



Study of association candidate gene (kappa casein) with milk yield in Brown Swiss cows in Golpayegan

Soheil Mirhabibi¹✉ | Hossein Emrani² | Hamed Asadolahi³ | Mojtaba Haghighat⁴

1. Corresponding Author, Department of Animal Science, Golpayegan Branch, Islamic Azad University, Golpayegan, Iran. E-mail: smirhabibi@iau.ac.ir
2. Department of Biotechnology Research, Animal Science Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. E-mail: h.emrani@areeo.ac.ir
3. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran. E-mail: h.asadolahi@ag.iut.ac.ir
4. Department of Animal Science, Golpayegan Branch, Islamic Azad University, Golpayegan, Iran. E-mail: mhaghighat@iau.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received 4 June 2025
Received in revised form
20 December 2025
Accepted 26 December 2025
Published online 20 January 2026

Keywords:
Brown Swiss Cattle
candidate gene
kappa casein
Milk yield

ABSTRACT

Objective: The first foreign breed of cattle imported to the United States to cross with the native cattle was the Brown Swiss breed, which has a high tolerance to climate change and little change in milk yield with environmental conditions. This breed is known for having higher quality milk than the Holstein breed. So far, little research has been conducted on the production and reproductive characteristics of the Brown Swiss breed and its genetic loci. The results of recent studies show that in addition to phenotypic and pedigree information, molecular marker information can be used as an auxiliary tool in the selection of domestic animals. Milk caseins are one of the most important proteins in milk, whose natural role is to interfere in the formation of micelles and curdling of cheese. Kappa casein is one of the most important caseins, which is very important in the quality of the produced cheese and the efficiency of turning milk into cheese. Several reports have shown the polymorphism of the kappa casein gene locus with milk production traits. The kappa casein gene is the most important major gene that influence the milk production related traits. The aim of this study was investigate the association of this gene with production related traits breeding value in Brown Swiss cattle in Iran.

Method: The present investigation was undertaken on the data of Brown Swiss cattle of Golpayegan dairy farm. Genomic DNA was extracted from 150 blood sample by modified salting out method. The PCR-RFLP method was carried out to amplify and digests the interested sequence. The HinfI restriction enzyme was used to digest of 350 bp of kappa casein gene. To estimate allelic and genotypic frequencies in this population and also calculate Hardy-Weinberg equilibrium, the chi-square test (XT2) and the likelihood ratio test (Gr 2) were used.

Results: The results of enzymatic digestion of the 350 bp fragment of kappa casein gene showed that the frequencies of genotypes AA, AB and BB for this gene are 0.20, 0.61 and 0.19 respectively and the allele frequencies are 0.505 and 0.495 for allele A and B respectively. Genotypes were not distributed according to the Hardy-Weinberg equilibrium. The average milk production, length of lactation days, birth weight and age at first calving were 7302±2438 kg, 346±76.89 days, 41.89±4.7 kg and 832±74 days, respectively. Genetic parameters were estimated by REML method and WOMBAT software. Heritability and repeatability for milk yield were estimated 0.154 and 0.309 respectively.

Conclusion: The association of the breeding value of milk yield traits, with detected genotype of each animal, was used in statistical analysis based on the General Linar Models and no significant effect was observed for this gene.

Cite this article: Mirhabibi, S., Emrani, H., Asadolahi, H., & Haghighat, M. (2026). Study of association candidate gene (kappa casein) with milk yield in Brown Swiss cows in Golpayegan. *Journal of Animal Production*, 27 (4), 377-387
DOI: <https://doi.org/>



© The Author(s).
DOI: <https://doi.org/>

Publisher: University of Tehran Press.



بررسی ارتباط ژن کاندیدا (کاپاکازین) با تولید شیر گاوهای براون سوئیس گلیپگان

سهیل میرحبیبی^۱ | حسین عمرانی^۲ | حامد اسدالهی^۳ | مجتبی حقیقت^۴

۱. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، واحد گلیپگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گلیپگان، ایران. رایانامه: smirhabibi@iau.ac.ir
۲. بخش پژوهش‌های بیوتکنولوژی، مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. رایانامه: h.emrani@areeo.ac.ir
۳. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران. رایانامه: h.asadollahi@ag.iut.ac.ir
۴. گروه علوم دامی، واحد گلیپگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گلیپگان، ایران. رایانامه: mhaghghat@iau.ac.ir

چکیده

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

هدف: نژاد براون سوئیس اولین نژاد اصیل گاو بوده که برای اصلاح نژاد گاوهای بومی وارد کشور گردید. این نژاد مقاومت زیادی در مقابل تغییرات آب‌وهوایی دارد، بدون این که در مقدار تولید شیر آن تغییر زیادی ایجاد شود. این نژاد به داشتن شیر با کیفیت بالاتر نسبت به نژاد هلشتاین معروف می‌باشد. تاکنون پژوهش‌های اندکی در رابطه با بررسی خصوصیات تولیدی و تولیدمثلی نژاد براون سوئیس و جایگاه‌های ژنتیکی آن صورت گرفته است. نتایج مطالعات جدید نشان می‌دهد که علاوه بر اطلاعات فنوتیپی و شجره‌ای می‌توان از اطلاعات نشانگرهای مولکولی به عنوان ابزار کمکی در انتخاب حیوانات اهلی استفاده نمود. کازین‌های شیر از مهم‌ترین پروتئین‌های شیر می‌باشند که نقش طبیعی آن‌ها دخالت در تشکیل میسل‌ها و دلمه کردن پنیر است. کاپاکازین یکی از مهم‌ترین کازین‌هاست که در کیفیت پنیر تولید شده و راندمان تبدیل شیر به پنیر اهمیت به‌سزایی دارد. گزارش‌های متعددی ارتباط چند شکلی جایگاه ژن کاپاکازین با صفات تولید شیر را نشان داده است. در این مطالعه ارتباط چند شکلی این ژن با ارزش‌های اصلاحی صفات تولید شیر در گاوهای بران سوئیس گلیپگان بررسی شد.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۱۴

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۹/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۰۵

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۱۰/۳۰

روش پژوهش: به منظور بررسی عملکرد و برآورد پارامترهای ژنتیکی صفات تولیدی از اطلاعات مزرعه‌ای در گلیپگان استفاده شد. این اطلاعات شامل ۹۱۴ رکورد شیردهی از ۳۳۸ راس گاو ماده در دوره‌های شیردهی مختلف بود. DNA ژنومی از ۱۵۰ نمونه به‌روش استخراج نمکی استحصال گردید. قطعات موردنظر به‌وسیله واکنش PCR تکثیر و از آنزیم HinfI برای هضم آنزیمی ژن کاپاکازین استفاده گردید. برای تخمین فراوانی آللی و ژنوتیپی در این جامعه و هم‌چنین محاسبه تعادل هاردی-واینبرگ، از آزمون مربع کای (X^2) و آزمون نسبت درست‌نمایی (G^2) استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج هضم آنزیمی قطعه ۳۵۰bp ژن کاپاکازین نشان داد که فراوانی ژنوتیپ‌های AA، AB و BB برای این ژن به‌ترتیب ۰/۲۰، ۰/۶۱ و ۰/۱۹ و فراوانی آللی ۰/۴۹۵ و ۰/۵۰۵ به‌ترتیب برای آلل A و B می‌باشد. این فراوانی‌ها در تعادل هاردی واینبرگ نبودند. میانگین تولید شیر، طول روزهای شیردهی، وزن تولد و سن درهنگام اولین زایش به‌ترتیب 7302 ± 2438 کیلوگرم $346 \pm 76/89$ روز، $41/89 \pm 4/7$ کیلوگرم و 832 ± 74 روز به‌دست آمد. برآورد پارامترهای ژنتیکی به‌وسیله مدل حیوانی با روش حداکثر درست‌نمایی محدود شده و با استفاده از نرم‌افزار wombat صورت گرفت. ضریب وراثت‌پذیری و تکرارپذیری برای صفت تولید شیر به‌ترتیب ۰/۱۵۴ و ۰/۳۰۹ برآورد گردید.

نتیجه‌گیری: هرچند تجزیه آماری GLM هیچ اثر معنی‌داری از ژنوتیپ‌های کاپاکازین بر روی ارزش‌های اصلاحی تولید شیر نشان نداد ولیکن نتایج این پژوهش و گزارش‌های مرتبط با نژاد براون سوئیس بر روی جایگاه ژنی کاپاکازین نشان می‌دهد که در این نژاد فراوانی آلل B و ژنوتیپ‌های AB و BB که سبب افزایش راندمان تولید پنیر می‌شوند، نسبت به سایر نژادها بیش‌تر است.

کلیدواژه‌ها:

ژن کاندیدا

صفات تولید شیر

کاپاکازین

گاو نژاد بران سوئیس

استناد: میرحبیبی، سهیل؛ عمرانی، حسین؛ اسدالهی، حامد و حقیقت، مجتبی (۱۴۰۴). بررسی ارتباط ژن کاندیدا (کاپاکازین) با تولید شیر گاوهای براون سوئیس گلیپگان. *نشریه توليدات دامی*، ۲۷ (۴)، ۳۷۷-۳۸۷. DOI: <https://doi.org/10.22059/jap.2025.381902.623804>



۱. مقدمه

در بین مواد غذایی طبیعی پروتئین‌های شیر یکی از غنی‌ترین منابع اسیدهای آمینه ضروری هستند. در حقیقت شیر را به دلیل مرغوبیت پروتئین‌های آن کامل‌ترین غذای طبیعی نامیده‌اند. شیر گاو حاوی ۳۵-۳۰ گرم پروتئین در هر لیتر می‌باشد که ۸۰ درصد آن در میسل کازئین که کمپلکس بزرگ کروی شکل است وجود دارد. کازئین‌های شیر به چهار محصول عمده $S1\alpha$ ، β ، K و $S2\alpha$ تقسیم می‌شوند. کازئین‌های $S1\alpha$ ، β و $S2\alpha$ در حضور یون کلسیم غیر محلول بوده و به عنوان کازئین‌های حساس به کلسیم شناخته می‌شوند. اما بر خلاف سایر کازئین‌های ذکر شده بالا کاپاکازئین نسبت به کلسیم غیرحساس بوده و به تثبیت‌کننده میسل معروف است، زیرا برای تشکیل میسل‌های کازئین پایدار لازم می‌باشد. کاپاکازئین نقش مهمی در جلوگیری از ته‌نشین شدن کازئین‌های دیگر دارد. بین استحکام لخته و اندازه میسل ارتباط منفی وجود دارد. استحکام لخته‌های حاصل از میسل‌های کوچک‌تر بیش‌تر است و در نتیجه در گاوهایی که شیر آن‌ها کاپاکازئین بالایی دارد، اندازه میسل‌ها کوچک‌تر و استحکام لخته بیش‌تر خواهد بود (Aleandari et al., 1990).

با مطالعه پژوهش‌های کشورهای توسعه‌یافته در زمینه تامین پروتئین موردنیاز خود می‌توان پی‌برد که ژنتیک مولکولی و استفاده از روش‌های جدید به‌ویژه استفاده از روش ژن کاندیدا می‌تواند در زمان کوتاه یکی از راه‌های توانمند برای افزایش کمیت و کیفیت فرآورده‌های پروتئینی حیوانات اهلی باشد. اکثر صفات اقتصادی در دام‌ها صفات کمی بوده که توسط مجموعه ژن‌های زیادی با اثر کوچک کنترل می‌شوند. با این وجود، ژن‌های معدودی نیز وجود دارند که دارای اثر بزرگ بر بروز این صفات هستند. مطالعه ژن‌های کاندیدا برای یافتن ژن‌های با اثر عمده بر صفات اقتصادی از توان بیش‌تری نسبت به روش‌های دیگر برخوردار است (وفایی و حسین‌پور، ۱۳۹۵). با روش‌های مولکولی می‌توان تنوع و چند شکلی را در میان افراد یک جامعه شناسایی نمود. نشانگرهای مولکولی (از جمله متداول‌ترین نشانگرهای ژنتیکی RFLP و ریزماهواره‌ها) کاربرد زیادی دارند که می‌توان به تعیین ژنوتیپ افراد یک جمعیت، تعیین تنوع ژنتیکی جامعه و انتخاب حیوانات در سنین پایین‌تر اشاره نمود.

از دهه ۳۰ با ایجاد ایستگاه تحقیقات دامپروری گلپایگان، پرورش نژاد براون سوئیس در گلپایگان و شهرهای اطراف افزایش یافت. از این نژاد برای اصلاح نژاد گاوهایی بومی گلپایگانی در طول چند دهه گذشته استفاده شده و با گسترش پرورش نژاد هلشتاین در منطقه از تعداد گاوهایی براون سوئیس به تدریج کم و گاوهایی هلشتاین جایگزین آن‌ها گردیده است (دادار و همکاران، ۱۳۸۲). تاکنون پژوهش‌های اندکی در رابطه با بررسی خصوصیات تولیدی و تولیدمثلی نژاد براون سوئیس و جایگاه‌های ژنتیکی آن صورت گرفته است. پرورش گاوهایی شیری این نژاد در شرایط روستایی و عدم ثبت اطلاعات شجره‌ای و تولیدی دلیل اصلی عدم فعالیت‌های اصلاحی در این نژاد بوده است. در این پژوهش سعی خواهد شد ارتباط چندشکلی ژن‌های کاپاکازئین با صفات تولیدی بررسی و در صورت ارتباط، در برنامه‌های اصلاح نژادی استفاده گردد.

۲. روش پژوهش

در مطالعه حاضر از اطلاعات گاوهایی براون سوئیس شرکت سهامی زراعی گلپایگان که از سال‌های ۱۳۷۲ جمع‌آوری شده بود، استفاده شد. این اطلاعات شامل ۹۱۴ رکورد شیردهی از ۳۳۸ راس گاو ماده در دوره‌های شیردهی مختلف (میانگین تولید شیر، طول روزهای شیردهی، وزن تولد و سن) بود.

۱.۲. نمونه گیری

نمونه خون ۱۵۰ راس گاو براون سوئیس از دو گاوداری تحت برنامه رکوردبرداری مرکز اصلاح نژاد ایستگاه زراعی و مرکز تحقیقات گلپایگان با استفاده از لوله خلأدار گرفته شد. از طریق سیاهرگ وداجی با استفاده از ونوجکت‌های استریل حاوی ماده ضد انعقاد (EDTA 0.5 M, PH=8) به میزان پنج الی هشت میلی‌لیتر عمل خون‌گیری انجام گرفت. نمونه‌های خون در داخل ظرف یخی قرار داده شدند و به آزمایشگاه منتقل گردیدند و پس از آن نمونه‌های خون در دمای چهار درجه تا زمان استخراج DNA نگهداری شد.

۲.۲. استخراج DNA

استخراج DNA به روش نمکی بهینه‌یافته^۱ انجام گرفت. هم‌چنین جهت تعیین مقدار DNA استخراج‌شده از دو روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز بر روی ژل آگارز استفاده شد.

۳.۲. جایگاه مورد مطالعه و طراحی آغازگرها

در این پژوهش، تکثیرنواحی اگزون و اینترون ژن کاپاکازین به طول ۳۵۰ جفت باز با استفاده از یک جفت آغازگر اختصاصی براساس منابع صورت گرفت (Ünal & Kopuzlu, 2022; Dogru & Ozdemir, 2009).

5'- ATT TAT GGC CAT TCC ACC AA- 3'

5'- ATT AGC CCA TTT CGC CTT CT- 3'

آغازگر مورد بررسی، به صورت لیوفیلیزه دریافت گردید و پس از حل کردن و رقیق ساختن طبق دستورالعمل مربوطه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

برای انجام PCR، از بافر PCR با غلظت 1X، dNTPs ۲۰۰ میلی‌مولار، آغازگر رفت و برگشت هر کدام ۱۰ پیکومول، آنزیم تک‌پلیمرز یک واحد، DNA ژنومی ۱۰۰ نانوگرم و آب مقطر تا حجم ۲۵ میکرولیتر استفاده گردید. سیکل حرارتی انتخاب‌شده برای انجام PCR پس از بهینه‌سازی واکنش به صورت ۳۰ سیکل شامل دمای واسرشت اولیه ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت چهار دقیقه، دمای واسرشت ثانویه ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، دمای اتصال ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه انجام گردید. عمل هضم نیز برای توالی کاپاکازین با استفاده از پنج واحد آنزیم HinfI، ۱۰ میکرولیتر محصول PCR، ۱/۵ میکرولیتر بافر 1X و سه میکرولیتر آب دوبار تقطیر انجام گرفت و محصول هضم بر روی ژل آگاروز دو درصد الکتروفوروز شد (Ünal & Kopuzlu, 2022).

۴.۲. فراوانی آللی و ژنوتیپی و تعادل هاردی وینبرگ

فراوانی آللی و ژنوتیپی در این جامعه برآورد و هم‌چنین محاسبه تعادل هاردی وینبرگ^۲، از آزمون مربع کای^۳ (χ^2_r) و آزمون نسبت درست‌نمایی^۴ (G^2_r) استفاده شد (رابطه ۱).

$$\chi^2_r = \sum \frac{n\hat{D}_{uu}^2}{\hat{p}_u^2} + \sum_u \sum_{v \neq u} \frac{2n\hat{D}_{uv}^2}{\hat{p}_u \hat{p}_v} \quad (\text{رابطه ۱})$$

1. Salting out
2. Hardy Weinberg equilibrium
3. Chi-Square Test
4. G-Square Test

که در این رابطه، n تعداد افراد مورد بررسی؛ $\bar{P}_u$ و $\bar{P}_v$ ، به ترتیب فراوانی u و v آمین آل در هر جایگاه؛ $\bar{D}_{uv}$ و $\bar{D}_{uu}$ به ترتیب ضرایب عدم تعادل برای ژنوتیپ‌های هموزایگوت و هتروزیگوت می‌باشند. در آزمون نسبت درست‌نمایی نیز آماره G_r^2 با استفاده از رابطه (۲) محاسبه و در سطح آماری موردنظر ($\alpha = 0.05$) با مقادیر جدول توزیع مربع کای مقایسه شد.

$$G_r^2 = -2 (\ln L_0 - \ln L_1) \quad \text{رابطه ۲}$$

که در آن، L_0 و L_1 ، به ترتیب برآوردهای حداکثر درست‌نمایی برای فرض‌های صفر (برقراری تعادل) و یک (عدم تعادل) است. لگاریتم طبیعی L_0 و L_1 ، با استفاده از رابطه‌های (۳) و (۴) محاسبه شد.

$$\ln L_1 = \text{Constant} + \sum_u n_{uu} \ln\left(\frac{n_{uu}}{n}\right) + \sum_u \sum_{v \neq u} n_{uv} \ln\left(\frac{n_{uv}}{n}\right) \quad \text{رابطه ۳}$$

$$\ln L_0 = \text{Constant} + \sum_u n_u \ln\left(\frac{n_u}{2n}\right)^2 + \sum_u \sum_{v \neq u} n_{uv} \ln\left(2\frac{n_u}{2n} + \frac{n_v}{n}\right) \quad \text{رابطه ۴}$$

که در آن‌ها، n_u و n_v به ترتیب تعداد آل‌های u و v و همچنین n_{uu} و n_{uv} به ترتیب تعداد ژنوتیپ‌های هموزایگوت و هتروزیگوت در هر جایگاه می‌باشد. در این مطالعه احتمال برقراری تعادل هاردی وینبرگ، با استفاده از هر دو معیار مربع کای و نسبت درست‌نمایی با استفاده از نرم‌افزار POPGENE 32 آزمون شد.

۵.۲. تجزیه و تحلیل آماری

برای مشخص نمودن معنی‌داری اثرات بر روی صفات مورد مطالعه از مدل‌های خطی عمومی (GLM) در نرم‌افزار SPSS استفاده شد. برای پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی و برآورد پارامترهای ژنتیکی تولید شیر از مدل حیوانی با روش حداکثر درست‌نمایی محدود شده و با استفاده از نرم‌افزار wombat از رابطه (۵) استفاده شد.

$$Y_{ijk} = \mu + Pe_i + b(X - \bar{X}) + L_j + a_k + e_{ijk} \quad \text{رابطه ۵}$$

که در این رابطه، Y_{ijk} ، صفت مورد مطالعه؛ Pe_i ، اثر تصادفی محیطی دائمی؛ L_j اثر ثابت j آمین دوره شیردهی؛ a_k ، اثر تصادفی k آمین حیوان؛ b ، ضریب تابعیت تولید شیر از روزهای شیردهی و e_{ijk} اثر خطای آزمایش است. ارزش‌های اصلاحی دام‌ها برای صفت مورد مطالعه پیش‌بینی شد. در نهایت اثر ژنوتیپ جایگاه موردنظر بر ارزش‌های اصلاحی صفت تولید شیر با استفاده از رابطه (۶) در نرم‌افزار SPSS رویه مدل‌های خطی عمومی تجزیه شد.

$$Y_{ij} = \mu + G_i + e_{ij} \quad \text{رابطه ۶}$$

در این مدل، Y_{ij} ارزش اصلاحی صفت مورد مطالعه؛ μ میانگین صفت و G_i نوع ژنوتیپ حیوان نام است. در نهایت بهترین ژنوتیپ برای صفات مورد مطالعه تعیین شد.

۳. یافته‌های پژوهش

۳.۱. کیفیت و کمیت DNA استخراج شده

پس از استخراج DNA به منظور بررسی کیفیت و کمیت، به طور تصادفی نمونه انتخاب و بر روی ژل آگارز الکتروفورز قرار گرفت (شکل ۱).

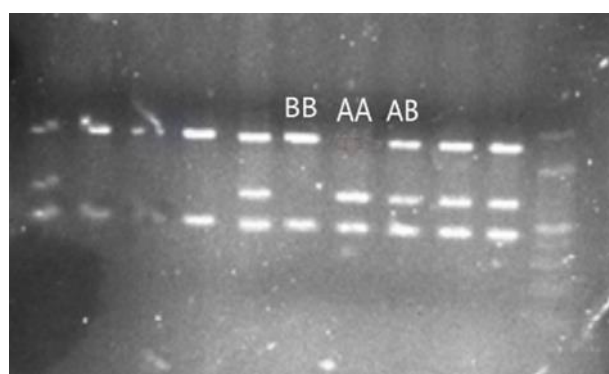


شکل ۱. DNA استخراج شده پس از الکتروفورز با استفاده از ژل آگارز

همان‌طور که در عکس فوق مشاهده می‌شود DNA استخراج‌شده در این مطالعه از کیفیت نسبی خوبی برخوردار است و باندهای تیز نشان داده شده حاکی از آلودگی کم نمونه‌های استخراج‌شده می‌باشد. با توجه به آغازگرهای مورد استفاده در واکنش PCR تکثیر قطعات ژن کاپاکازین انجام شد و این قطعات بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد الکتروفورز گردید.

۲.۳. نتیجه هضم ژن کاپاکازین توسط آنزیم *HinfI*

آنزیم محدودکننده *HinfI* قطعات تکثیرشده در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز که اندازه باند در آن‌ها ۳۵۰ جفت باز می‌باشد را در دو جایگاه برش می‌دهد و قطعات ۲۶۱، ۱۳۱ و ۸۹ جفت باز ایجاد می‌کند. سه الگوی باندی شامل الگوی باندی اول مربوط به ژنوتیپ AA بود و دو قطعه‌ی ۱۳۱ و ۸۹ جفت بازی را شامل می‌شد، الگوی باندی دوم مربوط به ژنوتیپ BB بود و قطعه ۲۶۱ و ۸۹ جفت بازی را شامل می‌شد و الگوی باندی سوم که مربوط به ژنوتیپ AB می‌شد شامل هر سه قطعه ۲۶۱، ۱۳۱ و ۸۹ جفت بازی بودند، بنابراین قطعه ۸۹ جفت بازی در همه ژنوتیپ‌ها حضور دارد. یعنی یکی از جایگاه‌های برش قطعی بوده و هیچ تنوعی ایجاد نخواهد کرد و تنها باندهای بالای آن دستخوش تغییر می‌شوند (شکل ۲).



شکل ۲. نمونه‌ای از الگوهای باندی ژن کاپاکازین پس از هضم توسط آنزیم *HinfI*

۳.۳. فراوانی‌های ژنی و ژنوتیپی

فراوانی‌های ژنی و ژنوتیپی برای ۱۵۰ نمونه گاو براون سویس محاسبه شده و همچنین تعادل هاردی وینبرگ برای این ژن مورد آزمون قرار گرفت که نتایج آن در جدول‌های (۱) و (۲) آمده است.

جدول ۱. جدول فراوانی ژنی و ژنوتیپی به دست آمده از هضم آنزیمی HinfI برای ژن کاپاکازئین

آلل	ژنوتیپ				فراوانی
	A	B	AA	AB	BB
	۰/۵۰۵	۰/۴۹۵	۰/۲۰	۰/۶۱	۰/۱۹

جدول ۲. آزمون مربع کای (X^2_T) و نسبت درست نمایی G^2_T

df	X^2_T	Probability X^2_T	G^2_T	Probability G^2_T
۱	۰/۰۳۱	۴/۶۲۶	۴/۶۶۶	۰/۰۳۰

سطوح احتمالات محاسبه شده نشان می دهد جمعیت گاوهای براون از نظر جایگاه کاپاکازئین تحت آزمون کای اسکور و نسبت درست نمایی در تعادل هاردی وینبرگ نمی باشد ($P < ۰/۰۵$).

جدول ۳. معیارهای مختلف چندشکلی در جایگاه کاپاکازئین

جایگاه	Ave_Het	Nei	Exp_Het	Exp_Hom	Obs_Het	Obs_Hom
کاپاکازئین	۰/۵	۰/۵	۰/۵۰۲۵	۰/۴۹۷۵	۰/۶۱	۰/۳۹

Obs_Hom = هموزایگوتی مشاهده شده، Obs_Het = هتروزایگوتی مشاهده شده، Exp_Hom = هموزایگوتی مورد انتظار، Exp_Het = هتروزایگوتی مورد انتظار، Nei = شاخص Ave_Het = میانگین هتروزایگوتی

هتروزایگوسیتی معیار معمول تنوع ژنتیکی در یک جمعیت می باشد که به دو صورت هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار گزارش می شود. با استفاده از پارامترهای جمعیتی مختلف می توان میزان تنوع ژنتیکی را مورد مطالعه قرار داد. همچنین در شرایط کم بودن تنوع ژنتیکی می توان از برخی استراتژی های اصلاح نژادی جهت افزایش تنوع بهره گرفت. مطابق با تعریفی که چند شکل بودن یک جایگاه ارائه شد، جایگاه مورد بررسی دارای چندشکلی می باشد. زیرا فراوانی معمول ترین آلل در آن کمتر از ۰/۹۹ می باشد (Hedrick, 2011).

۴.۳. پیش بینی ارزش اصلاحی تولید شیر و ارتباط آن با انواع ژنوتیپ

میانگین تولید شیر، طول روزهای شیردهی، وزن تولد و سن در هنگام اولین زایش به ترتیب ۷۳۰۲ ± ۲۴۳۸ کیلوگرم $۳۴۶ \pm ۷۶/۸۹$ روز، $۴۱/۸۹ \pm ۴/۷$ کیلوگرم و ۸۳۲ ± ۷۴ روز به دست آمد. نتایج GLM برای تعیین اثرات مختلف بر روی تولید شیر نشان داد که اثر دوره شیردهی (اثر ثابت) و طول روزهای شیردهی (متغیر کمکی) معنی دار بود. ضریب وراثت پذیری و تکرارپذیری برای صفت تولید شیر به ترتیب $۰/۱۵۴$ و $۰/۳۰۹$ برآورد شد. نتایج GLM برای تعیین اثر ژنوتیپ های مختلف این جایگاه ژنی بر روی ارزش های اصلاحی تولید شیر هیچ اثر معنی داری از ژنوتیپ های کاپاکازئین بر روی ارزش های اصلاحی تولید شیر نشان داده نشد.

۴.۴. بحث

میانگین تولید شیر، طول روزهای شیردهی، وزن تولد و سن در هنگام اولین زایش به ترتیب ۷۳۰۲ ± ۲۴۳۸ کیلوگرم $۳۴۶ \pm ۷۶/۸۹$ روز، $۴۱/۸۹ \pm ۴/۷$ کیلوگرم و ۸۳۲ ± ۷۴ روز به دست آمد. پژوهش های Samore و همکاران (2010) بر روی ۱۲۴۴۱۶ رکورد اولین دوره شیردهی گاوهای براون سوئیس ایتالیا میانگین تولید شیر ۳۰۵ روز در این گاوها را ۵۸۹۴ کیلوگرم به دست آوردند که از میانگین تولید گاوهای مورد مطالعه کمتر می باشد. علت بیش تر بودن تولید دام های این گله می تواند به این دلیل باشد که شامل رکوردهای چندین دوره شیردهی بوده و فقط یک گله صنعتی را دربرداشته است، در صورتی که تحقیقات صورت گرفته در ایتالیا شامل تعداد زیادی گاو پرورش یافته در شرایط مختلف بوده است.

پژوهش‌های Samore و همکاران (2010) وراثت‌پذیری تولید شیر را برای رکوردهای اولین دوره شیردهی گاوهای براون سوئیس ایتالیا ۰/۲۲ برآورد کرد، در صورتی که Zulkadir و همکاران (2009) وراثت‌پذیری تولید شیر را در گاوهای براون سوئیس ترکیه ۰/۳۳ برآورد کردند و در پژوهش‌های Gibson & Dechow (2018) بر روی گاوهای براون سوئیس آمریکا وراثت‌پذیری تولید شیر ۰/۳۰ برآورد گردید. برآوردهای وراثت‌پذیری تولید شیر به‌دست‌آمده نسبت به وراثت‌پذیری گاوهای مورد مطالعه کم‌تر بوده که علت آن می‌تواند برآورد وراثت‌پذیری براساس رکوردهای چندین دوره شیردهی باشد. کاپاکازئین یکی از مهم‌ترین پروتئین‌های شیر است و توسط ژنی با پنج اگزون و چهار اینترون کنترل می‌گردد. مقدار پنیر تولیدی و هم‌چنین ماندگاری شیر در خارج از یخچال به‌طور مستقیم به خصوصیات کاپاکازئین شیر بستگی دارد. در میان انواع مختلف پلی‌مورفیسم کاپاکازئین، آلل A و B رایج‌ترین و مهم‌ترین هستند. آلل B ژن کاپاکازئین که حاصل بروز جهش نقطه‌ای (T/C) در موقعیت اگزون چهار می‌باشد موجب بالا رفتن راندمان تولید شیر به پنیر می‌شود. در کاتالوگ‌های اسپرم ژنوتیپ‌های BB یا AB بیانگر ژنوتیپ‌های مطلوب برای تولید شیر مورد استفاده در کارخانجات پنیرسازی می‌باشد که موجب کاهش زمان انعقاد شیر و بالا رفتن ثبات و استحکام دلمه‌شدن آن می‌شود. در پژوهش‌های Dogru & Ozdemir (2009) بر روی گاوهای براون سوئیس فراوانی آلل B، ۰/۵۰۵ به‌دست آمد، که با نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش بسیار نزدیک است. Velmatov و همکاران (2020) بر روی جمعیت گاوهای سفید و قرمز فراوانی ژنوتیپ‌های AA، AB و BB را به‌ترتیب ۳۳/۱۰، ۵۶/۶۹ و ۱۰/۲۱ درصد به‌دست آوردند. فراوانی آلل B کاپاکازئین در نژادهای مختلف از ۰/۰۶ تا ۰/۸۶ متغیر است (Ojala et al., 1996). این فراوانی در گاوهای براون سوئیس با ۰/۶۷ و جرسی ۰/۸۶ گزارش گردیده است. در پژوهش‌های Celik (2003) فراوانی آلل‌های A و B در گاوهای براون سوئیس به‌ترتیب ۰/۵۶ و ۰/۴۴ و فراوانی ژنوتیپی AB، BB و AA به‌ترتیب ۰/۵۳۷، ۰/۲۸۹ و ۰/۱۷۲ به‌دست آمد.

ارتباط معنی‌داری بین آلل A با تولید شیر مشهود نبود. در میان صفات ترکیبی، تنها درصد چربی به‌طور قابل‌توجهی با آلل B مرتبط بود (Yogesh et al., 2021). در پژوهش‌های Traore و همکاران (2023) در برزیل فراوانی ژنوتیپی AB، BB و AA به‌ترتیب ۰/۵۰، ۰/۴۱ و ۰/۰۹ به‌دست آمد و دام‌های با ژنوتیپ AB بیش‌ترین تولید روزانه شیر را داشتند. در پژوهش‌های ناظمی و همکاران (۱۳۹۶) بر روی گاوهای بومی گیلان انجام گردید فراوانی ژنوتیپ‌های AA، AB و BB به‌ترتیب ۰/۴۸، ۰/۵۲ و ۰/۰۰ به‌دست آمد. تولید شیر روزانه گاوهای با ژنوتیپ AA در مقایسه با گاوهای با ژنوتیپ AB بیش‌تر بود (به میزان ۰/۸۱ کیلوگرم در روز). هم‌چنین درصد چربی و پروتئین شیر گاوهای دارای ژنوتیپ AB نسبت به گاوهای با ژنوتیپ AA بیش‌تر بوده است (به‌ترتیب ۰/۱ و ۰/۱۴). زکی زاده و همکاران (۱۳۹۳) فراوانی ژنوتیپ‌های AA، AB و BB را در گاوهای براون سوئیس به‌ترتیب ۰/۱۹، ۰/۳۵ و ۰/۴۶ به‌دست و فراوانی آلل‌های B و A را به‌ترتیب ۰/۶۳۵ و ۰/۳۶۵ به‌دست آوردند که با وجود یکسان بودن نژاد با نتایج این پژوهش مطابقت نداشت ولیکن همانند این پژوهش رابطه بین ارزش‌های اصلاحی تولید شیر با انواع ژنوتیپ معنی‌دار نشد.

در پژوهش‌های Tsiaras و همکاران (2005) فراوانی B و A برای گاوهای هلشتاین به‌ترتیب ۰/۴۸ و ۰/۵۲ و فراوانی ژنوتیپی AB، BB و AA به‌ترتیب ۰/۲۴۵، ۰/۴۷۱ و ۰/۲۴۸ به‌دست آمد که با نتایج این پژوهش مشابه بود. در پژوهش‌های Ünal & Kopuzlu (2022) بر روی نژاد سمینتال فراوانی ژنوتیپ AA، AB و BB به‌ترتیب ۵۷/۱۴، ۳۲/۸۶ و ۱۰ درصد و فراوانی آللی برای آلل A و B به‌ترتیب ۰/۷۴ و ۰/۲۶ به‌دست آمد که با نتایج این پژوهش مطابقت نداشت. پژوهش‌های Nilsen و همکاران (2009) نشان داد که بلوک هاپلوتیپی CSN1-CSN2-CSN3 اثر معنی‌داری بر روی پروتئین و میزان تولید شیر دارد. در صورتی که بلوک CSN3 هیچ اثر معنی‌داری بر روی عملکرد تولید شیر نداشت. بسیاری از گزارش‌ها هیچ اثر معنی‌داری برای ژنوتیپ‌های کاپاکازئین بر روی تولید شیر گزارش نکرده‌اند. درحالی‌که

برخی گزارش‌های اثر معنی‌داری برای ژنوتیپ AB کاپاکازئین بر روی تولید شیر گزارش نموده‌اند. در پژوهش‌هایی که Pishchan & Sylychenko (2021) بر روی ۱۱۱ گاو در سوئیس انجام گردید فراوانی ژنوتیپ AA، AB و BB به ترتیب ۵/۹، ۴۳/۱ و ۵۱ درصد و هتروزایگوسیتی مشاهده شده ۰/۴۳ و موردانتظار ۰/۴۰ به دست آمد. در پژوهش‌های Ünal & Kopuzlu (2022) فراوانی ژنوتیپ و آلل تعیین شده برای چند شکلی ژن CSN3 را برای آشکارکردن تنوع ژنوتیپی نژاد سمینتال کافی دانستند و مشخص گردید که رابطه ژنوتیپ‌های CSN3 تنها با تولید شیر ۳۰۵ روز معنی‌دار است. از نظر ارتباط بین ژنوتیپ‌های CSN3 و برخی از صفات عملکردی مشخص شد که حیوانات با ژنوتیپ BB دارای مزیت اقتصادی در داخل گله هستند و از CSN3 می‌توان برای انتخاب به کمک نشانگر (MAS) در این زمینه استفاده کرد.

گزارش‌های متناقض زیادی از ارتباط انواع آلل‌های کاپاکازئین با تولید شیر وجود دارد. این تناقض‌ها ممکن است به دلیل در نظرنگرفتن صحیح ساختار جامعه از جمله روابط خویشاوندی، انتخاب و به‌گزینی نژاد، اثر متقابل ژنتیک و محیط، اثر ژن‌های پیوسته، پلیوتروپی، تعداد کم نمونه، فراوانی کم برخی آلل‌ها، مدل آماری و یا داده‌های نامتعادل باشند.

۵. نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش روی جایگاه ژنی کاپاکازئین نشان می‌دهد که در این نژاد فراوانی آلل B و ژنوتیپ‌های AB و BB نسبت به سایر نژادها بیش‌تر است. بیش‌تر شیر تولیدشده در این شهرستان و مناطق اطراف جهت تولید انواع پنیر مورداستفاده قرار می‌گیرد و این موضوع اهمیت عوامل مؤثر بر فرایند تولید پنیر که سبب افزایش راندمان محصول می‌شود را نشان می‌دهد. با توجه به این‌که آلل B این جایگاه ژنی انعقاد سریع‌تر و استحکام بیش‌تر دلمه را که از ویژگی‌های مطلوب در صنعت پنیرسازی می‌باشد را سبب می‌شود لازم است که انتخاب ژنوتیپ‌های مطلوب را به‌عنوان یکی از صفات موردنظر در شاخص انتخاب‌های برنامه‌های اصلاح نژادی و تعیین اسپرم در زمان تلقیح در نظر گرفت.

۶. ملاحظات اخلاقی

نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این پژوهش علمی رعایت نموده‌اند و این موضوع مورد تأیید همه آن‌هاست.

۷. مشارکت نویسندگان

سهیل میرحبیبی: طراحی پژوهش، تحلیل داده‌ها، تهیه گزارش نهایی و نگارش مقاله؛
حسین عمرانی: طراحی پژوهش، نظارت بر انجام آزمایش‌ها و جمع‌آوری داده‌ها، تهیه گزارش نهایی و نگارش مقاله؛
حامد اسدالهی: مشارکت در طراحی پژوهش، انجام آزمایش‌ها و جمع‌آوری داده‌ها؛
مجتبی حقیقت: مشارکت در طراحی پژوهش و نگارش مقاله.

۸. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۹. حامی مالی

این کار طرح مشترک مؤسسه تحقیقات علوم دامی و دانشگاه آزاد اسلامی واحد گلیپایگان می‌باشد.

۱۰. تشکر و قدردانی

از شرکت سهامی زراعی گلپایگان به خاطر تأمین امکانات برای انجام پژوهش حاضر، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۱۱. منابع

وفايي، هنگامه و حسين پور مجتبی (۱۳۹۵). بررسی ارتباط چند شکلی تک نوکلئوتیدی ژن STAT1 با صفات تولیدی شیر گاو براون سوئیس. *مجله تولیدات دامی*، ۱۸ (۳)، ۳۷۷-۳۸۶.

دادار محسن (۱۳۸۲). مقایسه عملکرد تولید شیر و صفات تولید مثلی گاو هلشتاین و براون سوئیس در شرایط پرورش صنعتی. *گزارش نهایی طرح تحقیقاتی*.

زکی‌زاده، سونیا؛ غلامی، هادی؛ وکیلی، رضا و قدس محسن (۱۳۹۳). تأثیر چندشکلی ژن کاپاکازین بر ارزش اصلاحی صفات تولیدی شیر گاو براون سوئیس. *نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان*، ۲ (۲)، ۱۳۷-۱۴۸.

ناظمی، فردین؛ میرحسینی، سید ضیال‌الدین؛ قوی حسین‌زاده، نوید؛ دهقان‌زاده، هوشنگ و مهدی‌زاده، مختار (۱۳۹۶). ارتباط چندشکلی ژن کاپاکازین با صفات اقتصادی شیر در گاوهای بومی استان گیلان. *تحقیقات تولیدات دامی*، ۱۶ (۱)، ۶۱-۵۳.

References

- Aleandari, R., Buttazoni, G., Schneider, J. C., Caroli A., & Davoli R. (1990). The effect of milk protein polymorphisms on milk components and cheese producing ability. *Journal Dairy Science*, 73, 241-255.
- Bangar, Y.A., Magotra, A., Chauhan, A., & Yadav, A.S. (2021). Genetic polymorphisms of kappa casein gene and its association with milk and composition traits in cows: An updated meta-analysis. *Meta Gene*, 30. Journal homepage: www.elsevier.com/locate/mgene
- Celik, S. (2003). β -lactoglobulin genetic variants in Brown Swiss breed and its association with compositional properties and rennet clotting time of milk. *Int Dairy J*, 13, 727-731.
- Dadar, M. (2003). Comparison of milk production performance and reproductive traits of Holstein and Brown Swiss cows under industrial breeding conditions. *Research project report*. (In Persian).
- Dogru, U., & Ozdemir, M. (2009). Genotyping of kappa-casein locus by PCR-RFLP in Brown Swiss cattle breed. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(4), 779-781.
- Gibson, K. D., & Dechow, C. D. (2018). Genetic parameters for yield, fitness, and type traits in US Brown Swiss dairy cattle. *J Dairy Sci*, 101(2), 1251-1257.
- Hedrick, P. (2011). *Genetics of Populations*. Jones & Bartlett Learning. p. 104. ISBN 978-0-7637-5737-3.
- Mahmoudi, P., Rostamzadeh, J., Rashidi, A., Zergani, E., & Razmkabir, M. (2020). A meta-analysis on association between CSN3 gene variants and milk yield and composition in cattle. *Anim. Genet*, 51 (3), 369-381.
- Nazemi, F., Mirhosseini, S. Z., Ghavi Hossein-Zadeh, N., Dehghanzadeh, H., & Mehdizadeh, M. (2017). Relationship between Kappa-Casein gene polymorphism with milk economic traits in native cattle of Guilan province. *Animal Production Research*, 6(1), 53-61. doi: 10.22124/ar.2017.2174 (In Persian).
- Nilsen, H., Olsen, H. G., & Hayes, B. (2009). Casein haplotypes and their association with milk production traits in Norwegian Red cattle. *Genetic Selection Evolution*, 41, 24.
- Ikonen, T., Ruottinen, O., Erhardt, G., & Ojala, M. (1996). Allele frequencies of the major milk proteins in the finnish Ayrshire and detection of new k-casein variant. *Animal Genetics*, 77, 179-181. doi: 10.1111/j.1365-2052.1996.tb00947.x.
- Pishchan, S. G., & Sylychenko, K. A. (2021). Characteristics of kappa-casein gene polymorphism in cows of Swiss breed and their pro-ductive qualities at a large dairy. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 12(3), 513-518. doi:10.15421/022170
- Samore, A., Rizzi, R., Rossoni, A., & Bagnato, A. (2010). Genetic parameters for functional longevity, type traits, somatic cell scores, milk flow and production in the Italian brown swiss. *Italian journal of animal science*, 19 (28), 145-152.
- Traore, M., Konate, D., Diarra, A.L., Tounkara, B., & Traore, D. (2023). Polymorphism of the Kappa Casein gene and milk production in cows resulting from crossbreeding with holstein or montbeliarde in the peri-urban area of Bamako. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 17(4), 1288-1297.

- Tsiaras, A. M., Bargouli, G. G., Banos, G., & Boscov, M. (2005). Effects of kappa-casein and β -lactoglobulin loci on milk production traits and reproductive performance of Holstein cows. *J. Dairy Sci*, 88, 327-334.
- Vafaei, H., & Hosseini pour Mashhadi, M. (2016). Association of single nucleotide polymorphism of STAT1 gene with milk production traits in brown Swiss cattle. *Journal of Animal Production*, 18(3), 277-286. (In Persian).
- Velmatov, A.P., Al-Isawi, A.A.H., Velmatov, A.A., Neyaskin, N.N., Tishkina, T.N., & Zelentsov, S.E. (2020). Kappa-casein gene polymorphism and its effect on milk of red and white cows for cheesemaking. *Plant Archives*, 20(2), 1182-1186.
- Ünal, H., & Kopuzlu, S. (2022). The relationships between κ -casein (CSN3) gene polymorphism and some performance traits in Simmental cattle. *Arch Anim Breed*, 28, 65(1), 129-134. doi: 10.5194/aab-65-129-2022. PMID: 35415213; PMCID: PMC8990363.
- Zakizadeh, S. Gholami, H., Vakili, R., & Ghods Rohani, M. (2014). The effect of Kappa casein polymorphism on milk production traits in Brown Swiss cattle. *Journal of Ruminant Research*, 2(2), 137-148. (In Persian).
- Zulkadir, U., Aytekin, I., & Pala, A. (2009). Genetic analyses for milk yield, lactation period and fat percentage in brown swiss cattle. *J Anim Vet Adv*, 8, 857-862.