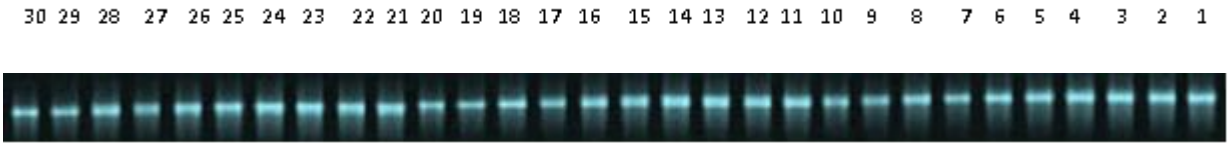
رقم العينة	OD280/OD260	تركيز DNA ميكروغرام/ ميكرو ليتر
1	2	0.956
2	1.961	0.925
3	2	1.352
4	1.922	0.724
5	1.945	0.963
6	2.049	1.431
7	1.961	1.102
8	1.971	1.312
9	1.901	0.335
10	1.800	0.266
11	2	0.391
12	1.851	0.372
13	1.962	0.451
14	1.982	0.412
15	1.884	0.350
16	1.872	0.333
17	1.853	0.461
18	1.800	0.372
19	1.821	0.356
20	1.965	0.459

0.265	1.879	21
0.681	1.802	22
0.531	1.963	23
0.321	1.854	24
0.327	1.903	25
0.592	1.803	26
0.487	1.825	27
0.533	1.897	28
0.645	1.932	29
0.453	1.851	30

اختبار جودة الـ DNA المستخلص على هلامة الآغاروز بوساطة الرحلان الكهربائي:

ظهر الحمض الريبي النووي DNA المستخلص على هلامة الآغاروز على شكل شرائط أو عصابات مضيئة، وهذا يشير إلى احتواء العينات على جزيئات الـ DNA ذات الوزن الجزيئي المرتفع مما يؤدي إلى انتقالها ببطء ضمن الهلامة. لذلك نجد حزمة الـ DNA بأعلى الهلامة دلالة على نوعية جيدة من الـ DNA.

أما عند حدوث التقطعات في شريط الـ DNA أثناء عمليات التحضير فإن ذلك يشير إلى الحصول على جزئيات الـ DNA التي تتدرج في أوزانها الجزيئية، وتعد العينات الخالية من التقطعات ذات جودة عالية كما هو مبين في الشكل (9).

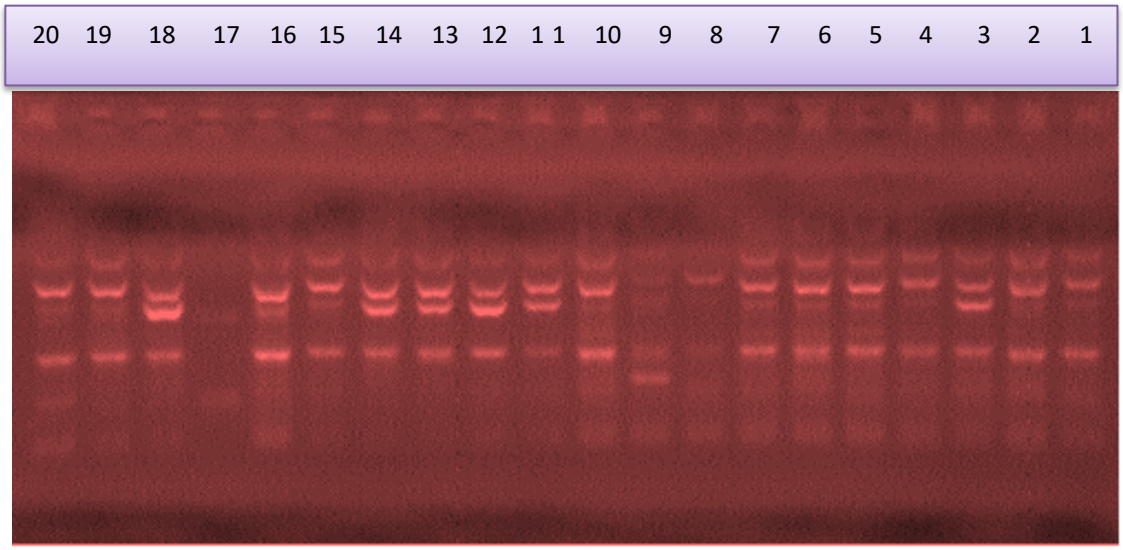


شكل (9) يوضح جودة عينات الـ DNA

نتائج تطبيق تقنية الـ ISSR:

تضخيم سلاسل الـ DNA باستخدام بادئات الـ ISSR:

مدد الحمض الريبي النووي الـ DNA ليصبح تركيزه 40 نانو غرام/ ميكرو ليتر وتشير نتائج تطبيق تقنية الـ ISSR باستخدام 15 بادئة، إلى وجود حزم واضحة وذات تعددية شكلية في كل العينات المدروسة كما يبين الشكل (10).



((العينات 1- 10 إناث، 11- 20 ذكور عادية))

شكل (10) صورة هلامة الآغاروز 2 % لملاحظة التعددية الشكلية الناتجة عن استخدام البادئة (33) من بادئات الـ ISSR (Schibler, *et al.*, 2000).

تحليل العينات المدروسة باستخدام تقنية الـ ISSR:

تضمنت الدراسة اختبار (30) عينة من عينات الدم لدى الإناث والذكور العادية والذكور طويلة الفك (الكزمة) من الماعز الشامي.

لقد كانت نتائج استخدام 15 بادئة لتقنية الـ ISSR لتحديد التعددية الشكلية Polymorphic في عينات دم الإناث والذكور العادية والذكور الكزمة، على الشكل التالي:

أعطت (11) بادئة منها نتائج تضخيم وهي (1- 3- 5- 9- 15- 32- 33- 34- 35- 36- 37) كما هو مبين في الجدول رقم(5)، في حين أن أربع بادئات لم تعطِ تعددية شكلية وهي (2، 10، 11، 12)، ونتج عن استخدام هذه البادئات ما مجموعه 96 أليلاً (قريناً)، حيث أعطت البادئات تعددية شكلية Polymorphic وكانت نسبة التعددية الشكلية 100 %، وتراوح عدد الحزم لكل بادئة بين 4 حزم كأقل عدد مع البادئة (ISSR-34) و14 حزمة كأعلى عدد مع البادئة (ISSR-1) وبمتوسط عام قدره (8.73) حزم لكل بادئة.

وتشير هذه النتائج إلى نجاح جزء من البادئات في تحديد جزء الـ DNA (الإنترون) الواقع بين تكرارات التسلسلات البسيطة للتمييز بين العينات المدروسة. وهذا يتفق مع كثير من الدراسات المرجعية حول إمكانية نجاح هذه التقنية كما أوضح كل من الباحثين (Badaoui *et al.*, 2007; Allendorf *et al.*, 2000; Askari *et al.*, 2011).

الجدول (5) الحزم الناتجة عن بادئات الـ ISSR المستخدمة والنسبة المئوية للتعددية الشكلية

رمز البادئة	عدد الحزم الكلي	عدد الحزم المتعددة شكلياً	% الحزم المتعددة شكلياً	حجم الحزم الناتجة bp
ISSR-1	14	14	100	بين 150 و 3500
ISSR-3	9	9	100	بين 150 و 1000
ISSR-5	12	12	100	بين 150 و 3500
ISSR-9	9	9	100	بين 200 و 3000
ISSR-15	8	8	100	بين 150 و 3000
ISSR-32	6	6	100	بين 300 و 750
ISSR-33	7	7	100	بين 500 و 3000
ISSR-34	4	4	100	بين 500 و 1000
ISSR-35	12	12	100	بين 300 و 2000
ISSR-36	7	7	100	بين 400 و 2500
ISSR-37	8	8	100	بين 300 و 1500
المجموع	96	96	1100	---
المعدل	8.73	8.73	100	---

يلاحظ من الجدول (6) أن جميع العينات قد أعطت حزماً فريدة باستثناء العينة 20 وهي عينة ذكر عادي، فقد أعطت عينات الإناث 34 حزمة فريدة، وعينات الذكور العادية 24 حزمة فريدة، أما عينات الذكور طويلة الفك (الكزمة) فقد أعطت 34 حزمة فريدة.

فالعينة 14 (ذكر عادي) امتلكت أكبر عدد من الحزم الفريدة (6 حزم) وكان عدد الحزم الفريدة الأقل في العينة 15 (ذكر عادي) حيث امتلكت حزمة فريدة واحدة فقط وبلغت النسبة المئوية لها 17 %، كما يلاحظ أن العينات (6-28-30) قد أعطت عدداً كبيراً من الحزم الفريدة بلغ 5 حزم وبنسبة مئوية بلغت 83 %.

وهذه النتائج تتوافق مع ما توصل إليه كل من الباحثين (Chen and Wu ., 2005; Muema *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2008) .

الجدول (6) الحزم الفريدة للعينات والبادئات المدروسة باستخدام تقنية الـ ISSR

رقم العينة	الجنس	عدد الحزم الفريدة	% للحزم الفريدة
1	♀	2	33
2	♀	4	17
3	♀	2	33
4	♀	3	50
5	♀	4	67
6	♀	5	83
7	♀	4	67
8	♀	4	67
9	♀	3	50
10	♀	3	50
11	♂	3	50
12	♂	2	33
13	♂	2	33
14	♂	6	100
15	♂	1	17
16	♂	2	33
17	♂	2	33
18	♂	4	17
19	♂	2	33
20	♂	0	0
21	♂ طويلة الفك	2	33
22	♂ طويلة الفك	4	67
23	♂ طويلة الفك	3	50
24	♂ طويلة الفك	3	50
25	♂ طويلة الفك	3	50
26	♂ طويلة الفك	3	50
27	♂ طويلة الفك	3	50
28	♂ طويلة الفك	5	83
29	♂ طويلة الفك	3	50
30	♂ طويلة الفك	5	83

الجدول (7) الحزم الفريدة الناتجة عن استخدام بادئات تقنية الـ ISSR

البادئة	عدد الحزم الفريدة	إناث + ذكور	إناث + ذكور كزمة	ذكور + ذكور كزمة
ISSR-1	5	2	4	4
ISSR-3	5	2	3	5
ISSR-5	8	7	5	4
ISSR-9	4	4	2	2
ISSR-15	10	10	7	3
ISSR-32	11	3	8	11
ISSR-33	15	10	11	9
ISSR-34	6	3	4	5
ISSR-35	5	3	4	3
ISSR-36	11	7	8	7
ISSR-37	11	7	11	4
المجموع	91	58	67	57
المعدل	8.3	5.3	6.1	5.2

الجدول (8) الحزم الفريدة الناتجة عن استخدام تقنية الـ ISSR لعينات الإناث والذكور العادية

البادئة	إناث + ذكور	% للحزم الفريدة
ISSR-1	2	20
ISSR-3	2	20
ISSR-5	7	70
ISSR-9	4	40
ISSR-15	10	100
ISSR-32	3	30
ISSR-33	10	100
ISSR-34	3	30
ISSR-35	3	30
ISSR-36	7	70
ISSR-37	7	70
المجموع	58	580
المعدل	5.27	52.7

الجدول (9) الحزم الفريدة الناتجة عن استخدام تقنية الـ ISSR لعينات الإناث والذكور الكزمة

البادئة	إناث + ذكور كزمة	% للحزم الفريدة
ISSR-1	4	36.4
ISSR-3	3	27.3
ISSR-5	5	45.5
ISSR-9	2	18.2
ISSR-15	7	63.6
ISSR-32	8	72.7
ISSR-33	11	100
ISSR-34	4	36.4
ISSR-35	4	36.4
ISSR-36	8	72.7
ISSR-37	11	100
المجموع	67	609
المعدل	6.1	55.4

الجدول (10) الحزم الفريدة الناتجة عن استخدام تقنية الـ ISSR لعينات الذكور العادية والكزمة

البادئة	ذكور + ذكور كزمة	% للحزم الفريدة
ISSR-1	4	36.4
ISSR-3	5	45.5
ISSR-5	4	36.4
ISSR-9	2	18.2
ISSR-15	3	27.3
ISSR-32	11	100
ISSR-33	9	81.8
ISSR-34	5	45.5
ISSR-35	3	27.3
ISSR-36	7	63.6
ISSR-37	4	36.4
المجموع	57	518.4
المعدل	5.2	47.1

أما بالنسبة لدرجة القرابة الوراثية فقد تم دراسة العلاقة الوراثية بين العينات المدروسة بتطبيق مصفوفة النسبة المئوية لعدم التوافق (PDV) باستخدام معامل عدم التشابه (Nei, 1978)، حيث أن ارتفاع قيم هذه المصفوفة يدل على وجود اختلاف وراثي، وانخفاض قيم هذه المصفوفة يدل على وجود تشابه وراثي، ويتم إنشاء هذه المصفوفة وفقاً لعدد وحدات التضاعف المشتركة.

ويلاحظ من الجدول (11) أن قيم النسبة المئوية لعدم التوافق (PDV) لمعلمات ISSR بين عينات الإناث والذكور العادية المدروسة تراوحت من 20 % بين العينتين (9،11) مما يدل على أن أعلى درجة قرابة وراثية كانت بين هاتين العينتين، إلى 77 % بين العينتين (1،4) مما يدل على أن أدنى درجة قرابة وراثية أو بما معناه أعلى تباين وراثي كان بين هاتين العينتين. وبلغ متوسط قيمة (PDV) = 0.49 .

20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	ID
																			****	1
																		****	0.3902	2
																	****	0.4855	0.5635	3
																****	0.3902	0.3242	0.7732	4
															****	0.4855	0.2826	0.3902	0.4132	5
														****	0.2826	0.7087	0.4132	0.4855	0.5635	6
													****	0.2624	0.3032	0.5108	0.4367	0.5635	0.7087	7
												****	0.4367	0.4132	0.2826	0.3902	0.0000	0.4855	0.5635	8
											****	0.5108	0.5909	0.3677	0.6190	0.4855	0.5108	0.5368	0.6190	9
										****	0.3457	0.3902	0.5108	0.3902	0.3902	0.3242	0.3902	0.2426	0.4855	10
									****	0.3902	0.2041	0.4608	0.5909	0.4608	0.5108	0.5368	0.4608	0.4367	0.4608	11
								****	0.3457	0.2826	0.3902	0.5368	0.4132	0.4367	0.3902	0.4132	0.5368	0.3242	0.4855	12
							****	0.5108	0.5909	0.4608	0.5909	0.3457	0.5635	0.5909	0.5909	0.4132	0.3457	0.5635	0.7087	13
						****	0.4608	0.4608	0.4367	0.4608	0.4367	0.4367	0.6190	0.3902	0.3902	0.6779	0.4367	0.5108	0.4367	14
					****	0.4367	0.4367	0.4367	0.2826	0.4367	0.3242	0.4608	0.5909	0.4132	0.6190	0.6480	0.4608	0.3902	0.3677	15
				****	0.3677	0.5368	0.5368	0.3902	0.3242	0.4367	0.3677	0.6190	0.7087	0.6190	0.6779	0.4855	0.6190	0.4855	0.4608	16
			****	0.2426	0.4608	0.5368	0.5909	0.4855	0.5108	0.4855	0.5635	0.6779	0.7087	0.5635	0.6190	0.4367	0.6779	0.4367	0.6190	17
		****	0.4132	0.3677	0.2426	0.6480	0.3902	0.3902	0.3242	0.3032	0.3242	0.4608	0.5368	0.4608	0.6190	0.3902	0.4608	0.3902	0.6190	18
	****	0.3902	0.3457	0.3902	0.3902	0.4132	0.6190	0.3677	0.4367	0.2826	0.5368	0.6480	0.7404	0.4855	0.4367	0.5108	0.6480	0.2826	0.3902	19
****	0.3032	0.2426	0.4132	0.3677	0.3242	0.4367	0.4855	0.4855	0.2826	0.3032	0.3677	0.4132	0.6480	0.4132	0.4608	0.4367	0.4132	0.3902	0.4608	20

الجدول (11) مصفوفة المتوسط العام لنسب عدم التوافق الناتجة عن دراسة متوسط التشابه الوراثي للصفات الجزيئية لعينات الإناث والذكور العادية المدروسة باستخدام تقنية الـ ISSR

1- التحليل العنقودي ورسم شجرة القرابة الوراثية لعينات الإناث والذكور العادية باستخدام تقنية الـ ISSR :

إن الكشف عن التماثل والاختلاف بين العينات المدروسة استدعى إجراء التحليل العنقودي للنتائج التي تم الحصول عليها وذلك لرسم شجرة القرابة الوراثية Dendrograma بين العينات المدروسة وذلك كما يتوافق مع الباحثين (Huelsenbeck and Ronquist., 2001 ;Igrashi *et al*,. 2000; Tuntivisoottikul and Jirajaroenar., 2008).

ويلاحظ من الشكل (11) أن شجرة القرابة الوراثية انفصلت إلى عنقودين، حيث انقسمت الشجرة الوراثية إلى عنقودين رئيسين:

انقسم كل منهما إلى تحت عناقيد متعددة يشمل العينات المدروسة. ضم العنقود الأول cluster -1 العينات (1-14- 2 – 10 -19— 12 – 4-9 – 11 -15-18-20-16-17). وضم العنقود الثاني cluster -2 (العينات 3 – 8 – 5 – 6 – 7 – 13).

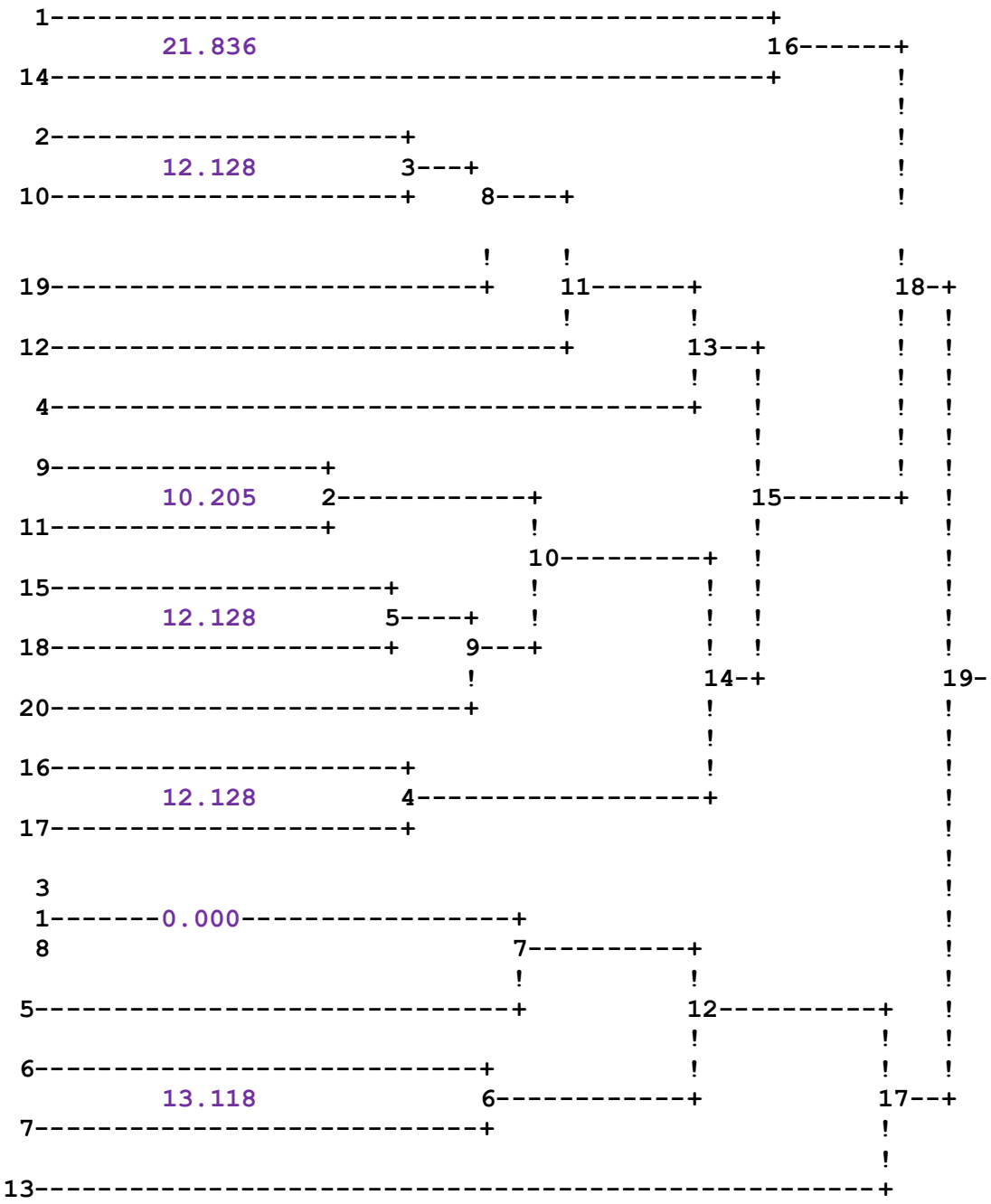
إن هذا التوزع للعينات يعكس علاقات القربى فيما بينها، فبينما يسجل في حالة العينتين (3 – 8) بعداً وراثياً مقداره (0 %)، وهذه الحالة تظهر في الأفراد التوائم الحقيقية.

ويأتي بعدها العينات (9-11) و(1-14) على التوالي وهما على درجة من الاختلاف بمقدار (10 %) و(21 %)، ويعزى ذلك إلى الاختلاف في بعض الصفات الجنسية. أما العينات (2-10) و(16-17) فهي إناث وتقدر نسبة الاختلاف بـ (12 %)، أما العينات (15-18) و(16-17) وهي ذكوراً عادية فقد كانت نسبة الاختلاف بينها (12 %)، وذلك يعود إلى بعض الصفات الجسمية. وسجل تشابهاً وصل إلى (87 %) كما هو الحال في العينات (15،18) و(16،17) (ذكور) وتندرج بقية العينات بين النسبتين المذكورتين.

إن هذا التشابه الكبير ضمن كل عنقود بين العينات يشير بوضوح إلى تأثير التربية الداخلية التي تخضع لها أفراد الماعز الشامي بهدف تحسين الصفات الإنتاجية.

أما الاختلاف بين الأفراد المدروسة الظاهر في توزع العينات ضمن عناقيد مختلفة فهو يدل على ضيق مساحة التباين الوراثي، وبالتالي التنوع الوراثي داخل أفراد الماعز الشامي في محطة قرحتا، سواء عند مقارنة عينات الإناث مع الذكور العادية، التي بلغت فيها نسبة التشابه (90 %)، أو بين مجموعات عينات الإناث أو مجموعات عينات الذكور بشل منفصل. وذلك يدل على مستوى عالي من التنوع والاختلاف الوراثي الموجود ضمن الأفراد.

وهذا يتوافق مع ما وجده كل من (Tuntivisoottikul and Jirajaroenar, 2008 ; Huelsenbeck and Ronquist, 2001; Igrashi *et al*. 2000) وذلك عند (Huelsenbeck *et al.*, 2001) (Wurster and Benirschke, 1968) استخدام الشجرة الوراثية لتحليل نتائج الواسمات الوراثية في عشائر الماعز المدروسة.



((العينات 1- 10 إناث، 11- 20 ذكور عادية))

شكل (11) التحليل العنقودي للعينات المدروسة (إناث + ذكور عادية) الناتجة عن استخدام تقنية ISSR

يلاحظ من الجدول (12) أن قيم النسبة المئوية لعدم التوافق (PDV) لمعلمات الـ ISSR بين عينات الإناث والذكور الكزمة المدروسة تراوحت من 19 % بين العينات (8،18) و(15،16) و(15،17)، مما يدل على أن أعلى درجة قرابة وراثية كانت بين هذه العينات، إلى 99 % بين العينتين (18،20). مما يدل على أن أدنى درجة قرابة وراثية أو بما معناه أعلى تباين وراثي كان بين هاتين العينتين. وبلغ متوسط قيمة (PDV) = 0.59 .

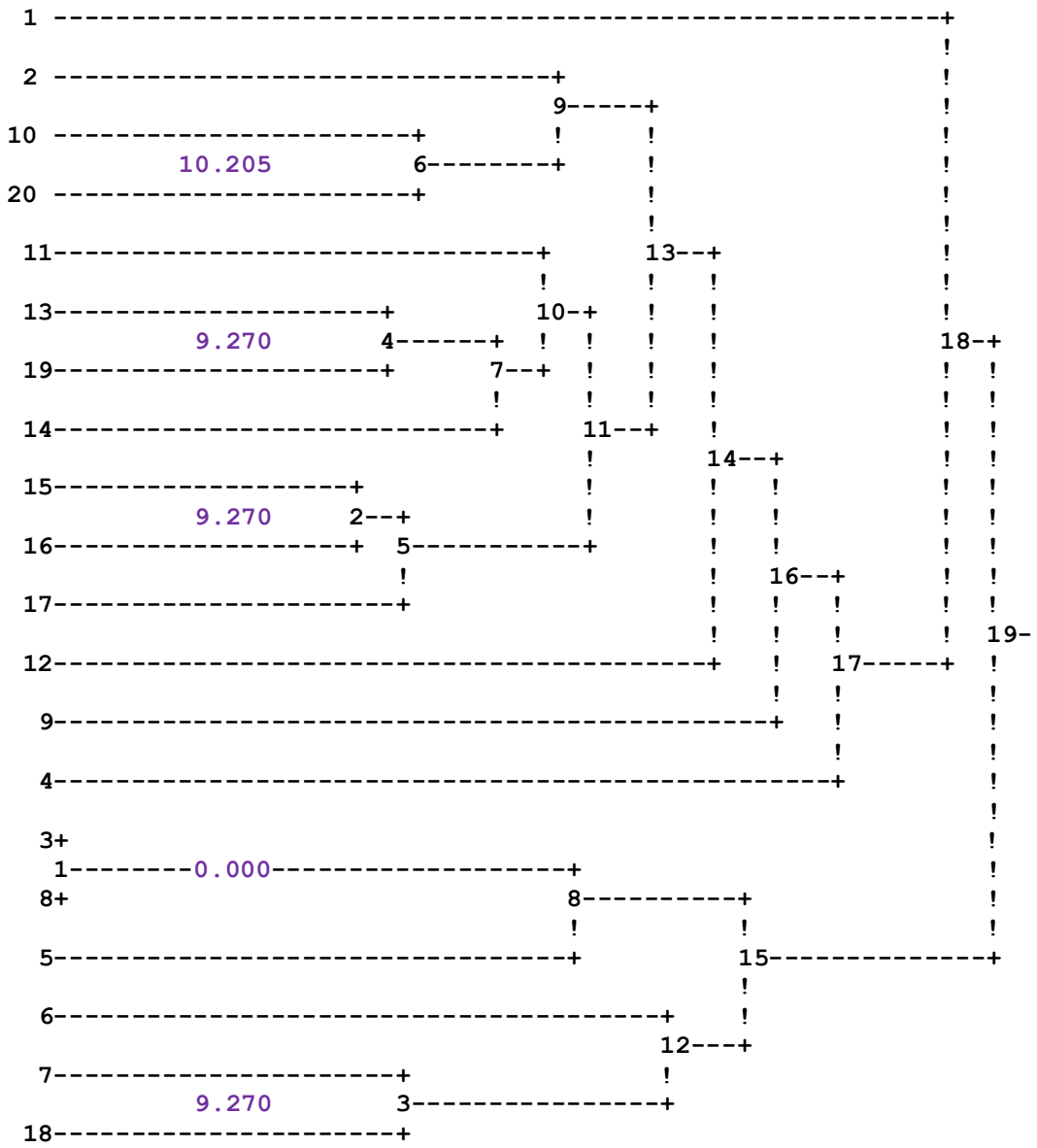
20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	ID
																			****	1
																		****	0.3902	2
																	****	0.4855	0.5635	3
																****	0.3902	0.3242	0.7732	4
															****	0.4855	0.2826	0.3902	0.4132	5
														****	0.2826	0.7087	0.4132	0.4855	0.5635	6
													****	0.2624	0.3032	0.5108	0.4367	0.5635	0.7087	7
												****	0.4367	0.4132	0.2826	0.3902	0.0000	0.4855	0.5635	8
											****	0.5108	0.5909	0.3677	0.6190	0.4855	0.5108	0.5368	0.6190	9
										****	0.3457	0.3902	0.5108	0.3902	0.3902	0.3242	0.3902	0.2426	0.4855	10
									****	0.3242	0.3032	0.4855	0.5635	0.3902	0.4855	0.4132	0.4855	0.3242	0.3457	11
								****	0.3457	0.3457	0.5108	0.6190	0.4855	0.4608	0.5635	0.4855	0.6190	0.4367	0.5108	12
							****	0.3677	0.2231	0.3902	0.2826	0.4132	0.7732	0.4132	0.6190	0.5909	0.4132	0.4367	0.4132	13
						****	0.2426	0.4132	0.3457	0.3457	0.3677	0.5108	0.5909	0.4608	0.6190	0.5368	0.5108	0.4367	0.5635	14
					****	0.3677	0.3242	0.3677	0.2624	0.3032	0.5108	0.5635	0.5368	0.4608	0.5635	0.4367	0.5635	0.4367	0.5635	15
				****	0.1854	0.2624	0.3032	0.3032	0.2826	0.2426	0.4367	0.4367	0.4132	0.3902	0.4367	0.3242	0.4367	0.3677	0.5909	16
			****	0.2041	0.1854	0.3032	0.3457	0.3902	0.3242	0.4132	0.5368	0.5909	0.6779	0.4855	0.4855	0.5108	0.5909	0.4608	0.5909	17
		****	0.8422	0.5368	0.7404	0.6779	0.6190	0.6190	0.5909	0.6480	0.4132	0.3677	0.1854	0.4132	0.4608	0.5368	0.3677	0.5909	0.6779	18
	****	0.5368	0.3242	0.2826	0.2624	0.2624	0.1854	0.4367	0.2826	0.2826	0.2624	0.3457	0.6779	0.4367	0.4855	0.5108	0.3457	0.3242	0.4367	19
****	0.2426	0.9963	0.3242	0.3242	0.3032	0.2624	0.3032	0.3457	0.3242	0.2041	0.4855	0.5909	0.8071	0.4855	0.4855	0.5108	0.5909	0.3242	0.4855	20

الجدول (12) مصفوفة المتوسط العام لنسب عدم التوافق الناتجة عن دراسة متوسط التشابه الوراثي للصفات الجزيئية لعينات الإناث والذكور الكزمة المدروسة باستخدام تقنية الـ ISSR

2-التحليل العنقودي ورسم شجرة القرابة الوراثية لعينات الإناث والذكور الكرمة باستخدام تقنية الـ ISSR:

انقسمت الشجرة الوراثية في هذا التحليل (الشكل 12) إلى عنقودين رئيسين، وبدوره انقسم كل منهما إلى تحت عناقيد متعددة يشمل العينات المدروسة حيث ضم العنقود الأول 1- cluster العينات (1 – 2 –10 – 20 – 11 – 13– 19 – 14 – 15 - 16– 17-12-9-4). وضم العنقود الثاني 2- cluster العينات (3 – 8 – 5 – 6 – 7 – 18).

كانت العينتين (3-8) هما الأقرب إلى بعضهما البعض وببعد وراثي (0 %) أي على درجة قرابة (100 %) ويمكن أن تكونا توائم حقيقية (إناث). وكانت العينات (13-19) و(15-16) و(7-18) على درجة من الاختلاف مقدارها (9 %). أما العينتين (10-20) فهما على درجة من الاختلاف بمقدار (10 %) ويعزى ذلك إلى بعض الصفات الجسمية. إن توزع العينات ضمن عناقيد وتحت عناقيد عديدة يشير إلى الاختلافات بين العينات المدروسة كما هو الحال في الحالة الأولى. إلا أن هذه الاختلافات ليست في المستوى الذي يسمح به بالتحدث عن وجود تباين وراثي مهم بين الأفراد المدروسة. وبالمقابل يسجل تشابهاً كبيراً بين العينات كما يلاحظ في العينات (13،19) و(16،15) و(17،18) لتصل حد التطابق كما هو في العينتين (3،8). وهذه الحالة تكرر نفسها مؤكدة توأمية الأفراد المدروسة. وتجدر الإشارة في هذا التحليل إلى عدم تأثر الاختلافات بين العينات بموضوع الفك الأكزم، إذ بقي التشابه والاختلاف ضمن الحدود العامة المسجلة لكل العينات. وهذا يمكن أن يعزى لكون صفة الأكزم هي صفة وراثية توجد في منطقة الـ DNA – الإكسون فقط. وبالنسبة للاختلافات الجزيئية بين الجنسين فهي ضمن الحدود المسجلة أيضاً، وهذا منطقي لأن الاختلاف الجنسي سيسجل كصفة وراثية لا تؤثر كثيراً في الـ DNA – الإنترون (Ahani *et al.*, 2007) (Rahman *et al.*, 2006) (Cribiu *et al.*, 2001).



((العينات 1- 10 إناث، 11- 20 ذكور كزمة))

شكل (12) التحليل العنقودي للعينات المدروسة (إناث + ذكور كزمة) الناتجة عن استخدام تقنية الـ ISSR

يلاحظ من الجدول (13) أن قيم النسبة المئوية لعدم التوافق (PDV) لمعلمات الـ ISSR بين عينات الذكور العادية والكزمة المدروسة تراوحت من 17 % بين العينات (5،13) و(18،19) ، مما يدل على أن أعلى درجة قرابة وراثية كانت بين هذه العينات، إلى 68 % بين العينتين (3،17). مما يدل على أن أدنى درجة قرابة وراثية أو بما معناه أعلى تباين وراثي كان بين هاتين العينتين. وبلغ متوسط قيمة (PDV) = 0.43 .

20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	ID
																			****	1
																		****	0.3457	2
																	****	0.5108	0.5909	3
																****	0.4608	0.4608	0.4367	4
															****	0.4367	0.4367	0.4367	0.2826	5
														****	0.3677	0.5368	0.5368	0.3902	0.3242	6
													****	0.2426	0.4608	0.5368	0.5909	0.4855	0.5108	7
												****	0.4132	0.3677	0.2426	0.6480	0.3902	0.3902	0.3242	8
											****	0.3902	0.3457	0.3902	0.3902	0.4132	0.6190	0.3677	0.4367	9
										****	0.3032	0.2426	0.4132	0.3677	0.3242	0.4367	0.4855	0.4855	0.2826	10
									****	0.3902	0.3242	0.4367	0.4855	0.3902	0.2624	0.3677	0.5635	0.2826	0.2624	11
								****	0.3457	0.4132	0.3032	0.3677	0.5635	0.5108	0.4132	0.4855	0.6480	0.3457	0.4608	12
							****	0.3677	0.2231	0.2426	0.3902	0.2826	0.4608	0.3677	0.1671	0.3457	0.5368	0.4855	0.2426	13
						****	0.2426	0.4132	0.3457	0.2426	0.3457	0.2826	0.4132	0.2826	0.2826	0.4855	0.4855	0.4855	0.3242	14
					****	0.3677	0.3242	0.3677	0.2624	0.4132	0.3032	0.4608	0.4132	0.4132	0.4132	0.5368	0.6480	0.4367	0.5108	15
				****	0.1854	0.2624	0.3032	0.3032	0.2826	0.3457	0.4132	0.3032	0.4855	0.4367	0.4367	0.4608	0.5635	0.2826	0.4367	16
			****	0.2041	0.1854	0.3032	0.3457	0.3902	0.3242	0.3457	0.2041	0.4855	0.4367	0.3902	0.4855	0.3677	0.6779	0.4132	0.4367	17
		****	0.3242	0.2826	0.2624	0.2624	0.1854	0.4367	0.2826	0.2624	0.2826	0.3032	0.4367	0.3032	0.1854	0.3242	0.4608	0.4132	0.3457	18
	****	0.1671	0.3242	0.3242	0.3457	0.3457	0.2624	0.3902	0.4132	0.3457	0.4132	0.3902	0.5909	0.3902	0.3902	0.3242	0.4608	0.5108	0.4367	19
****	0.2426	0.2426	0.3242	0.3242	0.3032	0.2624	0.3032	0.3457	0.3242	0.3032	0.2426	0.4855	0.4367	0.4367	0.4367	0.3242	0.6190	0.4608	0.4855	20

الجدول (13) مصفوفة المتوسط العام لنسب عدم التوافق الناتجة عن دراسة متوسط التشابه الوراثي للصفات الجزيئية لعينات الذكور العادية والكزمة المدروسة باستخدام تقنية الـ ISSR

3-التحليل العنقودي ورسم شجرة القرابة الوراثية لعينات الذكور العادية والذكور الكزمة باستخدام تقنية الـ ISSR :

يلاحظ عند دراسة شجرة القرابة الناتجة من التحليل الإحصائي (الشكل 13) لنتائج الرحلان لعينات الذكور العادية والذكور طويلة الفك (الكزمة) أن العينات قد انفصلت بين عنقودين رئيسين وانقسم كل منهما بدوره إلى تحت عنقود متعدد يشمل العينات المدروسة بتوزع محدد، حيث ضم العنقود الأول cluster-1 العينة (3) فقط والتي تمثل ذكراً عادياً ويمكن أن يعزى ذلك لامتلاكه مورثات صفات مميزة عن باقي العينات. وضم العنقود الثاني cluster -2 العينات (18– 17–16-15-14) وضم تحت العنقود الأول العينات (12-13) وضم تحت العنقود الثاني بقية العينات المدروسة. وانقسم العنقود الثاني بدوره إلى تحت عناقيد، فضم تحت العنقود الأول العينة 4، وضم تحت العنقود الثاني بقية العينات المدروسة، والذي بدوره انفصل إلى تحت عناقيد وهذا يعزى إلى أنها ذكور عادية وذكور كزمة. وكانت العينتين (5-13) هما الأقرب إلى بعضهما البعض.

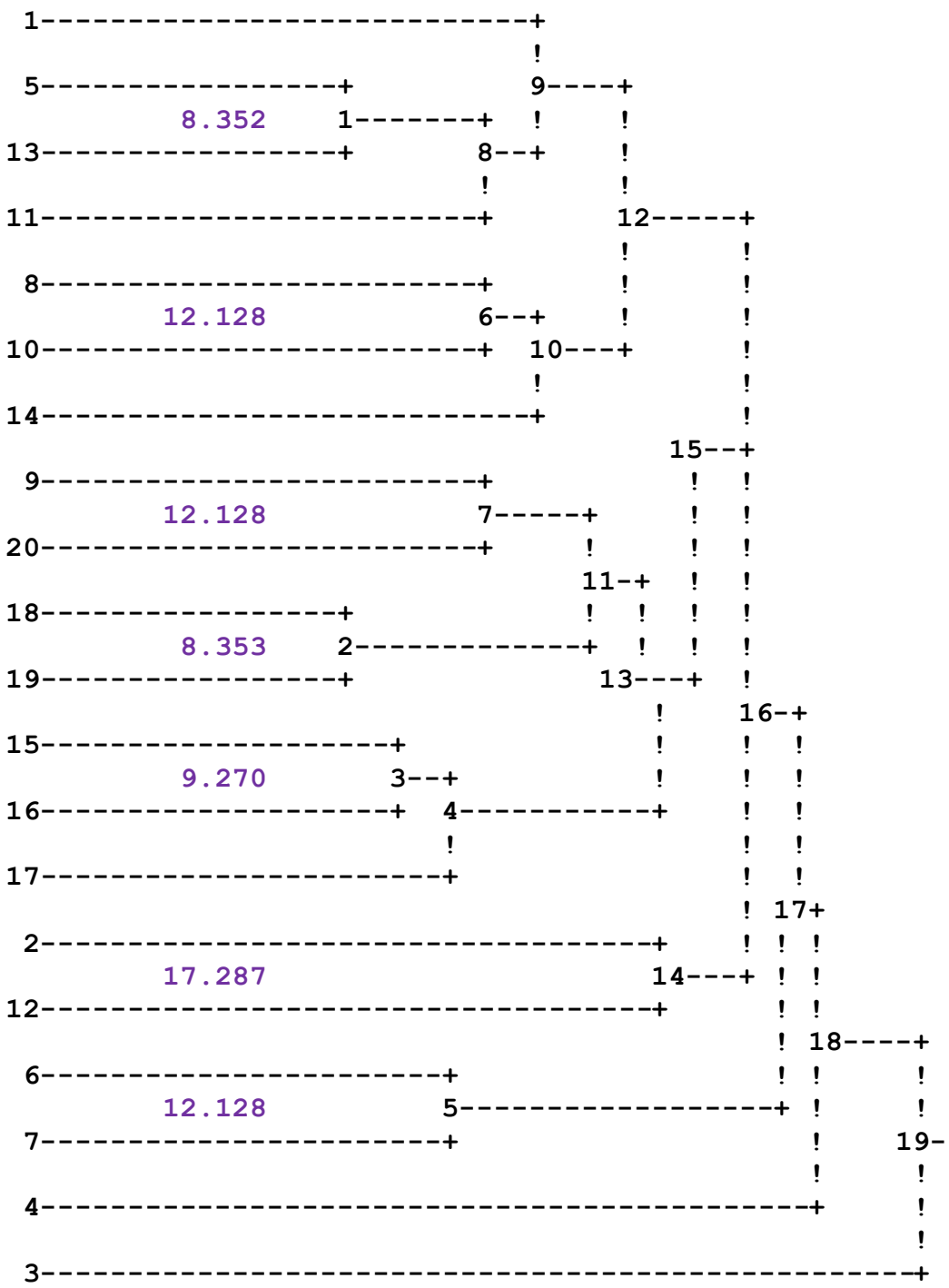
ومن دراسة شجرة القرابة يلاحظ وجود اختلاف قليل بين عينات الذكور العادية والكزمة وهي (15،16) و(18،19) إذ لم يتجاوز (9 %). ولكن في حالة الذكور العادية فقد سجل ازدياداً في الاختلاف تجاوز (12 %). كما هو الحال بين العينات (6،7) و(8،10) و(2،12) و(5،13) و(9،20).

إن انخفاض التباين في عينات الذكور الكزمة يمكن أن يعزى إلى أن هذه الحيوانات قد تم شراؤها من مصدر واحد ضمن خطة لتطوير هذه الصفة في محطة قرحتا.

ومن جهة أخرى، تقدر الاختلافات بين الذكور العادية والتي تنحدر من خطوط تربوية مختلفة بشكل إيجابي من وجهة نظر التحسين الوراثي، لأنها تشير إلى تنوع وراثي يمكن استثماره في تطوير الماعز الشامي وتجنب التدهور الناتج عن تربية الأقارب. فالجنس الذكري كما هو معروف هو الأهم لإجراء التغيرات الوراثية في العشائر الحيوانية (Rahman *et al.*, 2006) (Ahani *et al.*, 2007).

ويلاحظ أن النتائج التي حصلنا عليها تتشابه مع الدراسات التي قام بها بعض الباحثين في نفس المجال ولكن بتقنيات أخرى، فقد استخدمت تقنية الـ ISSR عند الماعز حيث تمكن الفريق البحثي (Wang *et al.*, 2009) من استخدام (10) بادئات من ISSR لتحديد الاختلاف الوراثي الجزيئي في صفة ارتفاع التصالب الحوضي بين أفراد الماعز التيبيتي التي تعيش في مناطق مختلفة الارتفاع.

كما استخدم (Wang *et al.*, 2010) هذه التقانة لتحليل التنوع الوراثي عند مجتمعات الماعز التيبيتي في منطقة (ريتو كونتي) حيث اختيرت (10 بادئات) من بين (93 بادئة ISSR) ثم استخدمت للكشف عن التنوع الوراثي في (107) عينات من الماعز التيبيتي, حيث أعطت هذه الـ (10 بادئات) (112 حزمة DNA) من ضمنها (75 حزمة) متعددة شكلياً وتراوح حجم القطع المضخمة بين (219– 2534 bp), مما يؤكد نوعية هذه البادئات التي استطاعت إنتاج حزم متعددة شكلياً فقط، كما أكدت النتائج أيضاً أن مجتمع الماعز المدروس يبدي مستوى عالي للتنوع والاختلاف الوراثي الموجود ضمن الأفراد.



((العينات 1- 10 ذكور عادية، 11- 20 ذكور كزمة))

شكل (13) التحليل العنقودي للعينات المدروسة (ذكور+ ذكور كزمة) الناتجة عن استخدام تقنية الـ ISSR

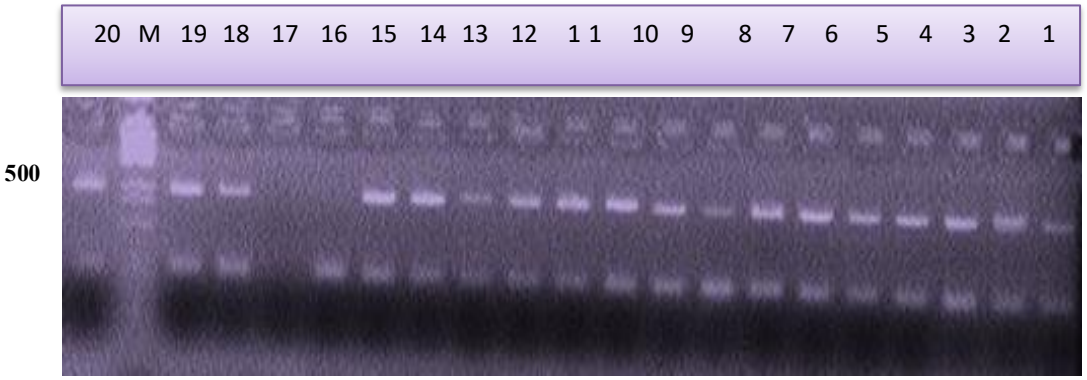
ثانياً: تحليل العينات المدروسة باستخدام تقنية الـ SSR:

تباينت نتائج استخدام تقنية الـ SSR بحسب البادئات المستخدمة. حيث أعطى 15 زوجاً من البادئات المستخدمة من أصل 27 زوجاً مستخدمة نتائج تضخيم في حين لم تعط البادئات الأخرى (12 زوجاً) أي نتائج تضخيم.

ويلاحظ أن البادئات (31-32) و(37-38) و(51-52) أعطت حزمة واحدة كما هو موضح في الشكل (14). وأعطت البادئات (7-8) و(23-24) و(25-26) و(35-36) و(41-42) حزمتين. وأعطت البادئات (9-10) و(49-50) ثلاثة حزم.

وأما البادئات (1-2) و (33-34) و(39-40) فقد أعطت أربعة حزم. وأخيراً أعطت البادئات (11-12) و (29-30) خمسة حزم.

وبلغ عدد الحزم الكلية الناتجة عن هذه البادئات (41) حزمة (أليلاً) (قريناً) أي بمعدل (2.73) حزمة لكل بادئة وكان عدد الحزم ذات التعددية الشكلية (41) حزمة أي بمعدل (2.73) حزمة للبادئة الواحدة، وقدرت النسبة المئوية للتعددية الشكلية بـ (100 %) كما هو موضح في الجدول (6) (Rahman *et al.*, 2006; Ahani *et al.*, 2007).



((العينات 1- 10 إناث، 11- 20 ذكور عادية، M معلم أو مؤشر جزيئي))

شكل (14) يشير إلى نتائج الـ PCR عبر الرحلان الكهربائي على هلامة الميتافور آغاروز 4 % باستخدام زوج بادئات الـ SSR (9-10)

الجدول (14) الحزم الناتجة عن بادئات الـ SSR المستخدمة والنسبة المئوية للتعددية الشكلية

اسم البادئة	عدد الحزم الكلي	عدد الحزم المتعدد شكلياً	% الحزم المتعددة شكلياً	حجم الحزم الناتجة bp
2-1	4	4	100	بين 150 و 750
8-7	2	2	100	بين 150 و 350
10-9	3	3	100	بين 150 و 500
12-11	5	5	100	بين 150 و 750
24-23	2	2	100	بين 150 و 500
26-25	2	2	100	بين 150 و 500
30-29	5	5	100	بين 150 و 300
32-31	1	1	100	بين 100 و 300
34-33	4	4	100	بين 150 و 750
36-35	2	2	100	بين 150 و 350
38-37	1	1	100	بين 150 و 350
40-39	4	4	100	بين 150 و 500
42-41	2	2	100	بين 150 و 500
50-49	3	3	100	بين 100 و 250
52-51	1	1	100	بين 150 و 750
المجموع	41	41	1500	---
المعدل	2.73	2.73	100	---

يلاحظ من الجدول (12) أن جميع العينات قد أعطت حزماً فريدة باستثناء العينة 7 وهي عينة أنثى، فقد أعطت عينات الإناث 18 حزمة فريدة، وعينات الذكور العادية 19 حزمة فريدة، أما عينات الذكور طويلة الفك (الكزمة) فقد أعطت 26 حزمة فريدة.

فالعينتين (4 و21) (أنثى وذكر أكزم) امتلكت أكبر عدد من الحزم الفريدة (4 حزم) وكان عدد الحزم الفريدة أقل ما يمكن في العينات (2-5-8-10-11-14-16-26-27) حيث امتلكت حزمة فريدة واحدة فقط وبلغت النسبة المئوية لها 25 %، كما يلاحظ أن العينات (6-9-18-19-22-23-25-28-29-30) قد أعطت عدداً كبيراً من الحزم الفريدة بلغ 3 حزم وبنسبة مئوية بلغت 75 %. وهذا يتوافق مع نتائج الأبحاث في مجال استخدام تقنية الـ SSR التي قام بها كل من الباحثين: (Griffiths and Suzuki,1996 Luikart *et al.*, 1999; Kemp *et al.*, 1995; Iamartino *et al.*, 2005).

الجدول (15) الحزم الفريدة للعينات والبادئات المدروسة بتقنية الـ SSR

رقم العينة	الجنس	عدد الحزم الفريدة	% للحزم الفريدة
1	♀	2	50
2	♀	1	25
3	♀	2	50
4	♀	4	100
5	♀	1	25
6	♀	3	75
7	♀	0	0
8	♀	1	25
9	♀	3	75
10	♀	1	25
11	♂ عادية	1	25
12	♂ عادية	2	50
13	♂ عادية	2	50
14	♂ عادية	1	25
15	♂ عادية	2	50
16	♂ عادية	1	25
17	♂ عادية	2	50
18	♂ عادية	3	75
19	♂ عادية	3	75
20	♂ عادية	2	50
21	♂ طويلة الفك	4	100
22	♂ طويلة الفك	3	75
23	♂ طويلة الفك	3	75
24	♂ طويلة الفك	2	50
25	♂ طويلة الفك	3	75
26	♂ طويلة الفك	1	25
27	♂ طويلة الفك	1	25
28	♂ طويلة الفك	3	75
29	♂ طويلة الفك	3	75
30	♂ طويلة الفك	3	75

يلاحظ من الجدول (16) أن قيم النسبة المئوية لعدم التوافق (PDV) لمعلمات الـ SSR بين عينات الإناث والذكور العادية المدروسة تراوحت من 4 % بين العينات (4،6) ، مما يدل على أن أعلى درجة قرابة وراثية كانت بين هذه العينات، إلى 26 % بين العينات (9،16) و(9،19). مما يدل على أن أدنى درجة قرابة وراثية أو بما معناه أعلى تباين وراثي كان بين هاتين العينتين. وبلغ متوسط قيمة (PDV) = 15 % .

20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	ID
																			****	1
																		****	0.0571	2
																	****	0.1213	0.1387	3
																****	0.0892	0.0787	0.1387	4
															****	0.0783	0.1346	0.1743	0.1976	5
														****	0.1242	0.0379	0.0642	0.0677	0.1292	6
													****	0.0392	0.0810	0.0510	0.0776	0.0819	0.1450	7
												****	0.1390	0.1242	0.1112	0.0783	0.1492	0.1127	0.1808	8
											****	0.1242	0.0940	0.0800	0.1242	0.0913	0.0776	0.1109	0.1292	9
										****	0.1736	0.0842	0.1423	0.1270	0.1766	0.0790	0.1828	0.0563	0.1210	10
									****	0.2058	0.0940	0.2006	0.0526	0.0662	0.1096	0.1050	0.0913	0.1407	0.1610	11
								****	0.0927	0.1705	0.1353	0.1667	0.1353	0.0927	0.2132	0.1317	0.1459	0.1089	0.1111	12
							****	0.0757	0.1453	0.1641	0.1597	0.1613	0.1743	0.1311	0.1613	0.1283	0.1703	0.1479	0.1355	13
						****	0.0621	0.0636	0.1476	0.0932	0.1622	0.0921	0.1190	0.0776	0.1492	0.0629	0.1440	0.0927	0.1542	14
					****	0.0636	0.0889	0.0780	0.1067	0.1705	0.1797	0.1667	0.0789	0.0927	0.1667	0.1317	0.1459	0.1089	0.1736	15
				****	0.0916	0.1603	0.1579	0.1335	0.0789	0.2022	0.1647	0.2620	0.1067	0.1209	0.1667	0.1603	0.1459	0.1384	0.1899	16
			****	0.0645	0.1335	0.1177	0.1160	0.0916	0.1067	0.1705	0.1353	0.2292	0.1353	0.0927	0.1667	0.1317	0.1317	0.1089	0.1264	17
		****	0.1335	0.0916	0.0916	0.1039	0.1437	0.1773	0.1647	0.1397	0.2262	0.2132	0.1353	0.1499	0.1667	0.1317	0.2047	0.1534	0.2232	18
	****	0.0645	0.1335	0.0916	0.1335	0.1459	0.1437	0.1335	0.1353	0.2022	0.2262	0.2620	0.1797	0.1950	0.1975	0.1749	0.2355	0.1999	0.2064	19
****	0.1089	0.1842	0.1089	0.1534	0.1842	0.1213	0.0908	0.0946	0.1873	0.1632	0.2195	0.2231	0.2360	0.1873	0.2399	0.1810	0.2445	0.1452	0.1187	20

الجدول (16) مصفوفة المتوسط العام لنسب عدم التوافق الناتجة عن دراسة متوسط التشابه الوراثي للصفات الجزيئية لعينات الإناث والذكور العادية المدروسة باستخدام تقنية الـ SSR

1-التحليل العنقودي ورسم شجرة القرابة لعينات الإناث والذكور العادية المدروسة باستخدام تقنية الـ SSR:

أجري التحليل العنقودي للنتائج التي تم الحصول عليها باستخدام برنامج التحليل الإحصائي (PopGen 32)، وذلك لإنشاء شجرة القرابة الوراثية بين العينات Dendrograma بهدف تحديد درجة القرابة الوراثية، وقد لوحظ من الشكل أن العينات المدروسة قسمت إلى مجموعات تعكس درجة القرابة الوراثية فيما بينها بناءاً على موطنها الأصلي أو على نسبها وأصلها. وبيانات المعلمات الجزيئية التي قامت بتمييز العينات المدروسة على المستوى الجزيئي الشكل (15).

عند دراسة شجرة القرابة الناتجة من التحليل الإحصائي لنتائج الرحلان لعينات الإناث والذكور العادية يلاحظ أن هذه الشجرة تضم عنقودين رئيسين: ضم العنقود الأول العينات (1-2-10-8-3-9-4-6-7-11-5). أما العنقود الثاني فضم عينات الذكور (12-13-14-15-20-16-17-18-19).

ومن خلال شجرة القرابة يمكننا ملاحظة أن العينتين (4-6) تمتلكان درجة قرابة تصل إلى 98 % وبعد وراثي بحدود 2 %.

وهذا التوزيع للعينات يشير إلى نجاح هذه التقانة في وضع الخطوط الأولية للتشابه أو الاختلاف. سواء بين عينات الجنسين، وكذلك بين عينات الجنس الواحد. وذلك يتوافق مع النتائج التي توصل إليها كل من الباحثين: (Bhebhe *et al.*, 1994

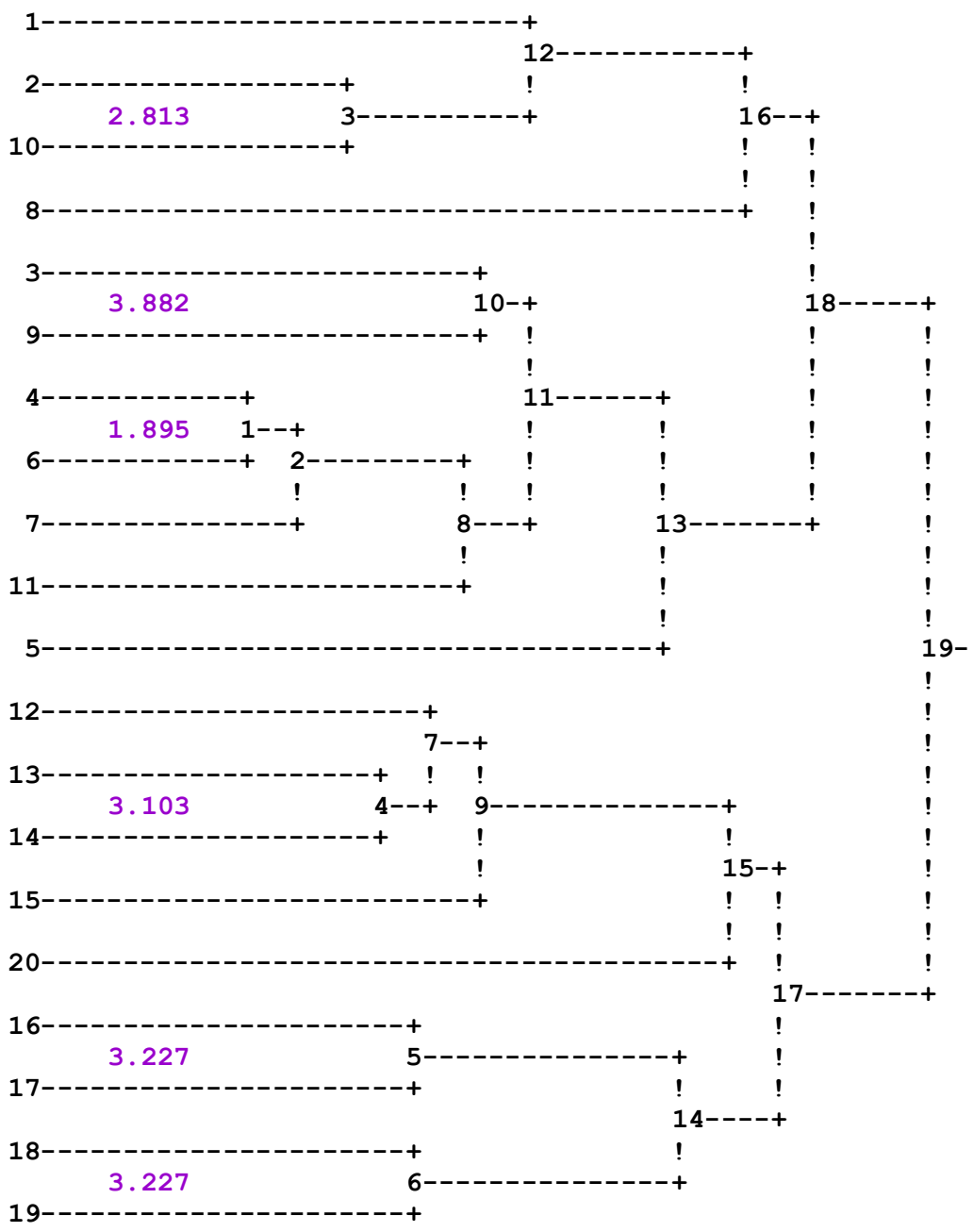
Buchanan *et al.*, 1993; Buchanan *et al.*, 1991; Kogi *et al.*, 1995;

Kaukinen and Varvio, 1993; Paetkau *et al.*, 1994; Penty *et al.*, 1993;

.(Saitbekova *et al.*, 1999; Vaiman *et al.*, 1996; Yeb *et al.*, 1997;

والنتيجة الموضوعية لهذا التحليل هو أن التشابه بين أفراد الماعز الشامي هو الوصف المناسب لهذا العرق رغم تسجيل اختلافات بين أفراده.

وبالتالي يمكن اختصار عدد الحيوانات المستخدمة في عمليات التحسين الوراثي مما يساعد في الاستفادة منها في برامج التربية والتحسين والتهجين الوراثي.



((العينات 1- 10 إناث، 11- 20 ذكور عادية))

شكل (15) التحليل العنقودي للعينات المدروسة (إناث + ذكور عادية) الناتجة عن استخدام تقنية الـ SSR

يلاحظ من الجدول (17) أن قيم النسبة المئوية لعدم التوافق (PDV) لمعلمات الـ SSR بين عينات الإناث والذكور الكزمة المدروسة تراوحت من 4 % بين العينتين (17،20) ، مما يدل على أن أعلى درجة قرابة وراثية كانت بين هذه العينات، إلى 30 % بين العينتين (2،14). مما يدل على أن أدنى درجة قرابة وراثية أو بما معناه أعلى تباين وراثي كان بين هاتين العينتين. وبلغ متوسط قيمة (PDV) = 17 %.

20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	ID
																			****	1
																		****	0.0571	2
																	****	0.1213	0.1387	3
																****	0.0892	0.0787	0.1387	4
															****	0.0783	0.1346	0.1743	0.1976	5
														****	0.1242	0.0379	0.0642	0.0677	0.1292	6
													****	0.0392	0.0810	0.0510	0.0776	0.0819	0.1450	7
												****	0.1390	0.1242	0.1112	0.0783	0.1492	0.1127	0.1808	8
											****	0.1242	0.0940	0.0800	0.1242	0.0913	0.0776	0.1109	0.1292	9
										****	0.1736	0.0842	0.1423	0.1270	0.1766	0.0790	0.1828	0.0563	0.1210	10
									****	0.2058	0.0940	0.2006	0.0526	0.0662	0.1096	0.1050	0.0913	0.1407	0.1610	11
								****	0.0000	0.2058	0.0940	0.2006	0.0526	0.0662	0.1096	0.1050	0.0913	0.1407	0.1610	12
							****	0.1499	0.1499	0.1550	0.1353	0.0937	0.1209	0.0789	0.0937	0.0636	0.1459	0.1534	0.2232	13
						****	0.1223	0.1096	0.1096	0.2094	0.1848	0.2036	0.1693	0.1848	0.1112	0.1640	0.2098	0.2743	0.2678	14
					****	0.1640	0.0903	0.1476	0.1476	0.1222	0.1770	0.1791	0.1476	0.1050	0.1791	0.0892	0.1726	0.1213	0.1860	15
				****	0.1013	0.1181	0.0889	0.1453	0.1453	0.1052	0.2041	0.1041	0.1453	0.1171	0.1761	0.1013	0.1561	0.1333	0.1980	16
			****	0.1024	0.1177	0.0797	0.0780	0.0789	0.0789	0.1862	0.1499	0.1820	0.0927	0.1067	0.1079	0.0903	0.1459	0.1842	0.1899	17
		****	0.0875	0.0859	0.0867	0.1159	0.0744	0.0617	0.0617	0.1759	0.1015	0.1730	0.0880	0.0488	0.1440	0.0867	0.0867	0.1165	0.1625	18
	****	0.0859	0.1160	0.0488	0.0493	0.1613	0.0889	0.1597	0.1597	0.1052	0.2041	0.1323	0.1597	0.1171	0.1911	0.1013	0.1847	0.1048	0.1663	19
****	0.0741	0.0606	0.0370	0.0614	0.0750	0.0767	0.0626	0.0763	0.0763	0.1641	0.1743	0.1613	0.0763	0.0897	0.1041	0.0750	0.1421	0.1627	0.2308	20

الجدول (17) مصفوفة المتوسط العام لنسب عدم التوافق الناتجة عن دراسة متوسط التشابه الوراثي للصفات الجزيئية لعينات الإناث والذكور الكزمة المدروسة باستخدام تقنية الـ SSR

2-التحليل العنقودي ورسم شجرة القرابة لعينات الإناث والذكور الكزمة المدروسة باستخدام تقنية الـ SSR:

إن نتائج التحليل في هذه الحالة تشابه نتائج الحالة الأولى، حيث لم تؤثر صفة الفك الأكزم في إيجاد اختلافات مهمة بين أفراد العينات وبقيت النتائج ضمن السياق العام كما هو مبين في الشكل (16). حيث نجد عند دراسة شجرة القرابة الناتجة من التحليل الإحصائي لنتائج الرحلان لعينات الإناث والذكور الكزمة أن هذه الشجرة تضم عنقودين رئيسين: ضم العنقود الأول العينات (1-2-10). أما العنقود الثاني فضم باقي العينات.

ومن خلال شجرة القرابة يمكننا ملاحظة أن العينتين (11-12) وهما ذكور كزمة، تمتلكان درجة قرابة تصل إلى 100 % وبعد وراثي 0 %.

وهذا التوزيع للعينات يشير إلى نجاح هذه التقانة في وضع الخطوط الأولية للتشابه أو الاختلاف. سواء بين عينات الجنسين، وكذلك بين عينات الجنس الواحد. علماً أنه يمكن أن يعزى سبب التشابه بين عينات الإناث والذكور الكزمة إلى وجود بعض الصفات الجسمية المتماثلة.

وذلك يتوافق مع النتائج التي توصل إليها كل من الباحثين: (Bhebhe *et al.*, 1994

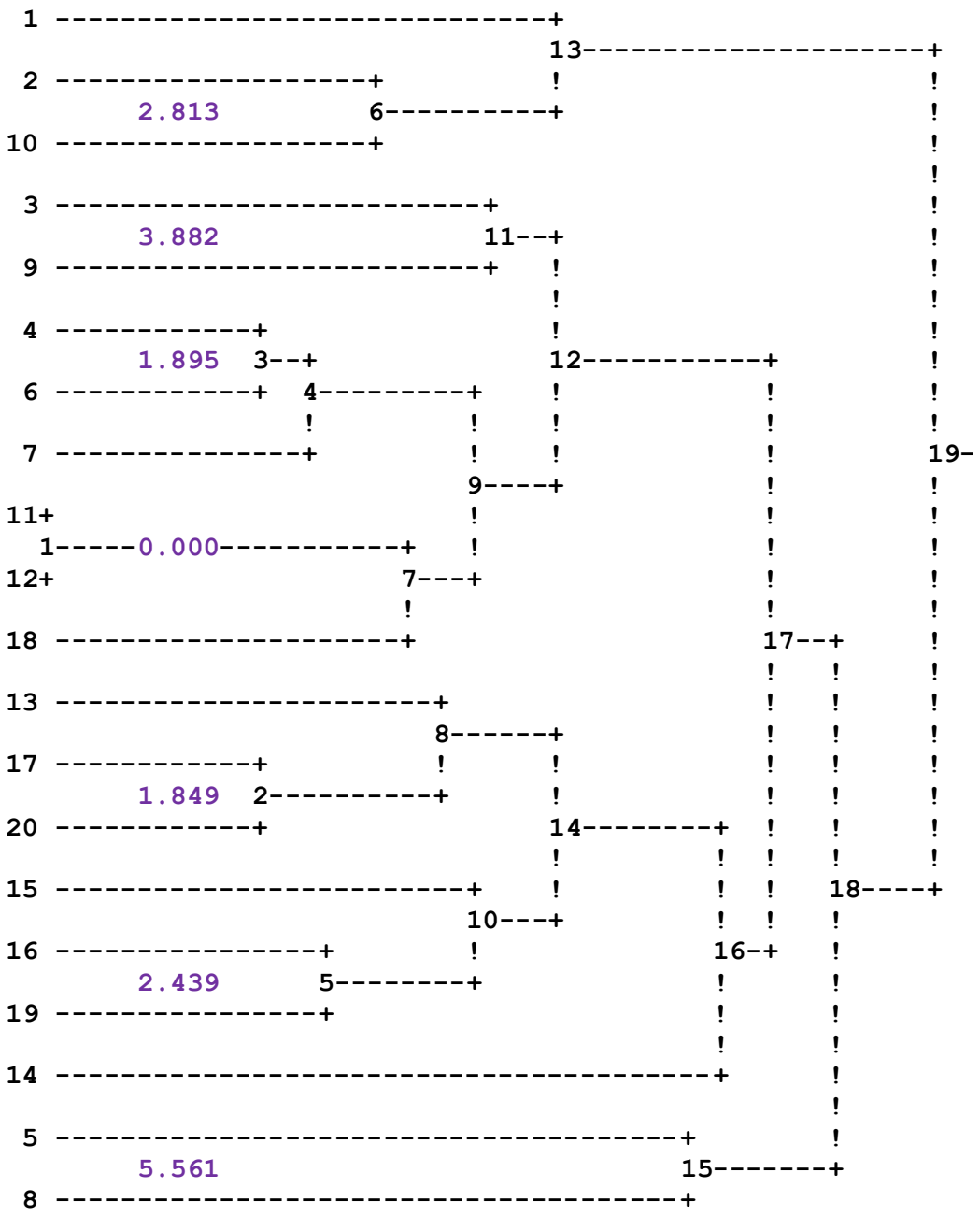
Buchanan *et al.*, 1993; Buchanan *et al.*, 1991; Kogi *et al.*, 1995;

Kaukinen and Varvio, 1993; Paetkau *et al.*, 1994; Penty *et al.*, 1993;

.(Saitbekova *et al.*, 1999; Vaiman *et al.*, 1996; Yeb *et al.*, 1997;

والنتيجة الموضوعية لهذا التحليل هو أن التشابه بين أفراد الماعز الشامي هو الوصف المناسب لهذا العرق رغم تسجيل اختلافات بين أفراده.

وبالتالي يمكن اختصار عدد الحيوانات المستخدمة في عمليات التحسين الوراثي مما يساعد في الاستفادة منها في برامج التربية والتحسين والتهجين الوراثي.



((العينات 1- 10 إناث، 11- 20 ذكور كزمة))

شكل (16) التحليل العنقودي للعينات المدروسة (إناث + ذكور كزمة) الناتجة عن استخدام تقنية الـ SSR

يلاحظ من الجدول (18) أن قيم النسبة المئوية لعدم التوافق (PDV) لمعلمات الـ SSR بين عينات الذكور العادية والكزمة المدروسة تراوحت من 4 % بين العينتين (9،16)، مما يدل على أن أعلى درجة قرابة وراثية كانت بين هذه العينات، إلى 20 % بين العينتين (3،20). مما يدل على أن أدنى درجة قرابة وراثية أو بما معناه أعلى تباين وراثي كان بين هاتين العينتين. وبلغ متوسط قيمة (PDV) = 12 %.

20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	ID
																			****	1
																		****	0.0000	2
																	****	0.1499	0.1499	3
																****	0.1223	0.1096	0.1096	4
															****	0.1640	0.0903	0.1476	0.1476	5
														****	0.1013	0.1181	0.0889	0.1453	0.1453	6
													****	0.1024	0.1177	0.0797	0.0780	0.0789	0.0789	7
												****	0.0875	0.0859	0.0867	0.1159	0.0744	0.0617	0.0617	8
											****	0.0859	0.1160	0.0488	0.0493	0.1613	0.0889	0.1597	0.1597	9
										****	0.0741	0.0606	0.0370	0.0614	0.0750	0.0767	0.0626	0.0763	0.0763	10
									****	0.1024	0.0757	0.0487	0.0916	0.0757	0.1317	0.1517	0.1193	0.0927	0.0927	11
								****	0.0757	0.1268	0.0741	0.0988	0.1024	0.1001	0.1283	0.1323	0.1160	0.1453	0.1453	12
							****	0.0621	0.0636	0.0621	0.0367	0.0738	0.0769	0.0367	0.0892	0.1492	0.0506	0.1476	0.1476	13
						****	0.0636	0.0889	0.0780	0.0757	0.0757	0.0875	0.0916	0.0889	0.1317	0.1667	0.1193	0.1067	0.1067	14
					****	0.0916	0.1603	0.1579	0.1335	0.0889	0.1160	0.0744	0.1193	0.1579	0.0636	0.1517	0.1625	0.0789	0.0789	15
				****	0.0645	0.1335	0.1177	0.1160	0.0916	0.1024	0.1024	0.0362	0.1335	0.1298	0.0769	0.1369	0.1193	0.1067	0.1067	16
			****	0.1335	0.0916	0.0916	0.1039	0.1437	0.1773	0.0757	0.0889	0.1415	0.0916	0.1298	0.0769	0.1517	0.1193	0.1647	0.1647	17
		****	0.0645	0.1335	0.0916	0.1335	0.1459	0.1437	0.1335	0.0889	0.1024	0.1415	0.0780	0.1437	0.0903	0.1369	0.1625	0.1353	0.1353	18
	****	0.1089	0.1842	0.1089	0.1534	0.1842	0.1213	0.0908	0.0946	0.1627	0.1048	0.1451	0.1534	0.1333	0.1069	0.1903	0.1842	0.1873	0.1873	19
****	0.0857	0.0527	0.1247	0.1550	0.1397	0.1397	0.1520	0.1196	0.1397	0.1342	0.1052	0.1911	0.1247	0.1490	0.1370	0.1606	0.2022	0.1896	0.1896	20

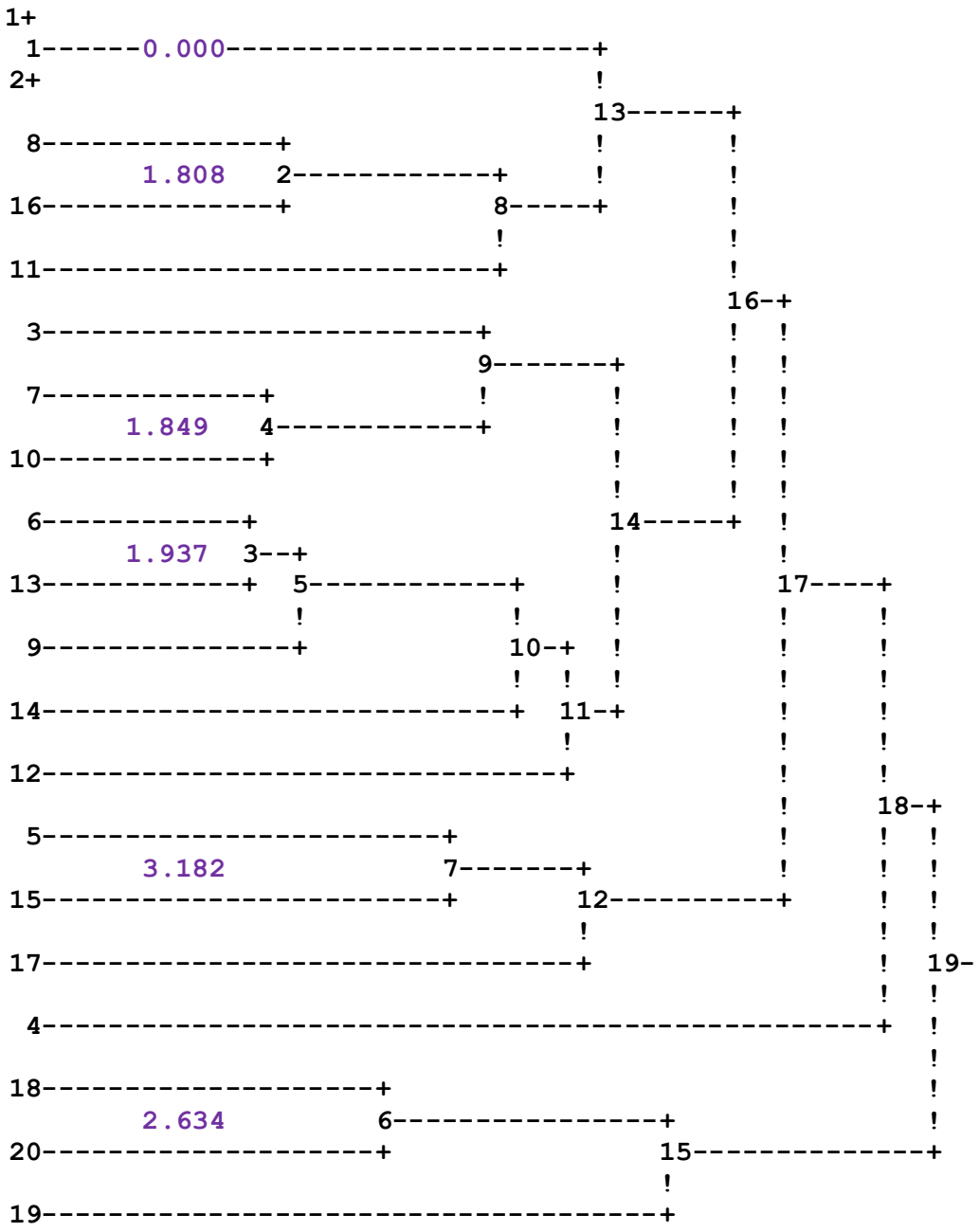
الجدول (18) مصفوفة المتوسط العام لنسب عدم التوافق الناتجة عن دراسة متوسط التشابه الوراثي للصفات الجزيئية لعينات الذكور العادية والكزمة المدروسة باستخدام تقنية الـ SSR

3-التحليل العنقودي ورسم شجرة القرابة لعينات الذكور العادية والكزمة المدروسة باستخدام تقنية الـ SSR:

عند دراسة شجرة القرابة الناتجة من التحليل الاحصائي (الشكل 17) لنتائج الرحلان لعينات الذكور العادية والذكور طويلة الفك (الكزمة)، يلاحظ أن هذه الشجرة تضم عنقودين رئيسين: ضم العنقود الأول العينات (18- 20) وهما الأقرب إلى بعضهما البعض في هذه المجموعة والعينة 19 وهذه النتيجة منطقية لأن جميع العينات هي ذكور طويلة الفك. أما العنقود الثاني فضم باقي العينات المدروسة وبدوره انقسم العنقود الثاني إلى تحت عناقيد ضمت العينات (1-2) والقرب الوراثي بينهما (100 %) أي أنهما توائم حقيقية.

ولوحظ أن العينة (4) انفردت عن بقية العينات التي وجدت في تحت عنقود آخر. كما ضم أيضاً العينات (8-16) و(6-13) والتي تبلغ درجة القرابة بينهما حوالي (98.2 %) وببعد وراثي قدره (1.8 %).

وأما العينات (7-10) والتي تبلغ درجة القرابة بينهما بحدود (98 %) فهما ذكران عاديان. وبشكل عام لوحظ أن هناك توافق في توزع عينات الذكور وعينات الذكور طويلة الفك بنسب تشابه تصل إلى (98 %)، واختلاف بنسبة (2 %)، مما يساعد في الاستفادة منها في برامج التربية والتحسين الوراثي.



((العينات 1- 10 ذكور كزمة، 11- 20 ذكور عادية))

شكل (17) التحليل العنقودي للعينات المدروسة (ذكور + ذكور كزمة) الناتجة عن استخدام تقنية الـ SSR

مواقع مورثات الماعز الشامي على صبغياته:

تم استخدام (27) زوجاً من البادئات الخاصة بتقنية الـ SSR والموضحة في الجدول (2). ولقد استطعنا تحديد 15 موقعاً لمورثات الماعز الشامي، حيث وجد على الصبغي الثاني موقعين، والصبغي الثالث موقع واحد، والصبغي الخامس موقعاً، والصبغي السادس ثلاثة مواقع، وعلى الصبغيات (11- 17- 18- 20- 23- 25- 26- 28) موقعاً واحداً أيضاً. أما باقي الصبغيات فلم يتم تحديد أي موقع عليها، كما هو موضح في الجدول (19).

الجدول (19) يوضح بعض مواقع مورثات الماعز الشامي على صبغياته

اسم المورثة	رقم الصبغي
INRA 040	2
BM 2113	2
ILSTS 029	3
ETH 10	5
BM 203	6
BM 143	6
BM 6425	6
Oar FCB 0193	11
Oar FCB 48	17
INRABERN 185	18
TGLA 126	20
BM 1818	23
INRABERN 175	25
BM 4505	26
BM 302	28

الفصل الخامس

الإستنتاجات والتوصيات

CONCLUSIONS & RECOMMENDATIONS

الإستنتاجات: CONCLUSIONS:

- يشير ارتفاع مستوى التعددية الشكلية مع البادئات المستخدمة في هذه الدراسة، والتي بلغت (100 %)، إلى فاعلية البادئات المستخدمة وإمكانية اعتمادها في دراسة التنوع الوراثي للماعز الشامي. سواء باستخدام تقنية الـ ISSR أو الـ SSR. وهذا شيء يقدر إيجاباً نظراً لأهمية ذلك من وجهة نظر التحسين الوراثي.
- سجل أيضاً مقابل هذا الاختلاف مستوى عال من التشابه بين النماذج الوراثية وقد وصل إلى (100 %). وقد يكون السبب في ذلك هو برنامج التربية النقية المتبع في المحطة، والذي لامس درجة قرابة عالية بين شركاء التزاوج.
- يسمح التحليل العنقودي للنتائج بتعريف وتحديد مجموعات رئيسة تشكلت من قبل العديد من المجموعات الفردية. وتؤكد نتائج التحليل والتي تتجلى في عوامل الارتباط المقدرة، الاستنتاجات السابقة حول الاختلاف والتشابه الوراثي في وبين العينات المدروسة.
- تؤكد نتائج هذه الدراسة بأن تقنيتي الـ ISSR و SSR يمكنهما أن تكشفا التنوع الوراثي، والذي سببه المستوى المرتفع للتعددية الشكلية.
- وبالتالي يمكن اعتمادها كعلامات وراثية مفيدة في هذا المجال، فضلاً عن انخفاض التكاليف اللازمة لإنجازها.

المقترحات والتوصيات: RECOMMENDATIONS

- ✓ اعتماد نتائج الدراسة لوضع الخطوط الأولى لدراسة جزيئية شاملة لحيوان الماعز الشامي، بهدف الحفاظ عليه وتطويره
- ✓ متابعة هذه الدراسة لتحديد المورثات المسؤولة عن تطوير الماعز الشامي وذلك عند رسم خريطته الوراثية
- ✓ اتباع التربية الداخلية غير الشديدة بهدف المحافظة على نوع من التنوع الوراثي داخل القطيع، وذلك بهدف الحفاظ على أحد أهم أسباب تحسينه وتطويره
- ✓ تعميم نتائج هذه الدراسة على مراكز تربية الماعز الشامي في مختلف دول العالم مع الاحتفاظ بنتائج الدراسات كحق محفوظ للجمهورية العربية السورية في موضوع منشأ الماعز الشامي.

الفصل السادس

المراجع العلمية

REFERENCES

المراجع العربية:

1. الخوري، فارس قيصر. (1998). مداولات ندوة إنتاج الأغنام والماعز. أكساد. عمان.
2. السبع، محمد مروان. (1997). مقارنة بعض الصفات الظاهرية والإنتاجية لبعض سلالات الأغنام والماعز. جامعة حلب. حلب.
3. العوا، أسامة عارف. (1965). مبادئ تربية الحيوان، جامعة دمشق– دمشق.
4. خلوف، نديم محمد. (2003). التحسين الوراثي للأغنام والماعز– الدورة التدريبية لمنظمة الأغذية والزراعية الدولية (FAO) دمشق.
5. سيد، محمود هيثم.(2001). استخدام مؤشرات من الـ DNA في انتخاب مورثات المقاومة للأمراض في الشعير، جامعة دمشق، كلية الزراعة، أطروحة دكتوراه.
6. شاكر بشار. (1984). إنتاج الحليب في الماعز الشامي (دراسة غير منشورة).
7. عيسى، بسام. (a2001). الوراثة الجزيئية خيال أم واقع. مؤتمر التقانة الحيوية في رحاب جامعة دمشق.
8. عيسى، بسام. (b2001). علم الوراثة الحيوانية، منشورات جامعة دمشق. دمشق.
9. عيسى، بسام. (2008). علم الوراثة الحيوانية، منشورات جامعة دمشق. دمشق.
10. فتال، كامل صبحي. (2003) – دراسة بعض العوامل المؤثرة في إنتاجية حليب الماعز الشامي في محطة بحوث حميمة، دراسة أعدت للحصول على درجة الماجستير منشورات كلية الزراعة جامعة حلب.

REFERENCES:

1. Adelson, D.L., Raison, J.M. & Edgar, R.C. (2009). **Characterization and distribution of etrotransposons and simple sequence repeats in the bovine genome.** Proc. Natl. Acad. Sci. USA 106, 12855–12860.
2. Agha, S.H., Pilla, F., Galal, S. (2007). **Genetic diversity in Egyption and Italian goat breeds measured with microsatellite polymorphism.** Journal of Animal Breeding and Genetics. Vol125, 3:194-200.
3. Ahani, A. M., Lazebny. OE., Sulimova. GE. (2007). **Quantitative and qualitative comparison of ISSR Fragments in Mongolian Yaks and fifteen cattle breeds.** The 5th National Biotechnology Congress of Iran.
4. Akkaya, M.S.; A.A. Bhagwat, and Cregan, P. B. (1992). **Length polymorphism of simple sequence repeat DNA in soybean**. Genetics 132 (4) , 1131-1139.
5. Alkan, C., Sajjadian, S. & Eichler, E.E. (2011). **Limitations of next-generation genome sequence assembly.** Nat. Methods 8, 61–65.
6. Allendorf, F., Ryman. N. (2000). **The role of genetics in population variability analysis, in Population Viability Analysis, Beissinger S. R. and McCullough D.R. (in press).**
7. Ammiraju, J.S.S., Dholakia, B.B., Santra, D.K., Singh, H., Lagu, M.D., Tamhankar, S.A., Dhaliwal, H.S., Rao, V.S., Gupta, V.S. and Ranjekar, P.K. (2001). **Identification of inter simple sequece repeat (ISSR) markers associated withseed size in wheat.** Theor. Appl. Genetics. 102: 726-732.

8. Anantharaman, T., Mishra, B. & Schwartz, D. (1999). **Genomics via optical mapping. III: Contiging genomic DNA. International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology; ISMB**. International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology 18–27.

9. Anderson, LK, Salameh N, Bass HW, Harper LC, Cande WZ, Weber G, and Stack SM. (2004) . **Integrating genetic linkage maps with pachytene chromosome structure in maize**. Genetics 166:1923-1933.

10. Askari, N., Abadi, N., Baghizadeh, A. (2011). **ISSR Markers for assessing DNA polymorphism and genetic characterization of cattel, Goat and Sheep Population**. Iranian Jorrnal of Biotechnology,Vol9, 3.

11. Ayad, W.G; Hodgkin, T; Jaradat, A; and Rao, V.R. (1997). **Molecular genetic techniques for plant genetic resources.** Report for an IPGRI workshop, IPGRI, Rome, Italy, p.p. 11-12.

12. Bartlett, J. M. S.; Stirling, D. (2003). **A Short History of the Polymerase Chain Reaction**. PCR Protocols 226:3–6.

13. Baraket, G; Chatti, K; Saddoud, O; Mars, M; Marrakchi, M; Trifi, M; and Salhi Hannachi; A. (2009). **Genetic analysis of Tunisian fig (Ficus carica L.) cultivars using amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers.** Scientia Horticulturae. 120,pp 487–492.

14. Badaoui, B; J.M . Serradilla; A. Tomas; B. Urrutia; J.L. Ares; J.Carizosa; A. Canchez; J. Jordana; and M. Amills. (2007). **Identification of two polymorphisms in the goat Lilpoprotein lipase gene and their association with milk production traits.** Journal of diary science, 90 : 3012-3017.

15. Bai, W,L; Zhou,C,Y; Ren,Y; Yin,R,H; Jiang,W,Q; Zhao,S,J; Zhang,S,C; Zhang,B,L; Luo,G,B; Zhao,Z,H; (2011). **Characterization of the GHR gene genetic variation in Chinese indigenous goat breeds.** Molecular Biology Reports, (38)1, 471-479.

16. Bai, X. (2004). **ISSR fingerprint for Manchurian Tigers in Captivity.** Acta Theriologica Sinica, S864, 1000-1050.

17. 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.

18. Bahary, N., Pachter, J. E., Felman, R., Leibel, R. L., Albright, K., Cram, S., and Friedman, J. M. (1992). **Molecular mapping of mouse chromosomes 4 and 6: use of a flow-sorted Robertsonian chromosome.** Genomics 13: 761-769.

19. Baum, M., Grando, S. and Ceccarelli, S. (2004). **Localization of quantitative trait loci for dry land characters in barley by linkage mapping. Crop Science Society of America and American Society of Agronomy , 677 S. Segoa Rd., Madison, WI 53711, USA.** Challenges and Strategies for Dryland Agriculture. CSSA Special publication no. 32

20. Becker, J, M. Heun. (1995). **Barley microsatellites: allele variation and mapping.** Plant Mo! Biol 27: 835-845.

21. Benson, G. (1999). **Tandem repeats finder: a program to analyze DNA sequences.** Nucleic Acids Res. 27, 573–580.

22. Bhebhe, E., Kogi. J., Holder. D.A., Arevalo. E., Derr. J.N.,

Davis. S.K., Taylor. J.F., Ruvuna. F. (1994). **Caprine microsatellite dinucleotide repeat polymorphisms at The SR-CRSP-6, SR-CRSP7, SR-CRSP8, SR-CRSP9, SR-CRSP10, loci, Anim**. Genet. 25:203.

23. 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.

24. Borent, B; Goraguer, F; Joly, G and Branchard, M; (2002). **Genetic diversity in European and Argentinian cultivated potatoes (Solanum tuberosum subsp. tuberosum) detected by inter-simple sequence repeats (ISSRs).** Genome, 45:481-484.

25. Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M., Davis, R.W. (1980). **Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms.** American Journal of Human Genetics, 32:314-331.

26. Boyer, J.S. (1982). **Plant productivity and environment.** Science. 218,443-448 .

27. Brown AN, Lauter N, Vera DL, McLaughlin-Large KA, Steele TM, Fredette NC, and Bass HW. (2011). **QTL mapping and candidate gene expression analysis of telomere length control factors in maize.** (Zea mays L.). G3: Genes, Genomes, Genetics ;1(6):437-450.

28. Buchanan, F.C., Crawford. A. M., (1993). **Ovine microsatellites at the OarFCB11, OarFCB128, OarFCB266, and OarFCB304 loci.Anim.Genet**. 24:145.

29. Buchanan, F.C., Crawford. A. M. (1991). **Ovine microsatellites at the OarFCB5, OarFCB19, OarFCB20,**

OarFCB48, OarFCB129, and OarFCB226 loci.Anim.Genet. 25:60.

30. Cano, E, Marrube G, Roldan D, Bidinost F, Abad M, Allain D, Vaiman D, Taddeo H, Poli M. (2007). **QTL affecting fleece traits in Angora goats.** Small Rum Res, 71:158-164.

31. Cavan, G; Potier, V and Moss, S.R. (2000). **Genetic diversity of weeds growing in continuous wheat**. Weed Res, 40: 301-310.

32. Chen, S.Y., Wu, S.F. (2005). **Mitochondrial diversity and phylogeographic structure of Chinese domestic goat.** Mol Phylogenet Evol 37, 3:804-814.

33. Choumane, W., Vanbreugel, P., Bazuin, T. O. M., Baum, M., Ayad, W., and Amaral, W. (2002). **Genetic diversity of Pinus Brutia in Syria as revealed by DNA markers**. Forest Genetics 11(2): 87 – 101.

34. Choumane, W., Winter, P., Weigand, F., Kahl, G. (2000). **Conservation and variability of sequence –tagged microsatellite sites (STMS) from chickpea (Cicer aerietinum L.) within genus Cicer**. Theor Appl Genet. 101: 269 – 278.

35. Crawford, A.M., Montgomery, G.W., Pierson, C.A. (1990). **Sheep linkage mapping: nineteen linkage groups derived from the analysis of paternal half-sib families.** Genetics, 137:573-579.

36. Cribiu, E.P. (2001). **International system for chromosome nomenclature of domestic bovids (ISCNDB 2000).** Cytogenet. Cell Genet. 92: 283–299.

37. Diemo, GP., Perucatti, A., Floriot. S., Incarnato. D., Rullo.R., Eggen. (2005).**Chromosome Evolution and Improned Cytogenetic Maps of They Chromosome in Cattle, Zebra, River Buffalo**. Sheep and Goat;13(4):49-55.

38. Degani, C.; Rowland, L. g.; Levi, A.; Hortynski, and Galletta, G. J. (1998). **DNA fingerprinting of strawberry (Fragaria x ananassa) cμltivars using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers**. Euphytica, 1025, pp. 247-253.

39. Dong, Y, Xie M, Jiang Y, Xiao N. (2013). **Sequencing and automated whole-genome optical mapping of the genome of a domestic goat (Capra hircus)**. Nat Biotechnol ;31(2):135-41. PMID: 23263233

40. Eleuch, L., A. Jalil; S. Grando; S. Ceccarelli; M.K. Schmising; H. Tsujimoto; A. Hajer; A. Daaloul and M. Baum. (2008). **Genetic Diversity and association analysis for salinity tolerance, heading date and plant height of barley gemoplasm using simple sequence repeat markers.** J. Integr. Plant Biolo. 50(8):1005-1015.

41. Emebiri, L.C., Platz, G. and Moody, D.B. (2005). **Disease resistance genes in a doubled haploid of population of two- rowed barley segregation for malting quality attributes.** Australian Journal of Research. 56: 49 – 56.

42. Elsik, C.G. (2009). **The genome sequence of taurine cattle: a window to ruminant biology and evolution.** Science 324: 522–528

43. Fang, D.Q; Roose, M.L. (1997). **Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence repeat**

markers. Theor. Appl. Genet, 95: 408-417.

44. Feng, Z.Y., Liu, X.J., Zhang, Y.Z., and Ling, H. Q. (2006a). **Genetic diversity Analysis of Tibitian Wild Barley Using SSR Markers**. Acta Genetica Sinica. 33, 10: 917-928.

45. Feng, Z.Y., Zhang, L.L., Zhang, Y.Z., and Ling, H.Q. (2006b). **Genetic diversity and geographical differentiation of cultivated six- rowed naked barley landraces from the Qinghai-Tibet plateau of China detected by SSR analysis**. Genetic and Molecular Biology. 29, 2: 330-338.

46. Frankel, W. N., Stoye, J. P., Taylor, B. A., and Coffin, J. M. (1990). **A genetic linkage map of endogenous murine leukemia proviruses.** Genetics 124: 221-236.

47. Fu-Jun, F; Xiang-Long. L; Rong-Yan. Z; Gui-Ru. Z; Lan-Hui L; and Dong-Feng. L. (2009). **Characterization and SNP Identification of Part of the Goat Melanophilin Gene.** Biochemical Genetics, (47) 3-4, 198-206.

48. Gao, J. (2010). **A complete DNA sequence map of the ovine major histocompatibility complex**. BMC Genomics 11, 466.

49. Glazko, V.I; Dyman, T.N; Tarasiuk S.I and Dubin A.V. (1999). **The polymorphism of proteins, RAPD-PCR and ISSR markers in European and American bison and cattle.** NCBI>Literature>PubMed (PMID: 10707408), 33(6): 9-30.

50. Graner, A; A. Jahoor; J. Schondelmaier; H. Siedler; K. Pillen; G. Fischbeck; G. Wenzel; and R.G. Herrmann. (1991). **Construction of an RFLP map of barley.** Theor Appl Genet. 83:250–256.

51. Griffiths, A.J., Suzuki. D.T. (1996). **An Introduction to Genetic Analysis.** 6. Aufi. New York (Freeman).

52. Guo, B.L; Y. Jiao; C. He; L.X. Wei; Z.H. Chang; X.P. Yue; X.Y. Lan; H. Chen and C.Z. Lei. (2010). **A novel polymorphism of the lactoferrin gene and its association with milk composition and body traits in dairy goats.** Genetic and Molecular Research, (9)4: 2199-2206.

53. Gupta, M; Chyi, Y.S; Romero-Severson, J; Owen, J.L. (1994). **Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple sequence repeats.** Theor. Appl. Genet, 89: 998-1006.

54. Gupta, N.; A. pandey; G. Malik; S,C,Gupta. (2009). **Single nucleotide polymorphism (SNP) in growth hormone gene of Jakhrana, a prominent milk goat breed in India**. Small Ruminant Research. Vol(81). Pages 35-41.

55. Hayes, B, Hagesaether N, Adnøy T, Pellerud G, Berg PR, Lien S. (2006). **Effects on production traits of haplotypes among casein genes in Norwegian goats and evidence for a site of preferential recombination.** Genetics, 174:455-464.

56. Hiendleder. S., Thomsen. H., Reinsch. N., Foster. M., and Erhardt. G. (2003). **Mapping of QTL for body conformation and behavior cattle**. J. of Heredity. 94: 496-506.

57. Hodgkin, T., Roviglioni, R., Gresshoff, P.M. (2001). **DNA Amplification fingerprinting using very short arbitrary oligounucleotides primers.** Bio-technology, 9:553-557.

58. Huelsenbeck, J.P. & Ronquist, F. (2001). **MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees**. Bioinformatics 17: 754–755.

59. Iamartino, DD., Bruzzone. A., Lanza. A., Blasi. M., Pilla. F. (2005). **Genetic diversity of Southern Italian goat**

populations assessed by microsatillete markers. Small Rumin. Res., 57:249-255.

60. Igrashi, M.L.S.P. Machada, T.M. Ferro, J.A. Contel, E.P. (2000). **Structureand Genetic relationship among Brazilian Naturalized and imported Goats Breeds**. Biochemical Genetics. Vol 38,No 11-12.

61. Jain, A; Apparanda, C; Bhalla, P.L. (1999). **Evaluation of genetic diversity and genome fingerprinting of Pandorea (Bignoniaceae) by RAPD and inter-SSR PCR.** Genome, 42: 714-719.

62. Karp, A; S. Kresovich; K.V. Bhat; W.G. Ayad; and T. Hodgkin. (1997). **Molecular tools in plant genetic resources conservation: a guide to the technologies.** 1st ed. IPGRI Technical Bulletin NO. 2. IPGRI, Rome, Italy, Pp. 9-21.

63. Kaukinen, J., Varvio. S.L. (1993). **Eight Polymorphic Bovine microsatellites, Anim. Genet**. 24:148.

64. Kemp, S.J., Hishide. O., Wambugu. J., Rink. A., Longeri. M. L. (1995). **Apanel of polymorphic bovine, ovine and caprine microsatellite markers.** Anim. Genet., 26:299-306.

65. Khlestkina, E. K., Roder, M. S., Efremova, T. T., Borner, A., and Shumny, V.K. (2004). **The genetic diversity of old and modern Siberian varieties of common spring wheat as determined by microsatellite markers.Plants Breeding**.123:122– 127.

66. Kogi, J., Yah. C.C., Bhebhe. E., Burns. B. M., Ruvuna. F. (1995). **Caprine microsatellite dinucleotide repeat polymorphisms at the SR-CRSP-11, SR-CRSP-12, SR-CRSP-13, SR-CRSP-14, SR-CRSP-15. Loci., ANIM. Genet**

.26:449.

67. Kurata, N, Y. Nagamura, K. Yamamoto, Y. Harushima, N. Sue, J. Wu, B.A. Antonio, A. (1994). **A 300 kilobase interval genetic map of rice including 883 expressed sequences.** Nature Genet 8: 365-372.

68. Kùhn, C., Bennewitz. J., Reinsch. N., Kalm. E. (2003). **Quantitative Trait Loci Mapping of functional traits in the German Holstein cattle population**. J.Diary Sci. 86: 360-368.

69. Lan, X,Y; Ch,Y,Pan; H,Chen; Ch,Z,Lei; F,Y,Li; H,Y,Zhang; Y,S,Ni. (2008). **Novel SNP of the goat prolactin gene (PRL) associated with cashmere traits**. JOURNAL OF APPLIED GENETICS, (50) 1: 51-54.

70. Lan, X,Y; C,Y, Pan; H, Chen; M, Zhao; J,Y, Li; J, Yu; C,L, Zhang; C,Z, Lei; L,S, Hua and X,B, Yang. (2007). **The novel SNPs of the IGFBP3 gene and their associations with litter size and weight traits in goat.** Arch Tierz,(50) 2: 223-224.

71. Lannuzzi,I.,Dimeo.GP.(1995).**Chromosomal Evolution in Bolides:AComparision of Cattle Sheep and Goat G- and R Banded Chromosmes and Cytogenetic Divergences among Cattle, Goat and River Buffalo set Chromosomes**- CNP- IABBAM,Italy: :3(5):291-295.

72. Lawrence, CJ, Seigfried TE, Bass HW, and Anderson LK. (2006). **Predicting chromosomal locations of genetically mapped loci in maize using the Morgan2McClintock translator**. Genetics Mar;172(3):2007-2009.

73. Li, J.Y., Chen. X.Y., Lan. X.J., Min. L.J. (2008). **Genetic diversity of five Chinese goat breeds assessed by microsatellite markers.** Czech, J. Anim. Sci., (53),8:315-319.

74. Liu, Z. W., Biyashev, R. M, 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.

75. Luikart, G. Biju-Duval, M. Ertugrul. O. (1999). **Power of 22 microsatellite markers in fluorescent multiplexes for parentage testing in goats (Capra hircus), Anm Genet.** 431-438.

76. MacHugh, D.E. & Bradley, D.G. (2001). **Livestock genetic origins: goats buck the trend**. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98, 5382–5384.

77. Maddoox, J, F; Cockett N, E. (2007). **An update on sheep and goat linkage maps and other genomic resources** . Science Direct. VOL, 70 , Issue 1, p: 4-20.

78. Malysheva-otto, L., Ganal, M. W., and Roder,S. (2006). **Analysis of molecular diversity, population structure and linkage disequilibrium in a worldwide survey of cultivated barley germplasm (Hordeum vulgare L.)**. BMC Genetics. 7(6): 1 –14.

79. Maniatis, T., Fritsch, E.F., and Sambrook, J. (1982). **Molecular cloning: Laboratory manual**. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor/ NY.

80. Mannen, H., Nagata, Y., Tsuji, S. (2001). **Mitochondrial DNA reveal that domestic goat (Capra hircus) are genetically affected by two subspecies of bezoar (Capra aegagurus)**. Biochem Genet. 39:145-154.

81. Mason, I.L. (1981). **Wild goats and their dome Citation**. Goat Production, P.P 33-35. Academic Press, London.

82. Matus, I. A., and Hayes, P. M. (2002). **Genetic diversity in three groups of barley germplasm assessed by simple sequence repeats.** Genom. 45: 1095 – 1106.

83. Maudet. C. Luikart, G. Taberlet. P. (2001). **Development of Microsatellite Multiplexes for Wild Goats using Primers designed from domestic Bovidae.** Genet. EDP Sciences, Vol:33 ,S193-S203.

84. Michael, T. P. (2005). **Simple sequence repeats provide a substrate for phenotypic variation in the *Neurospora crassa* circadian clock.** PLoS One 2:e795.

85. Migdadi, H. M. (2001). **Genetic variation in some Aegilops species as revealed by morphological and molecular techniques, ph. D.** Thesis, University of Jordan, Amman, Jordan.

86. Moradi, M.H, Rostamzadeh J, Rashidi A, Karimi F, Vahabi Kh. (2007). **Evaluation of genetic diversity in color types of Markhoz goat using ISSR markers.** Proceedings of the 5th.

87. Morgante, M, A. Rafalski, P. Bidle, S. Tingey, and A.M. Oliveri. (1994). **Genetic mapping and variability of seven soybean simple sequence repeat loci**. Genome37:763-769.

88. Morgante, M., and A.M. Olivieri. (1993). **PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics**. Plant J. 3(1), 175-182.

89. Muem, E.K., Wakhungu. J.W., Hanotte. O., and Jianlin. H. (2009). **Genetic diversity and relationship of indigenous goats of Sub-Saharan Africa using microsatellite DNA markers.** Livestock Research for Rural Development. 2:1-7.

90. Mullis, K; S. Faloona; S. Scharf; R. Saiki; G. Horn; and H. Erlich. (1985). **Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The polymerase chain reaction.** Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 51:263-273.

91. Nagaraju, J; Kathirvel, M; Ramesh Kumar, R; Siddiq, E.A; Hasnain, S.E. (2002). **Genetic analysis of traditional and evolved Basmati and non-Basmati rice varieties by using fluorescence-based ISSR and SSR markers.** Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A, 99: 5836-5841.

92. Nagoaka, T., and Y. Ogihara. (1997). **Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers.** Theor. Applied Genet., 94: 597-602.

93. Nei, M. (1978). **Molecular evolution genetics**. columbia university press , New York,

94. Notter, DR. (1999). **The importance of genetic diversity in livestockpopulations of the future**. J Anim Sci. 77: 61-69.

95. Ordon, F., Ahlemeyer, J., Werner, K., Kohler, W., and Friedt, W. (2005). **Molecular assessment of genetic diversity in winter barley and its use in breeding. Euphytica**. 146: 21 – 28.

96. Ozkan, H., Kafkas, S.,Ozer M. S.,; Brandolini, A. (2005). **Genetic relationships among South-East Turkey wild barley populations and sampling strategies of Hordeum spontaneum Theoretical and Applied Genetics** 112:12-20.

97. Paetkau, D., Strobeck. C. (1994). **Microsatillet analysis of genetic variation in black bear population, Mol.** Ecol. 3:489-495.

98. Parra, G., Bradnam, K., Ning, Z., Keane, T. & Korf,I. (2009). **Assessing the gene space in draft genomes.** Nucleic Acids Res. 37, 289–297.

99. Pariset, L; A. Cuteri; C. Ligda; P. Ajmone-Marsan; A. Valentini. (2009). **Geographical patterning of sixteen goat breeds from Italy, Albania and Greece assessed by Single Nucleotide Polymorphisms.** BMC Ecology. Vol(9).

100. Pariset, L; Cappuccio, I; Ajmone Marsan, P; Dunner, S; Luikart, G; England, P,R; Obexer – Ruff,G; Peter, C; Marletta, D; Pilla, F; Valentini, A; and Econogene Consortium. (2006). **Assesment of population structure by single nucleotide polymorphisms (SNPs) in goat breeds.** Science Direct (Journal of Chromatography), VOL 833, Issue 1, 20 march, pages 117-120.

101. Penty, J.M., Henry. H.M., Ede. A.J., Crawford. A.M. (1993). **Ovine microsatellites at the OarAE16, OarAE54, OarAE57, OarAE119, and OarAE129, loci, ANIM. GENET.** 24:219.

102. Powell, W; M. Morgante; J.J. Doyle; J. Mcnical; S.V. Tingey; and A.J. Rafalski. (1996). **Genepool Variation in Genus Glycine Subgenus Soja Revealed by polymorphic Nuclear and chloroplast microsatellites.** Genetics. 144:793-803.

103. Pranisha, B. (2004). **African Sheep Breeds Using DNA Markers Department of Animal, Wild Life and Gross Land.** Scienes University Of Free State.

104. Qian, Z; Hong, D; Dong Hang, Z. (2007). **ISSR Molecular Marker and its application in plant researches.** Molecular Plant Breeding, V.(5).6:123-129.

105. Qi, X; P. Stam; and P. Lindhout. (1996). **Comparison and**

integration of four barley genetic maps. Genome. 39:379–394.

106. Rafaiski, J.A., and S.V.Tingey. (1993). **Genetic diagnostics in plant breeding: RAPDs, microsatellites and machines**. Trends Genetics. 9(8): 275-280.

107. Rafalski, J.A; J.M. Vogel; M. Morgante; W. Powell; C. Andre and S.V.Tingey. (1996). **Generating and using DNA markers in plants.** No mammalian Genomic Analysis: A Practical Guide. 4:75-134.

108. Rahman, M.A., S.M.M. Rahman, M.A. Jalil, S.N.Uddin and M.M. Rahman. (2006). **Molecular characterization of black Bengal and Jamuna Pari goat breeds by RAPD markers.** Am. J. Anim. Vet. Sci., 1: 17-22.

109. Raina, S.N; Rani, V; Kojima, T; Ogihara, Y; Singh, K.P; Devarumath, R.M. (2001). **RAPD and ISSR fingerprints as useful genetic markers for analysis of genetic diversity, varietal identification, and phylogenetic relationships in peanut (Arachis hypogaea) cultivars and wild species.** Genome, 44:763-772.

110. Rakoczy-Trojanowska, M., and Bolibok H. (2004). **Characteristics and a comparision of three classes of Micro satellite- based markers and their application in plants**. Agricultural university, Nowoursynowska, Wraszawa, Poland.

111. Ramsay, L., Macaulay, M. , Degli ivanissevich, S.,Maclean, K., Cardle, L. ,Fuller, J., Edwards, K. J.,Tuvesson, S., Morgante, M., Massari, A., Meastr, E., Marmirol, N., Sjakste, T., Ganal, M., Powell, W. and Waugh, R. (2000). **A**

simple Ssequence Repeats Based Linkage Map of Barley. Genetics 156: 1997- 2005.

112. Road, K.H. (1998). **Microsatellite variation in Scandinavian Cervidae using primers derived from Bovidae.** Hereditas, 129:19-25.

113. Russell, J. R., Fuller, J. D., Macaulay, M., Hatz, B. G., Jahoor, A., Powell, W.,and Waugh, R. (1997a). **Direct comparison of levels of genetic variation among barley accessions detected by RFLP – AFLP –SSR – and RAPD.** Theor Appl Genet. 95: 714 – 722.

114. Russell, J., Fuller, J., Young, G., Thomas, B., Taramino, G., Macaulay, M., Waugh, R. and Powell, W. (1997b). **Discriminating between barley genotypes using microsatellite markers**. Genome 40: 442 – 450.

115. Saghai, Maroof, Yu, Y.G, M.A. G.R. Buss, P.J. Maughan, and S.A. Tolin. (1994). **RFLP and microsatellite mapping of a gene for soybean mosaic virus resistance**. Phytopathology 84: 60-64.

116. Saiki, R. K; S. Scharf; F. Faloona; K. B. Mullis; G. T. Horn; H. A. Eriich; and N. Amheim. (1985). **Enzymatic amplification of b-globulin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anaemia.** Science. 230:1350-1354.

117. Saiki, R.K; D.H. Gelfand; S.Stoffel; S.J. Scharf; R. Higuchi; G.T. Horn; K.B. Mullisand; and H.A. Eriich. (1988). **Prime-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase.**Science. 239:487-491.

118. Saitbekova, N., Gaillard. C., Obexer-Ruff. G. (1999). **Genetic diversity in Swiss goat breeds based on microsatellite analysis.** Animal Genetics.Vol30:36-41.

119. Schaal, BA, Leverich. WJ, Rogstad SH. (1991). **Comparison ofmethods for assessing genetic variation in plant conservationbiology.** Genetics and Conservation of Rare Plants. OxfordUniversity Press, New York. PP: 123-134.

120. Schibler, L, Cribiu EP, Oustry-Vaiman A, Furet JP, Vaiman D. (2000). **Fine mapping suggests that the goat Polled Intersex Syndrome and the human Blepharophimosis Ptosis Epicanthus Syndrome map to a 100-kb homologous region.** Genome Res,10:311-318.

121. Schibler, L, Di Meo GP, Cribiu EP, Iannuzzi L. (2009). **Molecular cytogenetics and comparative mapping in goats (Capra hircus, 2n = 60)**. Cytogenet Genome Res, 126:77-85.

122. Schlötterer, C and Pemberton. J. (1994). **The use of microsatellites for genetic analysis of natural populations**. In: Schierwater B, Streit B, Wagner GP, DeSalle R (eds.). Molecular Ecology and Evolution: Approaches and Applications, Birkhäuser Verlag Basel, Switzerland, pp. 203-214

123. Sofalian, O., Chaparzadeh, N., javanmard, A., and M.S., Hejazi. (2008) . **Study the genetic diversity of wheat landraces from northwest of Iran based on ISSR molecular markers.** Int. J. Agric. Biol., 10:465-468.

124. Southern, E.M. (1975). **Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis**. J Mol Biol.98(3):503-517.

125. Struss, D., and Plieske, J. (1998). **The use of microsatellite markers of detection of genetic diversity in barley populations**. Theor Appl Genet. 97: 308 – 315.

126. Sultana, S., Mannen, H. (2004). **Polymorphism and evolutionary profile of mitochondrial DNA control region inferred from the sequences of Pakistani goat.** Animal Science Jornal. Vol 75.4:303-309.

127. Sweigart, A., K. karoly, A. Jones and H.J. Willis. (1999). **The distribution of individual inbreeding coefficients and pairwise relateness in population of Mimulus guttalus**. Heredity 83:625-632.

128. Tanksley, S. D., Young, N.D., Paterson, A.H., and Bonierbale, M.W. (1989). **RFLP mapping in plant breeding- new tools for an old science.** Bio. Technol 7: 257- 264.

129. Tatuz, D. (1989). **Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers.** Nucleic Acids Res 17:6463-6471.

130. Tuntivisoottikul, K. Jirajaroenar, K. (2008). **Genetic Characterization of live Goat breeds using some Microsatellite DNA Markers**. Bangkok, Thailand.

131. Vaiman, D., Schibler. L., Bourgeois. F. (1996). **Agenetic linkage map of the male goat genome.** Genetics. 144:279-305.

132. Van Der Nest, M.A; Steenkamp, E.T; Wigfield, B.D; Wingfield, M.J. (2000). **Development of simple sequence repeat (SSR) markers in Eucalyptus from amplified inter-simple sequence repeats (ISSR).** Plant Breed, 119, 433-436.

133. Vignal, A.; D. Milan; M. Sancristobal; and A. Eggen. (2002).

A review on (SNP) and other type of molecular markers and their use in animal genetics. Genetics Selection Evolution, 34:275-305 .

134. Von korff, M., Wang, H., Leon, J and pillen, K. (2006). **AB – QTL analysis in spring barley**. Detection of favorable exotic alleles for Hordeum Vulgare ssp spontaneum). Theor Appl Genet. 112: 1221 – 1231.

135. Vos, P, Hogers R, Bleeker M, et al. (1995). **AFLP: a new technique for DNA fingerprinting**. Nucleic Acids Res. 23 (21): 4407–14. PMID 7501463. PMC 307397.

136. Wang, Z, J.L. Weber, G. Zhong, S.D. Tanksley. (1994). **Survey of plant short tandem DNA repeats**. Theor AppI Genet 88: 1-6.

137. Wang, Jie; Wang Yong; XU Qi-shu; GAO Guang-yu; OUYANG Xi; LIU Lu-shu. (2009). **The research of Tibetan goat height at withers functional gene.** Journal of Southwest University for Nationalities (Natural Science Edition), S827.

138. Wang, Y; Wang. J; Xu. Q; ZI. X; Ouyang XI; Liu. L; Xiao. Y. (2010). **Analysis of genetic diversity in Ritu Tibetan goats by ISSR.** Chinese Journal of Applied Ecology, 41(9): 1208-1212.

139. Weber, J.L, and P.E. May. (1989). **Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction.** Am J Hum Genet 44: 388-396.

140. Weber, J.L. (1990). **Informativeness of human (dC-dA)n. (dG- dT)n polymorphisms**. Genomics,7:524-530.

141. Weising, K.; Nybom, H.; Wolff, K. and Meyer, W. (1995). **DNA fingerprinting in plants and fungi,** CRC Press, Inc., London.

142. Williams, J.G.K.; Kubelik , A.R.; Rafalski , J.A .and Tingey , S .V. (1990). **DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers areuseful as genetic markers.** Nucleic Acid Res .,Vol(18) pp : 6231 -6235.

143. Williams, M.N.V., N. Pande, S. Nair, M. Mohan, and J. Bennet. (1991). **Restriction fragment length polymorphism analysis of polymerase chain products amplified from mapped loci of rice (Oryza sativa L.) genomic DNA.** Theor Appl Genet. 82:489-498.

144. 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.

145. Wu, K.S., and S.D. Tanksley. (1993). **Abundance, polymorphism and genetic mapping of microsatellites in rice**. Mol. Gen. Genet. 241(1-2): 225-235.

146. Wurster, D.H. & Benirschke, K. (1968). **Chromosome studies in the superfamily Bovoidea.** Chromosoma 25: 152–171.

147. Xiang-Long, Li; Fu-Jun F; Rong-yan Z; Lan-Hui L; Hui-qin Z and Gui-ru Z. (2010). **Nine linked SNPs found in goat melanophilin (mlph) gene.** Journal of Bioinformatics and Sequence Analysis, Vol, 2(6):85-90.

148. Yahyaoui, M.H. (2003). **Study of kappa casein, beta lactoglobulin, and stearoyl coenzyme A desaturase genes.**

Universidad Autonoma de Barcelona, 1-148 (P13).

149. Yeb, C., Kogi. J.K., Holder. M., Davis. S.K., Taylor. J.F. (1997). **Caprine microsatillete dinucleotide repeat polymorphisms at the SR-CRSP 21, 22, 23, 24, 25, 26, and 27 loci, Anim. Genet**. 28:370-371.

150. Yu, Y.G, M.A. Saghai Maroof, G.R. Buss, P.J. Maughan, and S.A. Tolin. (1994). **RFLP and microsatellite mapping of a gene for soybean mosaic virus resistance.** Phytopathology 84: 60-64.

151. Zabeau, M, P. Vos. (1993). **Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting**. European Patent Application number: 92402629.7, publication number 0 534 858 Al.

152. Zeder, M.A. & Hesse, B. (2000). **The initial domestication of goats (Capra hircus) in the Zagros mountains 10,000 years ago.** Science 287: 2254–2257.

153. Zhang, Q. Yang, GP, M.A. Saghai Maroof, C.G. Xu, and R.B. Biyashev. (1994). **Comparative analysis of microsatellite DNA polymorphism in landraces and cultivars of rice**. Mol Gen Genet 245:187-194.

154. Zhao, X, and G. Kochert. (1993). **Characterization and genetic mapping of a short, highly repeated, interspersed DNA sequence from rice (Oryza sativa L.)**. Mol Gen Genet. 23, 1:353-359.

155. Zietkiewicz, E; Rafalski, A; Labuda, D. (1994). **Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchoredpolymerase chain reaction amplification.** Genomics, 20: 176-183.

ABSTRACT

Shami goat is one of most important domestic breed in Syria, because it has highly breeding capacity under the hard environmental conditions and it has been used in crossbreeding with Mountain goat as a donor for milk producing traits.

In spite of that, this animal is still far away from the scientific research, moreover, it was exposed to random crossbreeding with Mountain goat by goat breeders, which will lead in a long time to loss an important domestic animal genetic resource, However, some of it's characterizes have not been detected yet.

In this research, the genetic diversity among 30samples patterns of pure Shami goats (10 female + 10 male + 10 kazma male) was detected by using Inter simple sequence repeat method (ISSR),

15 primers of ISSR were used, and only 11 of them had given results of amplification. 96 bands were observed and the Polymorphic rate was 100 %.

The Simple Sequence Repeats method (SSR) was also used. 27 pairs of SSR primers of were applied, and 15 pairs primers only had given results of amplification.

Primers had given 41 bands in this case. and the polymorphic rate was 100 %.

Results indicated that there was a genetic diversity among goats studied, and there was similarity ranged from 0% to 100%. There was a possibility to distinguish between the goats whether they are brothers or twines.

Keywords: Shami goat, Genetic diversity, (ISSR), (SSR).

Damascus University

Faculty of Agriculture

Department of Animal Production

Analysis of The Genetic Diversity in Syrian Shami Goats

These is Submitted for Ph.D. degree in Agricultural Engineering

(Biotechnology)

Submitted by

ALI AKEEL KANAAN

supervision

Prof. Salam Lawand

Prof. Bassam Isa

Damascus, Syria