دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان
جلد دوم، شماره دوم، ۱۳۹۳
http://ejrr.gau.ac.ir

تأثیر چندشکلی ژن کاپاکازئین بر ارزش اصلاحی صفات تولیدی شیر گاو براون سوئیس

*سونیا زکی‌زاده[۱]، هادی غلامی[۲]، رضا وکیلی[۳] و محسن قدس روحانی[۱]
[۱]استادیاران گروه علوم دامی و صنایع غذایی، موسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی،
[۲]دانش‌آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح دام و [۳]استادیار گروه علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کاشمر
تاریخ دریافت: ۹۲/۰۸/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۳/۰۳

چکیده

امروزه با کمک ژنتیک ملکولی، امکان بررسی ژن‌های مؤثر بر صفات کمّی فراهم شده است. کاپاکازئین از جمله پروتئین‌های مهم در شیر است که چندشکلی در ژن آن باعث بروز تفاوت‌هایی در صفات تولیدی شیر می‌شود. در این تحقیق از ۹۱ راس گاو براون سوئیس نمونه خون گرفته، دی.ان.ای به روش نمکی از خون کامل استخراج گردید و ژنوتیپ گاوها در جایگاه چندشکلی تک نوکلئوتیدی اگزون ٤ به روش تکثیر و هضم آنزیمی تعیین شد. با استفاده از روش حداکثر درست‌نمایی محدود شده تحت مدل دام، ارزش اصلاحی حیوانات برای سه صفت تولید شیر، درصد چربی و درصد پروتئین شیر به‌طور جداگانه پیش‌بینی شد. ارتباط ژنوتیپ با ارزش اصلاحی صفات مورد مطالعه با رویه مدل خطی عمومی در سطح معنی‌داری ۵ درصد بررسی شد. فراوانی ژنوتیپ AA، AB و BB به‌ترتیب ۰/۱۹، ۰/۳۵ و ۰/٤٦ و فراوانی آلل‌های A و B به‌ترتیب ۰/۳٦۵ و ۰/٦۳۵ برآورد شد. آزمون کای- مربع بیانگرعدم تعادل هاردی واینبرگ در جمعیّت مورد مطالعه بود (P<۰/۰۵). در بررسی ارتباط جایگاه چندشکلی با صفات تولید شیر، درصد چربی و درصد پروتئین ارتباط معنی‌داری بین ارزش اصلاحی صفات و انواع ژنوتیپ یافت نشد.

واژه‌های کلیدی: گاو شیری، کاپاکازئین، PCR-RFLP، چندشکلی تک نوکلئوتیدی، صفات تولیدی شیر

*نویسنده مسئول: sonia_zaki@yahoo.com

مقدمه

امروزه با کمک ژنتیک ملکولی، امکان بررسی ژن‌های مؤثر بر صفات کمّی فراهم شده است. در تحقیقات متعددی مشخص شده است که روی کروموزوم شماره ٦ گاو تعداد زیادی ژن کاندید وجود دارد که اکثر آن‌ها روی صفات تولید شیر تأثیرگذار هستند. کازئین‌ها از جمله پروتئین‌های مهم در شیر هستند که به چهار گروه عمده کاپاکازئین، بتاکازئین، آلفا. اس.یک کازئین[1] و آلفا. اس.دو کازئین[2] تقسیم می‌شوند. ژن کاپاکازئین در منطقه '۳ مجموعه کازئین و به فاصله٥/٦ سانتی مورگان از آلفا. اس. یک و با طول ۱۳ کیلوجفت باز، دارای ۵ اگزون می‌باشد و پروتئینی با ۱٦۹ اسیدآمینه را کد می‌نماید (پرینزنبرگ و همکاران، ۲۰۰۳). تاکنون ۹ آلل مختلف از کاپاکازئین شناسایی شده که رایج‌ترین آن‌ها آلل‌های A و B می‌باشد. آلل B ژن کاپاکازئین که حاصل بروز جهش نقطه‌ای (T/C) در موقعیّت اگزون ٤ است، از نظر نوع اسید آمینه در بنیان ۱۳٦ و ۱٤۸ با آلل A متفاوت می‌باشد. لذا آلل A دارای اسیدهای آمینه ترئونین و آسپاراژین در موقعیّت‌های ۱۳٦ و ۱٤۸ می‌باشد اما آلل B دارای اسیدآمینه ایزولوسین و آلانین است. جهش در موقعیّت ۱٤۸ باعث عدم شناسایی توسط آنزیم محدودالاثر *HinfI* در آلل B و تمایز آن با آلل A می‌شود (زکی‌زاده، ۲۰۰٦).

چندشکلی‌های این ژن تأثیر معنی‌داری روی تولید شیر، مقدار و درصد پروتئین و مقدار و درصد چربی نشان داده‌اند. تحقیقات نشان داده است که آلل A کاپاکازئین روی تولید بیشتر شیر در نژادهای هلشتاین، فلکوی چک و نژادهای لیتوانی (ماتیک و همکاران، ۲۰۰۷؛ تسیاراس و همکاران، ۲۰۰۵) و مقدار چربی و پروتئین متمایل به پایین نژاد هلشتاین (تسیاراس و همکاران، ۲۰۰۵) تأثیر دارد. اگرچه تاثیر ژنوتیپ AA بر افزایش درصد چربی شیر هلشتاین نیز گزارش شده است (بنزیک و همکاران، ۲۰۰۷).

از طرف دیگر، آلل B با تولید پایین شیر در نژادهای لیتوانی (پسلاتین و همکاران، ۲۰۰۷) و مقدار بالای درصد پروتئین نژادهای لیتوانی، فلکوی و هلشتاین (پسلاتین و همکاران، ۲۰۰۷؛ ماتیک و همکاران، ۲۰۰۷؛ بنزیک و همکاران، ۲۰۰۷) و درصد چربی نژادهای لیتوانی (پسلاتین و همکاران، ۲۰۰۷) در ارتباط است و روی عمل‌آوری شیر مانند زمان لخته شدن و استحکام دلمه، اثر مستقیم دارد (کامین و همکاران، ۲۰۰۸؛ پسلاتین و همکاران، ۲۰۰۷). در تحقیق تسیاراس و همکاران (۲۰۰۵) روی

1- αS1 casein
2- αS2 casein

نژاد هلشتاین که در آن، دو ژنوتیپ از ۳ ژنوتیپ مربوط به کاپاکازئین مشاهده شده بود، مشخص شد که ژنوتیپ AB در مقایسه با ژنوتیپ AA تأثیر بیشتری روی افزایش تولید شیر و چربی داشت (تسیاراس و همکاران، ۲۰۰۵)، اگرچه در تحقیق دیگر و در نژاد دیگر، نتایج متضاد با آن گزارش شده است (پسلاتین و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین گزارش شده است که گاوهای با ژنوتیپ BB در مقایسه با ژنوتیپ AA برای فرآیند شیر سودمندتر بوده و سطوح متوسط پروتئین و چربی مناسب‌تری داشتند. در مجموع محققان به‌این نتیجه رسیده‌اند که ژن کاپاکازئین به‌عنوان یک نشانگر ژنتیکی سودمند در برنامه‌های بهبود ارزش اصلاحی ژنتیکی مطرح است، به‌طوری که آلل B موجب کاهش زمان انعقاد شیر و بالارفتن ثبات و استحکام دلمه شدن آن می‌شود و ژنوتیپ BB آن علی‌رغم اثر منفی که روی مقدار تولید شیر دارد، تأثیر مهمی روی کاهش چربی و افزایش پروتئین شیر و همچنین ترکیب پروتئین شیر دارد (کامین و همکاران، ۲۰۰۸).

بنابراین هدف از این پژوهش تعیین فراوانی ژنی و ژنوتیپی چندشکلی تک نوکلوتیدی جایگاه اگزون ٤ ژن کاپاکازئین و بررسی تأثیر ژنوتیپ‌های مختلف این ژن روی ارزش اصلاحی صفات تولید شیر، درصد چربی، درصد پروتئین در گاوهای شیری نژاد براون سوئیس بود.

مواد و روش‌ها

خونگیری و استخراج دی.ان.ای: در این آزمایش از تعداد ۹۱ راس گاو شیری نژاد براون سوئیس مجتمع آموزش جهاد کشاورزی خراسان رضوی که دارای اطلاعات مربوط به ثبت مشخصات و شجره خویشاوندی، رکورد تولید شیر، چربی و پروتئین بودند، استفاده شد. گاوها به‌صورت تصادفی انتخاب و خونگیری از ورید دمی و با استفاده از ونوجکت‌های خلاءدار حاوی ماده ضد انعقاد[1] انجام شد. نمونه‌ها داخل ظرف یخ به آزمایشگاه منتقل و تا زمان استخراج دی.ان.ای در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. استخراج دی.ان.ای از ۳ میلی‌لیتر خون کامل و به روش استخراج نمکی اصلاح شده انجام گرفت (جوانروح و همکاران، ۲۰۰٦). کمیت دی.ان.ای استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و کیفیت آن از طریق الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد به مدت ٤۰ دقیقه و ولتاژ ۹۰ بررسی شد.

1- EDTA

اجزا و شرایط واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز[1]: اجزای واکنش شامل ۵۰ نانوگرم بر میکرولیتر دی.ان.ای ژنومی، بافر 1XPCR، کلرید منیزیم ۲ میلی‌مولار، ۲۰۰ میکرومولار dNTP، ۱/۵ واحد آنزیم Taq پلی‌مراز، ۵ پیکومول بر میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای رفت و برگشت و مابقی حجم تا ۲۵ میکرولیتر آب مقطر دوبار تقطیر بود. شریط دمایی در نظرگرفته شده شامل ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه دمای واسرشت اولیه، و در ادامه ۳۵ سیکل دمایی با شرایط ۹٤ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه دمای واسرشت، ٦۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه دمای اتصال، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه دمای سنتز بود. در پایان، سنتز نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه صورت گرفت. پرایمرهای مورد استفاده به‌صورت لیوفیلیزه در اختیار قرار گرفتند که بر حسب سفارش شرکت سازنده[2] برای به‌دست آوردن غلظت ۱۰۰ پیکومول بر میکرولیتر، مقادیر لازم آب دو بار تقطیر به آن‌ها اضافه گردید.

از یک جفت پرایمر رفت و برگشت جهت تکثیر قطعه ۳۵۰ نوکلئوتیدی بخشی از گزون ٤ و اینترون ٤ ژن کاپاکازئین، واقع بر کروموزوم ٦ گاو (از نوکلئوتید ۵۲۱۱ تا ۵۵٦۱ با شماره دستیابی بانک ژنی X14908)، به توالی زیر استفاده گردید. قبل از شروع واکنش هضم و به‌منظور بررسی صحت قطعه تکثیر شده، ۵ میکرولیتر از محصول PCR روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شد و با دستگاه عکس‌برداری ژل داک مشاهده گردید.

F5´- ATCATTTATGGCCATTCCACCAAAG -3
R5´- GCCCATTTCGCCTTCTCTGTAACAGA -3´

هضم با آنزیم محدودالاثر[3]: هضم آنزیمی قطعه تکثیر شده کاپاکازئین با آنزیم *Hinf* I (ساخت شرکت فرمنتاز) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در طول شب انجام شد. واکنش هضم طبق پروتکل پیشنهادی شرکت سازنده آنزیم در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ۳ میکرولیتر از محصول PCR به‌همراه ۲ میکرولیتر بافر ۱۰X، ۰/۵ واحد آنزیم و ۱٤/۵ میکرولیتر آب مقطر دوبار تقطیر صورت گرفت.

1- PCR
2- Generay Biotech
3- RFLP

تعیین ژنوتیپ و محاسبه فراوانی ژنی و ژنوتیپی: برای تعیین ژنوتیپ‌های مختلف، مقدار ۵ میکرولیتر از نتیجه هضم روی ژل آگارز ۲ درصد با ولتاژ ۱۰۰ به‌مدت ۵۰ دقیقه الکتروفورز شد. تعیین انواع ژنوتیپ بر اساس مشاهده تعداد و اندازه باندها با استفاده از دستگاه عکس‌برداری ژل داک انجام شد. سپس با استفاده از نرم‌افزار آنالیز اطلاعات ژنتیک جمعیّت[1] ویرایش ۱/۳۱ (یه و همکاران، ۱۹۹۹) فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی محاسبه شد. برای اطمینان از صحت قطعه تکثیر شده و قطعات حاصل از برش آنزیمی، از نشانگر M100 استفاده شد. فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی، هتروزیگوتی مشاهده شده و موردانتظار، شاخص نئی و شانون و تعادل هاردی وینبرگ در سطح ۰/۰۵ بررسی گردید.

همبستگی ژنوتیپ‌ها با ارزش اصلاحی صفات تولیدی: ارزش اصلاحی صفات تولید شیر، درصد چربی و پروتئین شیر دوره اول شیردهی ۱۰۲٤ گاو حاصل از ۵۵ پدر و ۲۲۰ مادر، با استفاده از مدل ۱ نرم‌افزار DFREML پیش‌بینی شد. مدل شامل اثرات ثابت سال، فصل زایش و متغیر کمکی تعداد روزهای شیرواری و اثرات تصادفی شامل اثر حیوان و باقیمانده بود.

$$y = Xb + Za + e$$

(مدل ۱)

y: بردار ارزش اصلاحی صفات مشاهده شده؛ b: بردار عوامل اثرات ثابت (سال، فصل زایش، تعداد روزهای شیردهی)؛ X: ماتریسی که b را به Y ارتباط می‌دهد؛ a: بردار ارزش اصلاحی برای اثرات ژنتیک افزایشی مستقیم؛ Z: ماتریسی که اثرات ژنتیکی افزایشی مستقیم را به Y ارتباط می‌دهد.

از ارزش‌های اصلاحی صفات تولید شیر دوره اول ۹۱ گاو که تعیین ژنوتیپ شده بودند، برای بررسی ارتباط بین ارزش اصلاحی با چندشکلی جایگاه اگزون ٤ کاپاکازئین استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری با نرم‌افزار SAS 9.3 (۲۰۰٤) و مدل خطی زیر در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد.

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

y_{ij}= ارزش اصلاحی برآورده شده برای هر کدام از صفات تولیدی

G_i= ژنوتیپ iام در جایگاه اگزون ٤ ژن کاپاکازئین

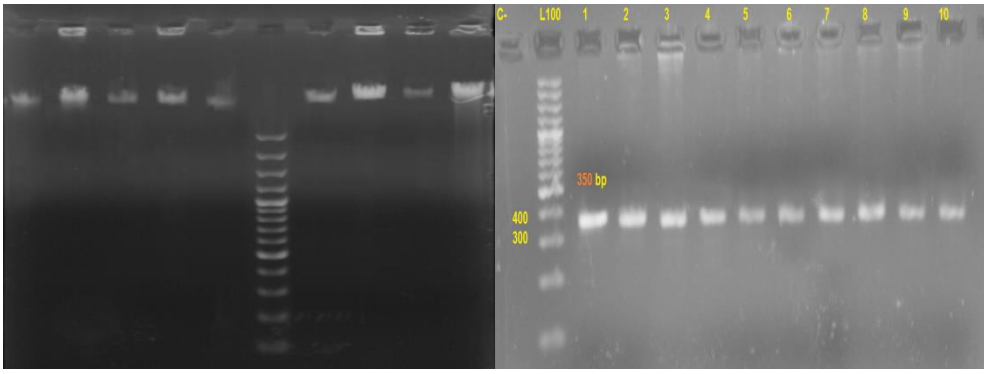
e_{ij}= اثر باقیمانده

میانگین‌ها به روش حداقل مربعات در سطح ۵٪ بررسی شدند.

1- Pop Gene

نتایج

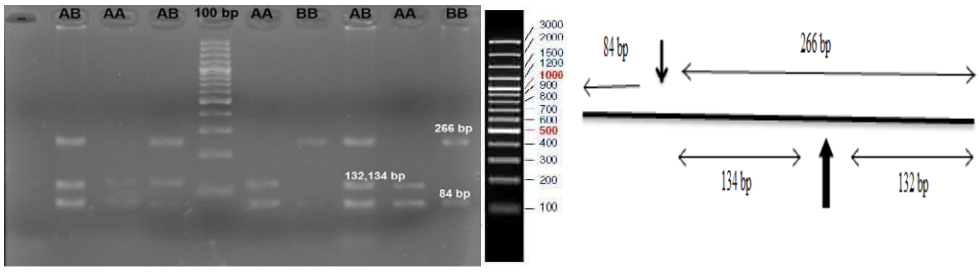
بررسی کیفیت دی.ان.ای حاکی از عدم وجود باندهای اضافی در نمونه‌ها بود، که نشان‌دهنده ملکول‌های سالم دی.ان.ای و عدم شکستگی در آن‌ها بود. نتایج الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز صحت تکثیر قطعه ۳۵۰ جفت باز را برای ژن کاپاکازئین توسط نشانگر M۱۰۰ مورد تأیید قرار داد (شکل ۱).



(الف) (ب)

شکل ۱- (الف) کیفیت دی.ان.ای استخراج شده روی ژل آگارز ۱ درصد. (ب) قطعه تکثیر شده PCR ژن کاپاکازئین.

فراوانی ژنی و ژنوتیپی اگزون ٤ ژن کاپاکازئین: قطعه تکثیر شده دارای دومنطقه شناسایی برای آنزیم بود. منطقه اول باعث برش قطعه ۳۵۰ جفت بازی تکثیرشده، به قطعات ٢٦٦ و ٨٤ جفت باز می‌گردید. آلل A دارای محل شناسایی دوم آنزیم *HinfI* بود که در این صورت قطعه ٢٦٦ جفت‌بازی به قطعات ۱۳۲ و ۱۳٤ جفت باز تقسیم می‌شد. بنابراین افراد با ژنوتیپ هموزیگوت AA قطعات ۱۳٤، ۱۳۲ و ٨٤ جفت باز، هتروزیگوت AB ٢٦٦ و ۱۳٤، ۱۳۲ و ٨٤ جفت باز و هموزیگوت‌های BB قطعات ٢٦٦ و ٨٤ جفت باز داشتند. نمونه‌ها پس از واکنش هضمی روی ژل آگارز ۳ درصد رنگ‌آمیزی شده با اتیدیوم بروماید، الکتروفورز شدند و تعیین ژنوتیپ آن‌ها صورت گرفت (شکل ۲). از آن‌جایی که قطعات ۱۳۲، ۱۳٤ نزدیک به هم هستند روی ژل آگارز به‌صورت یک باند دیده می‌شوند.



(ب) (الف)

شکل ۲- (الف) طرح شماتیک محل تکثیر ژن کاپاکازئین و هضم توسط آنزیم *HinfI* (فلش‌ها جایگاه‌های شناسایی آنزیم می‌باشند). (ب) تعیین ژنوتیپ در جایگاه اگزون ٤ ژن کاپاکازئین (قطعات ۱۳۲ و ۱۳٤ جفت باز به‌دلیل نزدیکی به‌صورت یک باند دیده می‌شوند).

پس از تعین ژنوتیپ، فراوانی ژنی و ژنوتیپی، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و موردانتظار، شاخص هتروزیگوتی نئی و شانون، تعداد آلل‌های واقعی و مؤثر و تعادل هاردی واینبرگ با استفاده از نرم‌افزار PopGene نسخه ۱/۳۱ محاسبه گردید (جدول ۱). همان‌گونه که مشاهده می‌شود فراوانی آلل B در جمعیّت براون سوئیس مورد مطالعه بیشتر از آلل A بود، لذا افراد هموزیگوت BB بیشترین فراوانی را به خود اختصاص دادند. عدد کای مربع حاکی از نامتعادل بودن این جمعیت در جایگاه اگزون ٤ ژن از نظر تعادل هاردی واینبرگ بود (P<۰/۰۵).

جدول ۱- نتایج تعیین ژنوتیپ کاپاکازئین در جمعیّت.

جایگاه	فراوانی آللی		فراوانی ژنوتیپی مشاهده شده			هتروزیگوسیتی		شاخص		تعداد آلل		تعادل
	B	A	BB	AB	AA	Obs[1]	Exp[2]	نئی	شانون	واقعی	مؤثر	χ^2
اگزون ٤	/٦٣٥ ۰	/٣٦٥ ۰	۰/٤٦	۰/٣٥	۰/١٩	۰/٣٥	۰/٤٦	۰/٤٦	۰/٦٥	۲	۱/٨٤	٥/۰۱*

[1]مشاهده شده، [2]مورد انتظار

پیش‌بینی ارزش اصلاحی صفات تولیدی و ارتباط آن با انواع ژنوتیپ: به منظور برآورد ارتباط بین صفات با جایگاه‌های ژنی مورد بررسی از ارزش اصلاحی مربوط به رکوردهای صفات تولید شیر

(تولید شیر، درصد چربی و درصد پروتئین) استفاده گردید. نتایج آنالیز آماری مشخص نمود که در این مطالعه هیچ ارتباط معنی‌داری بین ارزش اصلاحی صفات تولید شیر با ژنوتیپ‌های کاپاکازئین وجود نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۲- میانگین و انحراف معیار ارزش اصلاحی صفات مورد مطالعه انواع ژنوتیپ کاپاکازئین.

ژنوتیپ	تولید شیر (کیلوگرم)	درصد چربی	درصد پروتئین
AA	۱۰۰/۱۲±۵۶/۷۸[a]	۰/۰۰۵±۰/۰۰۲[a]	۰/۰۱۱±۰/۰۰۷[a]
AB	-۱۳۶/۶۰±۶۸/۴۰[a]	۰/۰۰۳±۰/۰۰۱[a]	۰/۰۰۸±۰/۰۰۵[a]
BB	۵۹/۲۳±۳۱/۱۰[a]	۰/۰۰۳±۰/۰۰۱[a]	-۰/۰۰۷±۰/۰۰۱[a]
ضریب تعیین	R^2=۰/۴۹	R^2=۰/۴۵	R^2=۰/۶۸

بحث

در این پژوهش فراوانی سه ژنوتیپ کاپاکازئین BB، AB و AA به‌ترتیب ۰/۴۶، ۰/۳۵ و ۰/۱۹ و فراوانی آلل B ۰/۶۳۵ و آلل A ۰/۳۶۵ محاسبه گردید و جمعیّت مورد بررسی از نظر این جایگاه ژنی در تعادل هاردی وینبرگ نبود. احتمال دارد که ارجحیت انتخاب جمعیّت مورد مطالعه برای تولید بالاتر درصد چربی شیر، و/ یا تأثیر غیرمستقیم فراوانی آلل‌های کاپاکازئین در این زمینه مؤثر باشند. در پژوهش‌های متعددی فراوانی بالاتر آلل A در نژادهای بوس ایندیکوس (راچاگانی و گوپتا، ۲۰۰۸؛ علی نقی‌زاده و همکاران، ۲۰۰۷)، هلشتاین (تسیاراس و همکاران، ۲۰۰۵؛ آنگارانی و همکاران، ۲۰۱۰؛ بنزیک و همکاران، ۲۰۰۷؛ ایلی و همکاران، ۲۰۰۹؛ گودا و همکاران، ۲۰۱۳)، سیمنتال (ایلی و همکاران، ۲۰۰۹)، ابلق قرمز و ابلق سیاه روسی (علی‌پناه و همکاران، ۲۰۰۸) و دورگ‌های تائوروس× ایندیکوس گزارش شده است (راجش و همکاران، ۲۰۰۷). این در حالی است که برخی مطالعات دیگر بیانگر بیشتر بودن فراوانی آلل B می‌باشند (زکی‌زاده، ۲۰۰۶). در تحقیقی که در این رابطه روی گاو نژاد براون سوئیس انجام شد، فراوانی دو آلل A و B تقریباً برابر و به‌ترتیب ۰/۴۹۵ و ۰/۵۰۵ گزارش شد. همچنین فراوانی ژنوتیپی BB و AB و AA به‌ترتیب ۲۰/۴۳ درصد، ۶۰/۲۲ درصد و ۱۹/۳۵ درصد و جمعیّت مورد مطالعه در تعادل هاردی واینبرگ بود (دوگرا و اوزدمیر، ۲۰۰۹). فراوانی آلل B کاپاکازئین در نژاد براون رومانیایی ۰/۶۲ گزارش شده است (ایلی و همکاران، ۲۰۰۹). چنین به‌نظر می‌رسد که فراوانی آللی کاپاکازئین در نژاد براون سوئیس با دیگر نژادها متفاوت باشد که این

تفاوت می‌تواند به دلایل تفاوت در تعداد نمونه‌ها، تفاوت در پیش زمینه ژنتیکی حیوانات مورد بررسی و همچنین نژاد مورد مطالعه باشد.

در تحقیق حاضر ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های کاپاکازئین و ارزش اصلاحی صفات تولید شیر، درصد چربی و درصد پروتئین شناسایی نشد، اگرچه بررسی‌های گذشته در نژادهای بومی و یا صنعتی (علی نقی‌زاده و همکاران، ۲۰۰۷؛ ماتیک و همکاران، ۲۰۰۷؛ راجش و همکاران، ۲۰۰۷؛ پسلاتین و همکاران، ۲۰۰۷؛ ایلی و همکاران، ۲۰۱۰؛ دوگرو و اوزدمیر، ۲۰۰۹؛ بنزیک و همکاران، ۲۰۰۷) حاکی از ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های کاپاکازئین و ترکیبات شیر بودند. در مطالعه اگزون ٤ ژن کاپاکازئین تعدادی گاو دورگ تائوروس×ایندیکوس، گزارش شد که فراوانی آلل A در مقایسه با آلل B بالاتر بود، اما ژنوتیپ BB کاپاکازئین با تولید بالاتر شیر، مقدار چربی کم‌تر و تولید متوسط پروتئین در ارتباط بود (راجش و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین در تحقیقی دیگر تأثیر ژن کاپاکازئین روی صفات تولیدی (مقدار شیر، پروتئین، چربی و لاکتوز) و تولیدمثلی (ماندگاری، سن در اولین و دومین زایش، فواصل زایش و تعداد هر سرویس برای هر آبستنی) بررسی شد. ژنوتیپ‌های مختلف کاپاکازئین اثر معنی‌داری روی تولید و درصد پروتئین نشان دادند، در حالی که روی تولید لاکتوز و محتوای آن تأثیر معنی‌داری نداشتند. همچنین آلل A با افزایش تولید شیر و چربی در ارتباط بود اما ژنوتیپ AB در مقایسه با ژنوتیپ AA اثر بیشتری را روی تولید شیر و چربی نشان داد (تسیاراس و همکاران، ۲۰۰۵). تأثیر ژنوتیپ BB روی مقدار تولید پروتئین شیر در نژاد براون رومانیایی (ایلی و همکاران، ۲۰۰۹) و تولید شیر روزانه (بنزیک و همکاران، ۲۰۰۷) معنی‌دار گزارش شده است. البته این امکان وجود دارد که تغییر در روش برآورد ارزش اصلاحی و یا منظور کردن اثرات ثابت دیگر در مدل، باعث تفاوت در نتیجه این تحقیق و ایجاد رابطه معنی‌دار در همبستگی بین ژنوتیپ و ارزش‌های اصلاحی گردد.

نتیجه‌گیری کلی

در مطالعه حاضر هر سه نوع ژنوتیپ ممکن در جایگاه موردنظر مشاهده شد اما جمعیت در حالت تعادل هاردی واینبرگ نبود. با توجه به این‌که کاپاکازئین در بسیاری از تحقیقات به‌عنوان یکی از ژن‌های تأثیرگذار بر صفات تولید شیر شناسایی شده است، این احتمال وجود دارد که دلیل خارج شدن جامعه از تعادل هاردی واینبرگ در این جایگاه، به‌دلیل انتخاب دام‌ها در جهت افزایش تولید شیر

باشد. در این تحقیق به‌رغم گزارش سایر تحقیقات، ارتباط معنی‌دار بین ژنوتیپ‌های کاپاکازئین با ارزش اصلاحی صفات تولید شیر یافت نشد. لذا، بررسی توام این ژن با سایر ژن‌های مؤثر بر صفات تولیدی شیر و همچنین بررسی نواحی کنترل کننده بالادست و یا پایین‌دست ژن برای درک دقیق مکانیسم ملکولی نحوه عمل ژن، توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

به‌این وسیله محققین بر خود لازم می‌دانند تا از مسؤولان محترم مجتمع آموزش جهاد کشاورزی خراسان رضوی به‌ویژه آقای مهندس زرقی که در تهیه نمونه‌های خون همکاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی را بنمایند.

منابع

Alinaghizadeh, R., Mohammad Abadi, M.R., and Moradnasab Badrabadi, S. 2007. Kappacasein gene study in Iranian Sistani cattle breed (Bos indicus) using PCR-RFLP. Pakistan J. of Biological Sci. 10: 4291-4294

Alipanah, M.L., Kalashnikova, A., and Veladimirovich Rodionov, G. 2008. Kappa-casein and PRL-RSA Igenotypic frequencies in two Russian cattle breeds. Archivos de Zootecnia, 57: 218 pp.

Anggraen, A., Sumantrib, C., Farajallahc, A., and Andreas, E. 2010. Kappa-Casein genotypic frequencies in Holstein-Friesian dairy cattle in West Java Province. Media Peternaka. 33: 61-67.

Bencsik, I., Pacalan, N., Stanculet, J., Telea, A., and Bencsil, A. 2007. The influence of K-casein alleles on milk production and quality in Holstein-Frisian cow population. Zootehnie şi Biotech. 40: 13-18.

Comin, A., Cassandro, M., Chessa, S., Ojala, M., Dal Zotto, R., De Marchi, M., Carnier, P., Gallo, L., Pagnacco, G., and Bittante, G. 2008. Effects of composite β- and κ-Casein genotypes on milk coagulation, quality, and yield traits in Italian Holstein cows. J. Dairy Sci. 91: 4022–4027.

Gouda, E.M., Galal, M.Kh., and Abdelaziz, S.A. 2013. Genetic variants and allele frequencies of kappa casein in Egyptian cattle and buffalo using PCR-RFLP. J. of Agri. Sci. 5: 197-203.

Ilie, D.E., Magdin, A., Salajeanu, A., Neamt, R., and Vintila, I. 2009. Influence of CSN3 marker on milk composition in Romanian Brown and Romanian Simmental cattle from S.C.D.C.B. arad. Zootechnie şi Biotech. 42: 54-57.

Ilie, D.E., Aurelia Sălăjeanu, Anuţa Magdin, Radu Neamţ, and Vintila, I. 2010. Early determination of animals with favorable genes in milk production for profitable private farms. Anim. Sci. and Biotech. 43: 279-282.

Javanrouh, A., Banabazi, M.H., Esmaeilkhanian, S., Amirinia, C., Seyedabadi, H.R., and Emrani, H. 2006. Optimization on salting out method for DNA extraction from animal and poultry blood cells. The 57th Annual Meeting of the European Association for Animal Production. Antalya, Turkey. P: 103.

Matejicek, A., Matejickova, J., Němcova, E., Jandurova, O.M., Stipkova, M., Bousk, J., and Frelich, J. 2007. Joint effects of *CSN3* and *LGB* genotypes and their relation to breeding values of milk production parameters in Czech Fleckvieh. Czech, J. Anim. Sci. 52: 83–87.

Pečiulaitienė, N., Miceikienė, I.R., Mišeikienė, N., Krasnopiorova, and Kriauzienė, J. 2007. Genetic factors influencing milk production traits in Lithuanian dairy cattle breeds. Žemesukiomokslay. 14: 32–38.

Prinzenberg, E.-M., Weimann, C.H., Brandt, J., Bennewitz, E., Kalm, M., Schwerin and Erhardt, G. 2003. Polymorphism of the bovine CSN1S1 promoter: linkage mapping, intragenichaplotypes, and effects on milk production traits. J. Dairy Sci. 86: 2696-2705.

Rachagani, S.D., and Gupta, I. 2008. Bovine kappa-casein gene polymorphism and its association with milk production traits. Genetics and Mol. Bio. 31: 893-89.

Rajesh, K., Patel, Jenabhai, B., Chauhan, Krishna M., Singh, Kalpesh, J., Soni. 2007. Allelic frequency of Kappa-Casein and Beta-Lactoglobulin in Indian crossbred (Bos taurus×Bos indicus) dairy bulls. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 31: 399-402.

Tsiaras, A.M., Bargouli, G.G., Banos, G., and Boscos C.M. 2005. Effect of kappa-casein and beta-lactoglobulin loci on milk production traits and reproductive performance of Holstein cows. J. Dairy Sci. 88: 327–334.

Dogru, U., and Ozdemir, M. 2009. Genotypin of kappa casein locus by PCR-RFLP in Brown Swiss cattle breed. J. of Anim. and Vet. Adv. 8: 779-781.

Yeh, F.C., Yang, R., and Boyle, T. 1999. POPGENE. Version 1.31. Microsoft window–based freeware for population genetic analysis, University of Alberta. Edmonton, AB, Canada.

Zakizadeh, S. 2006. Determination of gene and genotype in five loci related to milk traits in three native and Holstein breeds of Iran. The University of Tehran. Campus of Agriculture and Natural Resource, Karaj. (Ph.D. dissertation) (In Persian)

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Ruminant Research, Vol. 2(2), 2014
http://ejrr.gau.ac.ir

The effect of Kappa casein polymorphism on milk production traits in Brown Swiss cattle

***S. Zakizadeh[1], H. Gholami[2], R. Vakili[3] and M. Ghods Rohani[1]**
[1]Assistant Prof., Dept. of Animal Science and Food Industry, Higher Applied Science-Technology Institute, [2]M.Sc. Graduated Animal Genetics and Breeding, [3]Assistant Prof., Dept. of Animal Science, Islamic Azad University, Kashmar Branch, Iran
Received: 11/07/2013; Accepted: 05/24/2014

Abstract

Today, with the help of molecular genetics, it has been possible to study candidate genes, which have influence on quantitative traits. Kappa casein is one of the important proteins in milk that any of its polymorphism leads to difference in milk production traits. In this study, blood samples were collected from ninety one Brow Swiss cow and their DNA was extracted by modified salting out procedure. They were genotyped for the SNP of exon IV by PCR-RFLP method. Breeding values of cows were individually predicted for milk production, fat and protein milk percent traits. Association between polymorphisms and breeding values were investigated by generalized linear model at 5 percent significant level. Frequencies of AA, AB and BB genotypes were 0.19, 0.35 and 0.46, as well as, the allele frequencies of A and B were 0.365 and 0.635, respectively. Chi-square test indicated deviation from Hardy-Weinberg expectation ($P<0.05$). There was no significant association between genotypes and breeding values of milk production, fat and protein percent traits.

Keyword: Dairy Cattle, Kappa Casein, PCR-RFLP, Single nucleotide polymorphism, Milk production traits

* Corresponding author; sonia_zaki@yahoo.com