

استفاده از روش رگرسیون متغیر های ظاهری برای پیش بینی مقدار تولید شیر و چربی در جمعیت گاوهای هلشتاین ایران

حامد خراتی کوپایی<sup>1\*</sup>، محمد رضا محمدآبادی<sup>2</sup>

1. دانش آموخته دوره کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد دانشگاه شهید باهنر کرمان.

2. دانشیار بخش علوم دامی دانشگاه شهید باهنر کرمان

تاریخ دریافت: 1391/5/17، تاریخ پذیرش: 1391/10/4

### چکیده

ژن DGAT1 به عنوان یک ژن کاندید در کروموزوم شماره 14 برای درصد چربی و تولید شیر مطرح می باشد. این ژن با کد کردن آنزیم دی آسپیل گلیسرول اسیل ترانسفراز نقش اصلی را در سنتز تری گلیسیرید و در نهایت چربی شیر دارد. در این پژوهش 398 نمونه خون از گاوهای هلشتاین استانهای تهران و اصفهان جمع آوری گردید، با انجام واکنش PCR یک قطعه 411 جفت بازی از اگزون شماره 8 این ژن تکثیر گردید. تعیین ژنوتیپ افراد جمعیت با استفاده از تکنیک PCR-RFLP انجام شد. بر اساس نحوه برش آنزیم CfrI سه نوع ژنوتیپ AA، KA، KK شناسایی شدند، همچنین فراوانی آللی K و A به ترتیب برابر با 0/37 و 0/63 تعیین شدند. سپس با استفاده از برازش GLM، صفاتی که اثر ژن DGAT1 برای آنها معنی دار بود تعیین شدند و در نهایت با استفاده از کد بندی عامل های مدل و رگرسیون متغیر های ظاهری، مدل های پیش بینی ارائه شدند. از ضریب همبستگی بین رکورد های واقعی و پیش بینی شده به عنوان معیار اعتبار سنجی مدل های ارائه شده استفاده شد. نتایج این پژوهش نشان داد که مدل های ارائه شده برای پیش بینی صفات تولید شیر 305 روز، ارزش اصلاحی درصد چربی و درصد چربی بر اساس دو بار دوشش در روز، تا حدودی قادر به پیش بینی تولید می باشند اما به دلیل استفاده از حجم اطلاعات کم، مقدار عددی ضرایب همبستگی به میزان کمی برآورد شدند. با استفاده از اطلاعات ژن ها و رکورد های بیشتر می توان نتایج دقیق تری بدست آورد.

کلمات کلیدی: ژن DGAT1، رگرسیون، پیش بینی تولید و همبستگی.

(2003). در پژوهشی که روی گاوهای شیری نژاد هلشتاین، جرسی و ایرشایر نیوزیلند انجام شد، اثر ژن DGAT1 روی چربی و پروتئین شیر برای نژاد هلشتاین و جرسی در سطح 5 درصد معنی دار گزارش گردید. همچنین میزان اثر ژنوتیپ روی تولید شیر در نژاد ایرشایر معنی دار سطح 5 درصد تشخیص داده شد. متوسط اثر جایگزینی آلی برای پروتئین برابر با 2 تا 3 کیلوگرم برای نژاد هلشتاین تعیین شد. همچنین میزان اثر جایگزینی آلی چربی شیر برای نژاد هلشتاین 6 کیلوگرم و برای نژاد جرسی 3 کیلوگرم گزارش گردید. (Spelman et al., 2002). اخیراً کشور های زیادی با به اشتراک گذاشتن اطلاعات ژنومیکی هزاران SNP وارد سیستم ارزیابی ژنتیکی شده‌اند (Hayes et al., 2009; VanRaden et al., 2009). این موضوع بیانگر این مطلب است که اطلاعات ژنومیکی هم اکنون به عنوان یکی از مهم ترین منبع اطلاعات برای ارزیابی ژنتیکی در گله های گاو شیری مطرح می باشد (Liu, 2010). تا کنون پژوهش های گسترده ایی با استفاده از مدل سازی برای پیش بینی اثر ژن های بزرگ اثر و رکورد های صفات اقتصادی صورت گرفته است (Szyda et al., 2011; Liu, 2005; Szyda et al., 2010). برای نمونه، در پژوهشی که روی گله های شیری هلشتاین کشور لهستان انجام گرفت از اطلاعات رکورد 1227 فرد و SNP50K، برای 29 صفت مهم اقتصادی ارزیابی ژنومیکی انجام شد. در این پژوهش با استفاده از ضریب همبستگی، میزان دقت ارزش

تحقیقات نشان داده است که جایگاه های موجود روی کروموزوم ها مسئول تغییرات در صفات مهم اقتصادی هستند ( Geldermann, 1975) در سال های اخیر پروژه های گوناگونی برای شناسایی ژن های کاندید موثر بر صفات اقتصادی در گاو های شیری انجام شده است برای نمونه ژن های کاندیدی روی کروموزوم 14، به ویژه در جمعیت گاو های هلشتاین برای میزان چربی شناسایی شده است (Grisart et al., 2002; Coppieters et al., 1998; Riquet et al., 1999). ژن DGAT1 با کد کردن آنزیم دی آسیل گلیسرول اسیل ترانسفراز نقش اصلی را در سنتز تری گلیسیرید و در نهایت چربی شیر دارد. جهش تک نوکلئوتیدی (SNP) باعث جایگزینی آدینین با گوانین در توالی DNA، و به دنبال آن موجب تغییر اسید آمینه لیزین به آلانین در آنزیم دی آسیل گلیسرول اسیل ترانسفراز می شود، این جهش تک نوکلئوتیدی می تواند اثر قابل توجهی را روی تولید شیر و ترکیبات آن ایجاد می کند (Grisart et al., 2002). در پژوهشی چند شکلی ژن DGAT1 و میزان اثر آن به روی تولید و ترکیب شیر در نژاد هلشتاین و فلکویه در کشور آلمان مورد بررسی قرار گرفت. ژنوتیپ افراد با استفاده از تکنیک RFLP-PCR تعیین شد. بررسی میزان اثر ژن DGAT1 روی صفات تولید و ترکیب شیر در نژاد هلشتاین نشان داد که این ژن، درصد چربی و پروتئین به مقدار 0/28 و 0/06 درصد افزایش می دهد (Thaller et al.,

اختصاص داد به این متغیرها، متغیرهای ظاهری می گویند متغیرهای ظاهری معمولاً (نه همواره) با سطوح فیزیکی که به آنها اختصاص می یابد بی ارتباط هستند. در واقع کد بندی عوامل ناپیوسته به این معناست که هرکدام از این عوامل دارای اثر معین روی متغیر پاسخ هستند. به عنوان مثال ژنوتیپ ها در این پژوهش ناپیوسته هستند و باید برای هر ژنوتیپ کد مشخصی در نظر گرفته شود. باید به این نکته توجه داشت که برای گزینش متغیرهای ظاهری روش منحصر به فردی وجود ندارد البته اگر بتوانیم از این ویژگی برای بهره برداری از شکل خاصی از داده ها استفاده کنیم آنگاه این موضوع به نقطه قوت تبدیل می شود (Bazargan-Lari, 2005).

#### مواد و روش ها

##### نمونه گیری و تعیین ژنوتیپ

در این پژوهش 398 نمونه خون از گله گاو های هلشتاین زایش اول استان های اصفهان و تهران جمع آوری گردید. جزییات نمونه ها در جدول 1 نشان داده شده است.

های اصلاحی برآورد شده مورد آزمون قرار گرفت. نتایج نشان دادند که ضریب همبستگی برای کیلوگرم تولید شیر، پروتئین و چربی به ترتیب برابر با 0/43، 0/44 و 0/31 می باشد (Szyda et al., 2005). در پژوهشی دیگر که روی جمعیت گله های شیری هلشتاین کشور آلمان انجام گرفت با استفاده از مدل سازی و اطلاعات 4500 فرد واریانس ژنتیکی صفات تولیدی شیر ناشی از ژن کانیدیا برآورد گردید (Szyda et al., 2011). نسبت واریانس ناشی از ژن کانیدیا برای سه دوره شیردهی برای تولید شیر برابر با 0/04، 0/030 و 0/07 برآورد شد. این نسبت برای تولید چربی نیز برابر با 0/06، 0/08 و 0/14 برآورد گردید (Szyda et al., 2011). هدف از این مقاله ارائه مدل برای پیش بینی رکوردهای صفات مطرح شده با استفاده از روش رگرسیون متغیرهای ظاهری در جمعیت مورد مطالعه می باشد. معمولاً متغیرهای معادلات رگرسیونی مقادیری از یک دامنه پیوسته اختیار می کنند ولی در برخی از موارد متغیرها دارای سطوح ناپیوسته هستند در این گونه موارد باید به هرکدام از عوامل سطوح (کد) مشخصی را

#### جدول 1- تعداد نمونه ها در گله ها.

Table 1- Number of samples in herds.

نام گله	نامفر	امداد	گل شهر	فکا	دهیران	رضایی	زرین	لبن	تکنو	تلیسه
Herd name	Namfar	Emdad	Golsahr	Feka	Dehيران	Rezaee	Zarrin	Laban	Tekno	Taliseh
تعداد نمونه	48	45	34	70	49	39	34	31	19	29
Number of samples										

اجازه تکثیر برابر هر برای هر دو آل را می دهد. با انجام واکنش PCR قطعه 411 جفت بازی از ژن DGAT1، که دربرگیرنده جایگزینی K232A است تکثیر شد. برای شناسایی تغییرات آل در مکان های نوکلئوتیدی 10433 و 10434 ژن DGAT1، 5 میکرولیتر از DNA تکثیر شده با 2 واحد از آنزیم برشی *CfrI* به مدت 3 ساعت در دمای 37 درجه سانتیگراد هضم شد. محصولات برش داده شده در ژل آگارز 2 درصد الکتروفورز شدند و در نهایت ژل آگارز با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی گردید. با استفاده از تکنیک RFLP مشخص شد که آل K با آنزیم برشی بریده نمی شود و آل A بریده می شود. افراد KK، بدون جهش افراد KA دارای یک آل جهش یافته و افراد AA در هر دو آل آنها جهش صورت گرفته است. افرادی که تنها در ناحیه 411 جفت بازی دارای باند هستند، جهش در آنها رخ نداده است و به شکل وحشی باقی مانده اند. افرادی که در دو ناحیه 411 جفت بازی و 203 یا 208 جفت بازی دارای باند هستند، هتروزیگوت می باشند و در نهایت افرادی که دارای دو باند در ناحیه 203 و 208 جفت بازی هستند، هموزیگوت جهش یافته می باشند به علت نزدیک بودن دو قطعه 203 و 208 جفت بازی افراد AA به شکل یک باند ضخیم روی ژل قابل تشخیص هستند. برای تایید صحت انجام PCR و تعیین ژنوتیپ نهایی افراد از نشانگر اندازه PUC Mix 8 استفاده گردید.

استخراج DNA با استفاده از روش نمکی انجام گرفت (Lien et al. 1990; Miller et al. 1988). نمونه های استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر بر اساس 50 نانوگرم DNA در هر میکرولیتر با استفاده از آب دوبار تقطیر رقیق شدند. برای انجام واکنش PCR از آغازگرهای رفت و برگشت زیر استفاده گردید (Kaupe et al., 2004):

5'-GCACCATCCTCTTCCTCAAG-3'

5'-GGAAGCGCTTTCGGATG-3'

قابل ذکر است که جایگاه DGAT1 با شماره EU077528<sup>1</sup> در بانک اطلاعاتی NCBI ثبت رسیده است

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/eu077528>). سیکل های حرارتی PCR به صورت زیر انجام شد: واسرشته سازی اولیه: در دمای 94 درجه سانتیگراد به مدت 5 دقیقه، 35 چرخه با واسرشته سازی در 94 درجه سانتیگراد و به مدت 60 ثانیه، اتصال به مدت 60 ثانیه در دمای 60 درجه سانتیگراد و سنتز در دمای 72 درجه سانتیگراد و به مدت 60 ثانیه. سنتز نهایی: به مدت 7 دقیقه و در دمای 72 درجه سانتیگراد. واکنش PCR در حجم 15 میکرو لیتر و با استفاده از 100 نانوگرم DNA ژنومی و 1/5 میکرولیتر از PCR بافر 10X، 1/5 میلی مولار MgCl<sub>2</sub>، 0/4 میلی مولار dNTP، 0/6 پیکو مول از هر آغازگر، 5 درصد DMSO و 1 واحد آنزیم Taq پلیمرز انجام شد. افزودن 5 درصد DMSO به واکنش

### آنالیز آماری و ارائه مدل

با استفاده از نسخه 16 نرم افزار SPSS و رویه GLM اثر ژنوتیپ های بدست آمده در قالب یک مدل اثرات ثابت<sup>1</sup> مورد بررسی قرار گرفتند. مدل استفاده شده در این پژوهش شامل عامل های زیر بود:

$$y_{ijkmnr} = \mu + G_i + S_j + M_k + N_m + C_n + e_{ijkmnr}$$

در این مدل عاملها عبارتند از  $y$ : مشاهده برای هر صفت،  $\mu$ : اثر میانگین،  $G$ : اثر ژنوتیپ ها در سه سطح،  $S$ : اثر گله در 10 سطح،  $M$ : اثر سال تولد در 5 سطح،  $N$ : اثر ماه تولد در 12 سطح،  $C$ : اثر سال زایش در 5 سطح. اثر عوامل ناشناخته قابل ذکر است که چون تمام افراد مورد مطالعه در اولین دوره شیردهی بوده اند از آوردن اثر دوره شیردهی در مدل خودداری شده است. باید توجه داشت که هدف از انجام این آنالیز تعیین صفاتی است که اثر ژنوتیپ ها بر آنها معنی دار می باشد، چون مدل های پیش بینی باید برای صفاتی ارائه شوند که اثر ژن برای آنها معنی دار باشد. سپس با استفاده نسخه 16 نرم افزار SPSS ضرائب رگرسیونی برای عامل های مدل برآورد شدند. در نهایت با استفاده از ضرائب رگرسیونی معنی دار، مدل های پیش بینی تولید افراد جمعیت ارائه شد. تعداد رکورد ها و صفات مورد مطالعه در جدول شماره دو نشان داده شده اند.

برای ارائه مدل از رگرسیون متغیر های ظاهری بر رکورد ها استفاده گردید در این بخش با کد بندی عامل های مدل، رگرسیون کد ها بر

رکورد ها به عنوان ضرائب رگرسیون استفاده گردید. برای ژنوتیپ های KK، KA و AA کد های 1، 2 و 3. برای اثرات گله کد های 1 تا 10. سال تولد کد های 1 تا 5. جزئیات نحوه کد بندی در جدول 2 نشان داده شده است. از مدل کلی رگرسیونی زیر برای پیش بینی رکوردها استفاده گردید.

$$Y = \beta_0 + \alpha Z + \varepsilon$$

در این مدل  $Y$  میزان تولی،  $\beta_0$  میانگین،  $\alpha$  ضرائب رگرسیونی برای اثرات ژنوتیپ، گله، سال تولد، ماه تولد و سال زایش،  $Z$  کد های اثرات ژنوتیپ، گله، سال تولد، ماه تولد و سال زایش و  $\varepsilon$  میزان خطا. قابل ذکر است که ضرائب رگرسیونی معنی دار برای پیش بینی تولید در مدل نهایی مورد استفاده قرار گرفتند. در نهایت برای آزمون مدل های پیش بینی از ضریب همبستگی بین رکورد های حقیقی و پیش بینی شده (توسط مدل) استفاده گردید.

### نتایج و بحث

به منظور تائید تکثیر قطعه مورد نظر، محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز بروی ژل آگارز مورد ارزیابی قرار گرفتند. مشاهده تنها یک بانده 411 جفت بازی با کمک استفاده از نشانگر اندازه 8 PUC Mix، نشان دهنده تکثیر درست قطعه انتخاب شده از آگرون شماره 8 ژن DGAT1 و صحت انجام PCR بود.

<sup>1</sup>Fix model

جدول 2- تعداد رکورد های مورد استفاده.

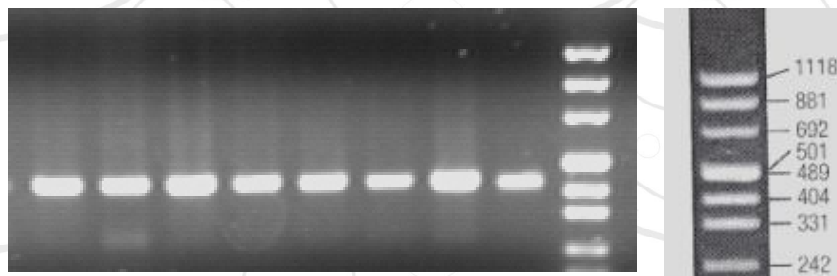
Table 2- Number of used records.

صفت Trait	شرح صفت Trait definition	تعداد رکورد برای برآورد ضریب رگرسیون Number of records for estimating regression coefficient	تعداد رکورد برای پیش بینی و برآورد همبستگی Number of records for estimating correlation coefficient
Milk <sub>305</sub>	تولید شیر بر اساس 305 روز Milk production adjusted 305 days	184	90
Milk <sub>2X</sub>	تولید شیر بر اساس دو بار دوشش در روز milk production adjusted two milking day	113	161
FAT <sub>2X</sub>	تولید چربی بر اساس دو بار دوشش در روز fat production adjusted two milking day	104	124
FAT <sub>P2X</sub>	درصد چربی بر اساس دو بار دوشش در روز fat percent adjusted two milking day	111	117
EBV <sub>FP</sub>	ارزش اصلاحی درصد چربی breeding value of fat percent	229	144

جدول 3- نحوه کد بندی عامل های مدل.

Table 3- Coding of effects model.

شماره گله Herd	110	1060	1101	1108	1155	1234	3500	3523	3524	3555		
سال تولد Year of Birth	81	82	83	84	85							
ماه تولد Month of Birth	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
سال زایش Year of parturition	83	84	85	86	87							
کد Code	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

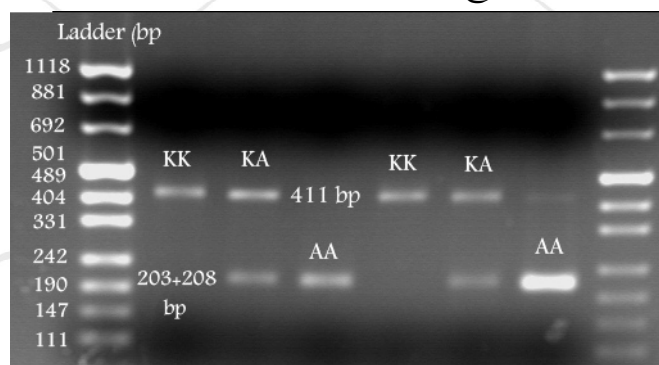


شکل 1- نتایج حاصل از انجام PCR.

**Figure 1- Results of PCR reaction.**

ژنوتیپ با نتایج (Naghdi *et al.* 2010) که فراوانی آلل های  $DGAT^A$  و  $DGAT^K$  را به ترتیب برابر با 0/67 و 0/33 در جمعیت ماده گاو های هلستاین استان اصفهان گزارش کردند تقریباً همخوانی دارد، شکل 2 نمونه ای از تعیین ژنوتیپ افراد را نشان می دهد.

در پژوهش انجام شده، جایگاه مورد مطالعه در 398 نمونه، 100 درصد چند شکلی نشان دادند، نتایج تعیین ژنوتیپ افراد مورد مطالعه نشان داد که فراوانی آلل های K و A به ترتیب برابر با 0/37 و 0/63 می باشد. همچنین فراوانی های ژنوتیپی KK، KA و AA به ترتیب برابر با 0/09، 0/56 و 0/34 برآورد گردید. نتایج تعیین



شکل 2 - نمونه ایی از تعیین ژنوتیپ افراد در جمعیت.

**Figure 2- Genotyping of samples population.**

نتایج آماری این پژوهش نشان داد که اثر ژن  $DGAT1$  به روی تمام صفات مورد مطالعه در سطح یک درصد معنی دار می باشد. جزئیات تجزیه واریانس در جدول 4 نشان داده شده است.

در پژوهشی که روی گاو های نر هلستاین استان خراسان انجام گرفت، فراوانی آلل های  $DGAT^K$  و  $DGAT^A$  برابر با 0/21 و 0/79 تخمین زده شد (Hosseinpour *et al.*, 2011).

جدول 4- نتایج حاصل از تجزیه واریانس

Table 4- Results of analysis variance.

Traits صفات	Milk305	Milk2x	FAT2x	FATp2x	EBVFP
F-value ارزش F	7.30	9.18	7.07	17.51	9.30
P ارزش P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
P-value					

در این مدل 9601/37 میانگین، 587/87 ضریب رگرسیون ژنوتیپ، 288/78 ضریب رگرسیون گله و 1917/94- ضریب رگرسیون سال تولد.  $Z_1$ ،  $Z_2$  و  $Z_3$  کد های اثرات ژنوتیپ، گله و سال تولد.

در این پژوهش به دلیل اینکه ضرایب رگرسیون برآورد شده برای اثرات مدل صفات  $FAT_{2X}$  و  $Milk_{2x}$  معنی دار نبودند، مدل پیش بینی برای این صفات ارائه نگردید. نتایج حاصل از میزان ضریب همبستگی بین رکورد های حقیقی و پیش بینی شده در جدول 5 خلاصه شده اند.

با استفاده از برآورد ضرائب رگرسیون مدل- های پیش بینی صفات به شرح زیر ارائه شدند.  
 $Y_{EBVFP} = -0.116 + 0.034Z_1 + 0.013Z_2$   
 در این مدل 0/116 میانگین، 0/034 ضریب رگرسیون برای اثر ژنوتیپ، 0/013 ضریب رگرسیون برای اثر گله و  $Z_1$  و  $Z_2$  کد های اثرات ژنوتیپ و گله می باشند.

$Y_{FATP2X} = 3.486 + 0.062Z_1 - 0.056Z_2 - 0.002Z_3$   
 در این مدل 3/486 میانگین، 0/062 ضریب رگرسیون برای ژنوتیپ، -0/056 ضریب رگرسیون برای اثر گله و -0/002 ضریب رگرسیون برای ماه تولد.  $Z_1$ ،  $Z_2$  و  $Z_3$  کد های اثرات ژنوتیپ، گله و ماه تولد می باشد.

$$Y_{Milk305} = 9601.37 + 587.87Z_1 + 288.78Z_2 - 1917.94Z_3$$

جدول 5- ضرائب همبستگی بین رکورد های پیش بینی شده و رکورد های حقیقی.

Table 5- Correlation coefficients between predicted and true records.

صفات Traits	Milk <sub>305</sub>	FAT <sub>P2X</sub>	EBV <sub>FP</sub>
ضریب همبستگی Correlation coefficient	+0.45**	+0.18*	+0.28**

\* معنی داری در سطح 0/05 \*\* معنی داری در سطح 0/01

\*\*Significant in level 0.01

\*Significant in level 0.05



ها (SNP50K) و رکوردهای (1227) مورد استفاده در دو پژوهش می باشد. با وجود اینکه مقدار ضرایب همبستگی به میزان کمی برآورد شدند، اما از نظر آماری معنی دار تشخیص داده شدند که این امر با توجه به واریانس ناشی از DGAT1 برای این صفات قابل توجیه می باشد. نتایج حاصل از واریانس ناشی از ژن بیان کننده این مطلب است که بخش اعظم واریانس صفات  $FAT_{P2X}$ ،  $Milk_{305}$  و  $EBV_{FP}$  در جمعیت به وسیله جایگاه ژن DGAT1 کنترل می شود. با توجه به این که صفت مورد مطالعه جز صفات پلی ژنیک می باشد و توسط جایگاه های زیادی کنترل می شود (به این معنا که هر کدام از این جایگاه ها بخشی از واریانس مربوط به صفت را در جمعیت کنترل می کنند)، اما با این حال واریانس ناشی از ژن DGAT1 نشان دهنده اثر قابل توجه این ژن در جمعیت می باشد. به طوری که مطالعات نشان دادند واریانس جایگاه ژن DGAT1 برای صفات  $FAT_{P2X}$ ،  $Milk_{305}$  و  $EBV_{FP}$  به ترتیب برابر با 3/07، 0/82 و 0/89 درصد می باشد (Kharrati koopae et al., 2011).

با توجه به ضرائب همبستگی صفات  $FAT_{P2X}$ ،  $Milk_{305}$  و  $EBV_{FP}$  می توان دریافت که مدل های ارائه شده توانسته است تا حدودی رکورد های افراد جمعیت را پیش بینی کند. یکی از مهم ترین دلایل پایین بودن ضرائب همبستگی این است که صفات مورد مطالعه جز صفات پلی ژنیک هستند و تحت کنترل تعداد زیادی ژن هستند، در صورتی که تنها اثر یک ژن بزرگ اثر (DGAT1) در مدل وارد شده است. یکی از دلایل دیگر پایین بودن ضرائب همبستگی استفاده از تعداد کم رکورد می باشد، پر واضح است که با افزایش تعداد رکورد ها می توان ضرائب رگرسیون را دقیق تر برآورد کرد و ضریب همبستگی را افزایش داد. قابل ذکر است که با بسط مدل های ارائه شده و وارد کردن سایر اثرات موثر بر تولید به خصوص ژن های بزرگ اثر دیگر می توان پیش بینی دقیق تری از رکوردهای تولید داشت. بهترین نمونه برای این مطلب مقایسه نتایج این پژوهش با نتایج پژوهش انجام شده در کشور لهستان می باشد (Szyda et al., 2005). مهم ترین عامل تفاوت قابل توجه میان ضرائب همبستگی ها، مربوط به تعداد SNP

#### منابع

- Bazargan-Lari A (2005). Applied Linear Regression. Shiraz university press, Shiraz, Iran. 235-245 (In Farsi).
- Coppieters W, Riquet J, Arranz JJ, Berzi P, Cambisano N, Grisart B, Karim L, Marcq F, Moreau L, Nezer C, Simon P, Vanmanshoven P, Wagenaar D, Georges M (1998). A QTL with major effect on milk yield and composition maps to bovine Chromosome 14. Mammalian Genome 9: 540-544.
- Geldermann, H. 1975. Investigation on inheritance of quantitative characters in animal by gene markers. Theoretica and Applied Genetics 46: 319-330.

- Grisart B, Coppieters W, Farnir F, Karim L, Ford C, Berzi P, Cambisano N, Reid S, Simon P, Spelman R, Georges M, Snell R (2002). Positional candidate cloning of a candidate gene in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. *Genome Research* 12: 222–231.
- Hayes BJ, Bowman PJ, Chamberlain AJ, Goddard ME (2009). Genomic selection in dairy cattle: progress and challenges. *Journal of Dairy Science* 92: 433–443.
- Hosseinpour Mashhadi M, Nassiry MR, Mahmoudi M, Rastin M, Kashan NEJ, Vaez Torshizi R, Tabasi N, Noorae SE (2012). Polymorphism and sequencing of DGAT1 gene in Iranian Holstein bulls. *Iranian Journal of Applied Animal Science* 2: 63-67.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/eu077528>.
- Kaupe B, Winter A, Fries R, Erhardt G (2004). DGAT1 polymorphism in *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle breeds. *Journal of Dairy Research* 71: 182-187.
- Kharrati koopae H, Mohammad abadi MR, Ansari S, Esmailzade Koshkoiyeh A, Tarang AR, Nikbakhti M (2011). Genetic variation of DGAT1 gene and its association with milk production in Iranian Holstein cattle breed population. *Iranian Journal of Animal Science Researches* 3: 185-192 (In Farsi).
- Lien S, Rogne S, Brovold MJ, Alestrom P (1990). A method for isolation of DNA from frozen (A.I.) bulls semen. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 107: 74-78.
- Liu Z (2010). Dairy cattle genetic evaluation enhanced with genomic information. *Proceedings of the 9<sup>th</sup> WCGALP, Leipzig, Germany*: 123-127.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF (1988). A simple salting-out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research* 16: 1215.
- Naghdi N, Edris MA, Rahmani HR, Khorvash M (2010). Effect of the DGAT1 gene polymorphism on milk production and reproductive traits in Iranian Holstein cows. *Proceedings of 4<sup>th</sup> national congress of Animal Science. Iran, Tehran University, 2911-2914* (In Farsi).
- Riquet J, Coppieters W, Cambisano N, Arranz JJ, Berzi P, Davis SK, Grisart B, Farnir F, Karim L, Mni M, Simon P, Taylor JF, Vanmanshoven , Wagenaar D, Womack JE, Georges M (1999). Fine-mapping of quantitative trait loci by identity by descent in outbreed populations: application to milk production in dairy cattle.USA, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 16: 9252–9257.
- 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.
- Szyda J, Żarnecki A, Suchocki T, Kamiński S (2011). Fitting and validating the genomic evaluation model to PolishHolstein-Friesian cattle. *Journal of Applied Genetics* 52: 363-366.
- Szyda J, Liu Z, Reinhardt F, Reents R (2005). Estimation of quantitative trait loci parameters for milk production traits in German Holstein dairy cattle population. *Journal of Dairy Science* 88: 356-367.
- Thaller G, Kramer W, Winter A, Kaupe B, Erhardt G and Fries R (2003). Effects of DGAT1 variants on milk production traits in German cattle breeds. *American Society of Animal Science* 81: 1911-1918.
- VanRaden PM, Van Tassell CP, Wiggans GR, Sonstegard TS, Schnabel RD, Taylor JF, Schenkel FS (2009). Invited Review: Reliability of genomic predictions for North American Holstein bulls. *Journal of Dairy Science* 92: 16–24.

## Model for prediction of fat and milk production traits using of DGAT1 gene polymorphism in Iranian Holstein cattle population

Kharrati koopaei H.\*<sup>1</sup>, Mohammadabadi M.R.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduated MSc student, Department of Animal Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran.

<sup>2</sup>Associate professor, College of Agriculture, Department of Animal Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran.

### Abstract

The results of multiple QTL mapping design in recent years, quantitative trait loci for milk fat percentage and milk yield was described in BTA14. With the coding of diacylglycerol-acyltransferase enzyme, DGAT1 gene has the main role in the triglyceride synthesis and finally fat milk synthesis. In this research, 398 blood samples were collected from Tehran and Esfahan province. In PCR reaction, 411 bp fragment of exon 8 DGAT1 gene was amplified. Finally, genotyping population was performed using RFLP-PCR technique. Three genotypes such as KK, AA and KA were detected. Frequencies of DGAT1 alleles (K and A) were estimated 0.37 and 0.63 respectively. Using of fitted fixed model and animals 'records significant traits were recognized. Finally using of parameters coding and regression model prediction models were presented. Correlation coefficient was utilized for validation of prediction models. The results of this study indicated presented model can be prediction of Milk<sub>305</sub> (milk production adjusted for milking in 305 days), EBV<sub>FP</sub> (estimated breeding value for milk fat percentage, %) and FAT<sub>P2X</sub> (milk fat percentage adjusted for two milking per day, %) traits in population.

**Key words:** DGAT1 gene, regression, prediction of production and correlation.

---

\* Corresponding Author: Kharrati koopaei H.

Tel: 09373371547

Email: h.kharrati.ko@gmail.com

Present address: Ph.D student, College of Agriculture, Institute of Biotechnology, Shiraz University.

