نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۲۶ شماره ۲/ سال۱۳۹۵

همراهی چندریختی در ژن‌های DGAT1 و IGF-I با عملکرد تولیدی و تولیدمثلی در گاوهای هلشتاین

سمیرا اورنگی[۱]، محسن اکتفائی[۱]، هادی آتشی*[۲]، محمدجواد ضمیری[۳]، محمد دادپسند[۲] و عبدالله درخشنده[۴]

تاریخ دریافت: ۹٤/٤/۲ تاریخ پذیرش: ۹٤/۹/۱۷

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد بخش علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

[۲] دانشیار بخش علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

[۳] استاد بخش علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

[٤] دانشیار بخش پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز

*مسئول مکاتبه: Email: Atashi@shirazu.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: هدف پژوهش‌های ژنومیک در گاوهای شیری، شناسایی ژن‌های کنترل کننده‌ی صفات اقتصادی است که در برنامه‌های اصلاح‌نژادی کاربرد دارند. **هدف**: هدف این پژوهش بررسی همراهی چندریختی در اگزون ۸ ژن DGAT1 و اگزون ٤ ژن IGF-I با عملکرد تولیدی و تولیدمثلی در یک نمونه از گاوهای هلشتاین بود. **روش کار**: در این پژوهش از ۱۳۳ گاو خونگیری شد و پس از استخراج DNA ژنومیک آنها، ژن‌های مورد مطالعه با استفاده از آغازگرهای اختصاصی و با واکنش‌های زنجیره‌ای پلی‌مراز، تکثیر شدند. برای تعیین ژنوتیپ حیوانات، قطعات تکثیر شده از ژن‌های DGAT1 و IGF-I به ترتیب با آنزیم‌های محدود کننده‌ی *CfrI* و *MboI* هضم شدند و سپس نمونه‌ها روی ژل آگارز ۲/۵ درصد الکتروفورز شدند. واکاوی همراهی چندریختی ژن‌های مورد مطالعه با صفات تولیدی و تولیدمثلی با استفاده از رویه‌های MIXED (صفات پیوسته) و GENMOD (صفات گسسته) در نرم افزار SAS انجام شد و میانگین‌های حداقل مربعات در سطح معنی‌داری پنج درصد مقایسه شدند. **نتایج**: نتایج نشان داد که چندریختی K232A در اگزون ۸ ژن DGAT1 با دوقلوزایی و تولید شیر همراهی معنی‌دار داشت ($P<0.05$)، اما چندریختی MboI در اگزون ٤ ژن IGF-I با هیچ‌کدام از صفات همراهی نداشت. نتیجه‌گیری نهایی: اگرچه این پژوهش نشان داد که آلل A از اگزون ۸ ژن DGAT1، تولید شیر را افزایش و دوقلوزایی را کاهش داد، با این حال، برای نتیجه‌گیری بهتر به پژوهش‌های بیشتر با اندازه‌ی جمعیت بزرگ‌تر نیاز است.

واژگان کلیدی: آنزیم محدود کننده، DGAT1، IGF-I، گاوهای هلشتاین

مقدمه

هدف اصلی پژوهش‌های ژنومیک در گاوهای شیری، شناسایی ژن‌های کنترل کننده‌ی صفات اقتصادی است که در برنامه‌های اصلاح‌نژادی کاربرد دارند. شناسایی ژن‌های کاندیدا یکی از روش‌های اصلی مطالعه‌ی پیش-زمینه ژنتیکی صفات پیچیده[1] و ابزاری برای یافتن چندریختی‌های موثر بر صفات کمّی است. پستانداران دو آنزیم دی آسیل گلیسرول آسیل ترانسفراز (DGAT) به نام‌های DGAT1 و DGAT2 با توالی آمینواسیدی متفاوت، امّا کنش‌های یکسان، دارند. این دو آنزیم گامه‌ی پایانی سنتز تری‌گلیسریدها را کاتالیز می-کنند و به پیوند یک دی آسیل گلیسرول با یک آسیل‌کوآنزیم‌آ برای تشکیل یک تری آسیل گلیسرول یا تری گلیسرید کمک می‌کنند (فرسس و همکاران ۲۰۰۰). ژن DGAT1 گاو روی کروموزم ١٤ قرار دارد و دارای ۱۷ اگزون و ١٦ اینترون است (وینتر و همکاران ۲۰۰۲). تاکنون تعدادی چندریختی در ژن DGAT1 گاو شناسایی شده است که بیشتر آنها در اینترون‌ها، راه-انداز و یا در نواحی غیرقابل ترجمه‌ی اگزون‌ها قرار دارند (وینتر و همکاران ۲۰۰۲). جایگزینی بازهای GC با AA در جایگاه‌های ١٠٤٣٣ و ١٠٤٣٤ از اگزون ۸ ژن DGAT1 باعث جایگزینی آمینواسید لایزین با آلانین در جایگاه ۲۳۲ پروتئین DGAT1 می‌شود (کوهن و همکاران ٢٠٠٤). در بیشتر گزارش‌ها عنوان شده است که جایگزینی آمینواسید آلانین با لایزین (K232A) در اگزون ۸ ژن DGAT1، با کاهش تولید شیر (اسپلمن و همکاران ۲۰۰۲؛ تالر و همکاران ۲۰۰۳ و بانوس و همکاران ۲۰۰۸)، کاهش پروتئین شیر (اسپلمن و همکاران ۲۰۰۲ و تالر و همکاران ۲۰۰۳) و افزایش چربی شیر (اسپلمن و همکاران ۲۰۰۲) همراه است.

فاکتورهای رشد شبه انسولین[2]، نخست در سال ۱۹۵۷ شناسایی شدند و به فاکتورهای سولفاته کننده[3] موسوم شدند (سالمون و داگادی ۱۹۵۷). سپس با شناخت بیشتر از کنش‌های آنها، فاکتورهای رشد شبه انسولین (IGF) نام گرفتند (داگادی و رتوین ۱۹۸۹). فاکتور رشد شبه انسولین-یک (IGF-I) یکی از اجزای خانواده‌ی بزرگ کمپلکس فاکتورهای رشد شبه انسولین است که در تولیدمثل پستانداران نقش دارد. غلظت IGF-I در گاوهای شیری یک صفت وراثت‌پذیر است و با سن نخستین زایش (بریکل و همکاران ۲۰۰۷)، نرخ آبستنی در نخستین تلقیح (پاتون و همکاران ۲۰۰۷)، آزاد شدن هم‌زمان دو تخمک (اکترنکمپ و همکاران ٢٠٠٤) و تکامل رویان (ولاسکو و همکاران ۲۰۰۵) همبستگی دارد.

اگرچه چند پژوهش به بررسی همراهی ژن‌های DGAT1 و IGF-1 با عملکرد تولیدی و تولیدمثلی در گاوهای هلشتاین پرداخته است، با این حال به دلیل اندازه‌ی کم نمونه‌های مطالعه شده و یا عدم بررسی هم‌زمان همه‌ی صفات، نتایج متفاوتی داشته‌اند. به عنوان مثال، در هیچکدام از پژوهش‌های پیشین همراهی چندریختی در این ژن‌ها با صفاتی مانند دوقلوزایی، سخت‌زایی و یا مرده‌زایی بررسی نشده است. بنابراین هدف این پژوهش بررسی چندریختی در ژن‌های DGAT1 و IGF-I و واکاوی همراهی آنها با تولید شیر، تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی، تعداد روزهای باز، فاصله زایش، تعداد روز بین زایش تا اولین فحلی، دوقلوزایی، سخت‌زایی و مرده‌زایی در یک نمونه از گاوهای هلشتاین ایران بود.

[1] Complex trait

[2] Insulin-like growth factor (IGF)

[3] Sulfation factor

مواد و روش‌ها

این پژوهش روی ۱۳۳ راس گاو هلشتاین که دست‌کم برای یک دوره‌ی شیردهی رکورد تولیدی و تولیدمثلی داشتند و با همکاری دو واحد پرورش گاو شیری هلشتاین در استان فارس انجام شد. از ۱۳۳ راس گاو مورد مطالعه، ۵۹ راس یک بار زایش (۳۳ راس از یک گله و ۲۶ راس از گله‌ی دیگر) و ۷٤ راس دو یا چند بار زایش (٤۱ راس از یک گله و ۳۳ راس از گله‌ی دیگر) بودند. خونگیری از حیوانات با استفاده از ونوجکت‌های دارای EDTA انجام شد. نمونه‌های خون درون یخ قرار داده شدند و در آزمایشگاه مرکزی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخراج DNA ژنومیک با استفاده از کیت استخراج DNA شرکت ژن فناوران (http://www.genfanavaran.com) انجام شد. کیفیت DNAی استخراج شده با استفاده از دستگاه نانودراپ مدل T100 و الکتروفورز روی ژل آگارز یک درصد بررسی شد. برای ازدیاد قطعه‌ی ٤۱۱ جفت‌بازی از اگزون ۸ ژن DGAT1 با رس‌شمار[1] EU077528 ، از آغازگرهای F: 5'-GCA CCA TCC TCT TCC TCA AG-3' و R: 5'- GGA AGC GCT TTC GGA TG -3' استفاده شد (وینتر و همکاران ۲۰۰۲). برای ازدیاد قطعه‌ی ۳۱۲جفت‌بازی از اگزون ٤ ژن IGF-I با رس‌شمار AF210386.1، از آغازگرهای F: 5′- CTG AAC AGA CAA GCC CA - 3′ و R: 5′- AAG TCT ATG AGG GTA TGA A - 3′ استفاده شد. واکنش‌های PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر DNA ژنومیک (بین ۸۰ تا ۱۵۰ نانوگرم)، ۲۰۰ میکرومولار dNTPs، ۵ پیکومولار از هر کدام از آغازگرها، ۱/۵ میکرومولار MgCl2 و یک واحد آنزیم *Taq* و در دستگاه ترموسایکلر BIO-RAD مدل MJ Mini Personal Thermal Cycler انجام شد.

برنامه‌ی گرمایی استفاده شده در واکنش‌های PCR برای هر دو ژن به صورت Touchdown بود. ابتدا واسرشته سازی اولیه‌ی DNA در دمای ۹٤ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۰ چرخه با الگوی زیر انجام شد: واسرشته‌سازی در دمای ۹٤ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، همجوشی آغازگر در دمای ٦۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه (تا ۱۰ مرحله یک درجه‌ی سانتی‌گراد از دمای همجوشی کم - شد، سپس دمای همجوشی ثابت ماند)، مرحله‌ی بسط در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه. سپس بسط پایانی در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. پس از انجام واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز، درستی قطعه‌های تکثیر شده با الکتروفورز روی ژل آگارز یک درصد بررسی شد. سپس واکنش‌های هضم آنزیمی با استفاده از آنزیم‌های محدود کننده‌ی *CfrI* و *MboI* (MBI Fermentas, Germany)، به ترتیب برای ژن‌های DGAT1 و IGF-I در طول شب و در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام شد.

بررسی آماری

در این پژوهش، همراهی چندریختی‌های ژن DGAT1 و IGF-I با تولید شیر ۳۰۵ روز، سخت‌زایی، دوقلوزایی،مرده‌زایی، فاصله‌ی زایش، شمار روزهای باز، فاصله‌ی بین زایش تا نخستین فحلی و شمار تلقیح به ازای هر آبستنی بررسی شدند. داده‌های پیوسته با رویه‌ی MIXED و داده‌های گسسته با رویه‌ی GENMOD در نرم‌افزار SAS (SAS Institute, 1999) واکاوی شدند و میانگین حداقل مربعات ژنوتیپ-ها در صفات پیوسته در سطح احتمال پنج درصد با هم مقایسه شدند. در آنالیز صفات گسسته، اثر ژنوتیپ‌های

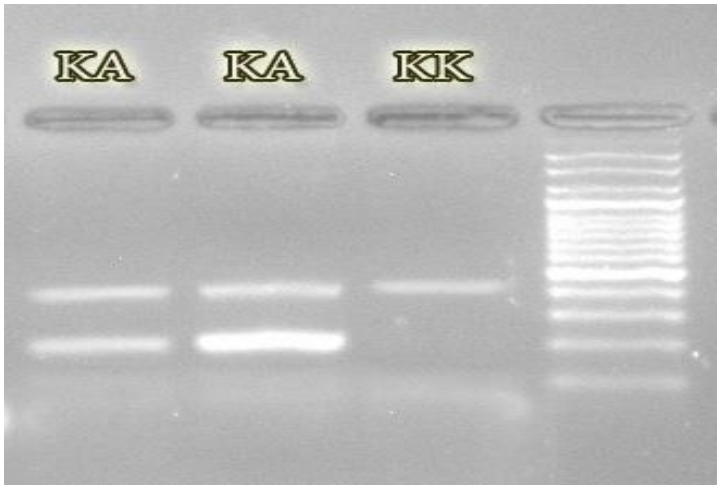
[1] Accession number

هر ژن با روش رگرسیون لجستیک مقایسه شدند که در آن از معیار نسبت بخت[1] استفاده می‌شود. متغیرهای مستقل در مدل آماری استفاده شده در آنالیز صفات پیوسته شامل اثر ثابت گله-سال-فصل زایش، اثر ثابت شکم زایش، اثر ثابت ژنوتیپ حیوان در هر کدام از ژن-ها، اثر همبسته‌ی سن در هنگام نخستین زایش و اثر تصادفی پدر بود. متغیرهای مستقل در مدل آماری استفاده شده در آنالیز صفات گسسته همانند صفات پیوسته بود، با این تفاوت که اثرات ثابت گله، سال و فصل زایش به صورت جداگانه در مدل وارد شدند. داده‌های مربوط به تولید شیر از مرکز اصلاح نژاد دام کشور گرفته شدند و داده‌های مربوط به صفات تولید-مثلی از مدیریت گاوداری‌های مورد مطالعه، دریافت شد. برای هر صفت ۳٤۰ داده مربوط به ۱۳۳ گاو در واکاوی آماری وارد شد.

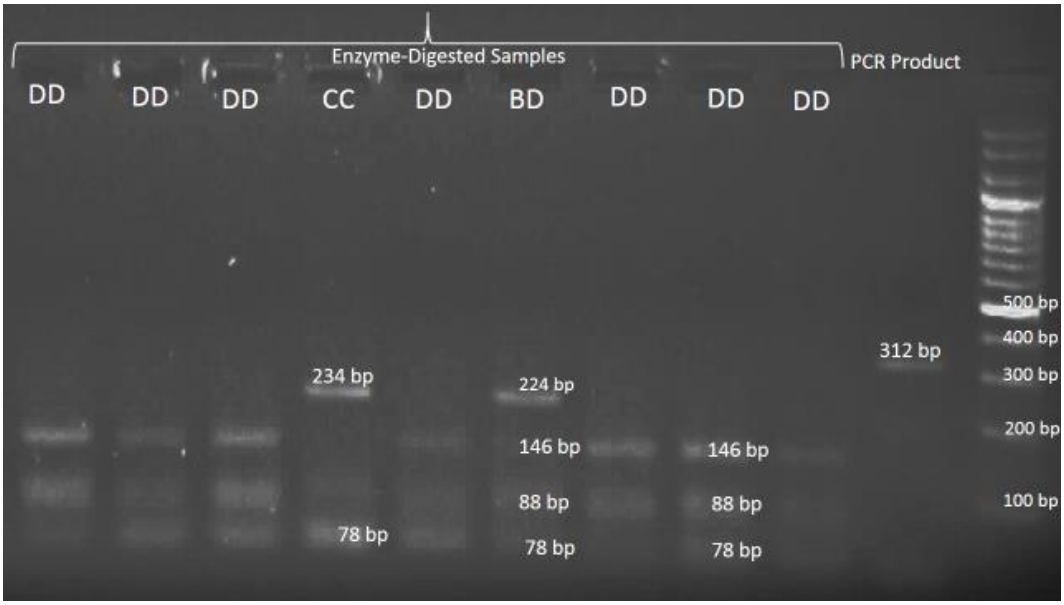
نتایج

پس از ازدیاد قطعه‌ی ٤۱۱ جفت‌بازی از اگزون ۸ ژن DGAT1، قطعه‌ی تکثیر شده با آنزیم محدودکننده‌ی *CfrI* هضم و روی ژل آگارز ۲/۵ درصد الکتروفورز شد. نتایج حاصل از الکتروفورز فرآورده‌های حاصل از هضم نشان دهنده‌ی وجود دو ژنوتیپ (KK ,KA) در نمونه‌ی مطالعه شده بود (شکل ۱). آلل K دارای قطعه‌ی ٤۱۱ جفت‌بازی و برش نخورده و آلل A دارای قطعه-های ۲۰۳ و ۲۰۸ جفت‌بازی بودند، یعنی هتروزیگوت-های KA دارای قطعه‌های ٤۱۱، ۲۰۳ و ۲۰۸ جفت‌بازی بودند. (قطعات ۲۰۳ و ۲۰۸ جفت‌بازی روی ژل آگارز قابل جداسازی نبودند و روی هم قرار گرفتند). فراوانی آللی در اگزون ۸ ژن DGAT1 برای آلل‌های K و A، به ترتیب برابر با ٦۱ و ۳۹ درصد و فراوانی ژنوتیپی برای ژنوتیپ‌های KK و KA به ترتیب برابر با ۲۲ و ۷۸ درصد بود (جدول ۱). پس از ازدیاد قطعه‌ی ۳۱۲ جفت‌بازی از اگزون ٤ ژن IGF-I، قطعه‌ی تکثیر شده با آنزیم محدودکننده‌ی *MboI* هضم و روی ژل آگارز ۲/۵ درصد الکتروفورز شد. نتایج حاصل از الکتروفورز فرآورده‌های حاصل از هضم نشان‌دهنده‌ی وجود پنج ژنوتیپ (BB، BD، CC، CD، DD) در نمونه‌ی مطالعه شده بود (شکل ۲). در این ژن، آلل B دارای قطعات ۲۲٤ و ۸۸، آلل C دارای قطعات ۲۳٤ و ۷۸ و آلل D دارای قطعات ۱٤٦، ۸۸ و ۷۸ جفت‌بازی بودند.

[1] Odds ratio



شکل ۱- فرآورده‌های حاصل از هضم قطعه‌ی ۴۱۱ جفت‌بازی از اگزون ۸ ژن DGAT1



شکل ۲- فرآورده‌های PCR و ژنوتیپ‌های قطعه‌ی ۳۱۲ جفت‌بازی از اگزون ۴ ژن IGF-I

فراوانی‌های آللی در اگزون ٤ ژن IGF-I برای آلل‌های B، C و D به ترتیب ۱۲/۵، ۱۵/۳ و ۷۲/۲ درصد و فراوانی‌های ژنوتیپی برای ژنوتیپ‌های BB، BD، CC، CD و DD به ترتیب ۹، ۷، ۱۱، ۸ و ٦٥ درصد بود (جدول ۱).

نتایج واکاوی همراهی چندریختی اگزون ۸ ژن-های DGAT1 با صفات پیوسته و گسسته به ترتیب در جدول‌های ۲ و ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد که ژنوتیپ‌های اگزون ۸ ژن DGAT1 با صفت تولید شیر ($P<0.05$) و دوقلوزایی (OR ±(0.95 CI) = 4.69 ±(1.30 – 16.88)) همراهی دارند ($P<0.05$). اثر جایگزینی (خطای استاندارد) آلل A برای صفت تولید شیر (۲٤٥)۵۳٤/۹ کیلوگرم برآورد شد ($P<۰/۰۵$). یافته‌ها نشان دادند که بین ژنوتیپ‌های ژن IGF-I با صفات پیوسته (جدول ٤)

و صفات گسسته (نتایج ارائه نشده است) همراهی معنی‌دار وجود ندارد.

جدول ۱- فراوانی آللی و فراوانی ژنوتیپی در اگزون ۸ ژن DGAT1 و اگزون ۴ ژن IGF-I

اگزون ۸ ژن DGAT1					اگزون ۴ ژن IGF-I							
فراوانی ژنوتیپی (درصد)		فراوانی آللی (درصد)			فراوانی ژنوتیپی (درصد)					فراوانی آللی (درصد)		
AA	KA	KK	A	K	DD	CD	CC	BD	BB	D	C	B
۰	۷۸	۲۲	۳۹	۶۱	۶۵	۸	۱۱	۷	۹	۷۲/۲	۱۵/۳	۱۲/۵

جدول ۲- میانگین حداقل مربعات (خطای استاندارد) همراهی ژنوتیپ‌های اگزون ۸ ژن DGAT1 با صفات پیوسته

ژنوتیپ	شمار روزهای باز (روز)	فاصله‌ی زایش تا نخستین فحلی (روز)	تولید شیر (کیلوگرم)	شمار تلقیح به ازای هر آبستنی
KK	۱۳۲ (۱۶)[a]	۸۰/۷۴ (۱۵)[a]	۸۴۴۲ (۴۳۲)[b]	۲/۷۰ (۰/۲۶)[a]
KA	۱۳۰ (۱۵)[a]	۷۹/۶۹ (۱۵)[a]	۹۰۷۸ (۳۹۷)[a]	۲/۷۳ (۰/۲۵)[a]

[b, a] میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، تفاوت معنی‌دار ندارند ($P\geq$۰/۰۵).

جدول ۳- همراهی آلل‌های اگزون ۸ ژن DGAT1 (نسبت بخت (دامنه‌ی اطمینان ۹۵ درصد)) با صفات گسسته

ژن	سخت‌زایی	دوقلوزایی	مرده‌زایی
DGAT1	۱/۵۴(۰/۳-۶۶/۵۵)[NS]	۴/۶۹(۱/۱۶-۳۰/۸۸)[*]	۰/۹۲(۰/۳-۲۶/۳۳)[NS]

[*] اثر معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد ($P<$۰/۰۵).

[NS] نبود اثر معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد ($P\geq$۰/۰۵).

جدول ۴- میانگین حداقل مربعات (خطای استاندارد) همراهی ژنوتیپ‌های ژن IGF-I با صفات پیوسته

ژنوتیپ	فاصله‌ی زایش (روز)	شمار روزهای باز	فاصله‌ی زایش تا نخستین فحلی (روز)	تولید شیر (کیلوگرم)	شمار تلقیح به ازای هر آبستنی
BB	۴۳۵(۱۹)[a]	۱۳۷(۲۱)[a]	۸۲(۲۲)[a]	۸۰۳۸(۵۷۲) [a]	۲/۶(۰/۳)[a]
BD	۴۰۹(۲۳)[a]	۱۰۵(۲۳)[a]	۷۲(۲۲)[a]	۸۶۲۵(۶۲۸)[a]	۲/۶(۰/۳)[a]
CC	۴۳۶(۱۷)[a]	۱۳۴(۲۱)[a]	۸۶(۲۲)[a]	۸۹۹۵(۵۴۴)[a]	۲/۹(۰/۳)[a]
CD	۴۳۰(۲۲)[a]	۱۳۹(۲۳)[a]	۸۸(۲۳)[a]	۸۴۳۰(۶۴۷)[a]	۲/۶(۰/۳)[a]
DD	۴۲۷(۱۴)[a]	۱۲۵(۱۸)[a]	۸۵(۲۲)[a]	۸۴۶۸(۴۶۳)[a]	۲/۶(۰/۳)[a]

[a] میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، تفاوت معنی‌دار ندارند ($P\geq$۰/۰۵).

بحث

جابجایی، حذف یا اضافه شدن نوکلئوتیدهای یک ژن می‌تواند باعث ایجاد چندریختی در آن ژن شود و این چندریختی‌ها ممکن است مستقیم یا نامستقیم بر صفات تولیدی و تولیدمثلی موثر باشند. در این پژوهش، چندریختی در اگزون ۸ ژن DGAT1 و اگزون ٤ ژن IGF-I با عملکرد تولیدی و تولیدمثلی در یک نمونه از گاوهای هلشتاین ایران بررسی شد. برای ژن DGAT1، در نمونه‌ی بررسی شده دو ژنوتیپ KK و KA با فراوانی‌های ۲۲ و ۷۸ درصد دیده شد. فراوانی

آلل‌های K و A به ترتیب برابر با ٦١ و ٣٩ درصد بدست آمد که با پژوهش‌های پیشین سازگار است (اسپلمن و همکاران ۲۰۰۲ و تالر و همکاران ۲۰۰۳). نتایج واکاوی آماری نشان داد که آلل A در ژن DGAT1 با افزایش تولید شیر همراه است و این همراهی را می‌توان به شیوه‌ی زیر تفسیر کرد. جایگزینی لایزین با آلانین (تبدیل آلل K به A) بر فعالیت آنزیمی DGAT2 اثر می‌گذارد و میزان سنتز تری‌گلسیرید توسط آنزیم DGAT1 دارای لایزین (حاصل آلل K) بیش از ۱/۵ برابر آنزیم DGAT1 دارای آلانین (حاصل آلل A) است. این تفاوت در عملکرد ناشی از این است که انتهای هیدروفیلیک با بار مثبت لایزین در موقعیت ۲۳۲ پروتین DGAT1، در پیوند با آسیل کوآنزیمآ موثرتر از آلانین با انتهای هیدروفوبیک و خنثی عمل می‌کند (گریسرت و همکاران ۲۰۰۲ و وینتر و همکاران ۲۰۰۲). بنابراین، آلل A با کاهش چربی شیر، باعث می‌شود انرژی دریافتی برای تولید شیر بیشتر استفاده شود (اسپلمن و همکاران ۲۰۰۲؛ تالر و همکاران ۲۰۰۳ و بانوس و همکاران ۲۰۰۸). دوقلوزایی در گاو باعث کاهش عملکرد تولیدمثل دام همراه با افزایش میانگین روزهای باز و افزایش شمار تلقیح به ازای هر آبستنی می‌شود (کنسل و همکاران ۱۹۹۸). گاوهای دوقلوزا از نظر مرده‌زایی، جفت‌ماندگی، جابجایی شیردان، کتوز و اسیدوز در خطر بالاتری هستند (کنسل و همکاران ۱۹۹۸). یافته‌های این پژوهش نشان داد که آلل K در ژن DGAT1، نرخ دوقلوزایی را افزایش می‌دهد. بیرمن و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که QTLهای کروموزم ١٤ گاو (ژن DGAT1 روی کروموزم ١٤ گاو قرار دارد) ٢٤ درصد از پراکنش در نرخ دوقلوزایی را باعث می‌شوند. چندریختی در ژن DGAT1 با فاصله‌ی گوساله‌زایی، مرده‌زایی، شمار روزهای باز، شمار تلقیح به ازای هر آبستنی و فاصله بین زایش تا نخستین فحلی همراهی نداشت. کائوپ و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که چندریختی K232A بر سخت‌زایی، مرده‌زایی یا طول دوره‌ی آبستنی اثر ندارد.

پژوهش‌ها نشان می‌دهند که پروتیین IGF-I با عملکرد تولیدی و تولیدمثلی همراهی دارد (اکترنکمپ و همکاران ٢٠٠٤; ولاسکو و همکاران ۲۰۰۵ و پاتون و همکاران ۲۰۰۷). در این پژوهش پس از ازدیاد قطعه‌ی ۳۱۲ جفت-بازی اگزون ٤ ژن IGF-I و هضم آن با آنزیم محدودکننده‌ی MboI، پنج ژنوتیپ دیده شد اما این چندریختی با صفات تولیدی و تولیدمثلی بررسی شده همراهی معنی‌دار نداشت. جی و همکاران (۲۰۰۱) با بررسی جایگزینی باز سیتوزین با تیمین (C/T) در ناحیه‌ی راه‌انداز ژن IGF-I و یک چندریختی تک نوکلئوتیدی[1] در فاصله‌ی اگزون‌های ۳ و ٤ این ژن، گزارش کردند که این چندریختی‌ها با صفات رشد در گاوهای آنگوس همراهی دارند. مولن و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی هم‌زمان تعدادی چندریختی تک نوکلئوتیدی در ناحیه‌های مختلف ژن IGF-I گزارش کردند که این چندریختی‌ها با وزن لاشه، بقا، وضعیت بدنی، راندمان تولید شیر، درصد چربی شیر، سلول‌های سوماتیک شیر، ترکیب لاشه و درصد چربی لاشه همراهی دارند. عبدالمحمدی و زمانی (٢٠١٤) گزارش کردند که چندریختی‌های ناحیه‌های مختلف ژن IGF-I با صفات تولیدی و تولیدمثلی در گاوهای هلشتاین ایران همراهی معنی‌داری ندارند. از دلایل احتمالی ناسازگاری بین نتایج می‌توان به اثر متقابل ژنوتیپ با محیط، اندازه‌ی متفاوت نمونه و ساختار متفاوت ژنتیکی گله‌های استفاده شده در پژوهش‌های مختلف اشاره کرد.

نتیجه‌گیری

این پژوهش نشان داد که آلل A از اگزون ۸ ژن DGAT1، تولید شیر را افزایش و دوقلوزایی را کاهش

[1] Single nucleotide polymorphism

می‌دهد، اما چندریختی *MboI* در اگزون ٤ ژن IGF-I با تولید شیر یا عملکرد تولیدمثلی در گاوهای هلشتاین همراهی معنی‌دار نداشت. با این حال، برای نتیجه‌گیری بهتر به پژوهش‌های بیشتر با اندازه‌ی جمعیت بزرگ‌تر نیاز است.

سپاسگزاری

نویسندگان از قطب علمی گاوهای شیری پرتولید دانشکده دامپزشکی شیراز که در اجرای این پژوهش کمک شایانی کردند، سپاسگزاری می‌کنند.

منابع مورد استفاده

Abdolmohammadi A and Zamani P, 2014. SNP exploring in the middle and terminal regions of the IGF-1 gene and association with production and reproduction traits in Holstein cattle. Gene 540: 92-95.

Banos G, Woolliams JA, Woodward BW, Forbes AB and Coffey MP, 2008. Impact of single nucleotide polymorphisms in leptin, leptin receptor, growth hormone receptor, and diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) gene loci on milk production, feed, and body energy traits of UK dairy cows. Journal of Dairy Science 91: 3190-3200.

Bierman CD, Kim E, Weigel K, Berger PJ and Kirkpatrick BW, 2010. Fine-mapping quantitative trait loci for twinning rate on Bos taurus chromosome 14 in North American Holstein. Journal of Animal Science 88: 2556-2564.

Brickell JS, Bourne N, Cheng Z and Wathes DC, 2007. Influence of plasma IGF-I concentrations and body weight at 6 months on age at first calving in dairy heifers on commercial farms. Reproduction in Domestic Animals 42: 118-119.

Daughaday WH and Rotwein P, 1989. Insulin-like growth factors I and II. peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum, and tissue concentrations. Endocrine Reviews 10: 68-91.

Echternkamp SE, Roberts AJ, Lunstra DD, Wise T and Spicer LJ, 2004. Ovarian follicular development in cattle selected for twin ovulations and births. Journal of Animal Science 82: 459-471.

Farese RV, Cases S and Smith SJ, 2000. Triglyceride synthesis: Insights from the cloning of diacylglycerol acyltransferase. Current Opinion in Lipidology 11: 229-234.

Ge W, Davis ME, Hines HC, Irvin KM and Simmen RC, 2001. Association of a genetic marker with blood serum insulin-like growth factor-I concentration and growth traits in Angus cattle. Journal of Animal Science 79: 1757-1762.

Grisart B, Coppieters W, Farnir F, Karim L, Ford C, Cambisano N, Mni M, Reid S, Spelman R, Georges M and Snell R, 2002. Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. Genome Research 12: 222-231.

Kaupe B, Brandt H, Prinzenberg EM 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.

Kinsel ML, Marsh WE, Ruegg PL and Etherington WG, 1998. Risk factors for twining in dairy cows. Journal of Dairy Science 81: 989-993.

Kuhn C, Thaller G, Winter A, Bininda-Emonds ORP, Kaupe B, Erhardt G, Bennewitz J, Schwerin M and Fries R, 2004. Evidence for multiple alleles at the DGAT1 locus better explains a quantitative trait locus with major effect on milk fat content in cattle. Genetics 167: 1873-1881.

Mullen MP, Berry DP, Howard DJ, Diskin MG, Lynch CO, Giblin L, Kenny DA, Magee DA, Meade KG and Waters SM, 2011. Single nucleotide polymorphisms in the insulin-like growth factor 1 (IGF-1) gene are associated with performance in Holstein-Friesian dairy cattle. Frontiers in Genetics 2: 1-9.

Patton J, Kenny DA, McNamara S, Mee JF, Omara FP, Diskin MG and Murphy JJ, 2007. Relationships among milk production, energy balance, plasma analytes, and reproduction in Holstein-Friesian cows. Journal of Dairy Science 90: 649-658.

Salmon JWD and Daughaday WH, 1957. A hormonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro. The Journal of Laboratory and Clinical Medicine 49: 825.

SAS Institute. 1999. SAS/STAT User's Guide. Version 8 ed. SAS Institute Inc., Cary, NC.

Spelman RJ, Ford CA, McElhinney P, Gregory GC and Snell RG, 2002. Characterization of the DGAT1 gene in the New Zealand dairy population. Journal of Dairy Science 85: 3514-3517.

Thaller G, Kramer W, Winter A, Kaupe B, Erhardt G and Fries R, 2003. Effects of DGATl variants on milk production traits in German cattle breeds. Journal of Animal Science 81: 1911-1918.

Velazquez MA, Newman M, Christie MF, Cripps PJ, Crowe MA, Smith RF and Dobson H, 2005. The usefulness of a single measurement of insulin-like growth factor-1 as a predictor of embryo yield and pregnancy rates in a bovine MOET program. Theriogenology 64: 1977-1994.

Winter A, Kramer W, Werner F, Kollers S, Kata S, Durstewitz G, Buitkamp J, Womack JE, Thaller G and Fries R, 2002. Association of a lysine-232/alanine polymorphism in a bovine gene encoding acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 99: 9300-9305.

Association of polymorphism in DGAT1 and IGF-I with productive and reproductive performance in Holstein cows

S Orangi[1], M Ektefaie[1], H Atashi[2*], MJ Zamiri[3], M Dadpasand[2]and A Derakhshande[4]

Received: June 23, 2015 Accepted: December 08, 2015

[1]MSc Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
[2]Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
[3]Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
[4]Associate Professor, Department of Pathobiology, Department of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran
[*]Corresponding author: Email: Atashi@shirazu.ac.ir

Abstract

BACKGROUND: The aim of genomic research in dairy cattle is to identify genes which affect the economic traits of importance in animal breeding. **OBJECTIVES:** The aim of this study was to investigate the polymorphism in the exon 8 of the bovine diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1) and exon 4 of the bovine insulin-like growth factor-1 (IGF-I) genes and their association with productive and reproductive traits in Holstein cows. **METHODS:** Blood samples from 133 Holstein cows were collected and genomic DNA was extracted using the Sinaclon DNA extraction kit. A fragment of 411 base-pair of exon 8 of DGAT1 gene and a fragment of 312 base-pair of the exon 4 of IGF-I gene were amplified using the polymerase chain reaction (PCR) method. The genes were amplified with specific primers using PCR. The PCR products of DGAT1 and IGF-I were digested by *CfrI* and *MboI* restriction enzyme, respectively and their digestion products were electrophoresed on 2.5% agarose gel. Continuous and categorical data were analyzed by the SAS software, using the Proc MIXED and Proc GENMOD, respectively. **RESULTS:** There was a significant association between *CfrI* polymorphism in DGAT1 with milk production and twinning rate. However, there was no association between *MboI* polymorphism with either productive or reproductive traits. **CONCLUSIONS:** Although, this study showed an assosiation between polymorphism in DGAT1 gene with milk yield and twinning rate, more research is needed before a firm conclusion can be made.

Keywords: Restriction enzyme, DGAT1, IGF-I, Holstein cows