



تشخیص جایگاه‌های ژنی صفات کمی تولید شیر، مقدار و درصد چربی آن روی کروموزوم ۱۴ در جمعیت هلشتاین ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

مهناز نوری صادق^{۱*}، مرادپاشا اسکندری نسب^۲، رحیم عصفوری^۳، سعید انصاری مهباری^۴، محمدطاهر هرکی نژاد^۲

^۱ دانشجوی دوره کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه زنجان.

^۲ عضو هیئت علمی گروه علوم دامی دانشگاه زنجان.

^۳ پژوهشگر بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRII) کرج.

^۴ عضو هیئت علمی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۶/۲۳، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۴/۰۵

چکیده

در این مطالعه ردیابی جایگاه‌های ژنی صفات کمی (QTLs) درصد چربی شیر، تولید چربی شیر و تولید شیر در جمعیت هلشتاین ایران با استفاده از ۱۰ جفت نشانگر ریزماهواره روی کروموزوم ۱۴ شامل DIK4884، DIK5080، CBDIKM004، CBDIKM002، JLSTS011، CSSM066، JLSTS039، BM1508 و DIK2598، DIK4361. نمونه خون از ۱۰ خانواده پدری شامل ۲۳۳ نتاج گاو ماده هلشتاین از گاوداری‌های تحت پوشش مرکز اصلاح نژاد و بهبود شیر کشور مربوط به استان‌های تهران، اصفهان، مرکزی، خراسان، فارس، یزد، قزوین و زنجان جمع آوری شد. سپس استخراج DNA از نمونه‌ها با استفاده از کیت استخراج استاندارد صورت گرفت. بعد از سنجش کمیت و کیفیت DNA استخراج شده، واکنش-های PCR با تمام نشانگرها انجام شد. تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها با کمک سامانه الکتروفورز مؤین انجام گرفت، تجزیه و تحلیل داده‌ها برای یافتن محتمل‌ترین محل QTL با استفاده از نرم افزار DMU صورت پذیرفت. محتمل‌ترین مکان‌ها که حداکثر آزمون درستی را داشته و معنی دار بود، برای درصد چربی شیر موقعیت ۳ سانتی مورگان، و برای تولید شیر و همچنین تولید چربی شیر موقعیت ۵۴ سانتی مورگان بدست آمد ($P < 0.05$).

کلمات کلیدی: جایگاه‌های صفت کمی، کروموزوم ۱۴، گاو هلشتاین ایران.

مقدمه

و مکان‌یابی QTL‌های صفات تولیدی در دام‌های کشور نسبت به بهره‌وری از روش‌های نوین ژنتیکی و کاربرد نشانگرهای ژنتیکی و علم بیوتکنولوژی اقدام نمود. اهداف این تحقیق شامل شناسایی QTL‌های مربوط به صفات کمی تولید شیر و درصد و مقدار چربی آن با استفاده از نشانگرهای مولکولی ریزماهواره بر روی کروموزوم ۱۴ در گاو هلستاین ایران و نیز امکان استفاده از انتخاب به کمک نشانگرهای مولکولی بود.

مواد و روش‌ها

حیوانات و داده‌های فنوتیپی

با توجه به آن که مدل مورد استفاده، یک طرح ناتنی پدری بود، تعداد ۱۰ خانواده ناتنی پدری در مجموع شامل ۲۳۳ حیوان از گاوهای تحت پوشش مرکز اصلاح نژاد کشور، از استان-های تهران، اصفهان، مرکزی، خراسان، فارس، یزد، قزوین و زنجان بطور تصادفی انتخاب گردید. داده‌های فنوتیپی براساس دو بار دوشش در روز شامل صفات تولید شیر درصد چربی شیر، و تولید چربی شیر، گرفته شده از بانک اطلاعاتی ایستگاه بهبود شیر کشور بود.

استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ

از تمامی ۱۰ نر و نتاج شان از طریق سیاهرگ و داج گردن و به وسیله لوله‌های خلای حاوی EDTA خون‌گیری به عمل آمد. نمونه-

فن آوری مولکولی به شکل نشانگرهایی که تفاوت افراد را در سطح DNA آن‌ها نشان می‌دهند، می‌توانند نقش مهمی در بهبود ژنتیکی صفات دارای مکانیسم توارثی پیچیده از طریق انتخاب به کمک نشانگر یا ژن داشته باشند (Esmailizadeh *et al.*, 2007). تاکنون چندین مطالعه در زمینه شناسایی جایگاه‌های صفت کمی (QTLs) در جمعیت گاو نژادهای مختلف صورت گرفته است که در مجموع ۱۲۶ QTL موثر بر صفات تولید شیر در کروموزوم ۱۴ گزارش شده‌است که از این تعداد ۵۶ عدد از آنان در خصوص صفات تولید شیر بوده‌است (Tito *et al.*, 2008). با توجه به اهمیت تولید شیر در گاو هلستاین، تحقیقات زیادی برای افزایش چربی شیر بر روی آنها انجام گرفته است بطوریکه (Looft *et al.*, 2001; Spelman *et al.*, 2002; Grisart *et al.*, 2004; Thaller *et al.*, 2002; Berry *et al.*, 2010; Vinicius *et al.*, 2010) در نتایج خود به ترتیب افزایش ۵/۰۲، ۶، ۱۰، ۷/۶ تا ۱۰/۷، ۴/۲۲ و ۳/۷ کیلوگرم تولید چربی شیر اشاره کرده‌اند. در هر حال با توجه به اثرات قابل توجه QTL‌ها در صفات مهم اقتصادی همچون تولید شیر و اجزای آن (از جمله چربی شیر)، انتظار می‌رود کاربرد نقشه‌های ژنتیکی در برنامه‌های به‌نژادی منجر به افزایش سرعت پیشرفت به واسطه بالا رفتن دقت در انتخاب در ارزیابی‌های ژنتیکی و همچنین کاهش فاصله تجدید نسل گردد که با طراحی پروژه‌هایی در جهت تشخیص

هلشتاین ایران انتخاب گردید. تعداد ۱۰ نشانگر ریزماهواره بر اساس نقشه ژنتیکی نشانگرهای ریزماهواره ای گاو (<http://www.marc.usda.gov/genome>).

مشخص شد (جدول ۲). ریزماهواره‌های انتخاب شده با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) تکثیر یافتند. واکنش‌ها تحت شرایط زیر و با استفاده از دستگاه‌های ترموسایکلر (ABI 9700 GeneAmp[®] و PC-818) انجام شدند: واسرشته سازی اولیه (۵ دقیقه با دمای ۹۵°C) و سپس ۳۰ چرخه شامل مراحل واسرشته سازی (۳۰ ثانیه با دمای ۹۵°C)، اتصال آغازگر به رشته الگو (۴۵ ثانیه با دمای ۶۲-۵۷°C)، بسط توسط پلیمرز (۳۰ ثانیه با دمای ۷۲°C) و مرحله بسط نهایی (۱۰ دقیقه با دمای ۷۲°C) در نهایت نگهداری (۱۰ دقیقه با دمای ۴°C). واکنش‌های PCR با استفاده از ۱/۵ نانوگرم از DNA الگو در حجم نهایی ۱۶/۶ میکرولیتر، مخلوط واکنش شامل غلظت بهینه مورد نیاز برای یک واکنش شامل ۰/۱ میکرومولار از هر آغازگر، ۰/۲ میلی مولار از هر کدام از نوکلئوتیدها، ۲/۵ میلی مولار از MgCl₂ و ۰/۰۶ واحد در هر میکرولیتر از آنزیم Tag DNA polymerase انجام یافتند.

های خون بلافاصله روی یخ قرار گرفته و به آزمایشگاه انتقال یافت. استخراج ۲۳۳ نمونه DNA از خون کامل و به روش کیت استخراج با نام تجاری *AccuPrep*[®] (Bioneer)، کره-جنوبی) انجام گردید. در این کیت از فیبرهای شیشه‌ای تثبیت شده در قالب یک ستون تخلیص، برای جداسازی DNA استفاده می‌شود. پروتئین‌ها و سایر آلاینده‌ها از طریق چند مرحله کوتاه شستشو و سانتیفریوژ، حذف شده و در پایان، DNA ژنومی در یک محلول کم‌نمک حل می‌گردد. این فرآیند نیازی به استفاده از محلول‌های خطرناکی نظیر فنل یا کلروفرم نداشته و مراحل همچون رسوب‌گیری الکلی و سایر مراحل وقت-گیر در آن حذف شده‌اند. همچنین آلودگی‌هایی نظیر پروتئین‌ها و نوکلئازها، که می‌توانند در واکنش‌های PCR اختلال ایجاد کنند به‌طور کامل خارج شده و در نتیجه، کارایی PCR افزایش می‌یابد. علاوه بر این، به دلیل استفاده از حلال‌های آلی و نیز اجتناب از رسوب‌دهی، آسیب وارده به DNA به حداقل خواهد رسید. از آنجایی که در تحقیقات پیشین بر روی گاو شیری بیشترین QTL‌های موثر بر صفات تولید شیر روی کروموزوم ۱۴ با تعداد ۵۶ QTL (جدول ۱) گزارش شده بود (Tito et al., 2008)، لذا بخشی از کروموزوم ۱۴ برای مطالعه نواحی کروموزومی موثر بر صفات تولید شیر در جمعیت شیری

جدول ۱- QTL های گزارش شده بر روی کروموزوم ۱۴ گاو برای صفات تولید شیر در گاو شیری.

Table 1- Reported QTL for milk production traits on chromosome 14 in dairy cattle.

| موقعیت (سانتی مورگان) Position (cM) | نشانهگر Marker | رفرنس Reference |
|---|-------------------|------------------------------------|
| صفت درصد چربی شیر Fat Percentage Milk Trait | | |
| 52/37 | BM302 | Ashwell <i>et al.</i> , 1997 |
| 14/01 | BMS1678 | Ashwell <i>et al.</i> , 2002 |
| 0-33/31 | KIEL_E8 | Bennewitz <i>et al.</i> , 2003 |
| 18/70 | DGAT1 | Bennewitz <i>et al.</i> , 2004 |
| 5/13 | CSSM066 | Biochard <i>et al.</i> , 2003 |
| 0,17/85 | ILSTS039, BM1508 | Heyen <i>et al.</i> , 1999 |
| 18/70 | DGAT1 | Kaupe <i>et al.</i> , 2007 |
| 0-5/13 | CSSM066-ILSTS039 | Kuhn <i>et al.</i> , 2004 |
| 0 | ILSTS039 | Rodriguez-zas <i>et al.</i> , 2002 |
| 5/13 | CSSM066 | Ron <i>et al.</i> , 1999 |
| 0-5/13 | CSSM066-ILSTS039 | Taller <i>et al.</i> , 2003 |
| 25/71-52/37 | ILSTS011-BM302 | Zhang <i>et al.</i> , 1998 |
| صفت تولید چربی شیر Fat production Milk Trait | | |
| 14/01 | BMS1678 | Ashwell <i>et al.</i> , 2002 |
| 41/70-48/23 | ILSTS039-BMS1678 | Ashwell <i>et al.</i> , 2004 |
| 5/13 | CSSM066 | Bennewitz <i>et al.</i> , 2003 |
| 18/70 | DGAT1 | Bennewitz <i>et al.</i> , 2004 |
| 5/13 | CSSM066 | Biochard <i>et al.</i> , 2003 |
| 79/79-100/6 | BM4513-BL1036 | Harder <i>et al.</i> , 2006 |
| 29/80 | CYP11B1 | Kaupe <i>et al.</i> , 2007 |
| 0-18/75 | ILSTS039-BM1508 | Winter <i>et al.</i> , 1998 |
| 25/71-52/37 | ILSTS011-BM302 | Zhang <i>et al.</i> , 1998 |
| صفت تولید شیر Milk production Trait | | |
| 52/37 | BM302 | Ashwell <i>et al.</i> , 1997 |
| 93/7, 8/1 | BMS1747, BMS947 | Bagnato <i>et al.</i> , 2008 |
| 0 | KIEL_E8 | Bennewitz <i>et al.</i> , 2003 |
| 5/13 | CSSM066 | Biochard <i>et al.</i> , 2003 |
| 29/80 | CYP11B1 | Kaupe <i>et al.</i> , 2007 |

رسیده، هتروزیگوت و هموزیگوت بودن و طول
باند های بدست آمده از والد نر در نتاج با سامانه
الکتروفورز موئین Analyzer 3130 Genetic

آنالیز داده ها
پس از تعیین ژنوتیپ ۲۴۳ نمونه گاو ماده و
گاو های نر، مشخص شدن هاپلوتیپ های به ارث

نسبت درست‌نمایی (LRT) و با استفاده از رابطه زیر محاسبه و جواب با جدول کای اسکوئر، با درجه آزادی یک در سطح پنج درصد مقایسه گردید که در صورت معنی دار شدن، محتمل‌ترین مکان QTL شناسایی شد.

$$LRT = -2 (\text{Log likelihood } (H_0) - \text{Log likelihood } (H_1))$$

پس از این مرحله با استفاده از روش Mapping، نشانگری که در موقعیت شناخته شده قرار دارد و نزدیک‌ترین فاصله را با محتمل‌ترین موقعیت QTL دارد، شناسایی شده و در آخر خصوصیات صفت برای QTL شناخته شده بررسی گردید.

موجود در پژوهشکده بیوتکنولوژی شمال کشور (ABRIIN)، در قالب یک طرح ناتنی پدری و با استفاده از روش نقشه یابی درون فاصله‌ای مبتنی بر روش‌های خطی ساده جهت شناسایی QTLها استفاده شد. پیوستگی هر صفت با نشانگرها روی کروموزوم ۱۴، با استفاده از نرم افزار DMU (<http://dmu.agsrci.dk>) صورت گرفت (Madsen and Jensen, 2002). اطلاعات فنوتیپی و همچنین اطلاعات ژنوتیپی مربوط به نشانگر و همچنین نقشه پیوستگی نشانگرها با استفاده از مدل خطی مختلط مورد تجزیه آماری قرار گرفت، سپس با استفاده از فرمول آزمون

جدول ۲- مشخصات کلی آغازگرهای ریزماهواره‌ای بکار رفته در تحقیق.

Table 2- General Characteristics of microsatellite primers used in the study.

| متوسط دمای ذوب The average melting point | موقعیت آغازگر Primer location (cM) | دامنه اندازه آلی (جفت باز) Allele size range(bp) | نام آغازگر Primer name |
|---|---------------------------------------|---|---------------------------|
| 59 | 63/156 | 200-218 | DIK4361 |
| 60 | 56/015 | 185-205 | DIK4884 |
| 60 | 31/26 | 193-211 | DIK5080 |
| 60 | 41/707 | 189-205 | CBDIKM002 |
| 59 | 47/116 | 224-248 | CBDIKM004 |
| 59 | 5/125 | 177-197 | CSSM066 |
| 60 | 25/708 | 261-271 | ILSTS011 |
| 59 | 17/84 | 99-115 | BM1508 |
| 59 | 0 | 209-227 | ILSTS039 |
| 60 | 51/63 | 161-190 | DIK2598 |

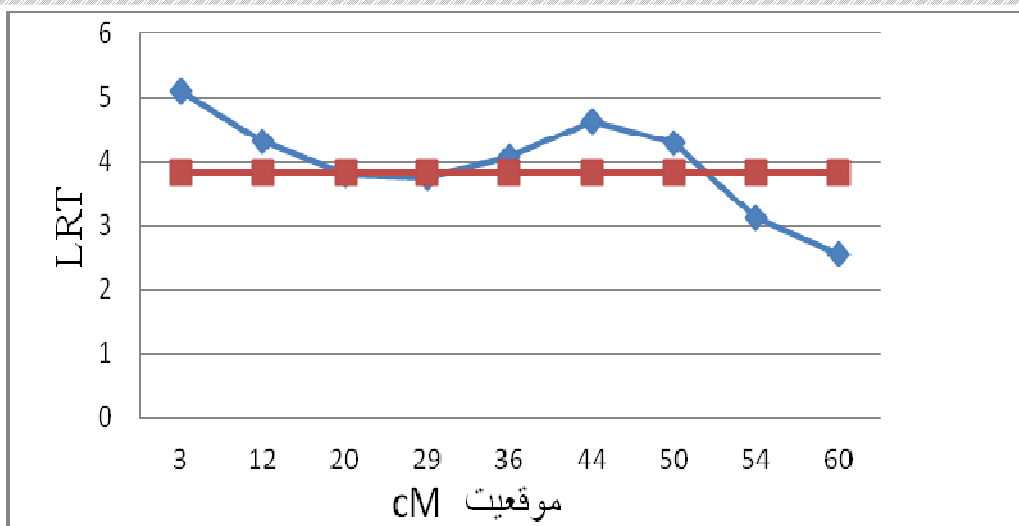
نتایج و بحث

نشانگرها در آستانه‌های معنی‌داری صفات درصد چربی شیر، تولید شیر و تولید چربی شیر و همچنین واریانس‌های QTL، پلی ژنیک و باقی

نشانگرهای مورد استفاده در موقعیت‌های صفر تا ۶۳ سانتی مورگان بودند و هر کدام از

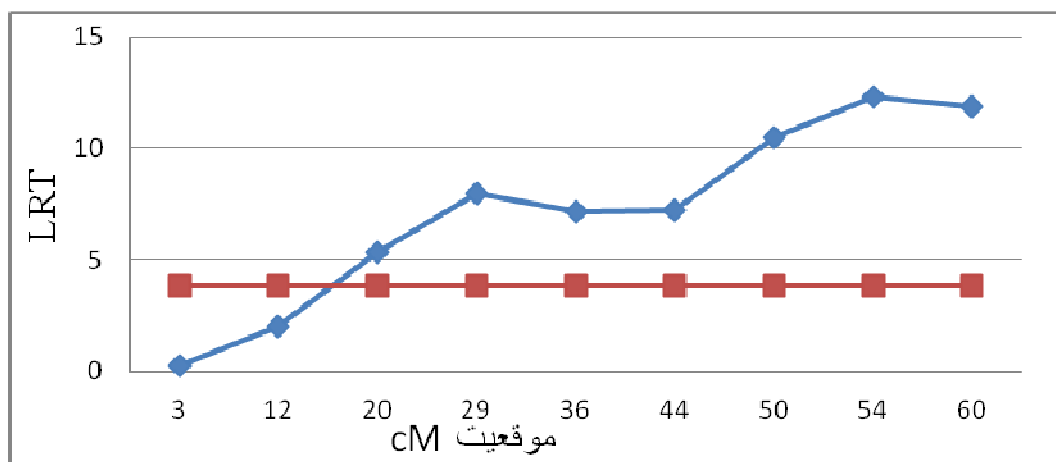
گرفته در آستانه معنی داری صفت درصد چربی شیر در این تحقیق و تحقیقات انجام شده بر کروموزوم ۱۴، نشانگر CSSM066 مرتبط با درصد چربی شیر در موقعیت ۵/۱۲ سانتی مورگان (Kuhn *et al.*, 2004) و همچنین نشانگر BM1508 مرتبط با درصد چربی شیر در موقعیت ۱۷/۸ سانتی مورگان ($P < 0.0005$) (Hyne *et al.*, 1999) و ($P < 0.011$) (Biochard *et al.*, 2003) مطابقت دارد. نشانگر ILSTS039 در موقعیت صفر سانتی مورگان از کروموزوم ۱۴ ($P < 0.00002$) موثر بر صفت درصد چربی گزارش شد (Hyne *et al.*, 1999). QTL تولید چربی بین دو نشانگر ILSTS039 در موقعیت صفر سانتی مورگان و نشانگر BM1508 در موقعیت ۱۷/۸ سانتی مورگان، ($P < 0.0001$) گزارش گردید (Winter *et al.*, 1998)، همچنین در فاصله بین دو نشانگر ILSTS039 و CSSM066 در موقعیت ۵ سانتی مورگان در سطح ($P < 0.001$) (Thaller *et al.*, 2003)، در سطح ($P < 0.0001$) (Kuhn *et al.*, 2004)، QTL تولید چربی گزارش شد، این موقعیت در سطح ($P < 0.01$) توسط (Looft *et al.*, 2001) نیز شناسایی شد و نتایج ۱۴۰ کیلوگرم تولید شیر، ۵/۰۲- کیلوگرم تولید چربی و ۲/۵۸ کیلوگرم تولید پروتئین برای ۱۰۰ روز شیردهی را گزارش کردند.

مانده که کمک در شناسایی آن قسمت از نواحی کروموزومی که بیشترین احتمال وجود QTL است، بررسی شد (جدول ۴). آستانه معنی داری ($P < 0.05$) برای صفت درصد چربی شیر، فواصل ۳ تا ۲۰ و همچنین ۳۶ تا ۵۰ سانتی مورگان، و محتمل ترین نقطه برای QTL این صفت، موقعیت سه سانتی مورگان شناسایی شد (شکل ۱). آستانه معنی داری ($P < 0.05$) برای صفت تولید شیر، فاصله ۲۰ تا ۶۰ سانتی مورگان و محتمل ترین نقطه برای QTL این صفت، موقعیت ۵۴ سانتی مورگان شناسایی شد (شکل ۲). آستانه معنی داری ($P < 0.05$) برای صفت تولید چربی شیر فاصله ۵۴ تا ۶۰ سانتی مورگان و محتمل ترین نقطه برای این صفت موقعیت ۵۴ سانتی مورگان شناسایی شد (شکل ۳ و ۴). بیشتر تحقیقات انجام شده بر روی کروموزوم ۱۴، گزارش از وجود QTL موثر بر درصد چربی شیر و تولید چربی و تعداد اندکی هم بر تولید شیر بوده است، بطوریکه بیشترین گزارشات مبنی بر صفت تولید شیر متعلق به کروموزوم های ۲۰، ۹، ۳ و ۱ و کمترین گزارش متعلق به کروموزوم های ۵، ۷، ۱۰، ۱۲، ۱۴، ۱۷، ۱۸، ۲۱، ۲۳، ۲۷ و ۲۹ بوده است (Khatkar *et al.*, 2004). در تحقیق حاضر احتمال وجود یک یا چند QTL در موقعیت های ۳، ۵۴ و ۵۴ بر روی کروموزوم ۱۴ با اثرات معنی داری به ترتیب بر صفت درصد چربی شیر، تولید شیر و تولید چربی شیر است، با توجه به نشانگرهای قرار



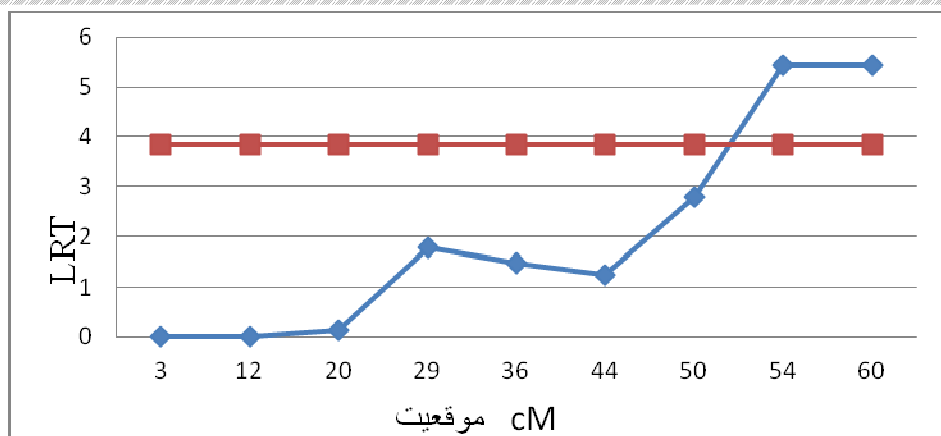
شکل ۱- آستانه معنی داری در سطح ۵ درصد و محتمل ترین نقطه برای جایگاه صفت کمی درصد چربی شیر.

Figure 1- Significant Threshold ($\alpha = 5\%$) and the most likely point of QTL for milk fat Percentage.



شکل ۲- آستانه معنی داری در سطح ۵ درصد و محتمل ترین نقطه برای جایگاه صفت کمی تولید شیر.

Figure 2- Significant Threshold ($\alpha = 5\%$) and the most likely point of QTL for milk production.



شکل ۳- آستانه معنی داری در سطح ۵ درصد و محتمل ترین نقطه برای جایگاه صفت کمی تولید چربی شیر.

Figure 3- Significant Threshold ($\alpha = 5\%$) and the most likely point of QTL for milk Fat production

جدول ۳- صفات مورد بررسی و نشانگرهای قرار گرفته در موقعیت های معنی دار شده QTL.

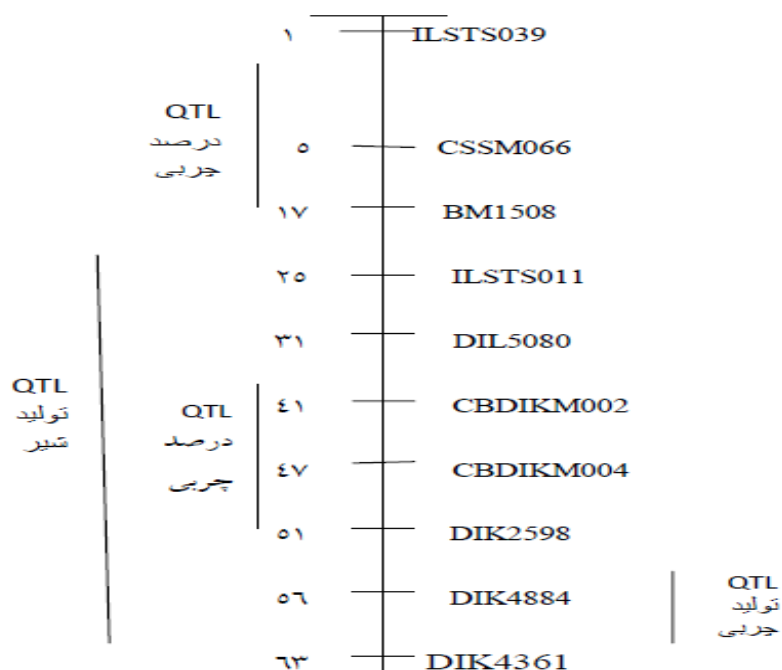
Table 3- Traits and markers placed in position by significant QTL.

| Marker نشانگر | Trait صفت |
|--|------------------------------|
| BM1508(17/8), CSSM066(5/12), CBDIKM002(41/7), CBDIKM004(47/1) | درصد چربی Fat Percentage |
| DIK4884(56/01) | تولید چربی Fat production |
| DIK4884(56/01), ILSTS011(25/7), DIK5080(31/2), CBDIKM002(41/7), CBDIKM004(47/1) | تولید شیر Milk production |

جدول ۴- سه مولفه واریانس (QTL، پلی ژنیک و باقی مانده) تخمین زده شده در آستانه معنی داری ($\alpha = 5\%$)

Table 4- Variance components (QTL, polygenic and error) the estimated threshold was significant ($\alpha = 5\%$).

| واریانس باقی مانده Variance error | واریانس پلی ژنیک Variance Polygenic | واریانس QTL Variance QTL | موقعیت Position(cM) | صفت Trait |
|--------------------------------------|--|-----------------------------|------------------------|---------------------------------|
| 0/234225 | 0/238908 | 0/960819 | 3 | درصد چربی شیر Fat Percentage |
| 182087 | 0/413069 | 53077/6 | 54 | تولید شیر Fat production |
| 231/881 | 6/51144 | 50/9718 | 54 | تولید چربی شیر |



شکل ۴- آستانه های معنی داری برای جایگاه های صفات کمی درصد چربی شیر، تولید شیر و تولید چربی شیر بر کروموزوم ۱۴.

Figure 4- Significant Threshold ($\alpha = 5\%$) for QTL of milk fat Percentage, milk Production and fat production on chromosome 14.

در جمعیت نرهای هتروزیگوت هلشتاین فریزین آلمان و برای نرهای هموزیگوت این جمعیت مقدار ۰/۲۸ درصد گزارش شد (Kuhn *et al.*, 2004). در صورت مکان یابی دقیق تر این QTL یا QTL های دیگر، امکان استفاده از آن ها در برنامه های انتخاب به کمک نشانگر وجود دارد.

سپاسگزاری

از ریاست محترم پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه شمال کشور (ABRIIN) و نیز سایر اعضای هیات علمی آن پژوهشکده

با استفاده از روش انتخاب به کمک ژن محققان مورد اشاره با استفاده از نشانگرهای موجود بر کروموزوم ۱۴ افزایشی را برای صفت تولید چربی، مقدار ۰/۳۵ درصد (Roos *et al.*, 2007)، مقدار 0.17 ± 0.012 درصد در جمعیت هلشتاین فریزین دانمارکی (Grisart *et al.*, 2002)، مقدار ۰/۲۸ درصد در جمعیت هلشتاین فریزین آلمانی و مقدار ۰/۳۵ درصد در جمعیت Flegckvieh (Thaller *et al.*, 2003)، میزان ۰/۲۶ درصد در جمعیت هلشتاین فریزین آلمان (Bennewitz *et al.*, 2004) و مقدار ۰/۳۴ درصد

گروه علوم دامی دانشگاه تبریز و کارشناسان آزمایشگاه ژنومیکس و سایر عزیزان بخاطر همکاری صمیمانه شان در اجرای این تحقیق صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

وهمچنین آقایان دکتر محسن مردی، دکتر مسعود توحید فر، دکتر فرجاد رفیعی و مهندس رامین صیقلانی و همچنین دکتر علی اسماعیلی زاده عضو هیئت علمی گروه علوم دامی دانشگاه کرمان و دکتر صادق علیجانی عضو هیئت علمی

منابع

- Ashwell MS, Rexroad CE, Miller RH, VanRaden PM, Da Y (1997). Detection of loci affecting milk production and health traits in an elite U S Holstein population using microsatellite markers. *Journal of Animal Genetics* 28: 216–222.
- Ashwell MS, Van Tassell CP, Sonstegard TS (2002). A Genome scan to identify quantitative trait loci affecting economically important traits in a U S Holstein population. *Journal of Dairy Science* 84: 2535–2542.
- Ashwell MS, Heyen DW, Sonstegard TS, Van Tassell CP, Da YP, VanRaden M, Weller M (2004). Detection of quantitative trait loci affecting milk production, health, and reproductive traits in Holstein cattle. *Journal of Dairy Science* 87:468–475.
- Bagnato a, Schiavini F, Rossoni A, Maltecca C, Medugorac MI, Solkner J, Russo V, Fontanesi L, Friedmann A, Soller M, Lipkin E (2008). Quantitative trait loci affecting milk yield and protein percentage in a three-country brown swiss population. *Journal of Dairy Science* 91:767–783.
- Bennewitz J, Reinsch N, Grohs C (2003). Combined analysis of data from two granddaughter designs: A simple strategy for qtl confirmation and increasing experimental power in dairy cattle. *Journal of Genetics Selection Evolution* 35: 319-338.
- Bennewitz J, Reinsch N, Paul S, Looft C, Kaupe B, Weimann C, Erhardt G, Thaller G, Kuhn C, Schwerin M, Thomsen H, Reinhardt F, Reents R, Kalm E (2004). The DGAT1 K232A mutation is not solely responsible for the milk production quantitative trait locus on the bovine chromosome 14. *Journal of Dairy Science* 87: 431–442.
- Biochard D, Grohs C, Bourgeois F, Cerqueira F, Faugeras R, Neau A, Rupp R, Amigues Y, Yvonne Boscher M, Leveziel H (2003). Detection of genes in economic traits in three French dairy cattle breeds. *Journal of Genetics Selection* 35: 77-101.
- Grisart B, Farnir F, Karim L, Cambisano N, Kim JJ, Kvasz A, Mni M, Simon P, Frere JM, Coppieters W, Georges M (2004). Genetic and functional confirmation of the causality of the DGAT1 K232A quantitative trait nucleotide in affecting milk yield and composition. *Proceeding of Nationall Academic Science USA* 101: 2398–2403.
- Harder B, Bennewitz J, Reinsch N (2006). Mapping of quantitative trait loci for lactation persistency traits in German Holstein dairy cattle. *Journal of Animal Breeding Genetics* 123:89-96.
- Heyen DW, Weller JI, Ron M, Band M, Beaver JE, Feldmesser E, Da Y, Wiggans GR, Vanraden PM, Lewin HA (1999). A genome scan for gtl influencing milk production and health traits in dairy cattle. *Journal of Physiological Genomics* 1: 65–175.
- Kaupe B, Brandt H, Prinzenberg E, Erhardt G (2007). Joint analysis of the influence of CYP11B1 and DGAT1 genetic variation on milk production, somatic cell score,

- conformation, reproduction, and productive lifespan in German Holstein cattle. *Journal of Animal Science* 85: 11-21.
- Khatkar M, Thomson C, Tammen I, Raadsma HW (2004). Quantitative trait loci mapping in dairy cattle: review and meta-analysis. *Journal of Genetics Selection and Evolution* 163-190.
- Looft C, Reinsch N, Karall-Albrecht C, Paul S, Brink M, Thomsen H, Brockmann G, Kuhn C, Schwerin M, Kalm E (2001). A mammary gland EST showing linkage disequilibrium to a milk production qtl on bovine chromosome 14. *Journal of Mammalian Genome* 12: 646-650.
- Madsen P, Jensen J (2002). A User's Guide to DMU. A package for analysing multivariate mixed models. version 6, release 4.4. Danish Institute of Agricultural Sciences, Tjele, Denmark.
- Mosig MO, Lipkin E, Khutoreskaya G, Tchourzyna E, Soller M, Friedmann AA (2001). Whole genome scan for quantitative trait loci affecting milk protein percentage in Israeli-Holstein cattle, by means of selective milk DNA pooling in a daughter design, using an adjusted false discovery rate criterion. *Journal of Genetics* 157: 1683-1698.
- Rodriguez-Zas SL, Southey BR, Heyen DW, Lewin HA (2002). Interval and composite interval mapping of somatic cell score, yield and components of milk in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 85: 3081-3091.
- Spelman RJ, Ford CA, McElhinney P, Gregory GC, Snell RG (2002). Characterization of the DGAT1 gene in the New Zealand dairy population. *Journal of Dairy Science* 85: 3514-3517.
- Tito AW, Gaskins TC, Newberry RC, Thorgaard GH, Jennifer JM, Zhihua J (2008). Genome assembly anchored QTL map of bovine chromosome 14. *Journal of Biological Science* 4: 406-414.
- Thaller G, Kramer W, Winter A, Kaupe B, Erhardt G, Fries R (2003). Effects of DGAT1 variants on milk production traits in German cattle breeds. *Journal of Animal Science* 81: 1911-1918.
- Viitala SM, Schulman NF, de Koning DJ, Elo K, Kinoshita R, Virta A, Virta J, Maki-Tanila A, Vilkki JH (2003). Quantitative trait loci affecting milk production traits in Finnish Ayrshire dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 86:1828-1836.
- Vinicius M, Silva B, Sonstegard TS, Tassell V (2010). Characterization of DGAT1 allelic effects in a sample of North American Holstein cattle. *Journal of Animal Biotechnology* 21: 88-99.
- Zhang Q, Boichard D, Hoeschele I, Ernst C, Eggen A, Murkve B, Pfisterenski M, Witte LA, Grignola FE, Uimari P, Thaller G, Bishop MD (1998). Mapping quantitative trait loci for milk production and health of dairy cattle in a large outbred pedigree. *Journal of Genetics* 149:1959-1973.

QTL Detection of milk, fat yield and percentage on chromosome 14 in Iranian Holstein cattle population using microsatellite markers.

Noorisadegh M.*¹, Eskandary nasab M.², Osfoori R.³, Ansarymahyary S.⁴, Harkynejad M.T.²

¹ Animal Sciences Dept, College of Agriculture, Zanzan University, Iran, Zanzan.

²Animal Science Dept, College of Agriculture, Zanzan University, Iran.

³ Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Karaj, Iran.

⁴Animal Science Dept., College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Iran.

Abstract

This study was carried out to detect QTLs affecting milk production traits in Iranian Holstein population using 10 microsatellite markers including: ILSTS039, CSSM066, ILSTS011, CBDIKM002, CBDIKM004, DIK5080, DIK4884, DIK4361, DIK258 and BM1508. Samples were collected from 10 sire families including 233 milking cows from dairy farms of ten provinces in Iran (Isfahan, Central province, Khorasan, Fars, Yazd, Qazvin and Zanzan). Genomic DNA extracted using standard kit. Genotyping of the samples was performed with capillary electrophoresis. Genotypic and phenotypic data were statistically analysed using DMU software. Most probable places for detecting QTL in which LRT was meaningful at 5% for milk fat percentage were observed at 3 cM, for milk production at 54 cM and also QTL of milk fat production was detected in the position 54 cM on chromosome 14.

Key words: *chromosome 14, milk fat percentage, Iranian Holstein cattle*

* Corresponding Author: Noorisadegh M.

Tel: 09191461542

E-mail: mnoorysadegh@yahoo.com