Effect of Polymorphism of Calpastatin gene, Age on meat Tenderness for Carcasses in Local Awassi sheep

***Wafaa Ismail Ibrahim ** and Ali kali**

***College of Agriculture, University of Baghdad, Iraq.** **Ministry Of Agriculture
Wafaismail82@yahoo.com

ABSTRACT

This study was conducted in the livestock farm, College of Agriculture, University of Baghdad and the Genetic Resources Laboratories Unit, Animal Resources Department, Ministry of Agriculture and Biotechnology Research Center, AL-Nahrain University. The study was carried out during the period from Mid-July 2014 to 1st April 2015. The aim of the study was to determine the genotypic polymorphism of Calpastatin (CAST) gene and its association with a number of qualitative characteristics of sheep meat of local Awassi sheep carcasses, considering the effect of the animal sex. The study utilized 40 animals of local Awassi sheep; 20 males and 20 females, from which blood and tissue samples (Longissimus dorsi muscle, LD, and Biceps femoris muscle, BF) were collected. After DNA collection from blood samples, polymerase chain reaction (PCR) technique was followed using the primer of Intron I from L domain of the *ovine* calpastatin gene, which resulted in a full amplicon length of 565 bp fragment. The PCR products was digested using restriction endonucleases MspI to identify the genotypes of the CAST gene following the PCR-RFLP technique. Digested products were separated by electrophoresis on 1.5% agarose gel and visualized after staining with ethidium bromide on UV transilluminater. The MspI digestion of the PCR products produced digestion fragments of 306 bp (allele M) and 259 bp (allele N). Genotypic frequency was 75.00, 22.50 and 2.50% for the MM, MN and NN genotypes, respectively. The variation among these frequencies were highly significant. Allele frequency estimates were 0.86 and 0.14 for the M and N alleles, respectively. General qualities of tenderness and acceptability were not affected significantly with different genotypes of the gene. However, the difference in age was highly significantly ($P \leq 0.01$) affecting the sensory qualities (flavor, tenderness, juiciness and public acceptance), reaching the highest value for the recipe flavored at age 2-4 years (4.83). The highest value for the mellowness was at age 1-2 years. It amounted 3.18 and showed the highest value of prescription juiciness at age 1-2 years (2.95), while other ages (2-4 years and more than 4 years) were 2.27 and 2.74, respectively. Significant differences ($P<0.05$) were shown due to age effect for the same muscle; 5.53, 5.34 and 5.24 for the age classes 1-2 years, >4 years and 2-4 years, respectively. The muscle post-mortem pH was not affected by the genotype in either LD or BF muscles, in different age classes. Water—holding capacity was significantly affected by the CAST genotype and showed significant differences ($P<0.05$). It is therefore concluded that age of animals and CAST genotype can be relied on for selection porposes for meat quality in Awassi sheep.

Effect of Polymorphism of Calpastatin gene, Age on meat Tenderness for Carcasses in Local Awassi sheep

تأثير التشكل الوراثي لجين الكالبستاتين والعمر على طراوة لحوم ذبائح الاغنام العواسي المحلي

* وفاء اسماعيل ابراهيم ** علي غالي
* كلية الزراعة / جامعة بغداد /العراق **وزارة الزراعة

الملخص

أجريت هذه الدراسة في الحقل الحيواني التابع لكلية الزراعة – جامعة بغداد ، ومختبرات وحدة المصادر الوراثية / دائرة الثروة الحيوانية / وزارة الزراعة ومركز بحوث التقانات الإحيائية / جامعة النهرين للمدة من 2014/7/15 حتى 2015/4/1 ، بهدف تحديد تكرار الاليلات والتراكيب الوراثية لجين الكالبستاتين (Calpastatin) وبيان تأثير التراكيب الوراثية لجين الكالبستاتين و عمر الحيوان على بعض الصفات النوعية للحوم الاغنام العواسي المحلي. استخدم في هذه الدراسة 40 حيوانا من الاغنام العواسي المحلي (20 ذكور و 20 اناث) وشملت الدراسة عينات الدم واللحم من العضلة الطولية Longissimus dorsal (LD) والعضلة الفخذية Biceps Femoris (BF). واستخدمت تقنية التفاعل المتسلسل المبلمر (PCR) واستخدام تقنية (PCR-RFLP) باستعمال إالقطع المحدد Msp I لتحديد التراكيب الوراثية للجين. بلغت نسبة توزيع التراكيب الوراثية لجين الكالبستاتين في عينة الاغنام العواسي المدروسة 75.00 و 22.50 و 2.50 % لكل من التراكيب الوراثية MM و MN و NN على التوالي. وكان التباين بين هذه النسب عالي المعنوية (P≤0.01). و من ثم كان التكرار الاليلي للاليلان M و N على التوالي هو 0.86 و 0.14. ظهرت فروق عالية معنوية (P≤0.01) باختلاف العمر للصفات الحسية جميعها (النكهة والطراوة والعصيرية والتقبل العام) اذ بلغت اعلى قيمة لصفة النكهة بعمر 2-4 سنة (4.83)، اما اعلى قيمة للطراوة بعمر 1-2 سنة فبلغت 3.18 ، واظهرت صفة العصيرية اعلى قيمة بعمر 1-2 سنة (2.95) اما الاعمار 2-4 واكثر من 4 سنة فكانت 2.27 و 2.74 ، على التوالي. بينما ظهرت فروق معنوية (P≤0.05) باختلاف العمر للمدة نفسها والعضلة نفسها اذ بلغت 5.53 و 5.34 و 5.24 لاعمار 1-2 سنة، واكثر من 4 سنة ، و2-4 سنة، على التوالي. ولم يتأثر الاس الهيدروجيني معنوياً بعد الذبح مباشرةً في العضلتين LD و BF باختلاف التراكيب الوراثية للجين وباختلاف عمر الحيوان. وتاثرت قابلية حمل الماء معنوياً باختلاف التراكيب الوراثية للجين و سجلت فروق عالية المعنوية (P≤0.01) باختلاف العمر. لذا يمكن الاعتماد على عمر الحيوان والتراكيب الوراثية لجين الكالبستاتين في عمليات الانتخاب لاغراض جودة اللحوم.

المقدمة

يعد التشكل الوراثي لجينات الحيوانات المحلية من العوامل الاساسية الداعمة للانتخاب وتعد تقنية الواسمات الداعمة للانتخاب Marker Assisted (MAS) Selection من التقنيات التي تزيد من دقة وكمية التحسين الوراثي للصفات (Bastos واخرون ، 2001) . كما يسهم التحسين الوراثي في حل المشاكل الموجودة في طراوة لحوم الماشية ، اذ وجد ان للتراكيب الوراثية المختلفة لجين الكالبستاتين دوراً في تحديد التباين في طراوة اللحم من خلال الاختلاف في نظام الكالبستاتين ، لذلك استخدم مربوا الحيوانات الانتخاب لزيادة تكرار الاليلات المرغوبة في تحسين طراوة اللحم (Shackelford واخرون ، 1995 ; Eggen و Hocquette ،2003)

نتيجة للتقدم الكبير في علم الوراثة الجزيئية في السنوات الاخيرة فقد تم تحديد عدد من المواقع الجينية للصفات الكمية Quantitative Trait Loci (QTL) والتي لها تأثير على الصفات ذات الاهمية الاقتصادية كما تم تحديد بعض مواقع هذه الصفات على كروموسوماتها (Wendt واخرون ، 2004) وان احد هذه المواقع التي تم تحديدها هو جين Calpastatin (CAST) المرتبط مع صفة طراوة اللحم والذي تستخدم في عمليات الانتخاب الوراثي بمساعدة المعلمات الوراثية ، وقد بينت الدراسات ان موقع هذا الجين يؤثر على نمو الحيوان وتركيب الذبيحة ويرتبط مع الميوستاتين (Myostatin) وقد تميز الكالبستاتين بانه جين يرتبط مع الصفات النوعية للحوم الماشية (Casas واخرون ، 2006 ; الجواسرة والانباري ، 2007) ويعتقد ان وجود الكالبستاتين يثبط نشاط الكالبين وهذا الاخير يعتمد على وجود الكالبستاتين وتركيز ايونات الكالسيوم (Dayton واخرون ، 1976). يؤثر جنس الحيوان تأثيرا كبيراً في نوعية اللحوم أذ تكون لحوم الذكور اكثر خشونة وقوة من لحوم الاناث ولا توجد تجمعات دهنية بين العضلات في الذكور ويكون لون العضلات داكنا. وقد وجد ان كمية الكولاجين الموجودة في عضلات الذكور تكون اكبر مما هي عليه في عضلات الاناث (الاسود ، 2000) .

مواد وطرائق العمل

نفذت الدراسة في الحقل الحيواني التابع لكلية الزراعة – جامعة بغداد في االمدة من 2014/7/15 حتى 2014/9/15 ، اذ اخذت عينات الدم ثم ذبحت الحيوانات وأخذت نماذج من العضلة الظهرية والعضلة الفخذية ، في حين تم اجراء التحاليل المختبرية في مختبرات وحدة المصادر الوراثية / دائرة الثروة الحيوانية / وزارة الزراعة ومركز بحوث التقانات الاحيائية / جامعة النهرين للمدة من 2014/11/1 حتى 2015/4/1 بهدف فصل المادة الوراثية وتحديد التراكيب الوراثية (Genotype) لجين الكالبستاتين واثره على طراوة اللحم . استخدم في هذه التجربة 40 حيواناً من الاغنام العواسي (20 ذكور و20 اناث)

نماذج العضلات المدروسة

بعد ذبح الحيوانات وبعد تبريد الذبائح على درجة حرارة 2 مْ لمدة 24 ساعة جرى فصل اثنين من العضلات الرئيسة هي العضلة الفخذية ثنائية الرأس Biceps Femoris (BF) تمثل منطقة الاطراف الخلفية ، والعضلة الطويلة الظهرية Longissimus Dorsi (LD) تمثل المنطقة الظهرية ، وتختلف هذه العضلات فيما بينها من حيث نوع الالياف (fiber typing) ومحتواها من الانسجة الرابطة . بعد عملية الفصل وضعت كل عضلة على حدة في اكياس من البولي اثيلين وسجل رقم الحيوان والجنس واغلقت الاكياس باحكام وخزنت حتى اجراء القياسات الفيزيائية والكيميائية .

جمع عينات الدم واستخلاص DNA (DNA Isolation)

تم جمع 3 مل من الدم من كل حيوان في انابيب اختبار تحتوي على مانع تحثر نوع EDTA K3 من انتاج شركة AFCO الاردنية ، ونقلت في صندوق مبرد وخفظت بدرجة تجميد -20 م لحين اجراء التحاليل المختبرية .

تم استخلاص DNA من الدم حسب تعليمات العدة التشخصية (Kit) المجهزة من شركة BioNEER الكورية

للتأكد من نجاح عملية استخلاص الـ DNA استخدمت تقنية الترحيل الكهربائي Electrophoresis واعتمدت على طريقة (Williams واخرون ، 1990) . بطاقة كهربائية 80 فولت و 60 ملي امبير لمدة ساعة . وبعد انتهاء الترحيل يؤخذ الجل بحذر ويوضع في جهاز مطياف الاشعة فوق البنفسجية (UV light transillminator) وتمت مشاهدة حزم الـ DNA وصورت باستخدام جهاز التوثيق الفوتوغرافي (Photo documentation) .

تخفيف البادئ Primer Dilution

وتم التخفيف حسب تعليمات الشركة المجهزة Promega الامريكية وشركة BioNEER الكورية للوصول الى تركيز 100 µM وذلك باضافة الماء مزال الايونات (Deionized water).

تفاعل PCR الترحيل الكهربائي لناتج الـ PCR

ضخمت نسخ الـ DNA باستخدام تقنية التفاعل المتسلسل المبلمر PCR وباستخدام العدة التشخصية PCR Premix KITوبعد انتهاء التفاعل تم ترحيل ناتج التفاعل في جهاز الترحيل الكهربائي للتأكد من تضاعف القطعة المطلوبة من الـ DNA. حيث رحلت العينة على هلام الاكاروز بتركيز 0.8 % وثبت قوة التيار الكهربائي على 100 فولت لمدة ساعة ، وبوساطة جهاز مطياف الاشعة فوق البنفسجية (UV light transillminator) تم مشاهدة الحزم وصورت باستخدام جهاز التوثيق الفوتوغرافي (Photo documentation) ويوضح الجدول (3-5) المواد المستخدم في التفاعل الجزيئي .

عملية التقطيع باستعمال انزيم قاطع (PCR – RFLP)

لاجل تقطيع جين الكالبستاتين باستعمال طريقة الـ RFLP تم اختيار الانزيم القاطع (MspI) المستخرج من بكتريا (Moraxella Species) (Ranjbari واخرون ، 2012 ; Yilmaz واخرون ، 2014 و Asadi واخرون ، 2014 : و NCBI ، 2015) وبموقع قطع C C G I G او G G C I C .

حيث اضيف 0.5 مايكروليتر من الانزيم الى 20 مايكروليتر من ناتج الـ PCR وحضن المزيج في درجة حرارة 37 درجة مئوية في جهاز الـ PCR ولمدة ثلاث ساعات ، وتم الترحيل الكهربائي للعينة لمعرفة التشكل الوراثي لجين الكالبستاتين .

الترحيل الكهربائي لناتج التقطيع (PCR – RFLP)

وضع 3µl مايكروليتر من DNA ladder واخذ 10 µl مايكروليتر من ناتج عينة التقطيع باستخدام الانزيم وتم ترحيلها في هلام الاكاروز بتركيز 1% وثبت قوة التيار الكهربائي 100 فولت ولمدة ساعة ، بجهاز مطياف الاشعة فوق البنفسجية (UV light transillminator) تمت مشاهدة عدة حزم وصورت باستخدام جهاز التوثيق الفوتوغرافي (Photo documentation) وبحساب حزم كل عينة تتم معرفة التركيب الوراثي لجين الكالبستاتين .

قياس الاس الهيدروجيني.

قدر الرقم الهيدروجيني للعضلات LD BF مرتين الاولى بعد عملية الذبح مباشرةً ، والثانية بعد 24 ساعة تبريد على وفق طريقة (Attken واخرون ، 1967 ; A.P.H.A ، 1984)

تقدير قابلية حمل الماء

Water Holding Capacity (WHC)

قدرت قابلية حمل الماء للعضلات LD ، BF حسب طريقة (Wardlaw واخرون ، 1973) والمبينة بالخطوات الاتية :

قابلية حمل الماء %=

وزن الماء المضاف للحم – وزن الماء بعد النبذ المركزي x 100

وزن العينة

ذائبية البروتين

تم تقدير ذائبية كل من بروتين المايوفيبرل والساركوبلازما حسب الطريقة التي ذكرها (DenHertog Meischke- واخرون ، 1997) .

تقدير تركيز بروتينات (الساركوبلازما و المايوفيبرل)

استعملت طريقة بايوريت (Biuret) في تقدير تركيز بروتينات (الساركوبلازما و المايوفيبرل) (Gornell واخرون ، 1949) على النحو الاتي

التقييم الحسي Sensory Evaluation

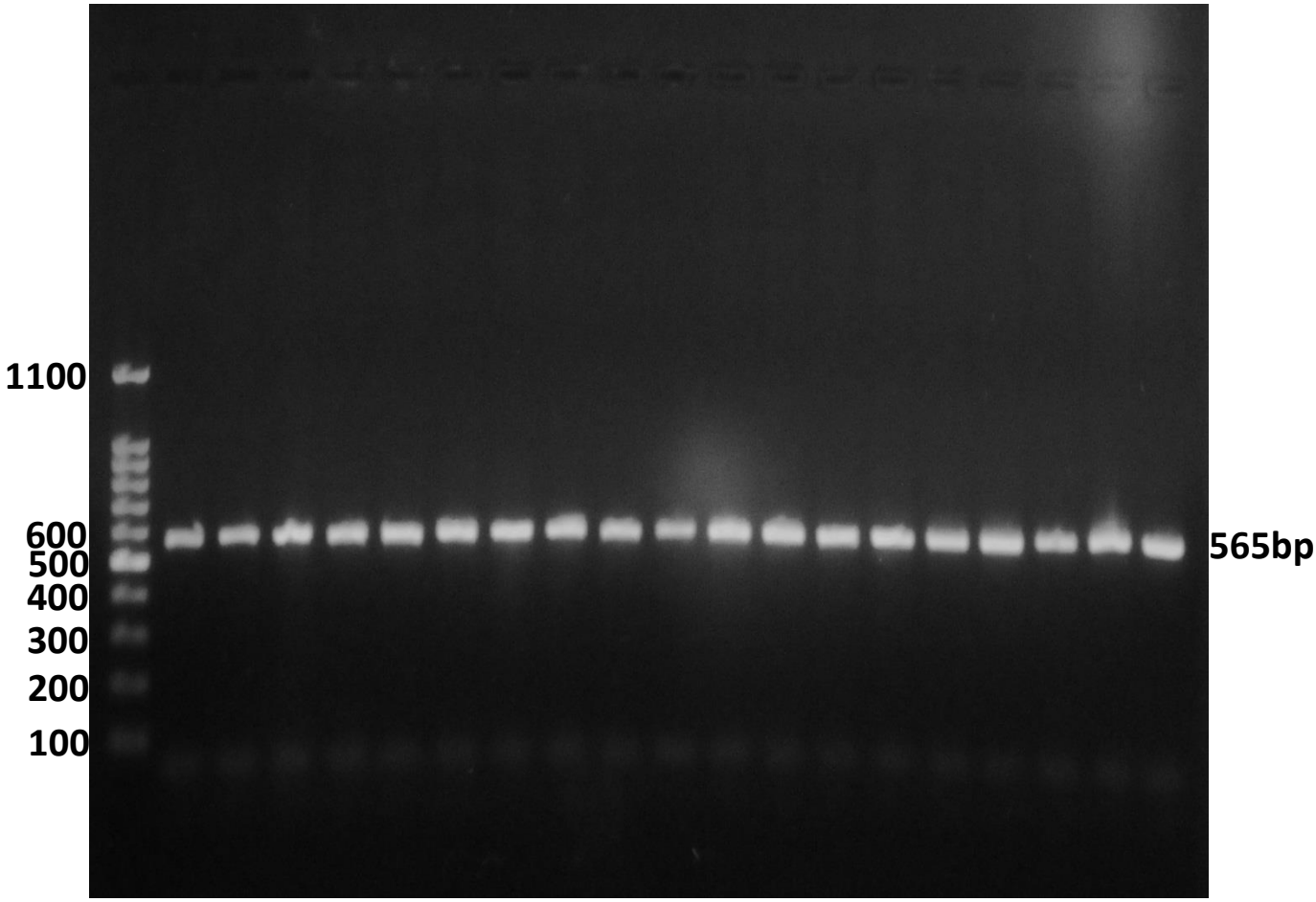
تم تقدير درجات التقييم الحسي لعضلة LD و BF والتي شملت مجموعة من الصفات هي النكهة والرائحة والطراوة والعصيرية

ودرجة التقبل العام على وفق طريقة (Caporaso واخرون
، 1978) جدول (1) (2).

جدول(1) درجات السلم الحسي لاقراص اللحم

درجة التقييم	النكهة	الطراوة	العصيرية	التقبل العام
5	لم تشخص زناخة	طري جداً	عصيرية جداً	مقبولة جداً
4	زناخة خفيفة	طري	عصيري	مقبولة
3	زناخة متوسطة	متوسط الطراوة	متوسط العصيرية	متوسط المقبولية
2	زناخة واضحة	قليل الطراوة	قليلة العصيرية	مقبولة نوعاً ما
1	زناخة واضحة جداً	صلب	جاف	مرفوضة

النتائج والمناقشه



الشكل (1) ناتج الـ PCR لبادئ جين الكالبستاتين في الاغنام على هلام الاكاروز

التشكل الوراثي باستخدام تقنية الـ PCR – RFLP

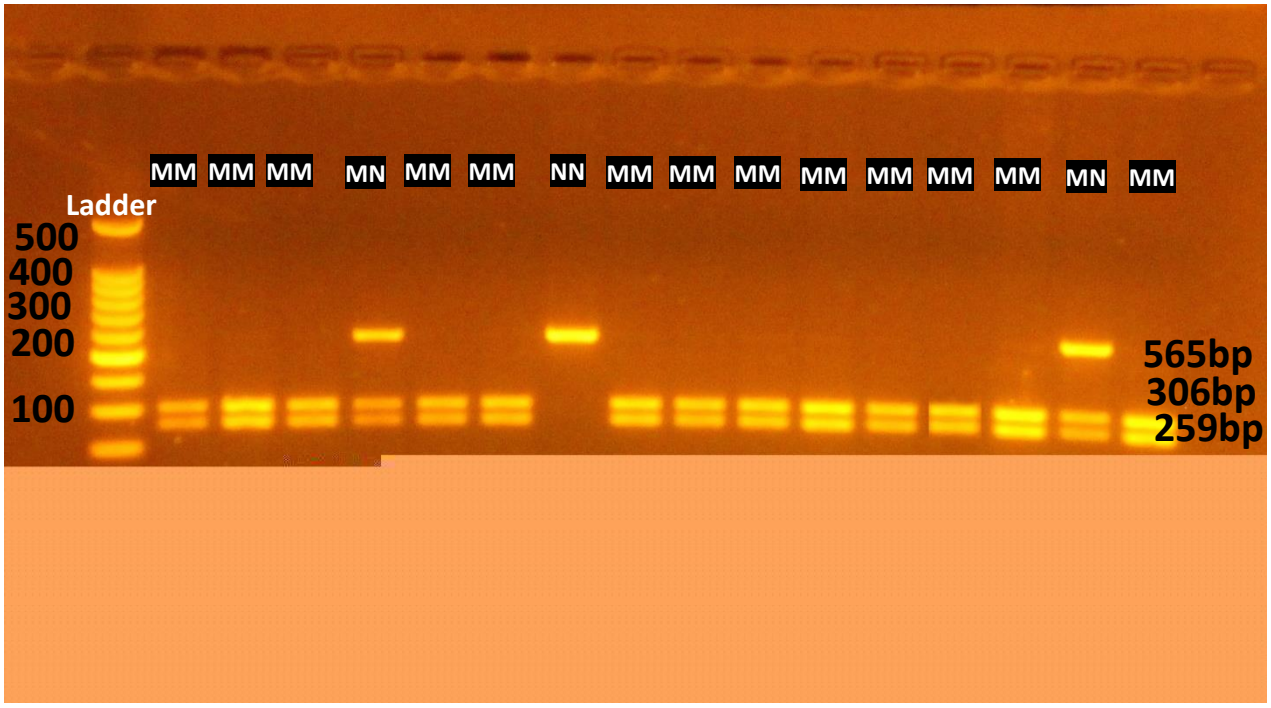
تم التعرف على توزيع التراكيب الوراثية لجميع حيوانات التجربة باستخدام المعلم Ladder (100 bp) DNA

Marker وبحجوم 565 bp و 306 bp و 259 bp (الشكل1) .

ويلاحظ وجود ثلاثة تراكيب وراثية ظاهرة بشكل واضح هم MM و MN و NN اذ ان التركيب الوراثي MM يتكون من حزمتين فقط ولوحظ في 30 عينة من العينات المدروسة (الحزم بحجم 306 bp و 259) و MN يتكون من ثلاث حزم بسبب طفرة في واحد من الاليلات ولوحظ في 9 عينات (بحجم 565 و 306 و 259 bp) و NN يتكون من حزمة واحدة فقط في عينة واحدة (بحجم 569 bp) .

توزيع جين الكالبستاتين في الاغنام العواسي

يوضح الجدول (2) عدد حيوانات التجربة وتراكيبها الوراثية والنسبة المئوية الموزعة على العينة المدروسة، ويظهر وجود فروق عالية المعنوية بين نسب التراكيب الوراثية المختلفة للعينات والتي بلغت 75.00 و 22.50 و 2.50 % للتراكيب الوراثية MM و MN و NN بالتتابع ، ومن خلال هذه النسب يظهر ان اعداد الحيوانات ذات التركيب الوراثي السائد MM اعلى من الاعداد ذات التركيب الوراثي الهجين MN ، وظهور حيوان واحد فقط يحمل التركيب الوراثي المتنحي NN ، كذلك نلاحظ قيمة مربع كاي χ^2 تساوي 33.46 . وقد تطابقت هذه النتائج مع نتائج بعض الدراسات السابقة على جين الكالبستاتين ، وجاء في معظم هذه الدراسات التركيب MM في المقدمة ويليه التركيب الهجين MN وبعده التركيب NN وذلك في دراسة Yilmaz واخرون (2014) على سلالة اغنام تركية كراكبي مرينو (66% MM و 28% MN و 6% NN) وفي دراسة Magdalena واخرون (2011) على نعاج في بولندا (70% MM و 27% MN و 3% NN) وفي دراسة اخرى Nematollah واخرون ، (2014) على سلالة اغنام lori و Nassiry واخرون (2006) على سلالة (AC Kurdi عند الدراسة على جين الكالبستاتين في اغنام Makoei) Palmer واخرون ، 1998 ; Ranjbari واخرون ، 2012).



الشكل (2) ناتج التقطيع لجين الكالبستاتين باستخدام انزيم التقييد Msp I

الجدول (2) العدد والنسبة المئوية لجين الكالبستاتين في العواسي المدروسة

التركيب الوراثي (Genotype)	العدد	النسبة المئوية (%)	عدد الذكور	عدد الاناث
MM	30	75.00	14	16
MN	9	22.50	6	3
NN	1	2.50	-	1
المجموع	40	% 100	20	20
قيمة مربع كاي (χ^2)	---	**33.46		

** = P ≤ 0.01

فقد تغلب التركيب الهجين MN على التركيب MM وبقى التركيب NN الاقل في العينات المدروسة وقد يعود هذا الاختلاف النسبي الى اختلاف السلالة وتأقلمها للظروف البيئية وكذلك الى حجم العينة المدروسة ، وفي دراسات اخرى ظهرت اربعة تراكيب وراثية وهي (AA و BB و AB و AC) عند الدراسة على جين الكالبستاتين في الأغنام

التكرار الاليلي لجين الكالبستاتين (Calpastatin)

بلغ تكرار الاليل M العائد لجين الكالبستاتين في العينة المدروسة 0.86 بينما كان تكرار الاليل N هو 0.14 وهو يخضع لقاعدة هاردي وينبرك للاتزان ، وقد جاءت هذه النتائج مقاربة لنتائج بعض الدراسات السابقة اذ ظهر التكرار الاليلي في دراسة Chung و Davis (2012) 85% و 15% للاليلين M و N على التوالي وفي دراسة Yilmaz واخرون (2014) بلغ التكرار 81% و 19% على التوالي .

تأثير التشكل الوراثي لجين الكالبستاتين على الخواص الكيميائية والفيزيائية والحسية للحم في الاغنام العواسي الصفات الحسية للحوم (النكهة ، الطراوة ، العصيرية ، التقبل العام)

اظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم تأثر صفتى الطراوة والتقبل العام للحم معنوياً في الاغنام المدروسة باختلاف التراكيب الوراثية لجين الكالبستاتين بينما ظهرت فروق معنوية (0.05 ≥ P) في صفتى النكهة والعصيرية للحوم باختلاف التراكيب الوراثية ، اذ تميزت النكهة والعصيرية للحوم التركيب الوراثي NN باعلى قيمة اذ بلغت 5.00 و 3.16 على التوالي في حين كان متوسط النكهة للتركيب الوراثي MN اقل من ذلك (4.74) ومن ثم التركيب MM (4.70) بينما بلغ متوسط العصيرية للتركيب الوراثي MM (2.85) اقل من التركيب NN ومن ثم التركيب MN اذ بلغ (2.80) ، وتفوق كل من التركيبين الحاملين للاليل N على التركيب الوراثي النقي MM في صفة النكهة والعصيرية ، الجدول (3) . ومن الجدير بالذكر عدم توفر مصادر عن تأثير التركيب الوراثي في الصفات الحسية للحوم

تأثير عمر الحيوان على الخواص الكيميائية والفيزيائية والحسية للحم في الاغنام العواسي
الصفات اللحوم الحسية (النكهة ، الطراوة ، العصيرية ، التقبل العام)

اظهرت النتائج في جدول (4) فروقاً عالية المعنوية في متوسط قيمة صفات النكهة والطراوة والعصيرية والتقبل العام باختلاف عمر الاغنام المدروسة اذ بلغت اعلى قيمة للصفة النكهة بعمر (2-4) سنة 4.83 وبلغت بعمر (1-2) سنة واكثر من 4 سنة 4.71 و 4.64 بالتتابع ، اما اعلى قيمة للطراوة بعمر (1-2) سنة فبلغت 3.18 وبلغت بعمر (2-4) سنة واكثر من 4 سنة 3.17 و 2.89 بالتتابع ، وبلغت صفة العصيرية بعمر (1-2) سنة اعلى من الاعمار (2-4) واكثر من 4 سنة اذ بلغت 2.95 و 2.27 و 2.74 بالتتابع . اما التقبل العام بعمر (1-2) سنة وبعمر (2-4) واكثر من 4 سنة فبلغت 3.41 و 3.41 و 3.18 بالتتابع. وقد يعود السبب في تفوق العمر (2-4) الى وجود نسبة دهن عالية بين العضلات والتي قد اعطت تحسس عالي للنكهة والعصيرية لدى المقيمين .

جدول (3) تأثير تعدد المظاهر لجين الكالبستاتين في الصفات الحسية (النكهة ، الطراوة ، العصيرية ، التقبل العام)

التركيب الوراثي Genotype	عدد المشاهدات	المتوسط ± الخطأ القياسي			
		النكهة	الطراوة	العصيرية	التقبل العام
MM	528	± 4.70 b 0.025	± 3.08 a 0.042	±2.85 b 0.035	± 3.32 a 0.037
MN	144	0.05 ± 4.74 b	± 3.18 a 0.071	± 2.80 b 0.064	± 3.45 a 0.062
NN	24	0.00 ± 5.00 a	± 3.00 a 0.20	0.14 ± 3.16 a	0.13 ± 3.33 a
مستوى المعنوية		*	NS	*	NS

المتوسطات التي تحمل حروفاً مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنوياً فيما بينها عند مستوى * (P ≤ 0.05) ، NS غير معنوي

جدول (4) تأثير العمر في الصفات الحسية (النكهة , الطراوه ,العصيرية , التقبل العام)

العمر Age	عدد المشاهدات	المتوسط ± الخطأ القياسي			
		النكهة	الطراوة	العصيرية	التقبل العام
2-1 سنة	332	± 4.71 b 0.033	± 3.18 a 0.049	± 2.95 a 0.047	± 3.41 a 0.046
4-2 سنة	168	± 4.83 a 0.031	± 3.17 a 0.073	± 2.79 b 0.056	± 3.41 a 0.063
اكثر من 4 سنة	196	± 4.64 b 0.046	± 2.89 b 0.073	± 2.74 b 0.054	± 3.18 b 0.057
مستوى المعنوية		**	**	**	**

المتوسطات التي تحمل حروفاً مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنوياً فيما بينها عند مستوى ** **(P ≤ 0.01)**

الاس الهيدروجيني (بعد الذبح مباشرةً وبعد 24 ساعة من الذبح)

يوضح الجدول(5) عدم تأثر متوسط قيمة الاس الهيدروجيني معنوياً بعد الذبح مباشرةً ، اما متوسط قيمة الاس الهيدروجيني بعد الذبح بـ 24 ساعة فقد سجلت وجود فروق معنوية (P≤0.05) في العضلة الطولية باختلاف اعمار عينة الاغنام المدروسة ، اذ بلغت 5.53 و 5.34 و 5.24 للاعمار 1-2 سنة و اكثر من 4 سنة و 2-4 سنة على التوالي ، اما في العضلة الفخذية فسجلت ايضا فروج معنوية (P≤0.05) بعد الذبح بـ 24 ساعة ، وبلغت 5.41 و 5.21 و 5.14 للاعمار 1-2 سنة و اكثر من 4 سنة و 2-4 سنة على التوالي الجدول (6) .

جدول (5) تأثير العمر في الاس الهيدروجيني (بعد الذبح مباشرةً و بعد 24 ساعة من الذبح) للعضلة الطولية

العمر Age	عدد المشاهدات	المتوسط ± الخطأ القياسي	
		pH 0	PH 24
2-1 سنة	29	a 0.088 ± 6.079	a 0.089 ± 5.53
4-2 سنة	14	a 0.064 ± 6.25	a 0.072 ± 5.24
اكثر من 4 سنة	17	a 0.068 ± 6.14	ab 0.056 ± 5.34
مستوى المعنوية		NS	*

المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنوياً فيما بينها عند مستوى
* (P ≤ 0.05) ، NS غير معنوي

جدول (6) تأثير العمر في الاس الهيدروجيني (بعد الذبح مباشرةً و بعد 24 ساعة من الذبح) للعضلة الفخذية

العمر Age	عدد المشاهدات	المتوسط ± الخطأ القياسي	
		pH 0	PH 24
2-1 سنة	29	a 0.088 ± 5.87	a 0.100 ± 5.41
4-2 سنة	14	a 0.083 ± 6.028	a 0.046 ± 5.14
اكثر من 4 سنة	17	a 0.065 ± 6.041	b 0.070 ± 5.21
مستوى المعنوية		NS	*

المتوسطات التي تحمل حروفاً مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنوياً فيما بينها عند مستوى * (P ≤ 0.05)
، NS غير معنوي

جدول (7) تأثير العمر في قابلية حمل الماء (WHC) للعضلة الطولية (LD) والعضلة الفخذية (BF)

العمر Age	عدد المشاهدات	المتوسط ± الخطأ القياسي	
		العضلة LD	العضلة BF
2-1 سنة	29	a 0.25 ± 31.72	a 0.26 ± 29.92
4-2 سنة	14	a 0.36 ± 31.86	a 0.41 ± 30.30
اكثر من 4 سنة	17	b 0.46 ± 30.31	b 0.25 ± 28.20
مستوى المعنوية		**	**

المتوسطات التي تحمل حروفاً مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنوياً فيما بينها عند مستوى (P ≤ 0.01)**

جدول (8) تأثير العمر في ذائبية بروتين الساركوبلازما والمايوفيبرل (ملغم/غم لحم) في العضلات : العضلة الطولية (LD) ، والفخذية ثنائية الرأس (BF) لذبائح اغنام العواسي

العمر Age	عدد المشاهدات	المتوسط ± الخطأ القياسي			
		LD		BF	
		الساركوبلازما	المايوفيبرل	الساركوبلازما	المايوفيبرل
2-1 سنة	29	0.75 ±65.58 a	±69.31 a 0.81	± 62.33 a 0.84	±67.32 a 0.84
4-2 سنة	14	± 62.98 ab 1.39	± 67.27 ab 0.89	±59.30 a 1.30	± 65.48 a 0.90
اكثر من 4 سنة	17	± 57.89 b 1.65	± 64.96 b 0.87	± 59.34 b 0.98	± 62.55 b 0.52
مستوى المعنوية	المجموع الكلي 60	**	**	*	**

المتوسطات التي تحمل حروفاً مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنوياً فيما بينها عند مستوى** (P ≤ 0.01) ، * (P ≤ 0.05)

قابلية حمل الماء (WHC)

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق عالية المعنوية في قابلية حمل الماء في العضلتين الطولية والفخذية باختلاف اعمار الحيوانات ، اذ بلغت اعلى قيمة لها في العضلة الظهرية عند عمر 2-4 سنة 31.86 مقارنة بالاعمار 1-2 سنة واكثر من 4 سنة فقد كانت قيمة قابلية حمل الماء لهما 31.72 و 30.31 على التوالي ، اما بالنسبة للعضلة الفخذية فكانت عالية المعنوية (P≤0.01) واعلى قيمة كانت ايضا بعمر 2-4 سنة ، اذ بلغت 30.30 مقارنة بالاعمار 1-2 سنة واكثر من 4 سنة اذ كانت القيم 29.92 و 28.20 على التوالي ، جدول (79).

ذائبية البروتين

يوضح جدول (8) تأثير عمر الحيوان لعينة الاغنام المدروسة في ذائبية بروتينات الساركوبلازما والمايوفيبرل في العضلات LD , BF ، اذ يلاحظ وجود فروق عالية المعنوية لبروتينات الساركوبلازما والمايوفيبرل في العضلة LD باختلاف اعمار الحيوانات ، اذ بلغت اعلى قيمة لبروتينات الساركوبلازما والمايوفيبرل 65.58 و 69.31 بعمر 1-2 سنة مقارنة باعمار 2-4 سنة واكثر من 4 سنة اذ بلغت القيم 62.98 ، 67.27 و 57.89 ، 64.96 على التوالي لبروتينات الساركوبلازما والمايوفيبرل .

اما في العضلة BF فنلاحظ من الجدول وجود فروق معنوية (P ≤ 0.05) وعالية المعنوية لذائبية بروتينات الساركوبلازما والمايوفيبرل بالتتابع باختلاف عمر الحيوان وبلغت اعلى قيمة لبروتينات الساركوبلازما والمايوفيبرل بعمر 1-2 سنة مقارنة باعمار 2-4 سنة واكثر من 4 سنة ، اذ بلغت القيم 62.58 ، 67.32 و 59.30 ، 65.48 و 59.34 ، 62.55 للاعمار المذكورة انفاً على التوالي . وهذا ايضا قد يشير الى زيادة فعالية الانزيمات المحللة للبروتينات في العضلات بعمر 1-2 سنة مقارنه بالاعمار الاخرى (طاهر ، 1983) .

tenderness traits. J. Anim. Sci.. 84: 520–525.

Chung, H, Davis M.(2012) . PCR-RFLP of the ovine calpastatin gene and its association with growth. Asian J Anim Vet Adv; 7: 641‑652.

Dayton, W.R. , Reville , W.J. , Goll , D.E. and Stromer , M.H. 1976. A Ca+2 activated protease possibly involved in myofibrilar protein turnover .Partial characterization of the purified enzyme . Biochemistry 15 : 2159 – 2167

DenHertog-Meischke, M.J.A., Smulderes , F.J.M. , Vanloglestijn, and Vanknapen, F. 1997. The effect of electrical stimulation on the water holding capacity and protein denaturation of two bovine muscles. J. Anim. Sci. 75: 118-124.

Eggen, A. and Hocquette, J.F. 2003. Genomic approaches to economic trait loci and tissue expression. Profiling : application to muscle biochemistry and beef quality . Meat Science, 66: 1-9.

Gornall, A.G., Bardawill, C.L. and David, M.M. 1949. Determination of serum protein by means of the biuret reaction. J. Biol. Chem. 177 : 751-753.

Magdalena, S. K,. Ewa , W,. Sławomir , M, . 2011 . Polymorphisms of calpastatin gene in sheep. Journal of Central European Agriculture, 12(3), p.425-432 .

Nassiry, M.R., Tahmoorespour, M., Javadmanesh, A., Soltani, M. and Far, S.F. 2006. Calpastatin polymorphism and its association with daily gain in Kurdi sheep . Iranian journal of Biotechnology , 4: 188-192

NCBI . 2015 . CAST gene , Ovis aries (sheep) . http://www.ncbi.nlm.nih.gov.

Nematollah, A., Nanekarani, S,. and Khederzadeh, S,. 2014. Genotypic frequency of calpastatin gene in lori sheep by polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP

المصادر

الأسود، ماجد بشير . 2000 . علم وتكنولوجيا اللحوم . دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل .

الجواسرة ، خليل ابراهيم والانباري ، نصر نوري . 2007 التقنات الحديثة في تربية الاغنام ، المركز الوطني للبحوث الزراعية ونقل التكنولوجيا ، الاردن .

طاهر ، محارب عبد الحميد . 1983 . أساسيات علم اللحوم كتاب مترجم . كلية الزراعة . جامعة البصرة.

A.P.H.A. (American puplic Health Association) 1984. Standard methods for the examination of food. 14th ed. New York.

Asadi, N., Nanekarani, S. and Khederzadeh, S. 2014. Genotypic frequency of calpastatin gene in lori sheep by polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method . African Journal of Biotechnology , 13 (19) .

Attken, A., Cacey, C. J., Penny, I. F. and Volye, C. A.1967. Effect of drying temperature in the accelerated freeze dried Pork. J. Sci. Food Agric., 13: 439.

Bastos, E., Cravador A., Azevedo, J. and Guedes, H. 2001. Single strand conformation polmorphism (SSCP) detection in six genes in Portuguese indigenous sheep breed. Biochtechnol Agron Soc Environ. 5: 7-15.

Caporaso, F., Cortavaii , A. L. and Mandigo , R.W. 1978. Effects of post cooking sample temperature on sensory and shear analysis of beef stacks. J. Food Sci. 43: 839-841.

Casas, E., White, S.N., Wheeler, T.L., Shackelford, S.D., Koohmaraie, M., Riley, D.G., Chase, C.C., Johnson, D.D and Smith, T.P.L. 2006 . Effects of *calpastatin* and m-*calpain* markers in beef cattle on

Wardlaw, F.B.; McCaskill, L.H. & Acton, J.C. 1973. Effect of postmortem muscle changes on poultry meat loaf properties. J. Food. Sci., 38: 421-423.

Wendt, A., Thompson, V.F., and Goll, D.E. 2004. Interaction of calpastatin with calpain: a review. Biological Chemistry 385, 465-472.

Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research, 18 (22): 6531-6535.

Yilmaz, O., Sezenler,T., Ata, N., Yaman,Y., Cemal, I. and Karaca, O., 2014 Polymorphism of the ovine calpastatin gene in some Turkish sheep breeds. Anim Sci., 38: 354-357 .

) method . African Journal of Biotechnology . 13(19): pp. 1952-1954 .

Palmer, B. R., Roberts, N., Hickford, J.G. and Bickerstaffe, R. 1998. Rapid Communication: PCR-RFLP for Mspi And Ncoi in the Ovine Calpastatin Gene. J. Anim. Sci., 76: 1499-1500 .

Ranjbari, M ., Hashemi , K ., Mardani . and Darvishzadeh , R. , 2012. Allelic Polymorphism of Makoei Sheep Calpastatin Gene Identified by Polymerase Chain Reaction and Single Strand Conformation Polymorphism . J.Agr.Sci.Tech ,14:533-538

Shackelford, S.D., Wheeler, T.L. and Koohmaraie, M., 1995. Relationship between shear force and trained sensory panel tenderness ratings of 10 major muscle from *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. Journal of Animal Science , 73: 3333.