

علاقة التشكل الوراثي للطفرتين النقطيتين G2572T و G2688C على مورثة HSP70 بالصفات الإنتاجية لأبقار الهولشتاين

بشار ادهم أحمد*⁽¹⁾ وسن جاسم الخزرجي⁽²⁾

(1). قسم الإنتاج الحيواني، كلية الزراعة، جامعة ديالى، العراق.

(2). قسم الإنتاج الحيواني، كلية علوم الهندسة الزراعية، جامعة بغداد، العراق.

(*للمراسلة: بشار ادهم أحمد. البريد الإلكتروني: basharadh83@gmail.com).

تاريخ القبول: 2020/03/29

تاريخ الاستلام: 2020/02/27

الملخص

نفذ البحث في محطة أبقار تاج النهرين التابعة لمحافظة القادسية/قضاء الديوانية التي تبعد عن مركز محافظة بغداد 180 كم للمدة من (2018/3/19 إلى 2019/3/20) وأجريت التحاليل الوراثية الجزيئية في مختبر كلية علوم الهندسة الزراعية بجامعة بغداد، وأرسلت العينات إلى شركة Macrogen Corporation الكورية لقراءة تسلسل القواعد النيتروجينية لمورثة HSP70 وتم دراسة العلاقة بين التغيرات الوراثي الناشئ عن الطفرتين، مع صفات الحليب المتمثلة (إنتاج الحليب اليومي، وإنتاج الحليب الكلي، وقمة الإنتاج، والمثابرة على الإنتاج، وطول موسم الحليب) ومكونات الحليب (نسبة الدهن، والمواد الصلبة غير الدهنية، والكثافة، ونسبة البروتين، ونسبة اللاكتوز)، ومعامل التحمل الحراري (معامل التحمل الحراري للصيف، ومعامل التحمل الحراري للخريف، ومعامل التحمل الحراري للشتاء، ومعامل التحمل الحراري العام). بينت النتائج ظهور الطفرة الأولى (G2572T) بثلاث تراكيب وراثية (GG=26 GT=14 TT=13) وبتكرار أليلي (0.62 G و T 0.38)، أما الطفرة الثانية (G2688C) فقد ظهرت بتركيبين وراثيين (GG=50 GC=3) وبتكرار أليلي (0.97 G و 0.03 C)، ولم يظهر للطفرة الأولى (G2572T) تأثيراً معنوياً في صفات إنتاج الحليب، ولكن أثرت معنوياً في نسبة الدهن، إذ تفوقت الأفراد الحاملة للتركيب الوراثي الطافر TT كما تفوق التركيب الوراثي البري GG معنوياً في المواد الصلبة غير الدهنية والكثافة ونسبة البروتين ونسبة اللاكتوز ومعامل التحمل الحراري للخريف والشتاء، ومعامل التحمل الحراري العام على التركيبين الوراثيين GT و TT. في حين لم يكن للطفرة الثانية (G2688C) أي تأثير معنوي في جميع الصفات المدروسة.

الكلمات المفتاحية: أبقار الهولشتاين، معامل التحمل الحراري، مورثة HSP70.

المقدمة:

يمثل الإجهاد الحراري التعرض إلى درجات الحرارة المرتفعة لمدة قصيرة ومفاجئة أو لمدة طويلة من الزمن، كما أن الإجهاد الحراري يشير إلى الجمع بين كل العوامل التي تؤدي إلى اكتساب الحرارة وفقدانها في الجسم (Kumar *et al.*, 2011). ومن العوامل التي تؤدي إلى الإجهاد الحراري التي تؤثر في جسم الكائن الحي على المستوى الخلوي، مثل ارتفاع درجة الحرارة والرطوبة والتعرض المباشر للشمس أو الحرارة (Radakovic *et al.*, 2009). تمتلك الخلايا القابلية على مقاومة والتأقلم مع التغيرات المناخية وظروف الإجهاد المختلفة، وذلك من خلال امتلاكها لبعض الآليات الجزيئية القادرة على حماية الخلايا من تأثيرات الإجهاد الحراري، ومن أهم هذه الآليات الجزيئية التي يمتلكها الجسم، هي عائلة بروتينات الصدمة الحرارية (HSPs) ولا سيما بروتينات الصدمة الحرارية HSP70 التي لها دوراً كبيراً جداً في حماية الخلايا والمحافظة عليها عند تعرضها لظروف الإجهاد المختلفة (Guerreiro *et al.*, 2004). يعد هذا البروتين من أبرز البروتينات التي تنتج عند التعرض للإجهاد الحراري لما له من دور في أغلب الخلايا، وكثرة الوظائف التي يؤديها، واشتراكه مع كثير من بروتينات الصدمة الحرارية عند الحث بالعوامل المجعدة الأخرى، حيث يعمل كمراقب لتعزيز دفاع الخلية ضد الإجهاد الحراري ويمنع حدوث المسخ للبروتينات، وكذلك ينظم عملية الموت المبرمج للخلايا (Cai *et al.*, 2005) ولكون مورثة بروتين الصدمة الحرارية HSP70 هي أحد أهم آليات تحمل الإجهاد في الجسم، فإن التعدد الوراثي لها يرتبط بشكل مباشر ووثيق بقدرة الحيوانات على تحمل ظروف الإجهاد الحراري في الأبقار (Bhat *et al.*, 2016).

يهدف البحث إلى الكشف عن الطفرات في مورثة HSP70 في عينة أبقار الهولشتاين واستخراج نسب التوزيع التكراري وتكرار التراكيب الوراثية لها، والعلاقة بين هذه الطفرات وصفات إنتاج الحليب ومكوناته ومعامل التحمل الحراري.

مواد البحث وطرقه:

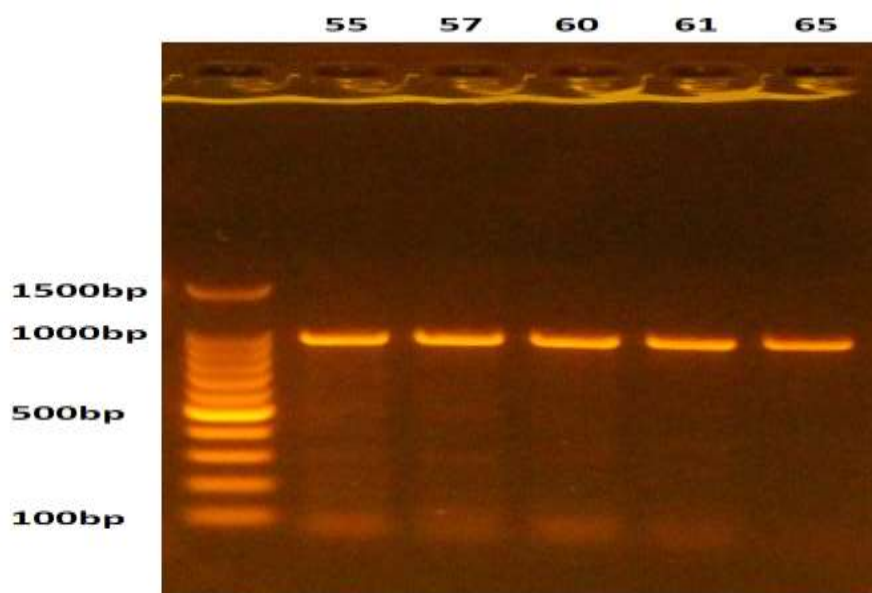
الأبقار المستخدمة في التجربة 75 بقرة من أبقار الهولشتاين المستوردة من ألمانيا تم اختيارها عشوائياً من بين 700 بقرة في المحطة، حيث تم إجراء التحاليل الوراثية الجزيئية في مختبر التقانة الاحيائية التابع لقسم الإنتاج الحيواني/كلية علوم الهندسة الزراعية/جامعة بغداد لغرض فصل المادة الوراثية (DNA) وإجراء الترحيل الكهربائي وتحليل تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لمورثة الصدمة الحرارية HSP70. جمعت البيانات الخاصة بإنتاج الحليب من سجلات المحطة، حيث يتم تسجيل إنتاج الحليب أسبوعياً للحلابة الصباحية والحلابة المسائية من المحطة، أما بالنسبة لمكونات الحليب فتم أخذ 10 مل/بقرة بأنابيب بلاستيكية لثلاث فترات وتم تحليل مكونات الحليب في شركة ألبان أبو غريب/شعبة البحث والتطوير بجهاز (Milk Analyzer).

تم حساب معامل التحمل الحراري (HTC) Heat Tolerance Coefficient حسب المعادلة الآتية (Benezra, 1954) $HCT = RR/23 + TR/38.3$ حيث أن: (RR) معدل التنفس للبقرة، (TR) درجة حرارة المستقيم للبقرة، (23) معدل التنفس الطبيعي للبقرة في الظروف الطبيعية (38.3) تمثل درجة حرارة المستقيم المثالية للأبقار. سحبت عينات الدم من وريد الضرع 2.5 مل باستخدام أنابيب اختبار حجم 5مل حاوية على مانع تخثر (E.D.T.A.) وبعد السحب تم تجميد عينات الدم بدرجة حرارة المجمدة (-18) واستخدم في استخلاص المادة الوراثية (DNA) Kit FAVORGEN (DNA) تايواني المنشأ.

الجدول 1. قطعة المورثة المدروسة الذي تم تصميمها بطول 932 قاعدة نتروجينية تبدأ من الموقع (1672–2604) من مورثة HSP70 في أبقار الهولشتاين.

Primer	Amplicon size (pb)	gene	Annealing temp
F-GACCTCAACAAGAGCATCAA	pb 932 (1672...2604)	HSP70	65°C
R-TGACACATCACAGGAGTAAAT			

بعد ذلك تم الكشف عن القطعة المدروسة لمورثة HSP70 باستخدام تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل PCR وبعد إنهاء التفاعل تم ترحيل ناتج تفاعل البلمرة للتأكد من وجود نواتج PCR باستخدام نفس طريقة تحضير جل الأغاروز في ترحيل DNA إذ يتم تحميل DNA معلوم الوزن الجزيئي DNA Ladder Marker (100–1500 قاعدة نتروجينية) في أول حفرة من قالب الجل، ثم تحميل ناتج PCR بمقدار 5 مايكرو ليتر في حفر قالب الجل على (70 فولت ولمدة 90 دقيقة) ليتم مشاهدة الحزم بواسطة جهاز مطياف الأشعة فوق البنفسجية، وتصوير هذه الحزم بكاميرا خاصة إذ تظهر الحزم ملونة بصبغة بروميد الاثيديوم.



الشكل 1. الترحيل الكهربائي للقطعة المدروسة من مورثة HSP70

بعد الترحيل الكهربائي تم إرسال ناتج PCR بحجم 20 مايكروليتر إلى شركة Macrogen Corporation الكورية وبعد الحصول على النتائج بواسطة البريد الإلكتروني، تم استخدام برنامج Genious Software لتحليل النتائج في الموقع الإلكتروني العالمي لبنك المورثات www.ncbi.nlm.nih.gov وقد تم استخدام ملف تتابع النيوكليوتيدات لتحديد وجود أو عدم وجود الطفرة وملف المنحنيات لتحديد التعدد المظهري للطفرتين النقطيتين لمورثة HSP70. تم تحليل البيانات إحصائياً باستعمال البرنامج الإحصائي (System Analysis Statistical) (SAS, 2010) لدراسة العلاقة بين التراكيب الوراثية لمورثة HSP70 وصفات إنتاج الحليب ومكوناته وصفات معامل التحمل الحراري. تم إجراء اختبار الفروق المعنوية بين المتوسطات باستخدام اختبار دنكن متعدد الحدود (Duncan, 1955).

$$Y_{ijm} = \mu + G_i + e_{ij}$$

Y_{ij} = قيمة المشاهدات العائدة للتركيب الوراثي i.

μ = المتوسط العام للصفة المدروسة.

G_i = تأثير تعدد المظاهر الوراثية لمورثة HSP70 في الصفات المدروسة.

e_{ijm} = الخطأ العشوائي الذي يفترض أن يتوزع عشوائياً وطبيعياً بمتوسط يساوي صفراً وتباين مقداره σ^2_e .

النتائج والمناقشة:

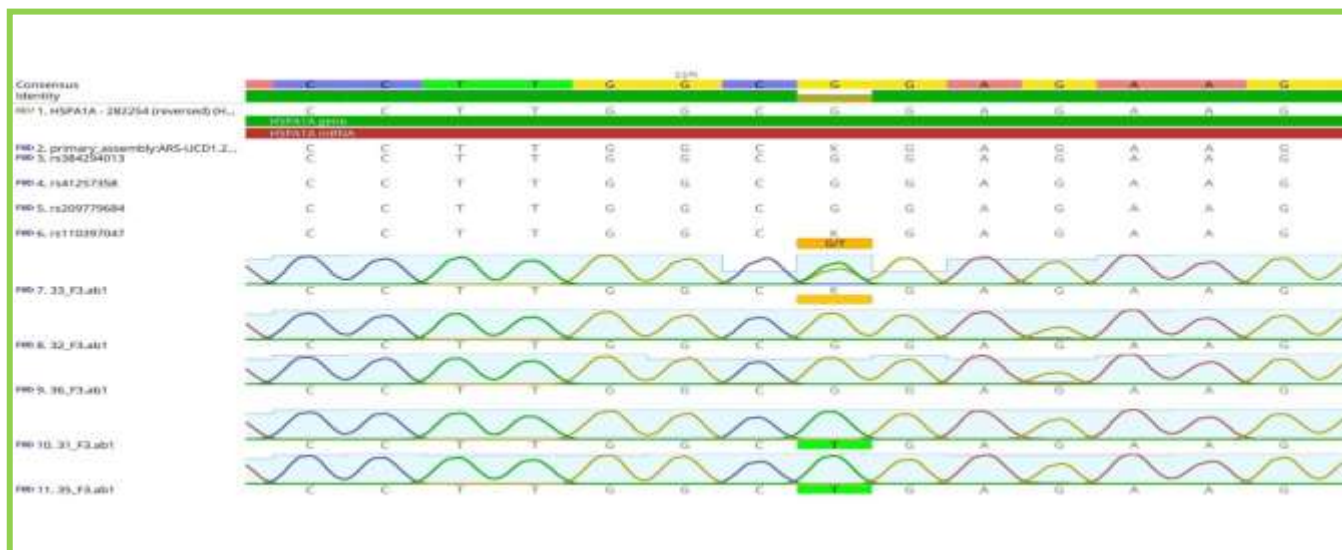
تم الكشف عن الطفرات النقطية الحاصلة في العينة المدروسة لقطعة من مورثة HSP70 مكونة من 932 قاعدة نيتروجينية عن وجود طفرتين نقطيتين الأولى **G2572T** (rs110397047) بثلاثة تراكيب وراثية، السائد البري GG والهجين GT والمتنحي الطافر TT وهي من نوع الطفرة الصامتة إذ لم تغير الحامض الأميني Alanine والثانية G2688C (rs384294013) بتركيبين وراثيين؛ السائد البري GG والهجين GC وهذا التغير في تسلسل القواعد النيتروجينية أدى إلى تغير الحامض الأميني Glycine إلى شفرة التوقف.

من الجدول (2) يتبين أن للقطعة الثالثة لمورثة الصدمة الحرارية HSP70 تغيرين وراثيين الأول (G2572T) بثلاث تراكيب وراثية؛ البري GG والهجين GT والطافر TT ولا توجد فروق معنوية بين التراكيب الوراثية كما بلغ التكرار الأليلي للأليل البري $G=0.62$ والأليل الطافر $T=0.38$ ، والتغير الوراثي الثاني (C2689G) ظهر بتركيبين وراثيين البري GG (94.3%) والهجين GC (5.7%) ولوحظ وجود فرق عالي المعنوية بين التركيبين الوراثيين وكذلك تفوق واضح للأليل البري $G=0.97$ على الأليل الطافر $C=0.03$ في العينة المدروسة. في دراسة قام بها Ramesha *et al.*, (2015) أشاروا إلى وجود طفرة وراثية على مورثة HSP70 G/C بثلاث تراكيب وراثية CC GC GG وبتكرار أليلي $G=0.4$ $C=0.6$ ، أما Said and Putra (2018) بينا ظهور تغير وراثي على مورثة HSP70 في الأبقار بتركيبين وراثيين CT CC وبتكرار أليلي $T=0.06$ $C=0.94$ وكذلك وجد تغير الوراثي T/C بتركيبين وراثيين TT CC وبتكرار أليلي $T=0.07$ $C=0.93$. إن الاختلاف في توزيع نسب التراكيب الوراثية للطفرات الحاصلة في أبقار الهولشتاين المدروسة يعود إلى عدة عوامل، منها: الاختلاف في حجم العينة واختلاف السلالة وملائمتها للظروف البيئية، وأيضاً يعزى هذا الاختلاف إلى أن قطع الأبقار المدروس ليس في توازن هاردي-واينبرغ (Hardy-Weinberg) واستناداً إلى نتائج اختبار نسبة الاحتمالية لم يكن متوقع وجود توازن، مما يشير إلى تزاوج غير عشوائي في أبقار الهولشتاين الألمانية المستوردة، وقد يرجع ذلك إلى انحراف المجتمع عن ظروف توازن هاردي - واينبرغ مثل وجود الانتخاب والانحراف الجيني وصغر حجم العينة وغير ذلك.

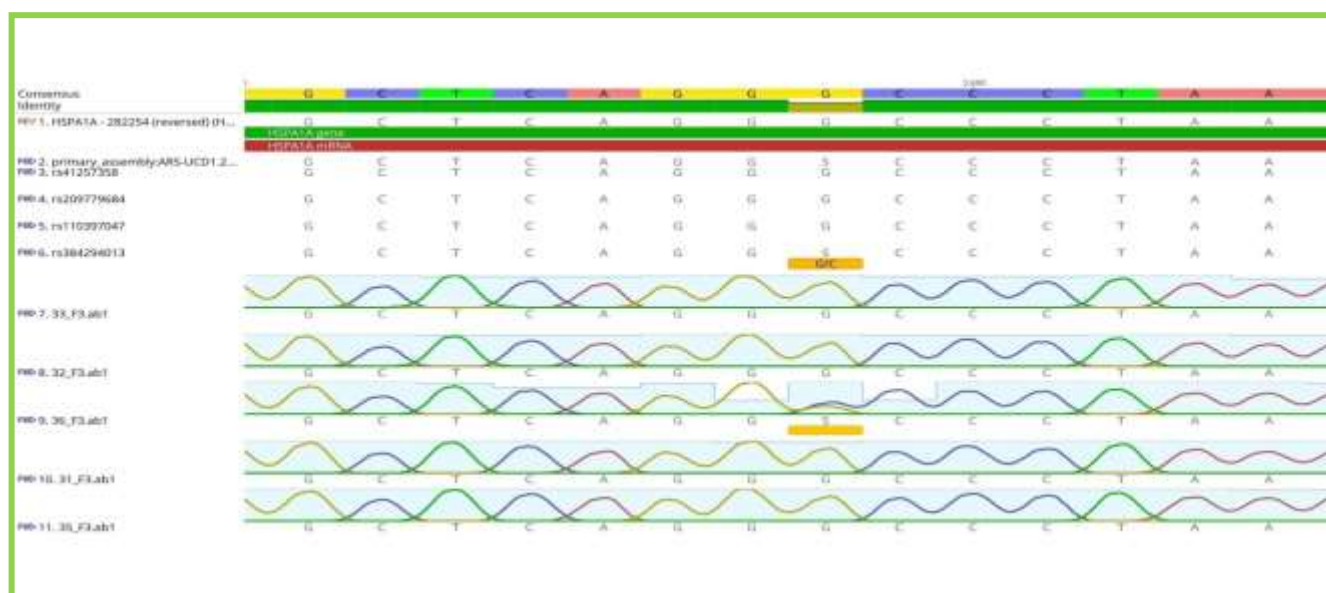
الجدول 2. العدد والنسبة المئوية والتكرار الأليلي للتغيرات الوراثيين في القطعة الثالثة المدروسة من مورثة HSP70 في أبقار

الهولشتاين

التكرار الأليلي	النسبة المئوية %	العدد	التركيب الوراثي	التغيرات الوراثي
G=0.62 T=0.38	49	26	GG	G/T
	26.4	14	GT	
	24.6	13	TT	
(p≤0.01)	$\chi^2 = 0.05$			قيمة مربع كاي للتغيرات G/T
G=0.97 C=0.03	94.3	50	GG	G/C
	5.7	3	GC	
(p≤0.01)	$\chi^2 = 10.56^{**}$			قيمة مربع كاي للتغيرات G/C



الشكل 2. موقع الطفرة G/T في القطعة المدروسة الثالثة لمورثة HSP70 في أبقار الهولشتاين



الشكل 3. موقع الطفرة G/C في القطعة المدروسة الثالثة لمورثة HSP70 في أبقار الهولشتاين

يتضح من الجدول (3) عدم وجود فروق معنوية بين التراكيب الوراثية الثلاث (GG-GT-TT) للتغاير الوراثي الأول (G2573T) والتركيبتين الوراثيتين (GG-GC) للتغاير الوراثي الثاني (G2688C) في صفات إنتاج الحليب المدروسة (إنتاج الحليب اليومي وإنتاج الحليب الكلي وقمة الإنتاج والمثابرة على الإنتاج وطول موسم الإنتاج) وهذه النتيجة تتفق مع Li *et al.*, (2011) إذ لم يجد تأثيراً معنوياً للتراكيب الوراثية AA – AB في إنتاج الحليب الكلي (6234 ، 6553) كغ/موسم، والتراكيب الوراثية CC – CD – DD (9692 ، 6568 ، 5950) كغ/موسم.

الجدول 3. تأثير التراكيب الوراثية في إنتاج الحليب للقطعة الثالثة

الصفة G/T	العدد 53	إنتاج الحليب اليومي كغ/يوم	إنتاج الحليب الكلي كغ/موسم	قمة الإنتاج كغ/ شهر	المثابرة على الإنتاج %	طول موسم الإنتاج يوم
GG	26	0.50±13.50	184.16±4005.24	22.63±349.61	0.12±1.56	6.59±295.38
GT	14	0.49±14.59	213.20±4449.06	12.35±351.42	0.10±1.55	9.35±304.28
TT	13	0.95±14.12	333.90±4133.65	29.53±346.15	0.20±1.41	10.94±290.76
التركيب الوراثي G/C						
GG	50	0.37±14.00	138.88±4168.85	13.50±345	0.08±1.52	5.04±296.40
GC	3	1.19±12.88	585.36±3906	75.49±420	0.49±1.52	17.32±300

ينبني من نتائج الدراسة الحالية أن التباين الوراثي (G2572T) كان له تأثيراً معنوياً في مكونات الحليب، إذ تفوقت الأفراد الحاملة للتركيب الوراثي الطافر TT في نسبة الدهن على التركيب الوراثي البري GG والهجين GT (3.03، 3.26، 4.14) % كما هو مبين في الجدول (4)، وكذلك تفوقت الأفراد الحاملة للتركيب الوراثي البري GG والتركيب الوراثي الهجين GT معنوياً على الأفراد الحاملة للتركيب الوراثي TT في نسبة المواد الصلبة غير الدهنية (7.59، 7.51، 6.82) % وفي كثافة الحليب (27.80، 26.81، 23.97) وفي نسبة البروتين (2.76، 2.70، 2.44) وفي نسبة اللاكتوز (4.14، 4.09، 3.72). من نتائج الدراسة الحالية يمكن التوصل إلى أن الأفراد الحاملة للأليل البري هي الأكثر تميزاً في نسب مكونات الحليب (نسبة الدهن، ونسبة المواد الصلبة غير الدهنية، والكثافة، ونسبة البروتين، ونسبة اللاكتوز) مقارنةً بالأفراد الحاملة للأليل الطافر وخصوصاً في الحالة النقية TT لذا يمكن تحسين صفة نسبة الدهن في الحليب، وهذه النتيجة مهمة للمربي عند الانتخاب والتحسين في الصفات الاقتصادية. هذه النتيجة متشابهة مع (2013) *Deb et al.* في دراستهم على أبقار الفريسيال، حيث وجدوا تأثير معنوي لطفرة الحذف CD إذ تفوق التركيب الوراثي CC على التركيب الوراثي C في نسبة الدهن (4.17، 3.96) % وفي نسبة البروتين (3.02، 2.97) %. أما التباين الوراثي الثاني للمنطقة الثالثة (G2688C) فلم يكن للتراكيب الوراثية GG-GC أي تأثير معنوي في مكونات الحليب.

الجدول 4. تأثير التراكيب الوراثية في مكونات الحليب للقطعة الثالثة

الصفة G/T	العدد 53	نسبة الدهن %	المواد الصلبة غير الدهنية %	الكثافة %	نسبة البروتين %	نسبة اللاكتوز %
GG	26	b 0.19 ±3.03	a 0.15 ±7.59	a 0.69 ±27.80	a 0.05 ±2.76	a 0.08 ±4.14
GT	14	b 0.32 ±3.26	a 0.18 ±7.51	a 0.66 ±26.81	a 0.06 ±2.70	a 0.09 ±4.09
TT	13	a 0.54 ±4.14	b 0.45 ±6.82	b 1.36 ±23.97	b 0.16 ±2.44	b 0.24 ±3.72
التركيب الوراثي G/C						
GG	50	0.19±3.42	0.15±7.38	0.56±26.57	0.05±2.66	0.08±4.02
GC	3	0.51±2.46	0.43±7.42	1.60±25.50	0.16±2.70	0.25±4.10

المتوسطات التي تحمل حروفاً مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنوياً فيما بينها عند مستوى معنوية ($P \leq 0.05$)

من الجدول (5) يلاحظ أن التباين الوراثي (G2572T) كان له تأثيراً معنوياً في معامل التحمل الحراري، إذ تفوقت الأفراد الحاملة للتركيب الوراثي البري GG على الأفراد الحاملة للتراكيب الوراثية TT-GT في صفة معامل التحمل الحراري للخریف (2.31، 2.26، 2.19) وفي معامل التحمل الحراري للشتاء (1.91، 1.91، 1.88) وفي معامل التحمل الحراري العام (2.32، 2.29، 2.26)، وهذا يتفق مع نتيجة (2013) *Xiong et al.* حيث وجد أن التباين الوراثي G/A كان له تأثيراً معنوياً في معامل التحمل الحراري والأبقار التي تحمل هذا التباين هي أكثر مقاومة لدرجات الحرارة العالية، في حين لم يكن للتباين الوراثي (G2688C)

تأثير معنوي في معامل التحمل الحراري للصيف والخريف والشتاء، ومعامل التحمل الحراري العام. وكما هو الحال في جميع الدراسات الوراثية فإن الدقة تعتمد على وجود مظهر خارجي معبر عن تلك الصفة. وقد تم أخذ كل من نسبة التنفس ودرجة حرارة الجسم كمظاهر خارجية لقياس معامل التحمل الحراري، وكما مذكور في المعادلة الخاصة بحساب معامل التحمل الحراري في فصل المواد وطرائق العمل، لذا يمكن إجراء تحسين وراثي لمثل هكذا أبقار لملاءمتها للأجواء العراقية.

الجدول 5. تأثير التراكيب الوراثية في معامل التحمل الحراري للقطعة الثالثة

الصفة G/T	العدد 53	معامل التحمل الحراري للصيف	معامل التحمل الحراري للخريف	معامل التحمل الحراري للشتاء	معامل التحمل الحراري العام
GG	26	0.04±2.72	a 0.02±2.31	a 0.01±1.93	a 0.01±2.32
GT	14	0.03±2.66	b 0.03±2.19	a 0.02±1.93	b 0.02±2.26
TT	13	0.04±2.73	ab 0.04±2.26	b 0.01±1.88	ab 0.02±2.29
التركيب الوراثي G/C					
GG	50	0.02±2.71	0.02±2.27	0.01±1.92	0.01±2.30
GC	3	0.11±2.71	0.09±2.25	0.03±1.88	0.03±2.28

المتوسطات التي تحمل حروفاً مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنوياً فيما بينها عند مستوى معنوية ($P \leq 0.05$)

الاستنتاجات والتوصيات:

نستنتج أن مورثة الصدمة الحرارية HSP70 التي تم تغطية الجزء الأكبر منها في الدراسة الحالية، هي من المورثات المتخصصة في تقليل أثر الإجهاد، ولها علاقة وثيقة بصفات التحمل الحراري بشكل أساسي، ولها تأثيرات فسلجية عامة ببقية الصفات الإنتاجية للحيوان. لذا توصي الدراسة بإجراء تضريب بين الأبقار المستوردة والأبقار المحلية للحصول على جيل أكثر مقاومة للتحمل الحراري، وأعلى كفاءة في إنتاج الحليب. وانتخاب الأبقار ذات المقاومة العالية للإجهاد الحراري، والتي تبقى محافظة على أدائها المتميز في ظروف العراق الحار.

المراجع:

- Benezra, M.V. (1954). A new index for measuring the adaptability of cattle to tropical conditions. J. Anim. Sci., 13: 1015.
- Bhat, S.; P. Kumar; N. Kashyap; B. Deshmukh; M.S. Dige; B. Bhushan; and G. Singh . (2016). Effect of heat shock protein 70 polymorphism on thermotolerance in Tharparkar cattle. Veterinary World. 9(2): 113.
- Cai, Y.; Q. Liu; G. Xing; L. Zhou; Y. Yang; L. Zhang; J. Li; and G. Wang (2005). Polymorphism of the promoter region of Hsp70 gene and its relationship with the expression of HSP70mRNA, HSF1mRNA, Bcl-2mRNA and Bax-AMRNA in Lymphocytes in peripheral blood of heat shocked dairy cows . Asian-Aust. J. Anim. Sci., 18(5) : 734-740.
- Deb, R.; B. Sajjanar; U. Singh; S. Kumar; M. Brahmane; R. Singh; G. Sengar; and A. Sharma (2013). Promoter variants at AP2 box region of Hsp70.1 affect thermal stress response and milk production traits in Frieswal cross bred cattle. Gene 532(2): 230–235.
- Duncan, D.D. (1955). Multiple range and multiple F-test Biometrics. 11: 1-42.
- Guerreiro, E.N.; P.F. Giachetto; P. Givisiez; J.A. Ferro; M.I. Ferro; J.E. Gabriel; R.L. Furlan; and M. Macari (2004). Brain and hepatic Hsp70 protein levels in heat-acclimated broiler chickens during heat stress. Braz. J. Poult. Sci., 6(4): 201 – 206.

- Kumar, S.; M. Kataria; and A. Kumar (2011). Amelioration of Heat Stress by feeding electrolytes, ascorbic acid and zinc in buffaloes. *Buffalo Bull.* 30(4).
- Li, Q.; J. Han; F. Du; Z. Ju; J. Huang; J. Wang; R. Li; C. Wang; and J. Zhong (2011). Novel SNPs in HSP70A1A gene and the association of polymorphisms with thermo tolerance traits and tissue specific expression in Chinese Holstein cattle. *Mol Biol Rep.*, 38(4):2657–2663.
- Radakovi, S.; J. Mariy; M. Surbatovic; S. Raden; E. Stefanova; N. Stankovi; and N. Filipovi (2009). Effects of acclimation on cognitive performance in soldiers during exceptional heat stress. *Vojnosanit Pre.*; 66(5): 3 59-64.
- Ramesha, P.; K. Akhila; R. Marappa; B. Gujjar; and G. Ramachandra (2015). Molecular characterization of the *HSPA1A* gene by single-strand conformation polymorphism and sequence analysis in Holstein-Friesian crossbred and Deoni cattle raised in India . *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 39: 128-133.
- Said, S.; and W.B.P. Putra (2018). Novel single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the 5'UTR of bovine heat shock protein 70 (HSP70) gene and its association with service per conception (S/C) of Pasundan cattle . *Biodivers.* 19(5): 1622-1625.
- SAS (2010). SAS/STAT User's Guide for Personal Computers . Release 9.1 SAS Institute Inc., Cary, N.C., USA.
- Xiong, Q.; J. Chai; X. Haiqian; L. Wengong; T. Huang; L. Yang; S. Xiaojun; Z. Nian; L. Xiaofeng; J. Siwen; and C. Mingxin (2013). Association analysis of HSP70A1A haplotypes with heat tolerance in Chinese Holstein cattle. *Cell Stress and Chaperones.* 18 (6): 711–718.

Relationship of the Polymorphisms Resulted from Point Mutations (G2572T and G2688C) on the HSP70 Gene with the Productive Traits of Holstein Cows

Bashar Adham Ahmad^{*(1)} and Wasan Jassim Al-Khazraji⁽²⁾

(1). Department of Animal Production, College of Agriculture, Diyala University, Iraq.

(2). Department of Animal Production, College of Agricultural Engineering Sciences, University of Baghdad, Iraq.

(*Corresponding author: Bashar Adham Ahmad. E-Mail: basharadh83@gmail.com).

Received: 27/02/2020

Accepted: 29/03/2020

Abstract

The research was conducted at Taj Al-Nahrain Cows Station, located in Al-Qadisiya Governorate, Diwaniya District, which is 180 km from the center of Baghdad, for the period (19/3/2018 to 20/3/2019) and molecular genetic analyzes were conducted at the laboratory of the College of Agricultural Engineering Sciences, University of Baghdad. The samples were sent to the Korean Macrogen Corporation to read the sequence of nitrogenous bases for the HSP70 gene, and the relationship between the genetic variation caused by the two mutations was examined with the traits of milk (daily milk production, total milk production, peak production, persistence of production and length of milk season) and milk components (fat ratio, non-fat solids, density, protein ratio and lactose ratio) and the heat tolerance coefficient (summer heat tolerance coefficient, autumn heat tolerance coefficient, winter heat tolerance coefficient and general heat tolerance coefficient). The results showed the presence of the first mutation (G2572T) in three genotypes (GG=26 GT=14 TT=13) and allele frequency of (G 0.62 and T 0.38), while the second mutation (G2688C) appeared in two genotypes (GG=50 GC=3) and allele frequency of (G 0.97 and C 0.03), and the first mutation (G2572T) did not show significant effect on milk production traits, but significantly affected the fat ratio, where the individuals which were carrying the mutant genotype TT were superior. While the wild genotype GG significantly surpassed the two genotypes GT and TT in non-fatty solids, density, protein ratio and lactose ratio and the autumn and winter heat tolerance coefficient and general heat tolerance coefficient. The second mutation (G2688C) had no significant effect in the all traits.

Key words: Cow Holstein, Heat tolerance coefficient, Gene HSP70.