



## Genome-Wide Association Studies for Selected Reproductive traits in Iranian Holstein cattle

Mostafa Sadeghi<sup>1</sup> , Narges Maddahi<sup>2</sup> , Ardeshir Nejati-Javaremi<sup>3</sup> , Syed Reza Mirae Ashtiani<sup>4</sup> , Ali Jalil Sarghale<sup>5</sup> 

1. Corresponding Author, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail: [sadeghimos@ut.ac.ir](mailto:sadeghimos@ut.ac.ir)
2. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail [nargesmaddahi@ut.ac.ir](mailto:nargesmaddahi@ut.ac.ir)
3. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail: [javaremi@ut.ac.ir](mailto:javaremi@ut.ac.ir)
4. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail: [ashtiani@ut.ac.ir](mailto:ashtiani@ut.ac.ir)
5. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail: [ali\\_jalil17@ut.ac.ir](mailto:ali_jalil17@ut.ac.ir)

Article Info	ABSTRACT
<b>Article type:</b> Research Article	<p>The aim of this study was to identify Single Nucleotide Polymorphism (SNP) associated with selected reproductive traits in Holstein dairy cattle. The interval between calving and the first insemination, days open, the interval between the first and last insemination, and the number of inseminations per pregnancy were analyzed. For this purpose, the hair samples of 150 cattle, born between 2012-2014 in one of the cattle farms of Ferdous Pars company, were used for genotyping based on 30108 SNPs chip. The data were analyzed using the least square variance analysis method using the GLM. GWAS analysis was performed after controlling the quality of the data. The results identified that 2 and 12 SNPs had a significant correlation with calving to insemination interval and interval between first to last insemination traits (<math>p &lt; 0.04</math>), respectively. In addition, 11 SNPs and 5 SNPs showed significant correlation for days open and the number of insemination per conception traits (<math>p &lt; 0.04</math>), respectively. In the Post-GWAS stage, some Quantitative Trait Loci (QTL) and various genes were identified that affected or controlled the trait. Out of the related NUF2 gene on chromosome 3 affects the development of the oocyte, ANAPC1 gene on chromosome 11, which affects sperm motility, PITX2 gene in chromosome 6, affects milk production and ELOVL6 gene on chromosome 6 affects body weight. In general, it can be concluded that chromosomes 3, 6 and 11 have SNPs that are more strongly related to reproductive traits.</p>
<b>Article history:</b>	
Received: 16 September 2023	
Received in revised form: 25 December 2023	
Accepted: 28 December 2023	
Published online: 22 September 2024	
<b>Keywords:</b> <i>Days open, Day to first insemination, interval from first to last insemination.</i>	

**Cite this article:** Sadeghi, M., Maddahi, N., Nejati-Javaremi, A., Mirae Ashtiani, S. R., Jalil Sarghale, A. (2024). Genome-Wide Association Studies for Selected Reproductive traits in Iranian Holstein cattle . *Iranian Journal of Animal Science*, 55 (3), 565-581. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2023.359774.653947>



© The Author(s).

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2023.359774.653947>

Publisher: The University of Tehran Press.

### Extended Abstract

#### Introduction

The main goal in dairy industry is to achieve maximum profitability and the goal of animal breeding is to increase the economic efficiency of the system. Today, with vast advances in the field of molecular methods and the identification of a large number of genetic markers, including Single Nucleotide Polymorphic (SNP) markers, livestock breeders can investigate and find QTLs affecting these traits with higher accuracy. Genome-Wide Association Studies (GWAS) as a procedure might be used to find loci correlated with reproductive traits in Iranian Holstein cows.

### **Materials and methods**

For this purpose, the hair samples of 150 cattle, born between 2012-2014 in one of the cattle farms of Ferdous Pars company, were used for genotyping based on 30.108 SNPs chip. The data were analyzed using the least square variance analysis method using the GLM. GWAS analysis was performed after controlling the quality of the data.

### **Results and Discussion**

The results showed that 2 SNPs associated with the Days to first services and 12 SNPs associated with Interval from First to Last Insemination ( $p < 0.04$ ). 11 SNPs in the Days Open and 5 SNPs for the Number of Services per Conception showed significant correlation ( $p < 0.04$ ) with these traits. In the Post-GWAS stage, some Quantitative Trait Loci and various genes were identified that affected or controlled the traits. QTLs, were observed near the SNPs related to IFL, DO and NSPC traits, they are related to body weight traits. So the heifer must have reached optimal weight at insemination time. In BTA20, near the SNP association on day to the first insemination, 1 QTL was associated with the stillbirth trait and 1 QTL with high correlation Rump angle trait was observed. Stillbirth and suitable Rump angle can be effective in returning the uterus to normal conditions and improving reproductive traits. Several QTLs affected on mamma structure traits (Udder width, Udder attachment, Udder height), milk production (Milk yield, Milk fat percentage) were observed in BTA20 and BTA27 in the vicinity of SNPs related to DFS traits. So in the near the SNPs identified, there are most QTLs that are correlated with milk production, reproduction, physical index and health traits. Out of the related genes, RHO gene on chromosome 28 is effected on ovulation, the length of the reproductive cycle and fertility. CAMK2D gene in chromosome 6 was related to the number of insemination per conception and fertility techniques. In BTA21, GABRB3 gene was related to the beginning and end of lactation in cows, and lactation is one of the effective traits for the number of inseminations per conception. NUF2 gene on chromosome 3 that affects the development of the oocyte, ANAPC1 gene on chromosome 11, which affects sperm motility, PITX2 gene in chromosome 6, affected on milk production, ELOVL6 gene in chromosome 6 affects increases body weight, CAMK2D gene in chromosome 6 is effective artificial insemination number trait and fertility techniques.

### **Conclusion**

it can be concluded that chromosomes 3, 6 and 11 have SNPs that are more strongly related to reproductive traits.



## پویش ژنوم برخی صفات تولیدمثلی گاو هلشتاین ایران

مصطفی صادقی<sup>۱</sup> | نرگس مداحی<sup>۲</sup> | اردشیر نجاتی جوارمی<sup>۳</sup> | سید رضا میرابی آشتیانی<sup>۴</sup> | علی جلیل سرقلعه<sup>۵</sup>

۱. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، دانشگاه تهران، تهران، ایران. رایانامه: [sadeghimos@ut.ac.ir](mailto:sadeghimos@ut.ac.ir)
۲. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، دانشگاه تهران، تهران، ایران. رایانامه: [nargesmaddahi@ut.ac.ir](mailto:nargesmaddahi@ut.ac.ir)
۳. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، دانشگاه تهران، تهران، ایران. رایانامه: [javaremi@ut.ac.ir](mailto:javaremi@ut.ac.ir)
۴. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، دانشگاه تهران، تهران، ایران. رایانامه: [ashtiani@ut.ac.ir](mailto:ashtiani@ut.ac.ir)
۵. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، دانشگاه تهران، تهران، ایران. رایانامه: [ali\\_jalil17@ut.ac.ir](mailto:ali_jalil17@ut.ac.ir)

اطلاعات مقاله	چکیده
<p><b>نوع مقاله:</b></p> <p>مقاله پژوهشی</p> <p><b>تاریخ دریافت:</b> ۱۴۰۲/۰۶/۲۵</p> <p><b>تاریخ بازنگری:</b> ۱۴۰۲/۱۰/۰۴</p> <p><b>تاریخ پذیرش:</b> ۱۴۰۲/۱۰/۰۷</p> <p><b>تاریخ انتشار:</b> ۱۴۰۳/۰۷/۰۱</p> <p><b>کلیدواژه‌ها:</b></p> <p>روزهای باز، فاصله زایش تا اولین تلقیح، فاصله اولین و آخرین تلقیح.</p>	<p>هدف از انجام این تحقیق شناسایی نشانگرهای تک نوکلئوتیدی موثر بر برخی صفات تولیدمثلی در گاوهای شیری هلشتاین ایران است. برای این منظور از نمونه مو ۱۵۰ راس گاو که بین سال‌های ۱۳۹۰-۱۳۹۲ در یکی از گاوداری‌های شرکت فردوس پارس متولد شده بودند، جهت تعیین ژنوتیپ با تراشه حاوی SNP ۳۰۱۰۸ استفاده شد. بعد از انجام مراحل کنترل کیفیت داده‌ها با استفاده از روش تجزیه واریانس حداقل مربعات با استفاده از رویه GLM، آنالیز GWAS انجام گردید. نتایج آنالیز نشان داد ۲ تغییر تک نوکلئوتیدی با صفت فاصله زایش تا آبستنی و ۱۲ تغییر تک نوکلئوتیدی با صفت فاصله بین اولین و آخرین تلقیح ارتباط معنی‌داری (<math>p &lt; 0.04</math>) داشتند، در صفت روزهای باز ۱۱ و برای صفت تعداد تلقیح به ازای آبستنی نیز ۵ تغییر تک نوکلئوتیدی معنی‌دار (<math>p &lt; 0.04</math>) وجود داشت. بررسی‌ها بعد از مکان‌یابی ژنها تعدادی QTL و ژن‌های مختلفی را شناسایی کرد که بر صفات مورد بررسی اثرگذار یا کنترل‌کننده بودند. از جمله این ژن‌ها می‌توان به ژن NUF2 در کروموزوم ۳ که بر تکامل سلول تخم، ژن ANAPC1 در کروموزوم ۱۱ که بر جنبانی اسپرم، ژن PITX2 در کروموزوم ۶ که بر تولید شیر، ژن ELOVL6 در کروموزوم ۶ که بر افزایش وزن بدن، موثر است اشاره نمود. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که کروموزوم ۳، ۶ و ۱۱ دارای تغییرات تک نوکلئوتیدی هستند که در ارتباط قوی تری با صفات تولیدمثلی بوده و در حاشیه همین تغییرات تک نوکلئوتیدی، QTL و ژن‌هایی یافت شد که مرتبط با صفات تولید مثلی بوده‌اند.</p>

**استناد:** صادقی، مصطفی؛ مداحی، نرگس؛ نجاتی جوارمی، اردشیر؛ میرابی آشتیانی، سیدرضا و جلیل سرقلعه، علی (۱۴۰۳). پویش ژنوم برخی صفات تولیدمثلی گاو هلشتاین ایران. نشریه علوم دامی ایران، ۵۵ (۳)، ۵۶۵-۵۸۱. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2023.359774.653947>



© نویسندگان.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2023.359774.653947>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

## مقدمه

هدف پرورش دهندگان گاو شیری داشتن گاوهایی است که میانگین رکورد بالایی داشته باشند، سالیانه یک گوساله تولید کنند و بدون مشکل جدی جسمی یک دوره تولید طولانی را سپری نمایند. از زمان اهلی شدن گاو تا کنون، طیف گسترده‌ای از رویدادهای انتخاب طبیعی و مصنوعی، ویژگی‌های مهم اقتصادی گاو، مانند سازگاری با محیط‌های مختلف، تولیدمثل، فرم بدن، رفتار، مقاومت در برابر بیماری‌ها و انگل‌ها و ویژگی‌های اقتصادی مطلوب را به شدت تغییر داده‌است (Bordbar et al., 2022). به عنوان نمونه، از آنجایی که مقدار تولید شیر با عملکردهای تولیدمثلی رابطه نامطلوب دارد، افزایش تولید شیر در سال‌های گذشته باعث ضعف در این صفات شد، بطوری که مشکلات تولیدمثلی از جمله دلایل اصلی عدم سودآوری در گله‌های گاو شیری گزارش شده‌است (Ahlman et al., 2011). با پیشرفت دانش و تکنولوژی در طی سال‌های گذشته راه‌های گوناگونی جهت رفع این مسائل یافت شد و مطالعاتی بر روی شناسایی جایگاه‌های کمی (QTL<sup>1</sup>) موثر بر صفات مختلف در گاو شیری صورت گرفته که باعث شناسایی تعداد زیادی QTL موثر بر این صفات روی کروموزوم‌های مختلف گردیده‌است. پس از آن در حوزه روش‌های مولکولی و شناسایی تعداد زیاد نشانگرهای ژنتیکی از جمله نشانگرهای تک نوکلئوتیدی اصلاح کنندگان دام می‌توانند با صحت بالاتر نسبت به بررسی و یافتن QTL‌های موثر بر این صفات اقدام نمایند. همچنین مطالعه پویش کل ژنوم (GWAS<sup>2</sup>) می‌تواند به شناسایی بهتر ژن‌های مرتبط با صفات اقتصادی کمک کرده و این اطلاعات به درک بهتر ما از مکانیسم صفات مورد مطالعه کمک می‌کنند. اهمیت مطالعات پویش ژنوم برای شناسایی بخش‌های مختلف ژنوم و ارایانتهای ژنتیکی برای صفات با پیچیدگی بیشتر است. در گاو شیری از روش GWAS جهت شناسایی تغییرات تک نوکلئوتیدی موثر بر صفات تولیدی از جمله مقدار تولید شیر، مقدار چربی، مقدار پروتئین (Nayeri et al., 2016) و 2016 Van den Berg., et al (صفات سلامتی از جمله: ورم پستان، سلامت رحم (Flurry et al., 2014) و Sahana et al., 2014) ماندگاری دام در گله (Zhang et al., 2016) و صفات تولیدمثلی (Nayeri et al., 2016) بهره گرفته شده‌است. از جمله صفات تولیدمثلی مورد بررسی می‌توان به صفت فاصله زایش تا نخستین تلقیح (DFS<sup>3</sup>)، روزهای باز (DO<sup>4</sup>)، تعداد تلقیح به ازای آبستنی (NSPC) و فاصله بین اولین و آخرین تلقیح (IFL) اشاره نمود. هر چه فاصله زایش تا نخستین تلقیح به حد بهینه خود نزدیکتر باشد، روزهای غیر آبستنی و در نتیجه فاصله گوساله‌زایی کاهش می‌یابد، که این عامل باعث افزایش سوددهی واحد گاوداری خواهد شد. از عواملی که می‌توانند باعث افزایش این فاصله شوند می‌توان به جفت ماندگی و وزن گوساله در زمان تولد (Muller et al., 2014). اشاره نمود. فاصله اولین و آخرین تلقیح از جمله صفاتی است که به توانایی گاو برای آبستن شدن مرتبط است. این صفت همبستگی زیادی با تعداد تلقیحات (0/92) دارد (Giasi et al., 2011). افزایش یک تلقیح می‌تواند این فاصله را در حدود ۲۱ روز افزایش دهد. افزایش IFL در گله می‌تواند ناشی از مشکلات تولیدمثلی، جذب رویان در روزهای اولیه یا سقط جنین در ماه‌های اول آبستنی و عدم توجه به فحل‌یابی باشد. روزهای باز فاصله بین زایش تا تلقیح منجر به آبستنی است. روزهای باز مناسب، فاصله گوساله‌زایی بهتر را به همراه خواهد داشت. اما زایش‌های غیر طبیعی همراه با سخت‌زایی روزهای باز را افزایش می‌دهند (Hammoud et al., 2010). تعداد تلقیح به ازای آبستنی صفت مهم دیگری است که به طور مستقیم، میانگین تعداد زایش در گله، هزینه‌های تلقیح، درآمد

1 Quantitative Trait Locus  
 2 Single Nucleotide Polymorphism  
 3 Genome-Wide Association Studies  
 4 Milk yield  
 5 Fat yield  
 6 Days to First Services  
 7 Days Open  
 8 Number of Services per Conception  
 9 Interval from First to Last Insemination

حاصل از گوساله‌های متولد شده، جایگزینی و حذف اختیاری و غیراختیاری، ترکیب سنی گله، فاصله نسل، شدت انتخاب و صحت انتخاب تحت تاثیر قرار می‌دهد (Hammoud *et al.*, 2010).

از آن جا که هدف نهایی اصلاح نژاد افزایش شایستگی اقتصادی سیستم است، لذا بررسی صفات تولیدمثلی و ژنهای موثر بر این صفات با استفاده از روش GWAS و یافتن جایگاه‌های موثر بر این صفات در جمعیت‌های مختلف گاو هلستاین ضروری است. در نهایت، این داده‌ها می‌توانند به گسترش درک ما از ژنهای موثر در داخل یک جمعیت نژادی در منطقه خاص کمک می‌کنند. هدف این پژوهش شناسایی تغییرات تک نوکلئوتیدی موثر بر برخی صفات تولیدمثلی در گاوهای هلستاین ایران بود.

## مواد و روش‌ها

از مهمترین عوامل در مطالعات GWAS، اندازه نمونه است. هرچه اندازه نمونه بزرگتر باشد، نمونه نماینده بهتری برای جمعیت بوده و احتمال اینکه اثر واقعی شناسایی شود بیشتر است. روشی برای نمونه‌گیری بهتر است که با حداقل تعداد نمونه و هزینه‌های کمتر صحت آماری بالاتری داشته باشد. بنابراین برای انجام این مطالعه از روش انتخاب بر اساس ارزش انحراف عملکرد دو طرفه (Jalil Sargale *et al.*, 2020) استفاده گردید. به منظور انجام این پروژه از ۱۵۰ (این قسمت در فایل جداگانه این توضیح داده شد) راس گاو هلستاین ایرانی در یکی از دامداری‌های شرکت فردوس پارس، که بین سال‌های ۱۳۹۰ - ۱۳۹۲ متولد شده بود استفاده شد. در مرحله اول گاوها بر اساس ارزش اصلاحی صفت تولید شیر از بزرگ به کوچک مرتب شده و در مرحله بعد ۷۵ راس گاو دارای بالاترین ارزش اصلاحی و ۷۵ راس با کمترین ارزش اصلاحی تولید شیر انتخاب شد. لازم به ذکر است گاوهای از نظر همخوانی مورد بررسی قرار گرفته و همچنین رابطه خواهری تنی در این گاوها وجود نداشت. حیوانات انتخاب شده دارای شجره و رکورد برداری کامل بودند و دقت شد که حیوانات انتخاب شده جزء حیوانات کاندیدای حذف شدن نباشند. همچنین جهت برآورد صفات تولیدمثلی، داده گله و دام‌های مورد بررسی شامل اطلاعات شناسنامه، زایش و رکورد تولید و داده تلقیح دام‌ها از نرم افزار مدیریتی گله‌ها و داده تکمیلی از مرکز اصلاح نژاد دام کل کشور جمع‌آوری شد. کارت موی ۱۵۰ حیوان جهت تعیین ژنوتیپ به شرکت GeenSeek در کشور آمریکا فرستاده شد. به طوری که ۱۵۰ حیوان مربوط با SNP panel GGP-LD v4 (حاوی ۳۰۱۰۸ تغییر تک نوکلئوتیدی) تعیین ژنوتیپ شد. جهت کنترل کیفیت ژنوتیپ‌ها از چهار معیار در نرم افزار PLINK 2.0 استفاده شده بود (Moradi *et al.*, 2012).

۱. Animal call rate: در این معیار حیوانات با بیش از ۵ درصد ژنوتیپ از دست رفته حذف شدند.

۲. فراوانی آلل کمیاب ( $MAF^1$ ): تغییرات تک نوکلئوتیدی‌هایی با  $MAF$  کمتر از ۲ درصد حذف شدند.

۳. نرخ فراخوانی تغییرات تک نوکلئوتیدی: تغییر تک نوکلئوتیدی که برای بیش از ۵ درصد حیوانات ژنوتایپ نشده حذف شدند.

۴. تعادل هاردی-واینبرگ

جهت شناسایی عوامل ثابت موثر بر صفات تولیدمثلی در GWAS، داده‌ها با استفاده از روش تجزیه واریانس حداقل مربعات با استفاده از رویه (Generalized Linear Model) GLM در نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ مورد آنالیز قرار گرفتند (رابطه ۱). که اثر بهارند و سال تولد به عنوان عوامل ثابت و سن حیوان به عنوان کوواریت در مدل تعریف شد. معادله مورد استفاده در GWAS به صورت زیر است:

$$y = X\beta + Zu + e$$

رابطه ۱)

در این مدل  $y$  بردار مشاهدات،  $X$  ماتریس ضرایب برای عوامل ثابت شامل میانگین، کواریت‌ها و اثرات تغییرات تک نوکلئوتیدی می‌باشد،  $\beta$  بردار اثرات ثابت،  $Z$  ماتریس ضرایب اثرات تصادفی ژنتیک افزایشی،  $u$  بردار آثار تصادفی ژنتیکی افزایشی و  $e$  بردار اثرات باقی مانده مدل می‌باشد.

علاوه بر این  $\text{Var}(u) = \sigma_g^2 K$  و  $\text{Var}(e) = \sigma_e^2 I$  می‌باشد که  $K$  یک ماتریس خویشاوندی ژنومی با استفاده از داده های ژنوتیپ محاسبه شد و سپس در مدل مورد استفاده قرار گرفت و  $I$  یک ماتریس یکه است.

جهت انجام آنالیزهای Post-GWAS و بررسی QTLهای گاوی در حاشیه ۱MB (۵۰۰kb بالاتر و ۵۰۰kb پایین تر از موقعیت تغییرات تک نوکلئوتیدی معنی دار) که در همبستگی با تغییرات تک نوکلئوتیدی معنی دار بر صفات مورد مطالعه بودند، از <https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/BT/index> استفاده گردید.

از طرفی به منظور بررسی ژن‌های کاندیدا در اطراف تغییرات تک نوکلئوتیدی مشاهده شده (۱Mb) Ensemble BioMart (<http://www.ensembl.org/biomart/martview>) استفاده شد.

و همچنین جهت تجزیه و تحلیل هستی‌شناسی (GO) پایگاه DAVID نسخه ۶/۷ (<http://david.abcc.ncifcrf.gov>) کار برده شد.

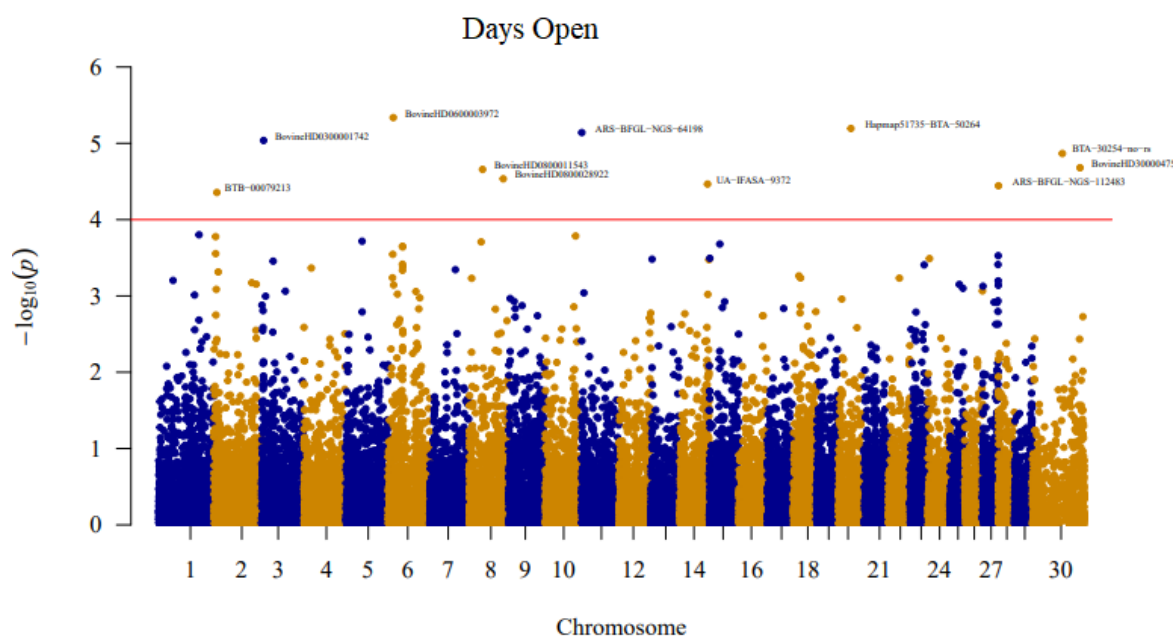
## نتایج و بحث

در صفت فاصله زایش تا اولین تلقیح (بدون در نظر گرفتن سقط و مرده زایی) میانگین (انحراف معیار) ۶۱(۱۹/۸) روز، در فاصله بین اولین و آخرین تلقیح میانگین (۲۱/۶۶) ۶۸ روز، روزهای باز میانگین (۲۶/۹۴) ۱۲۹ روز و در تعداد تلقیح به ازای آبستنی میانگین (۱/۶) ۲/۶۰ (در شکم اول) بود. پس از انجام کنترل کیفیت ژنوتیپ‌ها، تعداد ۲ راس دام بر اساس معیار Animal call rate حذف شده و تعداد ۱۴۸ راس دام برای انجام GWAS باقی ماندند و همچنین بعد از انجام MAF و نرخ فراخوانی تغییر تک نوکلئوتیدی در نهایت ۲۷۳۲۶ SNP مورد آنالیز قرار گرفت.

نتایج حاصل از انجام این مطالعه نشان داد در این جمعیت و برای صفت فاصله تلقیح به ازای آبستنی، تعداد ۲ تغییر تک نوکلئوتیدی ارتباط معنی‌داری ( $p\text{Value} < 0.04$ ) با این صفت داشته که بر روی BTA20 و BTA27 واقع شده بودند (شکل ۱). نتایج مطالعه‌ای نشان داد که ۲ تغییر تک نوکلئوتیدی موجود در منطقه BTA13 با صفت DFS همبستگی دارند (Sahana *et al.*, 2010). همچنین در گاوهای شمال کانادا یک ژن در منطقه BTA5 با این صفت همبستگی داشت (Hoglund *et al.*, 2014). در مطالعه (Chen *et al.*, 2022)، ۶۹ تغییر تک نوکلئوتیدی همبستگی با این صفت داشت که در منطقه BTA10، BTA15 و BTA27 بودند که با نتایج بدست آمده در این مطالعه مطابقت دارد. در مطالعه‌ای که بر روی گاوهای هلستاین ایران انجام گرفت، بیشتر تغییرات تک نوکلئوتیدی معنی‌دار بر این صفت بر روی کروموزوم ۱۹ واقع شده بودند (Mohammadi *et al.*, 2022) در این مطالعه تغییر تک نوکلئوتیدی معنی‌داری در این منطقه مشاهده نشد.



همچنین برای صفت روزهای باز تعداد ۱۱ تغییر تک نوکلئوتیدی معنی‌داری ( $p\text{Value} < 0.04$ ) مشاهده شد که در مناطق BTA2، BTA3، BTA6، BTA8 (۲ تغییر تک نوکلئوتیدی)، BTA11، BTA14، BTA20، BTA28 و BTA30 (۲ تغییر تک نوکلئوتیدی) قرار داشتند (شکل ۳). نکته قابل توجه این است که اکثر تغییرات تک نوکلئوتیدی موثر بر این صفت در ارتباط معنی‌دار با IFL بوده‌اند. در مطالعه‌ای ارتباط معنی‌دار (Genom-wide 1% FDR) ۸ تغییر تک نوکلئوتیدی با صفت روزهای باز در گاو هلشتاین نشان داده شد، که همه این تغییر تک نوکلئوتیدی در منطقه BTA20 و BTA21 واقع شده بودند (Nayeri *et al.*, 2016). که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد. همچنین در مطالعه‌ای تغییر تک نوکلئوتیدی معنی‌داری با صفت روزهای باز گزارش شد، که در منطقه BTA3، BTA4، BTA8 واقع شده بودند (Chen *et al.*, 2022) که با نتایج بدست آمده در این مطالعه مطابقت دارد.

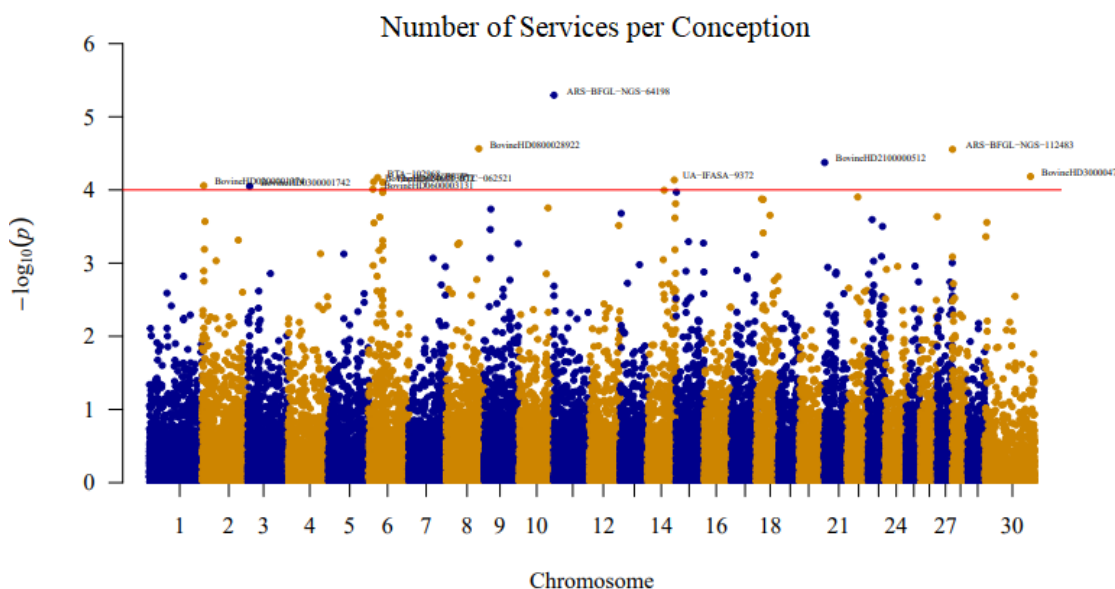


شکل ۳. نمودار منهن صفت روزهای باز، محور X مکان نشانگرها روی کروموزوم، محور Y منفی لگاریتم بر مبنای ۱۰ معیار pValue و خط قرمز رنگ نشانه آستانه معنی‌داری  $10^{-4}$  می‌باشد

در صفت تعداد تلقیح به ازای آبستنی تعداد ۱۱ تغییر تک نوکلئوتیدی معنی‌دار ( $p\text{Value} < 0.04$ ) مشاهده شد که در منطقه BTA2، BTA3، BTA6 (۳ تغییر تک نوکلئوتیدی)، BTA9، BTA11، BTA20، BTA21، BTA28 و BTA30 قرار داشتند (شکل ۴). که بیشترین معنی‌داری مربوط به تغییر تک نوکلئوتیدی واقع شده بر روی کروموزوم ۱۱ بود. در مطالعه‌ای، بر روی کروموزوم شماره ۱۳ و ۲۵، تعداد ۸ تغییر تک نوکلئوتیدی مشاهده شد که با صفت نرخ گیرایی (معکوس صفت تعداد تلقیح به ازای آبستنی) ارتباط معنی‌داری داشت، این تغییرات تک نوکلئوتیدی همچنین بر روی صفت نرخ باروری دختران گاو نر (DPR) اثر گذار بودند (Abdollahi Arpanahi *et al.*, 2019). که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد. در گاوهای هلشتاین منطقه آمریکای شمالی ژن واقع شده‌ای در منطقه BTA3 به نام GNAI2 بر روی صفت نرخ گیرایی تلیسه، نرخ گیرایی در گاو و همچنین صفت نرخ باروری دختران گاو نر (DPR) اثر گذار بود. این ژن همچنین با صفت تعداد تلقیح به ازای آبستنی (NSC) باروری گاو و روزهای باز ارتباط معنی‌داری داشت (Abdollahi Arpanahi *et al.*, 2019) که در این مطالعه نیز



مشاهده شد. در دیگر مطالعات تغییرات تک نوکلئوتیدی در BTA3 (Daetwyler et al., 2014)، BTA6 (Druet et al., 2014) و BTA9 (Galliou et al., 2020) و BTA20 (Galliou et al., 2020) ارتباط معنی داری با این صفت داشته‌اند که با نتایج بدست آمده در این مطالعه مطابقت دارد.



شکل ۴. نمودار منتهن صفت روزهای باز، محور X مکان نشانگرها روی کروموزوم، محور Y منفی لگاریتم بر مبنای ۱۰ معیار pValue و خط قرمز رنگ نشانه آستانه معنی داری  $10^{-4}$  می‌باشد

نتایج آنالیزهای post GWAS نشان داد در BTA20 در مجاورت تغییر تک نوکلئوتیدی موثر بر صفت فاصله زایش تا اولین تلقیح، ۱ QTL با صفت مرده‌زایی در ارتباط بود. مرده‌زایی از جمله عوامل موثر بر بازگشت رحم به شرایط طبیعی بوده که می‌تواند بر فاصله زایش تا اولین تلقیح موثر باشد. نتایج مطالعه‌ای نشان داد که ۵ ژن کاندیدا با عملکرد بالا که به صورت بلوک هاپلوتایپی بودند، اثر مؤثری بر مرده‌زایی و صفات باروری داشتند (Fonseca et al., 2022). که با نتایج بدست آمده در این مطالعه مطابقت دارد. همچنین یک QTL با همبستگی بالا با صفت زاویه کپل مشاهده شد. زاویه کپل مناسب می‌تواند به تخلیه بهتر مواد ترشح شده بعد از زایمان و بازگشت دام به شرایط طبیعی کمک کرده و باعث کوتاهتر شدن DFS شود (Almeida et al., 2017). در مطالعه‌ای دیگر نیز زاویه کپل ارتباط معنی داری با DFS و OD داشت (Fonseca et al., 2022) که می‌تواند تایید کننده نتایج این مطالعه باشد.

در این مطالعه نیز چندین QTL موثر بر صفات ساختار پستان، تولید شیر در BTA20 و BTA27 در مجاورت تغییرات تک نوکلئوتیدی مرتبط با صفت DFS مشاهده شد (جدول ۱). ساختار پستان در گاوشیری از جمله مهمترین صفات در سودآوری است، زیرا هرچه پستان ساختار مناسبتری داشته باشد، تولید شیر بهتری داشته، احتمال ابتلا به عفونت پستان در دام و تعداد سلول‌های سوماتیک کاهش خواهد یافت. نتایج مطالعات گواهی بر ارتباط بین صفات سلامت پستان، تولیدشیر (Zhou et al., 2019) و صفات تولیدمثلی بوده است (Liu et al., 2017).

در مجاورت تغییرات تک نوکلئوتیدی مرتبط با صفات DO, IFL و NSPC، QTLهایی مشاهده شد که با صفات وزن بدن در ارتباط هستند و می‌تواند گواهی بر این ادعا باشد که تلیسه در زمان تلقیح باید به وزن مطلوب خود رسیده باشد، که این وزن بسته به نژادهای مختلف متفاوت خواهد بود، به عنوان مثال در گاو نژاد برهمن گاوهای با وزن بالاتر باروری نامناسبتری داشتند

(Olson, 1993). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد کاهش نرخ باروری می‌تواند تحت تاثیر صفت باقیمانده خوراک مصرفی تحت تاثیر قرار بگیرد (Olson, 1993). بالانس منفی انرژی بر میزان انسولین تولیدی اثر گذاشته و تولید هورمون رشد را کاهش داده و در نهایت منجر به کاهش سنتز IGF-1 کبدی خواهد شد (Fenwick et al., 2008). در اطراف همین تغییر تک نوکلئوتیدی (BTA8) یک QTL با صفت باقیمانده خوراک همبستگی داشت.

در BTA6 همچنین QTL دیگری شناسایی شد که با صفت آسانزایی در ارتباط بود (Fenwick et al., 2008). نتایج مطالعه‌ای نشان می‌دهد که آسان زایی در نژاد براون سوئیس تحت تاثیر وزن بدن بوده به گونه‌ای که گاوهای با وزن بالاتر بیشتر دچار سخت‌زایی شده و فاصله زایش بالاتری خواهند داشت (Guo et al., 2012) که با نتایج این مطالعه مطابقت می‌نماید.

در BTA20 در اطراف تغییر تک نوکلئوتیدی دیده شده، ۲ QTL مشاهده شد که با صفت مقدار شیر و عفونت پستان همبستگی داشتند (جدول ۱)، که می‌تواند نشان دهنده این مورد باشد که دام در اوج شیرواری، دیرتر آبستن شده و همچنین عفونت پستان بر صفات فاصله‌ای مورد بررسی اثرگذار است. در BTA11 در اطراف تغییر تک نوکلئوتیدی مشاهده شده در این مطالعه، یک QTL اثرگذار بر چند قلو زایی مشاهده شد. در مطالعه Widmer et al (2021) در کروموزوم ۱۱، QTL های زیادی به شکل بلوک‌های هاپلوتایی با صفات باروری و زایش ارتباط معنی‌داری داشته‌اند، همچنین گزارش شد که همبستگی بین صفات زایش و باروری با صفت چندقلو زایی منفی و نامطلوب بوده است. در BTA3 در مجاورت با تغییر تک نوکلئوتیدی معنی‌دار بر صفات OD, IFL, NSPC چند QTL مشاهده شد، که بیشتر بر صفات تولید شیر و صفات موثر بر ماندگاری (جابجایی شیردان و عفونت پستانی) اثر گذار بودند (جدول ۱)، که با نتایج Zhang et al (2021) مطابقت دارد. در BTA28 یک QTL بر صفت نرخ باروری اثرگذار بود (جدول ۱). نرخ باروری حاصل ضرب نرخ گیرایی در نرخ فصل یابی است و از آنجایی که صفت نرخ گیرایی معکوس صفت تعداد تلقیح به ازای آبستنی است، پس وجود این QTL می‌تواند تاکید بر اثرگذاری تغییر تک نوکلئوتیدی شناسایی شده باشد. در همان حوالی QTL دیگری موثر بر تعداد فولیکول آنترال مشاهده گردید (Zhang et al., 2021). در BTA6 و BTA2 در مجاورت تغییرات تک نوکلئوتیدی شناسایی شده، QTL های موثر بر صفات شاخص بدنی و تولید شیر یافت شد. همچنین در BTA6 و BTA21 علاوه بر QTL های موثر بر شاخص بدنی و تولید شیر، ۳ QTL با صفات باروری (سخت زایی، باروری تلیسه ها و آسان زایی) همبستگی داشتند. به طور کلی می‌توان گفت در مجاورت تغییرات تک نوکلئوتیدی شناسایی شد، بیشتر QTL های وجود دارند که با صفات تولید شیر، تولیدمثل، شاخص بدنی و سلامت همبستگی دارند (جدول ۱).

**جدول ۱.** QTL های که در نزدیک ترین فاصله با تغییرات تک نوکلئوتیدی که همبستگی معنی‌داری با صفت فاصله زایش تا اولین تلقیح (DFS)، روزهای باز (DO)، فاصله اولین و آخرین تلقیح (IFL) و تعداد تلقیح به ازای آبستنی (NSPC) هستند

Trait	SNP name	QTL trait	QTL symbol		
DFS	۲۰/۲۱۴-۲۲۳۱	Rump angle	RANG		
		Stillbirth	SB		
		Somatic cell score	SCS		
		Dairy capacity composite index	DCCI		
		Udder attachment	UA		
		Udder width	UWDT		
		Udder height	UHT		
		Milk yield	MY		
		Milk protein percentage	PP		
		Milk fat yield	FY		
		Rump angle	RANG		
		DFS	۲۷/۴۰-۱۳۱۳۱	Somatic cell count	SCC
				Milk fat yield	FY
Stature	STA				
Dystocia	DYST				

Trait	SNP name	QTL trait	QTL symbol	
		Bovine tuberculosis susceptibility	BTBS	
DO	۶/۱۴۷۱۰۲۵۳	Body weight	BW	
IFL		Milk protein yield	PY	
NSPC		Marbling score	MARBL	
		Fat thickness at the 12th rib	FATTH	
		Calving ease	CALEASE	
DO	۲۰/۳۵۳۳۴۵۸۰	Milk yield	MY	
IFL		Clinical mastitis	CM	
DO	۱۱/۳۳۹۳۲۷	Multiple birth	TWIN	
IFL		Scrotal circumference	SCRCIR	
NSPC		Body weight	BW	
DO	۳/۵۶۳۵۷۸۶	Somatic cell score	SCS	
IFL		Abomasum displacement	AD	
NSPC		Milk protein percentage	PP	
		Interval from first to last insemination	INSINT	
		Myristic acid content	FA-C14:0	
DO	۳۰/۸۶۱۰۳۴۱۵	Milk fat yield	FY	
IFL		Not Available		
DO	۳۰/۱۳۶۶۲۱۰۱۸	Not Available		
IFL				
NSPC				
DO		۸/۳۸۲۳۵۱۶۵	Residual feed intake	RFI
IFL	۸/۹۷۹۵۵۳۱۷	Milk capric acid content	MFA-C10:0	
DO		Milk myristic acid content	MFA-C14:0	
NSPC		Udder swelling score	USS	
DO	۲۸/۴۰۷۱۷۶۶	Pregnancy rate	PREGRATE	
IFL		Udder cleft	UC	
NSPC		Milk protein yield	PY	
		Antral follicle number	AFOLN	
DO	۲/۸۴۶۹۷۵	Body weight	BW	
IFL		Perinatal mortality	PNMOR	
IFL	۲/۴۸۷۵۰۰۴	Semitendinosus muscle weight	STMWT	
NSPC		Shear force	SF	
		Silverside weight	SLVWT	
		Perinatal mortality	PNMOR	
		Tick resistance	TICKR	
		Carcass weight	CWT	
		Meat-to-bone ratio	MTBR	
		Bone percentage	BONEP	
		Fat percentage	FATP	
NSPC		۶/۴۱۶۶۱۴۹	Milk fat percentage	FP
			Milk alpha-S1-casein percentage	MAS1CP
		Body weight (weaning)	WWT	
		Stearic acid content	FA-C18:0	
		Longissimus muscle area	LMA	
		Milk protein percentage	PP	
NSPC	۶/۱۲۵۳۴۸۸۳	Body weight	BW	
		Milk protein yield	PY	
		Calving ease	CALEASE	
		Calving ease (maternal)	CALEASE	
		Milk fat percentage	FP	
		Body weight	BW	
NSPC	۲۱/۳۳۷۹۰۹۲	Milk protein percentage	PP	
		Heifer pregnancy	HPG	
		Body weight	BW	
		Somatic cell score	SCS	
		Age at puberty	PUBAGE	

نتایج آنالیز هستی شناسی ژن، تعداد ۴۹ ژن را در اطراف (Kb) ۵۰۰ بالاتر از تغییر تک نوکلئوتیدی و ۵۰۰ Kb پایین تر از موقعیت تغییر تک نوکلئوتیدی) تغییرات تک نوکلئوتیدی معنی دار با صفات مورد مطالعه نشان داد (جدول ۲). از جمله ژن‌های مشاهده شده می‌توان به ژن ACTBL2 در BTA20 (در اطراف تغییر تک نوکلئوتیدی مورد نظر در همان منطقه) که بر رشد عضلات و ساختار استخوان‌ها مؤثر است اشاره نمود. در مطالعه Costa *et al.* (2015)، ژن LOC782601 در BTA27 بر صفات باروری گاوشیری مؤثر بوده که با نتایج بدست آمده مطابقت دارد. این ژن همچنین در روند اسپریماتوزن مؤثر بوده است (Costa *et al.*, 2015). در BTA6 ژن ELOVL6 بر متابولیسم اسیدچرب موجود در شیر و همچنین بر رشد و افزایش وزن بدن مؤثر است (Iqbal *et al.*, 2022). PITX2 ژن دیگر شناسایی شده در منطقه BTA6 بر تولید شیر اثرگذار بوده، این ژن همچنین در توسعه برخی ارگانهای بدن از جمله غده هیپوفیز نقش دارد. علاوه بر این، ژن PITX2 بر تولید گونادوتروپین و در نهایت بر باروری اثرگذار است (Charles *et al.*, 2008). در BTA20 یک ژن به نام DAB2 یافت شد که در فرایند متابولیسم و پاسخ به محرک‌ها در چند سلولی مؤثر است (Cheng *et al.*, 2023).

در کروموزوم شماره ۱۱ در اطراف تغییر تک نوکلئوتیدی معنی دار، ژن ANAPC1 دیده شد، که بر صفات باروری گاوهای نر و جنمایی اسپرم اثرگذار است (Greither *et al.*, 2023). به طور کلی نتایج نشان داد ژن‌های مشاهده شده بر روی کروموزوم ۱۱ (NUF2، ANAPC1، TMEM87B، FBLN7، LOC112448914، MERTK) بر صفات باروری مؤثر هستند. ژن NUF2 در کروموزوم ۳، اثر منفی بر تکامل سلول تخم درگاو ماده و همچنین بر تولید LH داشته است (Labrecque *et al.*, 2013). ژن NUF2 در اتصال کینه توکور، جفت شدن کروموزوم و مونتاژ دوک در فرایند تقسیم میتوز اثرگذار است (Dong *et al.*, 2020). در کروموزوم ۸، ژن IL33 در دسته ژن‌های اثرگذار بر سیستم ایمنی گزارش شد (Kommadath *et al.*, 2011)، این ژن همچنین بر هم کنش‌های سلولی را تسهیل نموده و از طرفی می‌تواند با اثرگذاری بر سلول‌های مغزی رفتارهای فحلی را ایجاد نماید (Kommadath *et al.*, 2011)، ژن RHO در کروموزوم ۲۸ می‌تواند بر تخمک گذاری، طول چرخه تولیدمثلی و در نهایت بر باروری مؤثر باشد (McMullan and Nurrish, 2011). در اطراف همین ژن، ژن دیگری (OR5AS1) مشاهده شد که بر صفت بویایی اثرگذار است، توسعه حس بویایی در جانوران می‌تواند جهت جلوگیری از مسمومیت و احتمالاً سقط جنین به دلیل وجود انگل، باکتری، سموم یا مواد شیمیایی موجود در جیره دام مؤثر باشد (Jang *et al.*, 2021). ژن CALCRL در منطقه BTA2، بر عملکرد سیستم ایمنی اثرگذار بوده و همچنین باعث بیماری‌های تغییر شکل لنفاوی و تغییر انقباض عروق، عضله صاف، افزایش مایع بافت و تورم می‌شود (Garvey, 2018). ژن UGGT1 و دیگر ژن‌های مشاهده شده در اطراف این ژن (SAP130 و WDR33) بر عملکرد متابولیسم پروتئین و همچنین بر صفت افزایش وزن بدن مؤثر هستند (Serão *et al.*, 2013). در BTA6 بافت رشد و تکامل بافت‌های مختلف، از جمله عضله، چربی و استخوان شده و بر صفت وزن بدن اثرگذار هستند (Son *et al.*, 2021). بر اساس مطالعه Salilew-Wondim *et al.* (2010) ژن CAMK2D در کروموزوم ۶، با صفت تعداد تلقیح مصنوعی و تکنیک‌های باروری ارتباط داشت، که با نتایج بدست آمده مطابقت دارد. در BTA21، ژن GABRB3 بر شروع و پایان شیردهی در گاوشیری در ارتباط بود (Suárez-Vega *et al.*, 2015)، که شیرآوری از جمله صفات مؤثر به تعداد تلقیح به ازای آبستنی است. نتایج نهایی و مطالعات تکمیلی نشان داد که اکثر ژن‌های مشاهده شده با صفات مورد مطالعه در ارتباط یا اثرگذار بوده‌اند (جدول ۲).

جدول ۲. ژن‌های کاندیدا یا نزدیک ترین (IMB) ژن‌های اطراف SNPs مرتبط با صفت فاصله زایش تا اولین تلقیح (DFS)، روزهای باز (DO)، فاصله اولین و آخرین تلقیح (IFL) و تعداد تلقیح به ازای آبستنی (NSPC)

Trait	SNP name	SNP position	Ensembl gene ID	Gene start	Gene end	Gene name
DFS	۲۰/۲۱۴۰۲۲۳۱	۲۱۴۰۲۲۳۱	ENSBTAG00000051426	۲۱۸۲۳۴۷۸	۲۱۸۲۳۳۹۰	MIR2285F-2
			ENSBTAG00000046468	۲۱۷۹۹۴۴۶	۲۱۷۹۸۳۱۶	ACTBL2
DFS	۲۷/۴۰۱۳۱۳۱	۴۰۱۳۱۳۱	ENSBTAG00000048648	۴۲۸۴۴۵۸	۴۲۸۷۶۷۸	LOC782601
			ENSBTAG00000049611	۱۵۱۵۹۲۳۵	۱۵۱۵۹۳۶۹	LOC112447187
DO	۶/۱۴۷۱۰۲۵۳	۱۴۷۱۰۲۵۳	ENSBTAG00000010564	۱۵۱۹۹۶۶۶	۱۵۳۶۰۴۷۷	ELOVL6
			ENSBTAG00000044354	۱۵۰۴۶۳۰۶	۱۵۰۴۶۴۱۳	LOC112447232
NSPC			ENSBTAG00000008332	۱۴۹۱۲۶۷۹	۱۴۹۹۲۴۶۴	ENPEP
			ENSBTAG00000009059	۱۴۸۳۱۳۰۲	۱۴۸۵۱۲۵۴	PITX2
			ENSBTAG00000016152	۳۵۰۰۳۸۲۱	۳۵۰۶۲۹۳۱	DAB2
DO	۲۰/۲۵۳۳۴۵۸۰	۲۵۳۳۴۵۸۰	ENSBTAG00000016149	۳۵۰۷۷۲۰۵	۳۵۱۴۴۰۳۵	C9
			ENSBTAG00000043592	۳۴۸۵۰۸۹۹	۳۴۸۵۱۰۷۷	U2
			ENSBTAG00000043758	۳۴۸۹۳۳۳۳	۳۴۸۹۳۴۱۸	5S_rRNA
			ENSBTAG00000045153	۵۰۲۲۴۷	۵۰۲۳۸۰	LOC112448914
DO	۱۱/۳۳۹۳۲۷	۳۳۹۳۲۷	ENSBTAG00000009230	۲۴۵۵۳۰	۳۰۳۲۰۳	FBLN7
			ENSBTAG00000005828	۳۸۰۸۱۶	۵۱۶۴۸۶	MERTK
NSPC			ENSBTAG00000027991	۵۲۸۷۷۴	۶۲۶۰۹۹	ANAPC1
			ENSBTAG00000012099	۳۱۹۲۱۵	۳۶۱۷۰۸	TMEM87B
			ENSBTAG00000007247	۵۹۶۰۳۶۰	۵۹۹۸۶۹۱	NUF2
DO	۳۰/۸۶۱۰۳۴۱۵	۸۶۱۰۳۴۱۵	ENSBTAG00000005042	۸۵۹۲۹۳۲۱	۸۵۹۹۲۸۲۶	SYN1
			ENSBTAG00000016772	۸۵۶۰۴۷۱۰	۸۵۶۱۹۶۹۱	USP11
			ENSBTAG00000005039	۸۵۹۱۸۸۷۵	۸۵۹۴۳۵۵۸	ARAF
			ENSBTAG00000002113	۸۵۷۷۰۹۹۲	۸۵۷۷۳۱۱۵	ZNF41
			ENSBTAG00000038589	۸۵۷۳۱۵۷۴	۸۵۷۳۸۷۷۰	ZNF157
DO	۳۰/۱۳۶۶۲۱۰۱۸	۱۳۶۶۲۱۰۱۸	ENSBTAG00000042737	۱۳۶۶۶۰۴۰۵	۱۳۶۶۶۰۵۰۶	LOC112445214
			ENSBTAG00000027841	۱۳۶۳۴۶۶۰۶	۱۳۶۶۹۴۶۳۴	NLGN4X
			ENSBTAG00000012168	۳۸۶۷۵۴۴۹	۳۸۶۷۸۷۶۶	RANBP6
			ENSBTAG00000020815	۳۸۳۲۰۱۹۲	۳۸۳۹۲۷۰۱	UHRF2
DO	۸/۳۸۷۲۵۱۶۵	۳۸۷۲۵۱۶۵	ENSBTAG00000047550	۳۸۶۸۳۲۴۳	۳۸۷۹۱۳۵۱	KIAA2026
			ENSBTAG00000025903	۳۸۲۱۹۹۸۹	۳۸۳۰۸۳۱۰	GLDC
			ENSBTAG00000011160	۳۸۴۳۷۵۲۱	۳۸۴۴۰۱۷۵	TPD52L3
			ENSBTAG00000018347	۳۸۴۷۲۴۵۹	۳۸۵۴۶۴۰۵	IL33
DO	۸/۹۷۹۵۵۳۱۷	۹۷۹۵۵۳۱۷	ENSBTAG00000048201	۹۸۰۰۸۲۰۸	۹۸۰۰۸۳۱۵	U6-201
DO	۱۴/۷۹۹۷۳۴۷۳	۷۹۹۷۳۴۷۳	Not Available			
DO	۲۸/۴۰۷۱۷۶۶	۴۰۷۱۷۶۶	ENSBTAG00000018691	۶۹۷۳۳۹	۷۰۶۸۸۲	RHO
			ENSBTAG00000011707	۳۲۷۵۱۵	۳۲۸۴۵۳	OR5A51
DO	۲/۸۴۷۶۹۷۵	۸۴۷۶۹۷۵	ENSBTAG00000008483	۸۸۹۱۷۳۴	۹۰۲۰۴۴۲	CALCRL
			ENSBTAG00000049919	۸۷۷۵۸۹۳	۸۷۵۳۳۳۳	TFPI
DO			ENSBTAG00000042939	۷۹۹۶۳۰۴	۷۹۹۶۴۰۸	LOC112443605
			ENSBTAG00000008089	۴۶۰۱۰۱۲	۴۶۳۱۰۴۲	AMMECR1L
			ENSBTAG00000005987	۴۶۷۶۹۹۸	۴۷۸۵۵۳۴	WDR33
			ENSBTAG000000053244	۴۶۳۳۴۷۳	۴۶۳۶۷۴۷	POLR2D
IFL	۲/۴۸۷۵۰۰۴	۴۸۷۵۰۰۴	ENSBTAG00000005444	۴۳۰۰۴۱۶	۴۳۹۹۰۱۱	UGGT1
			ENSBTAG00000006003	۴۴۵۴۸۷۴	۴۵۳۰۰۹۴	SAP130
			ENSBTAG00000004653	۴۱۹۸۴۷۳۵	۴۱۱۶۸۱۴	ADGRA3
NSPC	۶/۴۱۶۶۱۴۹	۴۱۶۶۱۴۹	ENSBTAG00000047743	۴۰۲۵۰۰۳۳	۴۱۵۷۶۴۸۵	KCNIP4
NSPC	۶/۱۲۵۳۴۸۸۳	۱۲۵۳۴۸۸۳	ENSBTAG00000014463	۱۱۸۰۰۳۵۷	۱۲۱۰۷۶۰۰	CAMK2D
NSPC	۲۱/۳۳۷۹۰۹۲	۳۳۷۹۰۹۲	ENSBTAG00000013422	۳۸۶۶۳۴۷	۴۱۴۶۴۴۱	GABRB3
			ENSBTAG00000043450	۲۹۲۰۷۷۵	۲۹۲۰۸۷۷	LOC112443372
NSPC			ENSBTAG00000027081	۲۷۵۸۱۷۲	۲۹۴۰۴۰۸	ATP10A

## نتیجه گیری

این مطالعه با هدف شناسایی تغییرات تک نوکلئوتیدی موثر بر صفات تولیدمثلی در گاوهای هلشتاین ایران انجام گرفت و در نهایت منجر به شناخت ۲ تغییر تک نوکلئوتیدی معنی داری برای هر یک از صفت فاصله زایش تا اولین تلقیح (DFS)، روزهای باز (DO)، فاصله اولین و آخرین تلقیح (IFL) و تعداد تلقیح به ازای آبستنی (NSPC) مورد مطالعه گردید. در صفت فاصله اولین و آخرین تلقیح و روزهای باز تعداد زیادی از تغییرات تک نوکلئوتیدی مشترک بودند که می تواند ناشی از ساختار مشابه ژنتیکی هر دو صفت باشد. در حاشیه تغییرات تک نوکلئوتیدی شناسایی شده، بیشتر QTLهایی وجود دارند که با صفات تولید شیر، تولیدمثل، شاخص بدنی و سلامت همبستگی دارند. به نظر می رسد کروموزوم شماره ۳، ۶ و ۱۱ اثر مهم تری بر صفات تولیدمثلی داشته است. نتایج هستی شناسی ژن همچنین نشان دهنده وجود ژن های مشابهی در اطراف تغییرات تک نوکلئوتیدی شناسایی شده بود، که هر یک از این ژن ها می تواند به خودی خود مورد مطالعه قرار گیرد. از جمله این ژن ها می توان به ژن NUF2 در کروموزوم ۳ که بر تکامل سلول تخم، ژن ANAPC1 در کروموزوم ۱۱ که بر جنبانی اسپرم، ژن PITX2 در کروموزوم ۶ که بر تولید شیر، ژن ELOVL6 در کروموزوم ۶ که بر افزایش وزن بدن، ژن CAMK2D در کروموزوم ۶ با صفت تعداد تلقیح مصنوعی و تکنیک های باروری موثر است اشاره نمود.

## REFERENCES

- Abdollahi-Arpanahi, R., Carvalho, M. R., Eduardo, S., Ribeiro, E. S. & Francisco Peñagarican, F. (2019). Association of lipid-related genes implicated in conceptus elongation with female fertility traits in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 102, 10020–10029
- Ahlman, T., Berglund, B., Rydhmer, R. & Strandberg, E. (2011). Culling reasons in organic and conventional dairy herds and genotype by environment interaction for longevity. *Journal of Dairy Science*, 94, 1568–1575.
- Almeida, T. P., Kern, E. L., Daltro, D. D., Neto, J. B., McManus, C., Neto, A. T. & Cobuci, J. A. (2017) Genetic associations between reproductive and linear-type traits of Holstein cows in Brazil. *Brazilian Journal of Animal Science*, 46, 91–98.
- Bordbar, F., Mohammadabadi, M., Jensen, J., Xu, L., Li, J. & Zhang, L. (2022). Identification of candidate genes regulating carcass depth and hind leg circumference in simmental beef cattle using Illumina Bovine Beadchip and next-generation sequencing. *Animals*, 12, 1103-1116.
- Brooks, M. A., DePristo, R. M., Durbin, R. E., Handsaker, H. M., Kang, G., Marth, T., & McVean, G. A. (2012). An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature*, 491, 56–65.
- Charles, M. A., Amanda, Y., Mortensen H., Mary Anne Y., Potok, Y. & Camper, S. A. (2008). Pitx2 Deletion in Pituitary Gonadotropes is Compatible with Gonadal Development, Puberty, and Fertility. *Genesis*, 46, 507–514.
- Chen, S.Y., Schenke, F.S., Melo, A.L.P., Oliveira, H.R., Pedrosa, V.B., Araujo, A.C., Melka, M.G., & Brito, L.F. (2022). Identifying pleiotropic variants and candidate genes for fertility and reproduction traits in Holstein cattle via association studies based on imputed whole-genome sequence genotypes. *BMC Genomic*, 23, 331-356.
- Cheng, Z., McLaughlin, D. L., Little, M.W., Ferris, C., Salavati, M., Ingvarsten, K.L., Crowe, M.A. & Wathes, D.C. (2023). the GplusE Consortium. Proportion of concentrate in the diet of early lactation dairy cows has contrasting effects on circulating leukocyte global transcriptomic profiles, health and fertility according to parity. *International Journal of Molecular Science*, 24, 39–52
- Costa, R. B., Camargo, G. M.F., Diaz, I. D., Irano, N., Dias, M. M., Carvalheiro, R., Boligon, A. A., Henrique F. B., Tonhati, O. H. & Albuquerque, L. G. (2015). Genome-wide association study of reproductive traits in Nellore heifers using Bayesian inference. *Genetics Selection Evolution*, 2015, 47:67.

- Daetwyler, H. D., A. Capitan, H. Pausch, P. Stothard, R. Van Binsbergen, R. F. Brøndum, X. Liao, A. Djari, S. C. Rodriguez., & C. Grohs. (2014). Whole-genome sequencing of 234 bulls facilitates mapping of monogenic and complex traits in cattle. *Nature Genetics*, 46,858–865.
- Dong, W. S., Liu P. F., Liu, Y., Du, Y., Bi, Y. H & Zhou, G. H. (2016). Immunocytochemical localization of the kinetochore protein Nuf2p on the gametophyte chromosomes of a cultivar of saccharina (Phaeophyta). *Frontiers in Marine Science*, 7,539260
- Druet, T., I. Macleod, & B. Hayes. (2014). Toward genomic prediction from whole-genome sequence data: Impact of sequencing design on genotype imputation and accuracy of predictions. *Heredity*, 112,39–47.
- Fenwick, M. A., Fitzpatrick, R., Kenny, D.A., Diskin, M.G., Patton, J., Murphy, J. J. & Wathes, D. C. (2008) Interrelationships between negative energy balance (NEB) and IGF regulation in liver of lactating dairy cows. *Domestic Animal Endocrinology*, 34, 31–44.
- Fonseca, P. A. S., Schenkel, F. S., & Cánovas, A. (2022). Genome-wide association study using haplotype libraries and repeated-measures model to identify candidate genomic regions for stillbirth in Holstein cattle. *American Dairy Science*. 105,1314–1326
- Galliou, J. M., Kiser, J. N., Oliver, K. F., Seabury, C. M., Moraes, J. G., Burns, G.W. (2020). Identification of loci and pathways associated with heifer conception rate in US Holsteins. *Genes (Basel)*, 11,767-787
- Garvey, M. (2018). Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis: a possible causative agent in human morbidity and risk to public health safety. *Open Veterinary Journal*. 8, 172–181.
- Giasi, H., Pakdel, A., Nejati-Javaremi, A., Mehrabani-Yeganeh, H., Honarvar, M., Gonzales-Ricio, O., Carabano, M.J. & Alend, R. (2011). Genetic variance component for female fertility in Iranian Holstein. *Livestock Science*, 139, 277-280.
- Greither, T., Behre, H. M. & Herlyn, H. (2023). Genome-wide association screening determines peripheral players in male fertility maintenance. *International Journal of Molecular Science*, 24, 524-539.
- Guo, J., Jorjani, H. & Carlborg, Ö. A. (2012) genome-wide association study using international breeding-evaluation data identifies major loci affecting production traits and stature in the Brown Swiss cattle breed. *BMC Genetic*. 2012,13-82.
- Hammoud, M.H., El-Zarkouny, S.Z. & Oudah, E.Z.M. (2010). Effect of sire, age at first calving, season and year of calving and parity on reproductive performance of Friesian cows under semiarid conditions in Egypt. *Archive Zoot*, 13,60-82.
- Hoglund, J.K., Sahana, G., Guldbrandsen, B & Lund, M.S. (2014). Validation of associations for female fertility traits in Nordic Holstein, Nordic Red and Jersey dairy cattle. *BMC Genetic*, 15,8-15.
- Iqbal, A., Ziyi, P., Yu, H., Jialing, L., Haochen, W., Jing, F., Ping, J. & Zhihui, Z. (2022). C4BPA: A novel co-regulator of immunity and fat metabolism in the bovine mammary epithelial cells. *Frontiers in Genetics*, 31, 1-16.
- Jalil Sarghale, A., Moradi Shahrehabak, M., Moradi Shahrehabak, H., Nejati Javaremi, A., Saatchi, M., Khansefid, M., & Miar, Y. (2020) Genome-wide association studies for methane emission and ruminal volatile fatty acids using Holstein cattle sequence data. *BMC Genetic*, 21,129-143.
- Jang, J., Terefe, E., Kim, K., Lee, Y. H., Belay, G., Tijjani, A., Han, J. L., Hanotte, O., & Kim, H. (2021). Population differentiated copy number variation of *Bos taurus*, *Bos indicus* and their African hybrids. *BMC Genomics*, 22,531-542.
- Kandel, P., Vanderick, S., Vanrobays, M. L., Vanlierde, A., Dehareng, F. & Froidmont, E., (2014). Consequences of selection for environmental impact traits in dairy cows. Vancouver: *Proceedings of the 10th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*; 2014.
- Kommadath, A., Woelders, H., Beerda, B., Mulder, H. A., Wit, A.C., Veerkamp, R. F., Pas S. W. & Smits, M. A. (2011). Gene expression patterns in four brain areas associate with quantitative measure of estrous behavior in dairy cows. *BMC Genomics*, 12:200-210.

- Liu, A., Wang, Y., Sahana, G., Zhang, Q., Liu, L., Lund, M. S., & Su, G. (2017). Genome-wide association studies for female fertility traits in Chinese and Nordic Holsteins. *Scientific Reports*, 7, 8487-8499.
- McMullan, R. & Nurrish, S.J. (2011) The RHO-1 RhoGTPase modulates fertility and multiple behaviors in adult Cow. *elegans. PLoS ONE* .6(2): e17265
- Mohammadi, A., Alijani, S., Rafat, S. A. & Abdollahi-Arpanahi, R. (2020). Genome-wide association study and pathway analysis for female fertility traits in Iranian Holstein cattle. *Annals of Animal Science*, 20,825–851.
- Moradi, M. H., Nejati-Javaremi, A., Moradi-Shahrbabak, M., Dodds, K. G. and McEwan, J.C. (2012). Genomic scan of selective sweeps in thin and fat tail sheep breeds for identifying of candidate regions associated with fat deposition. *BMC Genetics*, 13,10-25.
- Muller, C.J.C., Potegieter, J.P., Cloete, S.W.P. and Dzama, K. (2014). Non genetic factors affecting fertility traits in South African Holstein cow. *South African Journal of Animal Science*, 44,54-65.
- Nayeri, S., Sargolzaei, M., Abo-Ismael, M.K. & May, N. (2016). Genome-wide association for milk production and female fertility traits in Canadian dairy Holstein cattle. *BMC Genetic*, 17, 75-87.
- Olson, T. A. (1993) Reproductive efficiency of cows of different sizes. Available from: [http://animal.ifas.ufl.edu/beef\\_extension/bcsc/1993/docs/olson.pdf](http://animal.ifas.ufl.edu/beef_extension/bcsc/1993/docs/olson.pdf)
- Sahana, G., Guldbbrandtsen, B., Bendixen, C. & Lund, M.S. (2010). Genome-wide association mapping for female fertility traits in Danish and Swedish Holstein cattle. *Animal Genetic*, 41,579–588.
- Sahana, G., Guldbbrandtsen, B., Thomsen, B., Holm, L-E, Paniz, F., brondum, R.F., Bendixen, C. & Lund, M.S. (2014). Genome-wide association study using high-density single nucleotide polymorphism arrays and whole-genome sequences for clinical mastitis traits in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 97, 7258-7275.
- Salilew-Wondim, D., Holker, M., Rings, F., Ulas-Cinar, M., Peippo, J., Tholen, E., Looft, C., Schellander, K. & Tesfaye, D. (2010) Bovine pretransfer endometrium and embryo transcriptome fingerprints as 2 predictors of pregnancy success after embryo transfer. *Physiol Genomics*. doi:10.1152/physiolgenomics.00047.2010
- Serão, N.V.L., González-Peña, D., Beever, J. E., Bollero, G.A., Southey, B. R. & Faulkner, D.B. (2013). Bivariate genome-wide association analysis of the growth and intake components of feed efficiency. *PLoS One*. 8,78530.
- Son, H., Park, M.R., Kim, N., Jang, G.W. & Park J. E. (2021). Genome-wide association study identifies 12 loci associated with body weight at age 8 weeks in korean native chickens. *Genes*, 12, 1170-1183
- Suárez-Vega, A., Gutiérrez-Gill, B., Klopp, C., Robert-Granie, C., Tosser-Klopp, G & JoséArranz, J. (2015). Characterization and comparative analysis of the milk transcriptome in two dairy sheep breeds using RNA sequencing. *Scientific Reports*, 10, 1038-1049.
- Van den Berg, I., Boichard, D. & Lund, M. S. (2016). Comparing power and precision of within-breed and multi breed genome wide association studies of production traits using whole-genome sequence data for 5 French and Danish dairy cattle breeds. *Journal of Dairy Science*, 99, 8932-8945.
- Widmer, S., Seefried F. R., Rohr, P. v., Häfiger, I. M., Spengeler, M., & Drögemüller, C. (2021). A major QTL at the LHCGR/FSHR locus for multiple birth in Holstein cattle. *Genetic Selection Evolution*. 2021, 53-57.
- Zhang, H., Liu, A., Wang, Y., Luo, H., Yan, X., Guo, X., Li, X., Liu, L. & Su, G. (2021). Genetic Parameters and Genome-wide association studies of eight longevity traits representing either full or partial lifespan in chinese holsteins. *Journal of Frontiers in Genetics*.25, 1-12.
- Zhang, Q., Guldbbrandtsen, B., Thomasen, J. R., Lund, M. S. & Sahana, G. (2016). Genome-wide association study for longevity with whole-genome sequencing in 3 cattle breeds. *Journal of Dairy Science*, 99, 7289-7298.



Zhou, C., Li, C., Cai, W., Liu, S., Yin, H., Shi, S., Zhang, Q. & Zhang, S. (2019). Genome-wide association study for milk protein composition traits in a Chinese Holstein population using a single-step approach. *Frontiers in Genetic*, 10, 72-84.