

## پویش کل ژنومی برای شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با انتشار متان در گاو با استفاده از تراشه 30K

علی جلیل سرفلعه<sup>۱\*</sup>، حسین مرادی شهربابک<sup>۱</sup>، محمد مرادی شهربابک<sup>۱</sup>، اردشیر نجاتی جواری<sup>۱</sup>، مهدی ساعتچی<sup>۲</sup> و یونس میار<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>ایران، دانشگاه تهران، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، گروه علوم دامی

<sup>۲</sup>آمریکا، دانشگاه ایالتی آیووا آمریکا، دانشکده علوم کشاورزی و زیستی، گروه علوم دامی

<sup>۳</sup>کانادا، دانشگاه دالهوری، دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی و آبزیان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۱۶



### چکیده

در سطح جهانی ۶۰-۵۰٪ متان از بخش کشاورزی تولید می‌شود که بویژه حیوانات نشخوارکننده در این میان نقش کلیدی دارند. در این میان متان نقش بسیار قوی در گرم شدن جهان دارد به طوری که توانایی این گاز در گرم کردن کره زمین ۲۵ برابر دی اکسید کربن می‌باشد و بعد از گاز دی‌اکسید کربن، متان دومین گاز گلخانه‌ای از لحاظ مقدار می‌باشد. هدف از تحقیق حاضر پویش کل ژنومی برای شناسایی نواحی ژنومی موثر بر متان پیش‌بینی شده براساس غلظت اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه در گاو هلشتاین ایران بود. در این راستا مو و مایع شکمبه (از طریق لوله مری) از ۱۵۰ راس حیوان بر اساس روش ارزش‌های اصلاحی صفت تولید شیر دوطرفه نمونه‌گیری شد. بعد از اندازه‌گیری غلظت اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه، انتشار متان به ازای هر حیوان با استفاده از این اسیدها اندازه‌گیری شد. DNA حیوانات با GGP-LD v4 SNP panel (حاوی ۱۰۸SNPs) ژنوتایپ شدند. در این مطالعه ۱۴SNPs معنی‌دار مرتبط با صفت انتشار متان در کروموزم‌های ۱، ۲، ۶، ۸، ۱۰، ۱۵، ۱۷ و ۱۸ شناسایی گردید. Annotating برای شناسایی Quantitative trait locus (QTL) اطراف این SNP‌های معنی‌دار، یکسری QTL‌های مرتبط با شیر تولیدی و ترکیب‌های آن، وزن بدن و خوراک مصرفی باقی‌مانده اطراف بعضی از این SNP‌ها را نشان داد. این نتایج نشان دهنده پتانسیل انتخاب ژنتیکی برای کاهش انتشار متان به ازای هر حیوان را نشان می‌دهد به طوری که بهبود حاصل از انتخاب ژنتیکی به دلیل توارث‌پذیری، تجمعی و دائمی بودن بسیار مفید می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: انتشار متان، مطالعه پویش کل ژنومی، گاو

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۳۳۳۲۲۴۵۶۱، پست الکترونیکی: [ali\\_jalil17@ut.ac.ir](mailto:ali_jalil17@ut.ac.ir)

### مقدمه

دی‌اکسید کربن و متان به ترتیب ۸۰٪ و ۴۰٪ افزایش داشته‌اند (۳۲). همچنین گزارش شده که تجمع گازهای گلخانه‌ای در جو زمین سبب می‌شوند که دمای سطح جهانی ۱ تا ۶ درجه در قرن ۲۱ افزایش یابد (۳۹). در این میان متان نقش بسیار قوی در گرم شدن جهان دارد به طوری که توانایی این گاز در گرم کردن کره زمین ۲۵ برابر

مجموع بین‌المللی تغییرات آب و هوایی گزارش کرده است در طول قرن گذشته متوسط دمای جهانی ۰/۷ درجه سلسیوس افزایش یافته است (۲). بر اساس این گزارش، دلیل اصلی افزایش این دما افزایش انتشار گاز گلخانه‌ای با منابع انسانی از اواسط قرن بیستم بوده است. به طوری که مطالعات نشان داده است از سال ۱۹۷۰ تا سال ۲۰۰۴ میزان

رفتن ۹-۵٪ و ۵-۳٪ از انرژی مصرفی می‌شود (۱۷). همچنین بیان شده است که نشخوارکنندگان اهلی، مثل گاو، گوسفند و بز ۸۶ میلیون تن متان به ازای هر سال تولید می‌کنند که تقریباً ۱۸/۹ میلیون تن توسط گاو شیری، ۵۵/۹ میلیون تن توسط گاو گوشتی و ۹/۵ میلیون تن توسط گوسفند و بز تولید می‌شود (۲۴). که این حجم گاز متان تولید شده نه تنها باعث افزایش گرمایی جهان شده است بلکه ۲٪ تا ۱۵٪ از انرژی خوراک مصرفی صرف تولید متان در شکمبه می‌شود که از طریق دهان و بینی حیوان خارج می‌گردد (۲۸). این رویداد باعث کاهش میزان سود دامدار می‌شود. علاوه بر این محققین گزارش کردند که در گاو شیری، افزایش سطح دما و رطوبت بالاتر از یک آستانه خاص باعث کاهش تولید شیر، پروتئین و باروری می‌شود (۱۰ و ۱۲). در این میان بیش از ۲۶۴ میلیون گاو شیری در جهان وجود دارد به طوری که گاو هلشتاین یکی از گاوهای شیری غالب در دنیا می‌باشد در سال ۲۰۰۵ گزارش شده ۶۱٪ از ۳/۴۷ میلیون گاو شیری در متحده بریتانیا از گاو هلشتاین می‌باشد (همه این ۶۱٪ اصیل یا خالص نیستند). علاوه بر این آمار نامه کشاورزی وزارت جهاد کشاورزی در سال ۱۳۹۶ بیان کرد که جمعیت گاو اصیل، آمیخته و بومی در ایران به ترتیب ۱۰۱۴۳/۴، ۴۰۴۸۶/۳ و ۲۰۵۲۳/۴۸ (ارقام بصورت هزار راس است) می‌باشد (۱) که اکثریت گاوهای اصیل و گاو تلاقی یافته با گاوهای بومی، گاو هلشتاین می‌باشد. این گزارش‌ها حاکی از این است که این نژاد گاو تاثیر قابل توجهی در تامین مواد لبنی و گوشت در ایران و جهان را دارد.

بیان شده است اصلاح ژنتیکی از طریق انتخاب می‌تواند متان تولیدی را کاهش بدهد به طوری که گاوهای نژادهای مختلف نرخ تولید متان متفاوتی از هم دارند بطور مثال گاوهای جرسی در مقایسه با گاوهای هلشتاین به علت تبدیل راندامان خوراک بهتر، انتشار متان کمتری دارند (۱۱). بنابراین کاهش اندازه بدن در نژادهای با تولید متان بالا بدون کاهش تولید شیر، می‌تواند به عنوان یک راهکار

دی اکسید کربن می‌باشد و بعد از گاز دی‌اکسید کربن، متان دومین گاز گلخانه‌ای از لحاظ مقدار می‌باشد (۸). لذا این گاز باعث افزایش بخارآب در استراتوسفر می‌شود که می‌تواند نور تابشی این گاز را ۷۰٪ بیشتر کند (۲۱). از مهم‌ترین تغییرات جوی یا مهم‌ترین آثار گرم شدن کره زمین می‌توان به افزایش دما، ذوب شدن یخ‌های قطب شمال و جنوب و به دنبال آن رها شدن گاز متان، بالا آمدن سطح دریاها، کاهش قطر لایه اوزون، افزایش شدت طوفان-ها و وقایع جوی، کاهش pH و اکسیژن در اقیانوس‌ها، گسترش نواحی بیابانی، نیمه گرمسیری زمین، تغییر در زمین‌های کشاورزی، انقراض گونه‌ها و نیز تغییر در میزان انتقال‌دهنده‌های بیماری و گسترش بیماری‌هایی نظیر مالاریا اشاره کرد (۲). برای مثال، ذوب شدن برف‌های کوه هیمالیا، طغیان آب رودخانه‌ها، زلزله سونامی و گردبادها، همگی بلاهای طبیعی ناشی از تغییرات جوی و گرم شدن کره زمین هستند. با توجه به این که ارگانسیم‌ها و اکوسیستم‌ها نسبت به تغییر pH حساس بوده و محدوده خاصی از آن سازگار هستند، این مسأله بسیار نگران‌کننده است و می‌تواند شبکه‌های غذایی را تخریب کرده و جوامع انسانی را که وابسته به اکوسیستم‌های آبزیان هستند به شدت تحت تاثیر قرار می‌دهند (۲).

در سطح جهانی ۶۰-۵۰٪ متان از بخش کشاورزی تولید می‌شود که بویژه حیوانات نشخوارکننده در این میان نقش کلیدی دارند (۷). تولید متان به عنوان یک محصول در نتیجه فعالیت تخمیر میکروبی ایجاد می‌گردد به طوری که متان یک گاز بی‌رنگ، بی‌بو و در نشخوارکنندگان ۷۸٪ از آن در شکمبه و ۱۳٪ در روده تولید می‌شود (۲۹). تبدیل مواد خوراکی به متان طی یکسری فرآیند توسط گونه‌های مختلف میکروبی انجام می‌گیرد که در مرحله نهایی متان توسط آرکاپای متانوژن تولید می‌گردد (۲۳ و ۲۸). بنا بر گزارش‌ها، یک گاو شیری امروزه در آمریکا ۱/۴-۱ پوند متان به ازای هر روز تولید می‌کند (۳). به طوری که تولید این گاز در گاو شیری و گاو گوشتی به ترتیب باعث هدر

هر راس دام دارد نسبت اسیدهای چرب فرار تولیدی در محیط شکمبه می‌باشد. اسیدهای چرب فرار جزء محصولات مهم و حد واسط تولید گاز متان هستند. محققین بیان کرده‌اند که نرخ تبدیل اسیدهای چرب فرار به متان به ترتیب از بیشترین به کمترین بصورت اسید استیک، بوتیرات و پروپیونات می‌باشد این اسیدها قبل از اینکه به متان تجزیه شوند اول به اسید استیک تجزیه می‌شوند، لیکن نرخ تبدیل آنها به ترتیب از بیشترین به کمترین بصورت بوتیرات و پروپیونات است (۳۴). بنا به این گزارش‌ها که بیان کننده این است گاز متان دارای نقش کلیدی در اثرات مخرب زیست محیطی و هدر رفتن انرژی در گاو دارد به نظر می‌رسد تحقیقی به منظور شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با صفت انتشار متان در گاو هلشتاین با استفاده از روش GWAS ضروری باشد. به طوری که شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با این صفت این فرصت را فراهم خواهد کرد که بتوان انتشار متان را به ازای هر حیوان از طریق انتخاب ژنتیکی کاهش داد.

### مواد و روشها

**نمونه‌گیری:** از آنجاییکه اندازه‌گیری انتشار متان در نشخوارکنندگان دشوار و پرهزینه است و بطور مرسوم در صنعت گاو شیری اندازه‌گیری نمی‌شود و اینکه یک همبستگی بالا (۰/۶۸-) بین ارزش‌های اصلاحی شیر و انتشار متان وجود دارد (۱۸). در نتیجه در تحقیق حاضر بر اساس نتایج مطالعه Jiménez-Montero و همکاران (۲۰۱۲) و وجود همبستگی بین ارزش‌های اصلاحی تولید شیر و انتشار متان، نمونه‌گیری بر اساس روش ارزش‌های اصلاحی صفت تولید شیر دوطرفه انجام شد (۱۶). به طوری که گاوها در یکی از شرکت‌های هلدینگ گسترش کشاورزی و دامپروری فردوس پارس بر اساس ارزش اصلاحی صفت تولید شیر از بزرگ به کوچک مرتب شدند و ۱۵۰ راس گاو ماده برای نمونه‌گیری مشخص شد. این ۱۵۰ حیوان به دو زیر جمعیت ۷۵ راسی تقسیم شدند که

بالمقوه جهت بهبود ضریب تبدیل غذایی و کاهش انتشار متان مطرح باشد. دلیل آن این است که با این رویکرد احتیاجات غذایی نگهداری کاهش می‌یابد (۳). انتخاب برای تولید شیر بیشتر از سال ۱۹۹۰ تا ۲۰۱۰ باعث کاهش ۱۳٪ متان به ازای هر کیلوگرم شیر شده است (۴۱). De Haas و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که وراثت-پذیری متان تولیدی پیش‌بینی شده به ازای شیر تصحیح شده برای محتوای چربی و پروتئین به ترتیب معادل با ۰/۳۵ و ۰/۵۸ می‌باشد (۵). علاوه بر این در مطالعات پویش کل ژنومی (GWAS= Genome-wide association study) چندین (SNP= Single nucleotide polymorphism) در ارتباط با انتشار متان اندازه‌گیری شده یا پیش‌بینی شده در گاو هلشتاین (۵) و آنگوس (۱۳) شناسایی شده است. همه این شواهد نشان دهنده وجود پتانسیل بالمقوه ژنتیکی برای کاهش میزان متان از طریق انتخاب ژنتیکی بر اساس متان تولیدی به ازای هر حیوان در گاوها می‌باشد.

یکی از دلایل عدم توجه کافی به صفت تولید متان به ازای هر حیوان در گذشته به این علت است که متان تولیدی یکی از صفاتی است که اندازه‌گیری آن دشوار و پرهزینه است و انتشار آن به طور مرسوم در واحدهای تولیدی گاو شیری اندازه‌گیری نمی‌شود. همچنین اندازه‌گیری متان تولیدی با استفاده از روش‌هایی مانند اتاق تنفس پرهزینه بوده است. اخیراً Pickering و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند اگرچه چندین تحقیق در مورد اندازه‌گیری انتشار متان در محیط‌های مختلف گزارش شده است ولی هنوز نیاز به کارهای بیشتری است قبل از اینکه انتخاب جهت کاهش انتشار متان را بتوان وارد برنامه‌های اصلاح نژادی کرد (۳۳). با توجه به وجود یک رابطه قوی بین غلظت اسیدهای چرب فرار و میزان متان تولید شده در شکمبه، امروزه یکی از روش‌های پیش‌بینی میزان متان تولیدی به ازای هر راس دام بر اساس غلظت اسیدهای چرب فرار تولیدی در شکمبه می‌باشد. به طوری که یکی از عوامل کلیدی که تاثیر قابل توجهی بر میزان متان تولیدی به ازای

استخراج DNA وجود داشته باشد و این نکته مد نظر قرار می‌گرفت که این موها حاوی مدفوع نباشند. این نکته قابل ذکر است ارزش اصلاحی صفت تولید شیر برای این گاوها توسط کارشناسان مرکز اصلاح نژاد و بهبود تولیدات دامی کشور از طریق معادله ۳-۱ زیر تخمین زده شده بود.

$$y_{ij} = \mu + hys_i + a_{ij} + e_{ij} \quad \text{معادله ۱:}$$

در این مدل  $y_{ij}$  تولید شیر (برای ۳۰۵ روز و دوبار دوشش تصحیح شده)،  $\mu$  میانگین جمعیت،  $hys_i$  اثر گله-سال-فصل زایش،  $a_{ij}$  ارزش اصلاحی دام ز ام در گله-سال-فصل زایش  $i$  ام و  $e_{ij}$  اثر باقیمانده است. ویژگی‌های آماری داده‌های ارزش‌های اصلاحی شیر و اجزای متشکل آن در جمعیت مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شد.

جدول ۱- ویژگی‌های آماری ارزش اصلاحی صفت‌های تولید شیر، اجزای متشکل آن و متان پیش‌بینی شده در جمعیت مورد مطالعه

CV (%)	انحراف معیار	پیشینه	کمینه	میانگین	صفت
۱۰۳/۸۱	۹۰۳/۴۱	۲۴۷۵/۱	-۱۲۹۹/۲	۸۷۰/۲۲	ارزش اصلاحی تولید شیر (kg)
۸۴/۲۱	۲۴/۴۷	۸۲/۱۳۰	-۳۴/۲۸	۲۹/۳۱	ارزش اصلاحی تولید چربی (kg)
۹۰۰/۶۸	۰/۰۹۹	۰/۳۸	-۰/۲۱	۰/۰۱	ارزش اصلاحی درصد چربی شیر
۶۷/۹۹	۱۶/۹۳	۶۷/۷۸	-۳۱/۷۵	۲۴/۹۱	ارزش اصلاحی پروتئین شیر (kg)
-۳۰۰۹/۵۸	۰/۰۱۸	۰/۵۳	-۰/۳۸	-۰/۰۱	ارزش اصلاحی درصد پروتئین شیر
۱۵/۰۸	۲۲۳۵/۱۵	۱۹۳۱۵	۸۵۶۴	۱۴۸۱۹/۸۸	انتشار متان پیش‌بینی شده (ml)

بر اساس روش Wolin (۱۹۶۰) میزان متان تولیدی به ازای هر راس دام محاسبه شد (۴۲). معادله مورد استفاده برای پیش‌بینی تولید متان بصورت ذیل می‌باشد:

معادله ۲:

$$CH_4(ml) = 22.4 \times (0.5 \times Ac - 0.25 \times Pr + 0.5 \times Bu)$$

در این معادله:  $CH_4$ : میزان متان پیش‌بینی شده به ازای هر راس دام،  $Ac$ : مقدار غلظت اسید استیک،  $Pr$ : مقدار غلظت اسید پروپیونیک و  $Bu$ : مقدار غلظت اسید بوتیرات می‌باشند.

برای پیش‌بینی کل متان تولیدی روزانه به ازای هر حیوان بدین صورت عمل کرد. مرحله اول: میزان خوراک مصرفی به ازای هر دام بر اساس روش پیشنهادی Lindgren و

یک زیرجمعیت دارای بیشترین ارزش اصلاحی و زیر جمعیت دیگر دارای کمترین ارزش اصلاحی برای صفت ارزش اصلاحی تولید شیر بود. جهت نمونه‌گیری از مایع شکمبه، لوله مری از طریق مری وارد محیط شکمبه شده و سپس از طریق ایجاد خلا مایع شکمبه در یک لوله به حجم ۵ ml ریخته شد در این لوله‌ها مایع شکمبه به نسبت ۵ ml به ۱۰۰ میکرولیتر اسید سولفوریک ۵۰ درصد مخلوط شد. این نکته قابل ذکر است که ۵۰-۲۰ ml مایع اولیه شکمبه دور ریخته می‌شد به دلیل اینکه حاوی مقادیر بالای از براق بود. همچنین نمونه‌های مو بر اساس پروتکل شرکت GeneSeek گرفته و در کارت مو مخصوص این شرکت قرار داده شد براساس این پروتکل موها در ناحیه دم گاو در خلاف جهت دم جدا می‌شد تا پیاز مو کافی جهت

اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار و پیش‌بینی گاز متان تولیدی: اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه از طریق روش ارائه شده توسط Ottenstein و همکاران ۱۹۷۱ در آزمایشگاه تغذیه دام گروه علوم دامی دانشگاه تهران اندازه‌گیری شدند (۳۱). در این روش لوله‌های حاوی مایع شکمبه به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۵۰۰ دور سانتریفیوژ شد و سپس ۴۰۰ میکرولیتر مایع رویی را برداشته و به آن ۱۰۰ میکرولیتر استاندارد داخلی (۴-متیل والریک اسید) اضافه گردید و در ادامه این نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار در دستگاه کروماتوگرافی گازی با ستون شیشه-ای (۲ متر  $\times$  ۴۵ میلی‌متر) Philips مدل PU4410 بارگذاری شدند. با توجه به وجود یک رابطه قوی بین غلظت اسیدهای چرب فرار و میزان متان تولید شده در شکمبه،

جایگاه‌های با عدم خوانش صحیح حذف گردد.

**آنالیز GWAS برای شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با انتشار متان:** جهت شناسایی عوامل ثابت موثر بر صفت انتشار متان در GWAS، داده‌ها با استفاده از تجزیه واریانس حداقل مربعات با استفاده از رویه (GLM= Generalized linear model) در نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ (۳۷) مورد آنالیز قرار گرفتند. آنالیز ارتباط بین ژنوتیپ‌ها و صفت انتشار متان با استفاده از یک مدل خطی مختلط در نرم افزار EMMAX (۱۹) انجام شد. EMMAX بطور همزمان در آنالیز GWAS برای لایه‌بندی جمعیتی و خویشاوندی تصحیح انجام می‌دهد. معادله مورد استفاده در GWAS بصورت زیر می‌باشد:

$$y = X\beta + Zu + e \quad \text{معادله ۴:}$$

در این مدل  $y$  بردار مشاهدات،  $X$  ماتریس ضرایب برای عوامل ثابت شامل میانگین، کورایت‌ها و اثرات SNP می‌باشد،  $\beta$  بردار اثرات ثابت،  $Z$  ماتریس ضرایب اثرات تصادفی ژنتیک افزایشی،  $u$  بردار اثرات تصادفی ژنتیکی افزایشی و  $e$  بردار اثرات باقی‌مانده می‌باشد. علاوه بر این  $\text{Var}(u) = \sigma^2 K$  و  $\text{var}(e) = \sigma^2 I$  می‌باشد که  $K$  یک ماتریس خویشاوندی ژنومی (Genomic kinship matrix) با استفاده از داده‌های ژنوتیپ محاسبه شد و سپس در مدل مورد استفاده قرار گرفت و  $I$  یک ماتریس یکه (Identity matrix) می‌باشد. و در نهایت QTLdb گاو (<https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/BT/index>) جهت شناسایی QTL= Quantitative trait locus های اطراف (داخل یک مگا باز) SNP‌های که آستانه تصحیح بنفرونی به ازای هر کروموزوم گذرانده بود مورد استفاده قرار گرفت.

### نتایج و بحث

آنالیز تجزیه واریانس حداقل مربعات با استفاده از رویه GLM نشان داده بود که اثر بهار بند و سن حیوان برای

همکاران (۲۰۰۱) محاسبه گردید (۲۲). مرحله دوم: میزان کل متان تولیدی روزانه هر دام از طریق حاصلضرب متان پیش بینی شده (در معادله ۲ برای هر دام محاسبه شده بود) در میزان خوراک مصرف شده (که در معادله ۳ برای هر دام محاسبه شده بود) محاسبه شد.

معادله ۳:

$$\text{DMI (kg/day)} = 5.7 + 0.43 \times \text{kg milk}$$

در این معادله: DMI: میزان خوراک مصرفی پیش‌بینی شده به ازای هر راس دام و milk مقدار شیر تولیدی روزانه می‌باشد. ویژگی‌های آماری داده‌های صفت انتشار متان در جدول ۱ نشان داده شد.

**ژنوتایپینگ و کنترل کیفیت:** کارت مو ۱۵۰ حیوان جهت ژنوتایپینگ برای شرکت GeneSeek در کشور آمریکا فرستاده شد. به طوری که این نمونه‌ها با GGP-LD v4 SNP panel (حاوی ۳۰،۱۰۸SNPs) ژنوتایپ شد جهت کنترل کیفیت ژنوتایپینگ از چهار معیار زیر در نرم‌افزار PLINK 2.0 استفاده شد (۲۷):

۱- Animal call rate: در این معیار حیوانات با بیش از ۵٪ ژنوتایپ از دست رفته حذف گردید.

۲- حداقل فراوانی آللی (MAF= Minor allele frequency): SNP‌های با MAF کمتر از ۵٪ حذف گردید.

۳- SNP call rate: SNP‌های که برای بیش از ۵٪ حیوانات ژنوتایپ نشده حذف گردید.

۴- تعادل هاردی-واینبرگ: چون در طی ژنوتایپینگ ممکن است بعضی از ژنوتایپ‌های هتروزیگوت در اثر عدم خوانش درست به عنوان ژنوتیپ هموزیگوت خوانده شوند به طوری که افزایش مقدار این خطا برای یک جایگاه باعث خارج شدن بیش از حد آن جایگاه از تعادل هاردی-واینبرگ می‌شود. بنابراین جایگاه‌های که P-Value آزمون کای‌اسکور آن کمتر از  $10^{-6}$  باشد حذف شدند تا

اهلی انجام شده است (۶). به دلیل اینکه صفت‌های اقتصادی مهم توسط تعداد زیادی ژن کنترل می‌شوند. بنابراین باتوجه به اینکه در (MAS= Marker-assisted selection) تعداد کمی QTL در نظر گرفته می‌شود لذا بخشی ناچیزی از واریانس ژنتیکی به گیر می‌افتد (۹). امروزه به علت پیشرفت وسیع در تکنولوژی توالی‌یابی و روش‌های آماری، مطالعات GWAS به یک روش مرسوم برای یافتن QTL در بسیاری از گونه‌ها تبدیل شده است. GWAS در مقایسه با MAS یک فرصت مناسب جهت به تله انداختن مقدار بیشتری از واریانس صفت‌های مهم را فراهم کرده است. این اطلاعات امکان کاربرد انتخاب ژنومیک در صنعت دامپروری را فراهم می‌کند به طوری که بر اساس گزارش‌ها، انتخاب ژنومیک این شرایط را پرورش‌دهندگان مهیا می‌کند که بتوانند بر اساس اطلاعات نشانگر DNA مترکم ارزش‌های اصلاحی را در مراحل اولیه زندگی حیوانات محاسبه کنند (۲۵ و ۳۰). محققین گزارش کردند براساس انتخاب مبتنی بر ژنتیک می‌توان متان تولیدی را کاهش داد به طوری که گاوهای نژادهای مختلف نرخ تولید متان متفاوتی از هم دارند بطور مثال گاوهای جرسی در مقایسه با گاوهای هلشتاین به علت تبدیل راندمان خوراک بهتر، انتشار متان کمتری دارند (۱۱). بنابراین کاهش اندازه بدن در نژادهای با تولید متان بالا بدون کاهش تولید شیر، می‌تواند به عنوان یک راهکار بالقوه جهت بهبود ضریب تبدیل غذایی و کاهش انتشار متان مطرح باشد. پیشرفت فوق‌العاده ناشی از انتخاب ژنتیکی در صنعت گاو شیری همراه با پیشرفت در مدیریت دام‌ها در سطح مزرعه در طی ۶۰ سال اخیر منجر به افزایش ۴۰۰ درصد تولید شیر در آمریکا شمالی شده است (۴، ۳۸ و ۴۰). این افزایش در تولید شیر به موازات ۶۴ درصد کاهش در جمعیت گاو شیری و همچنین ۵۷ درصد کاهش گاز متان نسبت به یک واحد محصول تولیدی شده است (۴). De Haas و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که وراثت‌پذیری متان تولیدی پیش‌بینی شده به ازای شیر

صفت انتشار متان پیش‌بینی شده معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). بعد از کنترل کیفیت ژنوتایپینگ براساس معیارهای مذکور در بخش و مواد روش‌ها، ۲۳،۸۳۵ SNPs دارای کیفیت مناسب برای آنالیز GWAS را داشته بودند. نتایج GWAS برای صفت انتشار متان در نمودار منتهن در شکل ۱ نمایان شده است. همانطوریکه در این شکل مشاهده می‌شود بر اساس آستانه ارتباط پیشنهادی ( $P < 10^{-5}$ )، ۴۳ SNPs از این آستانه گذر کردند. علاوه بر این بر اساس معیار آستانه تصحیح بنفرونی به ازای کل ژنوم ( $6 \times 10^{-6} < P$ )، ۱۴ SNPs معنی‌دار بودند (شکل ۱). این SNP‌های در کروموزم‌های ۱، ۲، ۶، ۸، ۱۰، ۱۵، ۱۷ و ۱۸ قرار گرفتند. خصوصیات SNP‌های با بیشترین معنی‌داری در نواحی معنی‌دار برای صفت انتشار متان در جدول ۲ آورده شده است. همانطوریکه در این جدول مشاهده می‌شود ARS-BovineHD1800009917 و BFGL-NGS-116634 بیشترین و کمترین معنی‌داری نشان دادند.

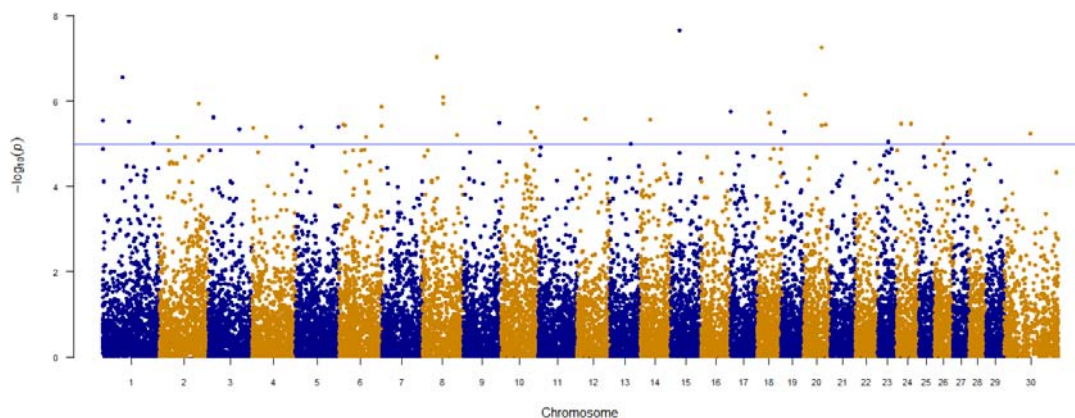
روش‌های اصلاح‌نژادی کلاسیک از اطلاعات فنوتیپی و شجره‌ای جهت تخمین پارامترهای ژنتیکی (وراثت‌پذیری و همبستگی‌های ژنتیکی بین صفت‌ها) و ارزش‌های اصلاحی برای صفات مهم در افراد مختلف استفاده می‌کند. میزان پیشرفت ژنتیکی حاصل از بکاربردن روش‌های کلاسیک برای صفات با توارث‌پذیری کم-متوسط نسبتاً کم بوده است (۲۶). علاوه بر این اندازه‌گیری بعضی از صفت‌ها دشوار و پرهزینه است (بطور مثال متان تولیدی یکی از صفاتی است که اندازه‌گیری آن دشوار و پرهزینه است و انتشار آن به طور مرسوم در واحدهای تولیدی اندازه‌گیری نمی‌شود)، بنابراین کاربرد روش‌های اصلاح‌نژادی کلاسیک برای این صفت‌ها با محدودیت‌هایی روبرو هستند. تنوع موجود در توالی DNA بین حیوانات یک فرصت جهت پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی و شناسایی نواحی مرتبط با صفات مهم اقتصادی با صحت بیشتر را فراهم کرده است. بنابراین انتخاب به کمک نشانگر به طور گسترده جهت شناسایی QTL‌های مرتبط با صفت‌های مهم در حیوانات

به ازای هر حیوان در گذشته به این علت است که متان تولیدی یکی از صفاتی است که اندازه‌گیری آن دشوار و پرهزینه است و انتشار آن به طور مرسوم در واحدهای تولیدی گاو شیری اندازه‌گیری نمی‌شود. بنابراین تحقیق-های مربوط به شناسایی نواحی ژنوم مربوط با صفت انتشار متان محدود و کم است. در نتایج این تحقیق یکسری نواحی ژنومی مرتبط با انتشار متان در گاو هلشتاین شناخته شد. که مشابه با مطالعات قبلی بیانگر این است با استفاده از انتخاب به کمک نشانگر و انتخاب ژنومیک می‌توان متان تولیدی را به ازای هر حیوان کاهش داد. نتایج تحقیق ما همچنین نشان داد که کاهش انتشار متان در گاو شیری با استفاده از پروفایل اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه به عنوان یک شاخص پیش‌بینی کننده انتشار متان امکان‌پذیر است. بنابراین با گنجاندن QTL‌های مرتبط با صفت انتشار متان در برنامه‌های اصلاحی، انتظار می‌رود نرخ انتشار متان به ازای هر حیوان کاهش یابد. به طوری که کاهش انتشار متان نیز می‌تواند باعث افزایش بهره‌وری خوراک مصرفی در گاوهای شیری شود. علاوه بر این برخلاف سایر راهکارهای توسعه یافته جهت کاهش انتشار متان در صنعت گاو شیری مانند تغییر در تنظیم غذایی، افزودنی-های غذایی و واکسن‌های آنتی‌متانوژن، بهبود حاصل از انتخاب ژنتیکی به دلیل توارث‌پذیری، تجمعی و دائمی بودن بسیار مفید می‌باشد.

نتایج Annotating برای شناسایی QTL‌های قرار گرفته در ناحیه ۱ Mb برای SNP-های معنی‌دار در نواحی معنی‌دار برای صفت انتشار متان در جدول ۳ نمایان شده است. هیچ QTLی مرتبط با صفت انتشار متان در ناحیه ۱ Mb برای SNP‌های معنی‌دار گزارش نشده است ولی QTL‌های مرتبط با شیر تولیدی و ترکیب‌های آن، وزن بدن و خوراک مصرفی باقی‌مانده اطراف بعضی از این SNP‌ها مشاهده شده است (جدول ۳).

تصحیح شده برای محتوای چربی و پروتئین به ترتیب معادل با ۰/۳۵ و ۰/۵۸ می‌باشد (۵). علاوه بر این در مطالعات پویش کل ژنومی (GWAS= Genome-wide association study) چندین (SNP= Single nucleotide polymorphism) در ارتباط با انتشار متان اندازه‌گیری شده یا پیش‌بینی شده در گاو هلشتاین (۵) و آنگوس (۱۳) شناسایی شده است. گزارش شده است انتخاب ژنومیک می‌تواند انتشار متان را حدود تقریباً ۵٪ در طول ۱۰ سال کاهش بدهد (۱۳).

ترکیب فلور میکروب‌های شکمبه به طور بالقوه‌ای بر صفات کلیدی، مثل ضریب تبدیل خوراک و انتشار متان در دام موثر است. آرکایا متانوژنیک دسته‌ای از میکروب‌های شکمبه می‌باشند که فرآیند تولید متان را در محیط شکمبه نشخوارکننده‌گان انجام می‌دهند. King و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند فلور میکروبی آرکایا مایع شکمبه در دو نژاد جرسی و هلشتاین تغذیه شده با جیره غذایی یکسان و تحت شرایط مدیریتی یکسان متفاوت بوده است که بنا به گزارش‌های این نویسندگان تفاوت در فلور میکروبی آرکایا به علت ژنتیک بوده است (۲۰). Roehe و همکاران (۲۰۱۶) تحت تاثیر قرار گرفتن متان تولیدی و ترکیب جمعیتی آرکایا در اثر گروه‌های مختلف فرزندان گاو نر از دو نژاد آبردین آنگوس و لیموزین و جیره غذایی (گروه یک غذا پایه کنسانتره و گروه دو غذا پایه علوفه) را مورد بررسی قرار داده بودند. اثر جیره و نوع نژاد بر میانگین حداقل مربعات نسبت آرکایا به باکتری‌ها حاصل از حیوانات زنده یا کشتار شده به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار بوده است. در برخی موارد تفاوت انتشار متان مشاهده شده میان گروه‌های فرزندان گاو نر نسبت به این تفاوت مشاهده شده در جیره‌های غذایی بیشتر بوده است که این نشان دهنده تاثیر ژنتیکی قابل توجه میزان بر روی انتشار متان و ترکیب میکروبی موثر بر تولید متان می‌باشد (۳۵). یکی از دلایل عدم توجه کافی به صفت تولید متان



شکل ۱- نمایانگر  $-\log_{10}(P)$  برای P-values در آنالیز GWAS برای صفت انتشار متان. خط آبی رنگ افقی نشان دهنده آستانه ارتباط پیشنهادی ( $P < 10^{-5}$ ) است.

جدول ۲- خصوصیات SNP‌های با بیشترین معنی‌داری در نواحی معنی‌دار برای صفت انتشار متان

کروموزوم	SNP	موقعیت (bp)	اثر جایگزینی آلی	S.E.	P-value
۲	ARS-BFGL-NGS-116634	۱۰۷۳۱۸۰۸۰	۳۵۰۳/۸۹	۵۴۶/۳۶	$2/14 \times 10^{-9}$
۱۵	BovineHD1500006429	۲۴۵۰۸۵۳۱	۴۰۲۵/۴۶	۶۷۷/۰۳	$2/17 \times 10^{-8}$
۲۰	ARS-BFGL-NGS-87102	۴۹۸۵۹۳۲۳	۳۸۱۶/۶۲	۶۶۴/۰۴	$5/62 \times 10^{-8}$
۸	BovineHD0800011543	۳۸۷۲۵۱۶۵	۲۸۱۰/۷۷	۴۹۸/۵۶	$9/46 \times 10^{-8}$
۱	1_54481566	۵۴۴۸۱۵۶۶	۳۵۷۶/۰۸	۶۶۱/۵۹	$2/79 \times 10^{-7}$
۶	BovineHD0600033597	۱۱۷۹۴۲۳۹۲	۱۷۶۱/۸۱	۳۴۸/۳۸	$1/34 \times 10^{-6}$
۱۰	BovineHD1000029180	۱۰۰۷۶۵۸۸۹	۳۵۶۹/۳۱	۷۰۷/۱۶	$1/40 \times 10^{-6}$
۱۷	BovineHD1700000175	۷۱۳۹۲۳	۳۲۲۶/۶۳	۶۴۵/۴۲	$1/83 \times 10^{-6}$
۱۸	BovineHD1800009917	۳۲۷۶۲۹۵۶	۱۹۰۸/۲۹	۳۸۲/۹۷	$1/86 \times 10^{-6}$

بدنی به ترتیب معادل با  $-0/68$ ،  $-0/13$ ،  $-0/47$  و  $0/07$  بوده است (۱۸). همچنین یک همبستگی مثبت (از  $0/18$  تا  $0/84$ ) بین خوراک مصرفی باقی‌مانده و انتشار متان پیش‌بینی شده در گاو هلشتاین-فریزین گزارش شده بود (۵). Herd و همکاران (۲۰۱۴) بیان کردند یک همبستگی بالا بین تولید متان روزانه با وزن یک سالگی در گاو گوشتی مشاهده شده بود (۱۴). این گزارش‌ها نشان می‌دهد که بعضی ژن‌ها و QTLها بطور مشترک صفت‌های انتشار متان، ضریب تبدیل غذایی، وزن بدن و صفت‌های تولید شیر را تحت تاثیر قرار می‌دهند. در اطراف BovineHD1800009917 SNP‌های معنی‌دار QTL‌های مربوط به هر چهار صفت همبسته با انتشار متان (یعنی تولید شیر، تولید پروتئین و نمره سلول‌های

یکی از دلایلی که می‌توان برای این رویداد بیانگر کرد این است که انتشار متان به عنوان یک صفت پیچیده است و تحت تاثیر تعداد زیادی ژن قرار می‌گیرد و این صفت به دلیل دشواری و پرهزینه بودن اندازه‌گیری آن، بطور مرسوم در صنعت گاو شیری برخلاف صفت‌های تولید شیر، وزن بدن و دیگر صفت‌ها اندازه‌گیری نمی‌شود بنابراین تعداد بسیار محدودی از QTL‌های مرتبط با انتشار متان شناسایی شده و در وب‌سایت QTLdb موجود هستند. دلیل دیگر می‌تواند این باشد که براساس گزارش‌ها بین صفت انتشار متان با شیر تولیدی و ترکیب‌های آن، وزن بدن و خوراک مصرفی همبستگی وجود دارد. بطور مثال گزارش شده است که ضرایب همبستگی ارزش اصلاحی انتشار متان با تولید شیر، تولید چربی، تولید پروتئین و نمره سلول‌های



ماده خشک مصرفی) مشاهده شد در صورتیکه اطراف بقیه صف‌های همبسته مشاهده نشد. بنابراین به نظر می‌رسد SNPها یا اینکه QTL مرتبط با یک یا دو تا از این صف‌های همبسته مشاهده شد یا اینکه اصلاً QTLی برای این

جدول ۳- QTLهای قرار گرفته در ناحیه ۱Mb برای SNPهای با بیشترین معنی‌داری در نواحی معنی‌دار برای صف انتشار متان

کروموزوم	نام SNP	صف مرتبط با QTL	نماد QTL
۲	ARS-BFGL-NGS-116634	Milk oleic acid content	MFA-C18:1
۱۵	BovineHD1500006429	Milk fat yield	FY
		Milk capric acid content	MFA-C10:0
		Milk myristic acid content	MFA-C14:0
		Milk protein percentage	PP
۲۰	ARS-BFGL-NGS-87102	Not Available	
۸	BovineHD0800011543	Dry matter intake	DMI
۱	1_54481566	Milk alpha-casein percentage	MACASP
		Milk capric acid content	MFA-C10:0
		Milk myristic acid content	MFA-C14:0
		Milk palmitoleic acid content	MFA-C16:1
		Milk protein yield	PY
۶	BovineHD0600033597	Not Available	
۱۰	BovineHD1000029180	Milk butyric acid content	MFA-C4:0
۱۷	BovineHD1700000175	Not Available	
۱۸	BovineHD1800009917	Residual feed intake	RFI
		Milk yield	MY
		Body weight (weaning)	WWT
		Body weight (mature)	MWT
		Dry matter intake	DMI

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج آنالیز GWAS برای صف انتشار متان نشان داد تعداد SNP قابل توجهی از آستانه ارتباط پیشنهادی گذر کرد. علاوه بر این براساس معیار آستانه تصحیح بنفرونی به ازای کل ژنوم ۱۴SNPs معنی‌دار بودند. Annotating برای شناسایی QTLهای اطراف SNPهای معنی‌دار نشان داد QTLهای مرتبط با شیر تولیدی و ترکیب‌های آن، وزن بدن و خوراک مصرفی باقی‌مانده اطراف بعضی از این SNPها مشاهده شد. این نتیجه بیانگر این است بعضی ژن‌ها و QTLها بطور مشترک صف‌های انتشار متان، ضریب تبدیل

غذایی، وزن بدن و صف‌های تولید شیر را تحت تاثیر قرار می‌دهند. بنابراین به نظر می‌رسد انتخاب ژنتیک دارای این پتانسل می‌باشد که بتوان نرخ انتشار متان به ازای هر حیوان را کاهش داد. به طوری که این کاهش انتشار متان نیز می‌تواند باعث افزایش بهره‌وری خوراک مصرفی در گاوهای شیری شود. علاوه بر این برخلاف سایر راهکارهای توسعه یافته جهت کاهش انتشار متان در صنعت گاو شیری مانند تغییر در تنظیم غذایی، افزودنی‌های غذایی و واکسن‌های آنتی‌متانوژن، بهبود حاصل از انتخاب ژنتیکی به دلیل توارث‌پذیری، تجمعی و دائمی بودن بسیار مفید می‌باشد.

## منابع

- ۱- فرهود، د.، اطهاری نیک عزم، س. ۱۳۸۸. حقیقت تلخ؛ زمین روز به روز گرمتر می‌شود. روزنامه جام جم. خیر شماره ۱۳۴.
- ۲- بی‌نام. ۱۳۹۶. آمارنامه کشاورزی. وزارت جهاد کشاورزی.
- 3- Aguirre-Villegas H. 2017. Mitigation of Enteric Methane Emissions from Dairy Cows. University of Wisconsin--Extension, Cooperative Extension.
- 4- Capper JL, Cady R and Bauman D. 2009. The environmental impact of dairy production: 1944 compared with 2007. *Journal of animal science*. 87(6):2160-2167.
- 5- De Haas Y, Windig J, Calus M, Dijkstra J, De Haan M, Bannink A and Veerkamp R. 2011. Genetic parameters for predicted methane production and potential for reducing enteric emissions through genomic selection. *Journal of Dairy Science*. 94(12):6122-6134.
- 6- Dekkers JC. 2004. Commercial application of marker-and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons 1 2. *Journal of animal science*. 82(13\_suppl):E313-E328.
- 7- Ellis J, Kebreab E, Odongo N, McBride B, Okine E and France J. 2007. Prediction of methane production from dairy and beef cattle. *Journal of Dairy Science*. 90(7):3456-3466.
- 8- Forster P, Ramaswamy V, Artaxo P, Berntsen T, Betts R, Fahey DW, Haywood J, Lean J, Lowe DC and Myhre G. 2007. Changes in atmospheric constituents and in radiative forcing. Chapter 2. in *Climate Change 2007. The Physical Science Basis*.
- 9- Goddard M and Hayes B. 2007. Genomic selection. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 124(6):323-330.
- 10- Haile-Mariam M, Carrick M and Goddard M. 2008. Genotype by environment interaction for fertility, survival, and milk production traits in Australian dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 91(12):4840-4853.
- 11- Halachmi I, Børsting C, Maltz E, Edan Y and Weisbjerg M. 2011. Feed intake of Holstein, Danish Red and Jersey cows in automatic milking systems. *Livestock Science*. 138(1-3):56-61.
- 12- Hayes B, Carrick M, Bowman P and Goddard M. 2003. Genotype× environment interaction for milk production of daughters of Australian dairy sires from test-day records. *Journal of Dairy Science*. 86(11): 3736-3744.
- 13- Hayes B, Donoghue K, Reich C, Mason B, Bird-Gardiner T, Herd R and Arthur P. 2016. Genomic heritabilities and genomic estimated breeding values for methane traits in Angus cattle. *Journal of animal science*. 94(3):902-908.
- 14- Herd R, Arthur P, Bird S, Donoghue K and Hegarty R. 2014. Genetic variation for methane traits in beef cattle. in Proc. Proceedings of the 10th world congress of genetics applied to livestock production.
- 15- IPCC: Climate change 2007. The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report. International Panel on Climate Change 4:2007.
- 16- Jiménez-Montero JA, Gonzalez-Recio O and Alenda R. 2012. Genotyping strategies for genomic selection in small dairy cattle populations. *Animal*. 6(8):1216-1224.
- 17- Johnson DE and Ward GM. 1996. Estimates of animal methane emissions. *Environmental monitoring and assessment*. 42(1-2):133-141.
- 18- Kandel P, Vanderick S, Vanrobays ML, Vanlierde A, Dehareng F, Froidmont E, Soyeyrt H and Gengler N. 2014. Consequences of selection for environmental impact traits in dairy cows. in Proc. Proceedings of the 10th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Vancouver.
- 19- Kang HM, Sul JH, Zaitlen NA, Kong SY, Freimer NB, Sabatti C and Eskin E. 2010. Variance component model to account for sample structure in genome-wide association studies. *Nature genetics*. 42(4): 348-354.
- 20- King EE, Smith RP, St-Pierre B and Wright ADG. 2011. Differences in the rumen methanogen population of lactating Jersey and Holstein dairy cows under the same diet regimen. *Applied and Environmental Microbiology*. 05130-11.
- 21- Lashof DA and Ahuja DR. 1990. Relative contributions of greenhouse gas emissions to

- global warming. *Nature*. 344(6266): 529-531.
- 22- Lindgren E, Murphy M and Andersson T. 2001. Värdering av Foder. Lantmännen Foderutveckling AB, Nötfor. Almqvist & Wiksell, Uppsala.
- 23- McAllister T, Cheng KJ, Okine E and Mathison G. 1996. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science*. 76(2):231-243.
- 24- McMichael AJ, Powles JW, Butler CD and Uauy R. 2007. Food, livestock production, energy, climate change, and health. *The lancet*. 370(9594):1253-1263.
- 25- Meuwissen T, Hayes B and Goddard M. 2001. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*. 157(4):1819-1829.
- 26- Miar Y, Plastow G and Wang Z. 2015. Genomic selection, a new era for pork quality Improvement. *Springer Science Reviews*. 3(1):27-37.
- 27- Moradi MH, Nejati-Javaremi A, Moradi-Shahrbabak M, Dodds KG and JC McEwan. 2012. Genomic scan of selective sweeps in thin and fat tail sheep breeds for identifying of candidate regions associated with fat deposition. *BMC genetics*. 13(1): 10-24.
- 28- Moss AR, Jouany JP and Newbold J. 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Annales de zootechnie. EDP Sciences*. 231-353.
- 29- Murray R, Bryant A and Leng R. 1976. Rates of production of methane in the rumen and large intestine of sheep. *British Journal of Nutrition*. 36(1):1-14.
- 30- Nejati-Javaremi A, Smith C and Gibson J. 1997. Effect of total allelic relationship on accuracy of evaluation and response to selection. *Journal of animal science*. 75(7):1738-1745.
- 31- Ottenstein D and Bartley D. 1971. Improved gas chromatography separation of free acids C2-C5 in dilute solution. *Analytical Chemistry*. 43(7):952-955.
- 32- Palut MPJ and Canziani OF. 2007. Contribution of working group II to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. Cambridge University Press.
- 33- Pickering N, Chagunda M, Banos G, Mrode R, McEwan J and Wall E. 2015. Genetic parameters for predicted methane production and laser methane detector measurements. *Journal of animal science*. 93(1):11-20.
- 34- Ren N, Liu M, Wang A, Ding J and Li H. 2003. Organic acids conversion in methanogenic-phase reactor of the two-phase anaerobic process. *Huan jing ke xue= Huanjing kexue*. 24(4):89-93.
- 35- Roehe R, Dewhurst RJ, Duthie CA, Rooke JA, McKain N, Ross DW, Hyslop JJ, Waterhouse A, Freeman TC and Watson M. 2016. Bovine host genetic variation influences rumen microbial methane production with best selection criterion for low methane emitting and efficiently feed converting hosts based on metagenomic gene abundance. *PLOS Genetics*. 12(2):e1005846.
- 36- Sargolzaei M, Iwaisaki H and Colleau J. 2006. CFC: A tool for monitoring genetic diversity. Proc. 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. CD-ROM Communication (27-28):13-18.
- 37- SAS S. 2002. 9.1 for Windows SAS Institute. Inc., Cary, North Carolina 2004.
- 38- Shook G. 2006. Major advances in determining appropriate selection goals. *Journal of Dairy Science*. 89(4):1349-1361.
- 39- Solomon S. 2007. The physical science basis: Contribution of Working Group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), Climate change 996-2007.
- 40- VanRaden P. 2004. Invited review: Selection on net merit to improve lifetime profit. *Journal of Dairy Science*. 87(10):3125-3131.
- 41- Vellinga TV, Bannink A, Smits M, Van den Pol-Van Dasselaar A and Pinxterhuis I. 2011. Intensive dairy production systems in an urban landscape, the Dutch situation. *Livestock Science*. 139(1-2):122-134.
- 42- Wolin MJ. 1960. A theoretical rumen fermentation balance. *Journal of Dairy Science*. 43(10):1452-1459.

## Genome wide association study to identify genome region associated with methane emission in cattle using 30K panel

Jalil Sarghale A., Moradi Shahrabak H., Moradi Shahrabak M., Nejati Javaremi A., Saatchi M. and Miar Y.

<sup>1</sup> Animal Science Dept., University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I.R. of Iran

<sup>2</sup> Dept. of Animal Science, College of Agriculture, Iowa State University, 806 Stange Road, Ames, IA 50011, USA

<sup>3</sup> Dept. of Animal Science and Aquaculture, Dalhousie University, Truro, B2N 5E3, Canada

### Abstract

The agriculture contribute to 50-60 % of global methane emission and ruminants have a key role in this contribution. Methane has an important role in global warming and its global warming potential is 25 times greater than CO<sub>2</sub>. Furthermore, methane is the second most abundant global anthropogenic greenhouse gas after carbon dioxide. The present study aimed to perform genome wide association study to identify genome regions affecting the predicated methane production based on the concentrations of volatile fatty acids of rumen in Iranian Holstein cattle. One-hundred and fifty hair and rumen digesta samples were sampled using the two-tailed strategy based on breeding values of milk. After the measurement of the concentration of volatile fatty acids of rumen, methane emission of each animal was predicated according to these acids. DNA of animals was genotyped using GGP-LD v4 SNP panel (contains 30108 SNPs). Fourteen significant SNPs associated with methane emission trait located on 1, 2, 6, 10, 15, 17 and 18 chromosome were identified. Using annotating some quantitative trait locus (QTLs) were discovered around some of these SNPs. The results showed a genetic selection potential to mitigate methane emission per animal. Since genetic improvements are heritable, cumulative, and permanent, this improvement would be permanent and beneficial.

**Key words:** Methane emission, Genome wide association study, Cattle