



دانشکده علوم کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد

مطالعه چندشکلی ژن لاکتوفرین در گاو بومی استان گیلان و  
آمیخته‌های آن با هلشتاین

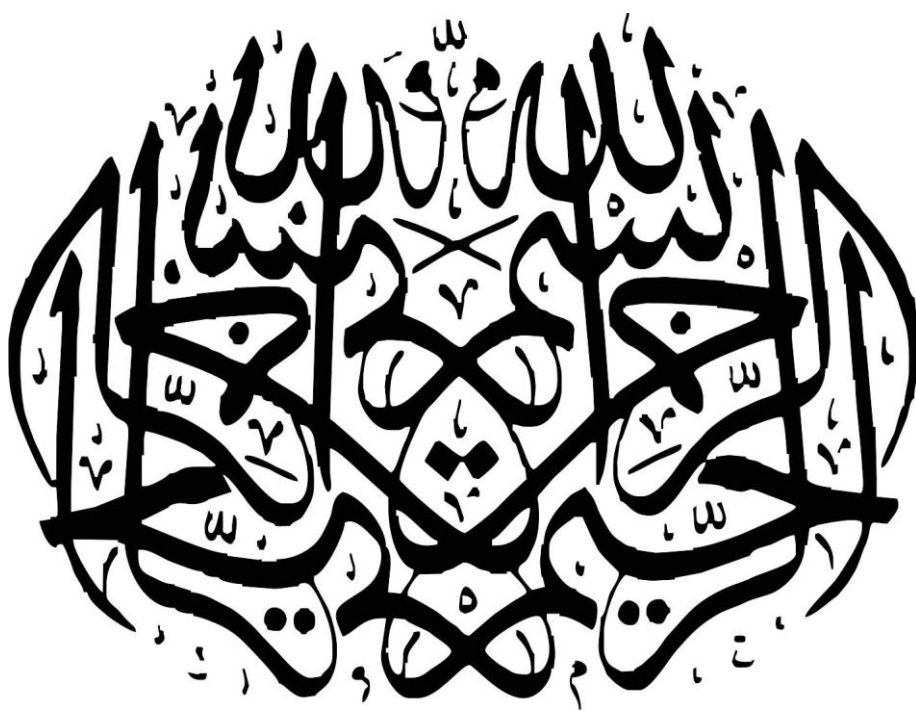
از:

محمد آیت‌اللهی

استاد راهنما:

دکتر سید حسین حسینی مقدم

مهر ۱۳۹۲



دانشکده علوم کشاورزی  
گروه علوم دامی  
(ژنتیک و اصلاح دام)

عنوان:

مطالعه چندشکلی ژن لاکتوفرین در گاو بومی استان گیلان و  
آمیخته‌های آن با هلشتاین

از:

محمد آیت‌اللهی

استاد راهنما:

دکتر سید حسین حسینی مقدم

استادان مشاور:

دکتر سید ضیاء‌الدین میرحسینی

مهندس حسین علائی

مهر ۱۳۹۲

تقدیم به:

معلم مهربانی‌هایم،

اگر چه من شاگرد خوبش نبودم

...

## سپاس‌گزاری

با تشکر و سپاس از جناب آقای دکتر سید حسین حسینی مقدم استاد راهنمای ارجمندم که با راهنمایی‌ها و کمک‌های مادی و معنوی خود در تمامی مراحل انجام این پایان‌نامه مرا یاری رساندند.

سپاس از جناب آقای دکتر سید ضیال‌الدین میرحسینی و جناب آقای مهندس حسین علایی که به عنوان اساتید راهنما از تجربیات و راهنمایی‌های ارزشمندشان بهره‌مند بودم.

سپاس از آقایان دکتر نوید قوی حسین‌زاده و دکتر محمدمهدی سوهانی که علاوه بر زحمت داوری و بازخوانی این پایان‌نامه، در بسیاری از مراحل انجام پایان‌نامه، لطف و راهنمایی‌های‌شان شامل حال اینجانب شده است.

سپاس از تمامی اساتید و آقایان مهندس ناصرانی مسول آزمایشگاه فیزیولوژی، مهندس حبیبی مسول آزمایشگاه تغذیه و مهندس رضادوست مسول آزمایشگاه بیوتکنولوژی و مرکزی که به هر نحو در مدت تحصیل، لطف‌شان در جهت رفع موانع علمی و غیرعلمی شامل حال اینجانب گردید.

سپاس از تمامی کارشناسان محترم اداره دامپزشکی و مرکز اصلاح نژاد گاو بومی استان گیلان به خصوص آقای دکتر صمتی و آقایان مهندس دولتی، جعفرزاده و رستمی که در بسیاری از مراحل نمونه‌گیری راهنمایی و کمک‌های فراوان‌شان شامل حالم گردید.

سپاس از پدر و مادر و سایر اعضا خانواده‌ام که در تمامی مراحل زندگی در کنارم بودند.

سپاس از تمامی کسانی که به عنوان همکلاسی، مدتی را با هم گذراندیم.

سپاس از کسانی که در مدت اقامت در شهر رشت، پدرانه، مادرانه، دوستانه و بزرگوارانه یاری‌ام کردند و در تمامی مراحل کنارم بودند.

## فهرست مطالب

عنوان	صفحه
مقدمه.....	۱
<b>فصل اول: کلیات و مرور منابع</b> .....	۴
۱-۱- اهلی شدن گاوها .....	۵
۱-۱-۱- رده بندی علمی گاوها .....	۵
۱-۱-۱-۱- گاوهای شیری .....	۵
۲-۱- اهمیت اقتصادی گاوها .....	۷
۱-۲-۱- شیر .....	۷
۳-۱- تفاوت‌های موجود بین گاوهای بومی، آمیخته و اصلاح شده .....	۸
۴-۱- تغییر شیر در حیوانات ترانس ژنیک .....	۱۱
۵-۱- مشکلات و بیماری‌های شایع در گاوهای شیری .....	۱۱
۱-۵-۱- بیماری ورم‌پستان .....	۱۲
۲-۵-۱- اهمیت اقتصادی ورم‌پستان .....	۱۳
۳-۵-۱- عوامل ایجاد ورم‌پستان .....	۱۳
۴-۵-۱- توسعه بیماری ورم‌پستان .....	۱۴
۵-۵-۱- روش‌های تشخیص و اندازه گیری شدت بیماری ورم‌پستان .....	۱۵
۶-۱- سلول‌های سوماتیک شیر .....	۱۶
۱-۶-۱- سلول‌های سوماتیک چیستند؟ .....	۱۷
۲-۶-۱- عمل سلول‌های سوماتیک .....	۱۷
۳-۶-۱- عوامل موثر بر تعداد سلول‌های سوماتیک .....	۱۸
۱-۳-۶-۱- سطح آلودگی غدديپستانی(ورم‌پستان) .....	۱۸
۲-۳-۶-۱- مرحله شیردهی .....	۱۹
۳-۳-۶-۱- سن و نژاد .....	۲۰
۴-۳-۶-۱- زایمان و فصل و استرس .....	۲۲
۵-۳-۶-۱- تغییرات روزانه .....	۲۳
۶-۳-۶-۱- نگهداری و انتقال شیر .....	۲۳
۴-۶-۱- روش‌های شمارش سلول‌های سوماتیک .....	۲۳
۵-۶-۱- اهمیت تعداد سلول‌های سوماتیک شیر .....	۲۳
۶-۶-۱- راه‌های کاهش تعداد سلول‌های سوماتیک در شیر .....	۲۵
۷-۶-۱- نگاهی به سایر موارد مدیریتی موثر بر تعداد سلول‌های سوماتیک شیر .....	۲۶
۷-۱- لاکتوفرین .....	۲۷
۱-۷-۱- خصوصیات ملکولی پروتئین لاکتوفرین .....	۲۷
۲-۷-۱- تاثیرات لاکتوفرین بر انواع مختلف عوامل بیماری‌زا .....	۲۸
۳-۷-۱- بیان لاکتوفرین .....	۳۰
۴-۷-۱- رابطه لاکتوفرین با سایر اجزا شیر .....	۳۲

۳۲	۵-۷-۱- وراثت پذیری لاکتوفرین
۳۲	۶-۷-۱- لاکتوفرین در شیر گاوهای آلوده
۳۳	۷-۷-۱- رابطه بین لاکتوفرین و باکتری‌های عامل ورم‌پستان
۳۴	۸-۷-۱- انتقال ژن لاکتوفرین
۳۴	۹-۷-۱- جهش‌ها در ژن لاکتوفرین
۳۵	۱۰-۷-۱- تاثیر لاکتوفرین بر تعداد سلول‌های سوماتیک شیر و ورم‌پستان
۳۸	<b>فصل دوم: مواد و روش‌ها</b>
۳۹	۱-۲- نمونه‌برداری
۳۹	۲-۲- استخراج DNA
۳۹	۱-۲-۲- بافرهای و محلول‌های مورد استفاده در استخراج DNA و نحوه عمل آن‌ها
۳۹	۱-۱-۲-۲- بافر جداکننده
۴۰	۲-۱-۲-۲- بافر تجزیه کننده
۴۰	۳-۱-۲-۲- آنزیم پروتئیناز K
۴۰	۴-۱-۲-۲- SDS ۱۰ درصد
۴۰	۵-۱-۲-۲- EDTA
۴۱	۶-۱-۲-۲- Triton X-100
۴۱	۷-۱-۲-۲- Tris Hcl:pH=8
۴۱	۸-۱-۲-۲- NaCl(5M)
۴۱	۹-۱-۲-۲- اتانول ۷۰ درصد
۴۱	۱۰-۱-۲-۲- اتانل مطلق
۴۱	۲-۲-۲- مراحل استخراج DNA از نمونه‌های خون پس از یخ‌گشایی
۴۲	۴-۲- ذخیره DNA
۴۲	۵-۲- تعیین ویژگی‌های کمی و کیفی DNA
۴۳	۱-۵-۲- جداسازی مولکول‌ها و تعیین کمیت و کیفیت DNA با ژل الکتروفورز
۴۴	۲-۵-۲- تعیین کمیت و کیفیت DNA با استفاده از روش جذب نوری
۴۵	۶-۲- واکنش زنجیره پلی‌مرز (PCR)
۴۵	۱-۶-۲- اجزای واکنش
۴۵	۲-۶-۲- بهینه‌سازی شرایط PCR
۴۶	۳-۶-۲- مراحل انجام PCR
۴۶	۷-۲- الکتروفورز محصولات PCR
۴۷	۸-۲- هضم محصول PCR با آنزیم
۴۷	۹-۲- بررسی محصولات هضم و ژنوتیپ‌ها در جمعیت
۴۷	۱۰-۲- جمع‌آوری اطلاعات گاوها و شیر تولیدی آنان
۴۸	۱۱-۲- تجزیه و تحلیل اطلاعات
۴۹	<b>فصل سوم: نتیجه و بحث</b>
۵۰	۱-۳- کیفیت استخراج DNA
۵۰	۲-۳- قطعه ژنی تکثیر شده
۵۱	۳-۳- هضم قطعه تکثیر شده با استفاده از آنزیم <i>MseI (TruI)</i>

۵۲	۴-۳- هضم قطعه تکثیر شده با استفاده از آنزیم <i>EcoRI</i> .....
۵۳	۵-۳- محاسبه فراوانی‌های ژنی و ژنوتیپی حاصل از هضم قطعه تکثیر شده با استفاده از آنزیم <i>EcoRI</i> .....
۵۷	۶-۳- اطلاعات تعداد سلول‌های سوماتیک شیر گاوهای مورد بررسی .....
۵۷	۷-۳- رابطه تعداد سلول‌های سوماتیک و ژنوتیپ لاکتوفیرین در حیوان .....
۵۹	۸-۳- رابطه تعداد سلول‌های سوماتیک و اثرات ثابت .....
۵۹	۱-۸-۳- رابطه امتیاز سلول‌های سوماتیک و سن حیوان .....
۶۱	۲-۸-۳- رابطه امتیاز سلول‌های سوماتیک و تعداد شکم زایش .....
۶۴	۳-۸-۳- رابطه تعداد سلول‌های سوماتیک و ماه شیردهی حیوان .....
۶۷	۴-۸-۳- رابطه تعداد سلول‌های سوماتیک و منطقه زندگی حیوان .....
۶۸	۵-۸-۳- تاثیر متقابل ژنوتیپ و سن بر امتیاز سلول‌های سوماتیک .....
۶۹	۶-۸-۳- تاثیر متقابل ژنوتیپ و تعداد شکم زایش بر تعداد سلول‌های سوماتیک .....
۷۰	۹-۳- نتیجه‌گیری .....
۷۳	پیشنهادات .....
۷۴	منابع .....



## فهرست جداول

صفحه	عنوان
۸	جدول ۱-۱- بازدهی تبدیل پروتئین خوراک به پروتئین فرآورده‌های حیوانی.....
۹	جدول ۲-۱- میانگین حداقل مربعات تولید شیر و مقدار چربی بر اساس درصدهای مختلف نژاد هلشتاین.....
۹	شکل ۳-۱- میانگین حداقل مربعات تولید شیر و مقدار چربی بر اساس درصدهای مختلف ژن نژاد براون سوئیس.....
۹	جدول ۴-۱- اثر نژاد، هتروزیس فردی و مادری بر صفات تولید شیر آمیخته‌های هلشتاین و براون سوئیس با بومی.....
۱۰	جدول ۵-۱- ترکیبات مهم شیر گاوها و گاومیش‌ها.....
۱۷	جدول ۶-۱- ترکیب سلول‌های سوماتیک در ترشحات مختلف پستانی.....
۲۰	جدول ۷-۱- متوسط تعداد سلول‌های سوماتیک در روز شیردهی و وضعیت آلودگی.....
	جدول ۸-۱- درصد گاوهای دارای حداقل یک کوارتر پستانی آلوده در کشت باکتریایی استافیلوکوکوس اورئوس با افزایش
۲۰	ماه شیردهی.....
۲۲	جدول ۹-۱- متوسط تعداد سلول‌های سوماتیک در سال شیردهی و وضعیت آلودگی.....
۲۲	جدول ۱۰-۱- تعداد سلول‌های سوماتیک چهار نژاد از گاوهای شیری هند.....
۲۴	جدول ۱۱-۱- رابطه امتیاز خطی، تعداد سلول‌های سوماتیک و کاهش تولید شیر.....
۲۵	جدول ۱۲-۱- تغییر ترکیبات شیر با افزایش تعداد سلول‌های سوماتیک.....
۲۹	جدول ۱۳-۱- تاثیرات لاکتوفرین بر انواع مختلف عوامل بیماری‌زا.....
۳۹	جدول ۱-۲- مواد تشکیل دهنده بافر جداکننده.....
۴۰	جدول ۲-۲- مواد تشکیل دهنده بافر تجزیه کننده.....
۴۳	جدول ۳-۲- مواد تشکیل دهنده یک لیتر بافر TBE.....
۴۵	جدول ۴-۲- مواد تشکیل دهنده بافر TE.....
۴۶	جدول ۵-۲- مخلوط واکنش به منظور انجام PCR.....
۴۷	جدول ۶-۲- مخلوط واکنش به منظور انجام هضم آنزیمی <i>EcoRI</i> .....
۴۷	جدول ۷-۲- مخلوط واکنش به منظور انجام هضم آنزیمی <i>MseI (TruI)</i> .....
۵۴	جدول ۱-۳- فراوانی ژنوتیپی مشاهده شده حاصل از جایگاه برش آنزیم <i>EcoRI</i> در گاوهای بومی و آمیخته.....
۵۴	جدول ۲-۳- فراوانی ژنی مشاهده شده جایگاه برش آنزیم <i>EcoRI</i> در گاوهای بومی.....
۵۴	جدول ۳-۳- فراوانی ژنی مشاهده شده جایگاه برش آنزیم <i>EcoRI</i> در گاوهای آمیخته.....
۵۵	جدول ۴-۳- فراوانی‌های ژنوتیپی و وضعیت تعادل هاردی-واینبرگ در گاوهای بومی.....
۵۵	جدول ۵-۳- فراوانی‌های ژنوتیپی و وضعیت تعادل هاردی-واینبرگ در گاوهای آمیخته.....
۵۷	جدول ۶-۳- ارتباط ژنوتیپ جایگاه مورد بررسی و امتیاز سلول‌های سوماتیک.....
۶۰	جدول ۷-۳- رابطه امتیاز سلول‌های سوماتیک و سن گاوهای بومی.....
۶۰	جدول ۸-۳- رابطه امتیاز سلول‌های سوماتیک و سن گاوهای آمیخته.....
۶۲	جدول ۹-۳- ارتباط میان امتیاز سلول‌های سوماتیک و تعداد شکم زایش گاوهای بومی.....
۶۲	جدول ۱۰-۳- ارتباط میان امتیاز سلول‌های سوماتیک و تعداد شکم زایش گاوهای آمیخته.....

- جدول ۱۱-۳- تاثیر ماه شیردهی بر امتیاز سلول‌های سوماتیک گاوهای بومی ..... ۶۴
- جدول ۱۲-۳- تاثیر ماه شیردهی بر امتیاز سلول‌های سوماتیک گاوهای آمیخته ..... ۶۴
- جدول ۱۳-۳- متوسط امتیاز سلول‌های سوماتیک شیر گاوهای بومی بر اساس منطقه نمونه‌گیری ..... ۶۷
- جدول ۱۴-۳- متوسط امتیاز سلول‌های سوماتیک شیر گاوهای بومی بر اساس منطقه نمونه‌گیری ..... ۶۷
- جدول ۱۵-۳- تاثیر متقابل ژنوتیپ و سن بر امتیاز سلول‌های سوماتیک در گاوهای بومی ..... ۶۸
- جدول ۱۶-۳- تاثیر متقابل ژنوتیپ و سن بر امتیاز سلول‌های سوماتیک در گاوهای آمیخته ..... ۶۸
- جدول ۱۷-۳- تاثیر متقابل ژنوتیپ و تعداد شکم زایش بر تعداد سلول‌های سوماتیک در گاوهای بومی ..... ۶۹
- جدول ۱۸-۳- تاثیر متقابل ژنوتیپ و تعداد شکم زایش بر تعداد سلول‌های سوماتیک در گاوهای آمیخته ..... ۶۹

## فهرست اشکال

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱- مقادیر چربی، پروتئین و لاکتوز در پنج نژاد جرسی، گرنزی، ایرشایر، براون سوئیس و هلشتاین.....	۱۰
شکل ۲-۱- توزیع تعداد سلول‌های سوماتیک در شیر گاوهای مبتلا به ورم‌پستان ساب کلینیکی.....	۱۹
شکل ۳-۱- رابطه بین تعداد سلول‌های سوماتیک و وضعیت آلودگی گاوها.....	۱۹
شکل ۴-۱- الگوی آلودگی به دو نوع باکتری استافیلوکوک اورئوس و استافیلوکوک اوبریس در بررسی دو نوع تولید شیر سنتی و ارگانیک در نیوزیلند.....	۲۱
شکل ۱-۳- تصویر چند نمونه از DNAهای استخراج شده با روش نمکی.....	۵۰
شکل ۲-۳- تصویر قطعه ژنی تکثیر یافته.....	۵۰
شکل ۳-۳- نمونه‌ای از محصولات تکثیر شده توسط PCR.....	۵۱
شکل ۴-۳- تصویر جایگاه برش آنزیم <i>MseI (TruI)</i> در قطعه ژنی تکثیر یافته.....	۵۱
شکل ۵-۳- نمونه‌ای از محصولات هضم شده توسط آنزیم <i>MseI (TruI)</i> .....	۵۲
شکل ۶-۳- تصویر جایگاه برش آنزیم <i>EcoRI</i> در قطعه ژنی تکثیر یافته.....	۵۲
شکل ۷-۳- نمونه‌ای از قطعات هضم شده با استفاده از آنزیم <i>EcoRI</i> .....	۵۳
شکل ۸-۳- رابطه امتیاز سلول‌های سوماتیک و سن حیوان.....	۶۰
شکل ۹-۳- رابطه امتیاز سلول‌های سوماتیک و تعداد شکم زایش.....	۶۲
شکل ۱۰-۳- رابطه تعداد سلول‌های سوماتیک و ماه شیردهی حیوان.....	۶۵
شکل ۱۱-۳- رابطه تعداد سلول‌های سوماتیک و منطقه زندگی حیوان.....	۶۷

## چکیده

## مطالعه چندشکلی ژن لاکتوفرین در گاو بومی استان گیلان و آمیخته‌های آن با هلشتاین

محمد آیت‌اللهی

جهت مقایسه یک جایگاه جهشی شناخته شده در لاکتوفرین در گاو بومی استان گیلان (نژاد تالشی) با آمیخته‌های نسل اول این نژاد با گاوهای هلشتاین و ارتباط آن با امتیاز سلول‌های سوماتیک شیر، از هر کدام از جمعیت‌ها تعداد ۱۰۰ راس گاو ماده بررسی گردید. در این مطالعه محصول PCR، قطعه‌ای ۳۰۱ جفت بازی از ژن لاکتوفرین بود که در اثر هضم با آنزیم *EcoRI* سه ژنوتیپ شامل AA (۳۰۱)، AB (۳۰۱ و ۲۰۱ و ۱۰۰) و BB (۲۰۱ و ۱۰۰) ایجاد می‌کند. هر سه ژنوتیپ در هر دو جمعیت مشاهده شد، بطوری‌که فراوانی ژنوتیپی مشاهده شده برای AA، BB و AB به ترتیب ۵۲، ۹ و ۳۹٪ در گاوهای بومی و نیز ۴۱، ۲ و ۵۷٪ در گاوهای آمیخته بود، بنابراین فراوانی آلی A و B به ترتیب در گاوهای بومی ۷۱/۵ و ۲۸/۵٪ و برای گاوهای آمیخته ۶۹/۵ و ۳۰/۵٪ محاسبه گردید. اگرچه گاوهای بومی در تعادل هاردی-واینبرگ بودند، ولی همانگونه که انتظار می‌رفت گاوهای آمیخته انحراف معنی‌داری را از حالت تعادل نشان دادند ( $p < 0/01$ ). ژنوتیپ BB کمترین و ژنوتیپ AB بیشترین تعداد سلول‌های سوماتیک را ایجاد می‌کند، به طوری که این اختلاف در گاوهای بومی معنی‌دار بود ( $p < 0/1$ ). تاثیر سن، تعداد زایمان و ماه شیردهی در هر دو گروه بر تعداد سلول‌های سوماتیک معنی‌دار بود ( $p < 0/1$ ). گاوهای بومی دارای میانگین تعداد سلول‌های سوماتیک پایین‌تری بودند که ممکن است به علت وضعیت ایمنی بهتر و یا تولید شیر پایین‌تر باشد. این تحقیق نشان داد که آمیخته‌گری فراوانی ژنی و ژنوتیپی را در ژنگاه مورد بررسی تغییر داده است.

کلمات کلیدی: تعداد سلول‌های سوماتیک، چندشکلی تک نوکلئوتیدی، ژن لاکتوفرین، گاو دورگ، گاو بومی.

## Abstract

### Study of lactoferrin gene polymorphism of Guilan province native cattle and its crosses by Holstein cattle.

Mohammad Avatollahi

To compare the effect of a lactoferrin SNP using *EcoRI* enzyme in native cattle of Guilan province in Iran and crosses of half native-half Holstein-Friesian on SCS, we study 100 from each other. PCR product was a 301bp that *EcoRI* digestion produced three genotype including AA (301), AB (301, 201 and 100), and BB (201 and 100 bp). All three genotypes was found in both populations, and genotypes frequencies for AA, BB and AB were 52, 9 and 39% for native cattles and 41, 2 and 57% for crossbred cattle, and so A and B alleles were calculated 71.5 and 28.5% for native cattle, but 69.5 and 30.5% for crossbred cattle, respectively. Although native cattle was at Hardy-Weinberg equilibrium, but as expected crossbred cattle significantly didn't show the equilibrium ( $p < 0.01$ ). BB had lower and AB had more SCS, and this effect was significant at native cattles ( $p < 0.1$ ). The effect of age, parity and lactation month for native and crossed breed cattles on SCS was significantly different ( $p < 0.1$ ). SCC mean was lower for native cattles (261 vs 138) that may related to better immune system or to lower milk productivity. This study showed that cross-breeding was changed gene and genotype frequencies at studied locus.

*Key words:* Bovine Lactoferrin gene, Cross-bred cattle, Native cattle, SNP, Somatic cell count.

مقدمه

## مقدمه

ورم‌پستان یکی از پرهزینه‌ترین بیماری‌ها در صنعت تولید شیر می‌باشد که توسط دامنه وسیعی از میکروارگانیزم‌ها ایجاد می‌گردد. متوسط هزینه هر مورد ورم‌پستان کلینیکی ۴۰ دلار در سال برای هر گاو می‌باشد [Hoblet et al., 1991]. این بیماری در غدد پستانی و با هجوم عوامل مختلف از طریق نفوذ از کانال سرپستانک ایجاد می‌گردد. مدت‌ها قبل تعدادی واکسن برای مبارزه با بعضی از عوامل ایجاد ورم‌پستان چون ای‌کولی ارائه شد [Dosogne et al., 2002]، ولی با وجودی که مقدار آنتی‌بادی سرم و شیر بعد از واکسیناسیون افزایش یافت، ولی کاهش چشم‌گیری در شدت و شیوع ورم‌پستان ای‌کولی مشاهده نشد [Tomita et al. 1998, 2000]. امروزه و با توجه به پیشرفت‌های اخیر در ژنتیک مولکولی، توجه زیادی به نقش ژن‌های دخیل در مبارزه با عوامل بیماری‌زا، چگونگی بیان و فرآورده‌های آنان معطوف گردیده است. امروزه برای غلبه بر این مشکل، بر روی ژن‌های ایجاد ایمنی همچون گیرنده شبه‌میله‌ای شماره ۴ (TLR4)، گاما-گلوبولین‌ها، اینترلوکین‌ها، لاکتوفرین و ... مطالعات فراوانی صورت می‌گیرد.

لاکتوفرین که به آن پروتئین قرمز نیز گفته می‌شود برای اولین بار از پروتئین‌های موجود در آب‌پنیر تفکیک و شناسایی گردید [Kutil, 2004]. این گلیکوپروتئین با وزن ملکولی ۸۰ کیلودالتون از ۶۹۰ اسیدآمینه تشکیل شده است. لاکتوفرین پروتئینی مهم و چندمنظوره بوده، که در شیر، بزاق، صفرا، اشک، ترشحات موکوسی و سلول‌های اپیتلیال وجود دارد. این ژن بر روی کروموزوم شماره ۲۲، و دارای ۱۷ اگزون است [Kaminski et al., 2006]. این پروتئین در مکانیسم‌های دفاعی بدن علیه ویروس‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها و انگل‌ها نقش داشته، از دو بخش N و C تشکیل شده، که هر یک دارای دو ناحیه کروی شکل و یک جایگاه اتصال به آهن هستند. اگزون ۴-۲ و نیز ۱۲-۹ قسمت اول منطقه کروی هر ناحیه و اگزون ۱۵-۱۲ قسمت بعدی هر ناحیه این پروتئین را تشکیل می‌دهد [Seyfert et al., 1994]. این پروتئین با بلوکه کردن یون آهن و عدم امکان دسترسی باکتری‌ها به آن، از رشد باکتری‌ها جلوگیری می‌کند. ولی تحقیقات بیشتر نشان داد که این پروتئین علاوه بر آن، توانایی جداسازی لیپوپلی‌ساکاریدها را از دیواره سلولی باکتری‌ها داشته و باعث اثر بهتر آنتی‌بادی‌ها و لیزوزوم‌ها می‌گردد [Pawlik et al., 2009].

غلظت لاکتوفرین شیر گاو‌ها از تمامی پستانداران دیگر کمتر است، ولی در زمان تولید آغوز و یا بروز عفونت باکتریایی، غلظت آن افزایش معنی‌داری می‌یابد [Li et al., 2004]. میزان غلظت آن در سلول‌های مختلف متفاوت است، به طوری که بیشترین آن در غدد پستانی و کبد، و کمی نیز در شش، کلیه و طحال می‌باشد. لاکتوفرین در غدد پستانی توسط سلول‌های اپیتلیال و نوتروفیل‌ها تولید شده، و وجود آن وابسته به مرحله رشد آلوتل‌ها بوده، با عواملی چون اسیدرتینوییک، استروژن و فاکتور مرگ‌توموری تغییر می‌یابد [Pawlik et al., 2009].

چندشکلی‌های زیادی در ژن لاکتوفرین در نواحی پروموتور، اگزون و انترون گزارش شده است [O'Halloran et al., 2009; Li et al., 2004]. حتی هر تغییر کوچک به صورت چندشکلی نوکلئوتیدی می‌تواند نقش مهمی در فرآیندهای ترجمه و مکانیسم‌های تنظیمی این ژن داشته باشد [Li et al., 2004]. همچنین ووجداک و همکاران [۲۰۰۶] نشان دادند از آنجا که ژنوتیپ AB باعث افزایش سلول‌های سوماتیک در شیر می‌شود، نتاج حاصل از تلاقی گاوهای بومی و هلشتاین دارای سلول‌های سوماتیک بیشتری در شیر خود هستند.

هدف از انجام این پژوهش بررسی وجود چندشکلی در ژن لاکتوفرین به عنوان یک ژن کاندید در مقاومت به ورم‌پستان و تعیین ارتباط آنها با میزان وقوع ورم پستان در گاوهای بومی و آمیخته، و مقایسه فراوانی های ژنی و ژنوتیپی در این دو جمعیت می‌باشد. لازم به ذکر است که تاکنون تحقیقی در این زمینه گزارش نشده است.



فصل اول:

کلیات و مرور منابع

### ۱-۱- اهلی شدن گاوها

انسان‌های نخستین با شکار حیوانات نیازهای غذایی خود را فراهم کرده و گوشت، پوست، شاخ و استخوان آنان را برای تغذیه، تهیه لباس، ظروف و ابزارهای دیگر استفاده می‌کردند. بشر شیوه زندگی خود را نزدیک به شش هزار سال پیش از میلاد تغییر داد، شکار حیوانات را کنار گذاشت، به زراعت پرداخت و به اهلی کردن حیوانات همت گماشت. انسان‌ها ابتدا گوسفند و بز را اهلی کردند و سپس موفق به اهلی کردن گاوهای وحشی گردیدند. کتیبه‌های به دست آمده در بین النهرین نشان می‌دهد که اهلی‌شدن گاوهای آسیا و خاورمیانه در حدود ۴۵۰۰ تا ۶۰۰۰ سال پیش از میلاد انجام گرفته است.

### ۱-۱-۱- رده بندی علمی گاوها

گاوها از خانواده بویده، زیر رده نشخوارکنندگان، از گروه پستانداران جفت‌دار هستند. این خانواده در برگیرنده چندین جنس است که جنس بس تمام گاوها و گاومیش‌ها را در بردارد. مهمترین گونه‌هایی که در این جنس دیده می‌شود، عبارتند از:

بس تاروس<sup>۱</sup>: گاوهای اهلی اروپایی بدون کوهان.

بس ایندیکوس<sup>۲</sup>: گاوهای کوهان‌دار هندوستان معروف به زبو.

بس گرونیئنس<sup>۳</sup>: گاو میش اهلی تبت موسوم به یاک.

بس بیزون<sup>۴</sup>: گاومیش وحشی آمریکای شمالی موسوم به بایسون آمریکایی.

بس بابیلوس<sup>۵</sup>: گاو میش اهلی هندوستان.

### ۱-۱-۲- گاوهای شیری

در یک گروه‌بندی کلی گاوهای شیری به دو گروه نژادهای خارجی و بومی تقسیم می‌گردند.

<sup>۱</sup>. *Bos taurus*

<sup>۲</sup>. *Bos indicus*

<sup>۳</sup>. *Bos grunniens*

<sup>۴</sup>. *Bos bison*

<sup>۵</sup>. *Bos bubalus*

از مهمترین نژادهای گاوهای خارجی می‌توان به نژادهای هلشتاین-فریزین<sup>۱</sup>، جرزی<sup>۲</sup>، گرنزی<sup>۳</sup>، ایرشایر<sup>۴</sup>، براون سوییس<sup>۵</sup> و شورت‌هورن شیری<sup>۶</sup> اشاره کرد.

هلشتاین‌ها امروزه به دلایل مختلف مهمترین و بهترین نژاد گاوهای شیری در دنیا محسوب می‌گردند. از خصوصیات عمده نژادی هلشتاین داشتن رنگ ابلق سیاه-سفید و نیز مقاومت در برابر سرما است. این نژاد برای تولید گوشت نیز مناسب است، چرا که دارای پستان‌های بزرگی است، بهترین گوشت را در بین سایر نژادهای شیری و نیز بزرگترین گوساله را در زمان تولد دارد. رنگ چربی گوشت آن روشن است، سرعت رشد نسبتا بالا و نیز توانایی زیاد در غذا خوردن دارد. این نژاد تقریباً ۲۰۰۰ سال قبل از میلاد در هلند ایجاد گردید. بسیار آرام و قابل تعلیم است، به دلیل آنکه برای تولید پنیر مورد نظر بوده است، خصوصیتی چون شیر زیاد و درصد چربی کمی را دارا است.

بر اساس آمار جمعیت و تولیدات دامی سازمان جهادکشاورزی سال ۱۳۹۱، استان گیلان ۸ درصد از کل گاوهای کشور را دارا می‌باشد که پس از مازندران و آذربایجان غربی در رتبه سوم قرار دارد. استان گیلان دارای ۳۵۰ هزار رأس گاو بومی، ۲۵ هزار رأس گاو اصلاح شده هلشتاین و ۲۹ هزار رأس گاو همیشه می‌باشد. اگر چه نژاد تالشی در استان گیلان جزو نژادهای گاو شیری برجسته در ایران محسوب نمی‌گردد، به دلیل سازگاری با شرایط آب‌وهوایی و منطقه‌ای، نقش برجسته آن در اقتصاد کشاورزی مردم این استان و دست نخورده بودن این نژاد نسبت به بسیاری از نژادهای کشور، می‌توان با اصلاح و بهبود آن چهره و دور نمای پرورش گاوهای شیری و اقتصاد مربوط به آن را به مقدار زیادی متحول کرد. در حال حاضر و با توجه به گسترش استفاده از علوم جدید در پرورش دام در کشور و استفاده از نژادهای خارجی برای افزایش تولید، بر اساس اطلاعات جمع‌آوری شده در سطح استان تعداد ۱۲۰ هزار رأس گاو آمیخته وجود دارد که در صورت بررسی خصوصیات و صفات مطلوب و تلاش جهت کاهش صفات نامطلوب آنان، می‌توان نژادی مقاوم و پرتولید به وجود آورد.

<sup>1</sup>. Holstein friesian cattle

<sup>2</sup>. Jersey cattle

<sup>3</sup>. Guernsey cattle

<sup>4</sup>. Ayrshire

<sup>5</sup>. Brown swiss

<sup>6</sup>. Milking shorthorn

## ۱-۲- اهمیت اقتصادی گاوها

می‌توان ادعا کرد که گاوها مهمترین حیواناتی بودند که به وسیله بشر اهلی شدند. فرآورده‌های گاوها از جمله شیر، گوشت، پوست، مدفوع تا اندام‌های درونی آنان هر یک موارد استفاده خود را دارند. پوست، چربی، مو، روده، مثانه، کلاژن، خون، شاخ، سم، استخوان، غدد، کود و ... از مهمترین موارد مورد استفاده در گاوها محسوب می‌گردند. گاوها نخستین حیواناتی بودند که به منظور استفاده از نیروی کارشان مورد استفاده قرار گرفتند، سپس فیل، شتر و اسب به تدریج به این منظور اهلی شدند.

تعداد کل گاوهای موجود کشور بالغ بر ۷ میلیون راس می‌باشد، که در تامین غذا، صادرات، اقتصاد و ایجاد اشتغال در کشور نقش فراوانی دارند. گاوهای بومی با تولید ۱۱۱/۹۸ هزار تن شیر و ۱۷/۴۷ هزار تن گوشت، گاو اصیل با تولید ۷۹/۱۱ هزار تن تولید شیر و ۲ هزار تن تولید گوشت، گاوهای دورگ با تولید ۱۲۶/۷۶ هزار تن شیر و ۷/۴۲ هزار تن تولید گوشت، و گاومیش‌ها با تولید ۱۷/۸۱ هزار تن شیر و ۱/۳۷ هزار تن گوشت سهم بالایی از اقتصاد جامعه روستایی استان گیلان در سال ۱۳۹۱ را تشکیل دادند. در مجموع می‌توان بیان داشت که ۳۳۵/۶۶ هزار تن از ۳۵۴/۲۸۶ هزار تن تولید شیر و ۲۸/۲۶ هزار تن از ۳۴/۶۱۵ هزار تن تولید گوشت به گاوهای اصیل، بومی، آمیخته و گاو میش‌های استان اختصاص داشته است (آمار جمعیت و تولیدات دامی سازمان جهادکشاورزی استان گیلان - سال ۱۳۹۱).

### ۱-۲-۱- شیر

شیر به عنوان کامل‌ترین غذا در طبیعت تعریف شده و تنها منبع غذایی برای نوزادان بیشتر پستانداران در طبیعت است. حیوانات وحشی در شرایط طبیعی به اندازه‌ای شیر تولید می‌کنند که برای تغذیه نوزادان‌شان کافی باشد. اما هزاران سال پیش انسان‌ها به اهمیت شیر به عنوان یک منبع غذایی پی برده و برای استفاده از شیر حیوانات به اهلی کردن‌شان پرداختند. شیر تامین‌کننده سه ماده مغذی مهم پروتئین، کلسیم و ریبوفلاوین در تغذیه انسان است. از طرف دیگر شیر در بین سایر فرآورده‌های حیوانی دارای بالاترین بازده تبدیل پروتئین خوراک به پروتئین حیوانی است (جدول ۱-۱). از اواسط دهه ۱۹۹۰ مصرف شیر سالانه به طور متوسط ۱۵-۱۰ میلیون تن در سال افزایش یافته است. در سال ۲۰۰۹ تولید شیر گاوها از ۴۶۰ به ۵۵۰ میلیون تن رسید. انتظار می‌رود نیاز شیر بین سالهای ۲۰۲۰-۲۰۰۷ افزایش ۲۵٪ داشته باشد.