



ارتباط چند شکلی ژن DGAT1 با عملکرد صفات تولید شیر و امتیاز سلول‌های سوماتیکی در گاو

هلشتاین

ملیحه پیرزاد^۱، سعید انصاری مهبیاری^۲، محمد علی ادریس^۳، محمد خوروش^۴، سید بدرالدین ابراهیم طباطبایی^۵

۱-دانشجوی ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان. ۲،۴-استادیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان ۳،۵-استاد، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان.

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی ارتباط بین چند شکلی K232A DGAT1 با امتیاز سلول‌های بدنی و عملکرد تولید شیر در گاوهای هلشتاین انجام گرفت. ژن DGAT1 در انتهای سانترومیک کروموزوم ۱۴ گاوی وجود دارد که آنزیم آسیل کوآ: آسیل ترانسفراز ۱ را کد می‌کند. این آنزیم در آخرین مرحله ساخت تری گلیسرید در غده پستانی نقش دارد. چند شکلی K232A باعث ایجاد تنوع در میزان چربی شیر می‌گردد. جمعیت مورد مطالعه، شامل ۴۰۸ گاو هلشتاین، با تکنیک RFLP-PCR ژنوتایپ شدند که هر سه ژنوتیپ در جمعیت مشاهده شد. فراوانی آلل K و آلل A به ترتیب ۰/۳۷ و ۰/۶۳ بود. آنالیزهای آماری انجام شده، اثر ژنوتایپ ژن DGAT1 را برای تولید شیر و درصد چربی شیر در دوره اول شیردهی معنی دار نشان داد اما اثر معنی داری در ارتباط با صفت SCS مشاهده نگردید.

کلمات کلیدی: ژن DGAT1، چند شکلی K232A، RFLP-PCR، امتیاز سلول‌های بدنی، گاوهای هلشتاین

مقدمه

هدف اصلی در پژوهش روی ژنوم دام، شناسایی ژن‌ها یا نشانگرهایی است که بر صفات اقتصادی تاثیرگذار بوده و در نهایت بتوان از آن‌ها در برنامه های اصلاح نژادی استفاده کرد. ژن DGAT1^۱، کد کننده آنزیم دی آسیل گلیسرول آسیل ترانسفراز ۱ است که در آخرین مرحله ساخت تری گلیسرید در غدد پستان نقش کلیدی دارد. بیش از ۹۸ درصد چربی شیر از تری گلیسرید تشکیل شده است که بیان کننده نقش مهم این آنزیم در تولید چربی شیر می‌باشد. ایجاد یک جهش موثر از نوع تک نوکلئوتیدی در این ژن، منجر به جایگزینی لیزین با آلانین در موقعیت ۲۳۲ آمینه اسید آنزیم تولید شده می‌گردد که اثر بزرگی روی تولید و ترکیب شیر دارد (نسلود و همکاران، ۲۰۰۸). در کل، مطالعات کمی در رابطه با ارتباط این چند شکلی با صفاتی غیر از صفات تولیدی شیر مثل صفت امتیاز سلول‌های بدنی شیر (SCS^۲) انجام شده است. با توجه به تاثیر منفی SCS بر تولید و کیفیت شیر (کوپک و همکاران، ۲۰۰۹) از اهداف این تحقیق علاوه بر مطالعه ارتباط این چند شکلی با عملکرد صفات تولیدی، همچنین مطالعه ارتباط این چند شکلی با میزان SCS شیر نیز در نظر گرفته شده است.

مواد و روش‌ها

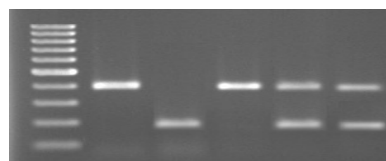
در این پژوهش به منظور استخراج DNA و بررسی چندشکلی ژن DGAT1، ۴۰۸ نمونه خون از پنج گله در استان اصفهان به صورت تصادفی جمع‌آوری شد. استخراج DNA ژنومی از گلوبول‌های سفید به روش استخراج نمکی میلر انجام گرفت. تکثیر قطعه‌ای به طول ۴۱۱ جفت باز در بر گیرنده چند شکلی K232A ژن DGAT1 با واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)^۳ انجام گرفت.

^۱ Diacylglycerol acyle transferase 1

^۲ Somatic cell score

^۳ Polymerase Chain Reaction

توالی آغازگرهای مورد استفاده به صورت آغاز گرفت: ۵'-GCACCATCCTCTTCCTCAAG-3' و آغاز گبرگشت: ۵'-GGAAGCGCTTTCGGATG-3' می باشد. از روش چند شکلی طول قطعات محدود شده (RFLP)، با آنزیم برشی *CfrI*، ژنوتیپ نمونه‌ها تعیین شد. آنزیم برشی، قطعه‌ی ۴۱۱ جفت بازی را به دو قطعه‌ی ۲۰۳ و ۲۰۸ جفت بازی برش می‌دهد. قطعه PCR برش نیافته، نشان دهنده آلل لایزین (آلل K) و دو قطعه‌ی حاصل از هضم نشان دهنده آلل آلانین (آلل A) بود (شکل ۱).



شکل ۱-انواع ژنوتیپ های حاصل از هضم آنزیمی:
ستون ۱ از سمت چپ نشانگر DNA، ستون ۲ و ۴ ژنوتیپ
KK، ستون ۳ ژنوتیپ AA و ستون ۵ و ۶ ژنوتیپ KA.

میانگین، اشتباه معیار، انحراف معیار، دامنه صفات و ضریب تغییرات برای صفات مورد بررسی در دوره اول شیردهی در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱: میانگین، اشتباه معیار، انحراف معیار، دامنه صفات، ضریب تغییرات برای صفات تولیدی و SCS در دوره

ضریب تغییرات	بیشترین مقدار	کمترین مقدار	انحراف معیار	میانگین ± اشتباه معیار	تعداد دام مورد استفاده	صفت
۱۴/۴۳	۱۳۲۶۹/۲	۵۶۵۳/۶	۱۴۲۰/۵	۹۸۴۲/۸ ± ۹۸/۴۶	۴۰۷	تولید شیر تصحیح شده
۱۴/۷۶	۴/۴۵	۱/۷۳	۰/۴۶	۳/۱۲ ± ۰/۰۳۰	۴۰۱	درصد چربی
۶/۳۸	۳/۴۷	۲/۴۱	۰/۱۸۷	۲/۹۴ ± ۰/۰۱۲	۴۰۴	درصد پروتئین
۵۱/۸	۴/۳۲	-۱/۶۴	۰/۸۲	۱/۶ ± ۰/۰۶۱	۳۵۲	SCS

به منظور بررسی ارتباط میان ژنوتیپ‌ها و صفات تولیدی در دوره اول شیردهی، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم افزار SAS 9.1 و رویه GLM با استفاده از مدل زیر انجام شد. در این مدل پارامترها عبارتند از:

$$Y_{ijl} = \mu + G_i + Hys_j + b_1(X_{ijl} - \bar{X}) + e_{ijl}$$

Y_{ijl} : رکورد تولید شیر تصحیح شده بر اساس ۳ بار دوشش در روز، درصد چربی یا پروتئین، μ : اثر میانگین کل، G_i : اثر ژنوتیپ، Hys_j : اثر گله، اثر سال و فصل زایش به صورت ترکیب شده، b_1 : ضریب رگرسیون طول دوره شیردهی،

X_{ijl} : طول دوره شیردهی، \bar{X} : میانگین روزهای طول دوره شیردهی، e_{ijl} : اثر تصادفی باقی مانده. برای بررسی اثر ژنوتیپ روی SCS، اثر ژنوتیپ و Hys به عنوان اثر ثابت و تولید شیر تصحیح شده به عنوان اثر کواریت در نظر گرفته شد (جدول ۲).

برای بررسی اثر ژنتیکی بر صفت شمارش سلول‌های بدنی، از معیار امتیاز سلول‌های بدنی در طول دوره شیردهی استفاده گردید. برای نرمال نمودن توزیع داده‌های مربوط به تعداد سلول‌های بدنی از لگاریتم تعداد سلول‌های بدنی در مبنای ۲ استفاده شد (SCS = log₂(SCC/100000) + 3) (کوپک و همکاران، ۲۰۰۹).



SCS صفت	درصد پروتئین	درصد چربی	شیر تصحیح شده	درجه آزادی	منابع تغییرات
میانگین مربعات	میانگین مربعات	میانگین مربعات	میانگین مربعات		
ns ۰/۳۷۷۰	ns ۰/۰۸۴۲	* ۰/۶۶۷۸	*	۲	ژنوتیپ
** ۵۴/۹۲	ns ۰/۰۳۸۵	** ۰/۴۵۴۰	**	۴۲(۴۰) ^۱	Hys
ns ۰/۰۰۶۶	ns ۰/۰۸۹۴	ns ۰/۱۴۳۲	**	۱	روزهای شیردهی
۰/۲۳۷	۰/۱۵۸	۰/۲۸۳	۰/۳۶۸	R-squer	

* و *

۱: درجه آزادی

نتایج

هرسه نوع ژنوتیپ AA, KA, و KK برای چند شکلی مورد نظر در جمعیت مشاهده شد که فراوانی آنها به ترتیب ۰/۳۵۷۸، ۰/۵۵۱۵ و ۰/۰۹۰۷ فراوانی آلل K ۰/۳۷ و آلل A ۰/۶۳ می باشد.

بررسی ارتباطات ژنوتیپی ژن DGAT1 با صفات تولید شیر:

نتایج و بحث:

نتیجه آزمون آماری اثر ژنوتیپ‌های مختلف ژن DGAT1 K232A در ارتباط با صفت درصد چربی شیر و تولید شیر معنی دار ($P < 0.05$) بود (جدول ۲) که با نتایج پژوهش کاپ و همکاران (۲۰۰۷) روی نژاد هلشتاین آلمانی، ونیکوس و همکاران (۲۰۱۰) روی نژاد هلشتاین آمریکای شمالی و صادقی (۱۳۸۶) روی نژاد هلشتاین ایرانی مطابقت داشت. همچنین نتایج آزمون آماری برای صفت درصد پروتئین در پژوهش حاضر معنی دار نشد که فقط با نتیجه صادقی (۱۳۸۶) در این مورد موافق بود. با توجه به مقدار پایین ضریب تغییرات داده‌های مربوط به درصد پروتئین (جدول ۱) که عاملی برای کاهش واریانس بین گروهی و نهایتاً کاهش برآورد میزان F می شود، می تواند دلیلی برای معنی دار نشدن اثر ژنوتیپی بر این صفت باشد.

بررسی ارتباطات ژنوتیپی ژن DGAT1 با صفت SCS:

نتیجه و بحث:

در این بررسی اثر ژنوتیپی معنی داری روی SCS مشاهده نگردید که با نتایج بسیاری از پژوهش‌ها از جمله کاپ و همکاران (۲۰۰۷) و بری و همکاران (۲۰۱۰) و نسلود و همکاران (۲۰۰۸) موافق اما با نتیجه ونیکوس و همکاران (۲۰۱۰) مخالف بود.

منابع

- ۱- صادقی م. ۱۳۸۶. اثر پلی مورفیسیم ژنهای کاندیدا بر ارزش اصلاحی صفات تولید شیر در گاوهای هلشتاین ایران. رساله دکتری. پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران.
- 2- Kaupe, B., Brandt, H., Prinzenberg, E.M. and Erhardt, G. 2007. Joint analysis of the influence of CYP11B1 and DGAT1 genetic variation on milk production, somatic cell score, conformation, reproduction, and productive lifespan in German Holstein cattle. *Journal of Animal Science* 85: 11–21.
- 3- Berry, D.P., D. Howard, P. O’Boyle, S. Waters, J.F. Kearney and M. McCabe .2010. Associations between the K232A polymorphism in the diacylglycerol-O-transferase 1 (DGAT1) gene and performance in Irish Holstein-Friesian dairy cattle. *Irish Journal of Agricultural and Food Research* 49: 1–9.
- 4- Vinicius, M., T. Sonstegard, R. Thallman, E. Connor, R. Schnabel, C. Van Tassell. 2010. Characterization of DGAT1 allelic effects in a sample of North American Holstein cattle. *Anim. Biotechnology*. 21: 88–99
- 5- Naslud, j., W. F. Fikse, G. R. Pielberg, A. Lund. 2008. Frequency and Effect of the Bovine acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1) K232A Polymorphism in Swedish Dairy cattle. *Dairy Sci.*, 91: p. 2127-2134.
- 6- Morek-Kopeć, M., A. Żarnecki , W. Jagusiak. 2009. Associations between somatic cell score of milk and fertility traits in Polish Holstein-Friesian cows. *Animal Science Papers and Reports*. 27: 15-22.

Influence of the bovine acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase 1(DGAT1)K232A genetic variation on somatic cell score and milk performance

malihe pirzad¹, Saeid Ansari Mahyari², Mohammad-Ali Edriss³, Mohammad Khorvash⁴, Badraddin Ebrahim Sayed-Tabatabaei⁵.

1- M. Sc of genetic and animal breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology.

2,4- Assistant Professor College of Agriculture, Isfahan University of Technology . 3,5-Professor, College of Agriculture, Isfahan University of Technology.

Abstract:

The study aimed at estimating the association between of the DGAT1 K232A whit somatic cell score (SCS) and milk performance Holstein cattle. The gene diacylglycerol-O-transferase 1 (DGAT1) is mapped to the centromeric end of The bovin BTA14 and encodes the acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase 1 enzyme which catalyses the final step in triglyceride synthesis . K232A polymorphism proved to significantly affect the percent fat content in milk. Genotyping population, was performed using RFLP-PCR technique. A 411 bp fragment including was amplified and digested with the enzyme *CfiI* to determine the genotypes of 408 Holstein cows. Three types genotype KK, KA and AA were detected. Frequency of K and A alleles were estimated 0.37 and 0.63, respectively. The statistical analyses showed positive and significant effects of the genotype for milk production and fat percent traits in first lactations but haven't significant effect for scs.

Keywords: DGAT1 gene, K232A polymorphism, RFLP-PCR, somatic cell score, Holstein Cattle.