

ارزیابی چند شکلی ژن پرولاکتین در گاوهای هلشتاین و آمیخته و ارتباط آن با صفات شیر در گاوهای هلشتاین

Evaluation of Prolactin Gene Polymorphism in Holstein and Crossbred Cattle and its Correlation with Milk Traits in Holstein Cattle

معصومه نظری^۱، جلال رستمزاده^{۲*}، امیر رشیدی^۳، عثمان عزیزی^۴ و زانا کریمی کردستانی^۵

تاریخ دریافت: ۹۱/۶/۵

تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۲/۱

چکیده

هدف از این پژوهش ارزیابی ارتباط بین ژنوتیپ‌های ژن پرولاکتین با صفات تولیدی شیر می‌باشد. در این مطالعه، ۱۴۵ گاو نژاد هلشتاین و ۶۰ گاو آمیخته مورد ارزیابی قرار گرفت. فراوانی‌های آلی و ژنوتیپی ژن پرولاکتین با قطعه ۲۹۴bp تکثیر شده از آگزون ۴ با استفاده از روش PCR-RFLP با آنزیم برشی RsaI تعیین گردید. ژنوتیپ GG بیشترین میزان فراوانی ژنوتیپی را در گاوهای هلشتاین (۰/۷۳۸) و آمیخته (۰/۵۸۸) داشت. همچنین میزان فراوانی آلی A و G در گاوهای هلشتاین به ترتیب ۰/۱۵۲ و ۰/۸۴۸ و در آمیخته-ها ۰/۲۳۳ و ۰/۷۶۷ بود. بیشترین میزان تولید شیر مربوط به گاوهای هلشتاین با ژنوتیپ AG بود. گاوهای با ژنوتیپ AA بیشترین درصد پروتئین شیر را دارا بودند ($P < 0/05$) ولی برای سایر صفات تولیدی شیر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0/05$). اثر این چند شکلی بر روی میزان تولید شیر و درصد پروتئین شیر معنی‌دار بود. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که این چند شکلی می‌تواند به‌عنوان نشانگر جهت انتخاب برای میزان تولید شیر و درصد پروتئین شیر در جمعیت مورد بررسی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: ژن پرولاکتین، گاو هلشتاین، گاو آمیخته، PCR-RFLP

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج
۲. استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج
۳. دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج
۴. استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج
۵. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج

* نویسنده مسوول Email: j.rostamzadeh@uok.ac.ir

خالص (متفاوت یا مختلف) حاصل می‌شود. بررسی روند تغییرات تعداد انواع گاو و گوساله (بومی، اصیل و دورگ) در کشور نشان می‌دهد جمعیت گاو بومی در حال کاهش و جمعیت گاو دورگ در حال افزایش است. شایان ذکر است از آنجا که گاوهای اصیل به علت سازگاری کمتر با شرایط خاص محیطی و نگهداری نسبت به گاوهای آمیخته، اغلب در گاوداری‌های صنعتی نگهداری می‌شوند و از وضعیت پایدارتری برخوردار هستند.

برایم و همکاران (Brym *et al.* 2005) به ارزیابی چند شکلی قطعه مورد نظر در دو نژاد black and white و جرسی پرداختند. روری و همکاران (Rorie *et al.* 2009)، ۳۰۰ گاو از چند نژاد مختلف را مورد ارزیابی قرار دادند و این چند شکلی را در نژادهای مورد بررسی خود مشاهده کردند. مهمان‌نواز و همکاران (Mehmannavaz *et al.* 2009) این چند شکلی را گاوهای نر در نژاد هلشتاین در ایران گزارش کردند.

هدف از این تحقیق بررسی چند شکلی ژن پرولاکتین و ارتباط آن با صفات مقدار شیر، مقدار چربی، مقدار پروتئین، درصد چربی و درصد پروتئین شیر با استفاده از تکنیک Polymerase Chain Restriction-Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) در گاوهای هلشتاین و آمیخته (۱/۲ هلشتاین × ۱/۲ بومی) غرب ایران و بررسی تعادل هاردی واینبرگ در این دو جمعیت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

خونگیری از ۱۴۵ گاو نژاد هلشتاین و همچنین ۶۰ گاو آمیخته طی سال‌های ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ در چهار استان غربی ایران (ایلام، کردستان، کرمانشاه و همدان) به صورت نمونه‌گیری تصادفی انجام گرفت. نمونه‌های خون به آزمایشگاه ژنتیک گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان منتقل و تا زمان استخراج DNA در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جهت استخراج DNA، از پروتکل استخراج نمکی استفاده شد (Miller *et al.* 1998). کمیت و کیفیت DNAهای استخراج شده با الکتروفورز روی ژل آگارز ۰/۸ درصد و اسپکتروفتومتری تعیین شدند. جهت تکثیر قطعه‌ی ۲۹۴bp ژن پرولاکتین از دو ۲ آغازگر روبه‌جلو و برگشتی به ترتیب با طول ۲۲ و ۲۳ باز استفاده شد (Brym *et al.* 2005).

آغازگر رفت:

5'- CCAAATCCACTGAATTATGCTT-3'

آغازگر برگشتی:

5'- ACAGAAATCACCTCTCATTCA- 3'

از کیت‌های آماده شرکت سیناژن جهت انجام این کار استفاده گردید. حجم نهایی برای PCR، ۲۰ μl بود. برای جلوگیری از

در گاوهای شیری یکی از مهمترین اهداف انتخاب، بالا بردن بهره‌وری و بهبود ترکیبات شیر می‌باشد. با به کار بردن تکنیک‌های مولکولی و تعیین ژن‌های اساسی مؤثر بر صفات تولیدی در دام‌ها، می‌توان کارایی برنامه‌های اصلاح نژاد را افزایش داد (Dybus *et al.* 2005). ژن‌های کد کننده پروتئین‌های شیر و هورمون‌ها به خاطر تأثیرات مهم بیولوژیکی، کاندیداهای خوبی برای نشانگرهای جایگاه‌های صفات کمی (Quantitative Trait Locus) مؤثر در تولید شیر می‌باشند. در میان هورمون‌های متعدد تنظیم‌کننده‌ی فرایند تولید شیر در گاو، پرولاکتین اهمیت زیادی دارد (Lien *et al.* 1997). ژن این هورمون به عنوان یک نشانگر ژنتیکی برای تولید شیر پیشنهاد شده است (Brym *et al.* 2005; Wojadac-Maksymiec *et al.* 2008). وجود پرولاکتین در هیپوفیز اولین بار در اوایل قرن بیستم توسط محققین فرانسوی کشف شد. این پژوهشگران نشان دادند، بخشی از هیپوفیز قادر به تحریک فرایند تولید شیر در خرگوش است. بعدها گروهی از محققان آمریکایی نتایج مشابهی را برای پرولاکتین مشاهده و این هورمون را به این اسم نامگذاری کردند (به نقل از Pearce *et al.* 2003). پرولاکتین هورمون پلی‌پپتیدی تک زنجیره‌ای، دارای ۱۹۹ اسید آمینه و به وسیله غدد آندوکراین ترشح می‌شود (Dybus *et al.* 2008; Wojadac-Maksymiec *et al.* 2005). ابتدا گمان می‌رفت که پرولاکتین به طور انحصاری توسط سلول‌های لاکتوتروف غده هیپوفیز پیشین ساخته می‌شود، اما در سال‌های اخیر مشخص شده است که ترشح آن توسط مغز، جفت، کیسه آمنیون، لایه‌های مخاطی و همچنین سلول‌های اپیتلیال غدد پستانی، تخمدان و جسم زرد نیز صورت می‌گیرد (Pearce *et al.* 2003; Wojadac-Maksymiec *et al.* 2008). این هورمون، با هورمون رشد تشابه زیادی دارد (Wojadac-Maksymiec *et al.* 2008). بیش از صد اثر مجزا و مختلف برای پرولاکتین در بدن گزارش شده است (Dybus *et al.* 2005). پرولاکتین نقش تنظیمی مهمی در توسعه غدد پستانی، ترشح شیر و بیان ژن‌های پروتئین شیر ایفا می‌کند (Horseman *et al.* 1997). هورمون‌های استروژن، پروژسترون و پرولاکتین به‌طور مستقیم بر روی غدد پستانی اثر می‌گذارند (Feuermana *et al.* 2006). همچنین این هورمون‌ها نقش مهمی در سنتز پروتئین شیر، لاکتوز، ترکیبات چربی و تمام ترکیبات اصلی شیر در گاو و سایر گونه‌های پستانداران دارند (Alipanah *et al.* 2007; Pearce *et al.* 2003).

گاو نژاد خالص خارجی مانند هلشتاین را به اصطلاح گاو اصیل می‌نامند. گاو آمیخته (دو رنگ) گاوی است که از تلاقی یک نژاد خالص (پدر) با گاوهای بومی یا آمیخته (مادر) یا تلاقی دو نژاد

دوشش و سن بلوغ)، مقدار پروتئین، مقدار چربی، درصد پروتئین و درصد چربی شیر تحت مدل آماری زیر مورد ارزیابی قرار گرفت.

$$Y_{ijkl} = \mu + HYS_i + A_j + G_k + e_{ijkl}$$

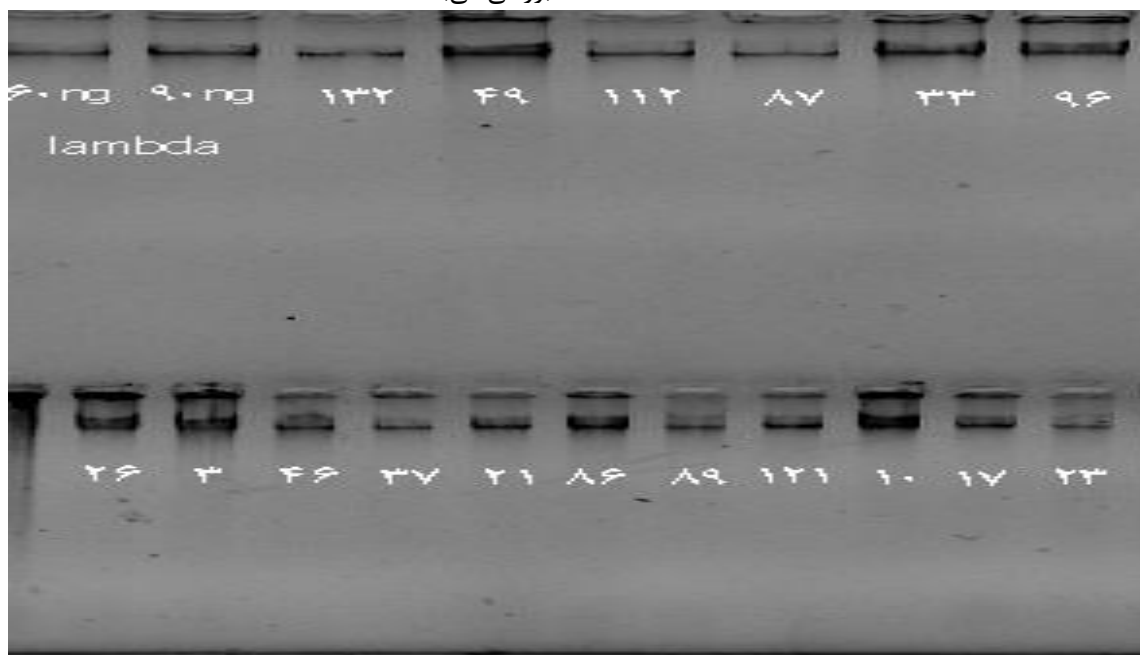
در این مدل:

Y_{ijkl} : صفت مورد نظر، μ : میانگین کل، HYS_i : اثر ثابت i امین گله، سال و فصل زایش، A_j : اثر ثابت j امین سن گاو، G_k : اثر ثابت k امین ژنوتیپ و e_{ijkl} : اثر خطای تصادفی می باشد. همچنین تفاوت میانگین‌های حداقل مربعات به روش توکی و در سطح خطای $P < 0.05$ مقایسه شدند.

نتایج و بحث

مقایسه نمونه‌های DNA استخراج شده با DNA لامبدا بر روی ژل آگارز ۰/۸ درصد و اسپکتروفتومتری انجام گرفت. نتایج حاصل نشان داد نمونه‌ها از غلظت مناسبی جهت انجام PCR برخوردار بودند. در نگاره ۱ نمونه‌هایی از DNA استخراج شده مشاهده می‌شود که اعداد در داخل نگاره مربوط به شماره نمونه‌های مورد بررسی می‌باشد.

تبخیر، یک قطره (۱۰۰µl) روغن معدنی به هر نمونه افزوده شد. چرخه‌های حرارتی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز شامل: واسرشت‌سازی اولیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه، تکثیر در ۳۵ چرخه (شامل مراحل: واسرشت در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال در ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و تکثیر در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه) و تکثیر نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه صورت گرفت. جهت اطمینان از عمل تکثیر و صحت واکنش، محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۸ درصد الکتروفورز شدند. قطعه‌ی تکثیر یافته حاصل از مرحله‌ی PCR به وسیله‌ی U ۱۰ آنزیم RsaI مورد برش آنزیمی قرار گرفت. سپس ژنوتیپ هر یک از نمونه‌ها مشخص گردید. فراوانی آللی و ژنوتیپی، تعادل هاردی واینبرگ، میزان فراوانی هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار و هتروزیگوسیتی مورد انتظار نئی با استفاده از نرم افزار PopGene V.1.31 برآورد گردید. ارتباط بین ژنوتیپ‌های مختلف ژن پرولاکتین با مقدار تولید شیر (تصحیح شده برای ۳۰۵ روز، دو بار

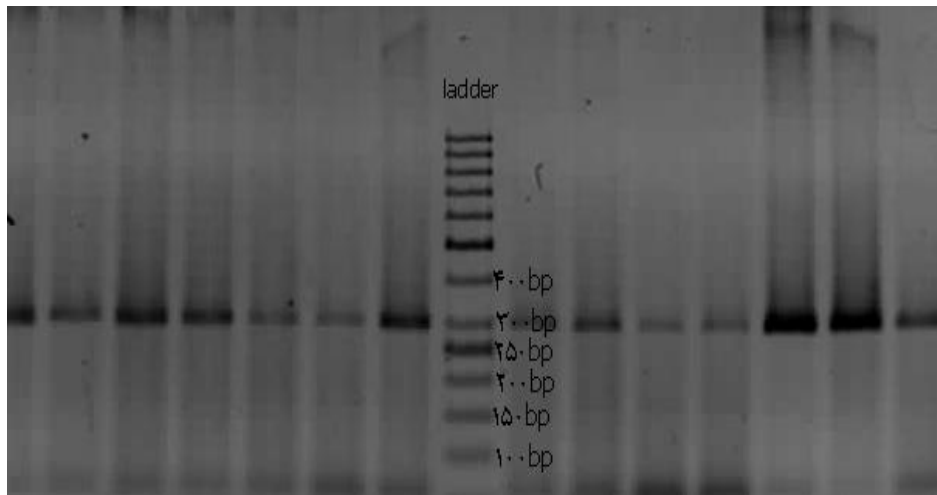


نگاره ۱: نمونه‌های DNA ژنومی استخراج شده به وسیله روش استخراج نمکی بر روی ژل آگارز ۰/۸٪

Fig 1: Extracted Genomic DNA sample by salting out method on the 0.8% agarose gel

قرار گرفتن باندهای تکثیر شده ژن پرولاکتین در نزدیکی باند ۳۰۰ جفت بازی DNA نشانگر، نشان‌دهنده صحت عمل تکثیر می‌باشد.

نگاره ۲ محصولات حاصل از تکثیر PCR را نشان می‌دهد. به منظور تایید صحت اندازه قطعه تکثیر شده، نمونه‌های حاصل از تکثیر PCR با DNA نشانگر (DNA Ladder 50 bp, Fermentas) بر روی ژل آگارز ۱/۸٪ الکتروفورز مقایسه شدند.

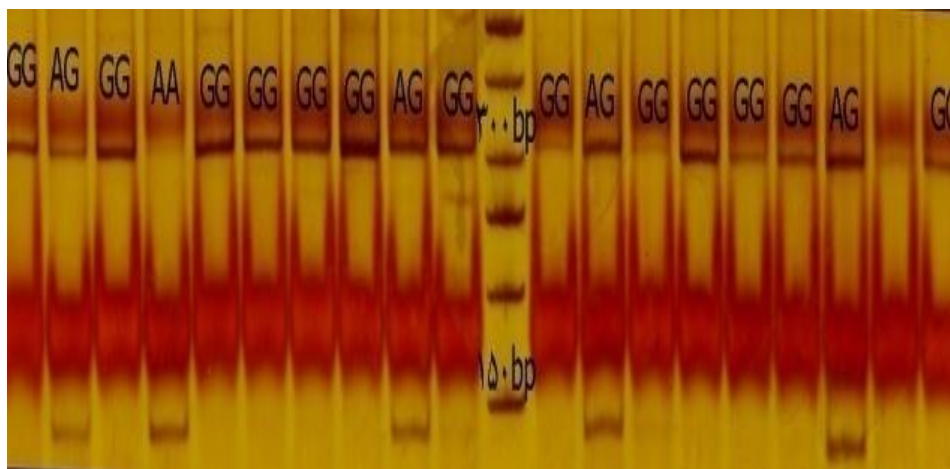


نگاره ۲: محصولات PCR مربوط به قطعه ۲۹۴ bp ژن پرولاکتین بر روی ژل آگارز ۱/۸٪.

Fig 2: 294-bp PCR product of Prolactin gene on 1.8% agarose gel

۲۹۴ جفت بازی (bp) ژن پرولاکتین با آنزیم RsaI دو الگوی هضمی، شامل الگوی G، با اندازه قطعه ۲۹۴ جفت باز (فاقد محل برش آنزیم) و الگوی A، با اندازه قطعات ۱۶۲ و ۱۳۲ جفت باز ایجاد کرد همه ژنوتیپ‌های مورد نظر شامل (GG=۲۹۴)، (AG=۱۳۲ و ۲۹۴،۱۶۲) و (AA=۱۶۲ و ۱۳۲) مشاهده گردیدند (نگاره ۳).

تا کنون بیش از بیست SNPs در توالی ژن پرولاکتین گزارش شده است. اگرچه بسیاری از این جهش‌ها خاموش و یا درون اینترون‌ها قرار دارند. با این حال جهش مورد مطالعه در این پژوهش (با تشخیص آنزیم برشی RsaI) می‌تواند به عنوان نشانگر ژنتیکی PCR-RFLP در جمعیت مورد استفاده قرار گیرد (Mehmannavaz et al. 2003). در برش قطعه



نگاره ۳: الگوهای باندهای حاصل از هضم آنزیمی بر روی ژل پلی اکریل آمید ۰/۸٪.

Fig 3: Restriction analysis of amplification products on 0.8% polyacrylamide gel

در گاوهای هلشتاین کمترین فراوانی ژنوتیپی مربوط به هموزیگوت AA و بیشترین فراوانی مربوط به ژنوتیپ GG بود. همچنین فراوانی آلل G در این نژاد بیشتر از آلل A برآورد شد. همچنین در گاوهای آمیخته کمترین فراوانی ژنوتیپی مربوط به هموزیگوت AA و بیشترین فراوانی مربوط به ژنوتیپ GG بود و فراوانی آلل G کمتر از آلل A در این نژاد برآورد شد. نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج برایم و همکاران (2005) در نژاد black and white، روری و همکاران (2009) در نژادهای

در جمعیت گاوهای هلشتاین از مجموع ۱۴۵ نمونه مورد بررسی ۶ نمونه مربوط به ژنوتیپ AA، ۳۲ نمونه مربوط به ژنوتیپ AG و ۱۰۷ نمونه مربوط به ژنوتیپ GG بود. همچنین در جمعیت گاوهای آمیخته مورد از مجموع ۶۰ نمونه مورد بررسی ۲ نمونه مربوط به ژنوتیپ AA، ۲۴ نمونه مربوط به ژنوتیپ AG و ۳۴ نمونه مربوط به ژنوتیپ GG بود. بدین ترتیب فراوانی‌های ژنوتیپی و آیا آلی برای این الگوی هضمی برآورد شد، که در جدول ۱ قابل مشاهده است.

علت این تفاوت‌ها را می‌توان به تعداد نمونه بررسی شده، تفاوت نژادها و برنامه‌های اصلاحی مختلف توسط دامپروران در نژادهای مختلف مرتبط دانست.

مورد بررسی و همچنین نتایج لو و همکاران (Lii *et al.* 2010) در گاوهای هلشتاین در چین مطابقت دارد. در حالی که با نتایج برایم و همکاران (2005) در نژاد جرسی مطابقت ندارد. همانطور که مشاهده می‌شود نتایج حاصل از مطالعات انجام شده در نژادهای مختلف متفاوت می‌باشد.

جدول ۱: فراوانی های ژنوتیپی و آلی ژن پرولاکتین در گاوهای هلشتاین و آمیخته

Table 1: Genotype and allele frequencies of Prolactin gene in Holstein and crossbred cattle

نژاد breed	فراوانی آلل Allele frequency		فراوانی ژنوتیپ Genotype frequency		
	A	G	GG	AG	AA
هلشتاین Holstein	0.152	0.848	0.738	0.221	0.041
آمیخته crossbred	0.233	0.767	0.588	0.358	0.054

چند شکلی بر روی میزان تولید شیر و درصد پروتئین شیر معنی دار بود. ملاحظه می‌شود که بیشترین میزان تولید شیر (۳۰۵ روز) مربوط به ژنوتیپ AG و کمترین میزان تولید مربوط به ژنوتیپ AA می‌باشد. از نظر آماری اختلاف معنی‌داری میان ژنوتیپ‌های GG و AG وجود ندارد. همچنین مشاهده می‌شود بیشترین میزان درصد پروتئین شیر مربوط به ژنوتیپ AA می‌باشد.

ارتباط بین ژن پرولاکتین با صفات تولیدی (درصد چربی، درصد پروتئین، میزان تولید چربی، میزان تولید پروتئین و میزان تولید شیر ۳۰۵ روز تصحیح شده برای ۳/۵ درصد چربی) در گاوهای هلشتاین مورد ارزیابی قرار گرفت و در جمعیت آمیخته این آنالیز به دلیل صحت پایین داده‌ها صورت نگرفت. نتایج حاصل از این ارزیابی در نژاد هلشتاین در جدول ۲ نشان داده شده است. اثر این

جدول ۲: ارتباط بین ژنوتیپ‌های ژن پرولاکتین و صفات شیر در گاوهای هلشتاین ($P < 0.05$)

Table 2: Relationship between genotypes of Prolactin gene and milk traits in Holstein cattle ($P < 0.05$)

ژنوتیپ genotype	تعداد number	تولید شیر (kg) MY(kg)	پروتئین (kg) Protein(kg)	چربی (kg) Fat(kg)	FCM(kg)	پروتئین % Protein%	چربی % Fat%
GG	74	8078.6±399.5 ^a	287.5±16.9	308.5±24.22	8777.1±557.1 ^a	3.4±0.1 ^b	3.5±0.2
AG	23	8499.2±431.8 ^a	318.7±19.2	326.1±27.6	9219.4±635.4 ^a	3.4±0.1 ^b	3.5±0.2
AA	3	6397.9±826.6 ^b	255.8±44.1	243.1±44.1	6517.8±1458.1 ^b	4.1±0.2 ^a	3.9±0.4

معنی‌داری که مشاهده شد، مربوط به گاوهای با ژنوتیپ AA بود که بیشترین میزان چربی شیر را دارا بودند. روری و همکاران (2009)، ۳۰۰ گاو از چند نژاد مختلف را مورد ارزیابی قرار دادند و بیان کردند که ژنوتیپ GG میزان تولید و پروتئین شیر بیشتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها دارا می‌باشد.

برایم و همکاران (2005) به ارزیابی چند شکلی قطعه مورد نظر در دو نژاد black and white و جرسی، همچنین ارتباط این چند شکلی با صفات تولیدی پرداختند و بیان کردند در نژاد black and white بیشترین میزان تولید و چربی شیر به ترتیب مربوط به گاوهای ژنوتیپ AG و GG می‌باشد. برای نژاد جرسی تنها تفاوت

سطح احتمال در دو جمعیت مورد بررسی برای ژن پرولاکتین بزرگتر از ۰/۰۵ بود، که نشان‌دهنده وجود تعادل در نمونه‌های مورد بررسی می‌باشد.

مقدار هتروزیگوتی مشاهده شده برای ژن پرولاکتین در جمعیت هلشتاین برابر ۰/۲۲ و این مقدار کمتر از میزان هتروزیگوتی مورد انتظار (۰/۲۶) بود. در جمعیت آمیخته مقدار هتروزیگوتی مشاهده شده برابر ۰/۴۰ و این مقدار بیشتر از میزان هتروزیگوتی مورد انتظار (۰/۳۶) بود. تفاوت آماری معنی‌داری بین این دو نسبت در جمعیت‌های مورد بررسی مشاهده نشد، بنابراین میزان تنوع در دو جمعیت مورد مطالعه در حد مطلوب می‌باشد.

با توجه به نتایج گزارش شده توسط محققین مذکور و مطابقت آن‌ها با نتایج این تحقیق می‌توان به این نتیجه رسید که این چند شکلی می‌تواند به‌عنوان نشانگر ژنتیکی جهت انتخاب دام‌های با تولید بالا در جمعیت مورد بررسی به کار برده شوند.

جهت بررسی تعادل هاردی واینبرگ در جمعیت‌های مورد آزمایش، آزمون χ^2 با استفاده از نرم افزار PopGene در سطح معنی‌دار ($P < 0/05$) انجام شد. مجموع χ^2 و سطح احتمال در نژاد هلشتاین ۳/۱۴ و ۰/۰۷۷ و برای گاوهای آمیخته ۰/۳۹ و ۰/۷۳ محاسبه شد.

میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و هتروزیگوسیتی مورد انتظار نئی برای هر جمعیت با استفاده از نرم افزار PopGene محاسبه گردید.

منابع:

جهت ملاحظه منابع به صفحه‌های ۱۰-۹ متن انگلیسی مراجعه شود.

Evaluation of Prolactin Gene Polymorphism in Holstein and Crossbred Cattle and its Correlation with Milk Traits in Holstein Cattle

Nazari¹, M., Rostamzadeh^{2*}, J., Rashidi³, A., Azizi², O. and Karimi Kurdistani¹, Z.

Abstract

The aim of this study was to survey the association between the Prolactin gene and milk performance traits. In the study 145 Holstein cattle and 60 crossbred cattle were used. The frequencies of allele and genotype in Prolactin gene has been recognized through PCR-RFLP using RsaI restriction endonuclease in 294-bp fragment located in exon 4. The GG genotype had the highest frequency in Holstein and crossbred cattle (0.738 and 0.588 respectively). Also frequencies of allele A and G were 0.152 and 0.848 in Holstein and 0.233 and 0.767 in crossbred cattle. Holstein cattle with AG genotype showed the highest milk yield. Dairy cattle with genotype AA showed the highest protein percentage ($P < 0.05$) while there were no significant differences between various genotype in this gene and other milk traits ($P > 0.05$). This polymorphism effect was significant for milk yield and protein percentage. The results of this study showed that this polymorphism could be a marker for selection for milk yield and protein percentage used in the population.

Keywords: Prolactin gene, Holstein cattle, Crossbred cattle, PCR-RFLP

References

- Alipanah, M., Kalashnikova, L. and Rodionov, G. 2007. Association of prolactin gene variants with milk production traits in Russian Red Pied cattle. *Iranian journal of Biothecnology*, 5(3): 158-161.
- Brym, P., Kaminski, S. and Wojcik, E. 2005. Nucleotied sequence polymorphism within exon 4 of the bovine prolactin gene and its association with milk performance traits. *Journal of Applied Genetics*, 45(2): 179-185.
- Brym, P., Malewski, T., Starzynski, R., Flisikowski, K., Wojcik, E., Rusc, A., Zwierzchowski, L. and Kaminski, S. 2007. Effect of new SNP within bovine prolactin gene enhancer region on expression in the pituitary gland. *Journal of Biochemical.Genetics*, 45: 743-754.
- Dybus, A., Grzesiak, W., kamieniecki, H., szatkowska, I., Sobek, Z., Blaszczyk, P., Czerniawska-Piatkowska, E., Zych, S. and Muszynska, M. 2005. Association of genetic variants of bovine prolactin with milk production traits of black-and-white and jersey cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 48(2): 149-156.
- Feuermana, Y., Mabjeesh, S. J., Niv-Spector, I., Levin, D. and Shamay, A. 2006. Prolactin affects Leptin action in the bovine mammary gland via the mammary fat pad. *Journal of Endocrinology*, 191: 407-413.
- Horseman, N. D., Zhao, W., Montecino-Rodriguez, E., Tanaka, M., Nakashima, K., Engle, S. J., Smith, F., Markoff, E. and Dorshkind, K. 1997. Defective mammopoiesis, but normal hematopoiesis, in mice with a targeted disruption of the prolactin gene. *Journal of EMBO*, 16: 6926-6935.
- Ladani, D. D., Pipalia, D. L., Brahmkshtri, B. P., Rank, D. N., Joshi, C. G., Vatalia, P. H. and Solanki, J. V. 2003. Prolactin genotyping of Indian buffalo breeds using PCR-RFLP. *Journal of Buffalo*, 2: 203-208.

1. M.Sc students, Department of Animal sciences, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj

2. Assistant Professors, Department of Animal sciences, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj

3. Associate Professor, Department of Animal sciences, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj

*: Corresponding Author

Email: j.rostamzadeh@uok.ac.ir

- Lü, A., Hu, X., Chen, H., Iang, J., Zhang, Ch., Xu, H. and Xu, X. 2010. Single nucleotide polymorphisms in bovine PRL gene and their associations with milk production traits in Chinese Holsteins. *Journal of Molecular Biology Reports*, 37:547-551.
- Mehmannavaz, Y., Amirinia, C., Bonyadi, M. and VaezTorshizi, R. 2009. Effects of bovine prolactin gene polymorphism within exon 4 on milk related traits and genetic trends in Iranian Holstein bulls. *African Journal of Biotechnology*, 8(19): 4797-4801.
- Miller, S. A., Dykes, D. D. and Polesky, H. F. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Reserch*, 16:1215.
- Pearce, S., Mostyn, A., Alves-Guerra, M. C., Pecqueur, C., Miroux, B., Webb, R., Stephenson, T. and Symonds, M. E. 2003. Prolactin, prolactin receptor and uncoupling proteins during fetal and neonatal development. *Journal of Proceeding of the Nutrition Society*, 62: 421-427.
- Rorie, R. W., Howland, E. M. and Lester, T. D. 2009. Evaluation of a polymorphism in the prolactin gene as a potential genetic marker for mastitis susceptibility and milk production. *Arkansas Animal Science Department Report Series*, 574: 32-34.
- Wojadac-Maksymiec, K. and Strzalaka, J. 2008. Prolactin gene polymorphism and somatic cell count in dairy cattle. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7(1): 35-40.