



دانشگاه شیراز

نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان

جلد نهم، شماره اول، ۱۴۰۰

<http://ejrr.gau.ac.ir>

۱۷-۳۶

DOI: 10.22069/ejrr.2021.18192.1756

## فرا تحلیل ارتباط چندشکلی ژن های *DGATI* و لپتین با برخی صفات کمی و کیفی تولید شیر در گاوهای شیری

مرجان قربانی<sup>۱</sup>، \*محمدحسین مرادی<sup>۲</sup>، امیرحسین خلتآبادی فراهانی<sup>۲</sup> و مهدی میرزایی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>دانش آموخته کارشناسی ارشد و <sup>۲</sup>استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و

محیط زیست، دانشگاه اراک، اراک، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۵/۲؛ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۱/۲۵

### چکیده

**سابقه و هدف:** چندشکلی ژن های بزرگ اثر دی آسیل گلیسرول آسیل ترانسفراز ۱ (*DGATI*) و لپتین در طی سال های اخیر به خاطر اثرات احتمالی آن ها روی صفات مهم اقتصادی توسط محققین علوم دامی در پژوهش های مختلف، مورد توجه قرار گرفته - است. با این وجود، ارتباط بین این ژن ها و صفات مرتبط با تولید شیر در نژادهای مختلف گاو شیری متناقض (گاهی معنی دار و گاهی نیز بدون ارتباط معنی دار) گزارش شده است. هدف از پژوهش حاضر، بررسی ارتباط بین ژن های *DGATI* و لپتین با صفات مهم اقتصادی مانند میزان تولید شیر، مقدار و درصد چربی و پروتئین شیر در گاوهای شیری به روش فرا تحلیل (متآنالیز) بود.

**مواد و روش ها:** در این پژوهش، از مطالعات منتشر شده در مجلات و پایان نامه های معتبر تا سال ۲۰۱۸ استفاده شد. پس از انجام مراحل مختلف کنترل کیفیت، به ترتیب از نه و چهار تحقیق گزارش شده برای چندشکلی *K232A* ژن *DGATI* و چندشکلی *Sau3AI* ژن لپتین، استفاده شد. آنالیز داده های پژوهش حاضر با استفاده از نرم افزار *Stata v. 15* انجام شد. شاخص عدم تجانس ( $F^2$ ) برای همه پارامترها معنی دار بود، بنابراین از مدل اثرات تصادفی استفاده شد. اندازه اثر، دامنه اطمینان ۹۵ درصد و سطح معنی داری آماری برای هر متغیر با استفاده از این مدل محاسبه شدند. تمام متغیرها در این مطالعه به صورت داده های پیوسته بودند. اندازه اثر برای داده های پیوسته، تفاوت میانگین استاندارد شده بود که برای چندشکلی *K232A* ژن *DGATI* و چندشکلی *Sau3AI* ژن لپتین، روی مقدار و درصد چربی و پروتئین شیر، و مقدار تولید شیر محاسبه شد.

**یافته ها:** نتایج این پژوهش نشان داد که چندشکلی جایگاه ژنی *K232A* در ژن *DGATI* اثر معنی داری روی درصد و مقدار چربی شیر داشته و می تواند نقش مهمی در تغییر آن ها ایفا کند، اما ارتباط آن با درصد و مقدار پروتئین و همچنین میزان تولید شیر معنی دار نیست. همچنین نتایج بررسی چندشکلی جایگاه ژنی *Sau3AI* ژن لپتین نشان داد که این جایگاه با هیچ یک از صفات مورد بررسی ارتباط معنی داری ندارد.

**نتیجه گیری:** نتایج حاصل از تحقیق حاضر، با شناسایی اثرات کلی ژنوتیپ های مورد مطالعه ژن های *DGATI* و لپتین روی صفات مرتبط با تولید شیر در گاوهای شیری، می تواند نقش مهمی در برنامه ریزی در زمینه استفاده از چندشکلی این ژن ها در تحقیقات بعدی داشته باشد.

**واژه های کلیدی:** چند شکلی، لپتین، دی آسیل گلیسرول آسیل ترانسفراز ۱، گاو شیری

\*نویسنده مسئول: [moradi.hosein@gmail.com](mailto:moradi.hosein@gmail.com)

## مقدمه

پیشرفت‌های حاصل در فن‌آوری‌های ژنتیک مولکولی منجر به کشف ژن‌های کاندیدای زیادی شده است که اثر قابل توجهی بر صفات اقتصادی دارند (۸، ۲۸). در زمینه اثرگذاری ژن‌های کاندیدا روی صفات اقتصادی گاوهای شیری و گوشتی تاکنون مطالعات زیادی صورت گرفته است (۲۰، ۲۳، ۵۰). در این مطالعات گاه نتایج ضد و نقیضی در مورد عملکرد ژن‌های مورد بررسی گزارش شده است که استفاده عملی از ژن‌های کاندیدا را در برنامه‌های اصلاح نژادی محدود می‌کند. لذا انجام تحقیقاتی که بتوانند در این شرایط در به‌کارگیری این ژن‌ها در برنامه‌های انتخاب ژنتیکی حیوانات سودمند باشند و قدرت آماری انتخاب ژن‌های اثرگذار روی صفات مهم اقتصادی دام‌ها را بهبود دهند ضروری به نظر می‌رسد. فراتحلیل (متاآنالیز) یک روش آماری مناسب برای ترکیب کردن اطلاعات چندین تحقیق مستقل با فرض یکسان می‌باشد (۵، ۴۱) که با افزایش قابل توجه اندازه جمعیت نمونه، قدرت آماری بیشتری را در اندازه‌گیری و تحلیل عملکرد ژن‌های کاندیدا روی صفات مختلف نسبت به مطالعات مستقل فراهم می‌آورد (۳۷).

لپتین یکی از مفیدترین بیومولکول‌هاست که به عنوان نشانگر ژنتیکی برای انتخاب حیوانات با تولید بالا و دستیابی به سود بیشتر استفاده می‌شود (۹). موقعیت کروموزومی این ژن در گاو در کروموزوم ۶ می‌باشد (۱۵). ژن لپتین در بین گونه‌های پستانداران شامل سه آگزون است که توسط دو اینترون جدا شده‌اند که فقط آگزون دو به پروتئین لپتین ۱۶ کیلودالتون رونویسی می‌شود (۴۳). تا کنون نقش این ژن در بروز صفات مهم اقتصادی مختلف در دام‌ها گزارش شده است (۹، ۲۶، ۴۷) و چندشکلی‌های

متعددی همانند *Nr1h3*، *Clal*، *Sau3AI*، *kpn21* و *UASMS1* و *UASMS2* در ژن لپتین مورد مطالعه قرار گرفته است. با این حال، در ارتباط بین این چندشکلی‌های ژنتیکی و صفات مختلف اغلب نتایج متفاوتی گزارش شده است (۳۶).

بسیاری از ژن‌های کاندیدا مانند دی آسپیل گلیسرول آسپیل ترانسفراز ۱ (*DGATI*) روی عملکردهای متفاوتی در گاوهای شیری و گوشتی از جمله متابولیسم، میزان و ترکیبات شیر اثر می‌گذارند (۲۵، ۳۱، ۴۵). بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند ژن *DGATI* به عنوان ژن کاندید روی میزان و عملکرد چربی شیر اثرگذار است (۱۹). فعالیت این ژن ابتدا توسط وایس و کندی در دهه ۱۹۵۰ شرح داده شد (۲۸). ژن *DGATI* در کروموزوم شماره ۱۴ گاو واقع شده است که دارای طول تقریبی ۸/۵ کیلوباز، و شامل ۱۷ آگزون و ۱۶ اینترون است (۲). تاکنون در ارتباط بین چند شکلی‌های این ژن و صفات مختلف نیز نتایج متفاوتی گزارش شده است مثلاً درحالی‌که در برخی از منابع علمی، ارتباط بین ژنوتیپ‌های مختلف ژن *DGATI* با صفات میزان تولید شیر، مقدار چربی و مقدار پروتئین شیر معنی‌دار گزارش شده است (۲۵، ۴۴)، برخی دیگر از منابع نشان می‌دهند بین این ژن و صفات مورد مطالعه ارتباطی وجود ندارد (۶، ۴۰).

با توجه به نتایج ضد و نقیضی که در مورد ارتباط ژن‌های کاندید لپتین و *DGATI* در تحقیقات مختلف گزارش شده است، هدف از تحقیق حاضر انجام فراتحلیل ارتباط چندشکلی بین این ژن‌ها با صفات تولیدی در گاوهای شیری است که نتایج حاصل از این تحقیق می‌تواند نقش مهمی در شناسایی ارتباط این ژن‌ها بر صفات مهم اقتصادی مورد مطالعه داشته باشد.

مورد جستجو قرار گرفتند و از اطلاعات آنها نیز استفاده شد. در مجموع بر اساس بررسی‌های اولیه ۲۱۳ مطالعه مرتبط با این ژن‌ها یافت شد که برای ارزیابی بیشتر، بر اساس معیارهای مورد نیاز برای انجام آنالیزهای فراتحلیل، مطالعاتی که دارای شرایط مناسب بودند برای آنالیزهای بعدی انتخاب شدند.

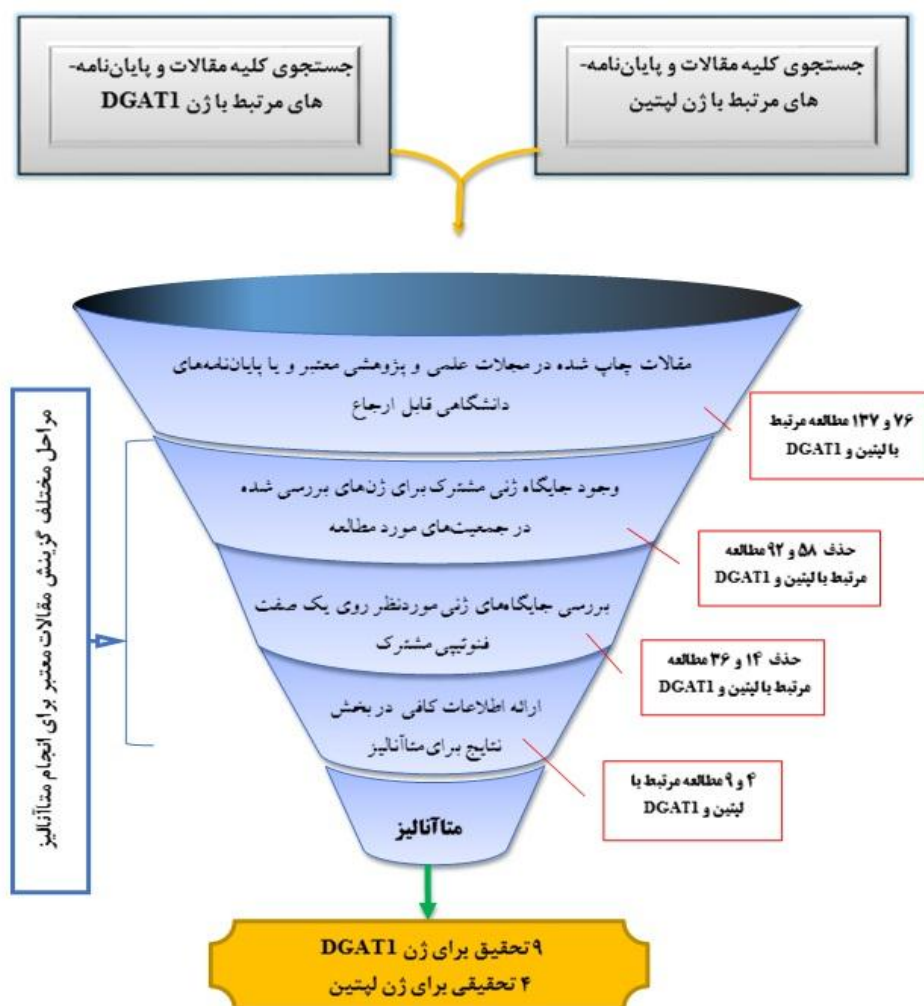
**معیار انتخاب مقالات:** ارزیابی کیفیت مطالعات جستجو شده، بر اساس مجموعه‌ای از معیارهای مورد نیاز برای انجام آنالیزهای فراتحلیل مورد بررسی قرار گرفت و مقالات واجد شرایط انتخاب شدند (شکل ۱). معیارهای مورد استفاده عبارت بودند از (۱) اطلاعات جمع‌آوری شده مربوط به مقالات چاپ شده در مجلات علمی و پژوهشی معتبر و یا پایان‌نامه‌های دانشگاهی قابل ارجاع باشند. (۲) ژن‌های بررسی شده در جمعیت‌های مورد مطالعه، دارای جایگاه ژنی مشترک باشند. (۳) اثر جایگاه‌های ژنی موردنظر روی یک صفت فنوتیپی مشترک (مثلاً میزان تولید شیر) بررسی شده باشد. (۴) اطلاعات ارائه شده در بخش نتایج مقالات یا پایان‌نامه‌ها در ارتباط با اثرات ژن‌ها با صفات تولیدی، برای انجام فراتحلیل کافی باشد. با این شرایط با توجه به اینکه تعداد بالایی از مقالات ارتباط مناطق ژنومی متفاوتی از ژن‌های مدنظر، و آن هم در صفات فنوتیپی مختلف در گاوهای شیری را مورد بررسی قرار داده بودند، انتخاب مناطق ژنی و صفات مشترک برای انجام متاآنالیز با محدودیت همراه بود، لذا تعداد زیادی از این مقالات از مراحل بعدی آنالیز کنار گذاشته شدند. در مجموع اطلاعاتی در این فراتحلیل گنجانده شدند که ارتباط بین چندشکلی جایگاه ژنی *K232A* را در ژن *DGATI* و جایگاه ژنی *Sau3AI* را در ژن لپتین مورد ارزیابی قرار داده بودند. این دو جایگاه ژنی دارای بیشترین تعداد پژوهش‌های انجام شده بودند که ارتباط مثبت یا منفی آنها با صفات تولید شیر در گاوهای شیری گزارش

## مواد و روش‌ها

**جستجوی مقالات:** جستجوی جامعی برای تحقیقات انجام شده در ارتباط با اثر ژن‌های موردنظر انجام شد. به این منظور ابتدا تمام مقالات و پایان‌نامه‌هایی که اثر ژن‌های لپتین و *DGATI* را روی صفات مختلف در گاوهای شیری و گوشتی تا سال ۱۳۹۷ (۲۰۱۸) مورد ارزیابی قرار داده بودند، بدون محدودیت، جستجو شدند. مقالات و پایان‌نامه‌ها با استفاده از واژه‌های کلیدی لپتین (*Leptin*)، دی آسید گلیسرول آسید ترانسفراز ۱ (*DGATI*)، چندشکلی یا پلی‌مورفیسم (*Polymorphism*)، آلل و ژنوتیپ (*Alleles and Genotypes*)، تنوع ژنتیکی (*Genetic diversity*)، نشانگرهای ژنتیکی (*Genetic markers*)، ارتباط ژنتیکی (*Genetic association*)، صفات اقتصادی (*Economic traits*)، صفات تولیدی و تولیدمثلی (*Production and reproduction traits*)، گاو شیری (*Dairy cow/cattle*)، دومنظوره (*Dual-purpose*)، و گوشتی (*Beef cattle/cows*) مورد جستجو قرار گرفتند. برای جمع‌آوری داده‌های مورد نیاز از منابع و بانک‌های اطلاعاتی الکترونیکی معتبر داخل کشور همانند *SID, Iran doc, Magiran* و موتورهای جستجوگر *Springer, Science direct, Scopus, Google* و همچنین پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی استفاده شد. همچنین مجلات معتبر انگلیسی زبان شامل *Journal of Dairy Science, Journal of Dairy, Journal of Animal Science, BMC Genetics, Animal Genetics, Research Journal of Agricultural Science, Genetics, Journal of Animal Breeding and Genetics, Livestock Science, Genetics Selection, Evolution* نیز برای اطمینان بیشتر به صورت جداگانه جستجو شدند. همچنین برای تکمیل و گسترش داده‌ها، پایان‌نامه‌های انجام شده در داخل کشور نیز

دارای تمام معیارها برای گنجاندن در فراتحلیل بودند (شکل ۱).

شده بود و همچنین اطلاعات مورد نیاز برای اجرای تحقیقات فراتحلیل را نیز به همراه داشتند. در مجموع، از ۲۱۳ مطالعه جستجو شده، ۱۳ مطالعه (حدود ۶٪)



شکل ۱- مراحل مختلف گزینش مقالات دارای معیارهای مناسب جهت فراتحلیل ژن های *DGATI* و *Leptin*

Figure 1. Different steps for selecting studies with appropriate criteria for meta-analysis of *DGATI* and *Leptin* genes

مشخصات کامل مطالعات مورد استفاده در این تحقیق در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- ویژگی‌های مطالعات واجد شرایط برای فراتحلیل ژنهای *DGATI* و لپتین

Gene-Polymorphism ژن-چندشکلی	Authors نویسندگان	Published Year سال انتشار	Sample Size تعداد نمونه	Breed نژاد	The traits with significant association صفات دارای ارتباط معنی دار
<i>DGATI- K232A</i>	Sun <i>et al.</i>	2009	1222	Holstein	میزان تولید شیر، مقدار چربی و پروتئین شیر (Milk yield, milk fat and protein content)
	Manga & Riha	2011	315	Holstein	میزان تولید شیر و درصد چربی شیر (Milk yield and milk fat percentage)
	Kharrati Koopaei <i>et al.</i>	2011	398	Holstein	مقدار چربی و پروتئین شیر (Milk fat and protein content)
	Mao <i>et al.</i>	2012	1061	Holstein	میزان تولید شیر، مقدار چربی و پروتئین شیر، مقدار چربی و پروتئین ۳۰۵ روز (Milk yield, milk fat and protein content, 305-day fat and protein yield)
	Molee <i>et al.</i>	2012	227	Holstein	میزان تولید شیر، مقدار پروتئین شیر، درصد چربی و درصد پروتئین شیر (Milk yield, protein content, milk fat and protein percentages)
	Kadlecova <i>et al.</i>	2014	278	Holstein	میزان تولید شیر روزانه، درصد و مقدار چربی شیر (Daily milk production, milk fat content and percentage)
	Molee <i>et al.</i>	2015	231	Holstein	میزان تولید شیر، درصد چربی و پروتئین شیر (Milk yield, milk fat and protein percentages)
	Dokso <i>et al.</i>	2015	182	Holstein	اثر ژن روی تمام صفات در نژادهای مختلف معنی دار نبود
	Rychtarova <i>et al.</i>	2014	73 116	Brown-Swiss Simmental	(The effect of the gene on all traits in different breeds were not significant)
	Javanmard <i>et al.</i>	2010	419	Czech Fleckvieh	اثر ژن روی تمام صفات معنی دار نبود (The effects of the gene on all traits were not significant)
<i>Leptin- Sau3AI</i>	Javanmard <i>et al.</i>	2010	59	Holstein	مقدار چربی شیر (Milk fat content)
	Orangi	2014	98	Holstein	اثر ژن روی تمام صفات معنی دار نبود (The effect of the gene on all traits were not significant)
	Javanmard <i>et al.</i>	2014	54	Holstein	اثر ژن روی تمام صفات معنی دار نبود (The effect of the gene on all traits were not significant)
	Kiyici <i>et al.</i>	2018	167	Holstein	میزان تولید شیر Milk yield

شد. داده‌ها برای هر متغیر پاسخ، با استفاده از مدل‌های اثرات ثابت و تصادفی برای تخمین اندازه اثر و ۹۵ درصد دامنه اطمینان اندازه اثر، آنالیز آماری شدند (۴۲). انتخاب مدل به ماهیت داده‌ها و فرضیات تحقیق بستگی دارد. در این تحقیق ابتدا داده‌ها برای هر متغیر پاسخ، با استفاده از مدل‌های اثرات ثابت و تصادفی برای تخمین اندازه اثر مورد بررسی قرار گرفتند و با توجه به اینکه شاخص عدم تجانس ( $I^2$ ) برای همه پارامترها معنی‌دار و اندازه اثر تحقیقات با همدیگر متفاوت بود، جهت فراتحلیل داده‌ها از مدل اثرات تصادفی استفاده شد (۱۰). تمام متغیرهای پاسخ در این مطالعه به صورت داده‌های پیوسته بودند. تاکنون پنج روش اصلی برای انجام فراتحلیل ارائه شده است که شامل یکی کردن اندازه اثر<sup>۴</sup> (۵۰)، ارزش P-value (۳۹)، رتبه<sup>۵</sup> (۱۱)، و نیز شمارش آراء<sup>۶</sup> (۱۰) و نهایتاً یکی کردن مستقیم<sup>۷</sup> (۴۹) می‌باشد. روش پایه‌ای فراتحلیل، بر پایه یکی کردن اندازه اثر است (۴۱). در تحقیق حاضر اندازه اثر برای داده‌های مختلف به صورت تفاوت میانگین استاندارد شده<sup>۸</sup> (SMD) محاسبه شد (۲۱). با توجه به مقدار عدم تجانس محاسبه شده ( $I^2$ )، استفاده از مدل اثرات تصادفی برای انجام متاآنالیز صحیح‌تر می‌باشد، زیرا این مدل اثرات مدیریت، واریانس بین حیوانات و سایر تفاوت‌های موجود در اجرای هر مطالعه که با اثرات تیمار آزمایشی تداخل می‌کنند را در نظر می‌گیرد (۳۷). تفاوت میانگین وزن داده شده برای هر متغیر پاسخ برای گزارش میانگین خام مقدار هر پاسخ محاسبه شد. نمودار جنگلی با استفاده از دستور

**استخراج داده‌ها:** به‌منظور استخراج داده‌ها برای هر یک از صفات تولیدی و عملکردی یک صفحه جداگانه در نرم‌افزار اکسل تشکیل و به هر مطالعه پیش از وارد کردن داده‌ها، کد داده شد. برای هر یک از صفات اطلاعات مربوط به هر مطالعه از جمله نام نویسندگان، مجله انتشار یافته، سال انتشار مقاله، اندازه نمونه (تعداد دام)، نوع چندشکلی مطالعه شده، فراوانی آلی و ژنوتیپی، انحراف معیار<sup>۱</sup> و خطای (اشتباه) معیار<sup>۲</sup> برای گروه آزمایشی و شاهد (در صورت وجود) و میانگین حداقل مربعات<sup>۳</sup> صفات مورد مطالعه وارد شدند. برای جلوگیری از اشتباهات احتمالی در ثبت داده‌ها و ارزیابی مطالعات، مراحل مختلف انتخاب مطالعه، ارزیابی کلی و استخراج داده‌ها توسط نویسندگان این مقاله به صورت کاملاً مستقل انجام شد. لازم به ذکر است در طی انجام تحقیق حاضر از طریق مکاتبه با نویسندگان مقالات، تلاش زیادی برای جمع‌آوری مطالعاتی که حاوی چندشکلی‌های موردنظر با صفات مشترک بودند، صورت گرفت با این وجود در اکثر تحقیقات پارامترهای مورد مطالعه شامل مقدار و درصد چربی و پروتئین شیر بودند. درمورد چندشکلی ژن *DGATI* برخی از مطالعات میزان ترکیبات شیر در تولید شیر روزانه و برخی دیگر در تولید شیر ۳۰۵ روز را مورد بررسی قرار داده بودند، به همین خاطر آنالیز فراتحلیل در این ژن برای هر دو حالت گفته شده انجام شد.

**آنالیز آماری:** در این تحقیق فراتحلیل اثرات چندشکلی ژن‌های لپتین و *DGATI* بر صفات میزان تولید شیر، مقدار و درصد چربی و پروتئین شیر با استفاده از نرم‌افزار Stata v. 15 (Stata/SE version 15, StataCorp., LP, College Station, TX) انجام

4. Effect size
5. Rank
6. Vote counting
7. Direct Merging
8. Standardized mean difference

1. Standard Deviation (SD)
2. Standard Error (SE)
3. LS-means

بررسی‌های انفرادی معنی‌دار نشده بودند. مینوزی و همکاران (۲۰۱۲) نیز با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با بیماری یون گاوی از فراتحلیل داده‌های حاصل از دو تحقیق مستقل روی گاوهای هلشتاین آمریکایی و ایتالیایی استفاده کردند. نتایج این تحقیق منجر به شناسایی مناطقی روی کروموزوم‌های ۱، ۱۲ و ۱۵ مرتبط با این بیماری شد.

در تحقیق حاضر از بین مطالعاتی که در زمینه بررسی چندشکلی‌های مختلف ژن‌های لپتین و *DGATI* انجام گرفته بود، چندشکلی جایگاه *K232A* مربوط به ژن‌های *DGATI* و جایگاه *Sau3AI* مربوط به ژن لپتین مورد استفاده قرار گرفت و صفات مورد بررسی شامل صفات چربی، پروتئین میزان تولید شیر بود. همانطور که قبلاً اشاره شد، علت انتخاب این جایگاه‌ها و صفات این بود که تنها مقالات گزارش شده برای این جایگاه‌ها دارای معیارهای لازم جهت انجام فراتحلیل بودند. همچنین در مورد گاوهای گوشتی، تعداد مطالعاتی که دارای معیارهای لازم جهت انجام فراتحلیل بودند بسیار محدود بود به همین خاطر نژادهای مورد بررسی در این تحقیق به گاوهای شیری هلشتاین و براون سوئیس و نژاد دو منظوره شیری-گوشتی سیمتال یا فلکویه محدود شد (جدول ۱).

**آنالیز ارتباط ژن *DGATI* با صفات تولید شیر:** نتایج حاصل از فراتحلیل ارتباط ژن دی آسیل گلیسرول آسیل ترانسفراز ۱ (*DGATI*) با صفات تولید شیر که مربوط به واکاوی ارتباط بین ژنوتیپ‌های آگزون هشت این ژن (جایگاه *K232A*) می‌باشد، در شکل‌های ۲، ۳، ۴ و ۵ ارائه شده است.

شکل ۲ خلاصه نتایج هشت آزمایش و ۱۹ مقایسه آماری بین گروه‌های آزمایشی و شاهد را روی مقدار چربی شیر نشان می‌دهد. ارتباط چندشکلی جایگاه *K232A* ژن *DGATI* با مقدار چربی شیر به تفکیک

"*metan*" رسم شد تا بتوان تفاوت میانگین استاندارد شده مربوط به هر متغیر را مشاهده کرد. در این نمودار هر مربع نشان‌دهنده میانگین اندازه اثر هر مقایسه است و خط افقی در هر مربع نشان‌دهنده دامنه اطمینان ۹۵ درصد اندازه اثر می‌باشد (۲۱، ۳۷).

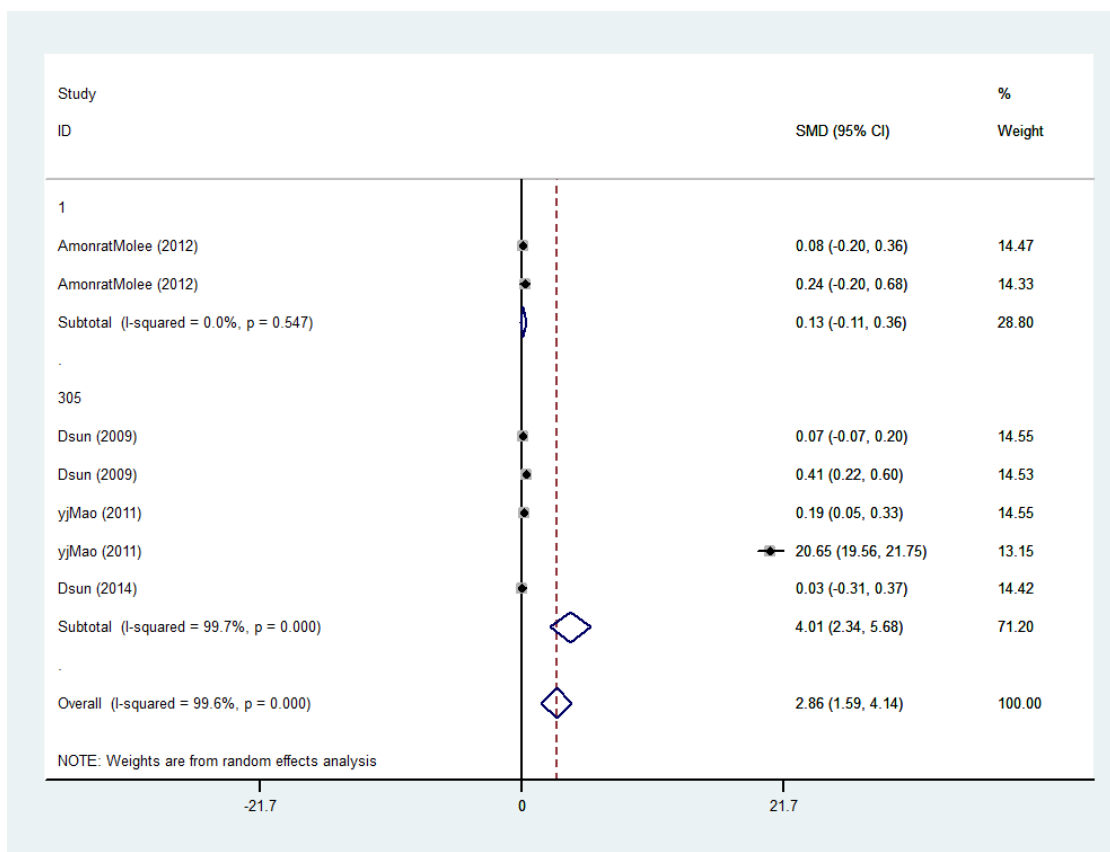
### نتایج و بحث

در طی سال‌های اخیر استفاده از روش فراتحلیل جهت شناسایی ارتباط کلی ژن‌های مختلف روی صفات مهم اقتصادی در دام‌ها بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۷). اُزدمیر و همکاران (۲۰۱۸) اثرات کلی ژن‌های عمده اثر  $CSN1^1$ ،  $CSN2^2$ ،  $CSN3^3$  و  $BLG^4$  را روی صفات میزان شیر تولیدی، مقدار و درصد چربی و همچنین مقدار و درصد پروتئین شیر به روش فراتحلیل مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل نشان داد که در مجموع ارتباط بین برخی از ژنوتیپ‌های ژن *CSN3* و صفات میزان و درصد چربی و درصد پروتئین شیر، و همچنین برخی از ژنوتیپ‌های ژن *BLG* با مقدار تولید شیر، میزان و درصد چربی و درصد پروتئین معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) می‌باشد در حالیکه ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های مختلف ژن‌های *CSN2* و *CSN1* با هیچ‌کدام از صفات تولیدی شیر مشاهده نشد. شریفی و همکاران (۲۰۱۷) نیز با هدف بالا بردن توان تجزیه آماری در شناسایی ژن‌ها و مسیرهای زیستی درگیر در بیماری ورم‌پستان، از فراتحلیل داده‌های شش مطالعه ریزآرایه استفاده کردند که بیان ژن بافت پستان را در هنگام درگیری با باکتری اش‌ریشیاکلی در گاوهای شیری مورد بررسی قرار داده بودند. نتایج این تحقیق نهایتاً منجر به شناسایی ژن‌هایی شد که در هیچ‌یک از

1. Alphas1-casein ( $\alpha 1$ -CN, CSN1S1)
2. Beta-casein ( $\beta$ -CN, CSN2)
3. Kappa-casein ( $\kappa$ -CN, CSN3)
4. Beta-lactoglobulin ( $\beta$ -LG, BLG)

اطمینان ۹۵ درصد: ۲/۳۴-۵/۶۸) برآورد شد. نتایج حاصل نشان داد که در مجموع هر دو گروه ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی موجود در ژن *DGATI* و صفت مقدار چربی شیر وجود دارد (SMD= ۲/۸۶، فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۱/۵۹-۴/۱۴) (شکل ۲).

در دو گروه تولید شیر روزانه و ۳۰۵ روز، بررسی شده است. همانطور که در این شکل مشاهده می‌شود تفاوت میانگین استاندارد شده (SMD) برای صفت مقدار چربی شیر در گروه تولید شیر روزانه (SMD=۰/۱۳ (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۰/۱۱-۰/۳۶) و در گروه تولید شیر ۳۰۵ روز (SMD=۴/۰۱ (فاصله



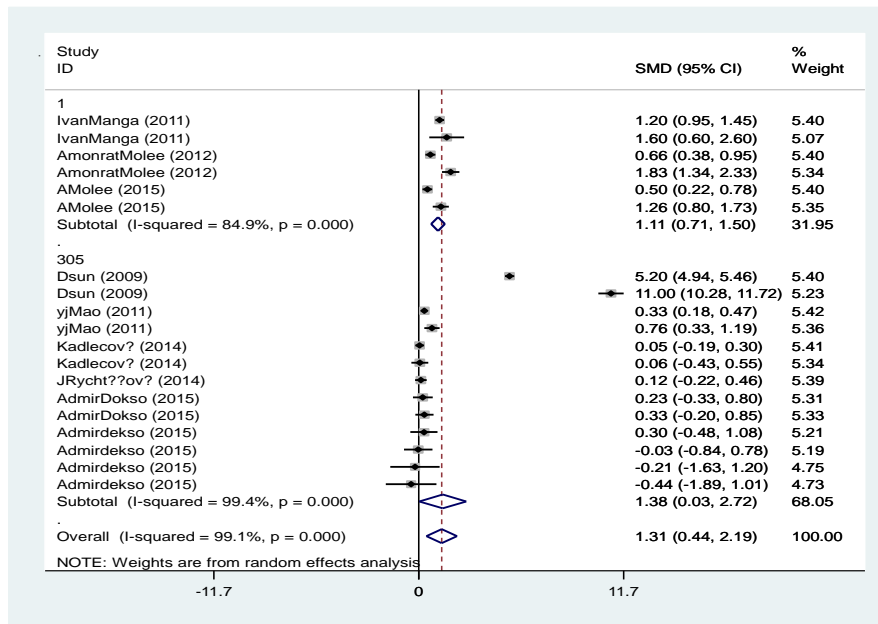
شکل ۲- نمودار جنگلی اثر چند شکلی *K232A* روی مقدار چربی شیر در گاوهای مورد مطالعه: خلاصه ای از تخمین اثر چندشکلی ژن با استفاده از مدل تصادفی نشان داده شده است. محور X تفاوت میانگین استاندارد شده (SMD) را نشان می‌دهد. اندازه مربعات، وزن مربوط به هر مطالعه است که مقدار عددی آنها نیز در همان خط بیان شده است. طول خط افقی (که روی مربعات قرار گرفته است) دامنه اطمینان ۹۵ درصد تفاوت میانگین استاندارد شده چندشکلی *K232A* روی مقدار چربی شیر در هر مطالعه را نشان می‌دهد. الماس (لوزی) که در انتها خط صاف عمودی آمده است نشان‌دهنده تخمین کلی اثر چندشکلی *K232A* روی مقدار چربی شیر است که نشان می‌دهد بین ژن *DGATI* و صفت ذکر شده ارتباط معنی‌داری وجود دارد. کدهای ۱، ۳۰۵ و Overall در این شکل به ترتیب گروه‌های تولید شیر روزانه، ۳۰۵ و کل دوره را نشان می‌دهند.

**Figure 2- Forest plot of the effect of *K232A* polymorphism on milk fat content in studied cows:** A summary of effect estimates for *K232A* polymorphism has been shown under the stochastic model. The X-axis represents the standardized mean difference (SMD). The size of the squares is showing the weight of each study, where its numerical value is expressed in the same line. The horizontal line length (placed on squared) represents the 95% confidence interval of the standardized mean difference of *K232A* polymorphism on milk fat content for each study. The diamond at the bottom of the vertical straight line indicates the overall estimate for the effect of *K232A* polymorphism on milk fat content, which is showing a significant relationship between the *DGATI* gene and the mentioned trait. The codes of 1, 305, and Overall in the figure, are showing daily, 305 days and, overall milk production groups, respectively.



SMD=۱/۳۸ (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۰/۰۳-۲/۷۵) برآورد شد. به طور کلی این نتایج نیز نشان می‌دهند که بین ژن *DGATI* و درصد چربی شیر ارتباط معنی‌داری وجود دارد (SMD = ۱/۳۱)، فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۰/۱۹-۲/۴۴).

شکل ۳ ارتباط بین چندشکلی *K232A* و درصد چربی شیر را در مدل تصادفی نشان می‌دهد. در این مدل بین این چندشکلی و درصد چربی در گروه تولید شیر روزانه (SMD=۱/۱۱) (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۰/۷۱-۱/۵۰) و در گروه تولید شیر ۳۰۵ روز



شکل ۳- نمودار جنگلی اثر چند شکلی *K232A* روی درصد چربی شیر در گاوهای مورد مطالعه: خلاصه ای از تخمین اثر چندشکلی ژن با استفاده از مدل تصادفی نشان داده شده است. محور X تفاوت میانگین استاندارد شده را نشان می‌دهد. اندازه مربعات وزن مربوط به هر مطالعه است که مقدار عددی آنها نیز در همان خط بیان شده است. طول خط افقی (که روی مربعات قرار گرفته است) دامنه اطمینان ۹۵ درصد تفاوت میانگین استاندارد شده چندشکلی *K232A* روی درصد چربی شیر در هر مطالعه را نشان می‌دهد. لوزی در پایین خط صاف عمودی نشانگر برآورد کلی است که نشان می‌دهند که بین ژن *DGATI* و درصد چربی شیر ارتباط معنی‌داری وجود دارد. کدهای ۱، ۳۰۵ و Overall در این شکل به ترتیب گروه‌های تولید شیر روزانه، ۳۰۵ و کل دوره را نشان می‌دهند.

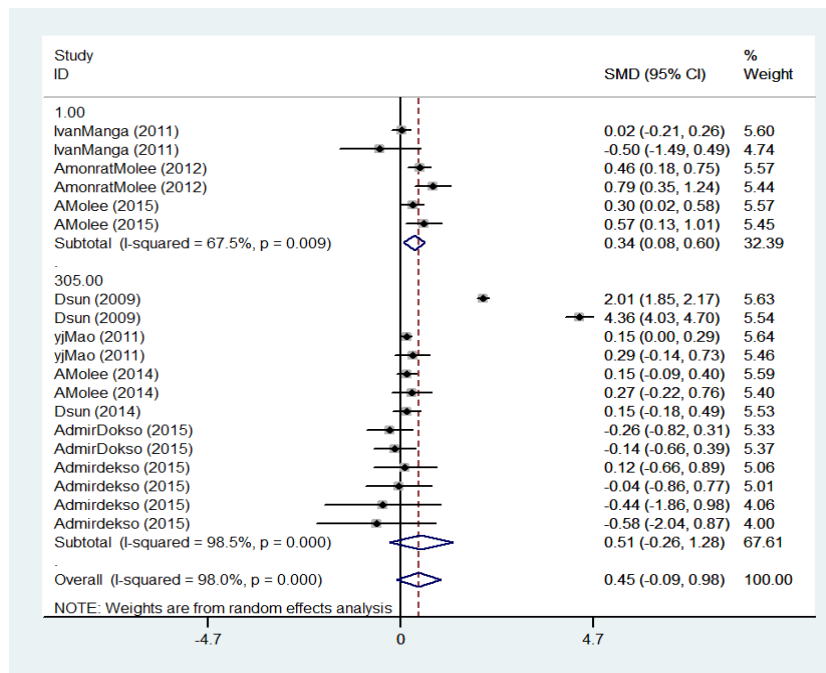
**Figure 3- Forest plot of the effect of *K232A* polymorphism on milk fat percentage in studied cows:** A summary of effect estimates for *K232A* polymorphism has been shown under the stochastic model. The X-axis represents the standardized mean difference. The size of the squares is showing the weight of each study, where its numerical value is expressed in the same line. The horizontal line length (placed on squared) represents the 95% confidence interval of the standardized mean of *K232A* polymorphism on milk fat percentage for each study. The diamond at the bottom of the vertical straight line indicates the overall estimate, which is showing a significant relationship between the *DGATI* gene and the percentage of milk fat. The codes of 1, 305, and Overall in the figure, are showing daily, 305 days, and overall milk production groups, respectively.

که ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی ژن *DGATI* و درصد پروتئین شیر در گروه تولید شیر روزانه وجود دارد، درحالی‌که این ارتباط برای تولید شیر ۳۰۵ روز مشاهده نشد. برای صفت درصد پروتئین در تولید شیر روزانه (SMD=۰/۳۴)، (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: SMD=۰/۵۱-۰/۶۰) و در تولید شیر ۳۰۵ روز (SMD=۰/۰۸-۰/۶۰)

ارتباط چندشکلی ژن *DGATI* با درصد پروتئین شیر به تفکیک در دو گروه تولید شیر روزانه و ۳۰۵ روز در شکل ۴ بررسی شده است. بیشترین درصد پروتئین شیر در گاو شیری مربوط به مطالعه مانگا و ریحا (۲۰۱۱) و کمترین آن مرتبط با مطالعه مولی و همکاران (۲۰۱۵) بود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد

را قطع می‌کند، در مجموع بین چندشکلی مورد نظر و درصد پروتئین شیر ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد ( $SMD=0/45$ ,  $-0/09$  -  $0/98$ ). همچنین ارزیابی اثر چندشکلی جایگاه *K232A* روی مقدار پروتئین شیر نیز نتایج مشابهی به همراه داشت و در مجموع مطالعات، این اثر معنی‌دار نبود (نتایج نمایش داده نشده است).

(فاصله اطمینان ۹۵ درصد:  $-0/26$  -  $1/28$ ) برآورد شد. شاخص  $I^2$  در این فراتحلیل برای صفت درصد پروتئین شیر ۹۸٪ به دست آمد که بالا بودن شاخص  $I^2$  نشان‌دهنده ناهمگنی مطالعات با هم می‌باشد. همچنین با توجه به اینکه فاصله اطمینان (در نمودار با علامت لوزی نشان داده شده است) خط عمود ممتد برای صفت درصد پروتئین شیر در کل مطالعات

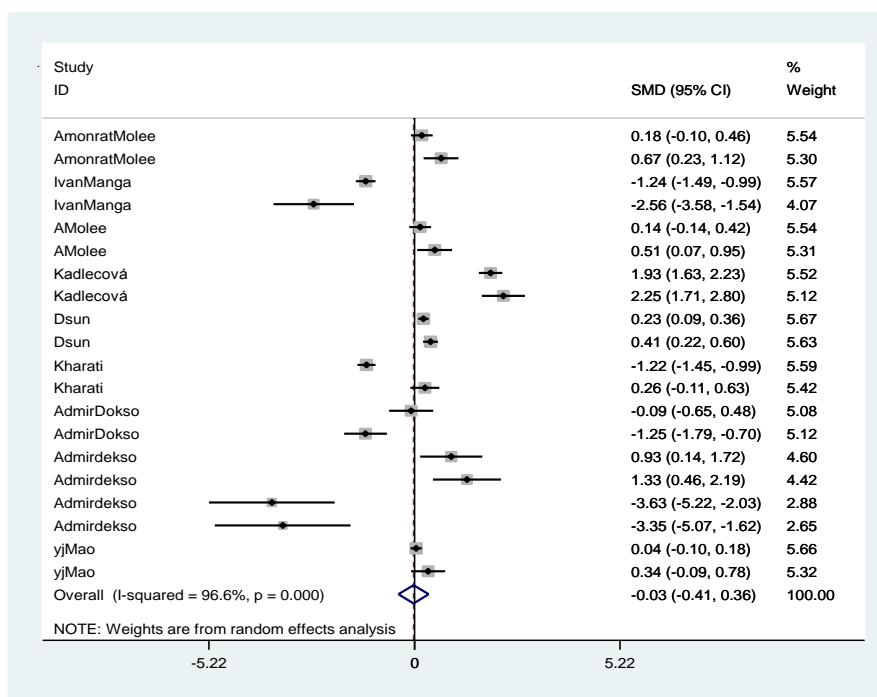


شکل ۴- نمودار جنگلی اثر چند شکلی *K232A* روی درصد پروتئین شیر در گاوهای مورد مطالعه: محور X تفاوت میانگین استاندارد شده (SMD، استاندارد شده با استفاده از z-statistic) را نشان می‌دهد. اندازه مربعات وزن مربوط به هر مطالعه است که مقدار عددی آنها نیز در همان خط بیان شده است. طول خط افقی (که روی مربعات قرار گرفته است) دامنه اطمینان ۹۵ درصد تفاوت میانگین استاندارد شده چندشکلی *K232A* روی درصد پروتئین شیر برای هر مطالعه را نشان می‌دهد. سه لوزی نمایش داده شده روی خط عمودی (خط نقطه‌چین) به ترتیب اثرات تخمین زده شده مربوط به شیر روزانه، ۳۰۵ روز و مجموع کل مطالعات است که نشان می‌دهد لوزی مربوط به مجموع کل مطالعات خط ممتد را قطع کرده و بین ژن *DGATI* و درصد پروتئین شیر ارتباط معنی‌داری وجود ندارد.

**Figure 4- Forest plot of the effect of *K232A* polymorphism on milk protein percentage in studied cows:** The X-axis represents the standardized mean difference (SMD, standardized using z-statistic). The size of the squares is showing the weight of each study, where its numerical value is expressed in the same line. The horizontal line length (placed on squared) represents the 95% confidence interval of the standardized mean of *K232A* polymorphism on milk protein percentage for each study. The three diamonds on the vertical straight line (dotted line) indicate the pool estimates for daily, 305 days, and overall effects, which is showing no significant relationship between the *DGATI* gene and the percentage of milk protein for an overall estimate, where its diamond interrupted the continuous line.

اطمینان ۹۵ درصد:  $0/36$  -  $0/41$ ) ارتباط معنی‌داری وجود نداشت.

شکل ۵ ارتباط بین چندشکلی *K232A* و مقدار شیر را در مدل تصادفی نشان می‌دهد، در این مدل بین این چندشکلی و مقدار تولید شیر ( $SMD=-0/03$ )، فاصله



شکل ۵- نمودار جنگلی اثر چند شکلی *K232A* روی مقدار شیر در گاوهای مورد مطالعه: محور X تفاوت میانگین استاندارد شده را نشان می‌دهد. اندازه مربعات، وزن مربوط به هر مطالعه است که مقدار عددی آنها نیز در همان خط بیان شده است. طول خط افقی (که روی مربعات قرار گرفته است) دامنه اطمینان ۹۵ درصد تفاوت میانگین استاندارد شده چندشکلی *K232A* روی میزان تولید شیر در هر مطالعه را نشان می‌دهد. لوزی که در انتها خط صاف عمودی (خط نقطه‌چین) آمده است نشان‌دهنده تخمین کلی اثر چندشکلی *K232A* روی میزان تولید شیر است که خط ممتد را قطع کرده و نشان می‌دهد بین ژن *DGATI* و تولید شیر ارتباط معنی‌داری وجود ندارد.

**Figure 5-** Forest plot of the effect of *K232A* polymorphism on milk yield in the studied cows: The X-axis represents the standardized mean difference. The size of the squares is showing the weight of each study, where its numerical value is expressed in the same line. The horizontal line length (placed on squared) represents the 95% confidence interval of the standardized mean of *K232A* polymorphism on milk yield for each study. The diamond at the bottom of the vertical straight line (dotted line) indicates the overall estimate for the effect of *K232A* polymorphism on milk yield, which is showing no significant relationship between the *DGATI* gene and the milk yield, where its diamond interrupted the continuous line.

افزایش مقدار چربی و پروتئین شیر وجود دارد. نتایج حاصل از تحقیق حاضر بیانگر ارتباط بین این جایگاه ژنی با مقدار و درصد چربی شیر بود، که با نتایج پژوهش تومکا و همکاران (۲۰۱۶) مشابه است. در این تحقیق گزارش شده است که آلل K از طریق هدایت انرژی به سمت تولید چربی شیر بیشتر، میزان چربی شیر را افزایش می‌دهد. همچنین بررسی ارتباط صفت درصد پروتئین شیر با چندشکلی در این جایگاه ژنی، نشان داده است که تغییر آمینواسیدی آلانین به لایزین (*K232A*)، با افزایش پروتئین شیر همراه است. همچنین ناصرخیل و همکاران (۲۰۱۶)

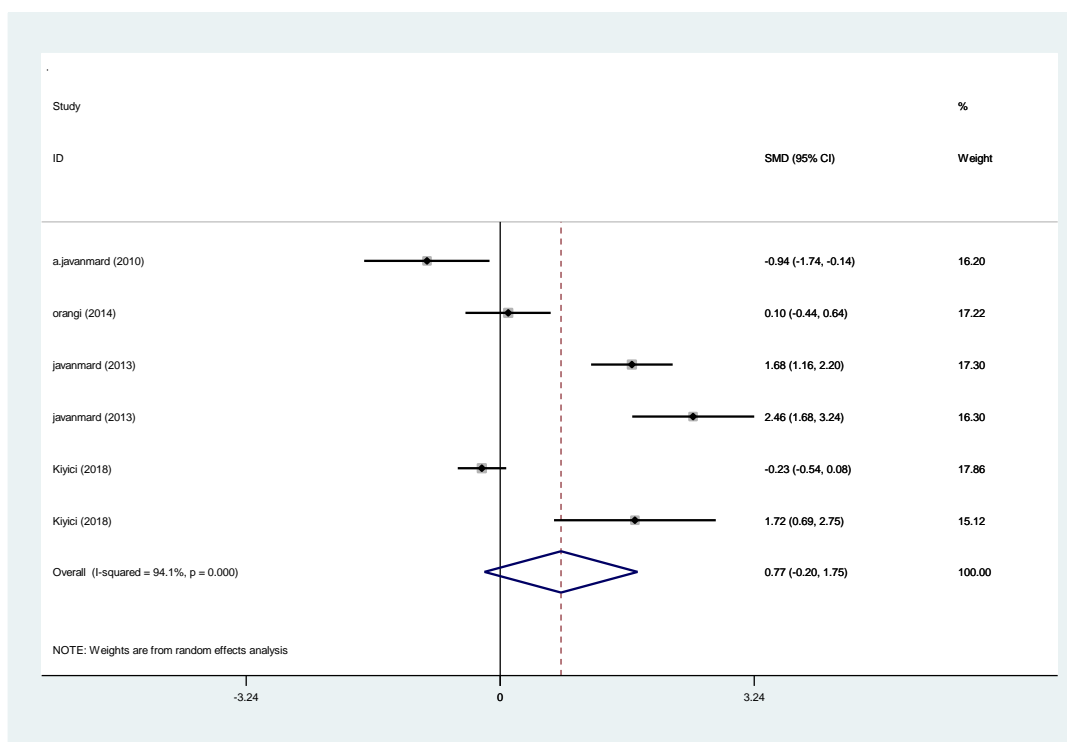
ژن *DGATI* در کروموزم ۱۴ گاو شناسایی شده است و ویتتر و همکاران (۲۰۰۲) چندشکلی *K232A* را در این ژن شناسایی کردند. در این پژوهش، به کمک روش فراتحلیل، ارتباط چندشکلی *K232A* در جایگاه ژن *DGATI*، بررسی شد. هر چند بر اساس بررسی منابع انجام شده، تحقیقات فراتحلیلی در این زمینه گزارش نشده است اما در مطالعات مستقل مختلف دیگری نیز نشان داده شده است که چندشکلی *K232A* در *DGATI* سبب تغییر در صفات شیر می‌شود. هرادکا و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی *K232A* و

اندازه نمونه، نتایج گزارش شده در این تحقیق با صحت و قابلیت اعتماد بالاتری برای تعیین اثر این جایگاه‌های ژنی روی صفات مختلف تولید شیر همراه باشد.

**آنالیز ارتباط ژن لپتین با صفات تولید شیر:** شکل ۶ نمودار جنگلی اثر چندشکلی *Sau3AI* روی صفت تولید شیر را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود این نمودار برای چهار مطالعه رسم شده است. فراتحلیل مطالعات مختلف نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی ژن *Sau3AI* و مقدار تولید شیر وجود ندارد که با نتایج مطالعات جوانمرد و همکاران (۲۰۱۰) و ارنگی (۲۰۱۴) در گاوهای هلشتاین و همچنین جوانمرد و همکاران (۲۰۱۴) در گاو بومی سرابی ایران همخوانی داشت. درحالی‌که کیویسی و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که بین چندشکلی این جایگاه ژنی و میزان تولید شیر در گاوهای هلشتاین ترکیه ارتباط معنی‌داری وجود دارد. برای صفت تولید شیر  $SMD=0.77$ ، (فاصله اطمینان ۹۵ درصد:  $-0.20$  -  $1.75$ ) برآورد شد. شاخص عدم تجانس ( $I^2$ ) در این مطالعه برای تولید شیر ۹۴/۱٪ به دست آمد که بالا بودن شاخص  $I^2$  نشان‌دهنده ناهمگنی مطالعات با هم می‌باشد.

اثر ژن *DGATI* را بر صفات تولید شیر و ترکیب‌های آن در گاو میش، معنی‌دار گزارش کردند. آن‌ها بیان کردند که به‌طور میانگین در اثر جایگزینی آلل *K* در ژن *DGATI*، ۰/۵ درصد پروتئین بیشتری تولید می‌شود. این درحالی است که نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در مجموع کل مطالعات ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی این ژن و مقدار و درصد پروتئین شیر وجود ندارد. نتایج متفاوت مشاهده شده بین پژوهش حاضر و تحقیقات قبلی می‌تواند به خاطر تفاوت گونه‌ای، نژاد و یا شرایط حاکم بر آزمایش‌های مستقل مانند تعداد کم نمونه بدست آمده باشد (۳۷).

همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد ارتباط ژن *DGATI* با صفت مقدار شیر معنی‌دار نبود، و حضور آلل *K* سبب افزایش مقدار شیر نمی‌شود. این درحالی است که انجام تحقیقات مستقل با نتایج متفاوتی همراه بوده‌اند. مثلاً طبق گزارش تالر و همکاران (۲۰۰۳) چندشکلی در این ژن، کاهش تولید شیر در نژاد هلشتاین آلمان را باعث می‌شود. نتایج مشابهی نیز توسط بوناس و همکاران (۲۰۰۸) و برری و همکاران (۲۰۱۰) به ترتیب در گاوهای شیری هلشتاین انگلستان و ایرلند گزارش شده است. به هر حال با انجام آنالیزهای فراتحلیل در تحقیق حاضر انتظار می‌رود با تجمیع اطلاعات تحقیقات مستقل و افزایش



شکل ۶- نمودار جنگلی اثر چند شکلی *Sau3AI* روی مقدار شیر تولیدی در گاوهای مورد مطالعه: محور X تفاوت میانگین استاندارد شده را نشان می‌دهد. اندازه مربعات، وزن مربوط به هر مطالعه است که مقدار عددی آنها نیز در همان خط بیان شده است. طول خط افقی (که روی مربعات قرار گرفته است) دامنه اطمینان ۹۵ درصد تفاوت میانگین استاندارد شده چندشکلی *Sau3AI* روی میزان تولید شیر در هر مطالعه را نشان می‌دهد. لوزی که در انتها خط صاف عمودی (خط نقطه‌چین) آمده است نشان‌دهنده تخمین اثر کلی چندشکلی *Sau3AI* روی میزان تولید شیر برای همه مطالعات است که نشان می‌دهد بین این ژن و تولید شیر ارتباط معنی‌داری وجود ندارد.

**Figure 6- Forest plot of the effect of *Sau3AI* polymorphism on milk yield in studied cows:** The X-axis represents the standardized mean difference. The size of the squares is showing the weight of each study, where its numerical value is expressed in the same line. The horizontal line length (placed on squared) represents the 95% confidence interval of the standardized mean of *Sau3AI* polymorphism on milk yield for each study. The diamond at the bottom of the vertical straight line (dotted line) indicates the overall effect of *Sau3AI* polymorphism on the amount of milk for the whole study, which is showing there is no significant relationship between this gene and the milk yield.

تحقیقات استفاده شده در این مقاله تنها مطالعاتی بودند که دارای معیارهای مناسب برای انجام فراتحلیل ارتباط چندشکلی ژن لپتین با صفات تولید شیر بودند. نتایج مطالعات مختلف در رابطه با چندشکلی ژن لپتین و اثر آن بر تولید شیر، باروری، زایش، رشد رویان و کنش‌های ایمنی نشان داده‌اند که لپتین یک ژن بزرگ‌اثر بوده و از نقطه نظر اصلاح نژادی، اهمیت بالای این هورمون و چندشکلی‌های ژن رمزکننده‌ی آن در کنترل صفات تولیدی و تولید مثلی نشان داده شده است. محققان مختلفی چندشکلی‌های یافت شده

همچنین نتایج حاصل از آنالیزهای فراتحلیل برای بررسی اثر چندشکلی ژن *Sau3AI* روی صفات مقدار و درصد چربی و پروتئین شیر نیز نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی این ژن و صفات بیان شده وجود ندارد. البته باید به این نکته نیز توجه داشت که تعداد کم مطالعات مورد استفاده در این تحقیق می‌تواند نتایج حاصل را برای ارتباط واقعی این جایگاه ژنی و صفات مورد مطالعه تحت تأثیر قرار داده باشد و انجام فراتحلیل با تعداد بیشتری مطالعات می‌تواند در تأیید نتایج تحقیق حاضر بسیار سودمند باشد. با این وجود همانطور که قبلاً نیز اشاره شد

نشان داد که بین چندشکلی و بعضی از صفات مورد نظر ارتباط معنی دار وجود دارد.

### نتیجه گیری کلی

هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر برخی از ژن‌های بزرگ اثر بر صفات مهم اقتصادی در گاوهای شیری به روش فراتحلیل بود. انتظار این است که با ترکیب اطلاعات حاصل از تحقیقات مستقل به روش فراتحلیل بتوان اطلاعات جامع‌تر از اثر واقعی ژن‌های کاندیدا روی صفات فنوتیپی مختلف بدست آورد. نتایج این تحقیق در مجموع نشان داد که، ژن دی آسیل گلیسرول آسیل ترانسفراز ۱ (*DGATI*) با صفات درصد پروتئین (روزانه)، مقدار و درصد چربی شیر در ارتباط است، اما اثر آن بر مقدار تولید شیر، مقدار پروتئین و درصد پروتئین شیر در کل دوره معنی دار نیست. در خصوص ژن لپتین آنالیزهای آماری این پژوهش نشان می‌دهد که لپتین با هیچکدام از صفات مورد بررسی ارتباط معنی داری ندارد. در مجموع، با وجود محدودیت‌های موجود برای انجام تحقیقات فراتحلیل روی ژن‌های مختلف، همانند عدم اجرای تحقیقات با اندازه نمونه کافی روی جایگاه ژنی مشترک از یک ژن بزرگ اثر و یا عدم ارائه اطلاعات کافی در بخش نتایج تحقیقات، که در اجرای این تحقیق نیز با آن روبرو بودیم، با این وجود با توجه به اینکه انجام آنالیزهای فراتحلیل اطلاعات جامع‌تر و با قدرت آماری بالاتری نسبت به اطلاعات حاصل از تحقیقات مستقل فراهم می‌آورد اجرای تحقیقات مشابه برای ژن‌های بزرگ اثر دیگر به خصوص در ارتباط با صفات باروری و تولید مثلی پیشنهاد می‌شود.

در این ژن را با صفات اقتصادی در گاوهای شیری و گوشتی مرتبط دانسته‌اند (۱۳، ۳۳).

هر چند بر اساس بررسی منابع انجام شده، تحقیقات فراتحلیلی در این زمینه گزارش نشده است اما در مطالعات مستقل نتایج متناقضی گزارش شده است. لیفرس و همکاران (۲۰۰۲) با بررسی چندشکلی در ناحیه ایترون ۲ (*Sau3AI*) ژن لپتین در ۶۱۳ گوساله هلشتاین گزارش کردند که گوساله‌های با ژنوتیپ AB، ۱/۳۲ کیلوگرم شیر بیشتری تولید می‌کند. همچنین الجنابی و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد که تولید شیر در گاوهای هلشتاین به طور قابل توجهی تحت تأثیر ژنوتیپ ژن لپتین قرار دارد و نگو و همکاران (۲۰۱۵) ارتباط چندشکلی جایگاه ژنی دیگر ژن لپتین (*Kpn2I*) را بر صفات کیفیت شیر معنی دار گزارش کرده است. در این تحقیق، گاوهای دارای ژنوتیپ CT دارای پروتئین بالاتری (۳/۶۷٪) و چربی بیشتری (۳/۹۹٪) نسبت به گاوهای دارای ژنوتیپ CC و TT بودند. از دلایل احتمالی ناسازگاری بین گزارش‌های مختلف می‌توان به این نکته اشاره کرد که صفات تولیدی و تولیدمثلی تحت تأثیر محیط و تغذیه هستند، و اثر عوامل محیطی به خصوص در مطالعاتی که اندازه نمونه کم است و یا وراثت‌پذیری صفات پایین است، می‌تواند نتایج حاصل از این تحقیقات را تحت تأثیر قرار دهد که در این شرایط فراتحلیل می‌تواند تا حدود زیادی این آریب را برطرف سازد. به طور کلی نتایج مطالعه حاضر که یک مرور سیستماتیک و فراتحلیل برای ارتباط بین چندشکلی دو جایگاه ژنی در ژن‌های *DGATI* و لپتین با برخی صفات ترکیبات شیر بود،

### منابع

1. Al-Janabi, H.R.A., Al-Rawi, A.J. and Al-Anbari, N.N. 2018. Association of leptin receptor gene polymorphism with some productive and reproductive traits in Holstein primiparous cows. Journal of Entomology and Zoology Studies. 6(2): 1359-1363.
2. Anton, I., Kovacs, K., Holló, G., Farkas, V., Lehel, L., Hajda, Z. and Zsolnai, A. 2011. Effect of leptin, DGAT1 and TG

- gene polymorphisms on the intramuscular fat of Angus cattle in Hungary. *Journal of Livestock Science*. 135(2): 300–303.
3. Banos, G., Woolliams, J.A., Woodward, B.W., Forbes, A.B. and Coffey, M.P. 2008. Impact of single nucleotide polymorphisms in leptin, leptin receptor, growth hormone receptor, and diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) gene loci on milk production, feed, and body energy traits of UK dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 91(8): 3190–3200.
  4. Berry, D.P., Howard, D., O'Boyle, P., Waters, S., Kearney, J.F. and McCabe, M. 2010. Associations between the K232A polymorphism in the diacylglycerol-O-transferase 1 (DGAT1) gene and performance in Irish Holstein-Friesian dairy cattle. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*. 49(1): 1–9.
  5. Cheung, M.V.L. and Vijayakumar, R. 2016. A guide to conducting a meta-analysis. *Neuropsychology Review*. 26(2): 121–128.
  6. Dokso, A., Ivanković, A. and Zečević, E. 2015. Effect of DGAT1 gene variants on milk quantity and quality in Holstein, Simmental and Brown Swiss cattle breeds in Croatia. *Mljekarstvo*. 65(4): 238
  7. Doyle, J.L., Berry, D.P., Veerkamp, R.F., Carthy, T.R., Walsh, S.W., Evans, R.D. and Purfield, D.C. 2020. Genomic regions associated with skeletal type traits in beef and dairy cattle are common to regions associated with carcass traits, feed intake and calving difficulty. *Frontiers in Genetics*. 11: 20.
  8. Durmaz, A.A., Karaca, E., Demkow, U., Toruner, G., Schoumans, J. and Cogulu, O. 2014. Evolution of genetic techniques: past, present, and beyond. *Journal of BioMed Research International*. 7: 1-8.
  9. Ghoneim, M.A., Ogaly, H.A., Gouda, E.M. and El-Behairy, A.M. 2016. Prediction of desirable genotype patterns in Baladi beef cattle and water buffalo by identification of new leptin gene SNPs. *Journal of Livestock Science*. 194: 51–56.
  10. Hedges, L. and Olkin, I. 1980. Vote-counting methods in research synthesis. *Psychol Bull*. 88(2): 359-69.
  11. Hong, F., Breitling, R., McEntee, C.W., Wittner, B.S., Nemhauser, J.L. and Chory, J. 2006. RankProd: a bioconductor package for detecting differentially expressed genes in meta-analysis. *Bioinformatics*. 22(22): 2825-2827.
  12. Hradecka, E., Citek, J., Panicke, L., Rehout, V. and Hanusova, L. 2008. The relation of GH1, GHR and DGAT1 polymorphisms with estimated breeding values for milk production traits of German Holstein sires. *Czech Journal of Animal Science*. 53(6): 238–245.
  13. Javanmard, A., Khaledi, K., Asadzadeh, N. and Solimanifarjam, A.R. 2010. Detection of polymorphisms in the bovine leptin (Lep) gene: Association of single nucleotide polymorphism with breeding value of milk traits in Iranian Holstein Cattle. *Journal of Molecular Genetics*. 2(1): 10-14.
  14. Javanmard, A., Moradi, M.H. and Safdari, M. 2014. Analysis of association among four candidate genes polymorphisms with milk yield and reproductive performance traits in Sarabi cow using PCR-RFLP marker. *Journal of Agricultural Biotechnology*. 6(1): 47-60.
  15. Ji, S., Willis, G.M., Scott, R.R. and Spurlock, M.E. 1998. Partial cloning and expression of the bovine leptin gene. *Animal Biotechnology Journal*. 9: 1-14.
  16. Kadlecova, V., Němečková, D., Ječmínková, K. and Stádník, L. 2014. Association of bovine DGAT1 and leptin genes polymorphism with milk production traits and energy balance indicators in primiparous Holstein cows. *Mljekarstvo*. 64(1): 19-26.
  17. Kiyici, J.M., Arslan, K., Akyuz, B., Kaliber, M., Aksel, E.G. and Cinar, M.U. 2018. Relationships between polymorphisms of growth hormone, leptin and myogenic factor 5 genes with some milk yield traits in Holstein dairy

- cows. *Journal of Dairy Technology*. 72(1): 1-7.
18. Kharrati Koopaei, H., Mohammad Abadi, M.R., Ansari Mahyari, S., Esmailzadeh Koshkoiyeh, A., Tarang, A.R. and Potki, P. 2012. Effect of DGAT1 variants on milk composition traits in Iranian Holstein cattle population. *Animal Science Papers and Reports*. 30(3): 231-239.
  19. Kuehn, C., Edel, C., Weikard, R. and Thaller, G. 2007. Dominance and parent-of-origin effects of coding and non-coding alleles at the acylCoA: diacylglycerol-acyltransferase (DGAT1) gene on milk production traits in German Holstein cows. *Journal of BMC Genetics*. 8(1): 62.
  20. Kumar, A., Singh, R.V., Chauhan, A., Ilayakumar, K., Kumar, S., Kumar, A., Sonwane, A., Kumar, S., Panigrahi, M. and Bhushan, B. 2019. Genetic association analysis reveals significant effect of  $\beta$ -casein A1/A2 loci on production and reproduction traits in Frieswal crossbred cows. *Journal of Biological Rhythm Research*. 51(4): 1-14.
  21. Lean, I.J., Rabiee, A.R., Duffield, T.F. and Dohoo, I.R. 2009. Invited review: Use of meta-analysis in animal health and reproduction: Methods and applications. *Journal of Dairy Science*. 92(8): 3545-3565.
  22. Liefers, S.C., Pas, M.F.W., Veerkamp, R.F. and van der Lende, T. 2002. Associations between leptin gene polymorphisms and production, live weight, energy balance, feed intake, and fertility in Holstein heifers. *Journal of Dairy Science*. 85(6): 1633-1638.
  23. Luo, J., Qin, F., Deng, Ch., Li, F., Li, W. and Yue, X. 2019. Polymorphisms of IGF-IR gene and their association with economic traits in two indigenous Chinese dairy goat breeds. *Journal of Gene*. 695: 51-56.
  24. Manga, I. and Riha, H. 2011. The DGAT1 gene K232A mutation is associated with milk fat content, milk yield and milk somatic cell count in cattle. *Archiv Tierzucht*. 54(3): 257-263.
  25. Mao, Y.J., Chen, R.J., Chang, L.L., Chen, Y., Ji, D.J., Wu, X.X., Shi, X.K., Wu, H.T., Zhang, M.R., Yang, Z.P., König, S. and Yang, L.G. 2012. Effects of SCD1- and DGAT1-genes on production traits of Chinese Holstein cows located in the delta region of Yangtze river. *Livestock Science*. 145: 280-286.
  26. Miller, D.W., Findlay, P.A., Morrison, M.A., Raver, N. and Adam, C.L. 2002. Seasonal and dose-depedent effects of intracerebroventricular leptin on LH secretion and appetite in sheep. *Journal of Endocrinology*. 175(2): 395-404.
  27. Minozzi, G., Williams, J.L., Stella, A., Strozzi, F., Luini, M., Settles, M.L., Taylor, J.F., Whitlock, R.H., Zanella, R. and Neiberger, H.L. 2012. Meta-analysis of two genome-wide association studies of bovine paratuberculosis. *PLoS ONE*. 7(3): e32578.
  28. Mohammed, S.A., Rahamtalla, S.A., Ahmed, S.S., Elhafiz, A., Dousa, B.M., Elamin, Kh.M. and Ahmed, M.K.A. 2015. DGAT1 gene in dairy cattle. *Global Journal of Animal Scientific Research*. 3(1):191-198.
  29. Molee, A., Duanghaklang, N. and Na-Lampang, P. 2012. Effects of Acyl-CoA: diacylglycerol acyl transferase 1 (DGAT1) gene on milk production traits in crossbred Holstein dairy cattle. *Tropical Animal Health and Production*. 44(4): 751-755.
  30. Molee, A., Poompramun, C. and Mernkrathoke, P. 2015. Effect of casein genes-beta-LGB, DGAT1, GH, and LHR-on milk production and milk composition traits in crossbred Holsteins. *Genetics and Molecular Research*. 14(1): 2561-2571.
  31. Naserkheil, M., Miraie-Ashtiani, S.R., Sadeghi, M., Nejati-Javaremi, A. and Lee, D. 2016. Investigation of polymorphism of DGAT1 gene in Iranian buffaloes. *Iranian Journal of Animal Science*. 47(2): 175-183. (In Farsi)
  32. Ngu, N.T., Quynh, L.T.B., Hon, N.V., Nhan, N.T.H., Khoa, D.V.A., Hung, L.T. and Xuan, N.H. 2015. Influence of leptin genotypes on milk fat and protein



- content of crossbred holstein friesian x Lai Sind cows. *Journal of Animal and Plant Sciences*. 25(1): 304-308.
33. Nobari, K., Ghazanfari, S., Nassiry, M.R., Tahmoorespur, M. and Jorjani, E. 2010. Relationship between Leptin gene polymorphism with economical traits in Iranian Sistani and Brown Swiss cows. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 9(22): 2807-2810.
34. Orangi, S. 2014. Association of polymorphism in diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1) and leptin genes with productive and reproductive traits in Holstein cows. Msc. Thesis. Animal Science of Shiraz University, Iran. (In Persian)
35. Ozdemir, M., Kopuzlu, S., Topal, M., and Bilgin, O.C. 2018. Relationships between milk protein polymorphisms and production traits in cattle: a systematic review and meta-analysis. *Archives Animal Breeding*. 61(2): 197–206
36. Pannier, L., Sweeney, T., Hamill, R.M., Ipek, F., Stapleton, P.C. and Mullen, A. M. 2009. Lack of an association between single nucleotide polymorphisms in the bovine leptin gene and intramuscular fat in *Bos taurus* cattle. *Meat Science*. 81(4): 731–737.
37. Rabiee, A.R., Breinhild, K., Scott, W., Golder, H.M., Block, E. and Lean, I.J. 2012. Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: A meta-analysis and meta-regression. *Journal of Dairy Science*. 95(6): 3225–3247.
38. Ramasamy, A., Mondry, A., Holmes, C. C. and Altman, D.G. 2008. Key issues in conducting a meta-analysis of gene expression microarray datasets. *PLoS Medicine*. 5: e184.
39. Rhodes, D.R., Barrette, T.R., Rubin, M.A., Ghosh, D. and Chinnaiyan, A.M. 2002. Meta-analysis of microarrays: interstudy validation of gene expression profiles reveals pathway dysregulation in prostate cancer. *Cancer Research*. 62(15): 4427-33.
40. Rychtarova, J., Sztankóová, Z., Kyselová, J., Zink, V., Štípková, M., Vacek, M. and Štolc L. 2014. Effect of DGAT1, BTN1A1, OLR1, and STAT1 genes on milk production and reproduction traits in the Czech Fleckvieh breed. *Czech Journal of Animal Science*. 59(2): 45–53
41. Sharifi, S., Pakdel, A. and Ebrahimi, E. 2017. Meta-analysis of transcriptomic data of mammary gland infected by *Escherichia coli* Bacteria in dairy cows. *Iranian Journal of Animal Science*. 48(3): 343-352. (In Farsi).
42. StataCorp. 2019. Stata Meta-Analysis Reference Manual. 1<sup>ST</sup> Edition. Stata Press Publication. StataCorp LLC, 274p.
43. Stone, R.T., Kappes, S.M. and Beattie, C.W. 1996. The bovine, homologue of the obese gene maps to chromosome 4. *Mammalian Genetics*. 7(5): 399-400.
44. Sun, D., Jia, J., Ma, Y., Zhang, Y., Wang, Y., Yu, Y. and Zhang, Y. 2009. Effects of DGAT1 and GHR on milk yield and milk composition in the Chinese dairy population. *Animal Genetics*. 40(6): 997-1000.
45. Thaller, G., Kramer, W., Winter, A., Kaupe, B., Erhardt, G. and Fries, R. 2003. Effects of DGAT1 variants on milk production traits in German cattle breeds. *Journal of Animal Sciences*. 81(8): 1911-1918.
46. Tomka, J., Vašíčková, K., Oravcová, M., Bauer, M., Huba, J., Vašíček, D. and Peškovičová, D. 2016. Effects of polymorphisms in DGAT1 and LEP genes on milk traits in Holstein primiparous cows. *Mljekarstvo*. 66(2): 122-128.
47. Trombley, S., Maugars, G., Kling, P., Björnsson, B.T. and Schmitz, M. 2012. Effects of long-term restricted feeding on plasma leptin, hepatic leptin expression and leptin receptor expression in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *General and Comparative Endocrinology*. 175(1): 92-99.
48. Winter, A., Kramer, W., Werner, F., Kollers, S., Kata, S., Durstewitz, G., Buitkamp, J., Womack, J.E., Thaller, G. and Fries, R. 2002. Association of a lysine-232/alanine polymorphism in a bovine gene encoding acyl-CoA: diacylglycerol 46 acyltransferase

- (DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 99(14): 9300-9305.
49. Xia, J., Fjell, C.D., Mayer, M.L., Pena, O.M., Wishart, D.S. and Hancock, R.E.W. 2013. INMEX-a web-based tool for integrative meta-analysis of expression data. *Nucleic Acids Research*. 41: 63-70.
50. Yin, L., Coelho, S.G., Valencia, J.C., Ebsen, D., Mahns, A., Smuda, C., Miller, S.A., Beer, J.Z., Kolbe, L. and Hearing, V.J. 2015. Identification of genes expressed in hyperpigmented skin using meta-analysis of microarray data sets. *Journal of Investigative Dermatology*. 135(10): 2455-63.
- Yin, T. and König, S. 2019. Genome-wide associations and detection of potential candidate genes for direct genetic and maternal genetic effects influencing dairy cattle body weight at different ages. *Genetics Selection Evolution*. 51(1): 4.



## A meta-analysis for association between *DGAT1* and *Leptin* genes polymorphisms with some milk production traits in dairy cows

M. Ghorbani<sup>1</sup>, \*M.H. Moradi<sup>2</sup>, A.H. Khaltabadi Farahani<sup>2</sup>, M. Mirzaei<sup>2</sup>

<sup>1</sup>MSc graduated and <sup>2</sup>Assistant Prof., Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran

Received: 07/23/2020; Accepted: 02/13/2021

### Abstract

**Background and objectives:** The polymorphisms in the major genes of Diacylglycerol O-Acyltransferase 1 (*DGAT1*) and *Leptin* have drawn much attention from animal scientists during recent years, for their possible roles in the economically important traits. However, the association between these genes and milk production traits has been reported incompatible (sometimes significant and some other times without significant association) in dairy cattle. The purpose of the present study was to investigate the association between *DGAT1* and *Leptin* genes and some economically important traits including milk yield, milk fat and protein content and percentages in dairy cows by using meta-analysis.

**Materials and methods:** All researches published in the theses and peer-reviewed journals up to 2018 were used. Following quality control, 9 and 4 studies reported for the polymorphisms of *K232A* in *DGAT1* and *Sau3AI* of *Leptin* gene were used, respectively. The analysis of the current study was carried out using the Stata v.15. The Non-conformance index ( $I^2$ ) was significant for all parameters so that a random risk model was used. The effect size, 95% confidence interval, and statistical significance level of the measurements were calculated for each variable using this model. All variables were continuously in the current study. The measurement of the effect size for continuous data was carried out using the standardized mean difference (SMD) that was calculated for the polymorphisms of *K232A* and *Sau3AI* loci in *DGAT1* and *Leptin* genes on the milk yield, milk fat and protein content and percentage.

**Results:** The results of the present research showed that the polymorphism in the *K232A* locus of *DGAT1* gene, has a significant effect on milk fat content and percentage, and can play an important role in their amounts, but its relationship with milk yield and protein content and percentage is not significant. Also, the results for *Sau3AI* polymorphism in the *Leptin* revealed that this locus had no significant effect on the traits investigated in this study.

**Conclusion:** The results of the present study with identifying the overall effects of the studied genotypes of *DGAT1* and *Leptin* genes on milk production traits in dairy cows can play an important role in planning the use of the polymorphisms of these genes in future researches.

**Keywords:** Polymorphism, Leptin, Diacylglycerol O-Acyltransferase 1 (*DGAT1*), Dairy cattle

---

\*Corresponding author; hoseinmoradi@ut.ac.ir

