ژنتیک نوین
دوره دوازدهم، شماره ٤، زمستان ١٣٩٦
صفحه ٥٥٤ - ٥٤٧

بررسی ارتباط چندشکلی ناحیه اگزون ۲ ژن بتالاکتوگلوبولین با صفات اقتصادی شیر در گاومیش‌های استان آذربایجان‌شرقی با استفاده از تکنیک PCR-RFLP

B-Lactoglobulin gene polymorphism in exon 2 association with milk economic traitsin buffaloes of East Azarbaijan province by PCR–RFLP technique

رونـاک صالحی*[۱]، علی هاشمی[۱]، مختار غفاری[۱]، قربان الیاسی[۲]

۱- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار، استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۲- مربی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی، تبریز، ایران

Salehi R*[1], Hashemi A[1], Ghafari M[1], Elyasi Gh[2]

1- MSc Student, Associate Professor, Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University
2- Instructor, Department of Animal Science, East Azerbaijan Agriculture and Natural Resources Research Center, Tabriz, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Ronak.salehi71@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹٦/٤/۲٦ - تاریخ پذیرش: ۹٦/۱۲/۱۳)

چکیده

صفات تولید شیر و ترکیبات آن جز صفات کمی و چند ژنی می‌باشند و تحت تأثیر تعداد زیادی ژن قرار دارند. این تحقیق با هدف تعیین چندشکلی ژن بتالاکتوگلوبولین و ارتباط آن با ترکیبات شیر در جمعیت گاومیش بومی استان آذربایجان‌شرقی انجام گرفت. بدین منظور از تعداد ۷۰ رأس گاومیش استان آذربایجان‌شرقی نمونه شیر تهیه و استخراج نمونه‌ها از شیر به روش پروناز صورت گرفت. بعد از انجام مراحل استخراج DNA، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) جهت تکثیر یک قطعه ٤٥۲ جفت‌بازی از اگزون ۲ ژن بتالاکتوگلوبولین با استفاده از یک جفت آغازگر اختصاصی انجام شد. به‌منظور تعیین ژنوتیپ‌های مختلف، روش PCR-RFLP با استفاده از آنزیم برشی *RsaI* به‌کار گرفته شد. برای بررسی ارتباط چندشکلی این ژن با صفات عملکردی شامل ترکیبات شیر (چربی، پروتئین، لاکتوز) از رویه GLM نرم‌افزار SAS استفاده شد. سه الگوی AA، AB و BB به‌ترتیب با فراوانی ۸۷/۸۸، ۵/۱۰ و ۸۳/۰ مشاهده شد. جمعیت مورد نظر برای این ژن در تعادل هاردی واینبرگ قرار نداشت ($P\leq$۰/۰۵). اثر چندشکلی این ژن روی هیچ‌یک ازصفات تولیدی و ترکیبات مرتبط با شیر معنی‌دار نبود. ($P>$۰/۰۵). به‌نظر می‌رسد که با انجام تحقیقات بیش‌تر و با اندازه نمونه‌های بزرگ‌تر، احتمالاً به‌توان از این جایگاه نشانگری و یا دیگر جایگاه‌های مرتبط به ژن بتالاکتوگلوبولین در برنامه‌های انتخاب بر اساس نشانگرهای مولکولی مبتنی بر DNA بهره گرفت.

واژه‌های کلیدی

چندشکلی
ترکیبات شیر
گاومیش
PCR-RFLP

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.6.2]

مقدمه

طبق آخرین آمار رسمی وزارت جهاد کشاورزی، تعداد ۱۸۸۳۰ واحد صنعتی گاوداری با ظرفیت ۲۰۴۸۵۶۳ رأس گاو شیرده در کشور مشغول فعالیت هستند. طی سال‌های ۱۳۸۳ تا ۱۳۸۷ تولید شیر دارای یک‌روند رو به رشد بوده است (Kharrati Koopaei et al. 2011). با وجود روند افزایشی تولید شیر در کشور اما هنوز سرانه مصرف شیر از حد استاندارد جهانی پایین‌تر است. سرانه مصرف شیر در کشور برای هر نفر برابر با ۹۵ کیلوگرم می‌باشد، درحالی‌که سرانه مصرف شیر در جهان برابر با ۱۶۹ کیلوگرم و در اروپا برابر با ۳۵۰ کیلوگرم در سال است (Kharrati Koopaei et al. 2011). با توجه به آمار و اطلاعات موجود می‌توان دریافت که اهداف اصلاح نژادی در ایران بایستی برای افزایش تولید شیر در کشور برنامه‌ریزی شود. لذا مطالعه و بررسی ژن‌هایی که روی تولید و ترکیب شیر نقش مؤثری دارند اهمیتی دو چندان می‌یابد (Kharrati Koopaei et al. 2011). به‌علاوه، در حوزه ژنتیک و اصلاح، اطلاع از ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها می‌تواند کمک بزرگی برای برنامه‌ریزی برای طرح‌های اصلاح نژادی و از همه مهم‌تر، حفظ ذخایر ژنتیکی باشد. روش‌های مولکولی و استفاده از نشانگرهای مولکولی در این زمینه یکی از بهترین گزینه‌ها به حساب می‌آید، زیرا با توجه به اطلاعات زیادی که به‌دست می‌دهد می‌تواند نتایجی که از تجزیه و تحلیل رکوردها با روش‌های آماری به‌دست آمده است را تائید و تکمیل نموده و حتی ممکن است که آن‌ها را رد کند (Alinaghizadeh et al. 2010). به‌علاوه، استفاده از ژنتیک مولکولی فواید زیادی دارد که یکی از این فواید معنی‌دار تعیین ژنوتیپ افراد برای جایگاه خاصی است (Mousavizadeh et al. 2009; Mohammadabadi et al. 2010) هم‌چنین استفاده از نشانگرهای ژنتیکی در انتخاب و اصلاح نژاد حیوانات ممکن است به‌طور مهیجی پیشرفت ژنتیکی را تسریع کند (Javanmard et al. 2008) و مطالعه تنوع ژنتیکی نژادهای بومی برای حفاظت از منابع ژنتیکی ذخایر بومی لازم و ضروری است (Mohammadi et al. 2009). حفاظت باید بر اساس دانش عمیقی از منابع ژنتیکی نژادهای خاص باشد، لذا تلاش برای شناسایی و تعیین خصوصیات ژنتیکی نژادهای بومی و محلی بسیار اهمیت دارد (Shojaei et al. 2010; Zamani et al. 2013).

بسیاری از صفات اقتصادی که دربرگیرنده صفات تولیدی هستند از جمله صفات ترکیبات شیر، تحت کنترل تعداد زیادی ژن قرار دارند که به دنبال آن تعیین چندشکلی ژن‌های کاندیدای مؤثر بر صفات تولیدی و شناسایی آلل‌ها و ژنوتیپ‌های مطلوب برای صفات مورد نظر می‌تواند زمینه را برای انتخاب به کمک نشانگر فراهم کند (Carrijo et al. 2008; Kharrati Koopaei et al. 2012a; Kharrati Koopaei et al. 2012b). با افزایش روزافزون جمعیت و کمبود جهانی غذا نیاز به تولیدات دامی سبب شده تا محققان به دنبال راهکارهایی برای افزایش بازدهی محصولات باشند. یکی از مهم‌ترین راهکارها استفاده از برنامه‌های اصلاح نژاد برای افزایش توان ژنتیکی دام است. در دهه گذشته استفاده از اطلاعات ژنتیکی به‌عنوان یک ابزار در برنامه‌های اصلاح نژاد استفاده شد (Veerkamp and Beerda 2007) که عمده تلاش‌ها در جهت شناسایی ژن‌های عمده تاثیر-گذار بر صفات مهم اقتصادی و بررسی میزان تنوع در جایگاه‌های فوق بوده تا امکان توجیه تنوع ژنتیکی و فنوتیپی بین افراد فراهم شود. امروزه ارزش دام‌های ماده منحصراً به‌وسیله تولید شیر تعیین نمی‌شود، بلکه چربی و پروتئین نیز درآمد ناشی از فروش شیر را تحت تأثیر قرار می‌دهند. درصد چربی و پروتئین شیر از نظر ارزش اقتصادی در قیمت‌گذاری شیر مؤثر می‌باشند. علاوه بر این، ترکیبات شیر بر روی خصوصیات کیفی شیر و فرآورده‌های حاصل از آن و روی ارزش تغذیه‌ای شیر نیز اثر دارد؛ بنابراین، در کنار سایر اهداف اصلاحی، این صفات نیز از اهمیت خاصی برخوردارند. بتالاکتوگلوبولین پروتئین اصلی بخش آب‌پنیر می‌باشد که ژن کدکننده آن روی کروموزوم ۱۱ گاومیش تعیین نقشه شده‌است (Rachagani et al. 2006). این پروتئین در طی دوره‌های آبستنی و شیردهی در غدد پستان ساخته می‌شود و دارای ۷ اگزون و ٦ اینترون است و زنجیره پلی‌پپتیدی آن از ۱٦۲ اسیدآمینه تشکیل شده‌است (Mercier and Vilotte 1993). یکی از وظایف اصلی فیزیولوژیک این ژن در محافظت از رتینول شیر، ایمنی نوزادان و تنظیم سوخت‌وساز فسفر در غده پستان، شناخته شده‌است (Wang et al. 1997). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که وجود چندشکلی در ژن بتالاکتوگلوبولین بر مقاومت به بیماری ورم پستان نیز تأثیر دارد. لذا، با تشخیص ژنوتیپ‌های مطلوب برای این ژن می‌توان

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.6.2]

برای کنترل بیماری ورم پستان و انتخاب حیوانات استفاده کرد (Strazalkowska et al. 2002). Karimi et al. (2009) با بررسی گاومیش‌های استان خوزستان با استفاده از تکنیک PCR-RFLP چندشکلی این ژن را گزارش کردند. Tahira et al. (2014) با بررسی چندشکلی ژن بتالاکتوگلوبولین در جمعیتی از گاومیش‌های نژاد نیلی راوی نشان دادند که نمونه‌های DNA این جمعیت از گاومیش‌ها برای جایگاه ژن بتالاکتوگلوبولین دارای چندشکلی بودند. هم‌چنین با تعیین ژنوتیپ‌های پروتئین بتالاکتوگلوبولین در شیر گاومیش‌های رودخانه‌ای (نیلی راوی)، به‌طورکلی سه نوع ژنوتیپ بتالاکتوگلوبولین AA، AB و BB مشخص و ارتباط معنی‌داری بین این سه ژنوتیپ با اجزای تشکیل دهنده اصلی شیر گزارش نمودند.

Doosti et al. (2011) نیز با بررسی چندشکلی ژن بتالاکتوگلوبولین در جمعیتی از گاوهای هلشتاین و گاوهای بومی ایران نشان دادند که این جایگاه ژنی دارای چندشکلی می‌باشد. در پژوهشی بررسی ژنوتیپ‌های بتالاکتوگلوبولین در گاوهای بومی و هلشتاین استان کرمان صورت گرفت و فراوانی آلل‌های A و B برای گاوهای هلشتاین به‌ترتیب ۰/۶۲ و ۰/۳۸ و برای گاوهای بومی نیز به‌ترتیب ۰/۵۵ و ۰/۴۵ گزارش شد (Mohammadabadi and Mohammadi 2010). این پروتئین در اکثر نژادهای بومی گوسفند (قزل، افشاری، مغانی، ماکویی و آرخارمرینو) دارای چندشکلی است (Elyasi et al. 2005). همچنین (Biranvand and Zarrin Kaviani 2013) گزارش کردند که این پروتئین در اکثر نژادهای بز (تالی، عدنی، بلوچی و ممسنی) چندشکل می‌باشد و دلیل آن جانشینی ساده یک باز در ژن بتالاکتوگلوبولین می‌باشد که با کمک برش آنزیمی توسط *Rsa*I تشخیص داده می‌شود. در پژوهشی ارتباط چندشکلی اگزون ۷ ژن بتالاکتوگلوبولین با صفات تولید شیر در بز نژاد مهابادی به روش PCR-SSCP بررسی و نتایج بیانگر وجود الگوهای متفاوت بود که می‌تواند ناشی از وجود چندشکلی در این جایگاه باشد. تجزیه 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 (Gharedaghi et al. 2015). با توجه به اینکه تحقیقات صورت گرفته روی گاومیش نسبت به گاو و گوسفند کمتر می‌باشد ضرورت دارد که مطالعات مولکولی در زمینه ژن‌های تأثیرگذار روی ترکیبات شیر انجام شود. در راستای این اهداف تحقیق حاضر به‌منظور مطالعه چندشکلی ناحیه اگزون ۲ ژن بتالاکتوگلوبولین و ارتباط آن با رکوردهای اجزای شیر در گاومیش‌های مناطق مختلف استان آذربایجان‌شرقی با استفاده از روش PCR- RFLP انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، از نمونه‌های شیر ۷۰ رأس از گاومیش دامداری‌های محلی واقع در استان آذربایجان‌شرقی که دارای رکورد بودند، استفاده شد. نمونه‌گیری از شیر این دام‌ها انجام گرفت. نمونه‌های شیر تا زمان استخراج DNA در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جهت استخراج DNA از نمونه‌های شیر از روش پروناز استفاده شد (Bailes et al. 2007). جهت تعیین کیفیت DNA نمونه‌های استخراج شده از ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده شد.

آغازگرهای اختصاصی که جهت تکثیر مورد استفاده قرار گرفتند، با استفاده از نرم‌افزار Oligo نسخه ۵ طراحی و توسط شرکت سیناژن ساخته شدند (Weiss et al.1999). جهت تکثیر قطعه ٤٥٢ جفت‌بازی اگزون ۲ ژن بتالاکتوگلوبولین از آغازگرهای توصیف شده که ترتیب توالی آن‌ها در جدول ۱ ذکر شده، استفاده شد. جهت تعیین دمای اتصال بهینه آغازگر از شیب حرارتی از ترموسایکلر مدل UNIOII شرکت بیومترا[1] استفاده شده و واکنش نهایی PCR در حجم ۲۰ میکرولیتر (بافر PCR ۱x، ۵/۱ میلی‌مول $MgCl_2$، ۲۰۰ میکرولیتر مخلوط dNTPs، ۱۰ پیکومول از هر آغازگر، ۱ واحد Taq DNA Polymerase، ۷۵ نانوگرم DNA استخراج شده) و با برنامه حرارتی ۹۵ درجه سانتی‌گراد جهت واسرشت سازی اولیه DNA به مدت ۳ دقیقه، واسرشت ثانویه در دمای ۹۵ درجه به مدت ٤٠ ثانیه، دمای ٦٥ درجه سانتی‌گراد جهت اتصال آغازگرها به مدت ۳۰ ثانیه، دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد جهت بسط آغازگرها به مدت ٤٠ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای بسط نهایی به مدت ۵ دقیقه و به تعداد ۳۵ سیکل انجام شد.

[1] Biometra

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.6.2]

جدول ۱- آغازگرهای اختصاصی جهت تکثیر بخش اگزون ۲ ژن بتالاکتوگلوبولین

نام آغازگر	توالی
Forward primer	TTGGGTTCAGTGTGAGTCTGG
Reverse primer	AAAAGCCCTGGGTGGGCAAC

صحت طول قطعه به‌دست آمده از PCR با استفاده از ژل پلی آکریلآمید ۸ درصد صورت گرفت. در این تحقیق برای تعیین الگوهای ژنوتیپی ژن بتالاکتوگلوبولین، برش آنزیمی محصولات PCR با استفاده از آنزیم برشی *Rsa*I ساخت شرکت فرمنتاز انجام گرفت. واکنش هضم آنزیمی طبق پروتکل پیشنهادی شرکت سازنده آنزیم در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ٤ میکرولیتر محصول PCR، دو میکرولیتر بافر ۱۰X، یک میکرولیتر آنزیم برشی *Rsa*I و ۱۳ میکرولیتر آب دو بار تقطیر انجام شد. میکروتیوب‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱٦ ساعت برای هضم در انکوباتور قرار داده شدند. محصولات هضم شده واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بر روی ژل پلی آکریلآمید ۸ درصد و با نیترات نقره رنگ‌آمیزی شدند.

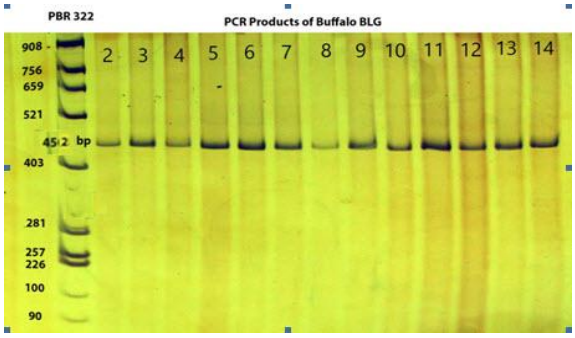
پارامترهای مربوط به ژنتیک جمعیت از قبیل فراوانی ژنوتیپی، مقدار هتروزیگوسیتی و تعادل هاردی واینبرگ در جمعیت، شاخص‌های نئی، شانون به‌وسیله نرم‌افزار Pop Gene نسخه ۳/۲ محاسبه شد. برای بررسی ارتباط تنوع در صفات مرتبط با ترکیبات شیر با ژنوتیپ‌های جایگاه ژن بتالاکتوگلوبولین از مدل خطی با رویهٔ GLM نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) استفاده شد (SAS 2004). برای ارزیابی اثر ژنوتیپ‌های ژن بتالاکتوگلوبولین بر صفات ترکیبات شیر از مدل آماری زیر استفاده شد:

$$Y_{ijkl} = \mu + G_i + H_j + + e_{ij}$$

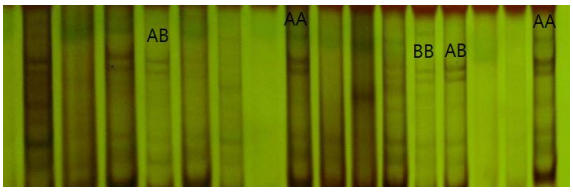
در رابطه بالا، Y_{ij}: هریک از مشاهدات مربوط به درصد چربی، درصد پروتئین، درصد لاکتوز)،μ: میانگین کل جامعه،G_i: اثر i امین ژنوتیپ، H_j: اثر گله،e_{ij}: اثر خطای آزمایشی

نتایج و بحث

در مرحله بررسی کیفی DNA استخراج شده با استفاده از ژل آگارز ۱/۵ درصد نمونه‌هایی که باند روشن با وضوح کامل ایجاد کردند قابل قبول بودند. محصولات به‌دست آمده از واکنش PCR، جهت حصول اطمینان از تکثیر قطعات ٤٥۲ جفت‌بازی از ژن بتالاکتوگلوبولین، روی ژل پلی آکریلآمید ۸ درصد الکتروفورز شدند. نمونه‌های تکثیر شده، باند روشن و واضحی در موقعیت‌های ٤٥۲ جفت‌بازی ایجاد کردند که برای ادامه تحقیق انتخاب شدند (شکل ۱).



شکل ۱- نتایج الکتروفورز محصولات PCR برای ژن بتالاکتوگلوبولین بر روی ژل پلی آکریلآمید ۸ درصد. (چاهک ۱: مارکر PBR، چاهک‌های ۲ تا ١٤ محصولات PCR برای ۱۳ نمونه DNA استخراجی از نمونه‌های شیر گاومیش)



شکل ۲- هضم آنزیمی قطعه ٤٥۲ جفت‌بازی ژن بتالاکتوگلوبولین با آنزیم *Rsa*I بر روی ژل پلی آکریلآمید ۸ درصد

پارامترهای مربوط به ژنتیک جمعیت و معیارهای مربوط به چندشکلی ژن بتالاکتوگلوبولین محاسبه و در جدول ۲ ارائه شده است. آزمون کای اسکوار نشان داد که جمعیت مورد مطالعه برای این جایگاه ژنی در تعادل هاردی واینبرگ قرار ندارد که این امر می‌تواند به دلیل تعداد نسبتاً کم نمونه‌های مورد بررسی باشد. یکی از خصوصیات نشانگر مولکولی، تعداد آلل مؤثر است. در گاومیش‌های اکوتیپ آذری در جایگاه مورد مطالعه از ژن بتالاکتوگلوبولین، تعداد آلل واقعی (Na) برابر ۳ و تعداد آلل مؤثر (Ne) برابر ۲/۳۲ محاسبه شد که نزدیکی مقادیر این دو عدد به همدیگر می‌تواند نشان‌دهنده کارایی خوب آلل‌ها در ایجاد چندشکلی و تنوع ژنتیکی بالا باشد. برای مشخص کردن بهتر تنوع ژنتیکی از شاخص اطلاعاتی شانون استفاده شد که دامنه تغییرپذیری این شاخص بین صفر و یک قرار دارد و هر چه به

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.6.2]

صفر نزدیک‌تر شود، تنوع کمتر خواهد شد. در این پژوهش میزان شاخص شانون محاسبه شده برابر ۰/۹٤ بود که بیانگر تنوع ژنتیکی بالا در جایگاه‌های موردبررسی در جمعیت است.

جدول ۳ میانگین‌های حداقل مربعات رکوردهای اجزای شیر مربوط به الگوهای باندی ژنوتیپ‌های ژن بتالاکتوگلوبولین را نشان می‌دهد. الگوهای باندی مختلف ژن بتالاکتوگلوبولین با هیچ‌یک از رکوردهای اجزای شیر ارتباط معنی‌داری را نشان ندادند ($P\geq0.05$). با استفاده از انتخاب فنوتیپی برای صفات کمی پیشرفت قابل توجهی در بهبود ژنتیکی جمعیت‌های دامی ایجاد شده‌است. بیش‌تر این انتخاب‌ها بر اساس رکوردهای فنوتیپی و بدون در نظر گرفتن ساختار ژنتیکی انجام گرفته است. بااین‌حال، با پیشرفت روش‌های آزمایشگاهی و تکنیک‌های مولکولی در جمعیت‌های دامی منجر به شناخت ساختار ژنتیکی صفات کمی شده‌است (Dekkers and Hospital 2002). در این تحقیق، الگوهای چندشکلی از ژن بتالاکتوگلوبولین به روش PCR-RFLP تعیین شد و سپس ارتباط آن‌ها با ترکیبات شیر در گاومیش‌های استان آذربایجان‌شرقی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از هضم آنزیمی و رنگ‌آمیزی پلی آکریلآمید بیانگر ۳ نوع ژنوتیپ متفاوت بود که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، بنابراین الگوهای ژنوتیپی متفاوت حاکی از وجود تنوع بالا در این جایگاه می‌باشد که فراوانی آن‌ها محاسبه و برای الگوهای AA، AB و BB به‌ترتیب ۸۸/۸۷، ۱۰/۵ و ۸۳/۰ درصد بود. همان‌طوری‌که در شکل ۳ مشاهده می‌شود الگوی ژنوتیپی AA با فراوانی ۸۸/۸۷ درصد بیش‌ترین فراوانی رو به خود اختصاص داده است. الگوهای ژنوتیپی متفاوت بین افراد درون این نژاد، ناشی از جهش‌های تک نوکلئوتیدی بین افراد می‌باشد. همان‌طور که ذکر شد، در این مطالعه هیچ‌گونه ارتباط معنی‌داری بین این ژنوتیپ‌ها با رکوردهای اجزای شیر یافت نشد. در تحقیقی چندشکلی در ناحیه اگزون ٤ ژن بتالاکتوگلوبولین در نژادهای گاو بومی هند را بررسی کردند که نتایج چندشکلی آن با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد (Kishore et al. 2014).

Nualchuen et al. (2011) چندشکلی در ژن بتالاکتوگلوبولین در جمعیتی از گاومیش‌های باتلاقی با تکنیک PCR-RFLP را بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که این جمعیت از گاومیش‌ها برای جایگاه ژنی بتالاکتوگلوبولین مونومورف بودند.

Meignanalakshmi et al. (2009) با استفاده از تکنیک PCR-RFLP قطعه‌ای به‌اندازه ۲٦۲ جفت‌باز در اگزون و اینترون ٤ ژن بتالاکتوگلوبولین در جمعیتی از گاومیش‌های موراه[1] را تکثیر کردند. آن‌ها اعلام کردند که نمونه‌های DNA این جمعیت از گاومیش‌ها برای جایگاه‌های ژن بتالاکتوگلوبولین مونومورف بودند.

Taheri et al. (2015) چندشکلی ژن بتالاکتوگلوبولین در اگزون و اینترون ٤ را در گاومیش‌های خوزستان بررسی کردند و نتایج آن‌ها نشان داد که در گاومیش‌های مورد مطالعه آلل B در جایگاه بتالاکتوگلوبولین تثبیت شده‌است و برای این جایگاه چندشکلی مشاهده نشد در حالی‌که در پژوهش حاضر در این جایگاه ژنی (بتالاکتوگلوبولین) سه شکل مختلف ژنوتیپی شناسایی شد که با نتایج Nualchuen et al. (2011)، Meignanalakshmi et al. (2009) و Taheri et al. (2015) مطابقت نداشت و یکی از دلایل احتمالی عدم تطابق به نظر می‌رسد تفاوت در ناحیه مورد بررسی و نوع پرایمر و آنزیم استفاده شده باشد.

Gouda et al. (2011) در مطالعه اگزون ۲ و اینترون ٤ ژن بتالاکتوگلوبولین در جمعیتی از گاومیش‌های مصری چندشکلی در این ناحیه رو گزارش کرده بودند، که نتایج آن‌ها تائید کننده نتایج تحقیق حاضر می‌باشد.

جدول ۲- پارامترهای تنوع ژنتیکی ژن بتالاکتوگلوبولین

پارامترهای تنوع ژنتیکی	مقدار
آلل واقعی (Na)	۳
آلل مؤثر (Ne)	۲/۳۲
هتروزیگوتی مشاهده شده	۰/٤۲۷
هموزیگوتی مشاهده شده	۰/۸۹۰
هتروزیگوتی مورد انتظار	۰/٥٦۹
هموزیگوتی مورد انتظار	۰/٥۷۲
شاخص شانون (I)	۰/۹٤

[1] Murrah

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.6.2]

جدول ۳- مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مختلف ژن بتالاکتوگلوبولین برای صفات ترکیبات شیر (میانگین ± انحراف معیار) در گاومیش بومی آذربایجان‌شرقی

ژنوتیپ	درصد چربی ns	درصد پروتئین ns	درصد لاکتوز ns
AA	۳/۹٦±۰/۰۸	۳/۱۲±۰/۰٦	۳/۰٤±۰/۸۷
AB	٤/٤۳±۰/۰۷	۳/۱۰±۰/۰۷	۲/٦٤±۰/۸۷
BB	٤/۱٥۹±۰/۰۷	۳/۱۰±۰/۰۷	۲/۷۸ ±۰/٦۸

ns: بیانگر عدم معنی‌داری است.

Rahbar et al. (2011) چندشکلی در ناحیه اگزون و اینترون ٤ ژن بتالاکتوگلوبولین در گاو هلشتاین را بررسی و با توجه به نتایج به دست آمده چندشکلی مشاهده کردند. Karimi et al. (2009) در بررسی چندشکلی ژن بتالاکتوگلوبولین با کمک تکنیک PCR-RFLP و ارتباط آن با صفت تولید شیر در گاو نجدی ایرانی نشان داد که در این جمعیت هیچ ارتباط معنی‌داری بین این ژنوتیپ‌ها و صفت تولید شیر یافت نشد که با نتایج تحقیق حاضر تا حدود زیادی مطابقت داشت.

Vohra et al. (2012) چندشکلی ژن بتالاکتوگلوبولین را در گاومیش‌های رودخانه‌ای را در نواحی اگزون ۱، ٤ و اینترون ٤ را با تکنیک SSCP بررسی و گزارش کردند که در اگزون ۱ ژنوتیپ‌ها با چربی و پروتئین در گاومیش‌های موراه و باداواری[1] ارتباط معنی‌داری دارد ($P<0.05$). درحالی‌که در اگزون و اینترون ٤ ژنوتیپ‌ها ارتباط معنی‌داری را با چربی شیر در گاومیش‌های مهسانا[2] نشان دادند. اما در تحقیق حاضر تفاوت معنی‌داری در نژادهای گاومیش اکوتیپ آذری مشاهده نشد. به‌نظر می‌رسد یکی از دلایل احتمالی عدم تطابق هم‌چون اندازه کوچک نمونه، پتانسیل ژنتیکی افراد مورد مطالعه و اینکه جهش مورد آزمون، اثر مستقیمی روی ترکیبات شیر ندارد به این دلیل که در تعادل لینکاژی (پیوستگی متعادل) با جهش‌های متعدد است، بیان نموده‌اند.

در مطالعه‌ای چندشکلی ژن بتالاکتوگلوبولین و ارتباط آن با تولید و ترکیبات شیر در جمعیتی از گاوهای هلشتاین با تکنیک PCR-RFLP بررسی شد سه نوع ژنوتیپ AB،AA و BB به‌ترتیب با فراوانی‌های ۲۲/۱۳، ٥۰ /٥۹ و ۲۷/۲۷ یافت شد. نتایج نشان داد که ژنوتیپ AA و BB به‌ترتیب اثر معنی‌داری بر روی تولید شیر و چربی شیر داشت (Dokso et al. 2011). این نتایج با نتایج حاضر مطابقت ندارد و دلیل این امر ممکن است به این علت باشد که در گاومیش به‌دلیل عدم کارهای اصلاحی بر روی تولید شیر این دام نسبت به گاو و با توجه به اینکه میزان تولید شیر گاومیش در مقایسه با گاو هلشتاین بسیار پایین می‌باشد و حتی اگر الگوهای ژنتیکی متفاوت مؤثر نیز باشد در مقایسه با تولید بالای شیر گاو هلشتاین تحت تأثیر قرار می‌شود که غیر معنی‌دار شود. در پژوهشی بر روی گاوهای هلشتاین به روش PCR-RFLP مشخص شده‌است که ژنوتیپ هموزیگوت ژن بتالاکتوگلوبولین اثر معنی‌داری بر تولید شیر دارد. نتایج این محققین به‌خوبی نشان داد که ژنوتیپ هموزیگوت ژن بتالاکتوگلوبولین منجر به تولید شیر بیش‌تر در مقایسه با ژنوتیپ هتروزیگوت می‌شود (Dokso et al. 2011) در تحقیقی اثر چندشکلی ژن بتالاکتوگلوبولین بر صفات تولیدی در گاوهای هلشتاین استان اصفهان با استفاده از تکنیک PCR-RFLP انجام شد. بررسی نتایج تجزیه آماری نشان داد که ژنوتیپ AA ژن بتالاکتوگلوبولین در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها ارتباط با تولید شیر خام بیشتر بالاتر بوده است (Jalil Piran 2000).

در گاومیش به‌دلیل مشکلاتی که در جمع‌آوری رکوردها وجود دارد بررسی ارتباط بین ژن‌های کاندید و صفات تولید شیر و هم‌چنین بهبود پیشرفت ژنتیکی مربوط به این صفات با محدودیت‌هایی همراه است. در این تحقیق تلاش شده‌است تا اطلاعات جدیدی را در این راستا و زمینه لازم را برای مطالعات هرچه بیش‌تر بر روی گاومیش فراهم شود. در بررسی حاضر به دلیل اینکه بر روی ژن بتالاکتوگلوبولین به روش PCR-RFLP و بررسی آن‌ها با صفات تولید شیر مطالعات کمتری صورت گرفته و یا بررسی چندشکلی این ژن‌ها توسط سایر روش‌های مولکولی انجام گرفته است، امکان مقایسه آن‌ها با نتایج حاصل از این تحقیق به‌اندازه کافی وجود نداشته است. هم‌چنین در بررسی حاضر عوامل مختلفی مانند نوع نژاد، اندازه جمعیت، حجم نمونه‌برداری، شرایط محیطی و سایر عوامل می‌تواند باعث ایجاد تناقض بین نتایج به‌دست آمده و بررسی‌های انجام شده باشد.

[1] Bhadawari
[2] Mehsan

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.6.2]

نتیجه‌گیری کلی

در اصلاح نژاد دام، تنوع عامل اصلی انتخاب و پیشرفت ژنتیکی است. چندشکلی در سطح DNA نقش کلیدی در تنوع ژنتیک حیوانات دارد. در این تحقیق، چون اثر ژنوتیپ‌های ژن بتالاکتوگلوبولین بر ترکیبات شیر معنی‌دار نشده‌است نمی‌توان اظهار داشت که کدام الگوی ژنوتیپی مطلوب می‌باشد. به‌منظور بررسی دقیق‌تر این جایگاه‌ها با ترکیبات شیر لازم است تعداد نمونه‌ی بیش‌تری اخذ شود. هم‌چنین باید توجه نمود بررسی یک منطقه ژنی به‌تنهایی نمی‌تواند گواه بر عملکرد مطلوب یا نامطلوب یک صفت در یک نژاد باشد، لذا بررسی وضعیت جایگاه‌های ژنی دیگر نیز مورد نیاز است.

منابع

Alinaghizadeh H, Mohammad Abadi MR, Zakizadeh S (2010) Exon 2 of *BMP15* gene polymorphismin Jabal Barez Red Goat. Journal of Agricultural Biotechnology 2:69-80. (In Farsi).

Bailes S, Devers M, Kirby J, Rhoads D (2007) An inexpensive, simple protocol for DNA isolation from blood for high-throughput genotyping by polymerase chain reaction or restriction endonuclease digestion. Poultry Science 86:102-106.

Biranvand Z, Zarrin Kaviani K (2013) Polymorphism of beta-lactoglobulin gene in goats by PCR-RFLP method. Conference on Agricultural and Environmental Sciences (In Farsi).

Carrijo SM, Alencar MM, Alencar FLB, Toral LCA (2008) Regitano Association of PIT1 genotypes with growth traits in Canchim cattle. Scientia Agricola 65: 116-121.

Dekkers J. C. M, Hospital F (2002) the use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. Nature Reviews Genetics 3:22-32.

Dokso A, Kelava N, Brka M, Ivanković A (2011) The effect of blg genes on quantitative and qualitative characteristics of milk holestein breed in Croatia. International Scientific-Expert Conference of Agriculture and Food Industry 13:25-28.

Doosti A, Arshi A, Yaraghi M, DayaniNia M (2011) Comparative study of β-lactoglobulin gene polymorphism in Holstein and Iranian native cattle. Journal of Cell and Animal Biology 5:53-55.

Elyasi G, Ghiyas S, Nasiri M, Tahmasbi A, Pirahari A (2005) Investigation sheep *β-lactoglobulin* gene by PCR-RFLP. Journal of Water and Soil Science 2:129-133. (In Farsi).

Gharedaghi L, Sadeghi M, Moradi-Shahrebabak H, Ganjkhanlou M (2015) Study of Polymorphism of *β-Lactoglobulin* Gene in Exon 7 and its Association with Milk Production Traits in Mahabadi Goats Using PCR-SSCP. Research Animal Production 11:120-125. (In Farsi).

Gouda E, Galal M, Ahmed Wasfy M, Ahmed Abdelaziz S (2011) Phenotypes, Genotypes and Allele Frequencies of B-lactoglobulin in Egyptian Cattle and Buffalo. Journal of Agricultry Science 2:11-19.

Heidar M, Ahani Azari M, Hasani S, Khanahmadi A, Zerehdaran S (2011) Identification of growth hormone, *pit-1* and *β-lactoglobulin* genes polymorphisms in Holstein cattle. Modern. Journal of Genetic 16:71-78. (In Farsi).

Jalil Piran L (2000). Effect of Beta-Lactoglobulin gene polymorphism on production traits of Holstein cows. Master thesis, Academic Technology. College of Agriculture. (In Farsi).

Javanmard A, Mohammadabadi MR, Zarrigabayi GE, Gharahedaghi AA, Nassiry MR, Javadmansh A, Asadzadeh N (2008). Polymorphism within the intron region of the bovine leptin gene in Iranian Sarabi cattle (Iranian Bos *taurus*). Russian Journal of Genetics 44:495-497.

Karimi K, Taghi Beigi Nassiri M, Mirzadeh KH, Ashayerizadeh A, Roushanfekr HL, Fayyazi J (2009) Polymorphism of the *β-lactoglobulin* gene and its association with milk production traits in Iranian Najdi cattle. Iraniyan Journal of Biotech 7:82-85.

Kharrati Koopaei H, Mohammad Abadi MR, Ansari Mahyari S, Tarang AR, Potki P, Esmailizadeh AK. 2012a. Effect of DGAT1 variants on milk composition traits in Iranian Holstein cattle population. Animal Science Papers and Reports 30:231-240.

Kharrati Koopaei H, Mohammadabadi MR, Ansari Mehyari S, Esmailizadeh AK, Tarang A, Nikbakhti M. 2011. Genetic Variation of *DGAT1* Gene and its Association with Milk Production in Iranian Holstein Cattle Breed Population. Iranian Journal of Animal Science Research 3:185-192. (In Farsi).

Kharrati koopaei H, Mohammadabadi MR, Tarang A, Kharrati koopaei M, Esmailizadeh Koshkoiyeh A. 2012b. Study of the association between the allelic variations in *DGAT1* gene with mastitis in Iranian Holstein cattle. Modern Genetics Journal 7:101-104.

Kishore A, Mukesh M, Sobti RC, Keviletsu KH, Mishra BP Sodhi M (2014) Single Nucleotide Polymorphism in Exon 4 and Promoter Regions of *β-Lactoglobulin* Gene in Native Cattle (*Bos indicus*) Breeds of India. Advan. Dairy Research 2:2-7.

Meignanalakshmi S and Mahalinga Nainar A (2009) PCR-RFLP Analysis of *beta-lactoglobulin* gene in murrah buffaloes. Tam Journal of Veternary and Animal Science 5:194-197.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.6.2]

Mercier J and Vilotte L (1993) Structure and function of milk protein genes. Journal of Dairy Science 76:3079-3098.

Mohammad abadi MR, Mohammadi A 2010. Study of beta-lactoglobulin genotypes in native and Holstein cattle of Kerman province. Journal of Animal Productions 12:61-67.

Mohammadabadi MR, Nikbakhti M, Mirzaee HR, Shandi A, Saghi DA, Romanov MN, and Moiseyeva IG (2010). Genetic variability in three native Iranian chicken populations of the Khorasan province based on microsatellite markers. Russian journal of genetics 46:505-509.

Mousavizadeh A, Mohammad Abadi MR, Torabi A, Nassiry MR, Ghiasi H, Esmailizadeh AK (2009). Genetic polymorphism at the growth hormone locus in Iranian Talli goats by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP). Iranian Journal of Biotechnology 7:51-53.

Nualchuen W, Srisakwattana K, Chethasing E, Tasripoo K, Usawang S, Hengtrakulsin R, Kamonpatana M (2011) RFLP Analysis of *Beta-Lactoglobulin* Gene in Swamp and Murrah Buffaloes Using a Single Restriction Enzyme. Iranian Journal of Animal Science 2:301-303.

Rachagani S, Dayal Gupta I, Gupta N, Gupta C (2006) Genotyping of *β-Lactoglobulin* gene by PCR-RFLP in Sahiwal and Tharparkar cattle breeds. BioMed Central Genetic 7:1-4.

Rahbar R, Rahimi G, Ansari Z (2011) Identification exon and intron 4 luci *β -Lactoglobul* gene polymorphism in Holstein cow. Modern Genetic 4:29-19. (In Farsi).

SAS Institute Inc (2004). SAS/STAT User's Guide, Version 9.1. Cary, NC: SAS Institute Inc.

Shojaei M, Mohammad Abadi MR, Asadi Fozi M, Dayani O, Khezri A, Akhondi M (2010). Association of growth trait and Leptin gene polymorphism in Kermani sheep. Journal of Cell and Molecular Research 2: 67-73

Strazalkowska N, Kuzewski J, Ryniewicz Z (2002) Effect of kappa-casein and betalactoglobulin polymorphism cows age, stage of lactation and somatic cell count on daily milk yield and milk composition in Polish Black and White cattle. Animal Science 20:21-35.

Taheri B, Seyedabadi H, Savar Sola S (2015) Investigation of *β-Lactoglobulin*, Prolactin and *DGAT1* genes polymorphism in Khuzestani buffalo. Animal Science Journal of Pajohesh and Sazandegi 111: 87-96. (In Farsi).

Tahira I, Mahmood A, Saqlain M, Qudsia Hanif N, Kaukab Raja Gh (2014) Study of *β-Lactoglobulin* Milk Protein Variants in Buffalo. Pakistan Journal of Zool 46:549-552.

Veerkamp RF, Beerda B (2007) Genetics and genomics to improve fertility in high producing dairy cows. Theriogenology 68:266-273.

Vohra V, Dayal SH, Bhattacharya T (2012) SSCP typing of alpha-lactalbumin and *beta-lactoglobulin* gene and its association with milk production and constituent traits in Indian riverine buffalo. Indian Journal of Animal Science 82:884-888.

Wang Q, Allen J, Swaisgood H (1997) Binding of vitamin D and cholesterol to *β-lactoglobulin*. Journal of Dairy Science 80:1054-1059.

Weiss B, Davidkova G, Zhou LW (1999) Antisense RNA gene therapy for studing and modulating biological processes. Cell Molecular Life Science 55:334-358.

Zamani P, Akhondi M, Mohammadabadi MR, Saki AA, Ershadi A, Banabazi MH, Abdolmohammadi AR (2013). Genetic variation of Mehraban sheep using two intersimple sequence repeat (ISSR) markers. African Journal of Biotechnology 10:1812-1817.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.6.2]