دراسة المظاهر الوراثية لجين الصدمة الحرارية (HSP70) وعلاقتها ببعض الصفات الدموية و الكيموحيوية لذكور الماعز المحلي العراقي خلال فصل الصيف

صالح حسن جاسم العزاوي [1] وعبد المطلب حازم خليل* [1]

(1). قسم الانتاج الحيواني، كلية الزراعة ، جامعة ديالى ، العراق.

(*للمراسلة :عبد المطلب حازم .البريد الالكتروني: abdmtaleb85@gmail.com)

تاريخ الاستلام:2021/12/15 تاريخ القبول:2022/05/9

الملخص

يعتبر جين بروتين الصدمة الحرارية 70 (HSP70) مهماً حيث يؤثر على قابلية التحمل الحراري للحيوانات من خلال مشاركته في عملية طي البروتينات . أجريت الدراسة الحالية في مزرعة المجترات التابعة لكلية الزراعة في جامعة ديالى. هدفت هذه الدراسة إلى بيان تأثير تعدد الأشكال الفردية في التسلسل المشفر لجين الصدمة الحرارية HSP70 على بعض الصفات الدموية والكيموحيوية لذكور الماعز المحلية العراقية . ضخمت عينة (DNA) المعزول من 15 ذكر ماعز بتقنية PCR لمنطقة التشفير على جين HSP70 تم استخدام تسلسل تعدد الأشكال النوكليوتيد الفردي (Sequence) للكشف عن تسلسل الحمض النووي حيث تم الكشف عن طفرة في الموقع (1528 C/T). كما تم تقييم صفات الدموية , حجم الخلايا المرصوصة PCV وتركيز الهيموكلوبين Hb و عدد كريات الدم الحمر RBC وعدد كريات الدم البيضاء WBC و ومتوسط حجم كرية الدم الحمراء MCV و ومتوسط الهيموكلوبين في كرية الدم الحمراء MCH و متوسط كمية الهيموكلوبين في مجموعة كريات الدم الحمراء MCHC والصفات الكيموحيوية الفوسفاتيز القلوي Alkaline phosphatase (ALP) و ألانين أمينوترانسفيراز(ALT) Alanine Amino transferase و الأسبارتات أمينو ترانسفيراز (AST) Aspartate Amino transferase . أظهرت النتائج وجود ثلاثة طرز وراثية CC و CT و TT بنسب (0.53 , 0.40 , 0.07) على التوالي وتكرار اللأليل C وT كان(0.27,0.73) على التوالي و بتوازن Hardy Weinberg، و كانت الحيوانات تحت إجهاد حراري حاد ولوحظ زيادة في عدد مرات التنفس ودرجة حرارة المستقيم والجلد بعد الظهر في الحيوانات ذات التركيب الوراثي CC لشهر تموز وعدد مرات التنفس لشهر آب بعد الظهر ، ولوحظ تفوق التركيب الوراثي TT في صفة عدد كريات الدم الحمراء معنويا بعد الظهر ،و لوحظ انخفاض معنوي للإنزيم الناقل للأمين (AST) للمجموعة CC في قياس الصباح أما قياس بعد الظهر فكانت المجموعة TT الأقل في هذه الصفة . أما الفروقات ضمن المجاميع فكانت اغلبها معنوية للصفات المدروسة .

الكلمات المفتاحية :HSP70,الصفات الدموية ,الكيموحيوية ,الماعز.

المقدمة

يعتبر الماعز المحلي العراقي ثروة وطنية ومصدر وراثي مهم للجينات المتكيفة على الظروف المحلية العراقية منذ آلاف السنين التي يمكن استخدامها في التزاوج والتضريب مع بعض السلالات النقية أو الهجينة الأجنبية ذات الكفائة الإنتاجية العالية لإنتاج ماعز مقاوم للظروف البيئية وذو إنتاجية جيدة لتساهم في توفير اللحم والحليب للمستهلكين (العزاوي ,2011 ; القدسي والراوي ,2021 ; خليل والعزاوي ,2018) ، و يمكن كذلك باستخدام التقنيات الوراثية الجزيئية وذلك للإستفادة من الجينات المقاومة للظروف المناخية المتعلقة بالصفات التناسلية التي يمتلكها الماعز المحلي في إنتاج أفراد ذات إنتاجية عالية مستقبلا (الخزرجي و أخرون ,2020) .

مكونات الدم حساسة للتغيرات في درجة حرارة البيئة ويعتبر مؤشر مهم للإستجابات الفسيولوجية لعامل الإجهاد (Okoruwa , 2014). إن قياسات الدم تعتبر مؤشرات رئيسية للتكيف البيئي للحيوانات ويمكن استخدامها لتقييم إجهاد الحيوانات (Radkowska و Herbut ,2014) . يتضح تأثير الإجهاد الحراري على الحيوانات من التغيرات في الصفات الدموية (Alam و أخرون,2011). يؤدي الإجهاد الحراري إلى تغيير في بعض الصفات الدموية والكيموحيوية (Attia , 2016).

هدف الدراسة الحالية إختبار تحمل ذكور الماعز المحلي العراقي للإجهاد الحراري في فصل الصيف بالكشف على التراكيب الوراثية لجين التحمل الحراري HSP70 وعلاقته ببعض صفات التحمل الحراري و صفات الدم.

المواد و طرائق البحث

أجريت الدراسة في حقل الإنتاج الحيواني / كلية الزراعة في جامعة ديالى على 15 ذكر ماعز محلي عراقي الخليط الأسود الاسم العلمي (*Capra hircus*) بمتوسط وزن 29 كغ وعمر (1–2) سنة للفترة من 2021/6/15 إلى 2021/9/15 و ضعت في حظيرة نصف مظللة وتم تغذيتها على كمية 500 جم لكل رأس ، يتكون العلف المركز من 65٪ شعير و 33٪ نخالة ، و تم استكمال الخليط بإضافة 1٪ ملح و 1٪ خليط من الفيتامينات والمعادن ، و يتوفر الماء بشكل دائم .

1. إستخلاص DNA وتحليل تعدد اشكال النيوكليوتيد الفردي Sequence.

سُحِبَت عينات الدم حجم (3 ml) من الوريد الوداجي (Jugular vein) في العنق تم وضعه في أنابيب الإختبار الحاوية على مانع تخثر(E.D.T.A) . تم إستخلاص DNA من الدم حسب تعليمات شركة المصنعة لعدة الإستخلاص المستخدمة (ABIOpure) الامريكية في مختبرات مكتب التقدم العلمي (ASCO) في بغداد الحارثية و تم تصميم البادئ حسب التتابع المبين بالجدول (1) و تم إجراء تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) لتضخيم قطعة (DNA) المدروسة و إجراء الترحيل الكهربائي كما في الشكل (1) و إرسل نتائج التفاعل إلى شركة (Macrogen) الكورية لإجراء تحليل Sequence.

2. حساب دليل الحرارة والرطوبة

تم قياس درجة الحرارة المئوية و الرطوبة النسبية للحظيرة طيلة أيام التجربة مرتين في اليوم صباحا وبعد الظهر وتم حساب دليل الحرارة والرطوبة (THI) وفق Marai واخرون (2001) المعادلة التالية:

$$THI=Tp – [(0.31- 0.31 RH) (Tp-14.4)$$

حيث ان: Tp تمثل درجة حرارة البيئة المحيطة و RH تمثل الرطوبة النسبية . فإن كانت قيمة دليل الحرارة والرطوبة أقل من 22.2 تشير إلى غياب الإجهاد ومن 22.2 إلى 23.3 تشير إلى الإجهاد المعتدل و من 23.3 إلى 25.6 تشير إلى الإجهاد الشديد و من 25.6 فأكثر يكون إجهاد شديد للغاية(Mishra، 2009).

3. قياس الصفات الفسلجية

تم قياس معدل التنفس عن طريق تقدير عدد حركات الخاصرة بالدقيقة الواحدة و تم قياس درجة حرارة الجلد باستخدام محرار طبي رقمي وذلك عن طريق وضعه تحت الأُبط للساق اليمنى و قياس درجة حرارة المستقيم باستخدام محرار طبي رقمي عن طريق إدخاله في فتحة المستقيم مع مراعاة وضعه بطريقة ملامسة لجدار المستقيم و على عمق (2.5) سم في المستقيم تم أخذ القياسات الفسلجية مرتين في اليوم صباحا الساعة (7–8) وظهرا الساعة (2–3) كل 15 يوم .

4. قياس الصفات الدموية

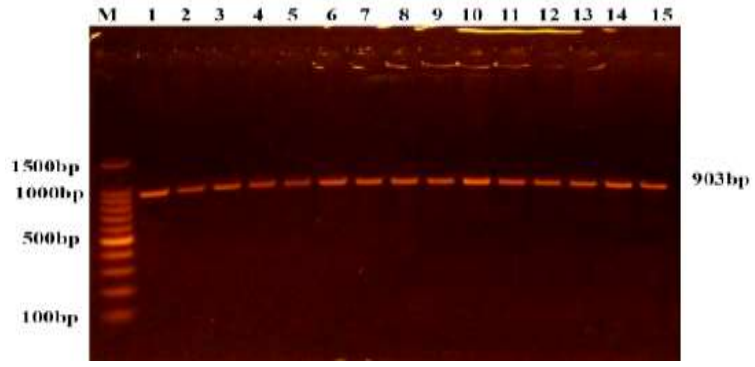
تم سحب عينات الدم من الوريد الوداجي (Jugular vein) في العنق تم وضع الدم حجم (3 ml) في أنابيب الإختبار الحاوية مانع تخثر(E.D.T.A.) صباحا الساعة (7) و بعد الظهر الساعة (2)، شملت الفحوصات عدد كريات الدم الحمراء وعدد كريات الدم البيضاء و حجم الخلايا المرصوصة و تركيز الهيموكلوبين و تم حساب معدل تركيز هيموكلوبين الكرية وفق (البدري و أخرون,2004) ، أما متوسط حجم كرية الدم الحمراء (MCV) و متوسط الهيموكلوبين في كرية الدم الحمراء (MCH) فحسبت وفق(Coles، 1986)

5. قياس صفات الدم الكيموحيوية

وضع دم بحجم (4 ml) في أنابيب (gel tube) خالية من (E.D.T.A.) للحصول على مصل الدم لإجراء فحوصات الإنزيمات Alanine Aminotransferase (ALT) وAspartate Aminotransferase (AST) و إنزيم Alkaline phosphatase (ALP) تم القياس (7) صباحا و(2) بعد الظهر .

الجدول(1):تتابع القواعد النايتروجينية للبادئ المستخدم.

Primers sequence	Primer Name	Amplicon size (pb)	Name gene	Annealing temp C°
Forward (Sense) 5-GACCTCAACAAGAGCATCAA -3	F	903	HSP70	65
Reverse (Anti Sense) 5-GATCCCAACAGTCTCCATAAC-3	R			



الشكل(1): يبين الترحيل الكهربائي للمنتج (PCR) للقطعة المدروسة من جين (HSP70) بحجم 903 زوجًا قاعديًا في 15 عينة من ذكور الماعز المحلي العراقي.

النموذج رياضي:

$$Yijk = \mu + Gi + Pj + eijk$$

Yij القيمة المظهرية للصفة ، µ: المتوسط العام ، Gi: تأثير المظاهر الوراثية المتعددة للجيل HSP70 (CC,CT,TT)

pj، تأثير الشهر للصفات الفسلجية Eijk: الخطأ العشوائي.

تم تحليل البيانات احصائياً باستخدام برنامج System Analysis Statistical (SAS)

تم استخدام اختبار مربع كاي (Chi-square- 2) لمقارنة النسب المئوية لتوزيع الأنماط الجينية لكل طفرة في عينة ذكور الماعز المدروسة.

النتائج والمناقشة:

1. النسب المئوية و التكرار الأليلي للتراكيب الوراثية موقع الطفرة (1528 C\T)

أظهر التحليل باستخدام تقنية (sequence) عن طفرة نقطية في جين (HSP70) في الموقع (1528 C/T) وتم تحديد التركيب الوراثي لحيوانات التجربة كما هو موضح في الجدول (2) حيث كان يحتوي على ثلاثة أنماط وراثية: البري CC و الهجين CT والمتنحي الطافر TT . أظهرت النتائج أن قاعدة النيتروجين تغيرت من C إلى T في هذا الموقع ، ولم تؤدي هذه الطفرة إلى تغيير في الأحماض الأمينية ، و كانت نسبة التراكيب الوراثية 53 و 40 و 7٪ لـ (CC ، CT ، TT) على التوالي و التكرار الأليلي كان 0.73 للأليل C و 0.27 للأليل T. أظهر اختبار مربع كاي (x2) عدم وجود فرق معنوي بين التراكيب الوراثية إذ يدل على إن العشيرة كانت في حالة توازن هاردي وينبرغ ($p> 0.05$) مما يشير إلى أن ضغط الإنتخاب على هذا الموقع كان ضعيفا.

الجدول(2):العدد والنسب المئوية والتكرار الأليلي للتغاير الوراثي في الموقع (1528 C/T) من جين HSP70.

التركيب الوراثي	العدد	النسبة المئوية%
CC	8	53
CT	6	40
TT	1	7
المجموع	15	100
قيمة مربع كاي	0.038	
التكرار الأليلي		
C	0.73	
T	0.27	
NS P>0.05		

2. دليل الحرارة و الرطوبة (THI)

يبين الجدول (3) بأن دليل الحرارة والرطوبة كان مرتفع قيمته أكثر من 25,6 خلال مدة التجربة و يشير ألى تعرض الحيوانات لإجهاد شديد للغاية.

الجدول(3): يبين دليل الحرارة و الرطوبة خلال مدة الدراسة في بيئة حيوانات التجربة

الفترة	دليل الحرارة والرطوبة THI					
	15-1		31-16		المتوسط الشهري	
	صباحا	بعد الظهر	صباحا	بعد الظهر	صباحا	**بعد الظهر**
حزيران	——	——	28.67	37.44	28.67	**37.44**
تموز	29.30	39.27	30.31	40.14	29.80	**39.70**
آب	31.23	41.09	30.64	38.40	30.94	**39.74**
أيلول	28.43	36.56	———	———	28.43	**36.56**
المعدل العام	29.65	38.97	29.87	38.66	29.46	**38.36**

THI دليل الحرارة والرطوبة.

3. تأثير التراكيب الوراثية للطفرة (1528C\T) في الصفات الفسلجية

يبين الجدول (4) عدم وجود فروق معنوية بين التراكيب الوراثية في القياسات الصباحية لمعدل التنفس و درجة حرارة المستقيم لجميع الاشهر أما درجة حرارة الجلد فكان هناك فرق معنوي في شهر تموز فقط حيث سجل التركيب الوراثي CC أعلى درجة حرارة جلد صباحا و كانت ($C^0$39.73) أما القياسات بعد الظهر في شهر تموز سجلت التراكيب الوراثية وجود فروق معنوية حيث تفوق التركيب الوراثي TT بكونه الأقل في معدل التنفس و درجة حرارة المستقيم و الجلد يليه التركيب الوراثي CT أما التركيب الوراثي CC فقد سجل أعلى متوسطات في معدل التنفس حيث كانت(78.56 نفس/دقيقة) و درجة حرارة المستقيم والجلد فكانت ($C^0$40.10) أما شهري آب و أيلول فلم يسجل فروق معنوية في جميع القياسات عدا معدل التنفس لشهر آب بعد الظهر وجد فرق معنوي بين التراكيب الوراثية فسجل التركيبين الوراثيين TT و CT أقل معدل تنفس كان (50.00 ، 56.83 نفس/دقيقة)على التوالي بينما سجل التركيب الوراثي CC أعلى معدل تنفس فكان (66.50 نفس/دقيقة) يتضح من الجدول إنخفاض معدل التنفس ودرجة حرارة المستقيم والجلد للأليل T عليه فإن رفع نسبة تكرار هذا الأليل من خلال الأنتخاب سيؤثر إيجابا بزيادة القابلية على تحمل ظروف البيئية الحارة ، و قد يعود سبب ذلك الى أن الطفرة و إن لم تغير في الحامض الأميني إلا إنها قد تؤثر على معدل الترجمة من خلال تغيير في إستخدام القواعد أثناء إنتاج البروتين من شريط mRNA (Kimchi-Sarfaty و أخرون،2007) ، إذ قد تكون هذه الطفرة ساهمت في زيادة التعبير عن بروتين الصدمة الحرارية و بالتالي انعكست على زيادة القابلية على تحمل الظروف البيئية الحارة ، حيث وجد El-Zarei و أخرون (2019) زيادة التعبير عن بروتين الصدمة الحرارية (HSP70) في الماعز المتأقلمة مع البيئة الحارة مقارنة مع الماعز غير المتأقلمة.

الجدول(4): يبين علاقة التركيب الوراثي في الموقع (1528 C/T) مع عدد مرات التنفس ودرجة حرارة المستقيم والجلد

الشهر	تراكيب وراثية موقع 1582	العدد	عدد مرات التنفس نفس/ دقيقة		درجة حرارة المستقيم درجة مئوية		درجة حرارة الجلد درجة مئوية	
			صباحا	بعد الظهر	صباحا	بعد الظهر	صباحا	بعد الظهرا
تموز	CC	8	**B a** 54.93 ± 2.85	**A a** 78.56 ± 3.59	**A a** 39.80 ± 0.157	**A a** 40.10 ± 0.095	**A a** 39.73 ± 0.127	**A a** 40.10 ± 0.095
	CT	6	**B a** 54.66 ± 2.45	**A b** 74.91 ± 0.800	**A a** 39.72 ± 0.161	**A ba** 39.86 ± 0.133	**A ba** 39.49 ± 0.202	**A ba** 39.86 ± 0.133
	TT	1	**B a** 57.50	**A b** 71.00	**A a** 39.15	**A b** 39.70	**A b** 39.20	**A b** 39.70
آب	CC	8	**B a** 41.62 ± 1.68	**A a** 66.50 ± 2.15	**A a** 39.58 ± 0.197	**A a** 39.76 ± 0.153	**A a** 39.66 ± 0.174	**A a** 39.78 ± 0.139
	CT	6	**B a** 37.16 ± 1.55	**A ab** 56.83 ± 1.66	**A a** 39.41 ± 0.093	**A a** 39.76 ± 0.186	**A a** 39.29 ± 0.077	**A a** 39.56 ± 0.151
	TT	1	**B a** 38.00	**A b** 50.00	**A a** 39.45	**A a** 39.65	**A a** 39.45	**A a** 39.60

أيلول	CC	8	**B a**	**A a**	**A a**	**A a**	**A a**	**A a**
			40.25 ± 1.94	66.75 ± 1.76	39.71 ± 0.099	39.61 ± 0.126	39.71 ± 0.132	39.53 ± 0.154
	CT	6	**B a**	**A a**	**A a**	**A a**	**A a**	**A a**
			38.16 ± 1.88	60.50 ± 1.99	39.45 ± 0.062	39.33 ± 0.120	39.39 ± 0.074	39.24 ± 0.155
	TT	1	**B a**	**A a**	**A a**	**A a**	**A a**	**A a**
			39.00	62.00	39.75	39.60	39.65	39.45

القيم تمثل المتوسطات ± الخطأ القياسي الأحرف الكبيرة المختلفة تدل على وجود فرق معنوي ($P\leq0.05$) صباحا وبعد الظهر الأحرف الصغيرة المختلفة تدل على وجود فرق معنوي($P\leq0.05$) بين التراكيب الوراثة ضمن العمود الواحد لكل شهر.

4. تأثير التراكيب الوراثية للطفرة (1528C\T) في الصفات الدموية

يبين الجدول (5) عدم وجود فروق معنوية بين التراكيب الوراثية لصفات الدم المقاسة صباحا وبعد الظهر عدا صفة عدد كريات الدم الحمراء(WBC) حيث وجد فرق معنوي بعد الظهر فسجل التركيب الوراثي TT أعلى قيمة و كانت (15.0) يليه التركيبين الوراثيين (CT,CC) حيث كان (11.76,12.13) على التوالي . ذكر Al-Dujaily و Al-Hadithy (2015) بأن حجم الخلايا المرصوصة (PCV) لذكور الماعز العراقي المحلي الطبيعية هي (30– 40 %) وبمتوسط (34.9 %) وتركيز الهيموكلوبين (g/dL10 –14.3) بمتوسط (g/dL 11.9)، و في هذه الدراسة انخفض حجم الخلايا المرصوصة و تركيز الهيموكلوبين عن المتوسط الطبيعي لهما و هذه النتيجة تتفق مع ما وجده Sivakumar و أخرون(2010) حيث قد يعود سبب انخفاض PCV إلى زيادة الجذور الحرة على غشاء كرات الدم الحمراء الغني بمحتوى الدهون نتيجة الإجهاد الحراري مما يؤدي إلى تحلله، و قد يعود انخفاض تركيز الهيموكلوبين إلى كون أن الحيوان يقلل من تناول العلف تحت الإجهاد الحراري مما يؤدي إلى عدم توفر المغذيات الكافية لتكوين الهيموكلوبين (Srikandakumar واخرون ,2003) ، و على الرغم من عدم وجود فرق معنوي بين التراكيب الوراثية إلا إن التركيب الوراثي TT سجل أعلى قيمة لهذه الصفتين في قياس بعد الظهر حيث كان(PCV) (25.00 %) و (Hb) (g/dl 7.30) يليه التركيبين الوراثيين (CT وCC) . في هذه الدراسة كان عدد كريات الدم الحمراء (RBC) لجميع التراكيب الوراثية ضمن المستوى الطبيعي الأدنى الذي ذكره Al-Dujaily وAl-Hadithy (2015) لذكور الماعز العراقي المحلي و هي (11.9– 17.0×$\mu L/10^6$) بمتوسط (14.4 ×$\mu L/10^6$) ، و في هذه الدراسة تفوق التركيب الوراثيTT في قيمة (RBC) حيث سجل أعلى متوسط صباحا فكان (14.40×$\mu L/10^6$) و تفوق معنويا بعد الظهر فكان (15.0×$\mu L/10^6$) . إن عدد كريات الدم البيضاء(WBC) في هذه الدراسة كانت ضمن المستوى الطبيعي الذي ذكره Al-Dujaily و Al-Hadithy (2015) لذكور الماعز العراقي المحلي و هي (5500– 15500/µL) بمتوسط (11266 /µL) ، حيث في هذه الدراسة لم يسجل فرق معنوي بين التراكيب الوراثية لصفة (WBC) فكانت جميع القيم متقاربة.سجل في هذه الدراسة حصول انخفاض معنوي في تركيز الهيموكلوبين Hb و حجم الخلايا المرصوصة PCV بعد الظهر مقارنة مع الصباح و هذه النتيجة تتفق مع ما وجده Seixas وآخرون (2017) في دراسة على الاغنام إذ وجد انخفاضاً معنوياً في Hb و PCV بعد الظهر مقارنة مع الصباح، قد يدل ذلك على ان حيوانات التجربة جميعها كانت تحت اجهاد حراري حيث تتفق هذه النتيجة مع Sivakumar و آخرون (2010) إذ وجد حصول انخفاض معنوي في قيمة Hb و PCV في الماعز المجهدة , قد يعود انخفاض قيمة Hb وPCV بعد الظهر ناتج عن ارتفاع درجات الحرارة بعد الظهر عليه يزداد إقبال الحيوانات على تناول كميات أكبر من الماء لمواجهة

الإجهاد الحراري إذ ينقل الماء عن طريق الدورة الدموية لاستخدامه في التبريد بالتبخير مما يؤدي إلى حصول التخفيف الدموي وتتفق هذه النتيجة مع ماتوصل اليه (El-Nouty وآخرون, 1990) .

الجدول(5): تأثير التركيب الوراثي في الموقع(1528 C/T) على صفات الدم

التركيب في الموقع 1528	العدد	PCV %		Hb (g/dl)		RBC µL/ 10^6×		WBC µL/ 10^3×	
		صباحا	بعد الظهر	صباحا	بعد الظهر	صباحا	بعد الظهر	صباحا	بعد الظهر
CC	8	A a 29.25± 0.977	B a 21.75 ± 0.750	A a 8.83 ± 0.256	B a 6.46 ± 0.190	A a 11.96 ± 0.693	A ab 12.13 ± 0.500	A a 12.5± 0.581	A a 13.57 ± 0.624
CT	6	A a 29.66 ± 1.14	B a 22.66 ± 1.02	A a 8.91 ± 0.372	B a 6.58± 0.257	A a 12.13 ± 0.860	A b 11.76 ± 0.480	A a 12.5± 0.564	A a 12.90 ± 0.719
TT	1	A a 28.00	B a 25.00	A a 8.30	B a 7.30	A a 14.40	A a 15.0	A a 12.60	A a 12.40

حجم الخلايا المرصوصة PCV, تركيز الهيموكلوبين Hb , عدد كريات الدم الحمر RBC, عدد كريات الدم البيضاء WBC , القيم تمثل المتوسطات ± الخطأ القياسي الأحرف الكبيرة المختلفة تدل على وجود فرق معنوي (P≤0.05) صباحا وبعد الظهر الأحرف الصغيرة المختلفة تدل على وجود فرق معنوي(P≤0.05) بين التراكيب الوراثية ضمن العمود الواحد.

يبين جدول (6) انخفاض في متوسط حجم كرية الدم الحمراء (MCV) حيث ذكر Al-Dujaily وAl-Hadithy (2015) MCV الطبيعي لذكور الماعز العراقي المحلي هو (20.5-32.5) فيمتو ليتر بمتوسط (24.3) فيمتو ليتر، و هذه النتيجة مشابهة إلى ما توصل إليه Abdelatif و أخرون(2009) حيث سجل انخفاض في قيمة (MCV) في الصيف مقارنة بالشتاء . بين Al-Dujaily وAl-Hadithy (2015) بان متوسط الهيموكلوبين في كرية الدم الحمراء (MCH) الطبيعي لذكور الماعز العراقي المحلي هو (6.8-8.8) بيكو غرام بمتوسط (8.2) بيكو غرام ، و وجد في هذه الدراسة انخفاض في قيمة (MCH) بعد الظهر و هذه النتيجة متوافقة مع Abdelatif و أخرون(2009) حيث سجل انخفاض قيمة (MCH) في الصيف مقارنة بالشتاء . أما متوسط تركيز الهيموكلوبين في الكريات الحمراء (MCHC) الطبيعي لذكور الماعز العراقي المحلي (30.6 – 36.9 g/dL) بمتوسط (34.0 g/dL) (Al-Dujaily وAl-Hadithy, 2015) ، وفي هذا البحث انخفضت هذه الصفة عن الحد الطبيعي الأدنى في قياس بعد الظهر حيث كانت (29.20, 29.08, 29.75) للتراكيب الوراثية TT وCT وCC على التوالي و الذي قد يعود إلى نتيجة انخفاض PCV وHb ، و قد يعود انخفاض مؤشرات الدم عن الحد الطبيعي ناتج عن تأثير التخفيف الدموي نتيجة إقبال الحيوانات على تناول كميات أكبر من الماء لمواجهة الإجهاد الحراري (El-Nouty و أخرون,1990).

الجدول(6): تأثير التركيب الوراثي في الموقع (1528 C/T) على MCV , MCH , MCHC

التركيب في الموقع 1528	العدد	MCV(فيمتو ليتر)		MCH(بيكوغرام)		MCHC(g/dl)	
		صباحا	بعد الظهر	صباحا	بعد الظهر	صباحا	بعد الظهر
CC	8	A a 25.07 ± 1.78	B a 18.20 ± 1.46	A a 7.56 ± 0.502	B a 5.41 ± 0.384	A a 30.25 ± 0.298	A a 29.75 ± 0.389
CT	6	A a 25.51 ± 1.980	B a 19.35 ± 0.869	A a 7.53 ± 0.621	B a 5.62 ± 0. 238	A a 30.04 ± 0.328	A a 29.08± 0.271

A a	A a	B a	A a	B a	A a	1	**TT**
29.20	29.64	4.87	5.76	16.67	19.44		

متوسط حجم كرية الدم الحمراء MCV , متوسط الهيموكلوبين في كرية الدم الحمراء MCH , متوسط كمية الهيموجلوبين في مجموعة كريات الدم الحمراء MCHC .القيم تمثل المتوسطات ± الخطأ القياسي الأحرف الكبيرة المختلفة تدل على وجود فرق معنوي ($P\leq0.05$) صباحا وبعد الظهر الأحرف الصغيرة المختلفة تدل على وجود فرق معنوي($P\leq0.05$) بين التراكيب الوراثية ضمن العمود الواحد.

5. تأثير التراكيب الوراثية للطفرة (1528C\T) في صفات الدم الكيموحيوية

يظهر في الجدول (7) عدم وجود فروق معنوية في القياسات الكيموحيوية بين التراكيب الوراثية عدا إنزيم الأسبارتات أمينو ترانسفيراز (AST) المقاس صباحا حيث سجل التركيب الوراثي CC أقل تركيز فكان (12.00) و يليه التركيبان الوراثيان (CT وCC) كانت (9.47,10.15) على التوالي أما في القياس المسائي سجل التركيب الوراثي TT أقل قيمة حسابياً حيث كانت (13.40) و كان الأقل انحرافاً بين قياس الصباح و بعد الظهر، و قد يدل ذلك على قابيلة هذا التركيب في تحمل تغير درجات الحرارة إذ ذكر Al-Thuwaini و أخرون(2019) بأن الحيوانات أو التراكيب الوراثية ألتي تظهر أقل انحراف في سمات الدم الفيزيائية و الكيميائية عند تغير درجات للحرارة تكون أكثر قابلية للتكيف مع الإجهاد الحراري. كما يلاحظ من هذا الجدول وجود ارتفاع عام في هذه الصفات بعد الظهر و هذه النتيجة تتفق مع دراسة أجراها AL-Khazrage و أخرون (2001); Ribeiro و أخرون (2018) على الماعز بينت ارتفاع هذه الإنزيمات أثناء الإجهاد الحراري ، في حين ذكرو Ocak و أخرون (2009)؛ Sharma و Kataria (2011) عدم وجود تغيرات معنوية في مستوى AST في الماعز أثناء الإجهاد الحراري ، و في هذه الدراسة وجد حصول ارتفاع في إنزيم AST في القياس بعد الظهر حيث إن إنزيمات ALT و AST تعتبر مؤشرات للضرر الحاصل على الكبد (Mahgoub و أخرون،2008 ; Olafadehan، 2011) ، و لوحظ ارتفاع هذه الإنزيمات خلال ارتفاع درجات الحرارة خصوصا بعد الظهر ، و قد يكون ارتفاع هذه الإنزيمات بسبب ارتفاع درجات الحرارة ألتي تؤدي إلى امتناع الحيوانات عن استهلاك العلف ولتعويض النقص ولحصول الحيوانات على الطاقة من المخزون في الجسم من البروتين تحول الأحماض الأمينية (Alanine وAspartine) إلى هيكل كاربوني بعملية (glucogenesis) حيث يفرز هرمون الكورتيزول من قشرة الغدة الكظرية ويحفز الكبد على إفراز الإنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين لتحويل الأحماض الأمينية إلى هيكل كاربوني يستغل للحصول على الطاقة (Banerjee ; 2000, Hafez و أخرون, 2015) . كذلك الحال بالنسبة لإنزيم ALP حيث ارتفع تركيزه بعد الظهر وهذه النتيجة تتوافق مع Helal و أخرون (2010) حيث ذكر بأن تركيز إنزيم ALP ارتفع معنويا في الماعز المتعرض للإجهاد الحراري إذ يشارك هذا الإنزيم في الحفاظ على بقاء الجسم في الحالة الطبيعية (homeostatsis) و كذلك لإنتاج الطاقة في جسم الحيوان (Swenson وReece,2005)،أو قد يكون بسبب زيادة قلوية الجسم نتيجة الإجهاد الحراري و زيادة عملية التنفس (Cunningham,2002) .

الجدول(7): تأثير التراكيب الوراثية في الموقع (1528 C/T) في صفات الدم الكيموحيوية

التركيب في الموقع 1528	العدد	AST (U/L)		ALT (U/L)		ALP (U/L)	
		صباحا	بعد الظهر	صباحا	بعد الظهرا	صباحا	بعد الظهر
CC	8	**B b**	**A a**	**B a**	**A a**	**B a**	**A a**
		9.47± 0.298	14.87± 0.763	11.66± 0.294	15.65± 0.865	27.06± 0.491	41.95± 1.47
CT	6	**B ba**	**A a**	**B a**	**A a**	**B a**	**A a**
		10.15 ±	15.21±	12.05±	14.78±	27.31±	44.70±

1.61	0.625	0.965	0.476	0.516	0.324		
A a	**B a**	**A a**	**A a**	**A a**	**B a**	1	**TT**
41.00	27.60	12.00	12.50	13.40	12.00		

القيم. (ALP) Alkaline phosphatase و (ALT) Alanine Aminotransferase و (AST) Aspartate Aminotransferase تمثل المتوسطات ± الخطأ القياسي الأحرف الكبيرة المختلفة تدل على وجود فرق معنوي ($P\leq0.05$) صباحا وبعد الظهر الأحرف الصغيرة المختلفة تدل على وجود فرق معنوي($P\leq0.05$) بين التركيب الوراثية ضمن العمود الواحد لكل شهر.

الاستنتاجات:

إن التركيب الوراثي TT كان الأفضل في كونه الأقل معنويا في معدل التنفس بعد الظهر شهري تموز و آب والأقل معنويا في درجة حرارة المستقيم و الجلد بعد الظهر شهر تموز يليه التركيب الوراثي CT ، و تفوق التركيب الوراثي TT معنويا في عدد كريات الدم الحمراء بعد الظهر يليه التركيب الوراثي CT ، و كان التركيب الوراثي TT الأقل انحرافاً بين قياس الصباح و بعد الظهر في إنزيم (AST) ، عليه فإن التركيب الوراثي TT كان أكثر قابلية للتكيف مع الإجهاد الحراري يليه التركيب الوراثي CT . نوصي بدراسة تأثير التركيبان الوراثيان TT و CT في عينة أكبر من الماعز .

المراجع:

البدري ,عادل عبد التواب ,حسن عبد الرحمن وعلي عبدالله القرعاوي (2004). مبادئ في الفزيولوجيا البيطرية . مطبعة جامعة الملك سعود .المملكة العربية السعودية.

الخزرجي ,وسن جاسم,حمزة مزعل الخزاعي و مي عبد القهار الشيخ (2020) . تحليل التباين الوراثي لإنتاج الحليب ومكوناته في المعز المحلي لجين مستقبل البرولاكتين(PRLR) .مجلة ديالى للعلوم الزراعية، 12 (1)عدد خاص بوقائع المؤتمر العلمي الرابع والدولي الأول للبحوث الزراعية.

العزاوي , صالح حسن جاسم (2011) . تأثير الخلط بين الماعز المحلي والشامي المستورد في بعض الصفات الإنتاجية تحت ظروف التربية المكثفة. إطروحة دكتوراه – كلية الزراعة - جامعة الموصل.

القدسي ,ناطق حميد وعبدالرزاق عبد الحميد الراوي (2021) استراتيجية تنمية الأصول الوراثية الحيوانية العراقية لمواجهة تغير المناخ جمهورية العراق ,وزارة التعليم العالي والبحث العلمي .

خليل , زينب سامي,صالح حسن العزاوي (2018) تقدير المعالم الوراثية وبعض العوامل غير الوراثية لإنتاج الحليب ومكوناته في الماعز المحلي و الشامي وسط العراق. مجلة ديالى للعلوم الزراعية، 10 (2):26-35.

Abdelatif, A. M., Ibrahim, M. Y., & Hassan, Y. Y. (2009). Seasonal variation in erythrocytic and leukocytic indices and serum proteins of female Nubian goats. *Middle-East J. Sci. Res*, 4(3), 168-174.

AL- dujaily A.H and AL- Hadithy H.AH. (2015) . The hematological parameters in clinically normal Iraqi local breed goats. *The Iraqi Journal of Veterinary Medicine*, 39(2), 12-16.

Alam, M. M., Hashem, M. A., Rahman, M. M., Hossain, M. M., Haque, M. R., Sobhan, Z., & Islam, M. S. (2011). Effect of heat stress on behavior, physiological and blood parameters of goat. *Progressive Agriculture*, 22(1-2), 37-45.

Al-Khazraji, A.A.H; K.H. Juma and M. K. Asofi (2001). Indigenous goat Iraq 3: blood parameters factors affecting them their relation with some performance . IPA. J. Agric Res., 11(2): 163-181.

Al-Thuwaini, T. M., Al-Shuhaib, M. B. S., and Hussein, Z. M.(2019). Heat shock protein 70 polymorphism associated with physio-biochemical parameters of Awassi and Arabi Iraqi sheep. *Euphrates Journal of Agriculture Science,* 11(4),84- 95

Attia, N. E. S. (2016). Physiological, hematological and biochemical alterations in heat stressed goats. *Benha Veterinary Medical Journal*, 31(2), 56-62.

Banerjee, D., Upadhyay, R.C., Chaudhary, U.B., Kumar, R., Singh, S., Ashutosh, D.T.K. and De, S. (2015) Seasonal variations in physio-biochemical profiles of Indian goats in the paradigm of hot and cold climate. *Biol. Rhythm Res.,* 46(2): 221-236.

Coles, E. H. (1986). Veterinary Clinical Pathology 4th ed. W.B. Saunders, Philadelphia: 11-41, 114-121.

Cunningham, J.G. (2002). Textbook of Veterinary Physiology. 3rd ed. W. B. Saunders, Philadelphia, PA.

El-Nouty, F. D., Al-Haidary, A. A., & Salah, M. S. (1990). Seasonal variation in hematological values of high-and average yielding Holstein cattle in semi-arid environment. *J King Saud Univ*, 2(2), 173-182.

El-Zarei, M. F., Alseaf, A. M., Alhaidary, A. A., Mousa, E. F., Okab, A. B., Samara, E. M., & Abdoun, K. A. (2019). Short-term heat shock proteins 70 and 90 mRNA expression profile and its relation to thermo-physiological parameters in goats exposed to heat stress. International journal of biometeorology, 63(4), 459-465.

Hafez.B and E.S.E. Hafez.(2000).Reproduction in farm Animals.7th edn.lippiocoh Williams andWilkins.philadelphia.Baltimore,New York,London Buenos Aires,UK.pp;287-288.

Hean, P. J . (1995) . Principle of Hematology. Edited by: L. H. Yong. ; W. B. Publishers. London.

Helal, A., Hashem, A. L. S., Abdel-Fattah, M. S., & El-Shaer, H. M. (2010). Effect of heat stress on coat characteristics and physiological responses of Balady and Damascus goats in Sinai, Egypt. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 7(1), 60-69.

Kimchi-Sarfaty, C., Oh, J. M., Kim, I. W., Sauna, Z. E., Calcagno, A. M., Ambudkar, S. V., & Gottesman, M. M. (2007). A" silent" polymorphism in the MDR 1 gene changes substrate specificity. Science, 315(5811), 525-528.

Mahgoub, O., Kadim, I. T., Tageldin, M. H., Al-Marzooqi, W. S., Khalaf, S. Q., & Ali, A. A. (2008). Clinical profile of sheep fed non-conventional feeds containing phenols and condensed tannins. *Small Ruminant Research*, 78(1-3), 115-122.

Marai, I. F. M., Ayyat, M. S., & Abd El-Monem, U. M. (2001). Growth performance and reproductive traits at first parity of New Zealand White female rabbits as affected by heat stress and its alleviation under Egyptian conditions. Tropical animal health and production, 33(6), 451-462.

Mishra, R. P. (2009). Role of housing and management in improving productivity efficiency of goats. Goat production-processing of milk and meat, 45.

Ocak, S., Darcan, N., Cankaya, S., & Inal , T. C. (2009). Physiological and biochemical responses in German Fawn kids subjected to cooling treatments under Mediterranean climate conditions. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 33(6), 455-461.

Okoruwa, M. I. (2014). Effect of heat stress on thermoregulatory, live bodyweight and physiological responses of dwarf goats in southern Nigeria. *European Scientific Journal*, 10(27).

Olafadehan, O. A. (2011). Changes in haematological and biochemical diagnostic parameters of Red Sokoto goats fed tannin-rich Pterocarpus erinaceus forage diets. *Veterinarski arhiv*, 81(4), 471-483.

Radkowska, I., & Herbut, E. (2014). Hematological and biochemical blood parameters in dairy cows depending on the management system. *Animal Science Papers & Reports*, 32(4).

Ribeiro, N. L., Germano Costa, R., Pimenta Filho, E. C., Ribeiro, M. N., & Bozzi, R. (2018). Effects of the dry and the rainy season on endocrine and physiologic profiles of goats in the Brazilian semi-arid region. *Italian Journal of Animal Science*, 17(2), 454-461.

Seixas, L., de Melo, C. B., Tanure, C. B., Peripolli, V., & McManus, C. (2017). Heat tolerance in Brazilian hair sheep. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 30(4), 593.

Sharma AK, Kataria N (2011). Effect of extreme hot climate on liver and serum enzymes in Marwari goats. *Indian Journal of Animal Science* , 81:293-295.

Sivakumar, A. V. N., Singh, G., & Varshney, V. P. (2010). Antioxidants supplementation on acid base balance during heat stress in goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(11), 1462-1468.

Srikandakumar, A., Johnson, E. H., & Mahgoub, O. (2003). Effect of heat stress on respiratory rate, rectal temperature and blood chemistry in Omani and Australian Merino sheep. *Small Ruminant Research*, 49(2), 193-198.

Swenson, M.J. and Reece, W.O. 2005. Duke's Physiology of Domestic Animals. 12th ed., Panima Publishing Corporation, New Delhi and Bangalore, India, pp. 15-17, 267-268, 459, 517-521.

Study of the Genetic Phenotypes of the Heat Shock Gene (HSP70) and its Relationship to some Hematological and Biochemical Characteristics of Local Iraqi Male Goats During the Summer

Salih Hassan Al-Azzawi [(1)]and Abdulmuttaleb Hazim khaleel[(1)]

(1). Department of Animal Production،College of agriculture، University Diyala،Iraq.

(*Corresponding author: Abdulmuttaleb khaleel E-mail: abdmtaleb85@gmail.com)

Received:15/12/2021 Accepted:9/05/2022

Abstract

The heat shock protein 70 (HSP70) gene is important as it affects the heat endurance of animals through its participation in the protein folding process. The current study was conducted at the ruminant farm of the College of Agriculture at the University of Diyala. This study aimed to demonstrate the effect of a single polymorphism in the sequence encoding the heat shock gene HSP70 on some hematological and biochemical characteristics of Iraqi male goats. The DNA sample isolated from 15 male goats was amplified by PCR technique for the coding region on the HSP70 gene. Single nucleotide polymorphism (SNP) sequencing was used to detect the DNA sequence in which a site mutation (1528 C/T) was detected. Hematological characteristics (PCV bound cell volume, hemoglobin Hb concentration, RBC count, WBC count, MCV, mean hemoglobin in MCH and the mean amount of hemoglobin in the MCHC group) were also evaluated. and biochemical characteristics alkaline phosphatase (ALP), alanine aminotransferase (ALT) and aspartate amino transferase (AST). The results

showed the presence of three genotypes CC, CT and TT with percentages (0.07, 0.40, 0.53), respectively, and the frequency of alleles C and T (0.27, 0.73 respectively) and in Hardy Weinberg equilibrium. The animals were under severe heat stress and an increase in the number of respirations was noted And the afternoon rectal and skin temperature in animals with the genotype CC for the month of July and the number of respirations for the month of August in the afternoon, as it was noted a decrease in the number of red blood cells for the CT group in the afternoon for the month of July and a decrease in the aminotransferase enzyme (AST) for the CC group. The TT genotype was significantly superior to the red blood cell count in the afternoon, and a significant decrease in the aminotransferase enzyme (AST) of the CC group was observed in the morning measurement, but the afternoon measurement was the lowest TT group in this trait. As for the differences within the groups, most of them were significant for the studied traits.

Key words: HSP70, hematological, biochemical, goats