

## ABSTRACT

**Name of candidate:** Ayman Fouad Abd Elhady Ashour

**Degree:** Ph.D Agric. Sci.

**Title of Thesis:** Study of Some Molecular Genetic Loci Affecting Somatic Cell Score and Milk Yield Traits to Improve Resistance to Mastitis in Friesian Cows and Crosses under Egyptian Conditions

**Supervision:** Prof. Dr. / Saeed A. Mahmoud

Prof. Dr. / Fekry E. El-Keraby

Dr. / Hassan G. El-Awady

**Department of Animal production – Faculty of Agriculture.**

**Approval:** 9 / 8 /2010

This study was conducted at International Livestock Management Training Center of the Animal Production Research Institute and Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Kafrelsheikh University. The objective of this study was mainly share in to detect quantitative traits loci (QTL) affecting somatic cell score (SCS) in milk to improve resistance to mastitis in Friesian cows under in Egypt. Blood samples were collected from all cattle and DNA was extracted from blood and semen samples. The selected markers were specific to detect QTL for trait SCS in cattle. Markers were amplification in PCR machine.

**The results obtained could be summarized as follow: -**

The present results have identified the most likely QTL to be near marker BMS885 on BTA4 and TGLA429-BMS882 on BTA26, which reveals alleles that appears to be associated with reduced (SCS). The chromosome under study is more specific to for SCS and resistance to mastitis. Microsatellite markers under study showed a relationship between MY, SCS and resistance to mastitis. Its may be possible in the future to use microsatellites in marker-assisted selection in a criterion for selection for resistance to mastitis in Friesian cows under Egyptian condition and the cows will be more profitability.

**Key words:** DNA, Microsatellite Markers, Somatic Cell Score, Mastitis resistance, Quantitative Traits Loci Mapping, *Bos taurus autosome 4 and 26, Daughter Design.*

## المستخلص

اسم الطالب : أيمن فؤاد عبدالهادى عاشور  
الدرجة: دكتوراه الفلسفه في العلوم الزراعية  
عنوان الرساله: دراسة تأثير بعض مواقع الوراثة الجزيئية على أعداد الخلايا الجسدية و صفات إنتاج اللبن  
لتحسين المقاومة لالتهاج الضرع في أبقار الفريزيان و الخليط تحت الظروف المصرية  
لجنة الإشراف : أ.د / سعيد أحمد محمود  
أ.د/ فكرى السيد القربى  
د / حسن غازى العوضى

القسم : قسم الإنتاج الحيواني - كلية الزراعة تاريخ الموافقه : ٩ / ٨ / ٢٠١٠ م

أجريت هذه الدراسة في المركز الدولي للتدريب على رعاية الحيوان بسخا التابع لمعهد بحوث الإنتاج الحيواني مركز البحث الزراعية و قسم الإنتاج الحيواني- كلية الزراعة جامعة كفرالشيخ. هدفت الدراسة إلى المساهمة في الكشف عن موقع الصفات الكمية (QTL) التي تؤثر على أعداد الخلايا الجسدية لتحسين المقاومة لالتهاج الضرع في أبقار الفريزيان تحت الظروف المصرية و كيفية عمل الانتخاب بواسطة الواسمات الوراثية و مدى ارتباطها جينياً بصفة أعداد الخلايا الجسدية. تمأخذ عينات الدم من الأبقار و تم استخلاص المادة الوراثية (DNA) منها و من السائل المنوى المجمد . تم عمل إكثار للواسمات في جهاز إكثار المادة الوراثية. و تم حقن ناتج إكثار المادة الوراثية في البولي إكريلاميد جل في جهاز التفريذ الكهربائي الرأسي الآوتوماتيكي.

و كانت النتائج المتحصل عليها كالتالي:

تم اكتشاف الـ QTL، حيث كانت تقع على مسافة ٦٤ سنتى-مورجان على الكروموسوم ٤ و أقرب واسمة لهذا الموضع BMS885 بينما كان موضع الـ QTL على مسافة ٢٧ سنتى-مورجان على الكروموسوم ٢٦ و كانت أقرب واسمتين لهذا الموضع هما TGLA429 و BMS882.. وجد أن موضع الـ QTL يكون أكثر احتمالاً على الكروموسوم ٤ بالقرب من الواسمة BMS885 و كما الـ QTL على الكروموسوم ٢٦ بالقرب من الواسمتين TGLA429 و BMS882 حيث أن هذه الواسمات تحتوى على الآليات التي لها علاقة بتقليل أعداد الخلايا الجسدية في اللبن. وبالتالي زيادة المقاومة لالتهاج الضرع ويمكن استخدام هذه الواسمات المرتبطة بمواقع الصفات الكمية لصفة الـ SCS في المستقبل للانتخاب للمقاومة للإصابة بالتهاج الضرع

## TABLE OF CONTENTES

<b>TABLE OF CONTENTES .....</b>	<b>I</b>
<b>LIST OF TABLES.....</b>	<b>III</b>
<b>LIST OF FIGURES.....</b>	<b>V</b>
<b>ABBREVIATIONS.....</b>	<b>VI</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>1</b>
<b>REVIEW OF LITERATURE .....</b>	<b>3</b>
1. Relationships between milk yield (MY) and SCS QTL .....	3
2. Genetic and phenotypic Parameters for traits MY and SCS: .....	5
a- Heritability of milk yield (MY) and somatic cell score (SCS).....	5
b- Genetic correlations ( $r_g$ ) between milk yield (MY) and somatic cell score (SCS)..	6
c- Phenotypic correlation ( $r_p$ ) between milk yield (MY) and somatic cell score (SCS). .....	7
3. Basic principles of genetic.....	8
4. Microsatellite is ideal DNA genetic markers.....	8
4.1. Application .....	10
4.2. Advantages .....	10
4.3. Disadvantages .....	11
5. Polymorphism information content (PIC) of molecular markers .....	11
6. Future applications for molecular genetic markers .....	13
7. Genetic markers and their application in livestock breeding .....	14
8. A brief history of QTL mapping .....	15
9. Economically important Quantitative Trait Loci (QTL).....	18
10. Mapping of quantitative trait loci (QTL).....	19
11. The QTL mapping designs .....	20
12. QTL-DETECTION .....	23
12.1. QTL-detection - concluding remarks .....	24
12.2. Detection of QTL and markers association.....	24
12.3. QTL Detection and Marker-Assisted Selection .....	26
13. Economic aspects for resistance to mastitis as a healthy trait.....	27
14. SCC and mastitis .....	28
14.1. The importance of transformation of SCC to SCS.....	29
14.2. SCS as indirect measure of mastitis in genetic selection.....	30
14.3. Linkage map for QTL Somatic cell score and mastitis.....	39
14.4. QTL regions affecting more than one trait .....	41
15. Interval mapping .....	41
16. Linkage analysis.....	42
<b>MATERIALS AND METHODS .....</b>	<b>43</b>
1. Family Structure.....	43
2. Description of Phenotypic Data.....	43

<b>3. DNA extraction and qualification .....</b>	<b>43</b>
<b>3.1. DNA extraction from blood .....</b>	<b>43</b>
<b>3.2. DNA extraction from semen .....</b>	<b>44</b>
<b>4. DNA concentration and purity .....</b>	<b>44</b>
<b>5. Microsatellite loci under study or Markers Tested .....</b>	<b>44</b>
<b>6. Polymerase Chain Reaction (PCR).....</b>	<b>45</b>
<b>7. Fragment sizing or (Allele size determination).....</b>	<b>49</b>
<b>8. Analysis.....</b>	<b>51</b>
<b>8.1. Linkage Analysis.....</b>	<b>51</b>
<b>8.2. Linkage Disequilibrium and Linkage Analysis (LDLA).....</b>	<b>52</b>
<b>9. Statistical analysis.....</b>	<b>52</b>
 <b>RESULTS AND DISCSSION.....</b>	<b>54</b>
 <b>1. Allele frequencies and number of allele.....</b>	<b>54</b>
<b>1. 1. Allele frequencies and number of allele of each five microsatellites on BTA4.</b>	<b>54</b>
<b>1.2. Allele frequencies and number of allele of each five microsatellites on BTA26.</b>	<b>62</b>
<b>2. Heterozygosity values and number of Heterozygosity .....</b>	<b>71</b>
<b>2.1. Heterozygosity values and number of Heterozygosity of each of five microsatellites on BTA4 in different experimental families:</b>	<b>71</b>
<b>2.2. Heterozygosity values and number of Heterozygosity of each of five microsatellites on BTA26 in different studied families:</b>	<b>73</b>
<b>3. Profile of Polymorphism information content (PIC). .....</b>	<b>76</b>
<b>3.1. Profile of Polymorphism information content (PIC) within and across families studied on BTA4.</b>	<b>76</b>
<b>3.2. Profile of Polymorphism information content (PIC) within and across families studied on BTA26.</b>	<b>77</b>
<b>4. Quantitative trait loci position for SCS.....</b>	<b>78</b>
<b>4.1. Quantitative trait loci position for SCS on BTA4.....</b>	<b>78</b>
<b>4.2. Quantitative trait loci position for SCS on BTA26.....</b>	<b>81</b>
<b>5. Sire QTL Effects.....</b>	<b>86</b>
<b>5.1. Sire QTL Effects on BTA4.....</b>	<b>86</b>
<b>5.2. Sire QTL Effects on BTA26.....</b>	<b>87</b>
<b>6. Classic breeding .....</b>	<b>90</b>
<b>6.1. Genetic parameters.....</b>	<b>94</b>
<b>6.1.1. Heritabilities.....</b>	<b>94</b>
<b>6.1.2. Genetic and phenotypic correlations .....</b>	<b>96</b>
<b>6.2. Breeding values (BV'S) .....</b>	<b>97</b>
<b>6.3. Accuracy of selection for resistance of mastitis .....</b>	<b>99</b>
 <b>CONCLUSION .....</b>	<b>101</b>
 <b>SUMMARY .....</b>	<b>102</b>
 <b>REFERANCES .....</b>	<b>110</b>
 <b>ARABIC SUMMARY</b>	

## ABBREVIATIONS

<b>ABS(t)</b>	<b>Absolute t-value</b>
<b>AI</b>	<b>Artificial insemination</b>
<b>bp</b>	<b>Base Pair</b>
<b>BTA</b>	<i>Bos taurus autosome</i>
<b>CI</b>	<b>Confidence Interval</b>
<b>cM</b>	<b>centi Morgan</b>
<b>CM</b>	<b>Clinical Mastitis</b>
<b>DCCI</b>	<b>Dairy Capacity Composite Index</b>
<b>DD</b>	<b>Daughter Design</b>
<b>DHI</b>	<b>Dairy Herd Improvement</b>
<b>DNA</b>	<b>Deoxy ribonucleic acid</b>
<b>dNTP's</b>	<b>Deoxynucleotide triphosphate</b>
<b>DTT</b>	<b>Dithiothreitol</b>
<b>E.Z.N.A.</b>	<b>Eazy Nucleic Acid Isolation</b>
<b>EBV</b>	<b>Estimated Breeding Value</b>
<b>EY</b>	<b>Energy Yield</b>
<b>FC</b>	<b>Fat Content</b>
<b>FP</b>	<b>Fat Percentage</b>
<b>FY</b>	<b>Fat Yield</b>
<b>GDD</b>	<b>Granddaughter Design</b>
<b><math>h^2</math></b>	<b>Heritability</b>
<b>IBD</b>	<b>Identity By Descent</b>
<b>INTERBULL</b>	<b>International Bull</b>
<b>LDLA</b>	<b>Linkage Disequilibrium and Linkage Analysis</b>
<b>LR</b>	<b>Likelihood Ratio</b>
<b>MARC</b>	<b>Meat Animal Research Center</b>
<b>MAS</b>	<b>Marker Assisted Selection</b>
<b>MAST</b>	<b>Mastitis</b>
<b>MHC</b>	<b>Major Histocompatibility Complex</b>
<b><math>\mu l</math></b>	<b>Micro Liter</b>
<b><math>\mu M</math></b>	<b>Micro Molar</b>
<b>MS</b>	<b>Microsatellite</b>
<b>MSPD</b>	<b>Milking Speed</b>
<b>MTDFREML</b>	<b>Multi Traits Derivative Free Restricted Maximum Likelihood</b>
<b>MY</b>	<b>Milk Yield</b>
<b>ng</b>	<b>Nano gram</b>
<b>PC</b>	<b>Protein Content</b>
<b>PCR</b>	<b>Polymerase Chain Reaction</b>
<b>PIC</b>	<b>Polymorphism Information Content</b>

<b>PP</b>	<b>Percentage Protein</b>
<b>PY</b>	<b>Protein Yield</b>
<b>QTL</b>	<b>Quantitative Trait Loci</b>
<b>RFLP</b>	<b>Restriction Fragment Length Polymorphism</b>
<b>r<sub>g</sub></b>	<b>Genetic correlation</b>
<b>RNA</b>	<b>Ribonucleic acid</b>
<b>r<sub>p</sub></b>	<b>Phenotypic correlation</b>
<b>SCC</b>	<b>Somatic Cell Count</b>
<b>SCS</b>	<b>Somatic Cell Score</b>
<b>SNP's</b>	<b>Single Nucleotide Polymorphisms</b>
<b>SSLP</b>	<b>Simple Sequence Length Polymorphisms</b>
<b>SSR's</b>	<b>Simple Sequence Repeats</b>
<b>SSTR</b>	<b>Simple Sequence Tandem Repeats</b>
<b>STM's</b>	<b>Sequence Tagged Microsatellites</b>
<b>STR's</b>	<b>Short Tandem Repeats</b>
<b>VNTR</b>	<b>Variable Number Tandem Repeats</b>