Breeding and Improvement of Livestock
Vol. 1, No. 1, 2018, p. 51-60

نشریه اصلاح و به‌نژادی دام
جلد ۱، شماره ۱، بهار ۱۳۹۷، ص.۶۰-۵۱

ارتباط بین هاپلوتیپ‌های ژن بتا ۴-دیفنسین با صفات تولیدی شیر و تعداد سلول‌های بدنی در گاوهای هلشتاین ایران

اعظم رحیمی رضایی[۱] و مصطفی محقق دولت آبادی[۲*]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه یاسوج
۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه یاسوج

تاریخ دریافت: ۹۳/۴/۲۳
تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۷

چکیده

دیفنسین‌ها گروهی از پروتئین‌های کاتیونی ضدمیکروبی هستند که در سیستم ایمنی ذاتی پستانداران فعالیت دارند. از این رو، ژن‌های کد کننده این پروتئین‌ها می‌توانند به عنوان نشانگر ژنتیکی برای مقاومت به بیماری در گاوهای شیری در نظرگرفته شوند. در مطالعات متعددی ارتباط چندشکلی‌های ژن بتا ۴-دیفنسین و صفات سلامت و تولید در گاوهای شیری گزارش شده است. هدف از این تحقیق یافتن ارتباط بین هاپلوتیپ‌های ناحیه اینترون ژن بتا-۴دیفنسین با صفات تولید شیر و تعداد سلول‌های بدنی درگاوهای هلشتاین ایران بود. برای این منظور، بخشی از ناحیه اینترون این ژن (۲۱۰۰ الی ۲۴۹۳) توسط تکنیک تفاوت فرم فضایی رشته‌های منفرد (SSCPs) در ۱۸۹ راس گاو هلشتاین ایران تعیین هاپلوتیپ شد. تعداد ۵ الگوی مجزا SSCPs (A، B، C، D و E) در کل نمونه‌های بررسی شده مشاهده شد که فراوانی آن‌ها در جمعیت مورد مطالعه به ترتیب ۷۵/۶۶، ۱۲/۱۷، ۸/۴۶ ، ۲/۱۲ و ۱/۵۹ بودند. آنالیز ارتباطی بین هاپلوتیپ و فنوتیپ برای داده‌های صفات تولید شیر و تعداد سلول های بدنی انجام شد. هیچ ارتباط معنی‌داری بین هاپلوتیپ‌های ژن بتا-۴دیفنسین و صفات مورد مطالعه مشاهده نشد. اگرچه، تمایل نزدیک به معنی داری بین هاپلوتیپ‌ها و صفت مقدار تولید شیر روزانه مشاهده گردید (p=۰/۱).

کلمات کلیدی: تعداد سلول‌های بدنی، هاپلوتیپ، ژن بتا۴-دیفنسین، صفات تولیدی شیر

نویسنده مسئول: مصطفی محقق دولت‌آبادی استان کهگلویه و بویراحمد، دانشگاه یاسوج دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی
پست الکترونیک: mmuhaghegh@yu.ac.ir

مقدمه

افزایش روزافزون نیاز جامعه بشری به فرآورده‌های دام‌های اهلی، باعث شده تا پژوهشگران تحقیقات گسترده‌ای در زمینه‌ی بهبود صفات اقتصادی دام‌ها به‌ویژه گاوهای شیری انجام دهند. از طرف دیگر، پرهزینه و زمان‌بر بودن روش‌های قدیمی اصلاح دام، باعث انجام تحقیقات زیادی در زمینه ژنتیک مولکولی شده به طوری که امروزه ژن‌های زیادی شناسایی شده‌اند که بر روی صفات اقتصادی گاوهای شیری مؤثر بوده و از آن‌ها برای افزایش دقت و کاهش فاصله نسل‌ها در برنامه‌های اصلاحی استفاده می شود. صفات تولیدی شیر نظیر، مقدار تولید شیر و درصد پروتئین و چربی شیر از صفات اقتصادی مهمی هستند که تاثیر زیادی بر صنعت پرورش گاو شیری دارند. از صفات مهم دیگر در گاوهای شیری نمره‌ی سلول‌های بدنی[1] (SCS) می‌باشد که همبستگی ژنتیکی بالایی با بیماری ورم پستان دارد (۰/۶ تا ۰/۸) و از این رو ابزار مفیدی برای تشخیص ورم پستان محسوب می‌گردد (شوک و همکاران ۱۹۹۴). به همین دلیل در اصلاح نژاد گله‌های شیری به تنوع ژنتیکی ژن‌های مؤثر و ارتباط آن‌ها با صفات تولیدی شیر و صفات مرتبط با ورم پستان توجه ویژه‌ای می‌شود. برای استفاده از اطلاعات DNA در برنامه‌های اصلاحی، نواحی ژنومی که در آن‌ها چندشکلی[2] مرتبط با صفت مورد نظر وجود دارد باید شناسایی گردند. تعیین چندشکلی در ژن‌های موثر و مطالعه ارتباط بین این چندشکلی‌ها و بروز صفات اقتصادی روشی است که امروزه بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرد و تحت عنوان رویکرد ژن کاندیدا[3] نامگذاری شده است (بوتلر و همکاران ۲۰۰۵). امروزه افزایش تعداد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها، باعث گسترش تحقیقات در نمونه‌ای از ژن‌های کاندیدا در گاوهای شیری به نام ژن بتا-دیفنسین شده‌است. دیفنسین‌ها یکی از بزرگترین خانواده‌ی پپتیدهای آنتی‌میکروبی بوده (موکرجی و هانکوک ۲۰۰۷، سورنسون ۲۰۰۱) که به‌عنوان فاکتور دفاعی در غده پستان عمل می‌کنند. این پپتیدها بیشتر با تخریب غشای میکروب‌ها عمل خود را انجام می‌دهند. در سطح شیمیایی دیفنسین‌ها (دارای ۴۹-۲۹ اسیدآمینه و وزن مولکولی۳/۵ تا ۶کیلودالتون)، پپتیدهای غنی از سیستئین کوچکی هستند که ساختار آن با سه پیوند دی‌سولفیدی محکم شده و دارای شش سیستئین می‌باشند (دی اسمیت و همکاران ۲۰۰۵). دیفنسین‌های پستانداران بر اساس اختلاف فاصله شش سیستئین و ترتیب پیوندهای دی‌سولفیدی به سه دسته‌ی آلفا، بتا و تتا طبقه‌بندی می‌شوند (بروگدن و همکاران ۲۰۰۳). در پستانداران همه‌ی ژن‌های آلفا و بتا دیفنسین‌ها دارای دو اگزون و یک اینترون می‌باشند که به وسیله‌ی ژن‌های نزدیک به هم کد می‌شوند (لهرر و گانز ۱۹۹۹) و بر اساس محل پیوندهای دی سولفیدی درونی، ساختار پیش ساز و جایگاه بیان آن‌ها از یکدیگر متمایز می‌شوند. طبق نتایج

[1]-Somatic cell score
[2]-Polymorphism
[3] -Candidate gene approach

پژوهش‌های مختلف ژن بتا-دیفنسین علاوه بر بیان در مغز ا ستخوان در سلول‌های اپیتلیال پ ستانی و همچنین در نوتروفیل‌ها بیان می شود و میزان بیان آن‌ها در غدد پستانی گاو در زمان عفونی شدن با باکتری افزایش می‌یابد. ژن بتا-دیفنسین در خوک، سویه مرغی، اسب و انسان به‌ترتیب روی کروموزوم‌های ۱۵ (باگنییکا و همکاران ۲۰۱۰)، ۳، ۹ (مید و همکاران ۲۰۰۹) و ۸ (ابرین و همکاران ۱۹۹۳) قرار دارد. در گاو نیز ژن بتا-دیفنسین شامل دو اگزون و یک اینترون بوده که روی کروموزوم شماره‌ی ۲۷ قرارگرفته است (رینوکز و همکاران ۲۰۰۲). بتا-دیفنسین‌های گاو اثرات میکروب‌کشی قوی در *in vitro* اعمال می‌کنند و فعالیت آنتی‌میکروبیال علیه اشریشیا کولی[۱]، استافیلوکوکوس آرئوس[۲] و کاندیداآلبیکنز[۳] دارند (کامپانلی و همکاران ۱۹۹۰).

اخیرا چند شکلی ژن‌های دیفنسین انسانی به‌طور قابل توجهی مورد مطالعه قرار گرفته‌است. چند شکلی‌های بتا-دیفنسین‌ها با افزایش حساسیت به بیماری‌های خاصی در ارتباط است. از جمله این بیماری ها می‌توان به دیابت، سرطان دهان و پروستات، ورم معده و بیماری‌های عفونی مانند HIV اشاره کرد (باگنیکا و همکاران ۲۰۱۰). مطالعه چند شکلی ژن بتا-دیفنسین و ارتباط آن با بیماری در گوسفندان شیری (مونتلون و همکاران ۲۰۱۱) و سویه مرغی (هاسنستین و لامونت ۲۰۰۷) نقش این پپتیدها در تنظیم پاسخ ایمنی را آشکار کرده‌است. در پژوهش‌های مختلف نیز ارتباط این ژن با صفاتی مانند صفات تولیدی شیر و تعداد سلول‌های بدنی[۴] (SCC)در گاو مورد بررسی قرار گرفته‌است (باگنیکا و همکاران ۲۰۰۷، باکنیکا و همکاران ۲۰۰۸، حافظ و همکاران ۲۰۰۸، کرزیس اوسکی و همکاران ۲۰۰۸، رینوکز و همکاران ۲۰۰۳). نتایج حاصل از این پژوهش‌ها نشان داده که دیفنسین‌ها ممکن است به عنوان نشانگرهای ژنتیکی در برنامه های اصلاحی جهت انتخاب گاوهای پرتولید با مقاومت بالا نسبت به عفونت‌های پستانی استفاده شوند. از این رو، هدف از این پژوهش بررسی تنوع ژنتیکی ژن بتا ۴-دیفنسین[۵] در گاوهای شیری هلشتاین ایران می‌باشد و انتظار می‌رود از نتایج آن در برنامه‌های اصلاحی، جهت بهبود راندما نتولید و پیشرفت ژنتیکی صفات اقتصادی گاوهای هلشتاین ایران استفاده کرد.

مواد و روش‌ها

ابتدا از ۲۰۰رأس گاو هلشتاین شیرده با شکم های زایش متفاوت زیر نظر مرکز اصلاح دام کشور که دارای داده‌های ثبت شده برای صفات تولیدی شیر (میانگین تولید شیر، درصد چربی و درصد پروتئین روزانه برای یک دوره ۳۰۵ روزه) و میانگین روزانه تعداد سلول‌های بدنی از مجتمع شیر و گوشت فتاحی اصفهان نمونه‌ی خون تهیه شد. سپس استخراج DNA با استفاده از کیت آکوپرب آلمان صورت گرفت. انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به کمک کیت لیوفیلزه بایونیر (شرکت تکاپوزیست)

[۱]- Escherichia coli
[۲]- Staphilococcos aureus
[3]- Kandida albikanz

[4]- Somatic Cell Count (SCC)
[5]- β4-defensin

انجام گرفت. غلظت نهایی مواد در ۲۵میکرولیتر عبارت بودند از: یک واحد آنزیمDNAپلیمراز*Taq*، ۲۰۰میکرومول از هرdNTP، ۲۰۰ میلی مولMgCl2، ۱۸پیکومول از هر آغازگر، ۵۰نانوگرمDNA و بافر استاندارد. واکنش

آغازگر رفت -3َ

TGGCAGGAAGGAGGATGTAG-5َ

برنامه حرارتی مورد استفاده شامل دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه جهت واسرشته شدن اولیه و فعال‌سازی آنزیم DNAپلی‌مراز ، دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه جهت واسرشته شدن، دمای ۶۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه جهت اتصال آغازگر، دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۵ ثانیه جهت تکثیر و دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه جهت تکثیر نهایی و به تعداد ۳۵ چرخه بود. برای بررسی و اطمینان از تکثیر قطعه ۳۹۳جفت بازی(۲۱۰۰ الی ۲۴۹۳)، نمونه‌های تکثیر شده بر روی ژل آگارز ۱/۲ درصد الکتروفروز افقی شدند. تکنیک مورد استفاده در این پژوهش، تکنیک SSCP است. این تکنیک یک روش جدید، سریع و آسان برای شناسایی جهش های ناشناخته و همچنین متداول‌ترین زنجیره‌ای پلیمراز برای تکثیر قطعه ۳۹۳ جفت‌بازی بخشی از انتهای اینترون ۱ و قسمت اندکی از اگزون ۲ انجام شد. برای انجام واکنش PCR از آغازگرهای رفت و برگشت زیر استفاده گردید (باگنیکا و همکاران ۲۰۰۷).

آغازگر برگشت -3َ

ACGGCACAAGAACGGAATAC-5َ

تکنیک برای مطالعه‌ی تنوع ژنتیکی است. برای انجام SSCP مقدار ۱/۵ میکرولیتر از محصول PCR با ۴/۵ میکرولیتربافربارگذاری (۰/۰۵ بروموفنل بلو، ۰/۰۵ زایلون، ۰/۹۵ فرمامید و۲۰ میلی مولار EDTA) مخلوط شد. به منظور واسرشته سازی محصول PCR، نمونه‌ها به مدت ۷ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شدند و بلافاصله بر روی یخ، حداقل به مدت ۵ دقیقه قرار گرفتند. از محلول پایه ۴۰ درصد با نسبت۱ : ۳۷/۵ اکریلآمید به بیس اکریلآمید برای تهیه ژل ۱۰ درصد استفاده شد و نمونه‌ها به مدت ۱۶ ساعت و با ولتاژ ۱۵۰ ولت در دمای ثابت ۲۵ درجه سانتی گراد بر روی ژل اکریلامید ران شدند. برای مشاهده هاپلوتیپ از رنگ‌آمیزی نیترات نقره استفاده شد.

آنالیز آماری

جهت مطالعه ارتباط صفات با هاپلوتیپ‌های به‌دست آمده، از مدل آماری زیر استفاده شد.

$$Y_{ijklm} = \mu + G_i + P_j + F_k + S_l + C_m + e_{ijklm}$$

در این مدل: Y_{ijklm}= مقدار مشاهده برای هر کدام از صفات مورد مطالعه،μ = میانگین جامعه، G_i= اثر ژنوتیپ هر یک از آغازگرها، P_j= شکم زایش، F_m = فصل زایش، S_l= اثر پدر (به‌خاطر مشترک بودن پدر در برخی از حیوانات)، C_m = سن زایش و e_{ijklm} = اثرات باقی مانده را نشان می‌دهد. برای بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های شناسایی شده با صفات مورد مطالعه از رویه GLM نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ استفاده شد. در این پژوهش به منظور تابعیت تعداد سلول‌های بدنی، تبدیل داده لگاریتم در مبنای ۱۰ صورت گرفت. از آنجایی که در بین ۲۰۰ راس دام

مورد اســـتفاده جهت این مطالعه، تعداد ۱۱ راس فاقد اطلاعات کامل بودند، جهت آنالیز داده ها از ۱۸۹ راس دارای اطلاعات کامل استفاده گردید

نتایج و بحث

پس از تعیین ژنوتیپ نمونه ها با روش SSCP، ۵ الگوی مجزا مشـاهده گردید(شـکل ۱)که این نتیجه بیانگر میزان چندشـــکلی بالا و در پی آن تنوع ژنتیکی مطلوب در جمعیت مورد مطالعه می‌باشد.

شکل ۱- الگوهای شناسایی شده روی ژل اکریلآمید ۱۰ درصد
Figure 1- Patterns identified on 10% acrylamide gel

با توجه به فراوانی‌های مشـاهده شـده در جدول ۱ مشـــاهده می‌گردد که الگوهای A و E با فراوانی ۷۵/۶۶ درصـــد و ۱/۵۹ درصـــد به ترتیب دارای بیشترین و کمترین فراوانی می‌باشند. هاپلوتیپ‌های با فراوانی کمتر از ۲/۵ درصـــد در تجزیه و تحلیل آماری مورد استفاده قرار نگرفت.

جدول ۱-تعداد دام و فراوانی الگوهای مشاهده شده
Table 1. Livestock numbers and frequency of observed patterns

الگو Pattern	تعداد دام Number of livestock	فراوانی Frequency
A	143	75.66
B	23	12.17
C	16	8.46
D	4	2.12
E	3	1.59

پژوهش‌های گوناگونی درباره‌ی چندشکلی اینترون ژن بتا۴-دیفنسین انجام شده است. با مطالعه بر چند شکلی اینترون ژن بتا۴-دیفنسین در نژاد گاو فریزین لهستان، دو چند شکلی تک نوکلئوتیدی شناسایی شد. با مطالعه باگنیکا و همکاران (۲۰۰۷)، جابجایی نوکلئوتیدC با T در جایگاه ۲۲۳۹ گزارش شد. چند شکلی تک نوکلئوتیدی A1674C، دارای سه ژنوتیپAA، AC و CC با فراوانی‌های ۰/۶۵، ۰/۳۲ و ۰/۰۳ بود و چند شکلی C1877T دارای دو ژنوتیپCC و CT با فراوانی‌های ۰/۹۴ و ۰/۰۶ بود (باگنیکا و همکاران ۲۰۰۸). ژنوتیپ‌های حاصل از این چند شکلی تک نوکلئوتیدی به ترتیب CC با فراوانی ۰/۷۲، CT با فراوانی ۰/۲۶ و TT با فراوانی ۰/۰۲ در گاو های فریزین هلشتاین گزارش شده‌است. کرزیس‌اوسکی و همکاران (۲۰۰۸) با مطالعه بر اینترون بتا۴-دیفنسین، سه ژنوتیپ CC، CT و TT برای جایگاه C2239T مشاهده کردند. ژنوتیپTT فراوانی کمی در بین جمعیت مورد مطالعه داشت. در این پژوهش، قطعه تکثیر شده چهش مطالعات بگنیکا و همکاران(۲۰۰۷) و همچنین کرزیس اوسکی و همکاران (۲۰۰۸) را پوشش می دهد. بنابراین بخشی از تنوع ژنتیکی مشاهده شده می تواند به خاطر وجود جهش جایگاه C2239T باشد. از طرف دیگر تنوع بیشتر این ناحیه در این مطالعه می تواند به دلیل وجود جهش یا جهش های دیگر در قطعه تکثیر شده باشد که با تعیین توالی ناحیه تکثیر شده این ژن قابل شناسایی است.

ارتباط هاپلوتیپ با صفات تولیدی شیر و تعداد سلول‌های بدنی

نتایج به‌دست آمده از تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که هاپلوتیپ‌های حاصل از این آغازگر هیچ تأثیری بر صفات تولیدی شیر و نمره سلول‌های بدنی ندارد (جدول ۲). البته ارتباط این هاپلوتیپ ها با صفت تولید شیر روزانه متمایل به معنی داری (P= ۰/۱۰) است.

جدول ۲- برآورد میانگین حداقل مربعات (LSM) و خطای استاندارد برای صفات تولیدی شیر و نمره سلول‌های بدنی

Table 2. The estimated least square means (LSM) and standard errors for milk yield and somatic cell score

هاپلوتیپ Haplotype	تولید شیر (لیتر) Production milk (%)	پروتئین شیر(درصد) Milk protein (%)	چربی شیر (درصد) Milk fat (%)	نمره سلول‌های بدنی Body cell score
A	30.41 ± 2.25	3.09 ± 0.13	3.86 ± 0.18	0.72 ± 0.36
B	29.22 ± 2.30	3.13 ± 0.13	۳3.87 ± 0.18	0.77 ± 0.37

C	32.00 ± 2.36	3.16 ± 0.13	3.87/۸۷ ± 0.19	0.80 ± 0.38
مقدار p	0.10 n.s	0.52 n.s	0.99 n.s	0.87 n.s

n.s: Non significant

n.s: غیر معنی‌دار

در پژوهش های متعددی ارتباط بین چند شکلی‌های بخش اینترون ژن بتا۴-دیفنسین گاوهای شیری با صفات تولیدی شیر مورد ارزیابی قرار گرفته‌است (باگنیکا و همکاران ۲۰۰۷، باگنیکا و همکاران ۲۰۰۸، کرزیس اوسکی و همکاران ۲۰۰۸). نتایج پژوهش کرزیس اوسکی و همکاران (۲۰۰۸) ارتباط بالای تولید شیر را در ژنوتیپ CC جهش جایگاه C2239T در دو دوره شیردهی استاندارد و شیردهی کامل نشان داد. در حالی که مطالعه صورت گرفته توسط باگنیکا و همکاران (۲۰۰۷) عدم ارتباط بین چند شکلی‌های این جایگاه (C2239T) از اینترون ژن بتا۴-دیفنسین و تولید شیر روزآزمون را نشان داد. همچنین در مطالعه باگنیکا و همکاران (۲۰۰۸) ارتباط ژنوتیپ با تولید شیر در هر دو دوره شیردهی استاندارد و کامل معنی‌دار گزارش شد. در تحقیق حاضر ارتباط هاپلوتیپ های قطعه تکثیر شده و صفت تولید شیر روزانه تمایل به معنی داری داشت (۰/۱۰ =p). در پژوهش انجام گرفته توسط کرزیس اوسکی و همکاران (۲۰۰۸) هیچ تفاوتی بین ژنوتیپ‌های حاصل چندشکلی و محتوای چربی در طول دو دوره شیردهی استاندارد و کامل گزارش نشد در حالی که در پژوهش صورت گرفته به‌وسیله باگنیکا و همکاران (۲۰۰۷) ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ ها و محتوای چربی ارزیابی شده به‌وسیله مدل روزآزمون شیر مشاهده شد. در هر دو مطالعه صورت گرفته به‌وسیله کرزیس اوسکی و همکاران (۲۰۰۸) و بکنیکا و همکاران (۲۰۰۷) ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها و محتوای پروتئین گزارش شد که در هر دو پژوهش نیز گاوهای حامل ژنوتیپCT درصد پروتئین بیشتری نشان دادند. در مطالعه انجام گرفته توسط باگنیکا و همکاران (۲۰۰۸) ارتباط بین ژنوتیپ و محتوای پروتئین و چربی در هر دو دوره شیردهی استاندارد و کامل معنی‌دارگزارش شد. در این مطالعه حیوانات دارای ژنوتیپCC بیشترین میانگین محتوای چربی و حیوانات حامل ژنوتیپAA کمترین میانگین محتوای پروتئین و چربی را نشان دادند (باگنیکا و همکاران ۲۰۰۸). همچنین در پژوهش باگنیکا و همکاران (۲۰۰۸) ژنوتیپ‌ها هیچ گونه ارتباطی با تعداد سلول‌های بدنی نداشتند. توجیه این تفاوت‌ها مشکل است ولی می‌تواند ناشی از مدل به‌کار رفته، تعداد ژنوتیپ ها، چند شکلی های شناخته شده در هر پژوهش و اختلاف در اندازه نمونه باشد.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، قطعه تکثیر شده از ژن بتا-۴ دیفنسین دارای تنوع ژنتیکی مناسبی در جمعیت مورد مطالعه بود. اگرچه ارتباط معنی داری بین هاپلوتیپ‌های شناسایی شده با صفات تولیدی شیر و تعداد سلول‌های بدنی مشاهده نشد ولی این ارتباط برای صفت مقدار تولید شیر روزانه تمایل به معنی داری نشان داد. بنابراین بررسی وضعیت این جهش و جهش های دیگر این ژن در مطالعاتی با تعداد نمونه بیشتر می تواند تاثیر ژنوتیپ های این ژن بر صفات اقتصادی گاوهای شیری را رد یا تایید نماید.

منابع

1. Bagnicka, E., Strzalkowska, N., Flisikowski, K., Szreder, T., Jozwik, A., Prusak, B., Krzyzewski, J. and Zwierzchowski, L. 2007. The polymorphism in the β4-defensin gene and its association with production and somatic cell count in Holstein-Friesian cows. Journal of Animal Breeding and Genetics. 124: 150-156.
2. Bagnicka, E., Strzałkowska, N., Jozwik, A., Krzyzewski, J., Horbanczuk, J. and Zwierzchowski, L. 2010. Expression and polymorphism of defensins in farm animals. Institute of Genetics and Animal Breeding in Jastrzebiec. 57: 487–497.
3. Bagnicka, E., Strzałkowska, N., Srzalkowska, T., Prusak, B., Jozwik, A., Kosciuczuk, E., Krzyzewske, J. and Zwierzchowski, L. 2008. A/C polymorphism in the gene and its association with phenotypic and breeding values of milk production traits in Polish-Friesian cows. Animal Science Papers and Reports. 26: 239-250.
4. Beutler, B. K. and Hoebe, L. 2005. Genetic analysis of innate immunity: identification and function of the TIR adapter proteins. Advances in Experimental Medicine and Biology. 560: 29-39.
5. Brogden, K. A., Ackermann, M., McCray Jr, P. B. and Tack, B. F. 2003. Antimicrobial peptides in animals and their role in host defence**.** International Journal of Antimicrobial Agents. 22: 465–478.
6. Campanelli, D., Detmers, P. A., Nathan, C. F. and Gabay, J. E. 1990. Azurocidin and a homologous serine protease from neutrophils differential antimicrobial and proteolytic properties. The Journal of Clinical Investigation. 85: 904-905.
7. De Smet, K. and Contreras, R. 2005. Human antimicrobial peptides: defensins, cathelicidinsand histatins. Biotechnology Letters. 27: 1337-1347.
8. Hafez, E. E., Abdel-Rahman, S. M., and El-Sohaimy, S. A. 2008. Accompaniment of the polymorphism at defensin gene loci with milk productivity in Holstein Friesian and Egyptian cows. Biotechnology in animal husbandry. 24: 9-21.
9. Hasenstein, J. R. and Lamont, S. J. 2007. Chicken gallinacin gene cluster associated with Salmonella response in advanced intercross line. **Avian** Diseases. 51: 561–567.
10. Krzyzewski, J., Bagnicka, E., Strzałkowska, N., Jozwik, A., Pyzel, B. and Zwierzchowski, L. 2008. Association between the polymorphism of bovine β4-defensin gene and milk traits in Holstein-Friesian cows as computed for standard (305 days) and the whole lactation. Animal Science Papers and Reports. 26: 191-198.

11. Lehrer, R. I. and Ganz, T. 1999. Antimicrobial peptides in mammalian and insect host defence. Current Opinion in Immunology. **1**1: 23–27.
12. Meade, K. G., Higgs, R., Lloyd, A. T., Goles, S. and O'Farrelly, C. 2009. Differential antimicrobial peptide gene expression patterns during early chicken embryological development. Developmental & Comparative Immunology**.** 33: 516–524.
13. Monteleone, G., Calascibetta, D., Scaturro, M., Galluzzo, P., Palmeri, M., Riggio, V. and Portolano, B. 2011. Polymorphisms of b-defensin genes in Valle del Belice dairy sheep. Molecular Biology Reports. 38: 5405–5412.
14. Mookherjee, N. and Hancock, R. E. 2007. Cationic host defense peptides innate immune regulatory peptides as a novel approach for treating infections. Cellular and Molecular Life Sciences. 64: 922–933.
15. O'brien, S. J., Womack, J. E., Lyons, L. A., Moore, K. J., Jenkins, N. A. and Copeland, N. G. 1993. Anchored reference loci for comparative genome mapping in mammals. Nature Genetics. 3: 103-112.
16. Ryniewicz, Z., Zwierzchowski, L., Bagnicka, E., Flisikowski, K., Maj, A., Krzyżewski, J. and Strzałkowska, N. 2003. Association of the polymorphism at defensin gene loci with dairy production traits and milk somatic cell count in Black-and-White cows. Animal Science Papers and Reports. 21: 209-222.
17. Ryniewicz, Z., Zwierzchowski, L., Bagnicka, E., Krzyzewsk, I. J. and Strzalkowska, N. 2002. Preliminary investigations on the polymorphysm of defensin Genes in cattle. Animal Science Papers and Reports. 20: 125-131.
18. Shook, G. E. 1994. Selection on somatic cell score to improve resistance to mastitis in the United states .Journal of Dairy Science. 77: 648-658.
19. Sorensen, O. E. 2001. Human cathelicidin, hCAP-18, is processed to the antimicrobial peptide LL-37 by extracellular cleavage with proteinase 3. Blood. 97: 3951–3959.

Breeding and Improvement of Livestock
Vol. 1, No. 1, 2018, p. 51-60

نشریه اصلاح و به‌نژادی دام
جلد ۱، شماره ۱، بهار ۱۳۹۷، ص.۶۰-۵۱

Haplotype association of B-4 defensin gene with milk production traits and somatic cell count in Holstein cattle of Iran

Azam Rahimi Rezaei[1], Mustafa Muhaghegh Dolatabady*[2]
[1] M.Sc. student of Animal Sciences, Yasouj University and [2]Assistant Prof., Dept. of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Yasouj university

Received: 07/14/2014 Accepted: 11/28/2014

Abstract

Defensins are a group of cationic antimicrobial peptides that play important role in vertebrate innate immunity. Therefore, genes encoding these peptides could be considered as genetic markers for disease resistance in dairy cattle. Several studies have been reported association between beta-defensin gene polymorphisms with health and production traits in dairy cattle. The aim of this study was to find association of genetic variation in the intron of B4-defensin gene with milk production traits and somatic cell counts in Holstein cattle of Iran. The part of intron of B4-defensin gene was screened by single strand conformation polymorphism (SSCP) method. One hundred eighty nine Iranian Holstein cows were genotyped, giving 5 distinct SSCP patterns (A, B, C, D and E) and the frequencies of these patterns for amplified fragment were 75.66، 12.17، 8.46، 2.12 and 1.59 respectively. An association analysis between haplotype and phenotype data for milk production traits and somatic cell score was performed. No significant associations of the haplotype in B4-defensin gene were observed for any trait. However, the haplotype was tended to associate with milk yield (P=0.10).

Keywords: B4-defensin gene- Haplotype-Milk production traits- Somatic cell count

Corresponding Author, Email: mmuhaghegh@yu.ac.ir