دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

مطالعه ارتباط چند شکلی اگزون ۷ ژن بتالاکتوگلوبولین با صفات تولید شیر در بز نژاد مهابادی به روش PCR-SSCP

لیلا قره داغی[۱]، مصطفی صادقی[۲]، حسین مرادی شهربابک[۲] و مهدی گنج خانلو[۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشگاه تهران
(نویسنده مسوول: leilagharedaghi@ut.ac.ir)
۲- استادیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشگاه تهران
تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۲/۹/۱۷

چکیده

تحقیق حاضر با هدف مطالعه چند شکلی ژن بتالاکتوگلوبولین با صفات تولید شیر در بزهای مهابادی به روش PCR-SSCP انجام شد. در این مطالعه از ۸۴ رأس بز نژاد مهابادی موجود در مزرعه پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، واقع درکرج، خونگیری به عمل آمد. استخراج DNA از خون با روش نمکی بهینه یافته انجام و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) جهت تکثیر یک قطعه ۱۷۷ جفت بازی اگزون ۷ ژن بتالاکتوگلوبولین با استفاده از یک جفت آغازگر اختصاصی انجام گرفت. برای تعیین چندشکلی نمونه‌ها، الکتروفورز محصولات PCR پس از تک‌رشته شدن قطعات (روش SSCP) روی ژل اکریل آمید و رنگ‌آمیزی ژل به روش نیترات نقره انجام شد. نتایج بیانگر وجود الگوهای متفاوت بود که می‌تواند ناشی از وجود چندشکلی در این جایگاه باشد. الگوهای ژنوتیپی ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ به ترتیب با فروانی ۷/۱۴٪، ۱۰/۷۱٪، ۱۳/۰۹٪، ۳۳/۳۳٪، ۹/۵۲ ٪ و ۲۶/۱۹٪ مشاهده شد. آنالیز آماری نشان داد اثر الگوهای متفاوت ژنتیکی بر صفت تولید شیر و تعداد سلول‌های بدنی معنی‌دار (P<0.01)، ولی روی صفات درصد چربی و پروتئین شیر معنی‌دار نبود.

واژه‌های کلیدی: تولیدشیر، بتالاکتوگلوبولین، چند شکلی، PCR-SSCP، بز مهابادی

مقدمه

صفات کمّی صفاتی هستند که توسط تعداد زیادی ژن کنترل می‌شوند و هر یک از این ژن‌ها تاثیر جزئی بر صفات کمّی دارند. ولی در پاره‌ای موارد برخی ژن‌ها اثرات بزرگی بر تغییرات ژنتیکی دارند که به آنها ژن‌های عمده گفته می‌شود. اگر پیوستگی بین این ژن‌ها و مارکرهای ژنتیکی وجود داشته باشد، می‌توانند با هم به نسل بعد منتقل شوند، در این صورت می‌توان از این مارکرهای ژنتیکی جهت کشف ژن‌های عمده استفاده نمود. از جمله این ژن‌ها می‌توان به ژن بتالاکتوگلوبولین که مرتبط با صفات تولید شیر است اشاره کرد. بتالاکتوگلوبولین β-(LG) پروتئین اصلی آب پنیر در شیر نشخوارکنندگان بوده که به وسیله سلول‌های پوششی غده پستانی سنتز شده و در کیفیت شیر و فرآیند لخته شدن آن نقش دارد. همچنین نقش این پروتئین در محافظت از رتینول شیر، ایمنی نوزادان و تنظیم سوخت و ساز فسفر در غده پستان، شناخته شده است (۱۹،۱۸). این پروتئین، محلول در آب و کروی شکل بوده که حاوی ۱۶۲ اسیدآمینه در زنجیره پپتیدی و با وزن مولکولی ۱۸/۳ کیلودالتون است، که ژن کدکننده آن در گاو و بز روی کروموزوم شماره ۱۱ و در گوسفند روی کروموزوم ۳ واقع شده است (۱۲). بز، به‌عنوان یکی از نشخوارکنندگان اهلی، در نقاط مختلف دنیا عمدتاً برای تولید شیر، گوشت قرمز و کرک پرورش داده می‌شود. شیر بز پس از شیر گاو وگاومیش بیشترین میزان تولید را دارد. در میان تولیدات بز، شیر حاصل از آن به دلیل ویژگی خاص خود، از جایگاه مهمی در تغذیه انسان برخوردار است. شیر بز در مقایسه با شیر دام‌های دیگر زودتر هضم می‌شود، درصد چربی و پروتئین آن به شیر انسان نزدیکتر بوده و گلبول‌های چربی موجود در آن به‌صورت ذرات بسیار ریز هستند. علاوه بر این، شیر بز فاقد پروتئین آگلوتنین است. بنابراین به‌طور طبیعی یکنواخت و هموژنیزه می‌باشد و همین امر به قابلیت هضم آن کمک می‌کند و آن را یک غذای ارزشمند در رژیم غذایی کودکان می‌دانند (۱).

پلی مورفیسم β-LG در شیر بز نژادهای مختلف گزارش شده است. در مطالعه‌ای ناحیه پروموتور و ۶ اگزون اول منطقه کدشونده برای β-LG در ۱۱ نژاد بز از اسپانیا، فرانسه، ایتالیا، سوئیس، سنگال و آسیا تکثیر و توالی‌یابی و ۱۵ چندشکلی شناسایی شد که ۹ عدد از این چندشکلی‌ها در ناحیه پروموتور و ۶ عدد در ناحیه اگزون ژن β-LG قرار داشتند. همه چندشکلی‌ها به‌غیر از یک درج/حذف در منطقه پروموتور، از نوع جایگزینی بودند. در این چندشکلی‌ها هیچ تغییر اسیدآمینه‌ای مشاهده نشد (۲). این ژن در بز نژاد سانن نیز مورد بررسی قرار گرفت و سه

نوع ژنوتیپ در این ژن یافت شد که به‌ترتیب ژنوتیپ AA و سپس ژنوتیپ AB بیشترین همبستگی را با مقدار شیر نشان دادند. آلل A ژن بتا لاکتو گلوبولین با میزان زیاد شیر و آلل B این ژن با مقدار کم شیر همبستگی داشت. (۶). در مطالعه‌ی چند شکلی اگزون ۷ این ژن با روش PCR-RFLP روی ۳ نژاد بومی بز در مصر، قطعه‌ی ۴۲۶ جفت بازی مورد مطالعه، با آنزیم *Sac*Π برش داده شد و در نهایت فراوانی ژنوتیپ AA در یکی از این نژادها بالاتر از دو نژاد دیگر بوده و این ژنوتیپ به‌طور معنی‌داری مرتبط با تولید شیر بود (۸). مطالعات گسترده‌ای روی جایگاه‌های این ژن، در گاو صورت گرفته که نشان می‌دهند که آلل‌های این جایگاه‌ها می‌توانند به‌عنوان نشانگرهای ژنتیکی برای صفت تولید و ترکیبات شیر استفاده شوند (۲۰). با توجه به اینکه تولیدات بز به‌خصوص تولید شیر آن در کشور ما از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است ولی تحقیقات صورت گرفته روی بز نسبت به گاو و گوسفند کمتر می‌باشد، ضرورت دارد که مطالعات مولکولی در زمینه ژن‌های تأثیرگذار روی صفات شیر انجام پذیرد. در راستای این اهداف، تحقیق حاضر به صورت مطالعه چندشکلی اگزون ۷ ژن بتالاکتوگلوبولین و ارتباط آنها با صفات تولید و ترکیبات شیر در بزهای نژاد مهابادی با تکنیک PCR-SSCP انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از۸۴ رأس بز نژاد مهابادی موجود در مزرعه پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در کرج، با استفاده از ونوجکت‌های حاوی EDTA از سیاهرگ وداجی خونگیری به عمل آمد. استخراج DNA از خون با روش استخراج نمکی تغییر یافته صورت گرفت. برای تکثیر قطعه ۱۷۷ جفت‌بازی از آغازگر رفت و برگشت که توسط نرم‌افزار Vector NTI (۱۷)، طراحی شد، استفاده گردید که این آغازگرها توسط شرکت متابیون سنتز شدند. توالی آغازگرها به شرح زیر بود:

توالی آغازگر رفت:

5'- CCTCTGGGGACAGACGACG -3'

توالی آغازگر برگشت:

5'- GACTCAGAAGGGAGAGCACAGG -3'

برای تکثیر قطعه ۱۷۷ جفت بازی اگزون ۷ ژن بتالاکتوگلوبولین، از کیت PCR سیناژن استفاده شد. این محصول حاوی بافر PCR، کلرید منیزیم ($MgCl_2$)، نوکلئوتیدها (dNTPs)، آنزیم تگ‌پلیمراز می‌باشد. برای انجام واکنش PCR، ۱۲/۵ میکرولیتر از کیت PCR را داخل هر میکروتیوپ ریخته و ۲ میکرولیتر از DNA الگو و ۱ میکرولیتر از هر کدام از آغازگرهای رفت و برگشت به آن اضافه شد. حجم نهایی محصول با استفاده از آب دیونیزه به ۲۵ میکرولیتر رسید. جهت بهینه‌سازی واکنش PCR برنامه‌های حرارتی مختلفی استفاده شد. ولی در نهایت برنامه حرارتی زیر با ۳۵ چرخه، ایده‌آل‌ترین شرایط برای تکثیر ژن IGF-I تشخیص داده شد. واسرشت‌سازی اولیه DNA به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، واسرشت‌سازی DNA به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، اتصال آغازگر به DNA به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۶۱/۴ درجه سانتی‌گراد، بسط DNA به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و بسط نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز ۲ درصد، با ولتاژ ۹۲، به مدت نیم ساعت صورت گرفت. برای رنگ‌آمیزی ژل، پس از حل کردن آگارز در بافر TAE از ماده‌ای به نام DNA Safe Stain استفاده شد. به‌منظور انجام واکنش SSCP، رشته‌های DNA تکثیر شده، با استفاده از بافر SSCP (Formamid 99٪ (1960 میکرولیتر)، EDTA 0.5m (40 میکرولیتر)، Bromophnol blue (0.025%)، Xyleno cyanol (0.25٪)) به نسبت ۴ به ۱۶ به مدت زمان ۱۰ دقیقه در دمای ۹۶ درجه تک‌رشته‌ای شدند که بلافاصله پس از این مرحله در داخل یخ قرار گرفتند. الکتروفورز محصولات تک رشته‌ای شده، روی ژل اکریل آمید ۱۲ درصد، با ولتاژ ۳۰۰ به مدت ۱۲ساعت جهت بررسی چند شکلی انجام شد و رنگ‌آمیزی ژل با استفاده از نیترات نقره طی سه مرحله تثبیت، لکه‌گذاری و ظهور صورت گرفت.

تجزیه آماری

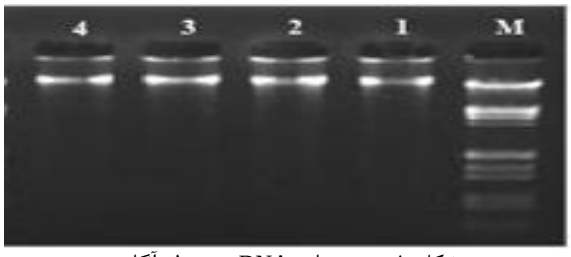
پس از اتمام کارهای آزمایشگاهی و تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها، تعیین فراوانی الگوهای ژنوتیپی با استفاده از شمارش مستقیم مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق پس از تعیین ژنوتیپ دام‌ها برای جایگاه مورد بررسی این اطلاعات به همراه داده‌های مربوط به تولید شیر، درصد پروتئین، درصد چربی، شمارش سلول‌های بدنی، سال زایش، سن حیوان هنگام زایش، وزن حیوان هنگام زایش، زمان بین زایش و رکوردگیری، سال رکوردگیری و ماه رکورد گیری وارد Excel و پس از ویرایش وارد برنامه SAS شده و با رویه GLM تجزیه شدند. در این آزمایش اثر ژنوتیپ‌های β-LG به‌عنوان عامل ثابت تأثیرگذار بر تولید شیر در معادله مدل قرار داده شدند. سایر عوامل ثابت موجود در معادله مدل شامل ماه رکوردگیری، سال زایش و سن حیوان هنگام زایش بود. همچنین وزن حیوان هنگام زایش به‌عنوان عامل کواریت، و اثر حیوان به‌عنوان عامل تصادفی در مدل قرار داده شد. معادله مدل به شکل زیر بود.

$$Y_{ijklm} = \mu + A_i + G_j + Y_k + M_l + b\,(W_{ijklm} - \overline{W}) + Animal_n + e_{ijklmn}$$

Y_{ijklmn}: هریک از مشاهدات مربوط به مقدار شیر، درصد چربی، درصد پروتئین، شمار سلول‌های بدنی.
» : میانگین صفت در جامعه
A_i: اثر i امین سن حیوان هنگام زایش
G_j: اثر j امین ژنوتیپ (IGF-1)
Y_k: اثر k امین سال زایش
M_l: اثر l امین ماه رکوردگیری
b: ضریب تابعیت Y از W (وزن دام‌ها هنگام زایش)
W_{ijklmn}: وزن m امین حیوان هنگام زایش
$\overline{W}$: میانگین وزن دام‌ها هنگام زایش
$Animal_n$: اثر n امین حیوان
e_{ijklmn}: اثر عوامل باقی‌مانده

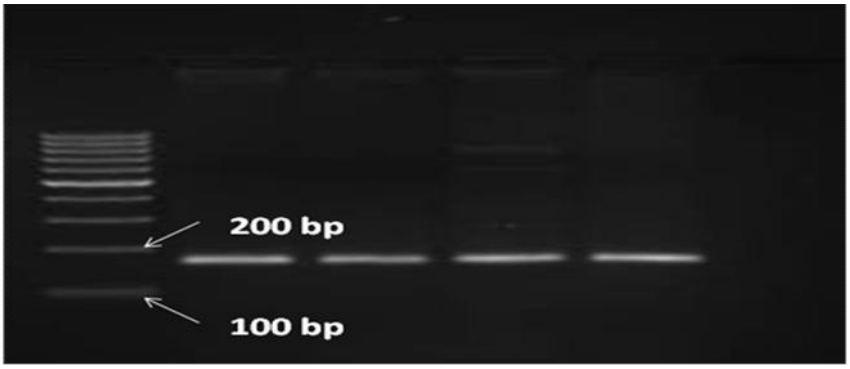
نتایج و بحث

با استفاده از روش اسپکتوفتومتری و ژل آگارز ۱ درصد، کمیّت و کیفیت DNA استخراج شده مورد تایید قرار گرفت (شکل ۱).

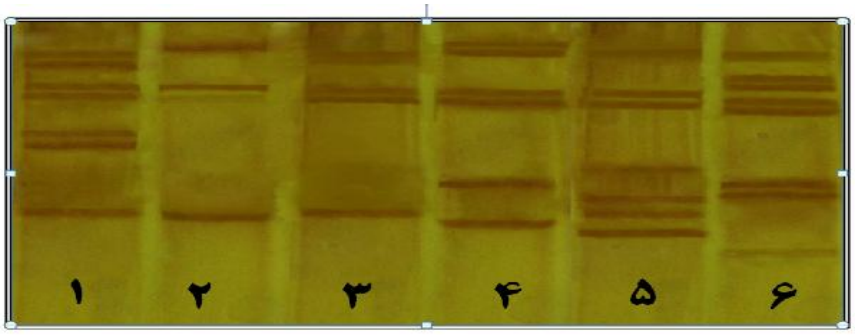


شکل ۱- نمونه‌های DNA روی ژل آگارز

طی واکنش PCR، قطعه ۱۷۷ جفت بازی ژن β-LG تکثیر شد (شکل ۲). در مرحله بعد، از روش SSCP برای شناسایی تنوع در قطعه تکثیر شده استفاده شد. تکنیک SSCP روش مؤثری در شناسایی تنوع توالی تکثیر شده می‌باشد (۱۳). اساس این تکنیک مهاجرت DNA از میان ژل اکریل‌آمید غیر دناتوره بر اساس اندازه و توالی آن می‌باشد. بنابراین وجود حتی یک جهش نقطه‌ای، با تفاوت حرکت روی ژل قابل مشاهده می‌باشد (۵). نتایج حاصل از SSCP و رنگ‌آمیزی پلی اکریل آمید بیانگر ۶ الگوی باندی متفاوت بود که در شکل ۴ مشاهده می‌شود. بنابراین الگوهای باندی متفاوت حاکی از وجود تنوع بالا در این جایگاه می‌باشد که فراوانی آنها محاسبه و برای الگوهای ۱ تا ۶ به ترتیب ۷/۱۴٪، ۱۰/۷۱٪، ۱۳/۰۹٪، ۳۳/۳۳٪، ۹/۵۲٪ و ۲۶/۱۹٪ بود. همانطورکه در شکل مشاهده می‌شود ژنوتیپ ۴ با فراوانی ۳۳/۳۳ درصد بیشترین فراوانی را به خود اختصاص داده است. الگوهای ژنوتیپی متفاوت بین افراد درون این نژاد، ناشی از جهش‌های تک نوکلئوتیدی بین افراد می‌باشد.



شکل ۲- تکثیر اختصاصی قطعه ۱۷۷ جفت بازی اگزون ۷ ژن بتالاکتوگلوبولین در بز نژاد مهابادی



شکل ۳- الگوهای sscp اگزون ۷ ژن بتالاکتوگلوبولین در بز مهابادی

جدول ۱- اثر ژنوتیپ‌های ژن بتالاکتوگلوبولین بر میانگین حداقل مربعات تولید و ترکیبات شیر

ژنوتیپ	تولید شیر(kg)**	درصد چربی n.s	درصد پروتئین n.s	تعداد سلول‌های بدنی **
۱ (۶ رأس)	۵۳/۱۶^{a} ±۲/۹۳	۰/۵۰±۰/۳۱	۶/۲۳±۱/۰۹	۲۷۶/۹۹^{a}±۵۲/۳۷
۲ (۹ رأس)	۴۲/۱۷^{b} ± ۲/۶۲	۰/۷۷±۰/۴۴	۶/۹۵±۰/۵۸	۱۳۲/۴۰^{b} ±۲۸/۳۷
۳ (۱۱ رأس)	۳۷/۵۳^{c} ± ۲/۵۸	۰/۴۲±۰/۲۹	۵/۴۲±۰/۲۶	۱۴۳/۳۲ ^{b}±۱۸/۲۴
۴ (۲۸ رأس)	۴۳/۸۰^{b} ± ۲/۱۲	۰/۴۹±۰/۲۵	۵/۳۹±۰/۲۱	۱۲۹/۱۹ ^{b}±۱۶/۵۳
۵ (۸ رأس)	۴۹/۳۳^{a} ±۲ /۵۸	۰/۱۳±۰/۱	۶/۵۵±۰/۳۶	۱۰۶/۷۲^{b}±۱۹/۷۸
۶ (۲۲ رأس)	۴۱/۰۸^{bc}±۲/۲۴	۰/۹۳±۰/۲۵	۵/۱۵±۰/۳۶	۱۴۱/۲۱^{b}±۲۰/۶۶

حروف لاتین غیر مشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار، **: در سطح معنی‌داری ۱ درصد و n.s: بیانگر عدم معنی‌داری است

جدول ۱ اثر ژنوتیپ‌های مختلف ژن β-LG بر میانگین حداقل مربعات تولید و ترکیبات شیر را نشان می‌دهد. همانطورکه ملاحظه می‌شود ژنوتیپ اثر معنی‌داری بر مقدار تولید شیر و تعداد سلول‌های بدنی داشت، ولی اثر الگوهای متفاوت ژنتیکی بر درصد پروتئین و درصد چربی شیر معنی‌دار نبود.

ایل‌حنفی و همکاران (۸) در مطالعه‌ای روی بزهای بومی مصر، اثر ژن بتالاکتوگلوبولین را بر تولید شیر معنی‌دار گزارش کردند، به‌طوریکه بزها با ژنوتیپ AA تولید شیر بیشتری نسبت به بزهایی با ژنوتیپ BB داشتند. علاوه بر این، چن و همکاران (۶) در مطالعه‌ی ژن بتالاکتوگلوبولین روی بز سانن، گزارش کردند که آلل A این ژن با میزان تولید زیاد شیر و آلل B این ژن با مقدار تولید کم شیر همبستگی دارد. کومار و همکاران (۱۱) در مطالعه این ژن بر تولید شیر بز دو نژاد بومی هند، به نتایج مشابهی دست یافتند. آنها گزارش کردند که تولید شیر دام‌هایی با ژنوتیپ AA به طور معنی‌داری (P<۰/۰۱)، بیشتر از دام‌هایی با ژنوتیپ AB در هر دو نـژاد بـز می‌باشد. مـطالعات گسـترده‌ای اثـر ژن بتالاکتوگلوبولین را بر تولید شیر تأیید می‌کنند، که با نتایج گرفته شده در مطالعه حاضر همخوانی دارد.

مطالعه اثر بتالاکتوگلوبولین بر ترکیبات شیر، نتایج متناقضی داشت. بعضی مطالعات نشان دادند که رابطه معنی‌داری بین چندشکلی این ژن با تولید و ترکیبات شیر وجود ندارد (۱۵،۳). در حالیکه مطالعات دیگر نشان دادند که پلی مورفیسم ژن β-LG به طور معنی‌داری روی تولید شیر(۴)، چربی و پروتئین شیر (۱۰) و تولید و کیفیت پنیر حاصل از آن (۷)، تاثیر گذار است. مطالعه دیگر نشان داد چندشکلی ژنتیکی این ژن فقط روی چربی شیر مؤثر است (۱۴). ایل‌شازلی و همکاران (۹) در مطالعه این ژن روی گوسفند، گزارش کردند که اختلاف معنی‌داری بین چند شکلی این ژن و ترکیبات شیر به جز بر پروتئین (که به‌طور معنی‌داری در ژنوتیپ AA بیشتر بود) وجود ندارد، در حالیکه در مطالعه حاضر اختلاف ژنتیکی متفاوت ژن بتالاکتوگلوبولین روی درصد چربی و پروتئین شیر معنی‌دار نبود، ولی اثر این اختلاف ژنتیکی روی تولید شیر و شمارش سلول‌های بدنی معنی‌دار بود (P<۰/۰۱). از آن‌جـایی‌کـه مطالعـات گسـترده‌ای اثـر چندشکلـی ژن بتالاکتوگلوبولین را بر صفت تولید و ترکیبات شیر تایید می‌کنند، بنابراین این ژن می‌تواند به‌عنوان نشانگر ژنتیکی برای صفت تولید و ترکیبات شیر استفاده شود. با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش و نتایج حاصله از سایـر جایگاه‌های مرتبط با صفات تولید شیر، می‌توان با یک برنامه منظم و بلند مدّت، افراد دارای ژنوتیپ‌های مطلوب برای صفات مورد نظر را شناسایی و با انتخاب آنها میانگین گله را برای دوره‌های بعد بهبود بخشید.

منابع

1. Khaldari, M. 2008. Sheep and Goat Husbandry, University of Tehran Press. 3(17): 18 pp. (In Persian)
2. Ballester, M., A. Sanchez and J. Folch. 2005. Polymorphisms in the goat beta-lactoglobulin gene. Journal of Dairy Research. 72(3): 379-384.
3. Barillet, F., S. Sanna., D. Boichard, J.M. Astruc, M. Carta and S. Casu. 1993. Genetic evaluation of the Lacaune, Manech and Sarda dairy sheep with animal model. Journal of. Animal. Production. 1: 580-607.
4. Bolla, P., A. Caroli, A. Mezzelani, R. Rizzi, G. Pagnacco, A. Fraghì and S. Casu. 1989. Milk protein markers and production in sheep. Animal. Genet. 20(1): 78-79.
5. Bonifacio, C., I.C. Santos, C. Belo and A. Cravador. 2001. Single-strand conformation polymorphism analysis of αs1-casein, β-casein and κ-casein genes in charnequeira Portuguese indigenous goat breed. Archivos de Zootecnia. 50: 105-111.
6. Chen, H., X.Y. Lan, R.B. Li, C.Z. Lei, W.B. Sun, R.F. Zhang, Y.L. Zheng and B.C. Zhu. 2005. The effect of CSN1 S2, CSN3 and beta-lg genes on milk performance in Xinong Saanen dairy goat. Yi Chuan Xue Bao. 32(8): 804-10.
7. Di Stasio, I., B. Portolano, M. Todaro, P. Fiandra, P. Giaccone, R. Finocchiaro and M.L. Alicata. 1997. Effect of ovine B-lactoglobulin phenotype on cheese yield and composition. Milk protein polymorphism. International Dairy Federation, Brussels, Belgium. 324-327 pp.
8. El-Hanafy, A.A., M.A. El-Saadani, M. Eissa, GM. Maharem and Z.A. Khalifa. 2010. Polymorphism of β-Lactoglobulin Gene in Barki and Damascus and their Cross breed Goats in relation to milk yield. Biotechnology in Animal Husbandry 26(1-2): 1-12 pp.
9. El-Shazly, S.A., M.E. Mahfouz, S.A. Al-Otaibi and M.M. Ahmed. 2012. Genetic polymorphism in β-lactoglobulin gene of some sheep breeds in the Kingdom of Saudi Arabia (KSA) and its influence on milk composition. African Journal of Biotechnology. 11(19): 4330-4337 pp.
10. Garson, A. and J. Martinez. 1992. β-Lactoglobulin in manchega sheep breeds: Relationship with milk technological index in handcraft manufacture of Manchego cheese. Animal Genetics. 23(1): 106 pp.
11. Kumar, A., PK. Rout, R. Roy. 2006. Polymorphism of beta-lactoglobulin in Indian goats and its effect on milk yield. Journal of Applied Genetics. 47(1): 49-53.
12. Mercier, J.C. and J.L. Vilotte. 1993. "Structure and Function of Milk Protein Genes." Journal of Dairy Science 76(10): 3079-3098.
13. Orita, M., Y. Suzuki, T. Sekiya and K. Hayashi. 1989. Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using the polymerase chain reaction. Genomics. 5: 874-879.
14. Pirisi, A., A. Fraghi, G. Piredda and P. Leone. 1999. Influence of sheep β- lactoglobulin genotypes on milk composition and cheese yield. EAAPPubl. 95: 553-555.
15. Piwczynski, D., B. Borys, S. Mroczkowski, G. Erhardt and A. Jarzynowska. 2002. Milk protein polymorphism and milk production traits in Polish Merino and Polish Merino crosses with prolific breeds. Prace iMaterialy Zootechniczne. 14: 151-161.
16. Van Der Berg, G., J.T.M. Escher, P.J. De Koning and H. Bovenhuis. 1992. Genetic polymorphism of K-casein and P-lactoglobulin in relation to milk composition and processing. Nether land Milk Dairy Journal. 46: 145-168.
17. Vector, N.T.I. Aduance.™ 9.0, Users manual. 2003. Invitrogen life science software.
18. Vyas, H.K., J.M. Izco and R. Jimenez-Flores. 2002. Scale-up of native β-lactoglobulin affinity separation process. Journal of Dairy Science. 85: 1639-1645.
19. Wang, Q., J.C. Allen and H.E. Swaisgood. 1997. Binding of vitamin D and cholesterol to β-lactoglobulin. Journal of Dairy Science. 80: 1054-1059.
20. Zhang, R.F., H. Chen, C.Z. Lei, X.T. Fang, Y.D. Zhang, S.R. Hu and LH. Su. 2007. Association between PCR-RFLP polymorphisms of five gene loci and milk traits in Chinese Holstein. Asian-Aust. Journal of Animal Science. 20: 166-171.

Study of Polymorphism of β-Lactoglobulin Gene in Exon 7 and its Association with Milk Production Traits in Mahabadi Goats Using PCR-SSCP

Leila Gharedaghi[1], Mostafa Sadeghi[2], Hosein Moradi-Shahrebabak[2] and Mehdi Ganjkhanlou[2]

1- M.Sc. Student, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran
(Corresponding author: leilagharedaghi@ut.ac.ir)
2- Assistant Professor, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran
Received: January 8, 2013 Accepted: December 8, 2013

Abstract

The objective of this study was detection of polymorphism in β-Lctoglobulin gene and its association with milk production traits in Mahabadi goats using PCR-SSCP method. For this purpose, blood samples were taken from 89 Mahabadi goat that reared in the farm of animal science department at Tehran university (Karaj). DNA was extracted from whole blood using optimized salting out method. Specific primers used for amplification of 177 bp fragment from then 7 β-Lactoglobulin gene. For identifying the polymorphism, PCR products were electrophoresed on polyacrylamide gel (SSCP method) and stained with silver nitrate method. Results indicated the different patterns, may be due to polymorphism in this fragment. The frequency of the six pattern were 7.14%, 10.71%, 13.09%, 33.33%, 9.52% and 26.19% respectively. The statistical analysis indicated that the effect of different patterns were significant on milk production and somatic cell count ($p<0.01$), but on fat and protein percentage had no significant effect.

Keywords: *Milk production, β-Lactoglobulin, Polymorphism, PCR-SSCP, Mahabadi goat*