بررسی مولکولی بیماری های $DUMP_S$ و CVM در گاو های هولشتاین و بومی استان خوزستان

سیروس عیدی وندی[۱]، حمید رضا سیدآبادی*[۲]، سیروس امیری نیا[۲]

ص ص: ۷۳-۶۵
تاریخ دریافت: ۸۹/۱۱/۴
تاریخ تصویب: ۹۰/۳/۲۰

چکیده

در مطالعه حاضر دو نقص ژنتیکی مغلوب اتوزومی، $DUMP_S$ و CVM در جمعیت گاوهای خوزستان مورد مطالعه قرار گرفت. تشخیص سازو کار مولکولی نقص های ژنتیکی، موجب تشخیص مستقیم ناقلین در سطح DNA می شود و زمانی این موضوع اهمیت بیشتری پیدا می کند که این تشخیص در مراحل اولیه زندگی حیوان باشد. در این تحقیق ۳۳۰ رأس گاو از استان خوزستان شامل ۱۰۰ رأس گاو هولشتاین و ۲۳۰ رأس گاو بومی و دورگ با آزمایشات DNA تحت غربالگری قرار گرفتند. برای تشخیص بیماری $DUMP_S$، با استفاده از روش PCR-RFLP، ناحیه چند شکل از ژن UMP_S و همچنین برای تشخیص بیماری CVM، با استفاده از توالی یابی مستقیم، ناحیه چند شکل از ژن SLC35A3 مورد مطالعه قرار گرفت. هیچ حیوان ناقل برای نقص ژنتیکی $DUMP_S$ و CVM در نمونه های مورد آزمایش یافت نشد. امکان دارد که با افزایش فشار انتخاب و کاهش مخزن ژنی بین المللی، نقص های ژنتیکی در گاو گسترش یابد. بنابراین توصیه می شود با غربالگری گاوهای نر مورد استفاده در برنامه های اصلاح نژادی کشور برای نقص های ژنتیکی مهم، قبل از استفاده از اسپرم آن ها در برنامه های تلقیح مصنوعی، احتمال شیوع این بیماری ها را در جامعه کاهش داد.

واژه های کلیدی: CVM، DUMPS، چند شکلی، تعیین توالی، گاو

مقدمه

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد بهبهان، گروه علوم دامی، بهبهان، ایران
۲- بخش بیوتکنولوژی، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج

Archive of SID
www.SID.ir

یکی از اهداف اصلی متخصصین اصلاح نژاد کشور، شناسایی ژن های نامطلوب و کاهش فراوانی آن ها در جامعه می باشد. در پنجاه سال اخیر با بهره گیری از روش های ژنتیک ملکولی حدود پنج هزار نقص ژنتیکی اتوزومی مغلوب در انسان شناسایی شده است، در حالی که تعداد کمی از این نوع عارضه ها در حیوانات اهلی شناسایی و مطالعه شده است (۱۳). با توجه به نقش مهم گاو در تأمین گوشت و لبنیات مردم جهان، توجه به این نقایص و مطالعه خصوصیات آن در سطح ژنوم بیشتر مورد توجه محققان می باشد (۴). از آنجا که دام های ناقل نواقص ژنتیکی، معمولاً ظاهری سالم دارند، امکان شناسایی آن ها از روی علائم ظاهری وجود ندارد. لذا ژن های معیوب توسط دام های ناقل به نسل های بعد منتقل شده و در جامعه گسترش می یابند. استفاده از آزمون نتاج برای شناسایی دام های ناقل که معمولاً برای گاوهای نر ممتاز بکار می رود فقط برای حیوانات بالغ که امکان تولید مثل دارند امکان پذیر است، در حالی که می توان دام های ناقل را با استفاده از روش های ژنتیک ملکولی از همان مراحل اولیه زندگی شناسایی و قبل از انجام هزینه های زیاد برای نگهداری و انتخاب به عنوان حیوان داشتی، از گله حذف نمود.

کجی ستون فقرات[1] (CVM)، یک نقص ژنتیکی مغلوب اتوزومی می باشد که منجر به سقط جنین، تولد گوساله های نارس، مرده ودارای ناهنجاری در دام ها می شود. گوساله های مبتلا به این بیماری دارای وزن کم و ناهنجاری در ستون فقرات و پاها می باشند و نیز نواقص قلبی در این عارضه مشاهده شده است (۱۰). عمده زیان اقتصادی ناشی از این نقص طولانی شدن فاصله گوساله زایی و در نتیجه حذف زود هنگام گاوهای ناقل می باشد. در مطالعات تولید مثلی بر روی عارضه CVM، کاهش تعداد گوساله ها معنی دار بود (۲). بسیاری از گاوهای نر ناقل آلل نامطلوب این ژن، همزمان حاوی ژن های متعدد دیگری هستند که اثر مثبت روی تولید شیر ودرصد ترکیبات شیر و سایر صفات مهم دارد. بعبارت دیگر این ژن معیوب همبستگی مثبت با ژن های مسئول صفات تولیدی (نظیر مقدار شیر، مقدار چربی شیر و غیره) دارد (۱). آنالیز مولکولی این نقص ژنتیکی نشان داد که یک جهش تک نوکلئوتیدی (گوانین به تیمین) در موقعیت کدون ۵۵۹ از ژن SLC35A3 که کد کننده عامل انتقال دهنده UDP-N-acetylglucosamine می باشد منجر به این نقص ژنتیکی می شود (۷). این جهش منجر به تغییر اسید آمینه والین به فنل آلانین در موقعیت ۱۸۰ شده و در نتیجه مکانیسم انتقال UDP-N-acetylglucosamine دچار اختلال می شود. عامل انتقال دهنده UDP-N-acetylglucosamine یک نقش ضروری در مکانیسم کنترل تشکیل ستون فقرات از مزودرم پاراکسیال دارد (۱۸). ژن SLC35A3 گاوی بطور کامل تعیین توالی شده است و طول کامل آن ۲۲۴۰۰ جفت باز می باشد (شماره دسترسی AY160683). توالی این ژن به میزان ۹۸ درصد با نوع انسانی و سگی و ۸۳ درصد با موش و قورباغه متشابه می باشد. در بین نواقص ژنتیکی، CVM بزرگترین ضربه را به اصلاح نژاد گاوهای دانمارکی وارد کرده است (۱۸).

1- Complex Vertebral Malformation

www.SID.ir

نقص سنتز اوریدین منو فسفات[1](DUMP$_S$) یک نقص ژنتیکی اتوزومی مغلوب تک نکلئوتیدی می باشد. این بیماری برای اولین بار در آفریقای جنوبی در گله های تحت پوشش تلقیح مصنوعی مشاهده گردید. این نقص ژنتیکی در اثر یک جهش تک نوکلئوتیدی C به T در موقعیت کدون ۴۰۵ از اگزون ۵ ژن UMP$_S$ مستقر در کروموزوم شماره ۱ گاو به وجود آمده است. آنزیم UMP$_S$ مسئول تبدیل اسید اورتیک به اوردین منوفسفات می باشد که برای تشکیل بازهای پریمیدینی برای ساختن DNA و RNA ضروری است (۱۷). جنین های هموزیگوت برای نقص سنتز اوریدین منوفسفات معمولاً تا قبل از روز۴۰ آبستنی سقط و یا جذب می گردند که منجر به بازگشت به فحلی های متعدد در گاوهای ناقل می گردد (۱۶). از نظر فنوتیپی هیچ تفاوتی بین دام های ناقل و سالم از لحاظ وزن تولد، اندازه بدن و رشد وجود ندارد و تنها آزمایشات مولکولی متمایز کننده ناقلین از گاوهای سالم می باشد. در آمریکا آزمون ملکولی گاوهای نر برای نقص سنتز اوریدین منوفسفات از سال ۱۹۸۸ آغاز شده است. تنها راه جلوگیری از زیان های اقتصادی این عارضه ژنتیکی، تشخیص زود هنگام دام های ناقل و حذف آن ها می باشد.

تاکنون چندین تحقیق به منظور شناسایی نقایص ژنتیکی گاو شیری در ایران انجام شده است. نوروزی و همکاران (۲۰۰۵)، تعداد ۳۰ گاو نر هولشتاین و ۱۰ گاو نر براون سوئیس موجود در مرکز تلقیح مصنوعی عباس آباد مشهد را برای نقص ژنتیکی BLAD مورد آزمایش قرار دادند. آنها در این تحقیق فراوانی ناقلین این نقص ژنتیکی را در جمعیت گاو هولشتاین و براون سوئیس به ترتیب ۳۳/۳ و صفر درصد گزارش نمودند. در تحقیقی مشابه که توسط نصیری و همکاران (۲۰۰۵)، بر روی تعداد ۳۰ گاو نر هولشتاین موجود در مرکز تلقیح مصنوعی عباس آباد مشهد برای شناسایی ناقلین بیماری سیترولیمیا با روش PCR-RFLP انجام گرفت، هیچ نمونه ناقل این بیماری گزارش نشد. در تحقیقی دیگر تعداد۱۳۰ نمونه گاوهولشتاین موجود در مرکز اصلاح نژاد کشور برای نقایص ژنتیکی BLAD و DUMP$_S$ با روش PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه هیچ ناقل این نقایص ژنتیکی شناسایی نشد(۱۴).

با توجه به گسترش تلقیح تلقیح مصنوعی در سطح روستاهای استان خوزستان و از آنجا که بسیاری از گاوهای نری که اسپرم آنها در روستاها تلقیح شده است از نظر ناقل بودن یا نبودن نواقص ژنتیکی، مورد آزمایشات ملکولی قرار نگرفته اند این امکان وجود دارد که این نواقص ژنتیکی مهم در گاو از طریق همین اسپرم های تلقیح شده در سطح گله ها گسترش یابد. در ضمن تاکنون مطالعات ناچیزی در زمینه بررسی نواقص ژنتیکی در گاوهای استان خوزستان انجام شده است و این تحقیق به عنوان یک تحقیق بنیادی در این زمینه از اهمیت بالائی برخوردار می باشد.

1- Deficiency of Uridine Monophosphate Synthase

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روشها

در این تحقیق پس از هماهنگی با شبکه دامپزشکی استان خوزستان وپنج منطقه (اهواز، آبادان خرمشهر، ماهشهر و مسجدسلیمان) با استفاده از ونوجکت حاوی مواد ضد انعقاد (EDTA) از ورید وداج ۲۳۰ رأس گاو بومی و دورگ (شامل گاوهای ایستگاه پشتیبانی اصلاح نژاد گاو نجدی شوشتر و گاوهای روستایی در مناطق مذکور) خون گیری صورت گرفت. علاوه بر این از یکصد رأس گاو هلشتاین در پنج گاوداری بزرگ و دارای ثبت رکورد (شامل گاوداری دانشکده کشاورزی دانشگاه رامین اهواز و چهار گاوداری بخش خصوصی) در شهرهای اهواز، دزفول، بهبهان و مسجدسلیمان، خون گیری شد. مشخصات کامل هر نمونه خون شامل نژاد گاو (بومی، دورگ و اصیل) جنس و محل نمونه گیری ثبت گردید. بلافاصله پس از نمونه گیری، نمونه ها در کنار یخ نگهداری شدند و تا زمان انتقال به آزمایشگاه بخش بیوتکنولوژی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور در دمای یخچال نگهداری شدند. تعداد نمونه های این تحقیق شامل ۲۳۰ رأس گاو بومی و دورگ، (شامل۷۴ رأس گاو نر و ۱۵۶ رأس گاو ماده) و از مجموع یکصد رأس هلشتاین (شامل ۲۲ رأس گاو نر و ۷۸ رأس گاو ماده) بودند. استخراج DNA از نمونه های خون کامل به روش بهینه شده و تغییر یافتهٔ استخراج نمکی انجام گردید(۵). کمیت و کیفیت نمونه های DNA استخراج شده به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر–نانودراپ (Nano-Drop2000) بررسی گردید.

به منظور تکثیر ناحیه جهش یافته عامل بیماری $DUMP_S$ با استفاده از یک جفت آغازگر طراحی شده توسط کامینسکی و همکاران (۲۰۰۵)، یک قطعه ۱۰۸ جفت بازی تکثیر شد. آغازگرهای مستقیم و معکوس (Metabion، آلمان) مورد استفاده در تکثیر این قطعه به صورت زیر بودند:

F: 5′ GCA AATGGC TGA AGA ACA TTC TG 3′

R: 5′ GCT TCT AAC TGA ACT CCT CGA GT 3′

پس از آزمایش غلظت های مختلف اجزا PCR، شرایط بهینه PCR با حجم نهایی 15 µl به صورت بافر x1 PCR، 2 mM Mgcl2، آغازگرها 0/25 µM، 200 µM dNTPs، یک واحد آنزیم Taq پلیمراز و DNA الگو به میزان 150 ng در هر واکنش PCR بدست آمد. برنامه حرارتی مناسب برای آغازگر مورد مطالعه به صورت: واسرشته سازی اولیه در ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه و ۳۵ سیکل شامل: واسرشته سازی اولیه در ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، اتصال آغازگرها در دمای ۶۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه و مرحله بسط در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه انتخاب و بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۸ دقیقه در نظر گرفته شد. پس از تکثیر، یک قطعه ۱۰۸ جفت بازی حاصل شد. عمل هضم آنزیمی با حجم ۱۰ میکرولیتر با استفاده از آنزیم برشی AvaI (۱۰ واحد آنزیمی در هر واکنش) در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و در طول شب بر روی محصول PCR انجام شد.

Archive of SID

www.SID.ir

به منظور تکثیر ناحیه جهش یافته عامل بیماری CVM با استفاده از یک جفت آغازگر طراحی شده توسط چو و همکاران (۲۰۰۸)، یک قطعه ۲۴۹ جفت بازی تکثیر شد. آغازگرهای مستقیم و معکوس (Metabion، آلمان) مورد استفاده در تکثیر این قطعه به صورت زیر بودند:

F: 5′ AGCTCTCCTCTGTAATCC 3′

R: 5′ TCTCAAAGTAAACCCCAG 3′

برنامه حرارتی مناسب برای آغازگر مورد مطالعه به صورت: واسرشته سازی اولیه در ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه و ۳۵ سیکل شامل: واسرشته سازی اولیه در ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، اتصال آغازگرها در دمای ۵۸ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه و مرحله بسط در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه انتخاب و بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۸ دقیقه در نظر گرفته شد. پس از تکثیر، یک قطعه ۲۴۹ جفت بازی حاصل شد.

به منظور شناسائی جهش های تک نوکلئوتیدی، کلیه نمونه ها پس از انجام PCR-Sequencing و خالص سازی[1] با استفاده از دستگاه Genetic Analyzer ABI تعیین توالی شدند. جواب های حاصل از تعیین توالی از طریق برنامه Chromas،Ver 2.33 مورد بازبینی قرار گرفته و نقاط جهش یافته مورد شناسایی قرار گرفتند.

نتایج و بحث

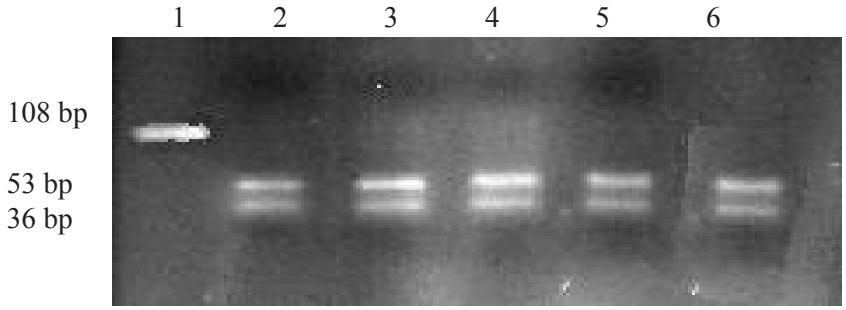
در این تحقیق کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری NanoDrop2000 مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج این بررسی نشان داد نسبت بین دو جذب نوری A260/A280 در نمونه های مختلف بطور میانگین از ۱/۷۵ تا ۲ در تغییر بوده است که نشان می دهد کیفیت DNA استخراج شده مناسب می باشد. همچنین غلظت DNA استخراج شده در نمونه های مختلف بطور میانگین از ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ نانوگرم در هر میکرولیتر بوده است.

برای نقص ژنتیکی $DUMP_S$، در کلیه نمونه های تکثیر شده، قطعه ۱۰۸ جفت بازی از ژن UMP_S بدون هیچگونه باند غیر اختصاصی موجود بوده و شرایط تکثیر بسیار عالی می باشد. جهش تک نوکلئوتیدی C به T در موقعیت کدون ۴۰۵ از اگزون ۵ ژن UMP_S، مانع از هضم قطعه تکثیر شده توسط آنزیم AvaI می شود. لذا انتظار می رود پس از هضم آنزیمی محصولات PCR، حیوانات عاری از بیماری سه قطعه ۵۳، ۳۶ و ۱۹ جفت بازی و حیوانات ناقل بیماری ۴ قطعه ۸۹، ۵۳، ۳۶ و ۱۹ جفت بازی ایجاد کنند. در این تحقیق پس از انجام واکنش های PCR و هضم آنزیمی، کلیه نمونه عاری از نقص ژنتیکی $DUMP_S$ بودند و هیچ نمونه ناقلی مشاهده نشد (شکل ۱). برای تأیید نتایج حاصل از PCR-RFLP، برخی از نمونه های مشکوک تعیین توالی گردیدند. با بررسی نتایج تعیین توالی، نتایج حاصل از PCR-RFLP مورد تأیید قرار گرفت.

1- Purification

Archive of SID

www.SID.ir

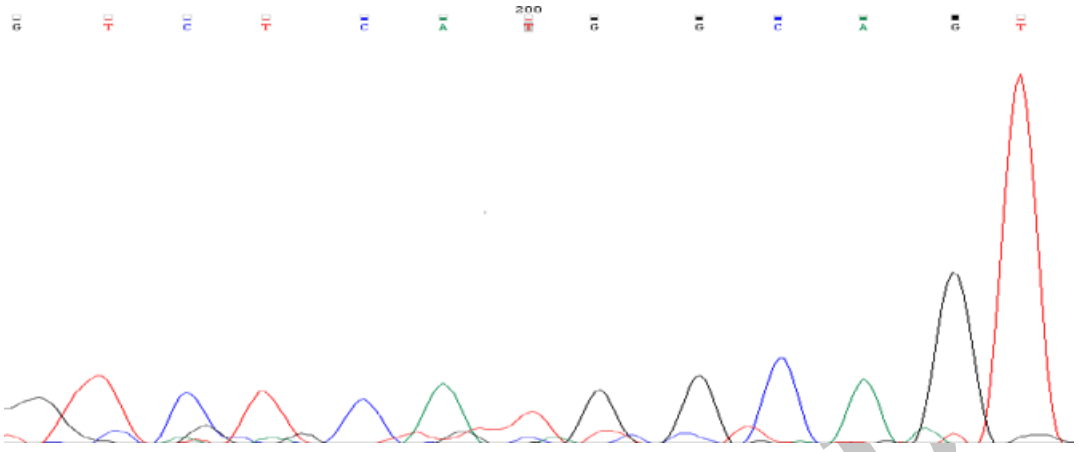


شکل ۱ – محصولات حاصل از هضم قطعه ۱۰۸ جفت بازی ژن UMP_S با آنزیم AvaI بر روی ژل آگارز ۳ درصد. در این شکل ستون های شماره ۲ تا ۶ بیانگر ژنوتیپ افراد سالم و ستون ۱ نشان دهنده قطعه هضم نشده می باشد. قطعه ۱۹ جفت بازی به دلیل کوچکی قطعه از ژل خارج شده است.

برای نقص ژنتیکی CVM، پس از تکثیر ناحیه مورد نظر، قطعه ۲۴۹ جفت بازی از ژن SLC35A3 بدون هیچگونه باند غیر اختصاصی مشاهده شد. جهش تک نوکلئوتیدی G به T در موقعیت کدون ۵۵۹ از ژن SLC35A3، باعث ایجاد این نقص ژنتیکی در دام ها می شود. در این تحقیق پس از انجام واکنش های PCR و PCR-Sequencing، نمونه ها خالص سازی شده و با استفاده از دستگاه Genetic Analyzer ABI تعیین توالی شدند. نتایج حاصل از تعیین توالی نشان دهنده عدم وجود حیوان ناقل این نقص ژنتیکی در نمونه های مورد آزمایش بودند. (شکل ۲).

با توجه به پراکنش نسبتاً مناسب نمونه گیری می توان نتیجه گرفت که فراوانی این نواقص ژنتیکی در جمعیت گاوهای استان خوزستان وجود ندارد یا بسیار پائین می باشد. در تحقیقی مشابه که توسط رضایی و همکاران (۲۰۰۹)، بر روی ۱۴۴ گاو نر موجود در مرکز اصلاح نژاد عباس آباد و گاوداری دانشگاه فردوسی مشهد صورت گرفته است هیچ گاو ناقل ژن جهش یافته عامل بیماری های CVM و $DUMP_S$ مشاهده نشد. تحقیقی مشابه برای شناسایی نقایص ژنتیکیBLAD و $DUMP_S$ و سیترولینمیا بر روی ۳۷ رأس گاو نر جوان مرکز اصلاح نژاد دام انجام گرفته است(۱۴). در این تحقیق از بافت گوش این حیوانات برای استخراج DNA نمونه برداری شد و با استفاده از روش PCR-RFLP تعیین ژنوتیپ شدند که در این تحقیق یکی از این نمونه ها ناقل BLAD تشخیص داده شد ولی هیچ کدام از نمونه ها ناقل DUMPS و سیترولینمیا نبود (۱۴). بنابراین نتایج حاصل از این تحقیق با اکثر نتایج بدست آمده از بررسی نواقص ژنتیکی در کشور مطابقت دارد. در بررسی نتایج حاصل از مطالعات خارج از کشور نیز در بسیاری از مطالعات نواقص ژنتیکی گاو بخصوص در کشورهای همسایه، هیچ مورد ناقلی مشاهده نگردیده است. در بررسی صورت گرفته بر روی۱۷۰ گاو هلشتاین در ترکیه، هیچ گاو ناقلی برای سیترولینمیا و $DUMP_S$ و BLAD مشاهده نشد(۱۲). در تحقیقی مشابه، میدن و همکاران (۲۰۱۰)، با بررسی ۳۵۰ گاو هلشتاین در ترکیه، هیچ مورد ناقلی را برای عارضه $DUMP_S$ شناسایی نکردند.

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۲ – نتایج تعیین توالی ژن SLC35A3. نوکلئوتید گوانین (G) در کدون ۵۵۹ ژن SLC35A3 که در دام ها نرمال دیده می شود با علامت پیکان مشخص می باشد.

اگرچه تحقیقات انجام گرفته در داخل کشور در زمینه نواقص ژنتیکی اندک بوده ودر اکثر تحقیقات تعداد نمونه مورد بررسی کم می باشد ولی از نتایج حاصل می توان نتیجه گرفت که فراوانی نواقص ژنتیکی در جمعیت های مورد مطالعه کم می باشد.

با توجه به اینکه منشأ ژنتیکی عارضه CVM از یک گاو نر آمریکایی بنام Penstae Ivanho Star متولد ۱۹۶۳ به شماره US 1441440 می باشد و اغلب از طریق پسرش بنام Carlin_M Ivanho Bell به شماره US1667366 گسترش یافته است به احتمال قوی افراد مطالعه شده در تحقیق حاضر ارتباط شجره ای با گاو نر مزبور نداشته اند (۲).

علی رغم اینکه در مطالعه ما و بسیاری از مطالعات داخل و خارج از کشور وجود نواقص ژنتیکی اثبات نشده است ولی بدلیل ماهیت توارثی این نواقص که اتوزومی مغلوب بوده و می توانند در دام های ناقل که به ظاهر سالم هستند گسترش یابد لذا نظارت مستمر بر این نواقص ژنتیکی و انجام تحقیقات مداوم کاملاً ضروری می باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

1- Agerholm J. S., Bendixen C., Andersen O., and Arnbjerg J. 2001. Complex vertebral malformation in Holstein calves. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 13:283–289.

2- Agerholm J. S., Bendixen C., Andersen O., and Arnbjerg J. 2004. Morphological variation of complex vertebral malformation in Holstein calves. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 6:548–53.

3- Chu Q., Sun D., Yu Y., Zhang Y.i and Zhang Y. 2008. Identification of complex vertebral malformation carriers in Chinese Holstein. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 20:228–230

4- Eveline M and Kgwatalala P. 2008. A critical analysis of disease-associated DNA polymorphisms in the genes of cattle, goat, sheep, and pig. Mammalian Genome, 9:226–245.

5- Javanrouh A., Banabazi M.H., Esmaeilkhanian S., Amirinia C., Seyedabadi H.R., Emrani H.2006. Optimization onsalting out method for DNA extraction from animal and poultry blood cells. The 57th Annual Meeting of the European Association for Animal Production. Antalya, Turkey

6- Kamminski S and Czarnik U. 1997. Detection of Bovine Leukocyte adhision deficiency (BLAD) carrieres using a new PCR test. Journal of Applied Genetic, 38:1,51-55.

7- Kanae Y., Endoh D., Nagahata H and Hayashi M. 2005. A method for detecting complex vertebral malformation in Holstein calves using polymerase chain reaction-primer introduced restriction analysis. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation,7:258–262.

8- Meydan H., Yildiz M.A and Agerholm J.S. 2010. Screening for bovine leukocyte adhesion deficiency, deficiency of uridine monophosphate synthase, complex vertebral malformation, bovine citrullinaemia, and factor XI deficiency in Holstein cows reared in Turkey. Acta Veterinaria Scandinavica , 52:56.

9- Nassiry M.R., Norouzy A., Eftekhari Shahroudi F., Javadmanesh A and Alishad M.2005. Investigation of two recessive disorders in breeder bulls of Abbas Abad animal breeding center. Iranian J. Biotechnol, 3(2): 125-128.

10- Nielsen U.S., Aamand G.P., Andersen O., Bendixen C., Nielsen V.H and Agerholm J.S. 2003. Effects of complex vertebral malformation on fertility traits in Holstein cattle, Livestock Production Science. 79:233–238.

11- Norouzy A., Nassiry M.R., Eftekhari Shahroudi F., Javadmanesh A.,Mohammad Abadi M and Sulimova G.2005. Identification of Bovine Leucocyte Adhesion Deficiency (BLAD) Carriers in Holstein and Brown Swiss AI Bulls in Iran. Russian J. Genet, 41(12): 1409-1413.

Archive of SID

www.SID.ir

12- Öner Y., Keskin A.,Elmaci C. 2010. Identification of BLAD, DUMPS, citrullinaemia and factor XI deficiency in Holstein cattle in Turkey. Asian Journal of Animal Veterinarian Advance, 5:60-65.

13- Patel R.K., Singh K.M., Soni K.J., Chauhan J.B and Ambasiva Rao K.R.S. 2006. Lack of carriers of citrullinaemia and Dumps in Indian Holstein cattle. Journal of Applied Genetic, 47(3): 239-242.

14- Rahimi G, Nejati-Javaremi A, Olek K. 2006. Genotyping BLAD, DUMPS and CSN loci in Holstein young bulls of the National Animal Breeding Center of Iran. Pakistan Journal of Biological Science, 7:1389-1392.

15- Rezaee A. R., Nassiry M. R., Sadeghi B., Shafagh Motlagh A., Tahmoorespour M and Valizadeh R. 2009. Implication of complex vertebral malformation and deficiency of uridine monophosphate synthase on molecular-based testing in the Iranian Holstein bulls population, African Journal of Biotechnology Vol. 8 (22), pp. 6077-6081

16- Robinson J.L., R.G. Popp., R.D. Shanks., A. Oosterhof and J.H. Verkamp. 1993. Testing for deficiency of uridine monophosphate synthase among holstein- friesian cattle of North America and Europe. Livestock Production Science. 36:287–298.

17- Schwenger B., Scho¨ber S and Simon D. 1993. DUMPS cattle carry a point mutation in the uridine monophosphate synthase gene. Genomics, 6:24–244.

18- Thomsen B., Horn P., Panitz F., Bendixen E., Petersen A.H., Holm L.E., Nielsen V.H., Agerholm J.S., Arnbjerg J and Bendixen C.A. 2006. A missense mutation in the bovine SLC35A3 gene, encoding a UDP-N-acetylglucosamine transporter, causes complex vertebral malformation. Genome Research, 6:97–05.

Archive of SID

www.SID.ir