دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

ارتباط چند شکلی تک نوکلئوتیدی ناحیه اینترون (C2239T) ژن بتا٤-دیفنسین با صفات تولید شیر و تعداد سلول‌های بدنی در گاوهای هلشتاین

مصطفی محقق دولت آبادی[۱] و اعظم رحیمی رضایی[۲]

۱- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران، (نویسنده مسوول: mmuhaghegh@yu.ac.ir)
۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۴/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۷/۱۸
صفحه: ۱۴۱ تا ۱۴۷

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: دیفنسین‌ها پپتیدهای ضد میکروبی کوچکی هستند که نقش مهمی در ایمنی ذاتی به عهده دارند. از این رو، ژن‌های کدکننده آنها می‌توانند به‌عنوان نشانگر، در انتخاب به کمک نشانگرها، به بهبود صفت اقتصادی دام‌های اهلی کمک بسزایی کنند. از این رو، هدف از این تحقیق بررسی ارتباط بین چند شکلی تک نوکلئوتیدی جایگاه ۲۲۳۹ ناحیه اینترون ژن بتا۴-دیفنسین با صفات تولید شیر و تعداد سلول‌های بدنی در گاوهای هلشتاین بود.

مواد و روش‌ها: برای این منظور، در مجموع تعداد ۱۸۲ رأس گاو شیری هلشتاین انتخاب و DNA ژنومی استخراج شد. سپس، با استفاده از آغازگرهای مناسب قطعه‌ای به طول ۳۹۳ جفت باز، در برگیرنده جهش جایگاه مورد نظر (از جایگاه ۲۱۰۰ الی۲۴۹۳ ژن بتا-۴ دیفنسین به شماره دسترسی AF008307.1)، توسط تکنیک واکنش زنجیره پلی مراز تکثیر شد. سپس محصولات تکثیر شده از این ناحیه از اینترون ژن بتا۴-دیفنسین توسط تکنیک تفاوت فرم فضایی رشته‌های منفرد (SSCPs) و متعاقبا، تعیین توالی مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی ارتباط بین چند شکلی تک نوکلئوتیدی با صفات تولید شیر و تعداد سلول‌های بدنی از رویه مدل خطی عمومی (GLM) نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج این پژوهش حضور سه الگوی متفاوت SSCP در جمعیت مورد بررسی را نشان داد که نتایج تعیین توالی وجود چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی جایگاه ۲۲۳۹ (جایگزینی C با T) در این ناحیه را تایید کرد. فراوانی ژنوتیپ‌های CC، CT و TT شناسایی شده بر اساس توالی‌های بدست آمده در جمعیت مورد مطالعه به‌ترتیب ۰/۷۹، ۰/۱۳ و ۰/۰۸ بود. ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ جهش جایگاه ۲۲۳۹ ژن بتا۴-دیفنسین و صفات تولید شیر، درصد چربی، درصد پروتئین و تعداد سلول‌های بدنی در نمونه‌های مورد بررسی مشاهده نشد. اگرچه، تمایل نزدیک به معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها و مقدار تولید شیر مشاهده شد (p=۰/۱). میانگین تولید شیر و تعداد سلول‌های بدنی برای ژنوتیپ TT نسبت به ژنوتیپ‌های دیگر بیشتر بود در صورتی که ژنوتیپ‌های CT و CC به‌ترتیب کمترین تولید شیر و تعداد سلول‌های سوماتیکی را نشان دادند.

نتیجه‌گیری: در این پژوهش، ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های شناسایی شده با صفات تولیدی شیر و تعداد سلول‌های بدنی مشاهده نشد ولی این ارتباط برای صفت مقدار تولید شیر روزانه تمایل به معنی‌داری نشان داد. همچنین نتایج نشان داد ژنوتیپ‌های TT و CT برای این جهش به‌ترتیب دارای بیشترین و کمترین مقدار تولید شیر بودند.

واژه‌های کلیدی: تعداد سلول‌های بدنی، چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی، ژن بتا۴-دیفنسین، صفات تولید شیر، SSCP

مقدمه

افزایش روزافزون نیاز جامعه بشری به فرآورده‌های دام‌های اهلی، باعث شده تا پژوهشگران تحقیقات گسترده‌ای در زمینه‌ی بهبود صفات اقتصادی دام‌ها به‌ویژه گاوهای شیری انجام دهند. از طرف دیگر، پرهزینه و زمان‌بر بودن روش‌های قدیمی اصلاح دام، باعث انجام تحقیقات زیادی در زمینه ژنتیک مولکولی شده به‌طوری که امروزه ژن‌های زیادی شناسایی شده‌اند که بر روی صفات اقتصادی گاوهای شیری مؤثر بوده و از آن‌ها برای افزایش دقت و کاهش فاصله نسل‌ها در برنامه‌های اصلاحی استفاده می‌شود (۲۶). صفات تولیدی شیر نظیر، مقدار تولید شیر، درصد پروتئین و چربی شیر از صفات اقتصادی مهمی هستند که تأثیر زیادی بر صنعت پرورش گاو شیری دارند. از صفات مهم دیگر در گاوهای شیری نمره سلول‌های بدنی می‌باشد که همبستگی ژنتیکی بالایی با بیماری ورم پستان دارد (۰/۶ تا ۰/۸) و از این رو ابزار مفیدی برای تشخیص ورم پستان محسوب می‌گردد (۶). از این رو، شناسایی چند شکلی در ژن‌های موثر بر صفات اقتصادی در گاوهای شیری موضوع بسیاری از مطالعات بوده است (۲۵،۱۴،۱۳). در این رابطه، چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNPs) جهت توسعه آزمون‌های ژنتیکی برای چنین صفاتی نشاگرهای ژنتیکی بسیار مناسبی هستند. این چندشکلی‌ها در نسل‌های متمادی پایدار بوده و در صورتی که تنوع ژنتیکی در صفات اقتصادی در وضعیت عدم تعادل گامتی باشد می تواند مکانیسم ارزیابی مستقیم جهت برآورد ارزش ژنتیکی حیوانات فراهم کند (۲۱). انتخاب به کمک نشانگرهای ژنتیکی نقش مهمی در بهبود صفاتی به عهده دارند که دارای وراثت‌پذیری پایین، محدود به جنس، صفاتی که در اواخر عمر (مانند مقامت به بیماری) و یا پس از کشتار اندازه‌گیری می‌شوند (۱۱).

دیفنسین‌ها یکی از بزرگترین خانواده‌ی پپتیدهای کاتیونی ضدمیکروبی هستند (۱۲) که در سیستم ایمنی ذاتی فعالیت دارند. در پستانداران دیفنسین‌ها به سه دسته‌ی آلفا، بتا و تتا طبقه‌بندی می‌شوند (۴) و از بین آنها ژن‌های کد کننده گروه‌های آلفا و بتا دیفنسین‌ها همگی دارای دو اگزون و یک اینترون می‌باشند. همچنین دیفنسین‌ها بر اساس محل پیوندهای دی‌سولفیدی درونی، ساختار پیش‌ساز و جایگاه بیان آن‌ها از یکدیگر متمایز می‌شوند (۸). در گاو، مجموعه ژن‌های دیفنسین بر روی کروموزوم شماره ۲۷ (۱۵) قرار دارند جایی که تعدادی QTLs موثر بر صفات تولیدی و ساختار بدنی در گاوهای شیری شناسایی شدند (۱). از این رو، ژن‌های

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.3.0]
[DOI: 10.52547/rap.12.34.141]

دیفنسین می‌توانند کاندیداهای جذابی به‌عنوان نشانگرهای ژنتیکی جهت صفات تولید شیر و سلامت پستان محسوب شوند، فرضی که در مطالعات متعددی تایید شده است (۳).

یکی از شناخته‌ترین دیفنسین‌ها، بتا ۴- دیفنسین می‌باشد که در مطالعات متعددی ارتباط بین میزان بیان و چند شکلی های این ژن با صفاتی مانند صفات تولیدی شیر، تعداد سلول‌های بدنی و صفات سلامت در گاوهای شیری مورد بررسی قرار گرفته است (۲۳،۵،۷،۲۲). از این رو، هدف از انجام پژوهش حاضر، شناسایی آلل‌های مختلف جهش C2239T ناحیه اینترون ژن بتا ۴-دیفنسین در گاوهای شیری هلشتاین ایران و بررسی ارتباط آن با صفات تولید شیر و تعداد سلول‌های بدنی می‌باشد و انتظار می‌رود از نتایج آن بتوان در برنامه‌های اصلاحی، جهت بهبود راندمان تولید و پیشرفت ژنتیکی صفات اقتصادی گاوهای هلشتاین ایران استفاده کرد.

مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر در مجموع از تعداد ۱۸۲ رأس گاو هلشتاین شیرده با شکم‌های زایش متفاوت از مجتمع شیر و گوشت فتاحی اصفهان نمونه خون در تیوب حاوی EDTA تهیه شد. این مجتمع زیر نظر مرکز اصلاح دام کشور دارای داده‌های ثبت شده برای صفات تولیدی شیر (میانگین تولید شیر، درصد چربی و درصد پروتئین روزانه برای یک دوره ۳۰۵ روزه) و میانگین روزانه تعداد سلول‌های بدنی می‌باشد. استخراج DNA با استفاده از کیت آکوپرپ آلمان (AccuPrep®genomic DNA extraction kit) صورت گرفت و DNA استخراج شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از تعیین کیفیت DNA استخراجی با استفاده از ژل آگارز یک درصد، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به کمک کیت لیوفیلزه بایونیر انجام گرفت. با استفاده از آغازگرهای پیشنهادی رفت و برگشت 5'-TGGCAGGAAGGAGGATGTAG-3' و 5'-ACGGCACAAGAACGGAATAC-3' (۳)، قطعه‌ای به طول ۳۹۳ جفت‌باز از نوکلئوتید شماره ۲۱۰۰ الی ۱۴۹۳ از توالی ژن بتا-۴ دیفنسین به شماره دسترسی AF008307.1 (در برگیرنده جهش جایگاه ۲۲۳۹) تکثیر گردید. شرایط واکنش PCR شامل مرحله واسرشت اولیه به مدت ۲ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس، به همراه ۳۵ چرخه شامل واسرشت DNA در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال آغازگرها به DNA در دمای ۶۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه و بسط آغازگرها در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۲۵ ثانیه و مرحله بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۳ دقیقه بود.

سپس قطعه تکثیر شده جهت شناسایی جهش در معرض تکنیک تفاوت فرم فضایی رشته‌های منفرد (SSCP)، یکی از متداول‌ترین تکنیک‌ها برای مطالعه‌ی تنوع ژنتیکی، قرار گرفت. برای این منظور، مقدار ۱/۵ میکرولیتر از محصول PCR با ۴/۵ میکرولیتر بافر بارگذاری (۰/۰۵ درصد بروموفنل بلو، ۰/۰۵ درصد زایلون، ۰/۹۵ فرمامید و ۲۰ mmol EDTA) مخلوط شد. سپس به‌منظور واسرشته‌سازی محصول PCR، نمونه‌ها به مدت هفت دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شدند و بلافاصله بر روی یخ، حداقل به مدت پنج دقیقه قرار گرفتند. از محلول پایه ۴۰ درصد با نسبت ۱ : ۳۷/۵ اکریلآمید به بیس اکریلآمید برای تهیه ژل ۱۰ درصد استفاده شد و نمونه‌ها به مدت ۱۶ ساعت و با ولتاژ ۱۵۰ ولت در دمای ثابت ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر روی ژل اکریلآمید الکتروفورز شدند. برای مشاهده ژنوتیپ قطعات بر روی ژل از رنگ‌آمیزی نیترات نقره (روش اسیدی) استفاده شد. در میان روش های مختلف تشخیص ماده ژنتیکی در ژل های پلی آکریل آمید، رنگ آمیزی نقره به دلیل حساسیت آن (شناسایی در محدوده نانوگرم) دارای محبوبیت بسیاری بوده، علاوه براین، این تکنیک ساده و ارزان قیمت می باشد بطوری که اجرای آن در هر آزمایشگاهی امکان پذیر است. سپس تعیین توالی هر الگو برای تعداد ۲ نمونه به روش سانگر و با استفاده از آغازگر رفت توسط شرکت تکاپوزیست انجام گردید.

برای بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های شناسایی شده با صفات مورد مطالعه از رویه مدل خطی عمومی (GLM) نرم‌افزار SAS (۲۰) و مدل آماری زیر استفاده شد.

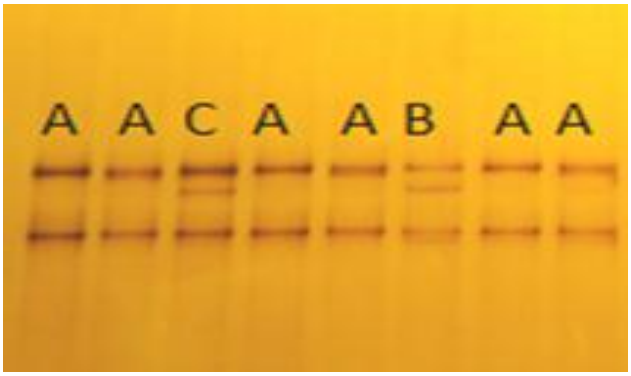
$$Y_{ijklm} = \mu + G_i + P_j + F_k + S_l + C_m + e_{ijklm}$$

در این مدل: Y_{ijklm}: مقدار مشاهده برای هر کدام از صفات مورد مطالعه، μ: میانگین جامعه، G_i: اثر ژنوتیپ قطعه تکثیر شده، P_j= شکم زایش، F_k: فصل زایش، S_l: اثر پدر (به‌خاطر مشترک بودن پدر در برخی از حیوانات)، C_m: سن زایش و e_{ijklm}: اثرات باقی‌مانده را نشان می‌دهد. در این پژوهش به منظور تابعیت تعداد سلول‌های بدنی، تبدیل داده لگاریتم در مبنای ۱۰ صورت گرفت.

نتایج و بحث

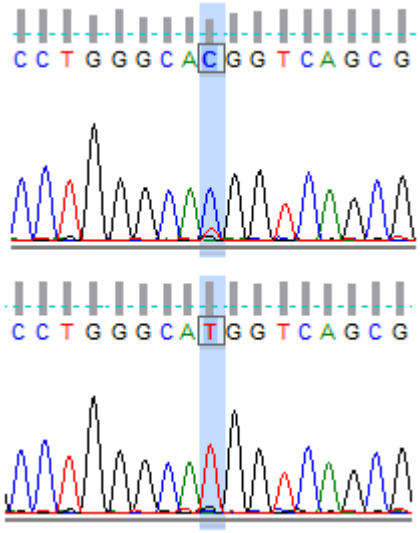
پس از تکثیر قطعه مورد از نظر از ژن بتا-۴ دیفنسین و تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها توسط تکنیک SSCP، سه الگوی متفاوت A، B و C در جمعیت مورد بررسی مشاهده شد (شکل ۱) که فراوانی آن‌ها به‌ترتیب ۰/۷۹، ۰/۱۳ و ۰/۰۸ بودند.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.3.0]
[DOI: 10.52547/rap.12.34.141]



شکل ۱- الگوهای متفاوت SSCP در قطعه تکثیر شده ژن بتا۴-دیفنسین گاو
Figure 1. Different SSCP patterns in amplified fragment of bovine B4-defensin

پس از تعیین توالی الگوی‌های SSCP مشاهده شده در قطعه تکثیر شده، چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی جایگزینی C با T در جایگاه ۲۲۳۹ اینترون (C2239T) ژن بتا-۴ دیفنسین مشاهده شد (شکل ۲) که ژنوتیپ‌های این جهش برای الگوهای A، B و C به‌ترتیب CC، CT و TT بودند.



شکل ۲- چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی در قطعه تکثیر شده از ژن بتا۴-دیفنسین گاو
Figure 2. Single nucleotide polymorphism in amplified fragment of bovine B4-defensin

نتایج به‌دست آمده از تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های حاصل از این آغازگر برای صفات تولیدی شیر و نمره سلول‌های بدنی مشاهده نشد (جدول ۱). البته ارتباط این ژنوتیپ‌ها با صفت تولید شیر روزانه متمایل به معنی‌داری (p=۰/۱۰) است بطوری که میانگین تولید شیر در گاوهای دارای ژنوتیپ TT به مقدار ۲/۷۸ و ۱/۵۹ لیتر به‌ترتیب از ژنوتیپ‌های هموزیگوس وحشی (CC) و هتروزیگوس (CT) برای این جایگاه بیشتر بود (جدول ۱).

جدول ۱- برآورد میانگین حداقل مربعات (LSM) و خطای استاندارد برای صفات تولید شیر و نمره سلول‌های بدنی
Table 1. Estimated of least squares mean (LSM) and standard error for milk yield traits and somatic cell score

Genotype	Milk production (kg)	Protein percentage	Fat percentage	Somatic Cell Count
CC	۳۰/۴۱±۲/۲۵	۳/۰۹±۰/۱۳	۳/۸۶±۰/۱۸	۰/۷۲±۰/۳۶
CT	۲۹/۲۲±۲/۳۰	۳/۱۳±۰/۱۳	۳/۸۷±۰/۱۸	۰/۷۷±۰/۳۷
TT	۳۲/۰۰±۲/۳۶	۳/۱۶±۰/۱۳	۳/۸۷±۰/۱۹	۰/۸۰±۰/۳۸
p-value	۰/۱۰^{NS}	۰/۵۲^{NS}	۰/۹۹^{NS}	۰/ ۸۷ ^{NS}

غیرمعنی‌دار: ns

چند شکلی تک نوکلئوتیدی جابجایی نوکلئوتید C با T در جایگاه ۲۲۳۹ برای اولین بار در نژاد گاو فریزین لهستان، گزارش شد (۳). ژنوتیپ‌های حاصل از این چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی، CC، CT و TT به‌ترتیب دارای فراوانی ۰/۷۲، ۰/۲۶ و ۰/۰۲ درگاوهای فریزین لهستان بود. علاوه بر این چند شکلی، در ناحیه اینترون ژن بتا ۴- دیفنسین دو

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.3.0]
[DOI: 10.52547/rap.12.34.141]

چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی A1674C و C1877T نیز در گاوهای هلشتاین گزارش شده است (۲). در چندشکلی تک نوکلئوتیدی A1674C سه ژنوتیپ AA، AC و CC به ترتیب دارای فراوانی ۰/۶۵، ۰/۳۲ و ۰/۰۳، بودند در حالی که چندشکلی C1877T در جمعیت مورد مطالعه دو ژنوتیپ CC و CT با فراوانی‌های ۰/۹۴ و ۰/۰۶ را آشکار ساخت به عبارت دیگر ژنوتیپ هموزیگوس برای آلل جهش یافته برای این چند شکلی مشاهده نشد (۲). با مطالعه بر روی اینترون بتا۴–دیفنسین، سه ژنوتیپ CC، CT و TT برای جایگاه C2239T مشاهده شد که ژنوتیپ TT فراوانی کمی در بین جمعیت مورد مطالعه داشت (۷).

در پژوهش‌های متعددی ارتباط بین چندشکلی‌های بخش اینترون ژن بتا۴–دیفنسین با صفات اقتصادی گاوهای شیری مورد ارزیابی قرار گرفته شده است (۷،۳،۲). برای مثال، تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های این جهش و صفات محتوای چربی ، پروتیین و لاکتوز شیر و همچنین تعداد سلول‌های سوماتیکی شیرمشاهده شد (۳). ژنوتیپ CC در مقایسه با ژنوتیپ CT دارای محتوای چربی شیر بیشتری بود در حالی که برای محتوی پروتیین شیر ژنوتیپ مطلوب CT بود. شیر گاوهای دارای ژنوتیپ CC دارای لاکتوز بیشتر و تعداد سلول های سوماتیکی کمتر بود (۳). در این تحقیق ژنوتیپ TT به علت فراوانی پایین (۰/۰۲)، در محاسبات در نظر گرفته نشدند. همچنین ژنوتیپ‌های این جهش با تولید شیر در هر دو دوره شیردهی استاندارد و کامل ارتباط معنی‌داری داشتند (۲). از طرف دیگر، گاوهای دارای ژنوتیپ CC برای این جهش دارای تولید شیر بیشتری هم در دوره شیردهی استاندارد (۱۸۱ کیلوگرم بیشتر، $p< ۰/۰۵$) و هم برای دوره شیردهی کامل (۲۴۱ کیلوگرم شیر بیشتر، $p< ۰/۰۵$) نسبت به ژنوتیپ CT بودند (۷). در این مطالعه نیز ژنوتیپ TT به علت پایین بودن فراوانی در تجزیه و تحلیل استفاده نشدند. همچنین در این تحقیق گاوهای دارای ژنوتیپ CT از نظر محتوای پروتیین شیر تفاوت معنی‌داری با گاوهای دارای ژنوتیپ CC بودند در حالی که تفاوت معنی‌داری برای مقدار پروتیین و محتوای چربی شیر بین این دو ژنوتیپ مشاهده نشد اما مقدار چربی شیردر گاوهای هموزیگوس CC بالاتر ($p< ۰/۰۵$) بود (۷). چند شکلی A1674C در ژن بتا ۴– دیفنسین تاثیر معنی‌داری بر مقدار پروتیین شیر در دور کامل شیردهی داشت در صورتی که در دوره شیردهی استادارد (۳۰۵ روز) این تاثیر معنی داری برای محتوای پروتیین و چربی شیر مشاهده شد. علاوه بر این، این چند شکلی با ارزش اصلاحی برای صفات مقدار پروتیین شیر و محتوای چربی و پروتیین شیر مرتبط بود (۲). در مطالعه‌ای تاثیر معنی‌دار ژنوتیپ‌های ترکیبی ۱۳ چندشکلی موجود در ژن‌های کد کننده دیفنسین‌ها بر صفات تولید شیر و تعداد سلول‌های سوماتیکی در گاوهای شیری سیاه و سفید تایید شد. (۱۸،۱۷). علاوه بر این، در گاوهای جرسی در بررسی ژنوتیپ ترکیبی ۱۲ چندشکلی در ژن‌های متفاوت کدکننده دیفنسین‌ها، ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها و صفات تعداد سلول‌های سوماتیکی و مقدار تولید شیر روزانه مشاهده شد ولی این ارتباط برای صفات محتوی چربی و پروتیین شیر معنی دار نبود (۲۳). در پژوهش‌های دیگر نیز ارتباط بین ژنوتیپ‌های دیفنسین و تعداد سلول‌های سوماتیکی را در گاومیش و گاو گزارش کرده‌اند (۱۶). اما هیچ‌گونه ارتباطی بین ژن بتا۴–دیفنسین و ورم پستان در بوفالو مشاهده نشده است (۱۹). ارتباط ژن بتا۴–دیفنسین با صفات تولید شیر در گاوهای شیری می‌تواند به دلیل وجود QTLs برای این صفات بر روی کروموزوم ۲۷ باشد. مطالعات متعددی وجود QTL با اثرات معنی‌دار بر روی صفات تولید شیر در کروموزوم ۲۷ گاو را تایید کردند (۱۰،۱،۹).

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش، در قطعه تکثیر شده از ژن بتا۴–دیفنسین، جهش C2239T در جمعیت مورد مطالعه شناسایی شد. اگرچه ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های شناسایی شده با صفات تولیدی شیر و تعداد سلول‌های بدنی مشاهده نشد ولی این ارتباط برای صفت مقدار تولید شیر روزانه تمایل به معنی‌داری نشان داد. این نتایج نشان می‌دهد آلل T دارای فراوانی کم می‌باشد ولی حضور آن در ژنوتیپ گاوهای هلشتاین (TT)، تأثیر مثبتی بر تولید شیر دارد. از طرفی گاوهایی با ژنوتیپ CT دارای کمترین میانگین تولید شیر می‌باشند. با این حال صفت مقدار تولید شیر تحت تأثیر چندین ژن و تداخل بین آن‌ها و نیز تحت تأثیر محیط و تداخل ژنوتیپ و محیط است. از این رو بررسی وضعیت این جهش و جهش‌های دیگر این ژن در مطالعاتی با تعداد نمونه بیشتر می‌تواند تأثیر یا عدم تأثیر ژنوتیپ‌های این ژن بر صفات اقتصادی گاوهای شیری را تأیید نماید.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه یاسوج به خاطر پشتیبانی مالی و نیز آقای حسین فتاحی مسوول محترم مجتمع شیر و گوشت فتاحی اصفهان برای فراهم کردن نمونه‌های این تحقیق، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.3.0]
[DOI: 10.52547/rap.12.34.141]

منابع

1. Ashwell, M.S., C.P. Van Tassell and T.S. Sonstegard. 2001. A genome scan to identify quantitative trait loci affecting economically important traits in a US Holstein population. Journal of Dairy Science, 11: 2535-2542.
2. Bagnicka, E., N. Strzałkowska, A. Jozwik, J. Krzyzewski, J. Horbanczuk and L. Zwierzchowski. 2008. A/C polymorphism in the β-4 defensin gene and its association with phenotypic and breeding values of milk production traits in Polish-Friesian cows. Animal Science Papers and Reports, 26(4): 239-250.
3. Bagnicka, E., N. Strzalkowska, K.Flisikowski, T. Szreder, A. Jozwik, B. Prusak, J. Krzyzewski and L. Zwierzchowski. 2007. The polymorphism in the β4-defensin gene and its association with production and somatic cell count in Holstein-Friesian cows. Animal Breeding and Genetics, 124(3): 150-156.
4. Circo, R., B. Skerlavaj, R Gennaro, A. Amoroso and M. Zanetti. 2002. Structural and functional characterization of hbd-1(ser35), a peptide deduced from a defb1 polymorphism. *Biochemical and* Biophysical research communications, 293: 586-592.
5. Gurao, A., R.S. Kataria, R. Singh, R.D. Kumar, S.K. Mishra and S.K. Kashyap. 2018. Association analysis of differential expression of beta defensins with mastitis in indicine dairy cattle. Indian Journal of Dairy Science, 71(5): 534-537.
6. Heringstad, B., D. Gianola, Y.M. Chang, J. Ødegard and G. Klemetsdal. 2006. Genetic associations between clinical mastitis and somatic cell score in early first-lactation cows. Journal of Dairy Science, 89: 2236-2244.
7. Krzyzewski, J., E. Bagnicka, N. Strzałkowska, A. Jozwik, B. Pyzel and L. Zwierzchowski. 2008. Association between the polymorphism of bovine β4-defensin gene and milk traits in Holstein-Friesian cows as computed for standard (305 days) and the whole lactation. Animal Science Papers and Reports, 26: 191-198.
8. Lehrer, R.I. and T. Ganz. 1999. Antimicrobial peptides in mammalian and insect host defense. Current Opinion in Immunology, 11: 23-27.
9. Littlejohn, M.D., K. Tiplady, T. Lopdell, T.A. Law, A. Scott, C. Harland and R.G. Snell. 2014. Expression variants of the lipogenic AGPAT6 gene affect diverse milk composition phenotypes in *Bos taurus*. PloS One, 9(1): e85757
10. Meredith, B.K., D.P. Berry, F. Kearney, E.K. Finlay, A.G. Fahey, D.C. Bradley and D.J. Lynn. 2013. A genome-wide association study for somatic cell score using the Illumina high-density bovine beadchip identifies several novels QTL potentially related to mastitis susceptibility. Frontiers in Genetics, 4: 229.
11. Meuwissen, T. 2003. Genomic selection: the future of marker assisted selection and animal breeding. Electronic Forum on Biotechnology in Food and Agriculture: Conference 10, workshop "Marker assisted selection: A fast track to increase genetic gain in plant and animal breeding?", Session II: MAS in animals, 17-18 October, Turin, Italy http://www.fao.org/biotech/torino.htm
12. Mookherjee, N. and R.E. Hancock. 2007. Cationic host defense peptides innate immune regulatory peptides as a novel approach for treating infections. Cellular and Molecular Life Sciences, 64: 922-933.
13. Muhaghegh-Dolatabady, M. 2014. Single nucleotide polymorphism in the promoter region of bovine interleukin 8 genes and its association with milk production traits and somatic cell score of Holstein cattle in Iran. Iranian Journal of Biotechnology, 12(3): 36-41.
14. Muhaghegh-Dolatabady, M. and A. Rahimi Rezaei. 2018. Sequence characterization in 3′-flanking region of bovine TNF-α: association with milk production traits and somatic cell score in Holstein cattle of Iran. Iranian Journal of Biotechnology, 16(1): 81-84.
15. O'brien, S.J., J.E. Womack, L.A. Lyons, K.J. Moore, N.A. Jenkins and N.G. Copeland. 1993. Anchored reference loci for comparative genome mapping in mammals. Nature Genetics, 3: 103-112.
16. Ramesha, K.P., D. Sandeep, M.A. Kataktalware, B.C. Saravanan, R. Pourouchottamane, J. Rajkhowal, and M Sarkar. 2010. Association of polymorphism of defensin genes with milk somatic cell count in yaks and related species. Indian Journal of Animal Sciences, 80(2): 181-182.
17. Ryniewicz, Z., L. Zwierzchowski, E. Bagnicka, I.J. Krzyzewsk and N. Strzalkowska. 2002. Preliminary investigations on the polymorphysm of defensin Genes in cattle. Animal Science Papers and Reports, 20: 125-131.
18. Ryniewicz, Z., L. Zwierzchowski, E. Bagnicka, K. Flisikowski, A. Maj, J. Krzyżewski and N. Strzałkowska. 2003. Association of the polymorphism at defensin gene loci with dairy production traits and milk somatic cell count in Black-and-White cows. Animal Science Papers and Reports, 21: 209-222.
19. Sangwan, M.L. 2011. Characterization of β4-defensin gene and its association with mastitis in Murrah buffaloes. Ph.D. Dissertation. Lala Lajpat Rai University of Veterinary & Animal Sciences, Hisar. India

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.3.0]
[DOI: 10.52547/rap.12.34.141]

20. SAS. 2005. Statistics analysis systems user's Guide. Release 9.1. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA.
21. Stone, R.T., E. Case, T.P. Smith, J.W. Keele, G. Harhay, G.L. Bennet, M. Koohmaraie, T.L. Wheler, S.D. Shackelford and W.M. Snelling. 2005. Identification of genetic markers for fat deposition and meat tenderness on bovine chromosome 5: Development of Low- density single nucleotide polymorphism map. Journal of Animal Science, 83: 2280-2288.
22. Tetens, J., J.J. Friedrich, A. Hartmann, M. Schwerin E. Kalm and G. Thaller. 2010. The spatial expression pattern of antimicrobial peptides across the healthy bovine udder. Journal of Dairy Science, 93: 775-783.
23. Wojdak-Maksymiec, K., M. Kmieć and A. Zukiewicz. 2006. Associations between defensin polymorphism and somatic cell count in milk and milk utility traits in Jersey dairy cows. Transboundary and Emerging Diseases, 53(10): 495-500.
24. Wojdak-Maksymiec, K., T. Strabel, J. Szyda and K. Mikolajczyk. 2012. Clinical mastitis and combined defensin polymorphism in dairy cattle. Animal and Veterinary Advances, 11: 2230-2237.
25. Zakizadeh, S., M.J. Hashemi, R. Vakili and M. Ghods Rohani. 2016. The influence of two polymorphic sites of PPARGC1α gene on milk production traits in Brown Swiss cattle. Research on Animal Production, 7(14): 149-156 (In Persian).
26. Yudin, N.S. and M.I. Voevoda. 2015. Molecular genetic markers of economically important traits in dairy cattle. Russian Journal of Genetics, 51(5): 506-517.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.3.0]
[DOI: 10.52547/rap.12.34.141]

Association between Single Nucleotide Ppolymorphism (SNP) in the Intronic Region of (C2239T) B4-Defensin Gene with Milk Production Traits and Somatic Cell Count in Holstein Cattle

Mostafa Muhaghegh Dolatabadi[1] and Azam Rahimi Rezaei[2]

1- Associate professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture Science, University of Yasouj, Yasouj, Iran, (Corresponding author: mmuhaghegh@yu.ac.ir)
2- Graduated M.Sc. Student of Genetics and Animal Breeding, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture Science, University of Yasouj, Yasouj, Iran
Received: 6 July, 2019 Accepted: 10 September, 2021

Extended Abstract

Introduction and Objective: Defensins are small antimicrobial peptides that play an important role in innate immunity. Therefore, their coding genes can be used as markers in selecting markers to help improve the economic quality of domestic animals. Therefore, the aim of this study was to investigate the relationship between C2239T SNP of the intron region of the beta-4-defensin gene with milk production traits and the somatic cell count in Holstein cows.

Material and Methods: For this purpose, genomic DNA was extracted from 182 dairy cows. Then, using a suitable primer pairs, a 393 bp fragment from intron of bovine B4-defensin sequence (2100 to 2493) was amplified by the polymerase chain reaction. Then, the amplified fragment was screened by single strand conformation polymorphism (SSCP) and DNA sequencing methods. The associations between genotypes of the SNP with SCC and milk production traits were analyzed using the GLM procedure of SAS (9.1).

Results: A total of 3 distinct SSCP patterns (A, B and C) were observed which confirmed single nucleotide polymorphism (substitution of C to T) at position 2239 upon sequence analysis in the population. The frequencies of CC, CT and TT genotypes were 0.79, 0.13 and 0.08, respectively. No significant difference was observed between SNP genotypes and milk production traits and SCC. However, the genotypes were tended to associate with milk yield (p=0.10). The highest average milk yield and somatic cell count were found in the TT genotype, whereas the lowest ones for average milk yield and somatic cell count were CT a CC genotypes, respectively.

Conclusion: In this study, no significant relationship was observed between the identified genotypes with milk production traits and the number of body cells, but this relationship showed a significant tendency for the amount of daily milk production. The results also showed that TT and CT genotypes for this mutation had the highest and lowest milk production, respectively.

Keywords: B4-defensin gene, Milk production traits, Single nucleotide polymorphism, Somatic cell count, SSCP

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-27]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.3.0]
[DOI: 10.52547/rap.12.34.141]