Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Research on Animal Production, Vol. 17, Issue 2, 2026 p: 108-117

OPEN ACCESS

Research Paper

Identification of Genomic Regions Related to Methane Release for Kilo-Gram Milk Protein and Rumen pH in Holstein Cattle

Fatemeh Esmaeili Lima[1], Hossein MoradiShahrbabak[2], Mohammad Moradi Shahrbabak[3] and Ali Jalil Sarghale[4]

1- M.Sc., Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

2- Associate Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, (Corresponding author: hmoradis@ut.ac.ir)

3- Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

4- Ph.D, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Received: 30 September, 2025 Revised: 18 December, 2025 Accepted: 02 February, 2026

Extended Abstract

Background: Climate change and the increase in greenhouse gases are among the most important environmental challenges of the present century, to which the agricultural sector, especially animal husbandry, has a significant contribution. Methane emission through anaerobic fermentation processes in the rumen of ruminants, as one of the main sources of this gas, has attracted the attention of researchers. Reducing methane emissions not only helps improve environmental conditions but also can increase production efficiency and feed use efficiency in livestock. With the advancement of genetic and molecular technologies, livestock genetic improvement has been proposed as a long-term and sustainable solution to reduce greenhouse gas emissions. This approach, by utilizing the genetic diversity existing in livestock populations, enables the selection and breeding of animals with desirable environmental and production traits. However, the success of genetic improvement depends on the accurate understanding of the genetic structure of the desired traits and the determination of relevant genomic regions. In this context, genome-wide association studies (GWAS) have been recognized as an efficient tool for discovering associations between broad genetic markers and complex traits. By simultaneously examining thousands of SNPs across the genome, this method allows the identification of genetic loci affecting traits of multigenic origin. Despite the widespread use of GWAS in genetic studies of dairy cattle for traits, such as milk production and disease resistance, its application to traits related to methane emission and rumen parameters has not yet been fully investigated. This research mainly aimed to investigate genomic association and identify regions affecting methane emission per kilogram of milk protein and rumen pH in Holstein cattle. The results of this study can help develop breeding programs that simultaneously increase productivity and reduce the environmental impacts of livestock farming.

Methods: Hair and rumen fluid samples of 150 Holstein cows based on the two-way milk yield trait breeding values were collected to investigate methane emission per kg of milk protein and rumen pH. Ruminal fluid was sampled using an esophageal tube, which was inserted into the rumen through the esophagus and approximately 5 mL of rumen fluid was collected in the tube by creating a vacuum. After sampling, the concentration of volatile fatty acids in the rumen fluid was measured and used as an indicator for estimating methane emission per animal. The rumen fluid pH was also measured directly. DNA extracted from hair samples was genotyped using a 4v LD-GGP SNP chip containing 30108 single-nucleotide polymorphism (SNP) markers. GWAS was performed using the PLINK 2.0 package. Finally, the cattle QTLdb database (https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/BT/index) was used to determine the quantitative trait loci (QTL) associated with significant SNPs. This search was performed within a one-megabase region around the SNPs passing the Bonferroni correction threshold for each chromosome to identify genomic regions associated with the target traits.

Results: Least squares analysis of variance using the GLM procedure showed that the effect of breeding season and animal age was significant on the predicted methane emission trait ($P < 0.05$).

Copyright ©2026. Esmaeili Lima et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 Unported License, which allows users to read, copy, distribute, and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited properly.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-17]

[DOI: DOI: 10.61882/rap.2026.1533]

Two significant SNPs were identified in this study. One SNP with the identifier BovineHD1900001716 was associated with the methane emission trait per kilogram of milk protein on chromosome 19, and the SNP with the identifier BovineHD1700012101 was associated with the rumen pH trait on chromosome 17. Using genomic annotation, QTL regions associated with milk production traits and their components, body weight, residual feed intake, pregnancy rate, dystocia, and stillbirth were identified around these SNPs.
Conclusion: The results of this research show that some of the identified genes and QTLs simultaneously affect environmental traits (such as methane emission), economic traits (such as body weight and milk production), and physiological characteristics related to lactation and parturition periods. Based on the performed genomic analyses, some traits were identified that play a role in controlling production performance and reducing greenhouse gas emissions simultaneously. These findings double the importance of using genetic and genomic information in breeding programs and livestock management. The results of this research also indicate that targeted genetic selection can be used as a sustainable and long-term approach to reduce methane emission rates in each animal. Therefore, the livestock genetic improvement not only helps improve production and reproductive traits by creating cumulative and permanent changes in performance but also simultaneously reduces the environmental impacts of livestock production systems, including greenhouse gas emissions. Utilizing this approach can create a more sustainable future for the livestock industry.

Keywords: Genomic selection, Genome-wide association study, Holstein cattle, Methane emissions, PH

How to Cite This Article: Esmaeili Lima, F., MoradiShahrbabak, H., MoradiShahrbabak, M., & Jalil Sarghale, A. (2026). Identification of Genomic Regions Related to Methane Release for KiloGram Milk Protein and Rumen pH in Holstein Cattle. *Res Anim Prod,* 17(2), 108-117. DOI: 10.61882/rap.2026.1533

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-17]
[DOI: DOI: 10.61882/rap.2026.1533]

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مقاله پژوهشی

شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با صفات میزان انتشار متان به ازای کیلوگرم پروتئین شیر و pH شکمبه در گاوهلشتاین

فاطمه اسماعیلی لیما[۱]، حسین مرادی شهر بابک[۲]، محمد مرادی شهر بابک[۳] و علی جلیل سرقلعه[۴]

۱- کارشناسی ارشد، گروه مهندسی علوم دامی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
۲- دانشیار، گروه مهندسی علوم دامی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران، (نویسنده مسوول: hmoradis@ut.ac.ir)
۳- استاد، گروه مهندسی علوم دامی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
۴- دکتری، گروه مهندسی علوم دامی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۰۸ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۹/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۱۳
صفحه: ۱۰۸ تا ۱۱۷

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: تغییرات اقلیمی و افزایش گازهای گلخانه‌ای از مهم‌ترین چالش‌های زیست محیطی قرن حاضر هستند که بخش کشاورزی به‌ویژه دامپروری سهم قابل توجهی در آن دارد. انتشار متان از طریق فرآیندهای تخمیر بی‌هوازی در شکمبه نشخوارکنندگان، به‌عنوان یکی از منابع اصلی این گاز، توجه پژوهشگران را به خود جلب کرده است. کاهش انتشار متان نه‌تنها به بهبود شرایط زیست محیطی کمک می‌کند، بلکه می‌تواند بازده تولیدی و کارایی استفاده از خوراک در دام‌ها را افزایش دهد. با پیشرفت فناوری‌های ژنتیکی و مولکولی، اصلاح ژنتیکی دام به‌عنوان یک راهکار بلند مدت و پایدار جهت کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای مطرح شده است. این رویکرد با بهره‌گیری از تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت‌های دام، امکان انتخاب و پرورش حیواناتی با صفات مطلوب زیست محیطی و تولیدی را فراهم می‌آورد. با این‌حال، موفقیت اصلاح ژنتیکی وابسته به شناخت دقیق ساختار ژنتیکی صفات مورد نظر و تعیین نواحی ژنومی مرتبط است. در این زمینه، روش پویش کل ژنومی (GWAS) به‌عنوان یک ابزار کارآمد برای کشف ارتباط بین نشانگرهای ژنتیکی گسترده و صفات پیچیده شناخته شده است. این روش با بررسی همزمان هزاران SNP در سراسر ژنوم، امکان شناسایی جایگاه‌های ژنتیکی مؤثر بر صفات با منشأ چندژنی را فراهم می‌کند. با وجود کاربرد گسترده GWAS در مطالعات ژنتیکی دام‌های شیری برای صفاتی مانند تولید شیر و مقاومت به بیماری، کاربرد آن برای صفات مرتبط با انتشار متان و پارامترهای شکمبه‌ای هنوز به‌طور کامل بررسی نشده است. هدف اصلی این پژوهش، بررسی ارتباط ژنومی و شناسایی نواحی مؤثر بر میزان انتشار متان به‌ازای هر کیلوگرم پروتئین شیر و pH شکمبه در گاو هلشتاین است. نتایج این مطالعه می‌توانند به توسعه برنامه‌های اصلاح نژادی کمک کنند که همزمان با افزایش بهره‌وری، اثرات زیست محیطی دامپروری را کاهش دهند.

مواد و روش‌ها: از ۱۵۰ رأس گاو هلشتاین براساس ارزش‌های اصلاحی صفت تولید شیر دوطرفه نمونه‌های مو و مایع شکمبه به‌منظور بررسی صفات، انتشار متان به‌ازای هر کیلوگرم پروتئین شیر تولیدی و pH شکمبه جمع‌آوری گردید. جهت نمونه‌گیری مایع شکمبه با استفاده از لوله مری، لوله از طریق مری وارد محیط شکمبه شد و با ایجاد خلأ، حدود ۵ میلی‌لیتر مایع شکمبه در لوله جمع‌آوری شد. پس از نمونه‌برداری، غلظت اسیدهای چرب فرار موجود در مایع شکمبه اندازه‌گیری شد که از این پارامتر به‌عنوان شاخصی برای برآورد میزان انتشار متان به‌ازای هر حیوان مورد استفاده قرار گرفت. همچنین، pH مایع شکمبه به‌صورت مستقیم اندازه‌گیری شد. DNA استخراج‌شده از نمونه‌های مو با استفاده از تراشه (SNP 4v LD-GGP) شامل ۳۰،۱۰۸ نشانگر پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی (SNP) ژنوتایپ شد. GWAS با بهره‌گیری از پکیج PLINK 2.0 انجام گرفت. در نهایت، برای تعیین جایگاه‌های صفات کمی (Quantitative Trait Loci - QTL) مرتبط با SNPهای معنادار، از پایگاه داده QTLdb (https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/BT/ index) گاو استفاده شد. این بررسی در محدوده یک مگاباز اطراف SNPهای گذرنده از آستانه تصحیح بنفرونی به‌ازای هر کروموزوم صورت گرفت تا نواحی ژنومی مرتبط با صفات هدف شناسایی شوند.

یافته‌ها: آنالیز تجزیه واریانس حداقل مربعات با استفاده از رویه GLM نشان داد که اثر بهاربند و سن حیوان برای صفت انتشار متان پیش‌بینی شده معنی‌دار بود ($P < 0.05$). در این مطالعه، دو SNP معنادار شناسایی شدند. یک SNP با شناسه BovineHD1900001716 با صفت انتشار متان به‌ازای هر کیلوگرم پروتئین شیر در کروموزوم ۱۹ مرتبط بود و SNP با شناسه BovineHD1700012101 با صفت pH شکمبه در کروموزوم ۱۷ ارتباط داشت. همچنین، نواحی QTL مرتبط با صفات تولید شیر و ترکیبات آن، وزن بدن، مصرف خوراک باقی‌مانده، نرخ آبستنی، سخت‌زایی و مرده‌زایی در اطراف این SNPها با استفاده از Annotating ژنومی شناسایی شدند.

نتیجه‌گیری: برخی ژن‌ها و QTLهای شناسایی شده به‌طور همزمان بر صفات زیست محیطی مانند انتشار متان، صفات اقتصادی نظیر وزن بدن و تولید شیر و همچنین ویژگی‌های فیزیولوژیکی مربوط به دوره شیردهی و زایش تأثیرگذار هستند. بر اساس تحلیل‌های ژنومی انجام‌شده، صفاتی مشخص شدند که در کنترل همزمان عملکرد تولیدی و کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای نقش دارند. این یافته‌ها اهمیت استفاده از اطلاعات ژنتیکی و ژنومی را در برنامه‌های اصلاح نژادی و مدیریت پرورش دام دوچندان می‌سازند. طبق نتایج این تحقیق، انتخاب ژنتیکی هدفمند می‌تواند به‌عنوان یک رویکرد پایدار و بلندمدت برای کاهش نرخ انتشار متان در هر حیوان مورد استفاده قرار گیرد. بنا بر این، اصلاح ژنتیکی دام‌ها نه‌تنها با ایجاد تغییرات تجمعی و دائمی در عملکرد، به بهبود ویژگی‌های تولیدی و باروری کمک می‌کند، بلکه به‌طور همزمان موجب کاهش اثرات زیست محیطی سیستم‌های دامی، از جمله انتشار گازهای گلخانه‌ای، خواهد شد. بهره‌گیری از این رویکرد می‌تواند آینده‌ای پایدارتر برای صنعت دامپروری رقم بزند.

واژه‌های کلیدی: انتخاب ژنومی، انتشار متان، گاو هلشتاین، مطالعه ارتباط پویش کل ژنومی، pH

مقدمه

متان یک گاز بی‌رنگ و بی‌بو با پتانسیل گرمایش جهانی ۲۷/۲ برابر بیشتر از دی‌اکسیدکربن (CO_2) است و نیمه‌عمر آن ۱۲ سال در اتمسفر است (Edenhofer, 2015). پس از دی‌اکسیدکربن، این دومین گاز گلخانه‌ای بزرگ تولید شده توسط انسان است (Artaxo *et al*., 2007; Houghton *et al*., 2001).

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-17]

[DOI: DOI: 10.61882/rap.2026.1533]

علاوه بر این، متان قادر است ازن را در منطقه تروپوسفر جو که در آن اثر گلخانه‌ای رخ می‌دهد، افزایش دهد و سبب افزایش بخار آب استراتوسفر شود، که هر دو می‌توانند تقریباً ۷۰ درصد به نیروی تابشی گاز اضافه کنند (Lashof & Ahuja, 1990). متان از تجزیه میکروبی مواد آلی موجود در کود هنگام غیاب اکسیژن تولید می‌شود. در این شرایط، میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی بر فرآیندهای تجزیه تسلط دارند و متان را به‌عنوان بخشی از تنفس بی‌هوازی خود تولید می‌کنند (Chadwick *et al*., 2011).

متانوژن‌ها تنها میکروارگانیسم‌های شناخته شده‌ای هستند که قادر به تولید متان هستند، که آن‌ها را در هنگام بررسی راهکارهای کاهش متان مورد توجه قرار می‌دهند (Hook *et al*., 2010). متانوژن‌ها به دامنه Archaea و شاخه Euryarchaeota تعلق دارند (Balch *et al*., 1979). متان که از کربن تشکیل شده است، هنگام خروج از بدن نشخوارکنندگان به‌عنوان منبع انرژی قابل استفاده مجدد نیست و این منجر به اتلاف قابل توجه انرژی می‌شود؛ به‌طوری که حدود ۱۲ که از انرژی دریافتی ناخالص این حیوانات به‌صورت متان از دست می‌رود که اثر منفی بر بهره‌وری تولیدی آن‌ها دارد (Pszczola *et al*., 2018; Tseten *et al*., 2022).

مطالعات نشان داده‌اند که افزایش دما و رطوبت فراتر از حد معین در گاوهای شیری به کاهش تولید شیر، محتوای پروتئین شیر و باروری منجر می‌شود که این عوامل می‌توانند به‌طور غیر مستقیم بر انتشار متان و عملکرد کلی دام اثرگذار باشند (Haile-Mariam *et al*., 2008; Hayes *et al*., 2003). این ارتباطات نشان دهنده ضرورت توجه هم‌زمان به بهبود صفات زیست محیطی و تولیدی در برنامه‌های اصلاح ژنتیکی دام هستند. اصلاح ژنتیکی دام یک روش به‌خصوص مقرون به‌صرفه است که تغییرات دائمی و تجمعی در عملکرد دام ایجاد می‌کند (Jalil Sarghale *et al*., 2020). با این‌حال، این رویکرد نیاز به تغییرات ژنتیکی افزایشی و زمان برای تأثیر دارد، زیرا انتخاب در طول نسل‌ها انجام می‌شود. اولین و بارزترین نیاز برای اصلاح انتخابی، روشی برای اندازه‌گیری صفات یا فنوتیپ‌های مؤثر بر انواع تولیدات دامی است. چنین اطلاعاتی می‌تواند برای ایجاد منابع بیولوژیکی تغییرات مؤثر بر فنوتیپ، مانند عوامل غیر ژنتیکی، که باید به‌طور تجربی حذف یا از نظر آماری کنترل شوند، استفاده شود (Calderón-Chagoya *et al*., 2019).

در سال ۲۰۰۶، کتابی با عنوان «سایه بلند حیوانات مزرعه‌ای» منتشر شد که در آن گزارش‌هایی پیرامون تولید گازهای گلخانه‌ای، عمدتاً متان، توسط نشخوارکنندگان ارائه گردید (Steinfeld *et al*., 2006). پس از آن، در سال ۲۰۱۰ انتخاب ژنتیکی به‌عنوان راه‌حلی برای کاهش متان تولید شده توسط نشخوارکنندگان مطرح شد (Wall *et al*., 2010). پس از آن، مطالعات صورت گرفته در این زمینه افزایش یافتند. به‌طور مثال، در سال ۲۰۱۸ نیز مطالعاتی درباره ارتباط ژنومی سطح تولید متان و کنترل ژنتیکی توسعه دستگاه گوارش در گاوهای شیری انجام شدند که در آن ۵۲ QTL مرتبط با صفات تولیدی و تولیدمثل در ۲۰ گاو شناسایی و در پنج گروه شامل راندمان خوراک، تولید شیر، اندازه بدن و وضعیت سلامت دسته‌بندی شدند (Pszczola *et al*., 2018). پروژه بین‌المللی The Resilient Dairy Genome Project (RDGP) که از سال ۲۰۱۷ آغاز شده است، با هدف توسعه ابزارهای ژنومی پیشرفته برای اصلاح نژاد گاوهای شیری مقاوم و بهره‌ور است. این پروژه چندملیتی، با همکاری کشورهای مختلف، بر بهبود راندمان مصرف خوراک و کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای، به‌ویژه متان، تمرکز دارد. یکی از ویژگی‌های مهم RDGP استفاده گسترده از داده‌های مرتبط با انتشار متان و صفات بازده خوراک (مانند مصرف ماده خشک) در گاوهای شیری است که امکان انجام انتخاب ژنتیکی دقیق‌تر و چندبعدی را فراهم می‌کند. این رویکرد داده محور، باعث تسریع در شناسایی نواحی ژنومی مؤثر بر صفات زیست محیطی و تولیدی می‌شود و ارتباط مستقیم با هدف مطالعه حاضر در شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با انتشار متان در گاو هلشتاین دارد. بنا بر این، یافته‌های این پروژه می‌توانند به‌عنوان مرجع و مکملی ارزشمند در بهبود برنامه‌های اصلاح نژادی و کاهش اثرات زیست محیطی صنعت دام‌پروری مورد استفاده قرار گیرند (Van Staaveren *et al*., 2024).

در مطالعات GWAS، هدف اصلی شناسایی SNPهایی است که ممکن است در نواحی داخل ژنی یا بین ژنی قرار داشته باشند و به‌طور غیر مستقیم، علاوه برSNPها، QTLها نیز شناسایی می‌شوند که نقش مهمی در تعیین صفات پیچیده مانند انتشار متان دارند (Mohammadi *et al*., 2022). کاهش انتشار متان از طریق انتخاب ژنتیکی یک راهکار مؤثر و پایدار محسوب می‌شود، زیرا این تغییرات قابلیت وراثت و انباشت در نسل‌های بعدی را دارند. مطالعه دهس و همکاران (De Haas *et al*., 2011) نشان داد که وراثت‌پذیری انتشار متان پیش‌بینی شده در گاوهای شیری، پس از تعدیل برای درصد چربی و پروتئین شیر، به‌ترتیب ۰/۳۵ و ۰/۵۸ است. علاوه بر این، آن‌ها از طریق تحلیل‌های GWAS چندین نشانگر ژنتیکی (SNP) مرتبط با انتشار واقعی یا پیش‌بینی‌شده متان را در نژادهای مختلف گاو شناسایی کردند که این امر امکان پیاده‌سازی انتخاب ژنتیکی دقیق برای کاهش انتشار متان را فراهم می‌سازد.

انتخاب یک صفت برای هدف اصلاحی باید با تحقیقات بنیادی مناسب در مورد پیامدهای انتخاب برای آن صفت، مانند پاسخ همبسته به سایر صفات از نظر اقتصادی همراه باشد (Manzanilla-Pech *et al*., 2016). باتوجه به این موضوع، گرمایش زمین و نقش گازهای گلخانه‌ای در ایجاد آن، یکی از موضوعات مهم مورد بررسی در بسیاری از مطالعات داخلی و خارجی است و همچنین از جمله عوامل ایجادکننده این گازها، فعالیت‌های دام‌پروری است. لذا، به‌منظور کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای باید اقدامات لازم در واحدهای دامی صورت گیرند (Rashid Sanchuli *et al*., 2024).

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-17]
[DOI: DOI: 10.61882/rap.2026.1533]

بنا بر این، در این راستا تحقیقی به‌منظور شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با انتشار متان به‌ازای یک کیلوگرم پروتئین شیر و pH شکمبه در گاو هلشتاین با استفاده از روش پویش کل ژنومی انجام شد. به‌طوری که بتوان نواحی ژنومی مرتبط با این صفت را شناسایی نمود و این فرصت فراهم شود که بتوان انتشار متان را به‌ازای هر حیوان از طریق انتخاب ژنتیکی کاهش داد.

مواد و روش‌ها

اندازه‌گیری انتشار متان در نشخوارکنندگان دشوار و پرهزینه است و به‌طور مرسوم در صنعت گاو شیری اندازه‌گیری نمی‌شود ولی یک همبستگی بالا (۰/۶۸-) بین ارزش‌های اصلاحی شیر و انتشار متان وجود دارد (Ottenstein & Bartley, 1971). بنا بر این، در تحقیق حاضر بر اساس نتایج مطالعه جیمز مونترو و همکاران (Jiménez-Montero *et al*., 2012) در رابطه با وجود همبستگی بین ارزش‌های اصلاحی تولید شیر و انتشار متان، نمونه‌گیری براساس روش ارزش‌های اصلاحی صفت تولید شیر دوطرفه انجام شد.

گاوها در یکی از شرکت‌های کشاورزی و دام‌پروری فردوس پارس براساس ارزش اصلاحی صفت تولید شیر از بزرگ به کوچک مرتب شدند و ۱۵۰ راس گاو ماده برای نمونه‌گیری انتخاب شدند. این ۱۵۰ حیوان به دو زیرجمعیت ۷۵ راسی تقسیم شدند که یک زیرجمعیت دارای بیشترین ارزش اصلاحی و زیرجمعیت دیگر دارای کم‌ترین ارزش اصلاحی برای صفت تولید شیر بودند. این داده‌ها توسط جلیل سرقلعه و همکاران (Jalil Sarghale *et al*., 2021) جمع‌آوری شده‌اند. از مایع شکمبه نمونه‌گیری شد و سپس pH نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. همچنین، نمونه‌های مو بر اساس پروتکل شرکت GeneSeek گرفته و در کارت مو مخصوص این شرکت قرار داده شدند. براساس این پروتکل، موها در ناحیه دم گاو در خلاف جهت دم جدا می‌شد تا پیاز مو کافی جهت استخراج DNA وجود داشته باشد. ارزش اصلاحی صفت تولید شیر برای این گاوها توسط مرکز اصلاح نژاد و بهبود تولیدات دامی کشور از طریق معادله زیر تخمین زده شد (رابطه ۱).

رابطه (۱)

$$yij = \mu + hysi + aij + eij$$

در این مدل، yij تولید شیر (برای ۳۰۵ روز و دو بار دوشش تصحیح شده)، μ میانگین جمعیت، hysi اثر گله، سال، فصل زایش، aij ارزش اصلاحی دام زام در گله، سال، فصل زایش‌ام و eij اثر باقی‌مانده هستند.

اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه از طریق روش ارائه شده توسط اوتنستین و همکاران (Ottenstein *et al*., 1971) در آزمایشگاه تغذیه دام گروه علوم دامی دانشگاه تهران اندازه‌گیری شدند. در این روش، لوله‌های حاوی مایع شکمبه به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۳۵۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. سپس، ۴۰۰ میکرولیتر مایع‌رویی برداشته و به آن ۱۰۰ میکرولیتر استاندارد داخلی (۴-متیل والریک‌اسید) اضافه گردید. در ادامه، این نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار در دستگاه کروماتوگرافی گازی (Model: Philips PU4410) با ستون شیشه‌ای (۲ متر* ۴۵ میلی‌متر) بارگذاری شدند. باتوجه به وجود یک رابطه قوی بین غلظت اسیدهای چرب فرار و میزان متان تولید شده در شکمبه، بر اساس روش والین (Wolin, 1960) میزان متان تولیدی به‌ازای هر راس دام محاسبه شد. معادله مورد استفاده برای پیش‌بینی تولید متان به صورت زیر است.

رابطه (۲)

$$CH4\ (ml) = 22.4*(0.5*Ac-0.25*Pr+0.5*Bu)$$

در این رابطه CH4: میزان متان پیش‌بینی شده به‌ازای هر راس دام، Ac: مقدار غلظت استیک‌اسید، Pr: مقدار غلظت اسیدپروپیوتیک و Bu: مقدار غلظت اسیدبوتیرات هستند.

برای پیش‌بینی کل متان تولیدی روزانه به‌ازای هر حیوان به‌صورت زیر عمل شد. مرحله اول: میزان خوراک مصرفی به‌ازای هر دام بر اساس روش پیشنهادی (Lindgren *et al*., 2001) محاسبه گردید. مرحله دوم: میزان کل متان تولیدی روزانه هر دام از طریق حاصل ضرب متان پیش‌بینی شده (در رابطه ۲ برای هر دام محاسبه شد) در میزان خوراک مصرف شده (که در معادله ۳ برای هر دام محاسبه شد) محاسبه شد.

رابطه (۳)

$$DMI\ (kg/day) = 5.7+0.43*kg\ milk$$

در این رابطه DMI: میزان خوراک مصرفی پیش‌بینی شده به‌ازای هر راس دام و milk: مقدار شیر تولیدی روزانه هستند.

بعد از ثبت تولید شیر روزانه، مقدار پروتئین شیر روزانه محاسبه شد. سپس با تقسیم مقدار متان تولیدی روزانه به کل پروتئین شیر روزانه، مقدار متان به‌ازای یک کیلوگرم پروتئین مشخص شد. کارت‌مو ۱۵۰ حیوان جهت ژنوتایپینگ برای شرکت GeneSeek در کشور آمریکا فرستاده شد و این نمونه‌ها با GGP-LDv4 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).

Animal call rate: در این معیار حیوانات با بیش از ۵ درصد ژنوتایپ از دست‌رفته حذف گردیدند.

فراوانی آلل حداقل: (allele Minor =MAFfrequency) SNPهای باMAF کمتر از ۱ درصد حذف گردیدند.

SNP call rate SNPهایی که برای بیش از ۵ درصد حیوانات ژنوتایپ نشده بودند، حذف گردیدند.

تعادل هاردی-واینبرگ: جایگاه‌هایی که *P*-Value آزمون کای‌اسکور آنها کمتر از 10^{-6} بود، 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 (SAS, 2002).

آنالیز ارتباط بین ژنوتیپ‌ها و صفت انتشار متان با استفاده از یک مدل خطی مختلط در نرم‌افزار PLINK 2.0 انجام شد (Moradi *et al*., 2012).

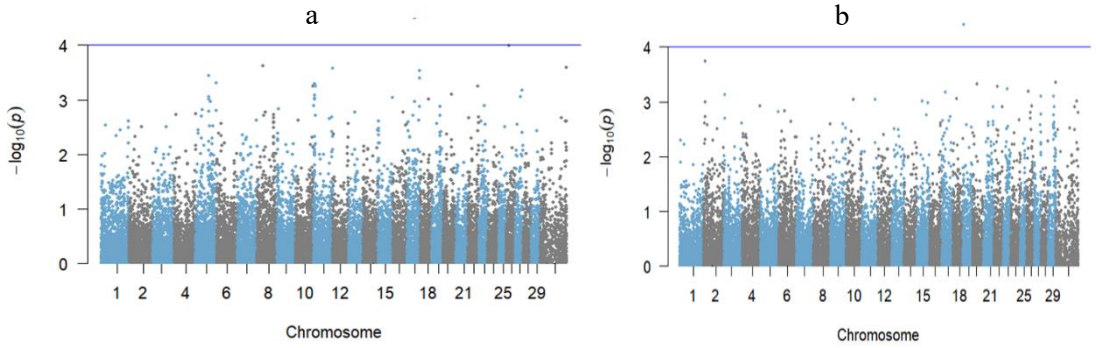
[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-17]
[DOI: DOI: 10.61882/rap.2026.1533]

برای انجام Annotating نشانگرهای ژنتیکی (SNP) معنی‌دار، از پایگاه داده QTL گاو (QTLdb) به آدرس https://www.animalgenome.org/cgibin/QTLdb/BT/index استفاده شد.

به‌منظور بررسی همپوشانی QTLهای شناسایی شده در این مطالعه با QTLهای گزارش‌شده برای سایر صفات، موقعیت هرSNP معنی‌دار (بر اساس آستانه تصحیح Bonferroni در هر کروموزوم) استخراج گردید و ناحیه‌ای به طول ۱ 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 مورد بررسی قرار گرفتند. این روند به شناسایی ژن‌ها یا QTLهای مشترک با صفات تولیدی، تولیدمثلی، متابولیکی و سایر ویژگی‌های مرتبط کمک کرد.

نتایج و بحث

آنالیز تجزیه واریانس حداقل‌مربعات با استفاده از رویه GLM نشان داد که اثر بهاربند و سن حیوان برای صفات انتشار متان به‌ازای هر کیلوگرم پروتئین شیر تولیدی و pH شکمبه معنی‌دار بود ($P < 0.05$). بعد از انجام کنترل کیفیت ژنوتایپ‌ها براساس معیارهای مطرح شده در بخش مواد و روش‌ها، ۲۳۸۳۵ SNP دارای کیفیت مناسب برای آنالیز GWAS را داشتند. نتایج GWAS برای صفات مورد مطالعه در نمودارهای منهتن در شکل ۱ (a.b) نمایان شده‌اند.



شکل ۱- نمایانگر $\log^{-10}$ برای P- values در آنالیز GWAS برای صفت pH شکمبه (a) و (b) برای صفت انتشار متان به‌ازای یک کیلوگرم پروتئین شیر. خط آبی رنگ افقی نشان‌دهنده آستانه ارتباط پیشنهادی ($P < 10^{-4}$)

Figure 1. The plot log-10 of P-values in GWAS analysis for the pH rumen trait (a) and (b) for the methane emission trait per kilogram of protein trait. The horizontal blue line indicates the proposed association threshold ($P < 10^{-4}$).

همان‌طور که در شکل ۱ (a, b) مشاهده می‌شود، بر اساس آستانه ارتباط پیشنهادی ($P < 10^{-4}$) در هر یک از صفات، یک SNP از این آستانه عبور کرده است. علاوه بر این، پس از اعمال تصحیح بنفرونی برای هر کروموزوم، دو SNP معنادار شناسایی شدند که مشخصات آن‌ها در جدول ۱ آورده شده‌اند.

به‌طوری‌که SNP مربوط به صفت pH شکمبه روی کروموزوم ۱۷ و SNP مرتبط با انتشار متان به‌ازای هر کیلوگرم پروتئین شیر روی کروموزوم ۱۹ قرار دارند. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، هر دو SNP معناداری یکسانی دارند.

جدول ۱- SNP و کروموزوم‌های مربوط به صفات انتشار متان به‌ازای یک کیلوگرم پروتئین شیر و pH

Table 1. SNAP and chromosomes related to methane emission traits per kilogram of protein and pH

Trait صفت	Chromosome کروموزوم	SNP اسنیپ	Position موقعیت (bp)	*P*-value
pH	17	BovineHD1700012101	43654011	3/17*10-5
CH4/Pr	19	BovineHD1900001716	6674307	3/92*10-5

تنوع ژنتیکی موجود در توالی DNA حیوانات، فرصت ارزشمندی را برای پیش‌بینی دقیق‌تر ارزش‌های اصلاحی و شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با صفات اقتصادی فراهم کرده‌است. انتخاب به کمک نشانگرها به‌طور گسترده‌ای برای شناسایی QTLهای مرتبط با صفات مهم در دام‌های اهلی به‌کار گرفته شده است (Dekkers, 2004). این پیشرفت‌ها زمینه‌ساز کاربرد انتخاب ژنومیک در صنعت دام‌پروری شده‌اند، به‌گونه‌ای که پرورش دهندگان می‌توانند بر اساس داده‌های متراکم نشانگرهای DNA، ارزش‌های اصلاحی را در مراحل اولیه زندگی حیوانات پیش‌بینی کنند (Meuwissen *et al*., 2001; Nejati-Javaremi *et al*., 1997). در این راستا، GWAS به‌عنوان ابزاری کلیدی برای شناسایی ژن‌های کاندید، هاپلوتیپ‌ها و چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی مرتبط با صفات تولیدی مطرح است (Pearson & Manolio, 2008). نتایج Annotating برای شناسایی QTLها در نواحی معنی‌دار مربوط به صفات انتشار متان به‌ازای هر کیلوگرم پروتئین شیر و pH در جدول ۲ نشان داده شده‌اند.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-17]
[DOI: DOI: 10.61882/rap.2026.1533]

اگرچه هیچ QTL مستقیمی برای صفت انتشار متان در اطراف SNPهای معنی‌دار گزارش نشده است، اماQTLهای مرتبط با صفات تولید شیر و ترکیبات آن، وزن بدن، مصرف خوراک باقی‌مانده، نرخ آبستنی، سخت‌زایی و مرده‌زایی در نزدیکی برخی از این SNPها مشاهده شده‌اند (جدول ۲).

این یافته‌ها بیانگر ارتباط ژنتیکی پیچیده و همپوشانی میان صفات زیست محیطی و تولیدی هستند که می‌توانند در برنامه‌های اصلاح نژادی برای کاهش انتشار متان و بهبود عملکرد تولیدی مورد استفاده قرار گیرند.

جدول ۲- QTLهای مربوط به SNPها و عملکرد آن‌ها

Table 2. QTLs related to SNPs and their function

Abbreviation نماد	Trait Name نام صفت	SNPs اسنیپ	Chromosome کروموزوم
ADG	Average daily gain	BovineHD1900001716	19
CALEASE	Calving ease		
PREGRATE	Pregnancy rate		
SB	Stillbirth		
NM	Net merit		
SCS	Somatic cell score		
EY	Milk energy yield	BovineHD1700012101	17
FP	Milk fat percentage		
MFA-C15:0	Milk pentadecylic acid content		
PY	Milk protein yield		
MY	Milk yield		
PTAT	PTA type		

انتشار متان در گاوهای شیری به‌عنوان یکی از منابع اصلی گازهای گلخانه‌ای و عاملی مؤثر در کاهش انرژی قابل استفاده از خوراک، اهمیت بالایی در اصلاح نژاد و مدیریت زیست محیطی دارد. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که صفات مرتبط با تولید متان زمینه ژنتیکی دارند و می‌توان با استفاده از انتخاب مبتنی بر نشانگر و انتخاب ژنومیک، نرخ تولید متان را در گاوهای شیری کاهش داد (Halachmi *et al*., 2011).

صفات مرتبط با SNP معنی‌دار برای pH شکمبه (جدول ۲) به‌طور مستقیم با کارایی لاکتاسیون و متابولیسم انرژی مرتبط هستند. از سوی دیگر، pH شکمبه با افزایش غلظت هیدروژن کاهش می‌یابد و این افت pH موجب کاهش کارایی تخمیر میکروبی و بهره‌وری هضمی می‌شود (Weimer, 1996). آرکئاهای متانوژن با استفاده از هیدروژن، گاز متان تولید و به پایداری pH کمک می‌کنند (Cottle *et al*., 2011; Hungate, 1967; Morgavi *et al*., 2010). همچنین، کاهش pH با افزایش ناپدید شدن اسیدهای چرب فرار از جمله پروپیونات و بوتیرات همراه است که نقشی کلیدی در مسیرهای تولید متان دارند (Dijkstra *et al*., 1993).

از آن‌جا که صفات شناسایی‌شده در رابطه با pH شکمبه با بهره‌وری شیردهی، سوخت و ساز و احتمالاً عملکرد تخمیری شکمبه مرتبط هستند، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که تنوع ژنتیکی در این ناحیه ممکن است از طریق تأثیر بر ترکیب میکروبی شکمبه یا تنظیم متابولیسم میزبان، در عملکرد حیوان و تولید متان نقش داشته باشد. بنا بر این، این SNP می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر ژنتیکی مؤثر جهت انتخاب دام‌هایی با بازدهی تغذیه‌ای بالا، کاهش گازهای گلخانه‌ای و عملکرد شیردهی بهینه در برنامه‌های اصلاح‌نژادی مدنظر قرار گیرد. ارتباط بین ترکیب شیر و عملکرد تولیدمثلی نیز در مطالعات مختلف گزارش شده است. غلظت پروتئین شیر با فواصل زایش، رفتار دام، نرخ تلقیح موفق، کاهش روزهای باز و افزایش نرخ باروری ارتباط مثبت دارد (Fahey *et al*., 2003; Patton *et al*., 2007; Kennedy *et al*., *1999*). این ارتباطات نشان می‌دهند که صفات ترکیب شیر می‌توانند به‌عنوان شاخص‌های غیر مستقیم برای بهبود صفات تولید مثلی و کاهش انتشار متان مورد استفاده قرار گیرند. علاوه بر این، صفت انتشار متان به‌ازای هر کیلوگرم پروتئین شیر می‌تواند به‌عنوان یک شاخص مهم در برنامه‌های اصلاح نژاد جهت کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای در گاوهای شیری مورد توجه قرار گیرد. ارتباط این صفت با ویژگی‌های ژنتیکی خاص، وجود مکانیسم‌های زیستی متابولیکی را نشان می‌دهد که همزمان بر ترکیب شیر و متابولیسم شکمبه تأثیر می‌گذارند. یافته‌های پیشین نیز نشان داده‌اند که تغییرات در ترکیب شیر، به‌ویژه پروتئین و چربی، می‌توانند شاخصی برای میزان تولید متان باشند. همچنین، اسیدهای چرب زنجیر کوتاه که در تولید متان نقش دارند، پیش‌ساز اسیدهای چرب تولید کننده شیر هستند و ارتباط بالایی بین تولید متان و ترکیب شیر پیش‌بینی شده است، که این نتایج با QTLهای یافت‌شده در جدول ۲ نیز همخوانی دارند (Miettinen & Huhtanen, 1996; Mohammed *et al*., 2011).

علاوه بر این، SNPهای شناسایی‌شده در مطالعات GWAS در مناطقی مرتبط با تنظیم فرآیندهای متابولیکی نظیر مسیر mTOR (mammalian Target of Rapamycin) و ژن‌هایی مانند RPTOR، تأییدکننده نقش مهم ژنوم میزبان در کنترل شدت انتشار متان از طریق تأثیر بر فرآیندهای زیستی مرتبط با تولید شیر و فعالیت میکروبی شکمبه هستند (Roehe *et al* 2016., 2014; Saxton & Sabatini, 2017).

مطالعات ژنتیکی اخیر نیز یافته‌های ما را تأیید می‌کنند. به‌عنوان نمونه، مازانیلا پچ و همکاران (Manzanilla-Pech *et al*., 2022) ارتباط قوی بین صفات متان مانند غلظت متان (MeC) و تولید متان (MeP) را با SNPهایی در کروموزوم‌های ۱۳ و ۲۶ گزارش کردند. جلالی سرقاله و همکاران (Jalil Sarghale *et al*., 2020) با استفاده از داده‌های توالی کل ژنوم، SNPها و ژن‌های کاندید متعددی را مرتبط با انتشار پیش‌بینی شده متان و اسیدهای چرب فرار شناسایی کردند. در ضمن، ژن‌های کاندید مهمی در ارتباط با تولید متان و توسعه دستگاه گوارش معرفی شده‌اند که نقش کلیدی در فرآیندهای متابولیکی و کنترل انتشار متان دارند (Pszczola *et al*., 2018).

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-17]

[DOI: DOI: 10.61882/rap.2026.1533]

همچنین، مطالعات بر روی گاوهای نلیور وراثت‌پذیری متوسط تا بالای صفات انتشار متان را گزارش کرده‌اند؛ به‌طوری که وراثت‌پذیری تخمینی برای انتشار روزانه متان برابر با ۰/۴۲ و برای انتشار باقی‌مانده متان برابر با ۰/۲۱ برآورد شده‌است.

همچنین، در این مطالعه ژن‌های کاندید مرتبط با تنظیم میکروبیوم شکمبه، تولید اسیدهای چرب و متابولیسم لیپیدها شناسایی شدند که نقش مهمی در تنوع ژنتیکی صفات انتشار متان دارند.

تحلیل‌های ترکیبی ژنوم میزبان و متاژنوم شکمبه نشان دادند که برخی از گونه‌های باکتریایی موجود در میکروبیوم شکمبه، که بین گاوهای با انتشار متان بالا و پایین تفاوت معناداری داشتند، وراثت‌پذیری قابل توجهی (۰/۲۵ تا ۰/۶۲) نشان دادند. این یافته نشان می‌دهد که میکروبیوم شکمبه تا حدی تحت کنترل ژنتیکی میزبان قرار دارد و می‌تواند به‌عنوان یک ویژگی قابل انتخاب در برنامه‌های اصلاح نژادی مورد استفاده قرار گیرد (Souza *et al*., 2024).

یکی از چالش‌های اصلی در تحقیقات مربوط به صفات انتشار متان، دشواری و هزینه بالای اندازه‌گیری این صفت در واحدهای تولیدی است (Pickering *et al*., 2015). با این‌حال، نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهند که با استفاده از انتخاب ژنومیک و گنجاندن QTLهای مرتبط با انتشار متان در برنامه‌های اصلاحی، می‌توان نرخ انتشار متان به‌ازای هر حیوان را کاهش داد. همچنین، پروفایل اسیدهای چرب فرار شکمبه به‌عنوان شاخص پیش‌بینی کننده انتشار متان قابل استفاده است.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج آنالیز GWAS برای صفات انتشار متان به‌ازای هر کیلوگرم پروتئین شیر تولیدی و pH شکمبه نشان دادند که دو SNP از آستانه ارتباط پیشنهادی گذر کردند. به‌طوری‌که طبق آستانه تصحیح بنفرونی به‌ازای کروموزوم برای هر یک از صفت‌های گفته شده دو SNP معنی‌دار شناسایی شد. یک SNP با شناسه BovineHD1900001716 با صفت انتشار متان به‌ازای هر کیلوگرم پروتئین شیر در کروموزوم ۱۹ مرتبط بود و SNP با شناسه BovineHD1700012101 با صفت pH شکمبه در کروموزوم ۱۷ ارتباط داشت.

Annotating برای شناسایی‌QTLهای اطراف SNPهای معنی‌دار نشان داد که QTLهای مرتبط با شیر تولیدی و ترکیب‌های آن، وزن بدن و خوراک مصرفی باقی‌مانده، نرخ آبستنی، سخت‌زایی و مرده‌زایی اطراف این‌SNPها وجود دارند. این نتیجه بیانگر این است که بعضی ژن‌ها وQTLها به‌طور مشترک صفت‌های انتشار متان، وزن بدن و صفت‌های تولید شیر و دوره شیردهی و صفت‌های مربوط به زایش را تحت تأثیر قرار می‌دهند. بر اساس این نتایج، انتخاب ژنتیکی دارای این پتانسل است که بتوان نرخ انتشار متان به‌ازای هر حیوان را کاهش داد.

References

Artaxo, P., Berntsen, T., Betts, R., Fahey, D., Haywood, J., Lean, J., Lowe, D., Myhre, G., Nganga, J., & Prinn, R. (2007). Changes in Atmospheric Constituents and in Radiative Forcing. in Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (eds. Solomon, S. et al.) (Cambridge University Press, 2007). doi: 10.20892/j.issn.2095-3941.2017.0150

Balch, W. E., Fox, G. E., Magrum, L. J., Woese, C. R., & Wolfe, R .(19797). Methanogens: reevaluation of a unique biological group. *Microbiological Reviews*, 43(2), 260-296.

Calderón-Chagoya, R., Hernandez-Medrano, J., Ruiz-López, F., Garcia-Ruiz, A., Vega-Murillo, V., Montano-Bermudez, M., Arechavaleta-Velasco, M., Gonzalez-Padilla, E., Mejia-Melchor, E., & Saunders, N. (2019). Genome-wide association studies for methane production in dairy cattle. *Genes*, 10(12), 995.

Cottle, D. J., Nolan, J. V., & Wiedemann, S. G. (2011). Ruminant enteric methane mitigation: *a review. Animal Production Science,* 51(6), 491–514.

Chadwick, D., Sommer, S., Thorman, R., Fangueiro, D., Cardenas, L., Amon, B., & Misselbrook, T. (2011). Manure management: Implications for greenhouse gas emissions. *Animal Feed Science and Technology*, 166, 514-531.

De Haas, Y., Windig, J., Calus, M., Dijkstra, J., De Haan, M., Bannink, A., & Veerkamp, R. (2011). Genetic parameters for predicted methane production and potential for reducing enteric emissions through genomic selection. *Journal of Dairy Science*, 94(12), 6122-6134.

Dekkers, J. C. (2004). Commercial application of marker-and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons. *Journal of Aanimal Science*, 82(suppl_13), E313-E328.

Dijkstra, J., Boer, H., Van Bruchem, J., Bruining, M., & Tamminga, S. (1993). Absorption of volatile fatty acids from the rumen of lactating dairy cows as influenced by volatile fatty acid concentration, pH and rumen liquid volume. *British Journal of Nutrition,* 69(2)*,* 385–396.

Edenhofer, O. (2015). Climate change (2014). mitigation of climate change (Vol. 3). Cambridge University Press.

Fahey, J., J. Morton, and K. L. Macmillan. "Relationships between milk protein percentage and reproductive performance in Australian dairy cows." (2003): 82-86.Foley, P., Kenny, D., Callan, J., Boland, T., & O'Mara, F. (2009). Effect of DL-malic acid supplementation on feed intake, methane emission, and rumen fermentation in beef cattle. *Journal of Animal Science,* 87(3), 1048–1057.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-17]

[DOI: DOI: 10.61882/rap.2026.1533]

Haile-Mariam, M., Carrick, M., & Goddard, M. (2008). Genotype by environment interaction for fertility, survival, and milk production traits in Australian dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 91(12), 4840-4853.

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.

Hayes, B., Carrick, M., Bowman, P., & Goddard, M. (2003). Genotype× environment interaction for milk production of daughters of Australian dairy sires from test-day records. *Journal of Dairy Science*, 86(11), 3736-3744.

Hook, S. E., Wright, A.-D. G., & McBride, B. W. (2010). Methanogens: methane producers of the rumen and mitigation strategies. *Archaea*, 2010(1), 945785.

Houghton, J. T., Ding, Y., Griggs, D. J., Noguer, M., van der Linden, P. J., Dai, X., Maskell, K., & Johnson, C. A. (2001). Climate change 2001: the scientific basis (Vol. 881). Cambridge university press Cambridge.

Hungate, R. (1967). Hydrogen as an intermediate in the rumen fermentation. Archiv für Mikrobiologie, 59(1), 158–164.

Jalil Sarghale, A., Moradi Shahrbabak, H., Moradi Shahrebabak, M., Nejati Javaremi, A., Saatchi, M., & Miar, Y. (2021). Genome wide association study to identify genome region associated with methane emission in cattle using 30K panel. Cellular and Molecular Research. *Iranian Journal of Biology*, 34(1), 65-76.

Jalil Sarghale, A., Moradi Shahrebabak, M., Moradi Shahrebabak, 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 Genetics*, 21, 1-14.

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.

Kennedy, B. W., Dekkers, J. C. M., Moore, R. K., & Jairath, L. (1999). Genetic and phenotypic parameter estimates between production, feed intake, feed efficiency, body weight and linear type traits in first lactation Holsteins. *Canadian Journal of Animal Science*, 79(4), 425-431.

Lashof, D. A., & Ahuja, D. R. (1990). Relative contributions of greenhouse gas emissions to global warming. *Nature*, 344(6266), 529-531.

Lindgren, E., Murphy, M., & Andersson, T. (2001). Värdering av Foder. Lantmännen Foderutveckling AB, Nötfor. In: Almqvist & Wiksell, Uppsala.

Manzanilla-Pech, C., De Haas, Y., Hayes, B., Veerkamp, R., Khansefid, M., Donoghue, K., Arthur, P., & Pryce, J. (2016). Genomewide association study of methane emissions in Angus beef cattle with validation in dairy cattle. *Journal of Animal Sscienc*e, 94(10), 4151-4166.

Manzanilla-Pech, C. I. V., Difford, G. F., Sahana, G., Romé, H., Løvendahl, P., & Lassen, J. (2022). Genome-wide association study for methane emission traits in Danish Holstein cattle. *Journal of Dairy Science,* 105(2), 1357-1368.

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.

Miettinen, H., & Huhtanen, P. (1996). Effects of the ratio of ruminal propionate to butyrate on milk yield and blood metabolites in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 79(5), 851-861.

Mohammadi, H., Najafi, A., & Javanmard, A. (2022). Genome-wide association study related to semen traits based on gene-set enrichment analysis in Holstein bulls.

Mohammed, R., McGinn, S. M., & Beauchemin, K. A. (2011). Prediction of enteric methane output from milk fatty acid concentrations and rumen fermentation parameters in dairy cows fed sunflower, flax, or canola seeds. *Journal of Dairy Science,* 94(12), 6057-6068.

Moradi, M. H., Nejati-Javaremi, A., Moradi-Shahrbabak, M., Dodds, K. G., & 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, 1-15.

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.

Ottenstein, D & ,.Bartley, D. (1971). Improved gas chromatography separation of free acids C2-C5 in dilute solution. *Analytical Chemistry*, 43(7), 952-955.

Patton, J., Kenny, D. A., McNamara, S., Mee, J. F., O'mara, F. P., Diskin, M. G., & Murphy, J. J. (2007). Relationships among milk production, energy balance, plasma analytes, and reproduction in Holstein-Friesian cows. *Journal of Dairy Science*, 90(2), 649-658.

Pearson, T. A., & Manolio, T. A. (2008). How to interpret a genome-wide association study. *Jama*, 299(11), 1335-1344.

Pickering, N. K., Chagunda, M. G., Banos, G., Mrode, R., McEwan, J., & Wall, E. (2015). Genetic parameters for predicted methane production and laser methane detector measurements. *Journal of Animal Science*, 93(1), 11-20.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-17]

[DOI: DOI: 10.61882/rap.2026.1533]

Pszczola, M., Strabel, T., Mucha, S., & Sell-Kubiak, E. (2018). Genome-wide association identifies methane production level relation to genetic control of digestive tract development in dairy cows. *Scientific Reports*, 8(1), 15164.

Rashid Sanchuli, Z., Hosseini-Yekani, S.-A., & Kashiri Kolaei, F. (2024). Reducing Greenhouse Gas Emissions in Dairy Cow Breeding Units through Ration Management with Emphasis on the Life Cycle Assessment Approach. *Research on Animal Production*, 15(4), 129-144. [In Persian]

Roehe, R., Dewhurst, R. J., Duthie, C. A., Rooke, J. A., McKain, N., Ross, D. W., ... & Wallace, R. J. (2016). Bovine host genetic variation influences rumen microbial methane production with best selection criterion for low methane emitting and efficiently feed converting hosts based on metagenomic gene abundance. *PLoS Genetics,* 12(2), e1005846.

Saxton, R. A., & Sabatini, D. M. (2017). mTOR signaling in growth, metabolism, and disease. *Cell,* 168(6), 960-976.

Souza, L. L., Dominguez-Castaño, P., Gianvecchio, S. B., Sakamoto, L. S., Rodrigues, G. R. D., Soares, T. L. d. S., Bonilha, S. F. M., Marcatto, J. d. O. S., Galvão Albuquerque, L., & Vasconcelos Silva, J. A. I. (2024). Heritability estimates and genome-wide association study of methane emission traits in Nellore cattle. *Journal of Animal Science,* 102, skae182.

Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T. D., Castel, V., & De Haan, C. (2006). Livestock's long shadow: environmental issues and options. Food & Agriculture Org.

Tseten, T., Sanjorjo, R. A., Kwon, M., & Kim, S. W. (2022). Strategies to mitigate enteric methane emissions from ruminant animals. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(3), 269.

Van Staaveren, N., de Oliveira, H. R., Houlahan, K., Chud, T. C., Oliveira Jr, G. A., Hailemariam, D., Kistemaker, G., Miglior, F., Plastow, G., & Schenkel, F. S. (2024). The Resilient Dairy Genome Project—A general overview of methods and objectives related to feed efficiency and methane emissions. *Journal of Dairy Science*, 107(3), 1510-1522.

Wall, E., Simm, G., & Moran, D. (2010). Developing breeding schemes to assist mitigation of greenhouse gas emissions. *Animal*, 4(3), 366-376 .

Weimer, P. J. (1996). Why don’t ruminal bacteria digest cellulose faste. J*ournal of Dairy Science*, 79(8), 1496-1502.

Wolin, M. J. (1960). A theoretical rumen fermentation balance. *Journal of Dairy Science*, 43(10), 1452-1459.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-17]

[DOI: DOI: 10.61882/rap.2026.1533]