# دراسة التنوع الوراثي للأبقار الشامية والفريزيان باستخدام تقانة التكرارات الترادفية البسيطة الداخلية ISSR

د. حسان أحمد مهدي[1] وم. إسماعيل محمد الصالح[1] م. محمود الشيخ حسين[2]

[1] الهيئة العامة للتقانة الحيوية، قسم التقانات الحيوية الطبية والحيوانية، ص. ب. 31902.
Dr74hassan@gmail.com – هاتف: 0937501862

[2] الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية – ادارة بحوث الثروة الحيوانية.

الملخص

طُبقت في هذه الدراسة تقانة تكرار التسلسل البسيط الداخلي Inter simple sequence repeats (ISSR) باستخدام المرئسين (AG)9C و GA(9)C لتحديد التنوع الوراثي للأبقار الشامية مقارنة بسلالة الفريزيان، سحبت عينات الدم من 13 بقرة (9 من الأبقار الشامية و 4 من سلالة فريزيان). أُجريت التجارب في مختبر الوراثة الجزيئية في الهيئة العامة للتقانة الحيوية – قسم الحيويات الطبية والحيوانية من 2020 إلى 2021. أظهرت النتائج 36 حزمة كلية منها25 حزمة متعددة شكلياً Polymorphic أي نسبة التعدد الشكلي 69.44%. تراوحت أطوال الحزم مابين 170 إلى 1300 زوج قاعدي، قُدرت مؤشرات التباين الوراثي (التنوع الوراثي والعدد الفعال للأليلات، إضافة لمؤشر شانون، محتوى معلومات التنوع الوراثي) وحسبت مصفوفة التباعد الوراثي ورسمت شجرة القرابة الوراثية. كان التنوع الوراثي (h) ما بين (0–0.497) وبمتوسط حسابي قدره 0.25، أما بالنسبة لعدد الاليلات الفعالة (ne) فقد تراوحت مابين (1–1.988) وبمتوسط حسابي قدره 1.43، وتراوحت قيم معامل شانون (I–index) للمرئسين (AG)9C و GA(9)C ما بين (0–0.69) وبمتوسط حسابي قدره 0.37 . بلغت قيمة متوسط محتوى معلومات التنوع الوراثي Polymorphic informatic content (PIC) عند الأبقار الشامية (0.28، 0.488) وعند أبقار الفريزيان (0.46، 0.492) بالنسبة للمرئس (AG)9C والمرئس GA(9)C على التوالي. وكان المرئس GA(9)C أقوى من المرئس (AG)9C من حيث قوته التشخيصية. أظهرت نتائج المصفوفة وشجرة القرابة الوراثية أنه يمكن الاعتماد على المرئسين (AG)9C و GA(9)C المدروسين في دراسة التنوع الوراثي للأبقار.

**الكلمات المفتاحية:** الأبقار الشامية، ISSR،(AG)9C و GA(9)C، بصمة وراثية

# Study of genetic diversity of Shami and Friesian cattle using Intra simple sequence repeats ISSR

Abstract:

In this study, the technique of Internal simple sequence repeats (ISSR) using primers (AG)9C and GA(9)C was used to determine the genetic diversity of Shami cattle compared to the Friesian cattle. Experiments were conducted in the Genetics Laboratory of National commission for Biotechnology - Department of Medical and Animal Biotechnology from 2020 to 2021. Blood samples were drawn from 13 cows (9 Shami and 4 Friesian). The results showed 36 total bands (25 of which were polymorphic), polymorphism ratio is 69.44%. The lengths of the bands ranged from 170 to 1300 bp, the genetic variance indices (genetic diversity and effective number of alleles, in addition to the Shannon index, polymorphic informatic content ) were estimated, the genetic divergence matrix was calculated and the genetic tree was drawn. The genetic diversity (h) was between (0-0.497) with an average of 0.25, while the number of active alleles (ne) ranged between (1- 1.988) with an average of 1.43, the values of the Shannon coefficient (I-index) values for (AG)9C and GA(9)C primers ranged between (0-0.69), with a mean of 0.37. The mean value of the polymorphic informatic content (PIC) for Shamii cattle was (0.28, 0.488) and for Friesian cattle (0.46,0.492 ) for (AG)9C and GA(9)C respectively,. The primer GA(9)C was stronger than the primer (AG)9C in terms of its diagnostic power, the results of the matrix and genetic tree showed that it is reliable to rely on (AG)9C and GA(9)C primers studied in the study of the genetic diversity of cattle.

**Keywords**: Levantine cattle, ISSR, (AG)9C and GA(9)C, genetic fingerprinting.

**مقدمة**

التنوع الوراثي في السلالات المحلية في الدول النامية له أهمية كبيرة، لأن إدخال سلالات جديدة عالية الانتاج سيؤدي إلى تدهور وانقراض السلالات المحلية التي تعد مقاومة للظروف البيئية ومنخفضة الانتاج (Mohammadbadi وزملاؤه، 2017).

نشأت سلالة الأبقار الشامية وتكيفت بشكل جيد في غوطة دمشق (جنداوي، 2004؛ سمعان، 2004)، تمتلك سلالة الأبقار الشامية صفات مميزة من حيث مقاومتها للأمراض، وتأقلمها مع البيئة المحلية (كركوتلي، 2001) وتعتمد قدرة السلالات المحلية على الاستجابة للتكيف مع التغيرات البيئية على مستوى التباين الوراثي أو التنوع الذي تحتويه (Askari، 2011). لا تحدد دراسات التنوع الوراثي للجماعات ضمن وما بين الأنواع فقط العملية التطورية وآليتها؛ لكنها تعطينا معلومات مفيدة عن المناطق الوراثية المحافظ عليها ضمن النوع الواحد لعائلة Bovidae والتي تضم الأبقار والأغنام والماعز وما إلى ذلك (Notter،1999). يعد الحفاظ على سلامة أنواع الثروة الحيوانية فضلا عن تنوعها الوراثي هو واحد من أهم الأهداف للسياسات الزراعية والتي لابد من اتخاذها لحماية المخزون الوراثي للحيوانات المحلية المعرضة لخطر الانقراض.

عُدت تقانة الـ Polymerase chain reaction (PCR) تطوراً هاماً خاصة عندما أمكن تضخيم قطع محددة من الـ DNA باستخدام مرئسات عشوائية أو متخصصة مصممة لهذا الهدف، وقد ساعدت دراسات البيولوجيا الجزيئية المعتمدة على تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل PCR في التقدم بتشخيص وتحري التنوع الوراثي بدقة (kadri، 2019)، مما فسح المجال لإيجاد بروتوكولات تعتمد على مؤشرات جديدة أسرع وأقل تكلفة ولا تتطلب سوى كميات قليلة من الحمض النووي (Bornet و Branchard، 2001).

من أهم التقانات المستخدمة تقانة الـ Intra simple sequence repeats (ISSR) المعتمدة على تفاعل الـ PCR باستخدام مرئس واحد يرتبط بالتكرارات الترادفية البسيطة، حيث تعد تقانة سهلة نسبيا بثباتية جيدة للنتائج عند تكرار العمل وتعطي نتائج جيدة في دراسات التنوع الوراثي (Zhang وزملاؤه،2005)، ويمكن استخدام تقانة ISSR في مجال تحديد المواقع الجينية للإفادة منها برسم الخرائط الوراثية، والبصمة الوراثية، ومواقع الجينات ودراسات التنوع الوراثي (Ye وزملاؤه، 2005). أجريت العديد من الدراسات لتحديد التنوع الوراثي داخل وبين مجموعات الثروة الحيوانية باستخدام المؤشرات الجزيئية (Metta وزملاؤه، 2004؛Kol و Lazebny،

Askari؛2006 وزملاؤه، 2011؛ Stolpovsky وزملاؤه، 2011). وأظهرت العديد من الدراسات وجود بصمة وراثية مميزة لكل عرق باستخدام إحدى تقانات البصمة الوراثية SSR و ISSR (Kosovsky وزملاؤه، 2014؛ Faid-Allah وزملاؤه، 2018).

يعد المرئسان C(9) AG و GA(9)C من المرئسات المستخدمة في العديد من الدراسات لتحديد التنوع الوراثي والتمييز بين سلالات الماشية عن بعضها البعض (Ahani Azary وزملاؤه، Ghasemi؛2007 وزملاؤه، 2010؛ Askari وزملاؤه، 2011؛ Kosovsky وزملاؤه، 2014).

نظراً لقلة الدراسات مجال توصيف العروق المحلية جزيئياً، قمنا باستخدام المرئسين AG)9C) و GA)9C) للتحقق من التنوع الوراثي بين الأبقار الشامية وأبقار الفريزيان في هذا البحث. هدفت هذه الدراسة إلى تحديد البصمة الوراثية للأبقار الشامية باستخدام تقانة ISSR والمرئسين AG)9C) و GA)9C).

**مواد وطرائق العمل**

جُمعت عينات الدم عشوائيا من سلالتين مختلفتين من الأبقار [الأبقار الشامية (ن = 9) وأبقار الفريزيان (ن = 4)]. أُخذت عينات من أبقار الفريزيان من محطة دير الحجر لبحوث الأبقار الشامية ومزرعة كلية الزراعة بدمشق. أُجريت التجارب في مختبر الوراثة الجزيئية في الهيئة العامة للتقانة الحيوية – قسم الحيويات الطبية والحيوانية في عام (2020 – 2021).

1.استخلاص الحمض النووي: عُزل الحمض النووي من 300 ميكرولتر من الدم المحيطي باستخدام طاقم عزل الـ DNA (G-DEX™ ) شركة Inron حسب تعليمات الشركة الصانعة، قيست تراكيز الـDNA وحددت نقاوته لكامل العينات المعزولة باستخدام جهاز المطياف الضوئي (Hitachi،u –2900 ) على أطوال أمواج 260 و 280 نانومتر وإذا كانت النسبة 280/260 أعلى من 1.7 تكون عزلة الدنا نقية. ودرست النوعية من خلال رحلان كهربائي على هلامة الآغاروز 0.8% ومحلول دارئ للرحلان TBE 1X (TBE 10X: Tris 109 g, Boric acid 55g , EDTA 9.3g /1L) (Sambrook وزملاؤه، 1989)، حفظت عزلات الـ DNA في الـ –20 لحين اجراء تفاعل pcr

2. تطبيق تقنية الـ **ISSR** المعتمدة على تفاعل الـ **PCR**:

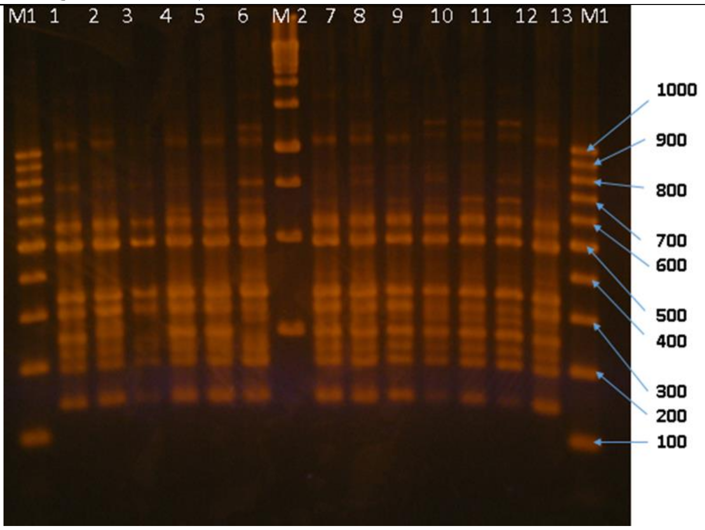
أُجري تفاعل الـ PCR بحجم نهائي قدره 25 ميكرولتر باستخدام 12.5 ميكرولتر من محلول Master Mix (2x) من شركة (Kapa Biosystems)، 50 بيكومول من المرئسة (AG)9C أوالمرئسة (GA)9C و50 نانوغرام من الحمض النووي DNA، واستكمل حجم التفاعل بالماء المقطر المعقم (a. أجري التضخيم في جهاز مدور حراري ( Master cycler eppendorf) وفقا للمراحل التالية: فصل أولي للسلسلتين على درجة 94° م لمدة 5 د، تلاه 35 دورة حرارية: (فصل السلسلتين 94 مْ لمدة 30 ثانية، الالتحام عند 52 مْ لمدة 30 ثانية والاستطالة عند 72 مْ لمدة 2 د) ثم الاستطالة النهائية على 72 مْ لمدة 10 دقائق (Askari وزملاؤه، 2011).

3. رحلان نواتج الـ PCR:

رُحلت نواتج تفاعل البوليميراز المتسلسل على هلامة agarose 2٪ باستخدام محلول دارئ TBE 1x وأُظهرت الحزم بإضافة الإيثيديوم بروميد بمقدار5 ميكرولتر (0.5 ميكروغرام/مل) للهلامة، ووُثقت بجهاز توثيق الهلامات Cleaver. حُللت صور الرحلان وحُددت أوزان الحزم باستخدام البرنامج Gel analyzer v.10، حسبت مصفوفة التشابه حسب Nei وزملاؤه (1978) ثم رُسمت شجرة القرابة الوراثية بطريقة Unweighed pair group method with Arithmetic mean (UPGMA) وحُسب التنوع الوراثي ومؤشر شانون باستخدام برنامج POPGene V.1.3، وحددت قيمة محتوى المعلومات المتعدد الأشكال Polymorphic information content (PIC) من خلال المعادلة PIC= 2F (1−F) حيث F تعبر عن تكرار الأليل (Kosovsky وزملاؤه، 2016)، وحسبت القوة التشخيصية للمرئس حسب المعادلة التالية: القوة التشخيصية للمرئسة= (الحزم المتباينة للمرئسة/الحزم المتباينة لكل المرئسات)*100 (الخفاجي وزملاؤه ، 2016).

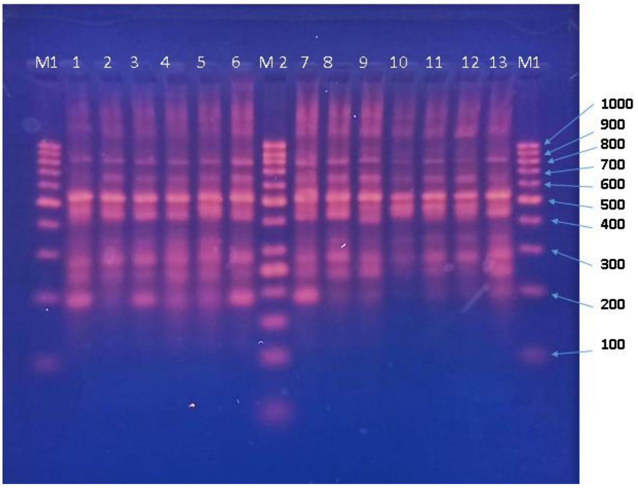
**النتائج والمناقشة**

عزل الـ DNA من عينات التجربة وكانت نقاوته حسب النسبة 280/260 أعلى من القيمة 1.7 وأجري رحلان نواتج الـ PCR باستخدام المرئسين AG)9C) و GA(9)C على هلامة الآغاروز 2% الصورتين (1 و 2)، حيث أعطى المرئسان المستخدمان 36 حزمة كلية منها25 حزمة متعددة شكلياً Polymorphic أي نسبة التعدد الشكلي 69.44%. تراوحت أطوال الحزم عند تحليلها باستخدام برنامج Gel analyzer V.10 مابين 170 إلى 1300 زوج قاعدي، كان التنوع الوراثي (h) ما بين (0–0.497) وبمتوسط حسابي قدره 0.25، أما بالنسبة لعدد الاليلات الفعالة (ne) فقد تراوحت مابين (1– 1.988) وبمتوسط حسابي قدره 1.43، وتراوحت قيم معامل شانون (I–index) ما بين (0–0.69) وبمتوسط حسابي قدره 0.37 وذلك للمرئسين AG)9C) و GA(9)C. أظهر المرئس AG)9C) وجود 18 حزمة، كانت 11 منها متعددة شكلياً Polymorphic أي أنّ نسبة التعدد الشكلي 61% الشكل (1). تراوحت أطوال الحزم مابين 170 إلى 1300، وكانت الحزم ( 170، 204، 224، 290، 320، 470، 550 bp ) حزم monomorphic أي ظهرت في كلا العرقين الشامي والفريزيان، فرقت الحزمتان (270 و 390 bp) عرق الفريزيان عن الشامي، وبهذا تعد هاتات الحزمتان مميزتان للعرق الشامي. وبلغت قيمة متوسط محتوى معلومات التنوع الوراثي Polymorphic informatics content (PIC) عند الأبقار الشامية (0.28) وعند أبقار الفريزيان (0.46). تراوحت قيم معامل شانون (I–index) للمرئس AG)9C) ما بين (0–0.69) وبمتوسط حسابي قدره 0.317، وتراوح التنوع الوراثي (h) ما بين (0–0.497) وبمتوسط حسابي قدره 0.212، أما بالنسبة لعدد الاليلات الفعالة (ne) فقد تراوحت مابين (1– 1.988) وبمتوسط حسابي قدره 1.365. أما بالنسبة لعدد الآليلات (na) فقد تراوحت ما بين (1، 2) وبمتوسط حسابي قدره 1.611. وكانت القوة التشخيصية للمرئس AG)9C) ( 44).




الشكل (1): هلامة الآغاروز 2% وتبين الحزم المختلفة لعرق الأبقار الشامية (1-9) وعرق أبقار الفريزيان (10-13) باستخدام المرئس AG)9C) بالمقارنة مع مؤشرات الوزن الجزيئي M100) 1bp)

كما أعطى المرئس GA(9)C 18 حزمة كانت منها 14 حزمة متعددة شكلياً Polymorphic أي نسبة التعدد الشكلي 77.78% الشكل (2). تراوحت أطوال الحزم مابين 180 إلى 1185 زوج قاعدي، وكانت الحزم (270و 314 و 527 و 1185) monomorphic، ظهرت الحزم (180 و 230 و 652 bp) عند العرق الشامي مع غيابها التام عند الفريزيان، بينما ميزت الحزمتان ( 1150 و657 ) عرق الفريزيان. وبلغت قيمة متوسط محتوى معلومات التنوع الوراثي Polymorphic informatics content (PIC) عند الأبقار الشامية (0.488) وعند أبقار الفريزيان (0.492). تراوحت قيم معامل شانون (I–index) للمرئس GA(9)C ما بين (0-0.6902) وبمتوسط حسابي قدره 0.429، وتراوح التنوع الوراثي (h) ما بين (0-0.497) وبمتوسط حسابي قدره 0.289، أما بالنسبة لعدد الاليلات الفعالة (ne) فقد تراوحت مابين (1-1.988) وبمتوسط حسابي قدره 1.499. أما بالنسبة لعدد الآليلات (na) فقد تراوحت ما بين (1، 2) وبمتوسط حسابي قدره 1.778. بلغت القيمة التشخيصية للمرئس GA(9)C 56.



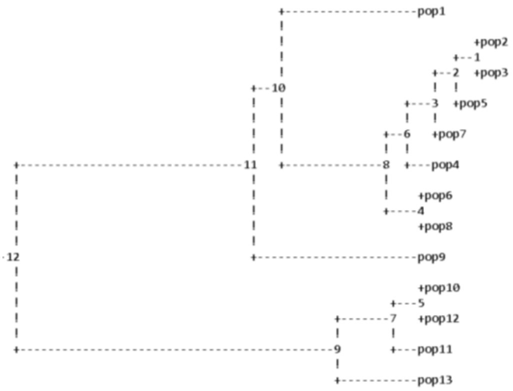

الشكل (2): هلامة الآغاروز 2% وتبين الحزم المختلفة لعرق الأبقار الشامية (1-9) وعرق أبقار الفريزيان (10-13) باستخدام المرئس GA)9C) بالمقارنة مع مؤشرات الوزن الجزيئي M100) 50bp (M1) 2bp).

سُجلت النتائج بالنظام الثنائي (1،0) تعبيراً عن (الحزمة غير موجودة، الحزمة موجودة)، وحُسبت مصفوفة التشابه بواسطة برنامج Popgene حسب (Nei، 1978) وذلك للمرئسين معاً حيث وصلت نسبة التشابه إلى 97% بين العينتين (10و12) فريزيان، وكانت أقل نسبة تشابه 50% بين العينة (10) فريزيان و (3) شامي. تراوح التشابه مابين عينات الأبقار الشامية 69-94%، وبين عينات الفريزيان 50- 97% بالنسبة للمرئسين AG)9C) و GA(9)C معاً الشكل (3). وهذا موافق لما بينه Askari وزملاؤه (2011) بأن المرئسين GA)9C) و AG)9C) قد فصلا بين العروق المختلفة للأبقار.

| pop ID | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | **** | 0.8889 | 0.8056 | 0.8611 | 0.8333 | 0.7500 | 0.8333 | 0.8056 | 0.7778 | 0.6389 | 0.5833 | 0.6667 | 0.6 |
| 2 | 0.1178 | **** | 0.9167 | 0.9167 | 0.9444 | 0.8611 | 0.9444 | 0.9167 | 0.7778 | 0.5833 | 0.5278 | 0.6111 | 0.6 |
| 3 | 0.2162 | 0.0870 | **** | 0.8333 | 0.8611 | 0.7778 | 0.8611 | 0.8333 | 0.6944 | 0.5000 | 0.4444 | 0.5278 | 0.5 |
| 4 | 0.1495 | 0.0870 | 0.1823 | **** | 0.9167 | 0.7778 | 0.8611 | 0.8889 | 0.6944 | 0.5556 | 0.5000 | 0.5278 | 0.5 |
| 5 | 0.1823 | 0.0572 | 0.1495 | 0.0870 | **** | 0.8611 | 0.8889 | 0.8611 | 0.7778 | 0.5833 | 0.5278 | 0.6111 | 0.5 |
| 6 | 0.2877 | 0.1495 | 0.2513 | 0.2513 | 0.1495 | **** | 0.8611 | 0.8889 | 0.8056 | 0.6667 | 0.6111 | 0.6944 | 0.6 |
| 7 | 0.1823 | 0.0572 | 0.1495 | 0.1495 | 0.1178 | 0.1495 | **** | 0.9167 | 0.8333 | 0.5833 | 0.5833 | 0.6111 | 0.6 |
| 8 | 0.2162 | 0.0870 | 0.1823 | 0.1178 | 0.1495 | 0.1178 | 0.0870 | **** | 0.8056 | 0.6111 | 0.5556 | 0.5833 | 0.5 |
| 9 | 0.2513 | 0.2513 | 0.3646 | 0.3646 | 0.2513 | 0.2162 | 0.1823 | 0.2162 | **** | 0.6389 | 0.6389 | 0.6667 | 0.5 |
| 10 | 0.4480 | 0.5390 | 0.6931 | 0.5878 | 0.5390 | 0.4055 | 0.5390 | 0.4925 | 0.4480 | **** | 0.9444 | 0.9722 | 0.8 |
| 11 | 0.5390 | 0.6391 | 0.8109 | 0.6931 | 0.6391 | 0.4925 | 0.5390 | 0.5878 | 0.4480 | 0.0572 | **** | 0.9167 | 0.8 |
| 12 | 0.4055 | 0.4925 | 0.6391 | 0.6391 | 0.4925 | 0.3646 | 0.4925 | 0.5390 | 0.4055 | 0.0282 | 0.0870 | **** | 0.8 |
| 13 | 0.4925 | 0.4925 | 0.6391 | 0.6391 | 0.5878 | 0.4480 | 0.4925 | 0.5390 | 0.5878 | 0.1495 | 0.1495 | 0.1178 | * |

صورة (3): مصفوفة التشابه(فوق القطر) والتباعد الوراثي(تحت القطر) بين عينات عرق الأبقار الشامية (1–9) وعينات عرق أبقار الفريزيان (10–13) باستخدام تقنية ISSR للمرئس (AG)9C والمرئس (AG)9C

رُسمت شجرة القرابة الوراثية لكل مرئس على حدا ثم للمرئسين معاً، حسب (Nei، 1978)، اعتماداً على طريقة Unweighed pair group method with Arithmetic mean (UPGMA) المعدلة عن طريقة Neighbor procedure of Philip، يلاحظ من الشكل (1) إن شجرة القرابة الوراثية للمرئس GA(9)C فصلت العينات إلى عنقودين، تجمعت عينات الأبقار الشامية في العنقود الأول، أما العنقود الثاني فقد حوى عينات أبقار الفريزيان ، وانقسم عرق الفريزيان إلى طرازين حيث ظهرت مجموعتان الأولى تضم (10و11و12) والثانية تضم (13)، أما العرق الشامي انقسم إلى ثلاثة طرز، وقد انقسمت عيناته إلى مجموعتين الأولى تضم (العينة 9) والثانية ضمت عينات العرق الشامي المتبقية والتي انقسمت بدورها إلى طرازين.




الشكل (1): شجرة القرابة الوراثية بين عرق الأبقار الشامية وعرق أبقار الفريزيان 1–9 أبقار شامية، 10 –13 أبقار فريزيان للمرئس GA(9)C

من الشكل (2) نلاحظ أن شجرة القرابة الوراثية للمرئس (AG)9C قسمت العينات إلى عنقودين، يحوي العنقود الأول عينات الأبقار الشامية، أما العنقود الثاني فيحوي عينات أبقار الفريزيان حيث كانت العينات (10 و11و12و 13) في عنقود والعينات من1إلى 9 في عنقود آخر، وانقسم عرق الفريزيان إلى طرازين حيث شكلت مجموعتين الأولى تضم (10و11) والثانية تضم (12و 13)، أما العرق الشامي انقسم إلى ثلاثة طرز، وقد انقسمت عيناته إلى مجموعتين الأولى تضم (العينة 3) والثانية ضمت عينات العرق الشامي المتبقية والتي انقسمت بدورها إلى طرازين.

```
                                                            +pop1
                                          +-----------------1
                                       +--6                 +pop2
                                       !  !
                             +---------7  +-----------------pop4
                             !         !
                             !         +-----------------pop5
            +---------------10
            !                !                  +--------pop7
            !                !    +-------------2
+----------11                +----9             +--------pop9
!           !                     !
!           !                     +----------------------pop8
!           !
!           +--------------------------------------------pop3
12
!                                               +--------pop6
!                                          +----4
!                                    +-----5    +--------pop12
!                                    !     !
+------------------------------------8     +------------pop13
                                     !
                                     !          +--------pop10
                                     +----------3
                                                +--------pop11
```

الشكل (2): شجرة القرابة الوراثية بين عرق الأبقار الشامية وعرق أبقار الفريزيان 1–9 أبقار شامية، 10 –13 أبقار فريزيان للمرئس (AG)9C

فصلت العينات أيضاً لعنقودين عند رسم شجرة القرابة الوراثية للمرئسين (AG)9C و(GA)9C معاً الشكل (3)، ضم العنقود الأول عينات الأبقار الشامية، أما العنقود الثاني ضم عينات أبقار الفريزيان حيث كانت العينات (10 و11و12و 13) في عنقود والعينات من1إلى 9 في عنقود آخر، وانقسم عرق الفريزيان إلى طرازين حيث شكلت مجموعتين الأولى تضم (10و11و12) والثانية تضم (13)، أما العرق الشامي انقسم إلى طرازين، وقد انقسمت عيناته إلى مجموعتين الأولى تضم (العينة 9) والثانية ضمت عينات العرق الشامي المتبقية والتي انقسمت بدورها إلى طرازين الأولى تضم (العينة 6) والثانية تضم العينات (1 و2و3و4و5و7و8).

```
                                         +------------------pop1
                                         !
                                         !            +-----pop2
                                         !         +--2
                                      +--9      +--4  +-----pop5
                                      !  !      !  !
                                      !  !  +---6  +--------pop4
                                      !  !  !   !
                                      !  !  !   !  +--------pop7
                               +-----10  +--8   +--5
                               !      !     !      +--------pop8
                               !      !     !
  +---------------------------11      !     +---------------pop3
  !                            !      !
  !                            !      +--------------------pop6
  !                            !
  !                            +---------------------------pop9
-12
  !                                                     +--pop10
  !                                                +----1
  !                                         +------3    +--pop12
  !                                         !      !
  +-----------------------------------------7      +-------pop11
                                            !
                                            +--------------pop13
```

الشكل (3): شجرة القرابة الوراثية بين عرق الأبقار الشامية وعرق أبقار الفريزيان 1-9 أبقار شامية، 10 -13 أبقار فريزيان للمرئس (AG)9C والمرئس (GA)9C

وبذلك يكون المرئسان AG (9)C و (GA)9C قد فرقا بين العرقين الشامي والفريزيان ووافقت هذه النتائج مع ما بينه (Askari وزملاؤه، 2011؛ Kosovsky وزملاؤه، 2011) بأنهما من المرئسات المستخدمة للتمييز بين سلالات الماشية عن بعضها البعض.

## الاستنتاجات والتوصيات:

تعد تقانة ISSR باستخدام المرئسين (AG)9C و GA(9)C طريقة موثوقة للتفريق بين عرقي الأبقار الشامية والفريزيان سواء استُخدم المرئس (AG)9C أوالمرئس GA(9)C أو كليهما معاً، مع الأخذ بعين الاعتبار أن المرئس GA(9)C أقوى من المرئس (AG)9C من حيث قوته التشخيصية.

كما لوحظ أن محتوى معلومات التنوع الوراثي (Polymorphic informatics content (PIC عند عرق الفريزيان أعلى من مثيله عند العرق الشامي وذلك في كلا المرئسين ويمكن أن يعزى ذلك لخضوع عرق الفريزيان لبرامج تربية مكثفة لتحسين الإنتاج. نوصي باستخدام هذين المرئسين للتفريق بين عرق الأبقار الشامية وعرق أبقار الفريزيان.

## شكر

نشكر الهيئة العامة للتقانة الحيوية والهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية لكل ما قدموه من تسهيلات ساعدت في تمهيد الطريق أمام نجاح هذا البحث، ودعم البحث العلمي وتطويره.

## المراجع

جنداوي، يحيى (2004). الأبقار الشامية، نشرة إرشادية، مديرية الإرشاد الزراعي، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، سورية.

سمعان، وجيه (2004). تربية ورعاية الأبقار الشامية في الجمهورية العربية السورية. مجلة الزراعة، وزارة الزراعة والاصلاح الزراعي- سورية، عدد 17، ص: 30-35.

كركوتلي، أيمن (2001). أهمية الأبقار الشامية في الحفاظ على التنوع الحيوي في غوطة دمشق. ندوة المحافظة على بيئة وعمران مدينة دمشق من خلال المحافظة على التنوع الحيوي للغوطتين، الجزء الثاني، مركز التعاون الأوروبي فرع سورية والمجلس الأعلى لرعاية الفنون والآداب والعلوم الاجتماعية. ص: 350 -371.

الخفاجي، حمزة .، محمد الأنباري، نضال البديري. (2016). تطبيق معلمات الـ RAPD لتقدير البعد الوراثي لسلالات من زهرة الشمس (Helianthus annuus. L ). مجلة الفرات للعلوم الزراعية. 8(1): 109-119.

Ahani Azari, M., O.E. Lazebny and G.E. Sulimova, (2007). Determination of heterozygosity level in fifteen various cattle breeds using ISSR-PCR method. Proceedings of the 5th National Biotechnology Congress of Iran. Summit Metting Conference Hall, November 24-26, Tehran, Iran.

Askari, N., MOHAMMAD, A. M., & Baghizadeh, A. (2011). ISSR markers for assessing DNA polymorphism and genetic characterization of cattle, goat and sheep populations. IRANIAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY JULY 2011 , Volume 9 , Number 3; Page(s) 222 To 229

Bornet, B. and M. Branchard, (2001). Nonanchored Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) markers: Reproducible and specific tools for genome fingerprinting. Plant Mol. Biol. Rep., 19: 209-215.

Faid-Allah, E., Ghoneim, E., Elbetagy, A. R., & El-Dabour, M. (2018). Genetic diversity and structure of native Egyptian cattle populations and French-Egyptian Cross via DNA-microsatellite. Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner, *23*(1), 1-10.

Ghasemi, M., Baghizadeh, A., & Abadi, M. R. M. (2010). Determination of genetic polymorphism in Kerman Holstein and Jersey cattle population using ISSR markers. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4(12), 5758-5760.

Kadri, K., 2019, Polymerase chain reaction (PCR) principle and applications, in M. L. Nagpal et al. (eds), Synthetic Biology- New interdisciplinary Science, intechopen, London. 147- 163.

Kol, N.V. and O.E. Lazebny, (2006). Polymorphism of ISSR-PCR markers in Tuvinian population of Reindeer Rangifer tarandusl. Rus. J. Genet., 42: 1469-1476.

Nei, M., (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 89: 583-590.

Kosovsky, G. Y., Glazko, V. I., Arkhipov, A. V., Petrova, I. O., & Glazko, T. T. (2014). Dairy cattle population-specific genetic differentiation based on ISSR-PCR markers. Russian Agricultural Sciences, 40(6), 463-466.

Kosovsky, G. Y., Glazko, T. T., Arkhipov, A. V., Khovankina, A. V., Babii, A. V., Kornienko, E. V., and Glazko, V. I. (2016). The use of ISSR markers for characterization of genetic differentiation of cattle breeds. Проблемы биологии продуктивных животных, (3), 91-97.

Metta, M., Kanginakudru, S., Gudiseva, N., & Nagaraju, J. (2004). Genetic characterization of the Indian cattle breeds, Ongole and Deoni (Bos indicus), using microsatellite markers–a preliminary study. BMC genetics, *5*(1), 1-5.

Notter, D. R. (1999). The importance of genetic diversity in livestock populations of the future. Journal of animal science, *77*(1), 61-69.

Sambrook, J., Fritsch, E. F., and Maniatis, T. (1989). Molecular cloning: a laboratory manual (No. Ed. 2). Cold spring harbor laboratory press.

Stolpovsky, Y. A., Ahani Azari, M., Evsukov, A. N., Kol, N. V., Ruzina, M. N., Voronkova, V. N., & Sulimova, G. E. (2011). Comparison of

ISSR polymorphism among cattle breeds. Russian journal of genetics, 47(2), 189-200.

Ye, C., Z. Yu, F. Kong, S. Wu and B. Wang, (2005). R-ISSR as a new tool for genomic fingerprinting, mapping and gene tagging. Plant Mol. Biol. Rep., 23: 167-177.

Zhang, Z. Y., Chen, Y. Y., & Li, D. Z. (2005). Detection of low genetic variation in a critically endangered Chinese pine, Pinus squamata, using .RAPD and ISSR markers. Biochemical Genetics, 43(5), 239-249