



Genome-Wide association study of Rumen Volatile fatty acid ratios in Holstein cattle

Fatemeh Esmaeili Lima¹ | Mohammad Moradi Shahrabak² |
Hossain Moradi Shahrabak³ | Ali Jalil Sarghale⁴

1. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: fatemeh.lima@ut.ac.ir
2. Corresponding Author, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: moradim@ut.ac.ir
3. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: hmoradis@ut.ac.ir
4. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, City Karaj, Country Iran. E-mail: ali_jalil17@ut.ac.ir

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research Article Article history: Received 13 March 2025 Received in revised form 21 December 2025 Accepted 22 December 2025 Published online 20 January 2026 Keywords: Genetic selection Genome-wide analysis study Holstein cattle Methane emissions	Objective: Methane is a greenhouse gas that has a global warming potential of 27.2 times than of carbon dioxide. The ruminant gut produces methane through a strong fermentation process, making methane a potent greenhouse gas. This research sought to identify genomic regions associated with methane emission in Holstein dairy cattle using a genome-wide association method and volatile fatty acid (VFA) ratios of acetate to propionate and propionate to butyrate. Methods: Samples of Hair and rumen fluid (via an esophageal tube) were collected from 150 animals that were selected from an industrial Holstein dairy cattle herd based on the breeding values (EBV) of the bidirectional milk yield trait, using related standards for sampling. After measuring the concentration of volatile fatty acids (VFAs) in rumen fluid, we measured the concentration of these acids to determine methane emission for each animal. Hair cards samples were sent to the Gene Seek company (country of America), and the DNA samples were genotyped using SNP panel of GGP-LD v4' (30,108 SNPs). Genotyping results were quality controlled using Plink2.0 software. A total of 29888 SNPs were estimated and after quality control 5723 of them were culled due to quality control criteria. GWAS Analysis: Genomic regions associated with methane emission were identified by GWAS, and least squared analysis of variance with proc GLM (Generalized linear model) in SAS (2002-v 9.1) software was used to identify significant fixed effect factors related to methane emission. The relationship between genotypes and methane emission traits was analyzed by a mixed linear model in Plink (19) software. Results: The least square analysis variance ($P < 0.05$) for predicted methane emission trait was significant for effect of age and barnyard. Five and two SNPs were found to be significant for acetate to propionate and propionate to butyrate traits, respectively, which were located on chromosomes 3, 28 and 10, 11, respectively. Some of these SNPs were located close to the QTLs identified using annotation for methane emission, body weight, milk production traits, and remaining lactation period. Conclusion: Results of this research demonstrate that genetic selection may be an effective way to reduce methane emissions per animal, because the improvement achieved through genetic selection is both heritable, accumulative, and permanent.

Cite this article: Esmaeili Lima, F., Moradi Shahrabak, M., Moradi Shahrabak, H., & Jalil Sarghale, A. (2026). Genome-Wide association study of Rumen Volatile fatty acid ratios in Holstein cattle. *Journal of Animal Production*, 27 (4), 365-375. DOI: <https://doi.org/10.22059/jap.2025.392025.623839>





شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با صفات نسبت اسیدهای چرب فرار شکمبه‌ای در گاوهای هلشتاین با استفاده از پویش کل ژنومی

فاطمه اسماعیلی لیما^۱ | محمد مرادی شهراباک^۲ | حسین مرادی شهراباک^۳ | علی جلیل سرقلعه^۴

۱. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: fatemeh.lima@ut.ac.ir
۲. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: moradim@ut.ac.ir
۳. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: [honoradis@ut.ac.ir](mailto:hmoradis@ut.ac.ir)
۴. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: ali_jali17@ut.ac.ir

چکیده

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

هدف: متان یک گاز گلخانه‌ای قدرتمند است که پتانسیل گرمایش جهانی آن ۲۷/۲ برابر بیش‌تر از دی‌اکسیدکربن است. فرایند تخمیر در روده نشخوارکنندگان منجر به تولید گاز گلخانه‌ای قوی متان می‌شود. این پژوهش با هدف شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با انتشار متان در نسبت‌های اسیدهای چرب فرار استات به پروپیونات و پروپیونات به بوتیرات در گاو هلشتاین با استفاده از روش پویش کل ژنومی انجام شد.

روش پژوهش: نمونه‌های مو و مایع شکمبه (از طریق لوله مری) از ۱۵۰ راس حیوان انتخاب‌شده براساس روش ارزش‌های اصلاحی صفت تولید شیر دوطرفه در یک گله پرورش گاو شیری صنعتی و مطابق با استانداردهای مربوطه نمونه‌گیری شد. بعد از اندازه‌گیری غلظت اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه، انتشار متان به‌ازای هر حیوان با استفاده از این اسیدها اندازه‌گیری شد. کارت مو ۱۵۰ حیوان جهت ژنوتایپینگ برای شرکت GeneSeek در کشور آمریکا فرستاده شده بود و این نمونه‌ها با GGP-LD v4 SNP panel (حاوی 108'30 SNPs) ژنوتایپ شده بودند. جهت کنترل کیفیت ژنوتایپینگ از نرم‌افزار PLINK 2.0 استفاده شده بود. کل SNPهای برآوردشده ۲۹۵۵۸ بود و بعد از کنترل کیفیت به تعداد ۵۷۲۳ SNPها حذف شدند آنالیز GWAS برای شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با انتشار متان: جهت شناسایی عوامل ثابت مؤثر بر صفت انتشار متان در GWAS، داده‌ها با استفاده از تجزیه واریانس حداقل مربعات با استفاده از رویه (GLM= Generalized linear model) در نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ مورد آنالیز قرار گرفتند (SASS, 2002). آنالیز ارتباط بین ژنوتایپ‌ها و صفت انتشار متان با استفاده از یک مدل خطی مختلط در نرم‌افزار plink (۱۹) انجام شد.

یافته‌ها: براساس، آنالیز تجزیه واریانس حداقل مربعات با استفاده از رویه GLM اثر بهاریند و سن حیوان برای صفت انتشار متان پیش‌بینی شده معنی‌دار بود ($P < 0.05$). برای صفات نسبت استات به پروپیونات و نسبت پروپیونات به بوتیرات به ترتیب پنج و دو اسنپ معنی‌دار مشخص گردید که SNPهای در ارتباط با صفت استات به پروپیونات در کروموزوم‌های ۳، ۲۸ و SNPهای در ارتباط با صفت نسبت پروپیونات به بوتیرات در کروموزوم‌های ۱۱ و ۱۰ شناسایی گردید. با استفاده از Annotating، یکسری QTLهای مرتبط با انتشار متان، وزن بدن، دوره شیردهی و شیر تولیدی و ترکیب‌های آن اطراف بعضی از این SNPها نشان داده شد.

نتیجه‌گیری: این نتایج نشان‌دهنده پتانسیل انتخاب ژنتیکی برای کاهش انتشار متان به‌ازای هر حیوان را نشان می‌دهد، به‌طوری‌که بهبود حاصل از انتخاب ژنتیکی به‌دلیل توارث‌پذیری، تجمعی و دائمی‌بودن بسیار مفید می‌باشد.

کلیدواژه‌ها:

انتشار متان
مطالعه پویش کل ژنومی
گاو هلشتاین
انتخاب ژنتیکی

استناد: اسماعیلی لیما، فاطمه؛ مرادی شهراباک، محمد؛ مرادی شهراباک، حسین و جلیل سرقلعه، علی (۱۴۰۴). شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با صفات نسبت اسیدهای چرب فرار شکمبه‌ای در گاوهای هلشتاین با استفاده از پویش کل ژنومی. *نشریه تولیدات دامی*، ۲۷ (۴)، ۳۶۵-۳۷۵.
DOI: <https://doi.org/10.22059/jap.2025.392025.623839>



۱. مقدمه

نشخوارکنندگانی مانند گاوهای شیری، به دلیل توانایی منحصربه‌فردشان در استفاده از مواد گیاهی دارای فیبر بالا از طریق فرایند تخمیر میکروبی در شکمبه، نقش مهمی در تولید پروتئین حیوانی ایفا می‌کنند (Tseten et al., 2022). طی این فرایند، ترکیبات متابولیکی مختلفی از جمله گازها و اسیدهای چرب فرار (VFAs=Volatile Fatty Acids) تولید می‌شوند که استات، پروپیونات و بوتیرات از جمله مهم‌ترین و فراوان‌ترین آن‌ها هستند (Sosa et al., 2007). این اسیدهای چرب نه تنها به عنوان منبع اصلی انرژی برای حیوان عمل می‌کنند، بلکه نسبت‌های میان آن‌ها شاخصی از وضعیت تخمیر شکمبه و سلامت میکروبیوم به شمار می‌آیند (Mohammed et al., 2011). به طور خاص، نسبت استات به پروپیونات به عنوان نمایه‌ای از مسیر غالب تخمیر در شکمبه شناخته شده و با کارایی تولیدی، سنتر لاکتوز و چربی شیر و همچنین میزان تولید متان مرتبط است (Miettinen & Huhtanen, 1996). استات معمولاً با تخمیر فیبر همراه است و سطوح بالای آن می‌تواند باعث افزایش تولید هیدروژن و در نتیجه متان شود، درحالی‌که پروپیونات به عنوان گیرنده هیدروژن عمل کرده و با کاهش انتشار متان در ارتباط است (Ren et al., 2003).

با توجه به نقش مهم دام در انتشار گازهای گلخانه‌ای، تولید متان در نشخوارکنندگان به یک نگرانی جهانی در زمینه تغییرات اقلیمی تبدیل شده است. براساس گزارش‌های سازمان خواروبار و کشاورزی ملل متحد (FAO)، دام‌ها سهم قابل توجهی در انتشار گازهای گلخانه‌ای دارند و متان به دلیل پتانسیل گرمایش جهانی حدود ۲۷ برابر بیش‌تر از دی‌اکسیدکربن، یکی از اصلی‌ترین گازهای تولیدی است (York et al., 2018; Opio et al., 2013). از این‌رو، در سال‌های اخیر، راه‌کارهای مختلفی برای کاهش تولید متان در دام موردتوجه قرار گرفته‌اند که شامل بهبود جیره غذایی، استفاده از افزودنی‌های خوراکی، واکسیناسیون علیه متانوژن‌ها و همچنین اصلاح نژادی از طریق انتخاب ژنتیکی می‌باشند (Wall et al., 2010; Pszczola et al., 2018).

مطالعات ژنتیکی اخیر نشان داده‌اند که اگرچه صفات مرتبط با تولید متان تا حد زیادی تحت تأثیر عوامل محیطی هستند، اما مؤلفه ژنتیکی آن‌ها نیز قابل توجه است. به عنوان مثال، وراثت‌پذیری انتشار متان در گاوهای شیری حدود ۰/۳۰ گزارش شده است (Pinares-Patiño et al., 2013). همچنین، مطالعات متعددی در ایران و سایر کشورها با استفاده از GWAS نشانگرهای ژنتیکی مرتبط با متان و ترکیب شیر را شناسایی کرده‌اند. با این حال، تمرکز اکثر این پژوهش‌ها بر مقادیر مطلق تولید متان یا غلظت VFAs بوده است و نسبت‌های آن‌ها که بازتاب دقیق‌تری از مسیرهای زیستی شکمبه هستند، کمتر موردتوجه قرار گرفته‌اند (Jalil Sarghale et al., 2018; Calderón-Chagoya et al., 2019). این در حالی است که نسبت‌های VFAs می‌توانند به عنوان صفاتی میانجی میان فعالیت میکروبی شکمبه و متابولیسم میزبان عمل کرده و چون بر تولید متان، بهره‌وری خوراک و ترکیب شیر اثر می‌گذارند، بررسی ژنتیکی آن‌ها می‌تواند رویکردی نوین در جهت انتخاب غیرمستقیم برای کاهش تولید متان و بهبود بهره‌وری تولیدی فراهم آورد (Lassen & Difford, 2020). در واقع، انتخاب ژنتیکی براساس صفاتی نظیر نسبت استات به پروپیونات یا پروپیونات به بوتیرات، می‌تواند به بهبود ساختار میکروبی شکمبه و کاهش اتلاف انرژی از طریق گازهای شکمبه‌ای منجر شود (Løvendahl et al., 2018). یکی از ابزارهای کلیدی برای شناسایی این ژن‌های کاندید و SNP‌های مرتبط با صفات اقتصادی، مطالعات ارتباطی کل ژنوم (GWAS) است (Pearson & Manolio, 2008).

با توجه به اهمیت بیولوژیکی و اقتصادی این نسبت‌ها و نیز کمبود اطلاعات ژنتیکی مرتبط با آن‌ها، به‌ویژه در ارتباط با تولید متان، مطالعه حاضر با هدف شناسایی نواحی ژنومی مؤثر بر نسبت‌های اسیدهای چرب فرار در گاوهای هلشتاین طراحی شده است. در این پژوهش با استفاده از داده‌های فنوتیپی مربوط به نسبت‌های استات به پروپیونات و پروپیونات به بوتیرات و تحلیل‌های GWAS مبتنی بر ژنوم کامل، تلاش شده است تا ارتباط‌های ژنتیکی میان این صفات و

نشانگرهای ژنومی شناسایی گردد. یافته‌های این پژوهش می‌توانند درک بهتری از پایه ژنتیکی کنترل این نسبت‌ها فراهم کرده و زمینه را برای استفاده از آن‌ها در برنامه‌های انتخاب ژنومی با هدف کاهش تولید متان و ارتقای کارایی متابولیکی گاوهای شیری فراهم سازند.

۲. روش پژوهش

گاوها در یکی از شرکت‌های کشاورزی و دامپروری فردوس پارس براساس ارزش اصلاحی صفت تولید شیر از بزرگ به کوچک مرتب شدند و ۱۴۰ راس گاو ماده برای نمونه‌گیری انتخاب شدند. این ۱۴۰ حیوان به دو زیر جمعیت ۷۰ راسی تقسیم شدند که یک زیرجمعیت دارای بیش‌ترین ارزش اصلاحی و زیر جمعیت دیگر دارای کم‌ترین ارزش اصلاحی برای صفت تولید شیر بود. این داده‌ها توسط جلیل سرقله و همکاران (۲۰۲۱) جمع‌آوری شده است. مایع شکمبه از طریق لوله مری گرفته شد و همچنین نمونه‌های مو براساس پروتکل شرکت GeneSeek انجام شد 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 استخراج DNA وجود داشته باشد (Jalil Sarghale et al., 2021). ویژگی آماری صفات نسبت استات به پروپیونات یا پروپیونات به بوتیرات، در کل جمعیت در جدول (۱) قرار گرفته است. ارزش اصلاحی صفت تولید شیر برای این گاوها توسط مرکز اصلاح نژاد و بهبود تولیدات دامی کشور از طریق رابطه (۱) برآورد شد.

$$y_{ij} = \mu + hys_i + a_{ij} + e_{ij} \quad \text{رابطه (۱)}$$

در این معادله، y_{ij} ، تولید شیر (برای ۳۰۵ روز و دوبار دوشش تصحیح‌شده)؛ μ ، میانگین جمعیت؛ hys_i ، اثر گله-سال-فصل زایش؛ a_{ij} ، ارزش اصلاحی دام زام در گله-سال-فصل زایش i ام و e_{ij} اثر باقیمانده است.

جدول ۱. ویژگی آماری صفات نسبت استات به پروپیونات یا پروپیونات به بوتیرات

صفت	میانگین	حداقل	حداکثر	انحراف معیار	ضریب تغییرات
نسبت استات به پروپیونات	۲/۴۳	۱/۵۶	۳/۵۱	۰/۳۸	۰/۱۵
پروپیونات به بوتیرات	۱/۳۹	۱/۰۴	۲/۲	۰/۱۹	۰/۱۳

اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه از طریق روش ارائه‌شده توسط Ottenstein و همکاران (۱۹۷۱) اندازه‌گیری شد. 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 شیشه‌ای (دو متر $\times$ ۴۵ میلی‌متر) Philips مدل PU4410 بارگذاری شدند.

کارت مو ۱۴۰ حیوان جهت ژنوتایپینگ برای شرکت GeneSeek در کشور آمریکا فرستاده شده بود و این نمونه‌ها با GGP-LD v4 SNP panel (حاوی ۳۰,۱۰۸ SNPs) ژنوتایپ شده بودند. جهت کنترل کیفیت ژنوتایپینگ از چهار معیار زیر در نرم‌افزار PLINK 2.0 استفاده شد (Wolin, 1960):

۱. Animal call rate: در این معیار حیوانات با بیش از پنج درصد ژنوتایپ از دست رفته حذف شد.

۲. فراوانی آلل حداقل (allele Minor = MAF frequency): SNPs‌های با MAF کمتر از یک درصد حذف شد.

۳. SNP call rate: SNPs‌هایی که برای بیش از پنج درصد حیوانات ژنوتایپ نشده، حذف شد.

۴. تعادل هاردی واینبرگ: جایگاه‌های که P-Value آزمون کای اسکور آن کمتر از 10^{-6} بود حذف شد.

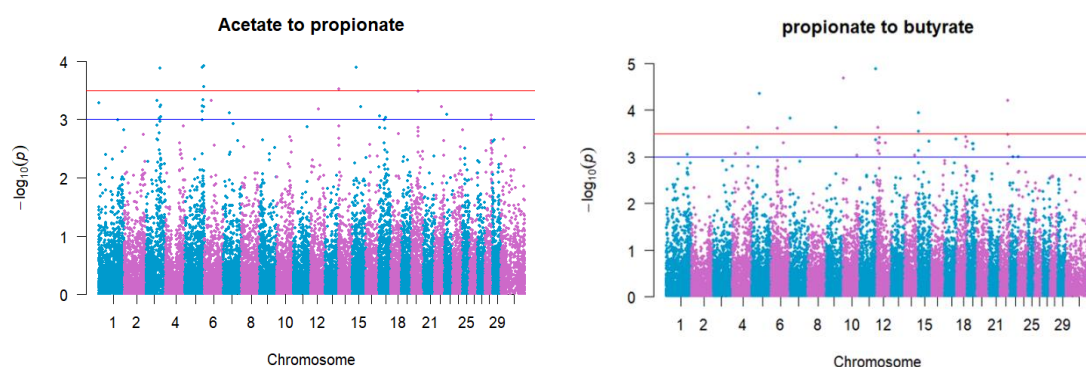
۱.۲. آنالیز GWAS برای شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با صفات نسبت‌های اسیدهای چرب فرار

جهت شناسایی عوامل ثابت مؤثر بر صفات نسبت‌های اسیدهای چرب فرار در GWAS، داده‌ها با استفاده از تجزیه واریانس حداقل مربعات با استفاده از رویه (GLM= Generalized linear model) در نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) مورد آنالیز قرار گرفتند. (SAS, 2002). آنالیز ارتباط بین ژنوتیپ‌ها و صفات نسبت‌های اسیدهای چرب فرار استات به پروپیونات و پروپیونات به بوتیرات با استفاده از یک مدل خطی مختلط در نرم‌افزار PLINK 2.0 انجام شد (Moradi et al., 2012). برای شناسایی QTL‌های اطراف SNP معنی‌دار، از پایگاه داده QTL‌های گاو (QTLdb) در آدرس <https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/BT/index> استفاده شد.

به‌منظور شناسایی QTL‌های اطراف هر SNP معنی‌دار (براساس آستانه تصحیح Bonferroni به‌ازای هر کروموزوم)، ناحیه‌ای به طول یک مگاباز ۵۰۰ (کیلوباز بالا و ۵۰۰ کیلوباز پایین) SNP به‌عنوان محدوده جستجوی QTL‌های گزارش‌شده در نظر گرفته شد. QTL‌هایی که در این نواحی یافت شدند، با توجه به صفاتی که در پایگاه داده QTLdb به آن‌ها منتسب شده بودند، استخراج و برای تحلیل و تفسیر ارتباطات زیستی و فیزیولوژیکی بین SNP‌ها و صفات هدف بررسی شدند. این روند به شناسایی ژن‌ها یا QTL‌های مشترک با صفات تولیدی، تولیدمثلی، متابولیکی و سایر ویژگی‌های مرتبط کمک کرد.

۲.۲. یافته‌های پژوهش

براساس نتایج، اثر بهاریند و سن حیوان بر نسبت‌های اسیدهای چرب فرار استات به پروپیونات و پروپیونات به بوتیرات معنی‌دار بود ($P < 0.05$). کل SNP‌های ژنوتایپ‌شده ۲۹۵۵۸ بود که بعد از کنترل کیفیت آن‌ها براساس معیارهای مذکور در بخش مواد و روش‌ها، ۲۳۸۳۵ SNPs، دارای کیفیت مناسب برای آنالیز GWAS را داشتند. نتایج GWAS نسبت‌های اسیدهای چرب فرار استات به پروپیونات و پروپیونات به بوتیرات در نمودار منتهن در شکل (۱) نشان داده شده است. براساس خط آبی‌رنگ افقی نشان‌دهنده آستانه ارتباط پیشنهادی ($P < 10^{-3}$)، در صفت نسبت استات به پروپیونات تعداد ۳۳ SNP و در صفت پروپیونات به بوتیرات تعداد ۲۷ SNP از این آستانه عبور کرده‌اند. همچنین، براساس معیار آستانه تصحیح بنفرونی برای کل ژنوم، هفت SNP معنادار شناسایی شدند.



شکل ۱. نتایج GWAS نسبت‌های اسیدهای چرب فرار استات به پروپیونات و پروپیونات به بوتیرات در نمودار منتهن

در جدول (۲) صفت نسبت استات به پروپیونات و پروپیونات به بوتیرات آورده شده است، که به تربیت دارای پنج و دو اسنپ معنی‌دار هستند. در صفت نسبت استات به پروپیونات اسنپ‌ها بر روی کروموزوم‌های ۳ و ۲۸ و در صفت نسبت پروپیونات به بوتیرات بر روی کروموزوم‌های ۱۱ و ۱۰ قرار دارند.

جدول ۲. SNP های شناسایی شده مرتبط با صفات نسبت استات به پروپیونات و پروپیونات به بوتیرات

صفت	کروموزوم	SNP	موقعیت (bp)	P-value
نسبت استات به پروپیونات	۳	BovineHD0300024989	۸۷۲۵۳۰۸۶	$9/66 \times 10^{-6}$
	۲۸	ARS-BFGL-NGS-11100	۳۶۹۸۶۴۴۷	$2/13 \times 10^{-5}$
	۳	Hapmap47805-BTA-101148	۸۲۶۵۳۹۹۰	$2/33 \times 10^{-5}$
	۳	BovineHD0300024976	۸۷۲۱۵۱۱۶	$3/08 \times 10^{-5}$
	۳	BovineHD0300021964	۷۵۷۰۲۱۱۹	$3/18 \times 10^{-5}$
نسبت پروپیونات به بوتیرات	۱۱	BovineHD1100028536	۹۸۰۹۴۹۶۹	$2/72 \times 10^{-5}$
	۱۰	BovineHD1000000800	۲۶۲۹۰۲۶	$4/27 \times 10^{-5}$

جدول ۳. QTL های شناسایی شده اطراف SNP های معنی دار

کروموزوم	نام SNP	صفت	نماد QTL
۳	BovineHD0300024989	"Milk butyric acid content"	MFA-C4:0
۲۸		"Milk fat percentage"	FP
۳	ARS-BFGL-NGS-11100	"Body weight"	BW
۳	Hapmap47805-BTA-101148	Methane production	METH
۳	BovineHD0300024976	"Residual feed intake"	RFI
۱۱	BovineHD0300021964	"Milk fat yield"	FY
۱۰	BovineHD1100028536	Milk butyric acid content Milk glycosylated kappa-casein percentage Milk alpha-S1-casein percentage	MFA-C4:0 MGKCASP MAS1CP MBCASP
۱۰	BovineHD1000000800	Lactation persistency Milk protein yield	LACTPER PY

۳. بحث

تنوع ژنتیکی موجود در توالی DNA حیوانات، این امکان را فراهم می کند که ارزش های اصلاحی و نواحی ژنومی مرتبط با صفات اقتصادی مهم با دقت بالاتری شناسایی و پیش بینی شوند. بر همین اساس، انتخاب به کمک نشانگر Marker-Assisted Selection یا (MAS) به طور گسترده برای شناسایی QTL های مرتبط با صفات اقتصادی در حیوانات اهلی به کار گرفته شده است (Dekkers, 2004). این پیشرفت ها زمینه ساز استفاده از انتخاب ژنومیک در صنعت دامپروری شده اند، به گونه ای که انتخاب ژنومیک امکان ارزیابی ارزش های اصلاحی حیوانات در سنین پایین تر و با تکیه بر داده های نشانگرهای DNA متراکم را فراهم می کند (Meuwissen *et al.*, 2001; Nejati-Javaremi *et al.*, 1997).

در مطالعه حاضر، با استفاده از Annotating، چندین QTL معنادار مرتبط با نسبت های اسیدهای چرب فرار شکمبه، مانند نسبت استات به پروپیونات و نسبت پروپیونات به بوتیرات، شناسایی شدند (جدول ۳). به عنوان مثال، SNP مربوط به Hapmap47805-BTA-101148 در ارتباط با QTL ای به نام METH، مرتبط با صفت انتشار متان، یافت شد. علاوه بر QTL های مرتبط با انتشار متان، نواحی ژنومی مرتبط با صفاتی مانند وزن بدن، دوره شیردهی، تولید شیر و ترکیب های آن نیز در مجاورت این SNP ها مشاهده شدند (جدول ۳). یافته های مشابهی توسط چکزولا و همکاران (۲۰۱۸) گزارش شده که نشان می دهد این نواحی ژنومی در QTL های مربوط به بازده خوراک، صفات شیر، اندازه بدن و سلامت قرار دارند. همچنین، پنج ژن کاندید (CYP51A1 در BTA 4، PPP1R16B در BTA 13 و NTHL1 و TSC2 و PKD1 در BTA 25) به عنوان ژن های مؤثر در این مناطق شناسایی شدند.

میکروب های شکمبه در طی فرایند تخمیر، شش نوع اصلی اسید چرب زنجیره کوتاه (SCFA=Short-Chain Fatty Acids) تولید می کنند که بیش از ۹۰ درصد آن ها را استات، پروپیونات و بوتیرات تشکیل می دهند (شکل ۲) (Bannink

et al., 2006). این اسیدهای چرب نقش مهمی در متابولیسم دام ایفا می‌کنند (Saleem et al., 2012). غلظت کل اسیدهای چرب فرار (VFA) در شکمبه دارای وراثت‌پذیری (h^2) حدود ۰/۲۴ و تکرارپذیری (r) برابر با ۰/۳۵ گزارش شده است. این مقادیر مشابه برای اسیدهای استات، پروپیونات و بوتیرات نیز مشاهده شده‌اند، که نشان‌دهنده تأثیر قابل‌توجه عوامل ژنتیکی بر این صفات است. همچنین، همبستگی ژنتیکی بین عملکرد تولید متان و غلظت کل VFA و به‌ویژه غلظت استات در شکمبه به‌ترتیب ۰/۵۴ و ۰/۵۶ گزارش شده است؛ این اعداد بالاتر از همبستگی‌های فنوتیپی متناظر هستند و اهمیت این صفات را در پیش‌بینی انتشار متان نشان می‌دهند. در مقابل، نسبت‌های VFA در شکمبه و خون همبستگی ژنتیکی پایین‌تری با تولید متان دارند، اما نسبت‌های فردی VFA در شکمبه همچنان همبستگی ژنتیکی متوسطی با عملکرد متان نشان می‌دهند. این امر اهمیت بررسی نسبت‌های اسیدهای چرب فرار را در ارتباط با انتشار متان برجسته می‌کند (Arjan et al., 2019).

براساس این یافته‌ها، ترکیب اسیدهای چرب شیر به‌عنوان شاخصی غیرمستقیم و قابل اتکا برای پیش‌بینی تولید متان در گاوهای شیری مطرح شده است (Dijkstra et al., 2011)، که نشان‌دهنده جایگاه کلیدی این صفات در برنامه‌های اصلاح نژاد برای کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای می‌باشد. علاوه بر این، شواهد نشان داده‌اند که غلظت VFAهای شکمبه، صفاتی وراثت‌پذیر و تکرارپذیر هستند. وراثت‌پذیری بالا و تکرارپذیری مناسب برای غلظت کل VFA و استات، همراه با همبستگی ژنتیکی قوی آن‌ها با عملکرد متان، می‌تواند ابزاری مؤثر برای شناسایی حیوانات با تولید متان بالا باشد و در برنامه‌های اصلاح نژاد مورد استفاده قرار گیرد (Arjan et al., 2019).

Name	Structure	Concentration	Roles
Acetate			- Precursor for fatty acids - Increased milk fat output - Associated with higher CH₄
Propionate			- Precursor for glucose - Increased energy deposition in body tissues - Satiates appetite - Associated with lower CH₄
Butyrate			Energy for rumen epithelium
Valerate			Stimulates growth of cellulolytic bacteria from rumen
Isobutyrate			Stimulates growth of cellulolytic bacteria from rumen
Isovalerate			Stimulates growth of cellulolytic bacteria from rumen

شکل ۲. فراوانی نسبی اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیر (SCFA) تولیدشده در شکمبه شامل استات، پروپیونات و بوتیرات که بیش از ۹۰ درصد کل SCFAها را تشکیل می‌دهند. این اسیدها نقش مهمی در متابولیسم و تولید متان دارند.

امروزه توسعه راهبردهایی برای کاهش انتشار متان روده‌ای در نشخوارکنندگان به‌دلیل نقش آن در کاهش اثرات زیست‌محیطی تولید شیر و افزایش بالقوه‌ی راندمان خوراک، اهمیت فزاینده‌ای یافته است (Van Gastelen et al., 2015). از سوی دیگر، شیر و محصولات لبنی یکی از منابع اصلی اسیدهای چرب و ترکیبات چربی خاص در رژیم غذایی انسان به‌شمار می‌روند (Van Valenberg et al., 2013).

همان‌طور که پیش‌تر اشاره شد، تخمیر میکروبی خوراک در شکمبه منجر به تولید اسیدهای چرب فرار (VFA) و هیدروژن می‌شود. هیدروژن تولیدشده توسط میکروارگانیسم‌های متانوزن مصرف شده و به متان تبدیل می‌شود (Janssen, 2010; Van Nevel & Demeyer, 1996). در این فرایند، تشکیل استات با تولید هیدروژن بیش‌تری همراه است، درحالی‌که تولید بوتیرات

هیدروژن کمتری آزاد می‌کند. از طرفی، تولید پروپیونات و والرات با مصرف خالص الکترون همراه بوده و در نتیجه موجب کاهش هیدروژن آزاد و کاهش پتانسیل تولید متان می‌شوند (Czerkowski, 2013; Janssen, 2010).

بنابراین، نسبت تولید اسیدهای چرب فرار (VFA) در شکمبه تعیین‌کننده مقدار هیدروژن باقی‌مانده است، هیدروژنی که در نهایت برای تولید متان در دسترس قرار می‌گیرد (Di, 1975; Janssen, 2010; Jonker *et al.*, 2019). در یک مطالعه، نسبت استات به پروپیونات برابر با ۴/۱۵ و نسبت ترکیبی (استات + بوتیرات) به (پروپیونات + والرات) برابر با ۴/۳۲ گزارش شد. همچنین، نسبت استات به پروپیونات بسته به ترکیب جیره غذایی می‌تواند از ۲:۱ تا ۳:۱ متغیر باشد (Penner *et al.*, 2009).

افزایش استات در شکمبه معمولاً با تخمیر فیبر مرتبط است و به‌عنوان پیش‌ساز اصلی اسیدهای چرب، باعث افزایش تولید چربی شیر در گاو می‌شود (Urrutia & Harvatine, 2017). از سوی دیگر، پروپیونات نقش مهمی در تنظیم سیری دارد، زیرا جریان آن به کبد در هنگام تغذیه افزایش می‌یابد. پروپیونات به‌طور عمده برای گلوکونوژنز استفاده شده یا در کبد اکسید می‌شود و اکسیداسیون استیل CoA - را تحریک می‌کند. اگرچه پروپیونات بیش‌تر در کبد متابولیزه می‌شود، اثر مستقیم آن بر متابولیسم نسبت به استات و گلوکز بیش‌تر است و همین موضوع می‌تواند نقش آن در القای سیری را توضیح دهد (Allen *et al.*, 2009). لاکتات نیز در کبد متابولیزه می‌شود، اما به‌دلیل زمان رسیدن طولانی‌تر به کبد و استخراج کبدی کم‌تر، تأثیر کم‌تری بر ایجاد حس سیری دارد. اکسیداسیون اسیدهای چرب در کبد نیز با تأخیر در بروز گرسنگی همراه است، اما این فرایند در طول وعده غذایی توسط پروپیونات مهار می‌شود (Allen *et al.*, 2009). افزون بر این، افزایش غلظت پروپیونات می‌تواند موجب افزایش گلوکونوژنز، کاهش خطر ابتلا به کبد چرب و کتوز گردد که به‌ویژه در دوره‌های پر تولید دام ارزشمند است (Aschenbach *et al.*, 2010).

باید گفت که در میان SCFAهای تولیدشده در شکمبه، بوتیرات به‌عنوان مهم‌ترین محرک و تنظیم‌کننده رشد و عملکرد اپیتلیوم شکمبه شناخته می‌شود (Malhi *et al.*, 2013). با این حال، تولید بیش از حد بوتیرات در شکمبه ممکن است اثرات منفی بر عملکرد آن داشته باشد، به‌ویژه زمانی که محیط شکمبه با کاهش pH (اسیدی‌شدن) مواجه شود (Świerk *et al.*, 2024).

متابولیسم بوتیرات به‌صورت گسترده‌ای در اپیتلیوم شکمبه رخ می‌دهد، به‌طوری‌که Sehested و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کردند حدود ۹۵ درصد از بوتیرات جذب‌شده از مخاط شکمبه در گاو، متابولیزه شده و ۹۴ درصد از آن به ترکیباتی غیر از CO₂ تبدیل می‌گردد (Sehested *et al.*, 1999).

طبق نتایج جدول (۲)، SNP مرتبط با نسبت پروپیونات به بوتیرات در کروموزوم ۱۱ نیز مشاهده شده است که مشابه یافته‌های چاگویا و همکاران (۲۰۲۲) می‌باشد. در آن مطالعه، چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی BovineHD1100028536 با احتمال بالاتر از ۰/۱۵ به صفات رشد مرتبط بوده و در هر دو تحلیل ژنومی (GWAS) و کروموزومی (CWAS) شناسایی شده است که با نتایج ما همخوانی دارد. بنابراین، به‌نظر می‌رسد این SNP نسبت به سایر SNPها، کاندیدای مناسبی برای صفت انتشار متان باشد (Calderón-Chagoya *et al.*, 2022). علاوه بر این، استات و بوتیرات می‌توانند در شکمبه به یکدیگر تبدیل شوند. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که حدود ۲۸ درصد استات در شکمبه به صورت مستقیم جذب نمی‌شود و در این میان، میکروارگانیسم‌ها می‌توانند از استات برای تولید بوتیرات از طریق آنزیم‌های استیل کوآ ترانسفراز و/یا بوتیریل کوآ ترانسفراز استفاده کنند (Kristensen, 2001).

یکی از دلایل عدم توجه کافی به صفت تولید متان به‌ازای هر حیوان در گذشته، دشوار و پرهزینه‌بودن اندازه‌گیری آن است، به‌گونه‌ای که انتشار متان معمولاً در واحدهای تولیدی گاو شیری ثبت نمی‌شود. بنابراین، پژوهش‌های مربوط به شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با صفت انتشار متان محدود و کم است. نتایج این پژوهش نیز مجموعه‌ای از نواحی ژنومی مرتبط با صفاتی مرتبط با انتشار متان را در گاو هلشتاین شناسایی کرد که مشابه یافته‌های مطالعات قبلی است و بیانگر

این است که با استفاده از انتخاب به کمک نشانگر و انتخاب ژنومیک می‌توان تولید متان را به‌ازای هر حیوان کاهش داد. همچنین، نتایج ما نشان داد که کاهش انتشار متان در گاو شیری با استفاده از پروفایل اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه به‌عنوان شاخصی پیش‌بینی‌کننده امکان‌پذیر است. بنابراین، با گنجاندن QTL‌های مرتبط با صفات‌های اسیدهای چرب فرار در برنامه‌های اصلاحی، انتظار می‌رود نرخ انتشار متان به‌ازای هر حیوان کاهش یابد.

۵. نتیجه‌گیری

طبق نتایج این پژوهش تعداد هفت اسنیپ معنی‌دار شناسایی شدند و QTL‌های مرتبط با انتشار متان، وزن بدن، دوره شیردهی و تولید شیر و ترکیب‌های آن در نزدیکی برخی از این اسنیپ‌ها قرار دارند. این نتیجه بیانگر آن است که برخی ژن‌ها و QTL‌ها به‌طور مشترک صفات انتشار متان، وزن بدن، تولید شیر و دوره شیردهی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. لذا با انتخاب ژنتیکی می‌توان نرخ انتشار متان به‌ازای هر حیوان را کاهش داد.

۶. ملاحظات اخلاقی

نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این پژوهش علمی رعایت نموده‌اند و این موضوع مورد تأیید همه آن‌هاست.

۷. مشارکت نویسندگان

فاطمه اسماعیلی لیما: تهیه و آماده‌سازی نمونه‌ها، انجام آزمایش و گردآوری داده‌ها، انجام محاسبات، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، تحلیل و تفسیر اطلاعات و نتایج، تهیه پیش‌نویس مقاله؛
محمد مرادی شهر بابک: استاد راهنمای پایان‌نامه، طراحی پژوهش، نظارت بر مراحل انجام پژوهش، بررسی و کنترل نتایج، اصلاح، بازبینی و نهایی‌سازی مقاله؛
حسین مرادی شهر بابک: استاد راهنمای پایان‌نامه، طراحی پژوهش، نظارت بر مراحل انجام پژوهش، بررسی و کنترل نتایج، اصلاح، بازبینی و نهایی‌سازی مقاله؛
علی جلیل سرقلعه: استاد مشاور پایان‌نامه، جمع‌آوری نمونه، مشارکت در طراحی و انجام محاسبات پژوهش، نظارت بر پژوهش، مطالعه و بازبینی مقاله.

۸. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۹. حامی مالی

پژوهش حاضر با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه تهران انجام شد.

۱۰. تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه تهران به خاطر حمایت مالی در پژوهش حاضر، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۱۱. منابع

جلیل سرقلعه، علی؛ مرادی شهربابک، حسین؛ مرادی شهربابک، محمد؛ نجاتی جوارمی، اردشیر؛ ساعتچی، مهدی و میار، یونس (۱۳۹۷). پوشش کل ژنومی برای شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با انتشارمتان درگاو بااستفاده ازتراشه K۳۰. *مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی، مجله زیست‌شناسی ایران*، ۳۴ (۱)، ۶۵-۷۶.

References

- Allen, M., Bradford, B., & Oba, M. (2009). Board-invited review: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. *Journal of animal science*, 87(10), 3317-3334. doi:10.2527/jas.2009-1779
- Aschenbach, J. R., Kristensen, N. B., Donkin, S. S., Hammon, H. M., & Penner, G. B. (2010). Gluconeogenesis in dairy cows: the secret of making sweet milk from sour dough. *IUBMB life*, 62(12), 869-877. DOI:10.1002/iub.400.
- Bannink, A., Kogut, J., Dijkstra, J., France, J., Kebreab, E., Van Vuuren, A., & Tamminga, S. (2006). Estimation of the stoichiometry of volatile fatty acid production in the rumen of lactating cows. *Journal of theoretical biology*, 238(1), 36-51. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2005.05.026>
- Calderón-Chagoya, R., Vega-Murillo, V. E., García-Ruiz, A., Ríos-Utrera, Á., Martínez-Velázquez, G., & Montaña-Bermúdez, M. (2022). Genome and chromosome wide association studies for growth traits in Simmental and Simbrah cattle. *Animal bioscience*, 36(1), 19. <https://doi.org/10.5713/ab.21.0517>
- Czerkawski, J. W. (2013). *An introduction to rumen studies*. Elsevier.
- Dekkers, J. C. (2004). Commercial application of marker-and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons. *Journal of animal science*, 82(suppl_13), E313-E328. DOI:10.2527/2004.8213_supplE313x
- Di, D. (1975). Methanogenesis, an integrated part of carbohydrate fermentation and its control. *Digestion and Metabolism in the Ruminant*.
- Dijkstra, J., Van Zijderveld, S., Apajalahti, J., Bannink, A., Gerrits, W., Newbold, J., Perdok, H., & Berends, H. (2011). Relationships between methane production and milk fatty acid profiles in dairy cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 166, 590-595. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.042>
- Halachmi, I., Børsting, C. F., Maltz, E., Edan, Y., & Weisbjerg, M. R. (2011). Feed intake of Holstein, Danish Red, and Jersey cows in automatic milking systems. *Livestock Science*, 138(1-3), 56-61. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.12.001>
- Jalil Sarghale, A., Moradi Shahrababak, H., Moradi Shahrababak, M., NejatiJavaremi, A., Saatchi, M., & Mayar, Y. (2003). Genome wide association study to identify genome region associated with methane emission in cattle using 30K panel. *Journal of Cellular and Molecular Research*, 34(1), 65-76. DOI: 20.1001.1.23832738.1400.34.1.8.5. (In Persian)
- Janssen, P. H. (2010). Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. *Animal Feed Science and Technology*, 160(1-2), 1-22. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.07.002>
- Jiménez-Montero, J. A., Gonzalez-Recio, O., & Alenda, R. (2012). Genotyping strategies for genomic selection in small dairy cattle populations. *Animal*, 6(8), 1216-1224. <https://doi.org/10.1017/S1751731112000341>
- Jonker, A., Hickey, S. M., McEwan, J. C., Rowe, S. J., Janssen, P. H., MacLean, S., Sandoval, E., Lewis, S., Kjestrup, H., & Molano, G. (2019). Genetic parameters of plasma and ruminal volatile fatty acids in sheep fed alfalfa pellets and genetic correlations with enteric methane emissions. *Journal of animal science*, 97(7), 2711-2724. <https://doi.org/10.1093/jas/skz162>
- Kristensen, N. B. (2001). Rumen microbial sequestration of [2-13C] acetate in cattle. *Journal of animal science*, 79(9), 2491-2498. <https://doi.org/10.2527/2001.7992491x>
- Malhi, M., Gui, H., Yao, L., Aschenbach, J. R., Gäbel, G., & Shen, Z. (2013). Increased papillae growth and enhanced short-chain fatty acid absorption in the rumen of goats are associated with transient increases in cyclin D1 expression after ruminal butyrate infusion. *Journal of dairy science*, 96(12), 7603-7616. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6700>
- Meuwissen, T. H., Hayes, B. J., & Goddard, M. (2001). Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *genetics*, 157(4), 1819-1829. <https://doi.org/10.1093/genetics/157.4.1819>

- Nejati-Javaremi, A., Smith, C., & Gibson, J. (1997). Effect of total allelic relationship on accuracy of evaluation and response to selection. *Journal of animal science*, 75(7), 1738-1745. <https://doi.org/10.2527/1997.7571738x>
- Ottenstein, D., & Bartley, D. (1971). Improved gas chromatography separation of free acids C2-C5 in dilute solution. *Analytical Chemistry*, 43(7), 952-955. <https://doi.org/10.1021/ac60302a043>
- Pearson, T. A., & Manolio, T. A. (2008). How to interpret a genome-wide association study. *Jama*, 299(11), 1335-1344. [doi:10.1001/jama.299.11.1335](https://doi.org/10.1001/jama.299.11.1335)
- Penner, G., Taniguchi, M., Guan, L., Beauchemin, K., & Oba, M. (2009). Effect of dietary forage to concentrate ratio on volatile fatty acid absorption and the expression of genes related to volatile fatty acid absorption and metabolism in ruminal tissue. *Journal of dairy science*, 92(6), 2767-2781. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1716>
- Saleem, F., Ametaj, B., Bouatra, S., Mandal, R., Zebeli, Q., Dunn, S., & Wishart, D. (2012). A metabolomics approach to uncover the effects of grain diets on rumen health in dairy cows. *Journal of dairy science*, 95(11), 6606-6623. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5403>
- SAS, S. (2002). 9.1 for Windows SAS Institute. Inc., Cary, North Carolina, 2004.
- Sehested, J., Diernæs, L., Møller, P. D., & Skadhauge, E. (1999). Ruminant transport and metabolism of short-chain fatty acids (SCFA) in vitro: effect of SCFA chain length and pH. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 123(4), 359-368. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(99\)00074-4](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(99)00074-4)
- Świerk, S., Przybyło, M., Flaga, J., Szczepanik, K., Bialek, W., Flieger, P., & Górka, P. (2024). Effect of butyrate sources in a high-concentrate diet on rumen structure and function in growing rams. *Animal*, 18(9), 101285. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2024.101285>
- Urrutia, N. L., & Harvatine, K. J. (2017). Acetate dose-dependently stimulates milk fat synthesis in lactating dairy cows. *The Journal of nutrition*, 147(5), 763-769. <https://doi.org/10.3945/jn.116.245001>
- Van Gastelen, S., Antunes-Fernandes, E., Hettinga, K., Klop, G., Alferink, S., Hendriks, W., & Dijkstra, J. (2015). Enteric methane production, rumen volatile fatty acid concentrations, and milk fatty acid composition in lactating Holstein-Friesian cows fed grass silage-or corn silage-based diets. *Journal of dairy science*, 98(3), 1915-1927. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8552>
- Van Nevel, C., & Demeyer, D. (1996). Control of rumen methanogenesis. *Environmental Monitoring and assessment*, 42, 73-97. DOI: [10.1007/BF00394043](https://doi.org/10.1007/BF00394043)
- Van Valenberg, H., Hettinga, K., Dijkstra, J., Bovenhuis, H., & Feskens, E. (2013). Concentrations of n-3 and n-6 fatty acids in Dutch bovine milk fat and their contribution to human dietary intake. *Journal of dairy science*, 96(7), 4173-4181. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6300>
- Wolin, M. J. (1960). A theoretical rumen fermentation balance. *Journal of dairy science*, 43(10), 1452-1459. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(60\)90348-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(60)90348-9)