المظاهر الوراثية المتعددة للإلفاكازين وعلاقتها مع إنتاج الحليب وتكوينه في الأغنام العواس

حسن عماد المصري[1] وعبد الرحمن الدرويش[1] وهبة البدعي*[1]

(1). قسم الإنتاج الحيواني، كلية الزراعة، جامعة حلب، حلب، سورية.

(*للمراسلة: م. هبة البدعي. البريد الإلكتروني: hibaalbadee@gmail.com).

تاريخ الاستلام: 2020/06/02 تاريخ القبول: 2020/07/28

الملخص:

إنّ تعدد المظاهر الوراثية لبروتين الحليب له أهمية كبيرة في الإنتاج الحيواني، بسبب تأثيره في تكوين الحليب وجودته وفي المعايير الإنتاجية. يمثل إلفاكازين α-s1-casein البروتين الرئيسي للحليب وله دور مهم في نقل فوسفات الكالسيوم في الحليب. تم تحديد المظاهر الوراثية المختلفة لمورثαs1-CN في إكسون3 وارتباطها مع صفات أداء الحليب من خلال تفاعل البلمرة المتسلسل–تقنية التباين في أطوال القطع المقيدة (PCR-RFLP) لمائة عينة من الدم باستخدام إنزيم التقييد Mbo II, أيضاً تم إجراء اختبار مربع كاي ($\chi 2$) لاختبار مدى ملاءمة توقعات توازن هاردي وينبرج (HWE) لتوزيع الأنماط الوراثية لـαs1-CN وذلك في الأغنام العواس المحلية في منيان، غرب مدينة حلب، خلال المدة 2017 - 2018. وقد تم العثور على أليلين (A و C) في موضع αs1-CN مع تكرارٍ أعلى للأليل C, في حين تم تحديد ثلاث تراكيب وراثية (AA و AC وCC), كما تم العثور على انحرافٍ معنوي ($P<0.05$) عن توازن هاردي وينبرج. من جهة أخرى فقد أظهرت نتائج التحليل الاحصائي تأثيراً معنوياً للتراكيب الوراثية لـαs1-CN في إنتاج الحليب ونسبة البروتين ($P<0.01$), في حين لم تُؤثر في مكونات الحليب الأخرى ($P>0.05$). تُشير النتائج إلى إمكانية وجود عملية انتخاب مستقبلية لتحسين جودة الحليب في الأغنام العواس، وبالتالي يمكن استخدام معلومات التركيب الوراثي لـαs1-CN في استراتيجيات انتخاب مخزون وراثي لزيادة إنتاج حليب الأغنام مع نسبة بروتين أعلى، وذلك بمساعدة الواسمات لزيادة معدل الكسب الوراثي.

الكلمات المفتاحية: المظاهر الوراثية لـαs1-CN, بروتينات الحليب، PCR-RFLP, الأغنام العواس.

المقدمة:

في العقود القليلة الماضية، تم استخدام المناهج الوراثية الجزيئية في التحسين الوراثي للحيوانات. وقد كان هناك حماسٌ كبير لاستخدام تكنولوجيات الوراثة الجزيئية في التعرف على واسماتٍ محددة في الـDNA مرتبطة بالصفات الهامة اقتصادياً من أجل جعل برنامج التربية أكثر فعالية من خلال الانتخاب المبكر للحيوانات الصغيرة كمخزون وراثي مستقبلي (Archana, 2013). وتعتمد كفاءة انتخاب الصفات الكمية المعقدة على تحديد المورثات المرشحة المسؤولة عن هذه الصفات، بالإضافة إلى تحديد المظاهر الوراثية المتعددة لـDNA المسببة لهذه المورثات (Wu *et al.*, 2014), إذ يُوفر التباين الوراثي لهذه المورثات باباً مفتوحاً لتحسين إنتاج الحليب من خلال استخدام برامج التحسين الوراثي (AbuKhaizaran, 2013). وإن أكثر المورثات المرشحة التي

تم تحليلها حتى الآن بشكلٍ مكثف في الأغنام هي مورثات بروتين الحليب, إذ كانت محل تركيز الباحثين باعتبارها مورثاتٍ مستهدفة تلعب دوراً حاسماً عند الرغبة في تربية الحيوان (Moioli *et al.*, 2007). ويُعد نهج المورثات المرشحة من أبرز الطرق الحيوية للبحث عن الواسمات الوراثية المتعلقة بصفات الإنتاج واستكشاف المظاهر الوراثية المتعددة لمورثات البروتين. وقد قيمت معظم دراسات الارتباط بين المظاهر الوراثية المتعددة لبروتين الحليب وخصائص أداء الحليب في الأغنام بشكلٍ أساسي تأثيرات المورثات المفردة, وتم الكشف عن بعض النتائج المثيرة للجدل (Amigo *et al.*, 2000; Barillet et al., 2005; Barillet, 2007; Corral *et al.*, 2013).

الكازينات هي البروتينات الرئيسية في حليب الأغنام وتشكل من 76 – 83 % من إجمالي البروتين (Hinrichs, 2004; Park *et al.*, 2007). داخل الكازين يتم تمييز أربعة أنماط αs1-Casein و αs2-Casein و β-Casein و κ-Casein. ويتم ترجمة β- CN وαs1- CN بكفاءة أكثر من αs2- CN وκ-CN بحوالي من 3 إلى 4 أضعاف (Bevilacqua *et al.*, 2006), لذلك تتراوح النسب المئوية للكازينات على النحو التالي: κ-CN (7.0- 17.4%) و αs2-CN (8.0 - 16.4%) و αs1-CN (32.0-39.9%) و β-CN (37.0-56.5%) (Moatsou *et al.*, 2004; Bramanti *et al.*, 2003). تُشكل الكازينات مجموعة غير متجانسة من البروتينات الفوسفورية, وتلعب دوراً وظيفياً مغذياً كمصدر للأحماض الأمينية والكالسيوم والفوسفور لحديثي الولادة (Holt and Sawyer, 1988), كما تشكل البنية الأساسية للجبن, ويعتمد إنتاج الجبن وجودته على مقدارها (Hinrichs, 2004). يتم تشفير الكازينات (αs1-, β-, αs2-, κ-casein) بواسطة مورثات محددة (CSN1S1, CSN2, CSN1S2, CSN3) نُظمت في مجموعة داخل جزء من الـDNA (مساحته حوالي 250 كيلو بايت) على الكروموسوم6 (Ferretti *et al.*, 1990; Threadgill and Womack, 1990). يقع αs1-CN قريباً جداً من β -CN يليه αs2 -CN ثم κ -CN. تتماثل الكازينات αs1- CN و αs2- CN و β-CN في الأغنام والأبقار والماعز في البنية الهيكلية، في حين يختلف هيكل κ -CN عن بقية الكازينات، مما يؤكد أنه لم ينشأ من نفس المورث السلفي مثل المورثات الأخرى (Holt and Sawyer, 1988). إلفاكازين هو بروتين الحليب الرئيسي, وله دور في نقل فوسفات الكالسيوم في الحليب, كتلته الجزيئية (24.306 Da) ويحتوي على (214) حمضاً أمينياً (http://www.uniprot.org/uniprot/P04653/2010).

تُعد المظاهر الوراثية للكازين مهمة ذلك لأن الارتباطات بالمعلمات الكمية والنوعية للحليب كانت موصوفة خاصةً فيما يتعلق بتكوين بروتين الحليب الذي يُؤثر في الخصائص التكنولوجية للحليب في الأبقار والماعز (Boettcher *et al.*, 2004; Martin *et al.*, 2002). في البداية لم تكن دراسات الارتباط الأولى في الأغنام شاملة, فقد تم تحليل تأثير المورثات الفردية في الغالب, ولم يتم تضمين أياً من أنماط الكازين في دراسات الارتباط وكشفت عن نتائج متناقضة, (Amigo *et al.*, 2000; Barillet *et al.*, 2005), فعلى سبيل المثال أظهر حليب الأغنام المحتوي على التركيب الوراثي αs1-CN CC نسبتي بروتين ودهن أعلى من حليب AC و CD و DD و CX (Chianese *et al.*, 1997; Pirisi *et al.*, 1999; Mroczkowski *et al.*, 2004), لذلك كان للحليب αs1-CN CC خصائص أفضل لصنع الجبن من حليب CD وDD (Chianese *et al.*, 1997; Pirisi *et al.*, 1999). ووفق ما وصفه (Wessels *et al.*, 2004), أظهر التركيب الوراثي αs1-CN CH تأثيراً إيجابياً معنوياً في إنتاج ونسبة الدهن (Giambra *et al.*, 2010d, 2011) وميلاً لزيادة إنتاج الحليب. من ناحية ثانية كان التركيب الوراثي αs2-CN AB مفيداً بشكلٍ كبير مقارنةً مع AA في أغنام الفرزيان الشرقية الألمانية لإنتاج الحليب والدهن (Wessels *et al.*, 2004). علاوةً على ذلك فقد تم تحديد ارتباطاتٍ معنوية بين s2-CN B وإنتاج ونسبة البروتين (Giambra et al., 2010d, 2011;

αs2-CN A و B. Giambra and Erhardt, 2012b) إلى جانب ذلك فقد حدد (Corral *et al.*, 2013) آثاراً معنوية للأليلين في تكوين الحليب. وأثبت (Chianese *et al.*, 1995) بأن الأليل β-CN A قد ارتبط مع ارتفاع نسبة كل من البروتين والمواد الصلبة غير الدهنية والمواد الصلبة الكلية مقارنةً مع الأليل G (Caio *et al.*, 2007). وربط (Corral *et al.*, 2010) الأليل β-CN G مع زيادة إنتاج الحليب، في حين أدى الأليل A إلى زيادة نسبتي الدهن والبروتين، ولم يتم تأكيد الارتباط الأخير من قبل (Giambra and Erhardt, 2012b). وفي أغنام ميرينو الإسبانية، وجد (Corral *et al.*, 2010) ارتباطاً معنوياً إيجابياً بين K1K4 وK3K3 κ-CN وإنتاج الحليب. وعلى الرغم من تضمين بعض أنماط الكازين في تحاليل الارتباط في حالاتٍ قليلة (Corral *et al.*, 2010; Giambra *et al.*, 2010d, 2011), غير أن المعرفة الحالية حول أنواع الكازين في الأغنام تُعد نادرة جداً, لا سيما فيما يتعلق بخصائص أداء الحليب (Corral *et al.*, 2013). تم الكشف عن تعدد المظاهر الوراثية لبروتين الحليب بطرقٍ كهربائية في α-lactalbumin (Russo *et al.*, 1979; Dall'Olio *et al.*, 1989), و (Chianese *et al.*, 1996) αs1-casein, و β-casein (Chiofalo and Micari, 1987), αs2-casein (Chessa *et al.*, 2003). ولكن التوصيف الحيوي الكيميائي، وكذلك دراسات العزل الوراثي غير متوفرة. ومنذ ما يقرب 40 عاماً تم عزل جزيئين من بروتين (Alais and Jolle`s, 1966) κ-casein، ولكن لم يتم اقتراح تعدد المظاهر الوراثية على مستوى البروتين. وفي الآونة الأخيرة تم العثور على بعض المتغيرات البروتينية غير المتوازنة في αs1-casein وαs2-casein (Boisnard *et al.*, 1991; Ferranti *et al.*, 2001). هذه الحقيقة تجعل دراسة التباين الوراثي للكازين على مستوى البروتين أكثر تعقيداً. علاوةً على ذلك فإنّ تعدد المظاهر الوراثية للبروتين تُشير إلى ضرورة دراسة تباين بروتين الحليب في الأغنام على مستوى الـDNA أيضاً. توفر تقنيات الـDNA الجديدة الفرصة لتحديد المظاهر الوراثية بوضوح، لاكتشاف المزيد من التباين الوراثي، وتطوير اختباراتٍ تحليلية مناسبة بشكلٍ خاص للتركيب الوراثي لبروتين الحليب. وقد تم بالفعل تطوير اختبار PCR- RFLP لتحديد D و C و (Pilla *et al.*, 1998) αs1-casein A، وB و β-lactoglobulin A على مستوى الـDNA في الأغنام (Feligini *et al.*, 1998), وتم استخدام (AS)-PCR لتحديد αs1-casein D (Ramunno *et al.*, 1997), كما تم استخدام PCR-SSCP لتحليل αs1-CN و β-CN و κ-CN, وتم العثور على مظاهر وراثية متعددة لكل من αs1-CN و β-CN (Bastos *et al.*, 2001).

تمت دراسة إلفاكازين (αs1- casein) بعمق في المجترات, فقد تم التعرف على 8 أليلات لـαs1-CN (A و B و C و D و E و F و G و H) في الأغنام حتى الآن (Chianese, 2008; Wessels *et al.*, 2004). وقد أجريت العديد من الدراسات حول تعدد المظاهر الوراثية للمورثات التي تشفر هذا البروتين في عدة سلالات، لتكشف عن وجودها مع تغير تكرار الأليلات المختلفة اعتماداً على السلالة (Kevorkian *et al.*, 2008; Sztankóová *et al.*,2012). ومن هذه الأليلات, تم توصيف ثلاث أليلات رئيسية A وC وD من قبل (Ferranti *et al.*,1995), فيما بعد تم توصيف الأليل E (Chianese *et al.*, 2007). الاختلافات في الأليلات الثلاثة (A وC وD) هي استبدال حمض أميني واحد, والذي يؤثر في درجة الفسفرة (Amigo *et al.*, 2000; Ferranti *et al.*, 1995), ويختلف الأليل C عن A بوجود Pro بدلاً من Ser في الموقع 13، في حين يتميز الأليل D ببديلٍ آخر في الموقع 68. في الآونة الأخيرة تم العثور على انتقال T→C في إكسون 17 (Ceriotti *et al.*, 2004)، ما أدى إلى تبادل في الأحماض الأمينية Ile186→Thr186 غير محدد على مستوى البروتين بواسطة الطرق القياسية, ولكن يمكن اكتشافه على مستوى الـDNA بواسطة تفاعل البلمرة المتسلسل (Ceriotti *et al.*, 2005) كما هو موضح في الجدول (1).

الجدول (1) أليلات αs1-CN مع تعدد المظاهر الوراثية في الموقع 186:

الأليل αS1-CN	موقع الحمض الأميني		
	13	68	186
A	Ser	Ser	(*) Ile
C	Pro	Ser	Ile / Thr
D	Pro	Asn	Ile

(*) الحمض الأميني الملحوظ في تسلسل بنية البروتين الأساسية التي يؤديها (Ferranti *et al.*, 1995).

الأليل الأكثر شيوعاً هو الأليل C, إذ ظهر في جميع سلالات الأغنام بتكرارٍ تراوح من 0.485 في أغنام Sarda حتى 0.890 في أغنام Segureña (Chianese *et al.*, 1996; Amigo *et al.*, 2000). سبق وصف الأليل D على أنه الأليل الويلزي نظراً لاكتشافه لأول مرة في أغنام الجبل الويلزية (King, 1966), وتم وصف التأثير السلبي لهذا الأليل في تكوين الحليب وخواصه التكنولوجية من قبل (Pirisi *et al.*, 1999; Piredda *et al.*, 1993). الدراسات التي تمت عن الأليلين B و G هي قيد التقدم (Chianese, 2008), في حين أن الأليلين E و F لم يتم توصيفهما بشكلٍ كبير حتى الآن. ومع ذلك تم تحديد الأليلين E و F بتكراراتٍ منخفضة في السلالات الإيطالية فقط (Chianese *et al.*, 1996; Pirisi *et al.*, 1999). ومن المعروف أن الأليل E ناتج عن حذف بقايا الأحماض الأمينية من 70 إلى 77(Chianese *et al.*, 2007). وقد كان (Wessels *et al.*, 2004) أول من وصف الأليل H المعروف سابقاً باسم "X"، والذي تم اكتشافه أيضاً من قبل (Giambra *et al.*, 2011) في العديد من قطعان أغنام الفرزيان الشرقية في ألمانيا وهولندا, فيما ظهر الأليل I للمرة الأولى في سلالة Gray Horned Heath بتكرارٍ وصل إلى 0.029 (Giambra *et al.*, 2010b). ويتميز الأليلان H و I بفقدان ثمانية أحماض أمينية، والأليل H أقل بنسبة 74% بالمقارنة مع الأليل المرجعي C (Giambra *et al.*, 2011). وهكذا فمن أجل حدوث هذه الأليلات وتجنب الخلط بينها، تُعد اختبارات المقارنة ضرورية لإثبات أو دحض التطور المقترح لـαs1-CN كما حدث بالفعل في الماعز (Prinzenberg *et al.*, 2005). يُعد تحديد الأليلات المتعددة للكازين وتحليلها في سلالات أغنام الحليب أمرٌ بالغ الأهمية لجوانبٍ مختلفة لاسيما حساسية الإنسان تجاه منتجات الحليب المختلفة, إذ يُضيف تحديد الأليلات الجديدة ووصف آثارها ولو جزئياً مزيداً من المعرفة حول سلالات الأغنام المحلية في جميع أنحاء العالم, ويزيد من الاهتمام بأحد بروتينات الحليب الأكثر تمثيلاً في الأغنام وهو الكازين, ويؤدي إلى ظهور تراكيبٍ وراثية جديدة مثل CA وCB وαs1-CN CH (Giambra *et al.*, 2010d), ويستكمل الحد الممكن لتباين الأليل والتركيب الوراثي مع تأثيراتٍ مختلفة محتملة (Giambra *et al.*, 2011), كذلك يُضيف معلوماتٍ جديدة عن التباين الوراثي للأنواع أو السلالات التي يتم فحصها قليلاً، ويُتيح فرصة لإجراء تحقيقٍ جديد في مجال بروتين الحليب في الأغنام، بما في ذلك إمكانية اختيار الأليلات ذات الخصائص المواتية في المستقبل (Giambra and Erhardt, 2012b). ونظراً لأن αs1-CN يلعب دوراً مهماً في إنتاج بروتين الحليب في الأغنام (Giambra *et al.*, 2011), فمن الضروري تحليل المظاهر الوراثية المتعددة لهذا المورث في سلالات أغنام الحليب المختلفة. وهناك حاجة للبحث داخل الأغنام العواس وغيرها من سلالات أغنام الحليب المهمة مثل العساف أو Lacaune، والتي لم يتم تحليل التباين الوراثي لبروتين الحليب فيها بعد على نطاقٍ واسع. وللمساهمة في معرفة أكثر تفصيلاً، تضمن هذا البحث تقدير التنوع الوراثي لـαs1-CN. وفي هذه الدراسة تم الكشف عن التباين الوراثي لـαs1-CN في مجموعة من الأغنام العواس المحلية على مستوى الـDNA باستخدام تحليل PCR-RFLP. قد يكون تقييم التباين الوراثي لـαs1-CN مفيداً للتحسين الوراثي لأغنام العواس، والتي تمثل السلالة الأهم والأكثر انتشاراً من بين السلالات المحلية وتتكيف بشكلٍ جيد مع ظروف التربية المنخفضة المدخلات. من ناحية ثانية قد يساعد تقدير التنوع الوراثي لهذا المورث في فهم التركيب الوراثي لأغنام العواس والتي تتميز بعدم التجانس الكبير فيما بينها. وهناك حاجة إلى معرفة أعمق بالتباين الوراثي

للكازين في هذه السلالة من الأغنام المحلية، ولا سيما CSN2 وCSN3, لاستخدامها في دراسات التنوع البيولوجي وفي استكشاف العلاقات بين المظاهر الوراثية المتعددة والصفات ذات الأهمية الاقتصادية مثل الإنتاج الكمي والنوعي والخصائص التكنولوجية والغذائية للحليب (Ceriotti *et al.*, 2004). من خلال هذا النهج تم اقتراح المورث الأكثر أهمية في برامج التربية لتحسين أداء الحليب وهو αs1-CN كمورث مرشح وظيفي يُؤثر في معايير إنتاج الحليب وتكوينه, لذلك كان هدف الدراسة الحالية هو تحليل مساهمة هذا المورث في صفات إنتاج الحليب وتكوينه في قطيع من الأغنام العواس من خلال التنميط الوراثي وتسلسل هذا المورث, إذ تعرض هذه الدراسة بعض المواقع الوراثية لأغنام العواس بحثاً عن متغيراتٍ وراثية محتملة لـαs1-CN, وتقرر تكرارها في الهدف النهائي المتمثل في التحقيق في تأثير هذه التراكيب الوراثية وتفاعلها مع إنتاج الحليب وتكوينه. وعلى حد علمنا فإنّ هذه هي الدراسة الأولى التي تبحث في ارتباط بعض المعلومات الجزيئية مع صفات الحليب في الأغنام العواس المحلية السورية.

مواد البحث وطرائقه

الحيوانات المدروسة وجمع العينات:

أجريت هذه الدراسة على 100 نعجة عواس تم اختيارها عشوائياً من مزرعةٍ خاصة لأحد المربين في منطقة منيان، غرب مدينة حلب, خلال المدة (2017-2018). تم جمع البيانات المظهرية بما في ذلك تاريخ الميلاد والولادة والحلابة وكمية إنتاج الحليب وطول موسم الحلابة من سجلات المزرعة اليومية. تم جمع عينات الدم (5 مل) في ظروف معقمة عن طريق ثقب الوريد الوداجي (Jugular vein) في أنابيب تحتوي على EDTA كمانع للتخثر، ليتم نقلها بصندوقٍ مبرد إلى مخبر التقانات الحيوية في مركز البحوث الزراعية بحلب التابع للهيئة العامة للبحوث الزراعية، وتخزينها في درجة (-20) درجة مئوية حتى يتم استخراج الـDNA . تم جمع عينات الحليب (250 مل) أثناء الحلابة الصباحية لكل حيوان وذلك كل أسبوعين مرة للكشف عن تكوين الحليب (الدهن والبروتين واللاكتوز والمواد الصلبة غير الدهنية SNF) باستخدام جهاز تحليل الحليب (Milk Cana) في مخبر الألبان الموجود في أحد معامل القطاع الخاص.

استخراج الـDNA :

تم استخراج الـDNA من عينات الدم باستخدام البرتوكول التالي: (إذ نأخذ 500 µl من الدم ونضيف له 1000 µl من محلول Red cell lysis ثم نثفل لمدة دقيقتين على سرعة 7000 rpm ونتخلص من الطافي نكرر ذلك ثلاث مرات, بعدها نضيف 400µl من محلول Nucleic lysis ونرج, ثم نضيف 100 µl من Nacl و 600 µl من كلوروفورم, بعد ذلك ننقل 400 µl من الطافي إلى أنابيب جديدة ونضيف له 600 µl من الإيتانول المطلق المبرد ثم نرج بلطف حتى تظهر سلاسل الـDNA , ونثفل على سرعة 12000 rpm ونتخلص من الطافي, ثم نضيف 50 µl من محلول TE ونرج). بعد انتهاء هذه المرحلة, يتم مزج 2 µl من الـDNA مع 2 µl من loading dye (صبغة البروموفينول الزرقاء Bromophenol Blue) و 6 µl من الماء المقطر, وتُحمّل العينات في الحفر المفردة من جل الأغاروز بتركيز 1%, وتُرحّل بفرق جهد قدره 70 فولت وتيار مقداره 40 ميلي أمبير ولمدة ساعة, ويتم مشاهدة حزم الـDNA الملونة بصبغة بروميد الإيثيديوم (Ethidium bromide fluorescence) باستخدام الأشعة فوق البنفسجية (UV light transillminator), ويتم تصويرها بواسطة جهاز التوثيق الفوتوغرافي (Photo documentation system).

تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR):

تم اختيار زوج من البوادئ (Primers) لتنفيذ تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR):

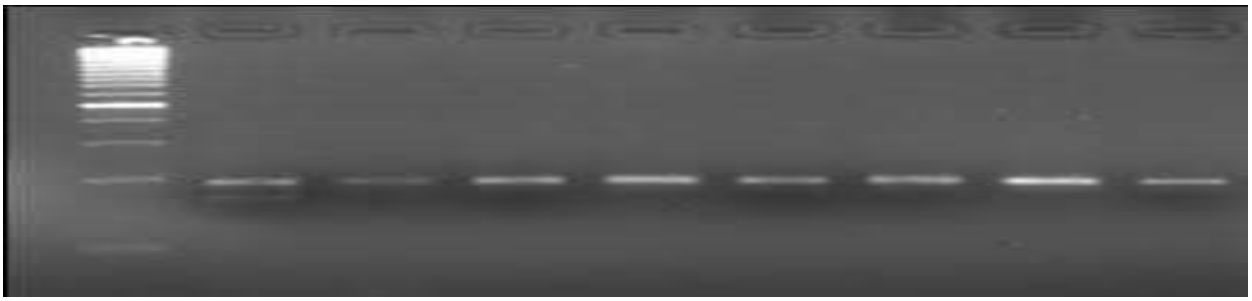
F : 5'- GGTGTCAAATTTAGCTGTTAAA -3'
R : 5'- GCCCTCTTCTCTAAAAAGGTTT -3'

إذ نضيف 2µl من الـDNA مع 8 µl من محلول مؤلف من (76.5 µl ماء + 17 µl dntps + 17 µl Buffer + 6.8 µl mg^{++} + 8.5 µl Primer +µl Tag 34). يبدأ جهاز الـPCR برفع درجة حرارة الخليط حتى تصل إلى 95 درجة مئوية؛ ليتم تكسير الروابط بين شريطي الـDNA وتحويلهما إلى شريطين مفردين كل منهما قالب منفرد. بعد التغيير من طبيعة الـ DNA، يقوم الجهاز بتبريد درجة الحرارة لتصبح 53 درجة مئوية، وعندها يرتبط البادئ بشريط الـDNA . في هذه المرحلة يبدأ إنزيم (DNA polymerase) بنسخ أشرطة جديدة من الـDNA تحتوي على تتابع النوكليوتيدات الخاصة بالبادئ. في نهاية كل دورة يكون كل جزيء DNA يحتوي على شريط قديم وآخر جديد ويعمل كل شريط جديد كقالب في الدورة التالية. بعد ذلك, يتم تحميل 8 µl من DNA ladder مع 10 µl من نواتج الـPCR في جل الأغاروز وبتركيز 3% (1X TBE Buffer), والترحيل بفرق جهد قدره 60 فولت وتيار قدره 50 ميلي أمبير ولمدة ساعة ونصف ثم يُغمر الجل بصبغة بروميد الإثيديوم السائلة بتركيز 2.5%, وتُصور الحزم بواسطة جهاز التوثيق الفوتوغرافي.

تحليل PCR-RFLP:

تم تحديد المتغيرات الوراثية لمورث αs1-CN بواسطة طريقة PCR-RFLP, فقد تم حضن العينات (8 µl) من كل منتج PCR لمدة 2 ساعة عند 37 درجة مئوية مع 5 U من إنزيم Mbo II, وتم فصل المنتجات المهضومة عن طريق الترحيل الكهربائي على هلام الأغاروز بتركيز 3% (1×TBE buffer) بفرق جهد قدره 80 فولت لمدة ساعة واحدة. وتم تصوير المنتجات المهضومة باستخدام الأشعة فوق البنفسجية على جهاز التوثيق الفوتوغرافي بعد غمرها بصبغة بروميد الإيثيديوم. وتم استخدام 100-bp DNA Ladder في الحفرة الأولى من الهلام إلى جانب العينات للتأكد من حجم المنتجات المضخمة.

تم تضخيم جزء من مورث αs1-CN بنجاح من خلال تقنية الـPCR وأسفر عن منتج واحد قدره (372 bp), وكشف هضم هذه القطعة باستخدام إنزيم التقييد Mbo II عن وجود الأليلين A وC وثلاث تراكيب وراثية بأحجام مختلفة تتكون من (160 bp و 146 و 66) وAC (306 bp و160 و 146 و 66) و CC (306 bp و 66) كما هو موضح في الشكل (1).



الشكل (1) تحليل PCR-RELP لجزء (372 bp) **من مورث αs1-CN باستخدام إنزيم التقييد Mbo II على هلام الأغاروز بتركيز 1.5 %.**

التحليل الإحصائي:

تم حساب تكرارات الأليل والتركيب الوراثي باستخدام برنامج Pop-Gene, 1.31 (Yeh *et al.*, 1999), كما تم إجراء اختبار مربع كاي (Chi-square-χ2) ($P<0.05$) للتحقق من مدى ملاءمة توقعات توازن هاردي وينبرج Hardy-Weinberg (HWE) Equilibrium لتوزيع التراكيب الوراثية لمورث αs1-CN في مجموعة الأغنام المدروسة. ومن أجل اختبار الارتباط بين التراكيب الوراثية للمورث المدروس وإنتاج الحليب، تم إجراء تحليل إحصائي باستخدام برنامج (SAS, 2012). وتمت مقارنة الفروق

المعنوية بين المتوسطات من خلال طريقة متوسطات المربعات الصغرى Least square mean. وقد تم استخدام النموذج الخطي التالي:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + e_{ij}$$

إذ إنّ:

Y_{ij} قيمة المشاهدة – μ المتوسط العام للصفة– G_iتأثير التراكيب الوراثية لمورث αs1-CN– e_{ij}الخطأ العشوائي الذي يتوزع طبيعياً بمتوسط يساوي صفر وتباين قدره σ^{2e}

النتائج والمناقشة:

يُعد الاستخدام المحتمل لتعدد المظاهر الوراثية لبروتين الحليب في برامج الانتخاب أمراً مهماً للغاية (Kamble *et al.*, 2012). ونظراً لأن نتائج الاستخدام المحتمل لأنواع بروتين الحليب في الانتحاب لتحسين إنتاج الحليب وتكوينه وكذلك إنتاجية الجبن قليلة العدد ومتناقضة إلى حدٍ ما، فقد تقرر إجراء دراسة تهدف إلى توفير بيانات إضافية لهذا الموضوع بالذات, وفي هذه الدراسة جرت محاولة توصيف المتغيرات الوراثية لـαs1-CN في الأغنام العواس. ولتوضيح نتائج هذه الدراسة وتطبيقها في برامج الانتخاب والتحسين الوراثي للحيوانات, فلا بد من المزيد من الدراسات التي تنطوي على استخدام عدد أكبر من الحيوانات.

1. تكرار الأليل والتركيب الوراثي:

تم تقييم التباين الوراثي لـαs1-CN في الأغنام العواس مع إيلاء اهتماماً خاصاً لوجود الأليلين (A و C) وتعدد المظاهر الوراثية في إكسون3 (AA و AC و CC) بواسطة تحليلPCR-RFLP. وإن تكرارات الأليل والتركيب الوراثي لـαs1-CN مبينة في الجدول (2).

الجدول (2) تكرار الأليل والتركيب الوراثي لمورث αs1-CN في الأغنام العواس

المورث	تكرا ر التركيب الوراثي				تكرار الأليل		χ2
	AA (n=8)	AC (n=25)	CC (n=67)	A (n=17)	C (n=83)		
αS1-CN	0.035	0.156	0.809	0.019	0.981		0.049 *

* : معنوي عند (P<0.05)

أظهر التوزيع الأليلي لـαs1-CN انتشار الأليل C (0.981) في أغنام العواس بالمقارنة مع الأليل A. ووفقاً للباحثين (Ceriotti Comisana) *et al.*, 2005) ظهر الأليل C هو الأليل السائد أيضاً في أغنام الفرزيان الشرقية الألمانية وفي الأغنام الإيطالية Gentile di Puglia وMassese وSarda وSopravissana). مقابل هذه النتائج الحالية رصد بعض المؤلفين Pirisi *et al.*, (Banyko, 2007; 1999) تكراراً أعلى للأليل C في سلالتي أغنام Sarda الإيطالية وميرينو السلوفاكية، في حين أظهر آخرون نتائج مماثلة لهذه النتائج في بعض السلالات الإيطالية والإسبانية والهنغارية والألمانية Anton *et al.*, 1999 ; Ramunno *et al.*, 1997; Giambra *et al.*, 2010d; Amigo *et al.*, 2000) (Lopez-Galvez). على الأرجح أن التكرار العالي للأليل C هو نتيجة الانتخاب لإنتاج الحليب (Giambra *et al.*, 2012). وفي دراسة حديثة (Giambra *et al.*, 2014) على أغنام الفرزيان الشرقية تم تفسير سيادة الأليل C من خلال الاستخدام الواسع لكباش C αs1-CN في السنوات الأخيرة. إن اكتشاف الأليل C بتكرارٍ عالٍ جداً في موضع αs1-CN في عينات الدم (DNA) لدى الأغنام العواس يدل على وجود تراكيب وراثية محددة في هذه السلالة والتي يتم اختيارها بسبب مزاياها في الصفات الاقتصادية والتغذوية (Kamble *et al.*,

(2012. ويُشير التكرار العالي للأليل C في الأغنام العواس إلى أن هذا الصنف يمتلك توليفة أليلية مرتبطة بإنتاجية عالية من بروتين الحليب (Park and Haenlein, 2007).

في هذه الدراسة تم تحديد الأليل A (0.019) بتكرارٍ منخفضٍ جداً في الأغنام العواس، وهو أقل من القيم التي حصل عليها (Ivanković, 2004) في سلالة Paska (0.087), و(Lopez-Galvanez *et al.*, 1999) في Manchega (0.055), و(Mroczkowski *et al.*, 2004) في ميرينو البولندية (0.078), و(Pirisi *et al.*, 1999) في Sarda (0.070), و (Hristova, 2011) في Karnoba (0.10), ولكنه مُقارب لما توصل إليه (Lopez-Galvanez *et al.*, 1999) في سلالة Segureria (0.02). كما هو واضح لم يتسبب الانتخاب غير المباشر على مدار السنوات الماضية في فقد أو زيادة الأليل A في الأغنام العواس. وعلى الرغم من أن تكرار الأليل A كان منخفضاً بشكلٍ عام لكنه موجود بشكل شائع في السلالات المحلية وليس فقط في سلالات الأغنام النادرة أو الخاصة.

خلافاً للتوقعات لم يُؤكد الفحص الوراثي وجود الأليل D في هذه الدراسة، وبالمثل لم تتم دراسة وجود الأليل الويلزي D في بعض السلالات الإيطالية والإسبانية والهنغارية والألمانية (Lopez-Galvez *et al.*, 1999; Anton *et al.*, 1999; Ramunno *et al.*, 1997; Giambra *et al.*, 2010a; Amigo *et al.*, 2000). جاء ذلك خلافاً مع نتائج بعض المؤلفين (Sztankóová *et al.*, 2011) اللذين قاموا بتحديد الأليل D بتكرارٍ منخفض في سلالة Sumava, بينما وصف آخرون (Banyko, 2007; Pirisi *et al.*, 1999) ارتفاع تكرار الأليل الويلزي في سلالتي Sarda الإيطالية وميرينو الإسبانية على التوالي. ووفقاً (Giambra *et al.*, 2014) من المحتمل أنّ يكون تميّز الأليل C والانتخاب لأداء الحليب في العديد من سلالات أغنام الحليب سبباً لفقدان الأليل D الذي يرتبط مع انخفاض نسبتي الدهن والبروتين والخصائص التكنولوجية للحليب وخصائص تصنيع الجبن (Chianese *et al.*, 1997; Mroczkowski *et al.*, 2004; Pirisi *et al.*, 1999). حتى الآن كان αs1-CN C هو الأليل الذي تمت دراسته بشكلٍ متكرر في جميع السلالات الأصلية والهجينة، في حين لم يكن بالإمكان في هذه الدراسة تمييز الأليلات الأخرى. ومع ذلك يتم البحث باستمرار من أجل ترشيح وتحديد هوية الأليلات الجديدة ضمن αs1-CN.

لقد كان هذا العمل هو أول محاولة لدراسة التكرارات الأليلية في موضع αs1-CN في العواس المحلية ولتوفير المعلومات لبرامج الانتخاب والحفظ (Sztankóová *et al.*, 2011), ولكن التكرارات الأليلية التم تم الحصول عليها في الأغنام العواس تشبه إلى حدٍ كبير النتائج التي وجدها (Hristova, 2011) في سلالتي أغنام Karakachanska وCopper-Red Shumenska البلغارية. قد يكون التوزيع الأليلي الخاص بهذه السلالة مفيداً في خطط التربية المستقبلية التي تُركز على تحسين جودة إنتاج الحليب والجبن في الأغنام العواس (Sztankóová *et al.*, 2011), إضافةً لذلك يمكن استخدام أليلات αs1-CN وتكراراتها في التتبع الجزيئي للمنتج النموذجي مثل الجبن (Chianese *et al.*, 2009).

من جهة أخرى أكد التحليل الجزيئي وجود التركيب الوراثي CC (0.809) بتكرارٍ أعلى من التراكيب الأخرى, كذلك ظهرت سيادة CC في العديد من السلالات مثل Karakachanska وLocal Karnobatska و Mednochervena البلغارية (Hristova, 2011), والفرزيان الشرقية وLacaune السويسرية والألمانية (Giambra et al., 2012), وسلالة Pramenka الموجودة في البوسنة والهرسك (Rustempasic *et al.*, 2013) والسلالات السلوفاكية (Miluchova *et al.*, 2014), والسلالات اليونانية (Kalamaki *et al.*, 2014), والأغنام الحمدانية العراقية (Taha and Jawhar, 2016). إن العثور على CC بتكرارٍ عالٍ في

العواس المحلي له أهمية اقتصادية وتصنيعية, إذ يُعد انتشار التركيب الوراثي المتماثل CC ملائماً لخصائص تصنيع الجبن. وهذا مهم لأن إنتاج منتجات الألبان عالية الجودة يرتبط بالتنوع الوراثي المحفوظ في سلالات الأغنام المحلية (Hristova, 2011).

أظهرت نتائج البحث وجود التركيب الوراثي AC ولكن بتكرارٍ منخفض (0.156). هذه النتيجة تتفق مع النتائج تم الحصول عليه من قبل (Miluchova *et al.*, 2014; Hristova, 2011; Sztankóová *et al.*, 2011) في كل من الأغنام التشيكية والبلغارية والسلوفاكية على التوالي.

أيضاً ظهر التركيب الوراثي AA بتكرارٍ منخفض جداً (0.035) في الأغنام العواس، بينما غاب في بعض السلالات البلغارية والألمانية والسلوفاكية (Miluchova *et al.*, 2014; Giambra *et al.*, 2012; Hristova, 2011). ويُعتقد أن السبب في غياب التركيب الوراثي AA في هذه السلالات راجع إلى التكرار المنخفض للأليل A فضلاً عن آثاره السلبية في جودة الحليب. اتفقت هذه النتائج فيما يتعلق بتكرار التركيبين الوراثيين AA و CC مع البيانات التجريبية لسلالة أغنام ميرينو الإسبانية (Corral *et al.*, 2010). يمكن استغلال المعلومات الخاصة بتباين توزيع التراكيب الوراثية لمراقبة التنوع البيولوجي والحفاظ عليه وإدارته في الأغنام العواس باستخدام برامج تربية مُحددة تهدف إلى انتخاب الحيوانات لإنتاج منتجات ألبان غير عادية ونموذجية (Sztankóová *et al.*, 2011). كشفت الدراسة الحالية بوضوح تعدد المظاهر الوراثية في إكسون3 لمورث αs1-CN في الأغنام العواس التي تم فحصها باستخدام تحليل PCR-RFLP, كذلك كشفت بعض النتائج المنشورة من قبل (Hristova, 2011; Sztankóová *et al.*, 2011; Corral *et al.*, 2010; Anton *et al.*, 1999) عن تعدد لمظاهر الوراثية في إكسون3 لمورث αs1-CN في السلالات الهنغارية والإسبانية والتشيكية والبلغارية, في حين تم الحصول على نتائج مناقضة من قبل (Kevorkian *et al.*, 2009) الذين أشاروا إلى عدم تعدد المظاهر الوراثية في إكسون3 في ثلاث سلالات من الأغنام الرومانية. تُوفر البيانات التي تم الحصول عليها دليلاً على أن الأغنام العواس لديها تبايناً وراثياً، مما يفتح آفاقاً مثيرة للاهتمام لبرامج الانتخاب المستقبلية، خاصةً بالنسبة للانتخاب بمساعدة الواسمات وكذلك للحفاظ على التنوع الوراثي لهذه السلالة من الأغنام المحلية, وبالتالي يمكن دراسة تعدد المظاهر الوراثية لبروتين الحليب في إكسون3 واستخدامها بشكلٍ أفضل من أجل تحسين التنوع والحفاظ على البنية الوراثية لتقييم الأغنام العواس والعلاقة مع صفات إنتاج الحليب الخاصة بها (Hristova, 2011). ووفقاً للتحليل الجزيئي لموضع αs1-CNتم توضيح التوزيع الكلي للتراكيب الوراثية (AA-AC-CC), في حين أن الأليلات أو التراكيب الوراثية الأخرى لم يتم اكتشافها. ومع ذلك فإننا نفترض بأنه كان هناك بعض الاختلافات في التوزيع الوراثي الكلي بين سلالات الأغنام في العالم. قد يكون الاختلاف في التوزيع الأليلي لـαs1-CN نتيجةً للأصل الجغرافي للسلالات ونماذج الإدارة, وكذلك الارتباط أو مواقع الربط بموضع αs1-CN. وقد يكون سبب حدوث المظاهر الوراثية المتعددة لمورثات بروتين الحليب هو العلاقة الوراثية أو الانجراف الوراثي في مجموعات الأغنام المدروسة (Sztankóová *et al.*, 2011). ووفقاً لنتائج (Serradilla, 2002) تختلف التكرارات الأليلية لـαs1-CN بين السلالات والتي قد تحدث كرد فعل لبرامج التربية مصحوبة بردود فعل للقطيع المستخدم. وعلى الرغم من أن القطيع الذي تم تقييمه في هذه الدراسة كان لغرض إنتاج الحليب، إلا أننا يمكن أن نفترض أنه يقع تحت تأثير ضغط الانتخاب، وبصرف النظر عن ضغط الانتخاب، فإن توزيع التكرارات الأليلية المرتبطة بموضع αs1-CN ربما قد تأثر بسبب انخفاض حجم الأغنام المدروسة وأيضاً بالآثار المحددة في توزيع التكرارات الأليلية، لذلك فإن تحليل هذه التكرارات في قطعان الأغنام في جميع أنحاء العالم من شأنه أن يُسهم في فهم هذه الآليات (Jordana *et al.*,1996). يمكن استخدام الاختلافات في التكرارات الأليلية بعد التوصيف الدقيق لمورث αs1-CN كمؤشرات لاستنتاج الأليلات الأخرى لهذا المورث (Soares *et al.*,

(2009). بعد التوصيف الوراثي لـαs1-CN في الأغنام العواس، تم التأكيد على وجود الأليلين A و C فقط، ورغم أن الأليل A تم تحديده بتكرارٍ منخفض، ولكن توزيع هذين الأليلين يمنح إمكانية جيدة لدراسات الارتباط في جميع الأغنام التي تم اختبارها، ومن أجل تحديد الأليلات الأخرى، فإننا نحتاج لدراساتٍ مستقبلية ستزودنا بمعلوماتٍ مهمة عن هذه السلالة. وإن اكتشاف الأليلات الجديدة لـαs1-CN يُضيف المعرفة في حقل بحث غير مستكشف تقريباً في سلالة الأغنام العواس, مما يُوفر معلوماتٍ مفيدة ليس فقط عن التنوع البيولوجي لبروتين الحليب نفسه, ولكن أيضاً من أجل التنميط الوراثي وتحليل الارتباط المحتمل في المستقبل مع صفات أخرى ذات أهمية اقتصادية في هذه السلالة (Giambra *et al.*, 2010a).

تم استخدام اختبار مربع كاي (χ^2) لتحديد الانحرافات المحتملة عن توقعات توازن هاردي وينبرج (HWE) لتوزيع التراكيب الوراثية. وأظهر تحليل مربع كاي $\chi 2$= 0.049 للتراكيب الوراثية لمورث αs1-CN انحرافاً معنوياً ($P<0.05$) لأغنام العواس عن توازن هاردي وينبرج. ولقد أظهرت نتائجنا عند مقارنتها بالنتائج المتوفرة في المراجع تشابهاً مع (Rustempasic *et al.*, 2013) في أغنام Pramenka والتي لم تكن في توازن هاري وينبرج، على العكس من ذلك فقد أثبت (Hristova, 2011; Sztankóová *et al.*, 2011; Giambra *et al.*, 2010 c,d; Anton *et al.*, 1999) في بعض السلالات الإيطالية والألمانية والتشيكية والبلغارية بأنّ هناك اتفاق جيد بين تكرارات التراكيب الوراثية المرصودة وتلك المتوقعة على أساس قانون هاردي وينبرج. ووفقاً لقانون هاردي وينبرج فإن أغنام العواس ليست في حالة توازن وراثي، وهذا يُشير إلى عدم تمثيلية العينات، وذلك بسبب حجمها المحدود، بالإضافة إلى أنه يؤكد أن الانتخاب الحالي قد يؤدي إلى استبعاد أحد أليلات αs1-CN (Hristova, 2011) .

مما تقدم يمكن القول بأنّ معرفة التباين الوراثي لـαs1-CN في الأغنام العواس لا تزال غير مكتملة, وهذا ما أكده العثور على أليلين فقط في موضع αs1-CN, وبالتالي يجب دراسة المظاهر الوراثية المتعددة لهذا المورث دراسة كافية, كما يجب تمييز جميع أليلات αs1-CN وتحديد التباين الوراثي داخل هذه السلالة. وبالمثل فإن الدراسات المتعلقة بالتباين داخل مورثات الكازين الأخرى ضرورية في الأغنام (Giambra *et al.*, 2010b), إضافةً لذلك يجب دراسة آثار المظاهر الوراثية لمورثات الكازين في الصفات الإنتاجية، وخصوصاً الخصائص النوعية والتكنولوجية للحليب، بحثاً عن الآثار المفيدة المحتملة في التحسين الوراثي للأغنام (Ceriotti *et al.*, 2005).

2. علاقة المظاهر الوراثية لمورث αs1-CN مع إنتاج الحليب وتكوينه:

تم تحليل ارتباط التراكيب الوراثية لمورث αs1-CN مع إنتاج الحليب وتكوينه في الأغنام العواس كما هو مبين في الجدول (3), وقد لوحظ وجود فروقاً معنوية بين التراكيب الوراثية في إنتاج الحليب ونسبة البروتين.

الجدول (3) علاقة المظاهر الوراثية لمورث αs1-CN مع إنتاج الحليب وتكوينه في الأغنام العواس

الصفة	التركيب الوراثي (المتوسط ± الخطأ القياسي)			قيمة P
	AA	AC	CC	
إنتاج الحليب كغ	89.54 ± 8.35 ^{bc}	114.24 ± 10.86 ^{bc}	93.86 ± 9.32 ^{ab}	0.02 *
الدهن %	5.50 ± 0.45	7.01 ± 0.64	7.11 ± 0.73	0.26 ^{ns}
البروتين %	5.17 ± 0.14 ^{bc}	5.24 ± 0.11 ^{b}	5.51 ± 0.08 ^{a}	0.00 **
اللاكتوز %	4.48 ± 0.67	4.73 ± 0.82	4.53 ± 1.08	0.59 ^{ns}
% SNF	11.05 ± 0.35	11.42 ± 0.27	11.18 ± 0.22	0.56 ^{ns}

المتوسطات التي تحمل حروفاً مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنوياً فيما بينها.

ns : غير معنوي ؛ * : معنوي عند ($P<0.05$) ؛ ** : عالي المعنوية عند ($P<0.01$)

كشف التحليل الاحصائي وجود ارتباط معنوي (P<0.05) بين التراكيب الوراثية لـαs1-CN وإنتاج الحليب، فيما لم يتم العثور على فروقاً معنوية بين التراكيب الوراثية وتكوين الحليب (P>0.05) عدا نسبة البروتين (P<0.01). تم نشر نتائج مماثلة عن العلاقة المعنوية بين المتغيرات الوراثية لـαs1-CN وإنتاج الحليب ونسبة البروتين من قبل (Giambra and Erhardt, 2012a) في أغنام الفرزيان الشرقية. وبمزيدٍ من التفصيل, ارتبط التركيب الوراثي CC مع أعلى نسبة لكل من الدهن (7.11%) والبروتين (5.51%), وهناك ميل لارتباطه مع زيادة إنتاج الحليب. نتيجةً لذلك كان لحليب CC خواص أفضل لصناعة الجبن مقارنةً مع AA وAC (Chianese *et al.*, 1996). جاءت هذه النتائج في اتفاق مع العديد من الدراسات (Taha and Jawhar, 2016; Giambra *et al.*, 2014; Mroczkowski *et al.*, 2002; Amigo et al., 2000; Pirisi *et al.*, 1999, نتيجةً لذلك يُشير (Moioli *et al.*, 2007) إلى أن التركيب الوراثي CC يمكن اعتباره مؤشراً على جودة الحليب والجبن.

أظهر التركيب الوراثي AC أعلى إنتاجاً من الحليب (114.24 كغ) مع أعلى نسبة لكل من اللاكتوز (4.73 %) والمواد الصلبة غير الدهنية (11.42 %) رغم عدم وجود فروقاً معنوية بين مجموعات التركيب الوراثي، كذلك أظهر AC ميلاً لارتباطه مع ارتفاع نسبة الدهن في الحليب. تتفق هذه النتيجة إلى حدٍ ما فيما يتعلق بالتأثير الإيجابي للتركيب الوراثي AC في إنتاج الحليب مع ما وجده (Kalamaki *et al.*, 2014) في الأغنام اليونانية.

أظهر التركيب الوراثي AA آثاراً سلبية في إنتاج الحليب وتكوينه، فقد ارتبط AA مع أقل نسبتي دهن وبروتين (5.50% و5.17%) على التوالي، فضلاً عن ارتباطه مع انخفاض إنتاج الحليب (89.54 كغ). وبالمقارنة مع هذه النتائج تم نشر نتائج مماثلة من قبل (Chianese *et al.*, 1996) في بعض السلالات الإيطالية، في حين ذكر (Miluchova *et al.*, 2014) نتائج مناقضة جزئياً في الأغنام السلوفاكية، إذ تم الحصول على نسبة بروتين أعلى من حيوانات التركيب الوراثي AA مقارنةً مع CC.

من خلال هذه النتائج، أصبح من الواضح أنّ الآثار الإيجابية للتراكيب الوراثية لـαs1-CN في إنتاج الحليب وتكوينه في الأغنام العواس تعود إلى تأثير الأليل C السائد في هذه السلالة، في حين أثر الأليل A سلباً في جميع صفات الحليب. تُشير هذه النتائج إلى أن الأليل C هو أليل ملائم لصنع الجبن، بالمقابل كان الأليل A غير مرغوب به في الأغنام العواس. تم تأكيد هذه الفرضية من قبل (Giambra *et al.*, 2014) في أغنام الفرزيان الشرقية.

والجدير بالذكر بأنّ هناك القليل من المعلومات المتاحة الخاصة بعلاقة المتغيرات الوراثية لـαs1-CN مع صفات الحليب (Mroczkowski *et al.*, 2002). من ناحية أخرى فإن البيانات المنشورة في هذا المجال غير حاسمة وأحياناً متناقضة جداً (Anton *et al.*, 1999), مما يشير إلى غلبة بعض التراكيب الوراثية أو عدم وجود علاقات بين المتغيرات الوراثية لـαs1-CN وصفات الحليب (Mroczkowski *et al.*, 2004), فعلى سبيل المثال ارتبط αs1-CN B بإنتاج الحليب (Chianese *et al.*, 1997), بينما ارتبط αs1-CN D مع نسبة البروتين (Ramunno *et al.*, 1997; Banykó, 2007). وبين (Martini *et al.*, 2008) إلى أن الأليل D كان أقل ملائمة لصنع الجبن من الأليل C الأكثر شيوعاً. ومع ذلك فإنّ النتائج المتاحة لم تسمح بوجود ارتباط واضح بين أليل معين لـαs1-CN وصفات الحليب في الأغنام. ووفقاً لـ(Sztankóová *et al.*, 2011) تنجم الاختلافات الواسعة إلى حدٍ ما في نتائج الارتباط عن العديد من العوامل، مثل نقص التجانس الوراثي في الأغنام الذي يمثل سلالاتٍ مختلفة والتوزيع غير المتكافئ للمظاهر الوراثية للمورثات المرتبطة بشروط إنتاج الحليب والاختلافات في حجم الأغنام التي تم تحليلها والطرق المختلفة لتقدير إنتاج الحليب. علاوةً على ذلك فإن التأثير الوراثي المتعدد لـαs1-CN في صفات الحليب ربما يكون صغيراً نسبياً، وفي كثير من الحالات وبسبب التباين الوراثي الكبير إلى حد ما يصعب إثباته، ذلك لأن صفات الحليب

هي صفات كمية تتأثر بالإضافة إلى العوامل الوراثية بالعديد من العوامل البيئية، والتي تكون في الغالب مسؤولة عن الاختلافات أكثر من التركيب الوراثي (Giambra *et al.*, 2011). وبسبب قلة الدراسات حول تعدد المظاهر الوراثية لـ αs1-CN وتأثيرها في صفات الحليب في الأغنام، لم تكن المقارنة في هذه الدراسة بين النتائج الحالية والدراسات الأخرى ممكنة تماماً. وعلى الرغم من توافق النتائج الحالية مع بعض الدراسات السابقة، إلا أن إجراء المزيد من الدراسات مع أعداد أكبر من الحيوانات ضروري لتأكيد هذه الارتباطات والحصول على معلومات أكثر دقة عن تعدد المظاهر الوراثية لهذا المورث.

إجمالاً لقد أكدت الدراسة تأثير المظاهر الوراثية المتعددة لـ αs1-CN في صفات أداء الحليب، وخاصةً نسبة البروتين وكذلك تأثيرها في إنتاج الحليب كما هو محدد في دراسات سابقة أقل انتشاراً (Wessels *et al.*, 2004; Corral *et al.*, 2010; Giambra *et al.*, 2010d, 2011). ينبغي تحليل آثار هذه الارتباطات في خصائص صناعة الجبن في المستقبل للتأكيد على الأهمية الاقتصادية لتباين بروتين الحليب (Giambra *et al.*, 2014), بعد ذلك يمكن استخدام هذه الارتباطات في برامج تربية الأغنام في المستقبل مثل الماعز والأبقار (Manfredi *et al.*, 1995; Rendel and Harris, 1997; Sanchez *et al.*, 2005).

الاستنتاجات والتوصيات:

من خلال هذه الدراسة تم توصيف مورث αs1-CN في سلالة أغنام العواس بأنه متعدد المظاهر الوراثية، فقد تم ذكر أليلين وثلاث تراكيب وراثية مختلفة. وكان الأليل C هو الأعلى تكراراً في حين سجل الأليل A تكراراً منخفضاً جداً. من جهة أخرى تم التأكيد على تأثير المظاهر الوراثية المتعددة لـ αs1-CN في معايير إنتاج الحليب وخاصة نسبة البروتين، فقد حقق التركيب الوراثي CC أعلى نسبة من البروتين، فيما حقق التركيب الوراثي AC أعلى إنتاجاً من الحليب.

إن المعلومات المتوفرة عن التراكيب الوراثية لـ αs1-CN ستكون ذات قيمة لاستخدامها في استراتيجيات الانتخاب في برامج تربية الحيوانات من أجل زيادة إنتاج الحليب ونسبة البروتين، وبالتالي تحسين نوعية الحليب وإنتاجية الجبن. علاوةً على ذلك فقد أثبتت الطريقة المعتمدة على PCR-RFLP بأنها مناسبة لتقييم التباين الوراثي لـ αs1-CN, ويمكن لهذه الطريقة المستخدمة تقديم دليل على وجود أو عدم وجود الأليل D، كما توفر إمكانية الفحص المبكر كوسيلة انتخاب هامة للمربين.

المراجع:

Abu Khaizaran, Z.M (2013). Analysis of selected milk traits in Palestine cattle in relative to morphology and genetic polymorphism. Master thesis, Faculty of Science, Palestine Polytechnic University, 267: 6147-6157.

Alais, C.; and P. Jolle`s (1966). Isolation, purification, and analysis of two *κ*-casein like fractions from sheep caseins. J. Dairy Sci., 50:1555-1561.

Amigo, L.; I., Recio; and M. Ramos (2000). Genetic polymorphism of ovine milk proteins: Its influence on techno- logical properties of milk - A review. Int. Dairy J., 10:135-149.

Anton, I; A., Zsolnai; L., Fesus; S.,Kukovics; and A. Molnar (1999). Survey of β-Lactoglobulin and αs1-casein polymorphisms in Hungarian dairy sheep breeds and crosses on DNA level (short communication) Archiv fur Tierzuch t- Archives of Animal Breeding, 42 (4): 387-392.

Archana, V (2013). Nucleotide sequence variability in exon 4 of prolactin locus in sheep. Research Journal of Biotechnology, 8(6):61-65.

Banyko, J (2007). Distribution of αS1-casein "Welsh" variantin some Slovak and Czech sheep breeds. Archiv fur Tierzuch t- Archives of Animal Breeding, 50 (4):381-387.

Barillet, F.; J.J., Arranzand; A. Carta (2005). Mapping quantitative trait loci for milk production and genetic polymorphisms of milk proteins in dairy sheep. Genet. Sel. Evol. 37 (Suppl. 1), S109-S123.

Barillet, F (2007). Genetic improvement for dairy production in sheep and goats, Small Ruminant Res.,70, 60.

Bastos, E.; A. Cravador ; J. Azevedo; and H. Guedes-Pinto (2001). Single strand conformation polymorphism (SSCP) detection in six genes in Portuguese indigenous sheep breed "Churra da Terra Quente." Biotechnol. Agron. Soc. Environ., 5:7-15.

Bevilacqua, C.; J.C., Helbling; G., Miranda; and P. Martin (2006). Translational efficiency of casein transcripts in the mammary tissue of lactating ruminants. Reprod. Nutr. Dev., 46: 567-578.

Boettcher. P.J.; A., Caroli; A. Stella; S., Chessa; E., Budelli; F., Canavesi; S.,Ghiroldi; and G. Pagnacco (2004). Effects of casein haplotypes on milk production traits in Italian Holstein and Brown Swiss cattle. J. Dairy Sci., 87: 4311-4317.

Boisnard, M.; D. ,Hue; C., Bouniol; J. C., Mercier; and P. Gaye (1991). Multiple mRNA species code for two non-allelic forms of ovine alpha s2-casein. Eur. J. Biochem. 201:633-641.

Bramanti, E.; C., Sortino; M. Onor; F., Beni; and G. Raspi (2003). Separation and determination of denatured αs1-, αs2-, β- and κ-caseins by hydrophobic interaction chromatography in cows', ewes' and goats' milk, milk mixtures and cheeses. J. Chromatogr., A 994: 59-74.

Caio, S.; M. Izquierdo; J.Gonzalez; F.I. Hernández; J.M., Corral; L. Pinto; J., Rodríguez; and I. Roa (2007). Influence of ovine β -casein phenotype on milk production and composition from Merino ewes. Proc. 5th International Symposium on the challenge to sheep and goats milk sectors, Alghero/Sardinia, Italy, pp. 173-175.

Ceriotti, G.; S., Chessa; P., Bolla; E., Budelli; L., Bianchi E., Duranti; and a. Caroli (2004). Single nucleotide polymorphisms in the ovine casein genes detected by Polymerase Chain Reaction-Single Strand Conformation Polymorphism. J. Dairy Sci., 87: 2606-2613.

Ceriotti, G.; F., Chiatti; P., Bolla; M., Martini; and A. Caroli (2005). Genetic variability of the ovine s1-casein. Ital. J. Anim. Sci., 4 (Suppl. 2), 64-66.

Chessa, S.; P., Bolla; C., Dario; E., Pieragostini; and A. Caroli (2003). Polimorfismi genetici lattoproteici nella razza ovina Gentile di Puglia: Monitoraggio mediante focalizzazione isoelectrica. Sci. Tecn. Latt-Cas., 54:191-198.

Chianese, L.; Garro, G.; Ferranti, P.; Malorni, A.; Addeo, F.; Rabasco, A.; and P.M. Pons (1995). Discrete phosphorylation generates the electrophoretic heterogeneity of ovine β- casein. J. Dairy Res., 62: 89-100.

Chianese, L.; Garro, G.; Mauriello, R.; Laezza, P.; Ferranti, P.; and F. Addeo (1996). Occurrence of five alpha s1-casein variants in ovine milk. J Dairy Res., 63(1): 49-59.

Chianese, L.; Mauriello, R.; Ferranti, P.; Tripaldi, C.; Taibi, L.; and S. Dell'Aquila (1997). Relationship between αs1-casein variants and clotting capability of ovine milk. Proc. IDF Seminar Milk Protein Polymorphism 2, Palmerston North, New Zealand, pp. 316- 323.

Chianese, L.; Caira, S.; Garro, G.; and f. Addeo (2007). Primary structure of ovine deleted variant αs1-CN E. Proc. 5th International Symposium on the challenge to sheep and goats milk sectors, Alghero/Sardinia, Italy, pp. 58-60.

Chianese, L (2008).Personal communication:Existence of a further ovineCSN1S1 variant G.Naples, Italy.

Chianese, L.; Quarto, M.; Pizzolongo, F.; Calabrese, M.G.; Caira, S.; Mauriello, R.; De Pascale, S.; and F. Addeo (2009). Occurrence of genetic polymorphism at the alpha(s1)-casein locus in Mediterranean water buffalo milk. Int. Dairy J., 19:181-189.

Chiofalo, L.; and P. Micari (1987). Attuali conoscenze sulle varianti delle proteine del latte nelle popolazioni ovine allevate in Sicilia. Osservazioni sperimentali. Sci. Tecn. Latt-Cas., 38:104-114.

Corral, J.M.; Padilla, J.A.; and M. Izquierdo (2010). Associations between milk protein genetic polymorphisms and milk production traits in Merino sheep breed. Livest Sci., 129: 73-79.

Corral, J.M.; Padilla, J.A.; Izquierdo, M.; Martínez-Trancón, M.; Parejo, J.C.; Salazar, J.; and F.I. Hernández-García (2013). Detection and genetic characterization of ovine CSN1S2*B polymorphisms and their associations with milk production traits. Livest. Sci., 153: 10-19.

Dall'Olio, S.; Davoli, R.; and P. Bosi (1989). Recherché elettroforetiche delle proteine del latte nella razza ovina Sopravissana. Sci. Tecn. Latt.-Cas., 40:186-194

Feligini, M.; Parma, P; Aleandri, R.; Greppi, G.F.; and G. Enne (1998). PCR-RFLP test for direct determination of beta-lactoglobulin genotype in sheep. Anim. Genet., 29:473-474.

Ferranti, P.; Malorni, A.; Nitti, G.; Laezza, P.; Pizzano, R.; Chianese, L.; and F. Addeo (1995). Primary structure of ovine αs1-caseins: localization of phosphorylation sites and characterization of genetic variants A, C and D. J. Dairy Res., 62: 281-296.

Ferranti, P.; Pizzan, R.; Garro, G.; Caira, S.; Chianese, L.; and F. Addeo (2001). Mass spectrometry-based procedure for the identification of ovine casein heterogeneity. J. Dairy Res., 68:35-51.

Ferretti, L.; Leone, P.; and V. Sgaramella (1990). Long range restriction analysis of the bovine casein genes. Nucleic Acid Res., 18: 6829-6833.

Giambra I.J.; Chianese, L.; Ferranti, P; and G. Erhardt (2010a). Isoelectric focusing reveals additional casein variants in German sheep breeds. Small Ruminant Research, 90 (1-3):11-17.

Giambra, I.J.; Chianese, L.; Ferranti, P.; and G. Erhardt (2010b). Genomics and proteomics of deleted ovine CSN1S1*I. Int. Dairy J., 20:195-202.

Giambra, I.J.; Chianese, L.; Ferranti, P.; and G. Erhardt (2010c). Short communication: Molecular genetic characterization of ovine αs1-casein allele H caused by alternative splicing. J. Dairy Sci., 93:792-795.

Giambra, I.J.; Stam, E.; Atema, F.; Schuiling, E.; Brandt, H.; and G. Erhardt (2010d). Association study between milk protein variants and milk performance traits in East Friesian Dairy sheep. In: Proc. 9th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod., Leipzig, Germany, p. 36.

Giambra, I.J.; Brandt, H.; and G. Erhardt (2011). Milk protein variants and their associations to milk performance traits in East Friesian Dairy sheep. In: 62nd Ann. Meeting of the EAAP, Stavanger, Norway, p. 46.

Giambra, I.J.; Brandt, H.; and G. Erhardt (2012). Analyses of milk protein genes using protein and DNA based methods and their associations to milk performance traits in East Friesian Dairy sheep. In: Proc. 9th Intern. Symp. Milk Genomics & Human Health. Wageningen, Niederlande.

Giambra, I.J.; and G. Erhardt (2012a). Milk proteins, milk protein variants and the importance for the sheep breeding-a review. Züchtungskunde., 84: 52-73.

Giambra, I.J.; and G. Erhardt (2012b). Molecular genetic characterization of ovine CSN1S2 variants C and D reveal further important variability within CSN1S2. Anim. Genet., 43: 642-645.

Giambra, I.J.; Brandt, H.; and G. Erhardt (2014). Milk protein variants are highly associated with milk performance traits in East Friesian Dairy and Lacaune sheep. Small Rumin. Res.,

Hinrichs, J (2004). Mediterranean milk and milk products. Eur. J. Nutr. 43 (Suppl. 1), I/12-17.

Holt, C; and L. Sawyer (1988). Primary and predicted secondary structures of the caseins in relation to their biological functions. Protein Eng., 2: 251-259.

Hristova, D (2011). Genetic polymorphism of alpha S1-casein gene in Bulgarian sheep breeds. Agric. Sci. Tecn., 3(1): 8-12.

http:// www.uniprot.org/uniprot/P04653.2010.

Ivanković, A.; and P. Dovč (2004). Polimorfizem genov za β-laktoglobulin αs1-kazein paške ovce. Acta Agriculturae Slovenica., 84 (2): 121-130.

Jordana, J.; Amills, M.; and E. Diaz (1996). Gene frequencies of caprine αs1-casein polymorphism in Spanish goat breeds. Small Ruminant Research., 20: 215-221.

Kalamaki, M.S.; Gelasakis, A.; and G. Arsenos (2014). Genetic polymorphism of the CSN1S1 gene in the Greek sheep. Building Organic Bridges, 13(15): 575-577.

Kamble, S.B ; Sirothia, A.R. ; Kale, D.S.; and P.K. Rout (2012). Characterization of milk protein and αs1-casein gene in Berari goat. Indian Journal of Animal Genetics and Breeding, 29-30.

Kevorkian, S.; Manea, M.A.; Georgescu, S.E.; Dinischiotu, A.; and M. Costache (2008). Genotyping of αS1- cazein gene in Karakul sheep breed, Lucrari Stiintifice, Universitatea de Stiinte Agricole si Medicina Veterinara "Ion Ionescu de la Brad Iasi", seria Medicina Veterinara, 51(10), 79-81.

Kevorkian, S.; Manea M.; Gavrila, M.; Rebedea, M.; Georgescu, S.; M. and Costache (2009). Sequencing of exon three of αs1- casein sheep and goad gene. Archiva Zootechnica., 12(3): 87-92

King, J.W.B (1966). The casein of sheep milk. Proc. 10th European Conference of Animal Blood Groups and Biochemical Polymorphism, Paris, France, pp. 427-431.

Lòpez-Gàlvez, G; Amigo, L; and M. Ramos (1999). Polymorphism of αs-caseins in the milk of two Spanish ovine breeds. Milchwissenschaft 54: 17-19.

Manfredi, E.; Ricordeau, G.; Barbieri, M.E.; Amigues, Y.; and B. Bibé (1995). Génotype caséine s1 et sélection des boucs sur descendance dans les races Alpine et Saanen. Genet. Sel. Evol. 27, 451-458.

Martin, P.; Szymanowska, M.; Zwierzchowski, L.; and C. Leroux (2002). The impact of genetic polymorphisms on the protein composition of ruminant milks. Reprod. Nutr. Dev. 42, 433 459.

Martini, M.; Salari, F.; Scolozzi, C.; Cecchi, F.; Ceriotti, G.; and A. Caroli (2008). Relationship between milk genetic polymorphism and physico-chemical and nutritional quality of sheep milk. Small Ruminant Research., 74: 194-201.

Miluchova, M.; Gabor, M.; and A. Trakovicka (2014). Analysis of genetic structure in Slovak pinzgau cattle using five candidate genes related to milk production traits Genetika, 46 (3): 865-875.

Moatsou, G.; Samolada, M.; Katsabeki, A.; and E. Anifantakis (2004). Casein fraction of ovine milk from indigenous Greek breeds. Lait., 84: 285-296.

Moioli, B.; D'Andrea, M.; and F. Pilla (2007). Candidate genes affecting sheep and goat milk quality. Small Ruminant Research., 68: 179-192.

Mroczkowski, S.; Korman, K.; Piwczyński, D.; and G. Erhard (2002). The influence of sheep genotype of αs1-casein on milk productivity of Polish Merino in the first three lactations (in Polish). Zesz. Nauk. Przeg. Hod., 63: 139-144.

Mroczkowski, S.; Korman, K.; Erhardt, G.; Piwczynski, D.; and B. Borys (2004). Sheep milk protein polymorphism and its effect on milk performance of Polish Merino. Arch. Tierz., 47 (SI): 114-121.

Park, Y.W.; and G.F.W. Haenlein (2007). Goat milk, its products and nutrition. In Hui YH (ed.): Handbook of Food Products Manufacturing. John Wiley New York, NY: 447-486.

Park, Y.W.; Juarez, M.; Ramos, M.; and G.F.W. Haenlein (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. Small Ruminant Res., 68: 88-113.

Pilla, F.; Bevilacqua, C.; Leroux, C.; Fraghi, A.; and P. Martin. (1998). Genotyping of α-s1 casein in sheep. Anim. Genet., 29:472-473.

Piredda, G.; Papoff, C.M.; Sanna, S.R.; and R.L. Campus (1993). Influenza del genotipo della as1-caseina ovina sulle caratteristiche chimico-fisiche e lattodinamografiche del latte. Sci. Tecn. Latt.-Cas., 44: 135-143.

Pirisi, A.; Piredda, G.; Papoff, C.M.; Di Salvo, R.; Pintus, S.; Garro, G.; Ferranti, P.; and L. Chianese (1999). Effects of sheep alpha s1-casein CC, CD and DD genotypes on milk composition and cheese making properties. J. Dairy Res., 66:409-419.

Prinzenberg, E.M.; Gutscher, K.; Chessa, S.; Caroli, A.; and G. Erhardt (2005). Caprine κ-casein (CSN3) polymorphism: new developments in molecular knowledge. J. Dairy Sci., 88: 1490-1498.

Ramunno, L.; Cosenza, G.; Rando, A.; Macciotta, N.P.P.; Pappalardo, M.; and P. Masina (1997). Identification of carriers of the Welsh CASA1 variant using an allele-specific PCR method. Animal Genetics, 28: 154-155.

Rendel, J.M.; and B.L. Harris (1997). Economic considerations of protein variants in the design of breeding schemes. In: Proc. 2nd IDF Seminar Milk Protein Polymorphism, Palmerston North, New Zealand, pp. 461-466.

Russo, V.; Chiofalo, L.; and P. Micari (1979). Polimorfismi delle proteine del latte nelle pecore di razza Comisana. Riv. Zoot. Vet., 4:239-244.

Rustempasic, A.; Dokso, A.; Zecevic, E.; Hodzic, A.; Bandzo, K.; Miskoska-Milevska, E.; Popovski, Z.; and M. Brka (2013). Polymorphism αs1 casein in Pramenka breed sheep. Proceedings-24th International Scientific-Expert Conference of Agriculture and Food Industry -Sarajevo.

Sanchez, A.; Ilahi, H.; Manfredi, E.; and M. Serradilla (2005). Potential benefit from using the αs1-casein genotype information in a selection scheme for dairy goats. J. Anim. Breed. Genet., 122: 21-29.

SAS (2012). Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.

Serradilla, J.M (2002) The goat αs1-casein gene: a paradigm of the use of a major gene to improve milk quality? Séminaires Méditerraneéns., 55: 99-106.

Soares, M.A.M; Rodrigues, M.T.; Mogno, G.P.; Ribeiro, L.F.C.; Silva, J.L.C.; and R.M.C Brancalhão (2009). Polymorphism of alphas1-casein gene in a dairy goat herd in the southeastern region of Brazil. R. Bras. Zootec., 38: 1026-1032.

Sztankóová, Z; Rychtářová, J; Kyselová, J; Mátlová, V, ; Štipková, M; Matejíčková, J; and M. Marková (2011). Effect of the αs1-, αs2-, β- and κ-casein genotypes on the milk production parameters in Czech goat dairy breeds. Journal of Dairy Science., 91(10): 4053-4057.

Sztankóova, Z. ; Mátlová, V.; and J. Rychtarova (2012). Genetic polymorphism at the milk protein genes (CSN1S1, CSN2, and CSN3) in the Czech Sumava and Wallachian sheep breeds, Grant Journal, 1(2): 63-66.

Taha, K.M.; and F. Jawhar (2016). Towards Using Candidate Genes to Increase Milk Production in Sheep: Yield and Composition. Vet. Med., 62(1): 6-10

Threadgill, D.W; and J.E. Womack (1990). Genomic analysis of the major bovine milk protein genes. Nucleic A. Res., 18: 6935-6942.

Wessels, G; Hamann, H; Erhardt, G; and O. Distl (2004). Genotype ffekte von Milch protein Polymorphismen auf die Milchleistung beim Ostfriesischen Milchschaf. Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr., 117: 414-419.

Wu, Y; Fan, H.; Wang, Y; Zhang, L; Gao, X; Chen, Y; Li J, Ren, H; and H. Gao (2014). Genome-wide association studies using haplotypes and individual SNPs in Simmental cattle. PLoS One. 9(10):e109330.

Yeh, F.C.; Yang, R.C.; and T. Boyle (1999). POPGENE Version 1.32: Microsoft Window-Based Freeware for Population Genetics Analysis; University of Alberta: Edmonton, AB, Canada.

Association of αs1-Casein Gene Polymorphism with Milk Yield and its Composition in Awassi Sheep

Hasan Emad Almasri [(1)], Abdul Rahman Al-Darwish [(1)]and Hiba Albadee *[(1)]

(1) of Animal Production, Faculty of Agriculture, University of Aleppo.

(* Corresponding auther: Hiba Albadee. E-mail: hibaalbadee@gmail.com)

Received: 02/06/2020 Accepted:28/07/2020

Abstract:

The genetic polymorphism of the milk proteins is of great interest in animal production, because of its influence on milk composition and quality and on the productivity parameters. αs1-casein represents the main milk protein and has an important role in the transport of calcium phosphate. Identification of different αs1-CN gene polymorphism in exon$_3$ traits and its association with different milk performance was performed through Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) of one hundred blood samples using restriction endonuclease Mbo II. Also, Chi-square ($\chi 2$) test was performed to test the goodness of fit to Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) expectations for the distribution of αs1-CN genotypes in local Awassi sheep, in Minyan, west of Aleppo, during the period 2017-2018. Two alleles (A and C) were found with higher frequency of C allele, while three genotypes (AA, AC and CC) were identified at αs1-CN locus. A significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium was found ($P<0.05$). On the other hand, the results of the statistical analysis, showed significant effects of αs1-CN genotype on milk yield and protein % ($P<0.01$), while it did not effect on the other milk composition ($P>0.05$). The results suggest the possibility of a future selection process to improve milk quality in Awassi sheep. Thus the αs1-CN genotype information could be utilized in selection strategies, in order to select genetic stock for the higher milk yield as well as production of sheep milk with higher protein content in marker assisted selection to increase the rate of genetic gain.

Key words: αs1-CN polymorphism, milk proteins, PCR- RFLP, Awassi sheep.