علاقة جين اللاكتوفرين بإنتاج الحليب ومكوناته لدى أبقار الهولشتاين

ناطق حميد القدسي نادية وهبي شاكر
أستاذ مدرس مساعد
قسم الإنتاج الحيواني– كلية الزراعة– جامعة بغداد

المستخلص

نفذ البحث في حقل الأبقار التابع لقسم الإنتاج الحيواني ومختبر التقانات الإحيائية والفسلجة الحيوية في كلية الزراعة/ جامعة بغداد والاستعانة بمختبرات مختصة بتحاليل الوراثة الجزيئية للمدة من 2015/11/27 حتى 2016/4/1، بهدف تحديد التراكيب الوراثية لجين اللاكتوفرين وعلاقة هذه التراكيب بعدد من صفات الإنتاج والنمو لثمانية وعشرون بقرة هولشتاين ومواليدها، فضلا عند دراسة بعض المؤشرات المناعية. بلغت نسب توزيع التراكيب الوراثية لجين اللاكتوفرين في عينة الأبقار التي تمت دراستها 17.86 و82.14% لكل من التراكيب الوراثية AA وAB بالتتابع، وكان التباين بين هاتين النسبتين عالي المعنوية. كان التكرار الاليلي للأليل A هو 0.59 في حين كان التكرار للأليل B هو 0.41 على وفق تحليل جين اللاكتوفرين في الدراسة الحالية. كان تأثير التركيب الوراثي لجين اللاكتوفرين في إنتاج الحليب الكلي عالي المعنوية (P≤0.01)، إذ حققت الأبقار ذات التركيب الهجين AB إنتاجا من الحليب مقداره 2447.37 ± 209.06 كغم مقارنة بمثيلاتها ذات التركيب الوراثي AA والتي حققت إنتاجا مقداره 1205.70 ± 120.14 كغم، تأثرت نسبة الدهن والرماد في الحليب بصورة عالية المعنوية بالتركيب الوراثي لجين اللاكتوفرين، يمكن الاستنتاج من خلال دراسة التعبير الجيني لجين اللاكتوفرين إمكانية اعتماده في وضع خطط للتحسين الوراثي لدى الأبقار ذات الإنتاج العالي من الحليب، كما نوصي تطبيق الدراسة على عينة أكبر ولعدة مواسم إنتاجية من شأنه إعطاء نتائج أكثر دقة لتطبيق استراتيجية الاستبعاد والاستبدال.

مستل من رسالة الماجستير للباحث الثاني

الكلمات المفتاح: جين اللاكتوفرين، إنتاج الحليب، أبقار الهولشتاين.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences– 48(1): 375-381,2017 Alkudsi & Shaker

THE RELATIONSHIP OF LACTOFERRIN GENE WITH MILK PRODUCTION AND ITS COMPONENT IN HOLSTEIN COW

N. H. Alkudsi N.W. Shaker
Prof. Assist Lecturer
Dep. of Animal Production / College of Agriculture / Univ. of Baghdad

ABSTRACT

This resesrch was conducted at the Dairy Cattle Farm pertaining to the Department of Animal Production, College of Agriculture in Abu-Ghraib (20 km West of Baghdad) and Al-Jaderiah, as well as at the Biotechnology Physiology Laboratory at the College of Agriculture, University of Baghdad , Al-Jaderiah, and in collaboration with the Laboratory that specific for molecular genetic analysis during the period from 27/11/2015 to 1/04/2016. The objective of this study was to identify the polymorphism of lactoferrin gene and their relationship with some growth and productive traits for 28 Holstein cows and their borns, along with the study of some immunological indicators. The distribution percentages of lactoferrin gene polymorphism in cow's sample were 17.86 and 82.14 % for AA and AB respectively. The variation between these percentages were highly significant (P≤0.01). The allele frequency for A and B were 0.59 and 0.41 respectively, according to the lactoferrin gene analysis carried out currently. The effect of lactoferrin gene polymorphism on milk yield was highly significant (P≤0.01), being cows with AB yielded 2447.37 ± 209.06 kg, while those with AA yielded 1205.70 ± 120.14 kg. The lactation period has not significantly affected by lactoferrin gene polymorphism. The influence of lactoferrin gene polymorphism was obvious on milk fat (P≤0.01) and ash (P≤0.05) percentages, while other milk components (lactose, protein and solid non-fat) did not. It can be concluded from the study of gene expression for lactoferrin gene, the possibility of adopted them in cattle breeding strategy,. We also recommend to apply the study on a larger sample and for several productive lactions that will give more accurate results from the application of culling and replacement strategies.

Key words: Lactoferrin Gene , milk production, Holstein cow

المقدمة

يعتبر الحليب من المصادر الغذائية الضرورية للجسم لاحتوائه على العناصر الغذائية المهمة من المعادن والفيتامينات التي تفي بطلب المستهلك الذي يسعى للحصول على منتجات غذائية عالية الجودة . وقد عرف حقوق استهلاك الحليب في فرنسا عام 1909" الحليب على انه أنتاج متكامل من حليب متواصل لأنثى صحتها جيدة وبدون انقطاع وليس اكثر من طاقتها ولا يتضمن مرحلة أنتاج اللبأ ". يعد بروتين الحليب أفضل أنواع البروتينات الموجودة في الطبيعة لأنه سهل الذوبان وسريع الهضم والامتصاص كما انه يحتوي على جميع الأحماض الأمينية الضرورية والعناصر التي لا يمكن ان ينتجها جسم الأنسان ومن المهم ان نعرف أن البروتين يدخل في بناء جميع أنسجة الجسم . يتكون بروتين الحليب من الكازين والألبومين والكلوبيولين، ويعتبر اللاكتوفرين (Lactoferrin) (Lf) من البروتينات المهمة وجزء من كلوبينات المناعة، كما ويعد جزء من نظام المناعة الطبيعي الذي يتوزع بصورة عامة خلال سوائل الجسم والإفرازات الخارجية فضلا عن كونه نظام المناعة الفطري الأول (خط الدفاع لحماية الجسم من المسببات الخارجية معززا الحماية ضد الأمراض المعدية والالتهابات حيث ينتج من الخلايا الحبيبية العدلة (الخلايا البيضاء). تظهر المستويات العالية من اللاكتوفرين في اللبأ والحليب (11 و6) ويتم التحكم في كمية اللاكتوفرين المصنع في الغدة اللبنية التي تسيطر على در الحليب (8). وهذا التباين بمستوى Lf في الحليب خلال مرحلة الإدرار يقودنا إلى معرفة أين يكون مستواه اعلى من خلال تحليل التراكيب الوراثية للجين ولإنشاء قطعان ذات إنتاجية عالية بمستوى المناعة ومواليد بصحة جيدة . ولايزال الجدل قائما حول دور الـ Lf الذي يظهر في الية دفاع المضيف ضد المسببات المرضية ومن خلال أيض الحديد. ان عمليات التحسين الوراثي قد حققت مكاسب كبيرة عن طريق دراسة التراكيب الوراثية لهذه الحيوانات وذلك من خلال دراسة الجينات التي تؤثر على الإنتاج ومعرفة الطفرات الوراثية وربطها بالتركيب المظهري باستخدام تقانة PCR (تفاعل البلمرة المتسلسل) و (تعدد المظاهر لأطوال القطع مقيدة الطول RFLP) (Restriction Fragment Length Polymorphism) ،اذ تساعد في دراسة الجينات المطلوبة وتحديد التركيب الوراثي لكل حيوان وقراءة تسلسل القواعد النيتروجينية لـ DNA الحيوان واكتشاف وجود الطفرات (2 و10). ويمكن الاستفادة من هذه التقنيات في تحليل الواسمات الجزيئية وهي ذات أهمية كبيرة لاسيما عند تقييم السلالات (9) أذ أن تضمين معلومات مواقع الصفة الكمية (QTL – Quantitative Trait Loci) في التقييم الجيني يوفر إمكانات كبيرة في زيادة دقة الانتخاب وزيادة العائد الانتخابي في برامج التحسين الوراثي (18) ، وأفاد أيضا انه من خلال تحديد مواقع الصفة الكمية (QTL) وتحديد الواسمات المرتبطة بها يمكن التنبؤ بالتباين المظهري للصفات المراد تحسينها ، وفي وقت مبكر وبناء برامج الانتخاب على أساسها ، وهذه الواسمات عبارة عن طفرات وظيفية في الجينات المؤثرة في الصفات ومن أقدم الواسمات الوراثية التي استخدمت في برامج التربية هي الواسمات الشكلية (Morphological Markers) وتلتها الواسمات الكروموسومية ثم الواسمات الكيمياحيوية وأخيرا الواسمات الوراثية (Genetic Markers) التي تعتمد على المادة الوراثية (DNA)، وتفيد هذه التقنيات في الانتخاب وفي التربية الخارجية ودرجة التماثل الوراثي في داخل السلالة ودراسة الارتباطات بين الجينات الاقتصادية ذات الشكل الوراثي المتعدد وقابليتها الإنتاجية (15) ومن ثم فأنه من الممكن استخدام هذه الواسمات الجزيئية (13 و14) في الانتخاب والتحسين. ونظر لأهمية بروتين اللاكتوفرين في الجهاز المناعي الذاتي في سوائل الجسم ومنها الحليب جاءت فكرة الدراسة للبحث في الجين المؤثر في تركيز هذه المادة في الأبقار وربطه ببعض الصفات الإنتاجية التي لها الدور الكبير في صفات النمو للمواليد. ولقلة الدراسة في العراق عن هذا الموضوع فقد هدفت الدراسة الحالية إلى تسليط الضوء على دراسة تأثير المظاهر المتعددة لجين اللاكتوفرين في إنتاج الحليب ومكوناته لدى عينة من أبقار الهولشتاين ، بعد استخراج نسب توزيع تلك المظاهر والتكرار الاليلي.

المواد و طرائق العمل

أجريت التجربة على مجموعة من أبقار الهولشتاين فريزيان المرباة في الحقل الحيواني – كلية الزراعة– جامعة بغداد ، لغرض تحديد التراكيب الوراثية لجين اللاكتوفرين (Lactoferrin gene (Lf والتوصيف الجزيئي لمعرفة

التعدد المظهري للجين وعلاقته بإنتاج الحليب ومكوناته الرئيسة . أجريت التحاليل في مختبرات الدراسات العليا في كلية الزراعة – مختبر التقنيات الأحيائية والفسلجة ألحيوية – جامعة بغداد ومختبر جسر المسيب في الجادرية على عينات الدم للمدة من 27 /11 /2015 ولغاية 4/1 / 2016. تربى الابقار في الحقل في حظائر نصف مفتوحة ، تتباين التغذية باختلاف الموسم وتبعا لتوافر الاعلاف الخضراء واهمها الجت و والذرة الصفراء واحيانا البرسيم ، إذ يقدم العلف الاخضر بالكمية والنوعية المتوافرة أو العلف الخشن الجاف المتمثل بالدريس ومادة التبن وعلى وجبتين صباحية ومسائية، كما يقدم العلف المركز بكمية تتراوح بحدود 2 كغم/ حيوان في الوجبة وترفع هذه الكمية قبل الموسم التناسلي وفي اثنائه لتصل الى 3 كغم \ حيوان في الوجبة الواحدة للابقار الوالدة والحلوبة في اثناء الحلب.

جدول 1: المواد الكميائية المستعملة

ت	المادة	الشركة المصنعة والمنشأ
1	اكاروز Agarose	BIO BASIC
2	انابيب مانع التخثر EDTA مختلفة الأحجام	AFCO (Jordan)
3	محلول بفر منظم 10X TBE Buffer Solution	BIO BASIC
4	معلمات الحجم DNA ladder Marker	Bioneer(Korea)
5	صبغة برومو فينول الزرقاء Bromophenol Blue	Bioneer(Korea)
6	بوادئ Primers	Promega (USA)
7	عدة استخلاص الدنا extraction DNA kit	Promega (USA)
8	عدة تفاعل البلمرة المتسلسل	Pioneer (korea)
9	صبغة بروميد الاثيديوم Ethidium Bromide stain	BIO BASIC
10	الانزيم القاطع (EcoR1)	Pionee-Korea

سحب الدم

تم سحب عينات الدم من الأبقار بمقدار 10–15 مل دم من الوريد الوداجي من كل بقرة في الحقل الحيواني وتفريغها في أنابيب مانع التخثر EDTA حجم 10 مل ، إذ جمعت العينات بثلاث وجبات كل وجبة في يوم حسب توزيع الأبقار في الحظائر. تم تقسيم كل عينة من الدم إلى قسمين في أنبوبتين معلمة برقم كل بقرة، ,تم حفظ الدم في الأنابيب بدرجة حــرارة – 20 مْ لعدة أيام لحين استخدامها.

التحليل الجزيئي لجين اللاكتوفرين (Lf)

لغرض إجراء التحليل الجزيئي للجين Lactoferrin (Lf) على عينات الدم التي حفظت بالتجميد، وتمت التحاليل على ثلاث مراحل هي: المرحلة الأولى: استخلاص الحامض النووي الدنا DNA Extraction. المرحلة الثانية: استخلاص القطعة المطلوبة Target من جين اللاكتوفرين وتضخيمها (منتج الدنا DNA Product). المرحلة الثالثة : تقطيع القطعة المطلوبة لتحديد التراكيب الوراثية.

تحميل الـ DNA والترحيل الكهربائي

بعد تحميل العينات في الحفر الموجودة في الجل بواسطة الأنابيب الشعرية (Micropipette) وغمر الجل بمحلول 1X TBEوترحيل العينات بتشغيل جهاز الترحيل الكهربائي (Gel Electrophoresis) على طاقة كهربائية مقدارها 70 فولت وبتيار مقداره 40 ملي أمبير ولمدة ساعة. ثم حمل طبقة الجل المتكونة بعد انتهاء المدة المقررة بأداة خاصة إلى جهاز مطياف الأشعة فوق البنفسجية (UV Light Transillminator) لغرض الإنارة. ويمكن مشاهدة حزم DNA المتحركة من القطب السالب باتجاه القطب الموجب بوساطة العين، ثم تصور هذه الحزم فوق جهاز المطياف تسمى جهاز التوثيق الفوتوغرافي (Photo Documentation System)، اذ تظهر الحزم ملونة بصبغة بروميد الاثيديوم (Ethidium Bromide) بلون برتقالي أو وردي متألق مما يدل على وجود DN.

جدول 2. التوصيف الجزيئي لجين اللاكتوفرين Lf: تسلسل البرايمرات المستخدمة والتي جهزت من شركة Promega الامريكية

التسلسل		اسم الجين ومختصره
F: 5´- GCCTCATGACAACTCCCACAC -3´	Exon 17	Lf gene
R : 5' - CAGGTTGACACATGGGTTGAC -3'		

تحميل ناتج تفاعل البلمرة المتسلسل والترحيل الكهربائي عن طريق أنزيم القطع EcoR1(Restriction Enzyme)

بعد انتهاء تفاعل البلمرة التسلسلي تم التعرف على التراكيب الوراثية لجين الترانسفيرين في عينات الدم المأخوذة من الأبقار بعد الحصول على منتج الدنا(DNA Product)، إذ تم إجراء عملية التقطيع للقطعة المكثرة المطلوبة 301bp بالأنزيم المحدد (*EcoR1*) الذي يقوم بالتعرف على موضع معين ضمن تتابع معين من القواعد النيتروجينية من قطعة DNA المتضاعفة(الهدف) فيقطعها إلى قطعتين حجم احدهما 201bp وحجم الأخرى100bp. تم الحصول على هذا الأنزيم القاطع من شركة PIONEER الكورية بتركيز 20000 وحده لكل مول.

التحليل الإحصائي

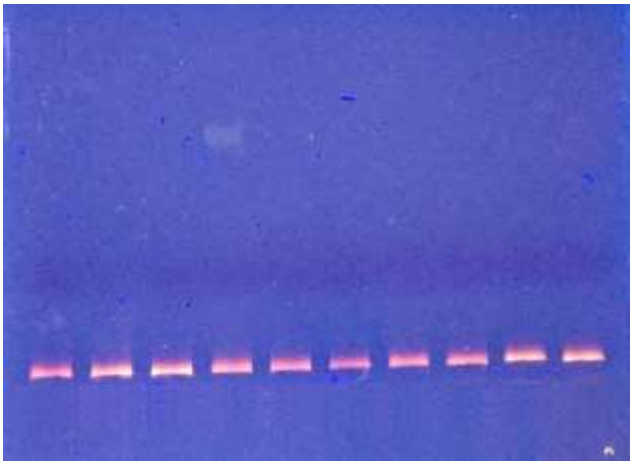
تم تحليل البيانات إحصائيا باستعمال البرنامج Statistical SAS– Analysis System (2012) لدراسة تأثير تعدد المظاهر الوراثية لجين اللاكتوفرين–في صفات إنتاج الحليب ومكوناته ، وقورنت المتوسطات الحسابية حسب اختبار(8) متعدد المديات.

الأنموذج الرياضي : للتحري عن علاقة تعدد المظاهر الوراثية لجين اللاكتوفرين في انتاج الحليب وتركيب الحليب.

$$Y_{ijkl} = \mu + G_i + P_j + S_k + e_{ijkl}$$

النتائج والمناقشة

استخلاص الدنا DNA Extraction



شكل 1 :استخلاص الـDNA

تم استخلاص الـ DNA كخطوة أولى لعزل القطعة الهدف لجين اللاكتوفرين بعد ذلك ضمن تقانة PCR وباستعمال العدة (Kit) وطريقة العمل المشار اليها في مواد وطرائق العمل وبعد ذلك تم ترحيل عينات بمقدار 10 مايكروليتر من عينة الـ DNA الممزوجة مع 2 مايكروليتر من صبغة التحميل في حفر هلام الاكاروز تركيز 1% وضبط الفولتية والتيار والزمن وتصوير ناتج الترحيل للتأكد من نجاح عملية استخلاص DNA كما في الشكل (1). تم استخلاص القطعة المطلوبة 301bp من جين اللاكتوفرين وتكثيرها (تضخيمها) بتقانة بلمرة التفاعل التسلسلي (PCR) للحصول على منتج الـDNA (DNA Product) باستخدام عدة الـPCR والبادئات (Primers) وعينات الـ DNAالمستخلصة وضبط جهاز الدورات الحرارية حسب ما مذكور في فصل مواد وطرائق العمل ، ثم بعد ذلك تم ترحيل عينة مقدارها 10 مايكروليتر من كل أنموذج في حفر هلام الاكاروز بتركيز 2.5% واستعمال قطع DNA معلومة الحجوم Ladder (100–1500 bp) في الحفرة الأولى من الجل بالمحلول المنظ 1x TBE وضبط الفولتية والتيار والزمن وتصوير ناتج الترحيل للتأكد من نجاح عملية التضخيم والحصول على القطعة المطلوبة بحجم 301bp .

استخدام تقانة RFLP بأنزيم التقييدEcoR1 لتحديد التراكيب الوراثية

حددت التراكيب الوراثية لحيوانات التجربة لجين اللاكتوفرين بتطبيق تقانة RFLP وأنزيم التقييد EcoR1 وحسب الطريقة المذكورة في مواد وطرائق العمل وترحيل 10 مايكروليتر في هلام الاكاروز تركيز 2.5 % وضبط الفولتية على 70 فولت وبتيار 40 ملي أمبير لمدة ساعة ونصف وتصوير ناتج الترحيل للتعرف على توزيع التراكيب الوراثية للحيوانات المدروسة حسب عدد وحجم الحزم المتكونة، إذ تم استخدام قطع DNA معلومة الحجوم (DNA Ladder 1500bp– 100) في الحفرة الأولى من الجل، وكما تظهر الحزم كما في الشكل (2). تمت عملية التقطيع بالأنزيم القاطع EcoR1 بعد التعرف على الموضع الحساس ضمن التتابع المعين من موقع القطع من قطعة الجين، لذا تشكلت من عملية التقطيع أما حزمة واحدة أو حزمتين أو ثلاث حزم من كل أنموذج يمكن مقارنتها مع حزم Ladder الدليل أو السلم، ذلك لان الأنزيم القاطع يقوم بعمله (التقطيع) في موقع تتابع الزوج القاعدي 301 bp من القطعة المطلوبة من الجين عند وجود الموضع المعين كما أوضحنا آنفاً، فقد تم التعرف على

التراكيب الوراثية (Genotype) لجين اللاكتوفرين في العينات المدروسة بهذه الطريقة وكما يلي:

1- إذا حصل التقطيع بالأنزيم القاطع في المكان السابق تتابع الزوج القاعدي 100bp في كلا الشريطين من القطعة فسوف تتكون قطعتين من كل شريط تظهر كحزمتين، حجم الحزمة الأولى 100bp والأخرى 201 bp وذلك لحصول تداخل كل حزمتين من الحجم نفسه من كلا الشريطين بحزمة واحدة، فان التركيب الوراثي لهذا الأنموذج يكون متماثلا (Homozygous) وهو يمثل التركيب الوراثي البري Wild (BB).

2-إذا حصل التقطيع في احد الشريطين دون الشريط الأخر فسوف تتكون ثلاث قطع أي ثلاث حزم، حزمة بحجم 100bp من احد الشريطين وحزمتين الأولى بحجم 201bp والأخرى بحجم 301 bp من الشريط الأخر يعني ان التركيب الوراثي لهذا الأنموذج هو التركيب الهجين (TC-Heterozygous) أي حصول طفرة في احد الشريطين أي تغير القاعدة A إلى القاعدة B في شريط دون الشريط الأخر.

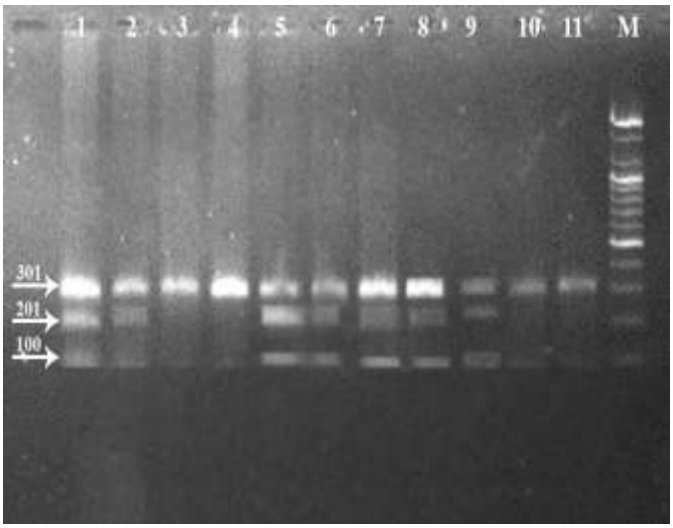
3- إذا لم يحصل التقطيع في كلا الشريطين فسوف تتكون حزمة واحدة بحجم 301 bp وذلك لتداخل الحزمتين معا بحزمة واحدة فهذا يعني ان التركيب الوراثي لهذا الأنموذج هو التركيب الوراثي النقي (AA) ، كما في الشكل1 الذي يوضح الحزم المتكونة في 11 أنموذج من عينات الأبقار المدروسة لتحديد تركيبها الوراثي.

التركيب الوراثي AA يظهر في الأعمدة 3 و4 و 10 و11

التركيب الوراثي AB يظهر في الأعمدة 1 و 2 و5 و6 و7 و8 .

توزيع التراكيب الوراثية لعينة اللاكتوفرين في عينة الأبقار المدروسة

يتبين من الجدول 1 العدد والنسب المئوية للتراكيب الوراثية لجين اللاكتوفرين في العينة المدروسة ، اذ يظهر فروق عالية المعنوية بين نسب التراكيب الوراثية المختلفة للأبقار والتي بلغت 17.68 و 82.14 للتراكيب AA و AB بالتتابع ، أي ان هنالك شيوعا واضحا للأفراد الهجينة (AB) مع تدني نسبة التركيب الوراثي السائد (AA) وانعدام التركيب الوراثي المتنحي (BB) في العينة . وهذا جاء متفقا مع دراسة Sharifzadeh,A.andA.Doosti (18) على أبقار الهولشتاين الإيرانية ومع دراسة Zielak-Steciwko (3) على أبقار الهولشتاين فريزيان الهولندية.



شكل 2 . الحزم المتكونة بعد عملية تقطيع أنزيم التقييد EcoR1 لتحديد التراكيب الوراثية لجين اللاكتوفرين

يتبين من الجدول 3 العدد والنسب المئوية للتراكيب الوراثية لجين اللاكتوفرين في العينة المدروسة ، اذ يظهر فروق عالية المعنوية بين نسب التراكيب الوراثية المختلفة للأبقار والتي بلغت 17.68 و 82.14 للتراكيب AA و AB بالتتابع ، أي ان هنالك شيوعا واضحا للأفراد الهجينة (AB) مع تدني نسبة التركيب الوراثي السائد (AA) وانعدام التركيب الوراثي المتنحي (BB) في العينة . وهذا جاء متفقا مع دراسة Sharifzadeh,A.andA.Doosti (17) على أبقار الهولشتاين الإيرانية ومع دراسة Zielak- Steciwko (19) على أبقار الهولشتاين فريزيان الهولندية بتعدد أشكال جين اللاكتوفرين وتاثيره في انتاج الحليب ومكوناته في ابقار الهولشتاين .

جدول 3 . العدد والنسب المئوية للمظاهر الوراثية (Polymorphism) لجين اللاكتوفرين في أبقار الهولشتاين قيد الدراسة

المظهر الوراثي (Polymorphism)	العدد	النسبة المئوية(%)
AA	5	17.86
AB	23	82.14
المجموع	28	% 100
قيمة مربع كاي (χ^2) ** ($P\leq0.01$)	---	** 11.5714

تأثير تعدد مظاهر جين اللاكتوفرين للأبقار في إنتاج الحليب الكلي وطول موسم الحليب: أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن التباين في إنتاج الحليب الكلي وطول موسم الحليب باختلاف التركيب الوراثي لجين اللاكتوفرين معنويا ، أذ حققت الأبقار ذات التركيب الوراثي الهجين AB اقصى معدل إنتاج حليب كلي (2447,37 ± 209,06 كغم) في حين بلغ معدل الإنتاج لدى التركيب الوراثي AA (1205,70 ± 120,14 كغم)، أما (3) فوجدت ان إنتاج الحليب الكلي لأبقار الهولشتاين الهولندية كان لصالح التركيب الوراثي AA . أما معدلات طول موسم الحليب فقد بلغ 182,00 ± 3.83 و 186,52 و 12,15 يوما للتراكيب الوراثية AA و AB على التوالي (جدول 4) أما Zielak-Steciwko وأخرون(19) وجدت ان إنتاج الحليب الكلي لأبقار الهولشتاين الفريزيان الهولندية كان لصالح التركيب الوراثي AA ، بينما كانت النسب في دراسة Maletić (12) للتركيب الوراثي السائد (AA) اكبر مقارنة بالتركيب الهجين (AB) اذ كانت 71.7% – 28.7% بالتتابع كما وجد في دراسة اخرى Asadollahpour (4) اذ كانت النسب للتركيب الوراثي السائد(AA) اكبر من التركيب الوراثي الهجين (AB) اذ كانت 0.606 و0.393 بالتتابع وتوافقت هذه النتائج مع دراسة Pawlik (15).

جدول 4 : تأثير تعدد مظاهر جين اللاكتوفرين في إنتاج الحليب الكلي وطول موسم الحليب (متوسط المربعات الصغرى ± الخطأ القياسي)

الصفة	التركيب الوراثي (Genotype) AA (العدد 5)	AB (العدد 23)	مستوى المعنوية
إنتاج الحليب الكلي (كغم)	b 120.14 ± 1205.70	a 209.06 ± 2447.37	**
طول موسم الحليب (يوم)	a 3.83 ± 182.00	a 12.15 ± 186.52	NS

المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن الصف الواحد تختلف معنويا فيما بينها.
** P<0.01 ، NS غير معنوي.

تأثير تعدد مظاهر جين اللاكتوفرين للأبقار في مكونات الحليب: يتضح من الجدول 5 ان نسبة الدهن تأثرت معنويا باختلاف المظاهر المتعددة لجين اللاكتوفرين أذ بلغت أقصاها (5.16± 0.33 %) لدى الأبقار ذات التركيب الوراثي AA ، بينما كانت نسبتها في التركيب الوراثي AB اقل اذ بلغت (3.09 ± 0.14) . أن ارتفاع نسبة الدهن لدى الأبقار ذات التركيب الوراثي النقي AA جاء متناغما مع انخفاض معدل إنتاج الحليب الكلي لدى الأبقار من هذا التركيب الوراثي كما ذكر أنفا (الجدول5) ، اذ ان زيادة كمية الحليب المنتجة عادة يرافقها انخفاض في نسبة الدهن. بلغت نسبة اللاكتوز في 4.42 ± 0.04 و4.46 ± 0.05 % في حليب الأبقار ذات التراكيب AA و AB بالتتابع، ولا توجد فروق معنوية هنا. أما نسبة البروتين فلم تتأثر معنويا باختلاف المظاهر المتعددة لجين اللاكتوفرين فقد بلغت نسبها 2,95 ± 0.03 و 2.98 ± 0.03 % بالتتابع (الجدول3)، أن نسبة المواد الصلبة غير الدهنية لم تتأثر معنويا باختلاف التركيب الوراثي اذ كانت نسبتها 8.06 ± 0.07 و 8.10 ± 0.10 بالتتابع ، يتبين من الجدول5ان نسبة الرماد تأثرت معنويا باختلاف التركيب الوراثي للجين ،اذ تفوق التركيب الوراثي النقي للجين AA على التركيب الوراثي الهجين AB وكانت نسبهما على التوالي 0.964 ± 0.007 و 0.566 ± 0.008 وكما حصل Ahmed (1)على النتيجة ذاتها في نسبة الدهن لأبقار الهولشتاين وكانت النتيجة لصالح التركيب الوراثي النقي كما أثبت Arnould (3) ان اللاكتوفرين يرتبط عكسيا مع نسبة الدهن بينما وجدت فروق معنويه في دراسة Maletić واخرون (13) ، فكان هناك اختلاف بنسبة البروتين في الحليب اذ كان اعلى في التركيب الوراثي AA مقارنة بالتركيب AB (3.29 – 3.22) على التوالي وأيضا بنفس الدراسة وجدت فورق في نسبة الدهن وكانت لصالح التركيب الوراثي AA وأيضا وجد ارتفاع بنسبة الدهن والبروتين ولصالح التركيب الوراثي النقيAA مقارنة بالهجين Adriannaواخرون(5) وكما وجدت في دراسة–Zielak Steciwko واخرون (19) اذ كان نسبة البروتين عالية لصالح التركيب الوراثي AA لأبقار Polish Red-White (PRW) مقارنة بالتركيب الهجينAB وفي نفس الدراسة وجد ان نسبة الدهن في الحليب كانت عالية في التركيب الوراثي الهجين AB مقارنة بالتركيب الوراثي النقي AA ولنفس الأبقار.

جدول 5 . تأثير تعدد مظاهر جين اللاكتوفرين في تركيب الحليب (متوسط المربعات الصغرى ±الخطأ القياسي)

الصفة (%)	التركيب الوراثي (Genotype) AA (عدد العينات 5)	AB (عدد العينات 23)	مستوى المعنوية
نسبة الدهن	a 0.33 ± 5.16	b 0.14 ± 3.09	**
نسبة اللاكتوز	a 0.04 ± 4.42	a 0.05 ± 4.46	NS
نسبة البروتين	a 0.03 ± 2.95	a 0.03 ± 2.98	NS
نسبة المواد الصلبة الغير دهنية	a 0.07 ± 8.06	a 0.10 ± 8.10	NS
ة الرماد	0.007 ± 0.964a	0.008 ± 0.566b	*

المتوسطات التي تحمل حروفا مختلفة ضمن الصف الواحد تختلف معنويا فيما بينها.

** (P<0.01) ، * (P<0.05)، NS: غير معنوي.

REFERENCES

1. Ahmed, J.R. 2015. Study of Genetic Polymorphism of Iron Transfer (Transferrin) and Hemoglob- in Type in Holsteincows for selection. M.Sc. Tesis. College of Agricu-lture.Universityof Baghdad.2,56-57. (in Arabic)

2. Alain, V. M. Dens, S. Magali, And. E. Andre. 2002.A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics Genet. Sel. Vol. 34 .

3. Arnould, H., Soyeurt, N. Gengler, F. G. Colinet, M. V. Georges, C. Bertozzi,D. Portetelle, and R. Renaville. 2009. Genetic analysis of lactoferrin content in bovine milk, American Dairy Science Association, J. Dairy Sci. 92:2151–2158.

4.Pawlik,A., G. Sender, and A. Korwin-Kossakowska. 2014. Bovine lactoferrin gene polymorphism and expressionin relation to mastitis resistance. Animal Science Papers and Reports vol. 27 : 4, 263-271

5.Asadollahpour Nanaei, H., S. Ansari Mahyari and M. A. Edriss , 2016. Single nucleotide polymorphism of the lactoferrin gene and its association with milk production and reproduction traits in Iranian Holstein cattle , Journal of Livestock Science and Technologies, 4 (1): 71-76.

6. Brock , J. H. 1980.Lactoferrin in human milk :Its role in iron absorption and protection against enteric infection in the newborn infant .Arch . Dis .Child.55:417.

7- Duncan D B., 1955. Multiple range and multiple F tests. Biometrics 11:1-42.

8- Green M.R., J.V., Pastewka , 1978. Lactoferrin is a marker for prolactin response in mouse mammary explants. Endocrinol-ogy 103, 1510–1513.

9- Igarashi, M.I.S.P., T.M. Machado, J.A. Ferro, and E.P.B. Contel, 2000. Structure and genetic relationship among Brazilian and imported goat breeds. Biochemical Genetics. 38: 353-365.

10- Liu, J. and J.F. Cordess, 2004 . DNA marker technology and their Applications in aquaculture genetics, Aquaculture238:1-37 .

11.Masson, P. L. and J. F. Heremans, 1971. Lactoferrin in Milk from Different species . Comparative Biochemistry and Phsiology, 39B: 119-129.

12. Maletić. M., Va kanjac slobodanka, djelić n, lakić nada, pavlović m, nedić svetlana and stanimirović z, 2013. ANALYSIS OF lactoferrin gene polymo phism and its association tomilk quality and mammary gland healt h in holstein-friesian cows, acta veterinaria (beograd), 63, 5-6: 487-498.

13. Montaldo, H.H. and C.A. Meza-Herrera, 1997. Use of molecular markers and major genes in the genetic improvement of Livestock. EJB Electronic Journal of Biotechnology 1(2):84-91 .

14. Nottenburg, C. and J. Shnqrples, 2004. Analysis of "junkDNA" patents.cambia and carol Nottenburg , Canberra ACT. Autralia, P:1-20.

15. Pawlik, A., G. Sender,and A. Korwin-Kosakowska, 2009. Bovi- ne lactoferrin gene polymorphism and expression in relation to mastitis resistance-review, Anim Sci Pat Rep,27, 263-71.

16. Rafay, J. 2001. Hybridization of broiler rabbit breeding: Habilitacna, Nitra: Spu.,255.

17. Sharifzadeh,A.andA.Doosti. 2011. Study of lactoferrin gene polymorphism in iranian holstein cattle using PCR-RFLP Technique, GloblalVeterinaria 6(6): 530-536.

18. Williams, J.L. 2005. The use of marker-assisted selection in animal breeding and biotechnology. Rev. Sci. Tech. off. Int. epiz.1(1):24

19. Zielak-Steciwko, A, E. EwaPecka. Marzena Kesek. Marian Kuczaj. Tadeusz Szuk. 2014. Changes in the proportion of proteins fractions depending On lacto-ferrinpol-ymorphism gene and the somatic cells count in the milk of polish Holstein-frisian and polish red-white cattle, veterin-arijair zootechnika (Vet Med Zoot). T.66(88).