



"مقاله پژوهشی"

برآورد اجزای واریانس ژنومی بر اساس فراوانی آللی کمیاب برای صفات کمی در گوسفند

امیر طاهری یگانه^۱، محمدرضا سنجابی^۲، جمال فیاضی^۳، محمد زندی^۴ و جولوس وندروف^۵

۱- دانشجوی دکتری ژنتیک و اصلاح نژاد دام، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران

۲- دانشیار سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، (نویسنده مسؤل: msanjabi2021@gmail.com)

۳- استاد ژنتیک و اصلاح نژاد دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

۴- دانشیار سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران

۵- استاد دانشکده کشاورزی و علوم روستائی دانشگاه نیوانگلند، آرمیدال، استرالیا

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۱۶

صفحه: ۱۳۹ تا ۱۴۸

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: برآورد دقیق اجزای واریانس ژنتیکی، از ملزومات پیش بینی صحیح ارزش‌های اصلاحی می‌باشد. کشف نشانگرهای SNP و پیشرفت‌های به دست آمده در ژنتیک مولکولی و کشف روش‌های نوین توالی‌یابی کل ژنوم موجودات زنده و پیشرفت روش‌های بیوانفورماتیک و دانش رایانه ای، حجم بسیار زیادی از داده‌های مولکولی را فراهم آورده و در علم ژنتیک شاخه‌ای به نام ژنومیک ایجاد کرده است. هدف از انجام این پژوهش برآورد اجزای واریانس ژنومی گوسفند بودر با استفاده از داده‌های SNP بود.

مواد و روش‌ها: برای انجام این پژوهش از پنل SNP که با تراشه نشانگری k5۰ شرکت ایلومینا، تعیین ژنوتیپ شده بودند، استفاده شد. داده‌ها در مزرعه فالکینز استرالیا جمع آوری شدند. صفات مورد مطالعه اوزان تولد و شیرگیری، قطر و طول تار پشم بودند. برای مطالعه رابطه بین فراوانی آللی و مقدار واریانس ژنتیکی افزایشی توجیه شده، SNPها در پنج گروه مختلف از فراوانی آللی کمیاب (MAF)، با تعداد تقریباً برابر در هر گروه، طبقه بندی شدند (۰/۱-۰/۰۱). تجزیه و تحلیل‌ها با رویکرد حداکثر درست‌نمایی محدود شده ژنومی و روش تجزیه و تحلیل صفات پیچیده ژنوم گسترده، با نرم‌افزار GCTA انجام گرفت.

یافته‌ها: وراثت‌پذیری ژنومی برآورد شده توسط SNPهای با فراوانی آللی کمیاب بیشتر از یک درصد، برای اوزان تولد، شیرگیری، قطر و طول تار پشم به ترتیب برابر ۰/۵۸، ۰/۴۷ و ۰/۵۹، ۰/۲ بود. سهم گروه‌های مختلف SNPهای با فراوانی آللی کمیاب در توجیه واریانس ژنتیکی برای صفات متفاوت بوده و به طور کلی بخش قابل توجهی از واریانس ژنتیکی، توسط SNPهای با $MAF > ۰/۲۰$ توجیه شد. همبستگی ژنومی بین صفات وزن بدن بالا و بین صفات پشم پایین برآورد شد. در مجموع واریانس‌های ژنتیکی ۵ گروه مختلف MAF، که در آنالیز جداگانه نسبت به واریانس محاسبه شده توسط همه SNPها به صورت همزمان، بسیار بزرگتر بود. اما مجموع این واریانس‌ها در آنالیز توأم، مشابه مقدار به دست آمده از کل SNPها، برای همه صفات مورد بررسی بود. **نتیجه‌گیری:** اگر چه تعداد SNPها در گروه‌های مختلف، مشابه بود، اما مقدار واریانس ژنتیکی توجیه شده توسط گروه‌های مختلف MAF متفاوت بود. با توجه به نتایج به دست آمده حجم نمونه بسیار بزرگ، ایده‌آل و پوشش بهتر واریانت‌های با فراوانی پایین مورد نیاز است تا استخراج قوی‌تر و قابل اعتمادتری به دست آید.

واژه‌های کلیدی: تراشه SNP، گوسفند، فراوانی آللی کمیاب، واریانس ژنومی

مقدمه

در روش‌های رایج اصلاح نژاد دام، معمولاً اصلاحگران یا انتخاب را بر مبنای مقادیر فنوتیپی (انعکاسی نه چندان دقیق از ژنوتیپ) انجام می‌دهند و یا اینکه از طریق ثبت شجره و فنوتیپ حیوانات و تجزیه و تحلیل این اطلاعات با استفاده از ویژگی بهترین پیش‌بینی ناریب خطی در قالب مدل دام، ارزش‌های اصلاحی را پیش بینی کرده و بر اساس آن حیوانات برتر را انتخاب نموده و به آنها اجازه تولید مثل می‌دهند و با انجام این عمل بهبود ژنتیکی را در صفت مورد نظر ایجاد می‌کنند (۴). با توسعه فناوری‌های توالی‌یابی DNA با سرعت بالاتر و هزینه کمتر، این امکان فراهم شده است که اطلاعات صدها هزار SNP توسط شرکت‌هایی مانند ایلومینا و افیمتریکس در دسترس محققین قرار گیرد. با فراهم شدن تراشه‌های SNP با تراکم بالا و به منظور غلبه بر مشکلات استفاده از MAS، انتخاب ژنومی پیشنهاد شد (۲). کشف نشانگرهای SNP و پیشرفت‌های به دست آمده در ژنتیک مولکولی و کشف روش‌های نوین توالی‌یابی کل ژنوم موجودات زنده و پیشرفت روش‌های بیوانفورماتیک و دانش رایانه ای و... حجم بسیار زیادی از داده‌های مولکولی را فراهم آورده و در علم ژنتیک شاخه‌ای به نام ژنومیک ایجاد کرده

است. در گزینش ژنومیک هر یک از نشانگرها به عنوان یک عامل تصادفی یا کواریت وارد مدل می‌شود و ارزش اصلاحی افراد از مجموع ارزش اصلاحی نشانگرها برآورد می‌گردد. هدف از انتخاب ژنومی استفاده همزمان از داده‌های ژنوتیپی در سطح توالی DNA به همراه داده‌های فنوتیپی است، تا بتوان بدون نیاز به صرف زمان و هزینه‌های زیاد دام‌ها را ارزیابی کرده و دام‌های بهینه را گزینش نماید (۲۲). در انتخاب ژنومی نشانگرها در کل ژنوم پراکنده هستند، به گونه ای که کل واریانس ژنتیکی توسط نشانگرها کنترل می‌شود. انتخاب ژنومی هزینه‌های ارزیابی ژنتیکی را و پیشرفت ژنتیکی را با کاهش فاصله نسل و افزایش صحت انتخاب افزایش می‌دهد (۶). در سال‌های اخیر مطالعات زیادی با استفاده از تراشه‌های SNP، برای شناسایی تنوع ژنتیکی، انجام گرفته است. در پژوهشی روی گاو سیاه ژاپنی، توسط یموتو و همکاران (۲۱)، مقدار وراثت‌پذیری برآورد شد (۲۱). پایمنتل و همکاران (۱۶) برای صفات تولید و ترکیب شیر در گاوهای شیری، ژنسن و همکاران (۸) برای صفات مرتبط با تولید و تناسب اندام در گاوهای شیری، اوکاو و همکاران (۱۴) برای وزن بدن گاو سیاه ژاپنی، راشدی و همکاران (۱۸) برای صفات کمی در گوسفند مریونس مطالعاتی را برای برآورد

متعلق به گوسفندان بوردر متولد شده در ایستگاه مزرعه فالکینر استرالیا (FMFS) مورد استفاده قرار گرفت. داده ها با ارتباطات شخصی دریافت شده و با کسب رضایت محققین اصلی مورد استفاده قرار گرفته است. اطلاعات شجره‌ای گوسفندان مورد مطالعه در این پژوهش، در جدول ۱ آورده شده است. ۱۰ پدر و ۱۸۵ مادر دارای نتاج بودند. رکوردها متعلق به ۵۴۰ بره (۲۳۲ ماده و ۳۰۸ نر) از سه خانواده ناتنی بودند. آمار توصیفی صفات مورد مطالعه در جدول ۲ آورده شده است.

مقدار تنوع ژنومی انجام دادند (۱۸،۱۶،۸،۱۴). هدف از انجام این مطالعه، برآورد اجزای واریانس ژنومی با استفاده از نشانگرهای SNP و تأثیر فراوانی‌های مختلف آللی بر این برآوردها، برای وزن تولد، وزن شیرگیری، قطر و طول تار پشم در گوسفند بوردر بود.

مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه، اطلاعات مربوط به شجره و رکوردهای وزن تولد، وزن شیرگیری، قطر و طول تار پشم

جدول ۱- اطلاعات شجره‌ای گله گوسفند بوردر مورد مطالعه

Table 1. The pedigree information of the studied Border herd

اطلاعات	تعداد
کل حیوانات	۷۰۹
حیوانات هم‌خون	۰
کل پدرها	۱۰
کل مادرها	۱۸۵
حیوانات دارای نتاج	۱۹۵
حیوانات بدون نتاج	۵۱۴
حیوانات نسل پایه	۱۹۵
پدران نسل پایه	۱۰
مادران نسل پایه	۱۸۵

جدول ۲- آمار توصیفی صفات مورد بررسی در گوسفند بوردر

Table 2. Descriptive statistics of the studied traits in Border sheep

صفت (واحد)	تعداد	میانگین	انحراف معیار	کمینه	بیشینه
وزن تولد (کیلوگرم)	۲۲۶	۴/۷۹	۱/۱۰	۲/۳۰	۸/۷۰
وزن شیرگیری (کیلوگرم)	۴۹۶	۲۰/۴۵	۵/۱۸	۸/۵۰	۴۱/۲۰
قطر تار پشم (میکرون)	۲۱۷	۳۰/۶۸	۴/۰۶	۱۵/۶۰	۴۲
طول تار پشم (میلیمتر)	۲۱۷	۹۴/۴۴	۱۹/۱۴	۶۳	۲۳۶

۳ خصوصیات پنل SNP مورد استفاده را بعد از کنترل کیفیت نشان می‌دهد. معیارهای کنترل کیفیت نرخ نشانگر گمشده، افراد با نرخ ژنوتایپ گمشده، بررسی تعادل هاردی-واینبرگ و فراوانی آللی کمیاب بود.

مراحل مختلف کنترل کیفیت روی نشانگرها به کمک نرم‌افزار PLINK 1.9 در سیستم عامل لینوکس (۱۷)، اعمال گردید. در مورد کنترل کیفیت برای فراوانی آللی کمیاب (MAF) در آستانه یک درصد مورد بررسی قرار گرفت. جدول

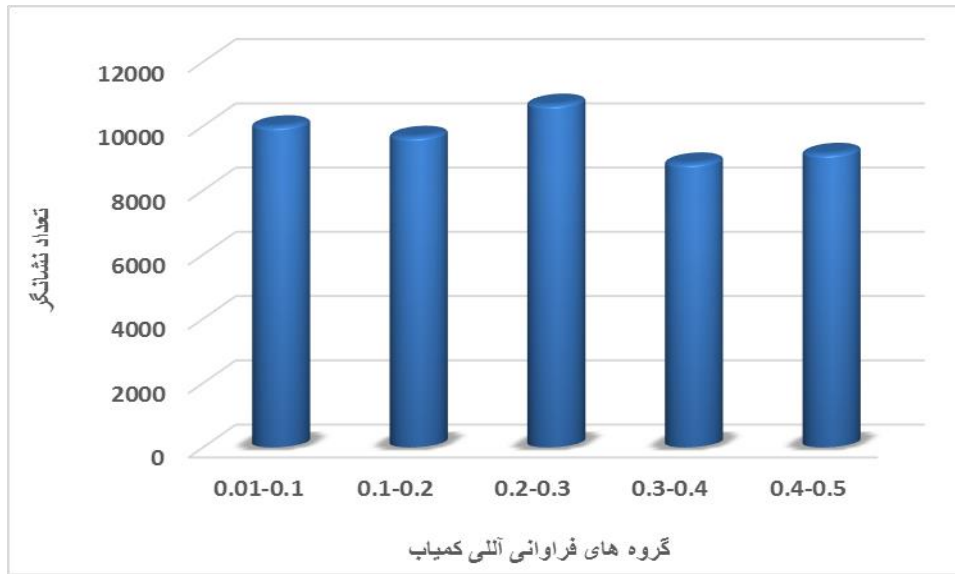
جدول ۳- خصوصیات پنل SNP مورد استفاده

Table 3. Characteristics of the used marker panel

تعداد کل SNPها	تعداد
SNPهای با موقعیت ناشناخته	۴۸۵۹۹
SNPهای با فراوانی آللی کمیاب (<۰/۰۱)	۰
SNPهایی در انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ ($p < 10^{-6}$)	۲۶۵
نرخ نشانگر گمشده (<۰/۰۵)	۴۰۵۴
SNPهای مورد استفاده در کنترل کیفیت ۰/۰۱	۰
SNPهای مورد استفاده در کنترل کیفیت ۰/۰۵	۴۸۳۳۴
افراد با نرخ ژنوتایپ گمشده (<۰/۰۵)	۴۵۷۹۶
میانگین فاصله SNPها (کیلو جفت باز)	۰
بیشترین فاصله (کیلو جفت باز)	۵۵/۱۸۸
کمترین فاصله (کیلو جفت باز)	۱۱۸۰/۸۸۶
	۴/۵۴۸

بعد از ویرایش و کنترل کیفیت داده‌ها، مقدار تنوع ژنتیکی توجیه شده توسط همه SNPها به طور همزمان، با استفاده از یک مدل خطی برآورد شد. برای مطالعه رابطه بین فراوانی آللی و مقدار واریانس ژنتیکی افزایشی، SNPها در پنج گروه مختلف از فراوانی آللی کمیاب (MAF)، طبقه بندی شدند.

دسته بندی پنج گروه مختلف نشانگرها با توجه به فراوانی آللی کمیاب در کنترل کیفیت یک درصد بدین صورت بود (۰/۱-۰/۱، ۰/۲-۰/۱، ۰/۳-۰/۲، ۰/۴-۰/۳، ۰/۵-۰/۴). تعداد نشانگرها در گروه‌های مختلف MAF، در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱- تعداد نشانگر در پنج گروه مختلف فراوانی آلی کمیاب
Figure 1. Number of markers in five different groups of rare allelic frequency (MAF)

در این معادله X_{ij} : تعداد کپی آلل کمیاب برای i امین نشانگر SNP در j امین فرد، p_i : فراوانی آلل کمیاب، m : تعداد نشانگرهای SNP می‌باشد. در مطالعات به این مدل بهترین پیش‌بینی نارایب خطی ژنومی^۴ (GBLUP) می‌گویند. در تجزیه و تحلیل توأم، واریانس ژنتیکی توجیه شده توسط SNPها، با استفاده از مدل خطی زیر محاسبه گردید:

$$y = 1\mu + \sum_{t=1}^h g_t + e \quad (\text{رابطه ۳})$$

در این معادله $(0, G_t\sigma_{g_t}^2)$ ، $g_t \sim (0, G_t\sigma_{g_t}^2)$ ، $t = 1, 2, \dots, h$. ساختار واریانس-کواریانس اثرات تصادفی به صورت زیر است.

$$V = \sum_{t=1}^h G_t\sigma_{g_t}^2 + I\sigma_e^2$$

در این معادله h : تعداد گروه‌های MAF ($h=5$)، فرض بر این است که هیچ کواریانسی بین گروه‌های مختلف MAF وجود ندارد.

نتایج و بحث

اجزای واریانس ژنومی: جدول ۴ اجزای واریانس ژنومی را برای صفات اوزان تولد و شیرگیری، قطر و طول تار پشم، با استفاده از رویکرد حداکثر درست‌نمایی محدود شده، نشان می‌دهد. مقدار واریانس ژنتیکی افزایشی برای دو صفت وزن تولد و وزن شیرگیری به ترتیب برابر ۰/۵۵ و ۹/۰۷ برآورد شد. برای قطر و طول تار پشم مقدار واریانس ژنتیکی افزایشی ۹/۸۷ و ۷۸/۰۶ محاسبه شد. مقدار وراثت‌پذیری ژنومی محاسبه شده برای نشانگرهای با $MAF > 0.1$ برای وزن تولد ۰/۵۸، برای وزن شیرگیری ۰/۴۷، برای قطر تار پشم ۰/۵۹ و برای طول تار پشم ۰/۲۰ به دست آمد. مقدار واریانس تبیین شده و وراثت‌پذیری برآورد شده، به عواملی مانند تعداد نشانگر نزدیک یا داخل جهش علی، میزان LD بین نشانگر و جهش‌های سببی در نتیجه نوترکیبی موجود در سطح جمعیت،

آنالیزهای آماری

در ابتدا فنوتیپ‌ها تصحیح شدند و از فنوتیپ تصحیح شده به عنوان متغیر پاسخ استفاده شد. برای تصحیح اثرات ثابت مؤثر بر صفات مورد مطالعه (جنسیت، نوع تولد، سال تولد و ماه تولد) و اثر متغیر کمکی (سن شیرگیری برای وزن شیرگیری و سن پشم‌چینی برای قطر و طول تار پشم)، از دستور Set و رویه GLM نرم‌افزار SAS، طبق مدل آماری خالداری (۹)، استفاده شد (۹). در این پژوهش اجزای واریانس ژنومی با استفاده از تجزیه و تحلیل حداکثر درست‌نمایی محدود شده ژنومی (GREML) و با نرم افزار تجزیه و تحلیل صفات پیچیده ژنوم گسترده (CTA)، برآورد شدند (۲۴). ماتریس رابطه خویشاوندی ژنومیک (GRM) با استفاده از SNPها برآورد شد و به دنبال آن واریانس ژنتیکی توجیه شده توسط این SNPها، از طریق روش حداکثر درست‌نمایی محدود شده به صورت تک متغیره و دو متغیره برآورد گردید. مدل خطی مورد استفاده در تجزیه و تحلیل داده‌ها، برای به دست آوردن اجزای واریانس ژنومی با استفاده از کل نشانگرها و همچنین در آنالیزهای جداگانه برای گروه‌های مختلف فراوانی آلی، به صورت زیر بود.

$$y = 1\mu + g + e \quad (\text{رابطه ۱})$$

در این مدل: y : بردار مشاهدات، μ : میانگین، 1 : بردار یکه، $g \sim N(0, G\sigma_g^2)$: بردار تصادفی ارزش ژنتیکی افزایشی، G : ماتریس روابط خویشاوندی ژنومی افزایشی، σ_g^2 : واریانس ژنومی توجیه شده توسط m نشانگر، $e \sim N(0, I\sigma_e^2)$: بردار باقیمانده‌های مدل و σ_e^2 واریانس باقیمانده است، I : ماتریس واحد با ابعادی $n \times n$ و n برابر با تعداد حیوان دارای رکورد است. در این معادله عناصر ماتریس G با استفاده از رابطه زیر محاسبه شدند (۲۳).

$$G_{ij} = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m \frac{(x_{ij} - 2p_i)(x_{ij'} - 2p_i)}{2p_i(1-p_i)}$$

1- Restricted Estimation Maximum Likelihood
3- Genomic relationship matrix

2- Genome-wide Complex Trait Analysis
4- Genomic Best Linear Unbiased Prediction (GBLUP)

اطلاعات شجره‌ای ۰/۶۸ برآورد نمودند (۲۳). یموتو و همکاران (۲۱)، در پژوهشی روی گاو سیاه ژاپنی، مقدار وراثت‌پذیری QTL را در جمعیت‌های با اندازه متفاوت، تقریباً یکسان (۰/۴) برآورد نمودند ولی مقدار خطای استاندارد وراثت‌پذیری در پژوهش این محققین با کاهش اندازه جمعیت، افزایش یافت (۲۱). مدد و همکاران (۱۲) در پژوهشی روش‌های مختلف ارزیابی ژنومی را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که روش‌های تک مرحله‌ای بیزی که از مزیت استفاده همزمان از اطلاعات فنوتیپی، ژنوتیپی و شجره بهره‌مند هستند، صحت پیش بینی مشابه یا بالاتری را نسبت به روش‌های چند مرحله ای بیزی از خود نشان دادند (۱۲). تفاوت مشاهده شده در اجزای واریانس به‌دست آمده در مطالعات مختلف، می‌تواند به دلیل تفاوت ساختار داده‌ها، تعداد داده‌ها و مدل‌های آماری استفاده شده باشد.

میزان LD بین نشانگرها و ژن‌ها در سطح خانواده در نتیجه ساختار فامیلی در جمعیت و به عمل ژن بستگی دارد (۳۱). راشدی و همکاران (۱۸) در مطالعه‌ای با استفاده از پنل SNP، ۵۰ K مقدار وراثت‌پذیری ژنومی را برای صفات وزن تولد و وزن شیرگیری گوسفندان مرینوس استرالیا، با روش حداکثر درست‌نمایی محدود شده به‌ترتیب ۰/۵۸ و ۰/۴۶ گزارش نمودند (۱۸). راشدی و همکاران (۱۹) مقدار وراثت‌پذیری ژنومی را برای قطر و طول تار پشم در گوسفند مرینوس، به ترتیب برابر ۰/۷۲ و ۰/۴۸ به دست آوردند (۱۹). ماتبسی و همکاران (۱۳) با استفاده از اطلاعات شجره‌ای در یک گله مرینوس، مقدار وراثت‌پذیری را برای صفات طول تار پشم و قطر تار پشم به ترتیب ۰/۳۷ و ۰/۶۸ برآورد نمودند (۱۳). صفری و همکاران (۲۰) مقدار وراثت‌پذیری مستقیم را برای قطر تار پشم در گوسفند مرینوس استرالیا، با استفاده از

جدول ۴- اجزای واریانس ژنومی و پارامترهای ژنتیکی با استفاده از آنالیز تک متغیره در فراوانی آللی کمیاب متفاوت با استفاده از تمام نشانگرها

Table 4. Genomic variance components and genetic parameters for univariate analysis in different minor allelic frequency using all SNPs

$h_m^2 \pm SE$	$\sigma_e^2 \pm SE$	$\sigma_p^2 \pm SE$	$\sigma_g^2 \pm SE$	صفت (واحد)	استانه فراوانی آللی کمیاب
۰/۵۸±۰/۰۸	۰/۳۹±۰/۱۲	۰/۹۴±۰/۰۸	۰/۵۵±۰/۱۷	وزن تولد (کیلوگرم)	MAF>0.01
۰/۴۷±۰/۱۵	۱۰/۲۳±۲/۴۷	۱۹/۳۰±۱/۵۵	۹/۰۷±۳/۳۷	وزن شیرگیری (کیلوگرم)	
۰/۵۹±۰/۱۴	۶/۸۷±۲/۰۳	۱۶/۷۴±۱/۴۰	۹/۸۷±۲/۸۸	قطر تار پشم (میکرون)	
۰/۲۰±۰/۱۷	۳۰۳/۵۹±۵۶/۳۹	۳۸۱/۶۶±۳۰/۷۶	۷۸/۰۶±۶۹/۰۶	طول تار پشم (میلیمتر)	

σ_e^2 : واریانس افزایشی ژنومی، σ_p^2 : واریانس باقیمانده، σ_g^2 : وراثت‌پذیری ژنومی، SE: مقدار خطای معیار

و همکاران (۵) در مطالعه‌ای، همبستگی ژنتیکی بین صفات وزن بدن را در گوسفند مالپورا، مثبت و در دامنه ۰/۴۰ بین وزن تولد و شیرگیری تا ۰/۹۶ بین وزن نه ماهگی و یک سالگی برآورد نمودند (۵). جعفرآوغلی و همکاران (۶) در پژوهشی، همبستگی ژنتیکی بین صفات رشد را در گوسفند مغانی، مثبت و از متوسط تا بالا گزارش نمودند (۶). همبستگی بین صفات وزن بدن و صفات مرتبط با پشم در این پژوهش مثبت برآورد گردید. به طور کلی برآوردهای متفاوتی از مقادیر همبستگی‌های مختلف، توسط محققین گزارش شده است. تفاوت در این برآوردها در گزارش‌های مختلف، می‌تواند به دلیل تفاوت در مدل یا روش تجزیه و تحلیل و همچنین تفاوت‌های بین ژن‌های مربوط شود.

جدول ۵ نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل دو متغیره را برای صفات مورد مطالعه نشان می‌دهد. مقدار وراثت‌پذیری ژنومی برای صفات اوزان تولد و شیرگیری و صفات مرتبط با پشم (قطر و طول تار پشم) به ترتیب ۰/۵۵، ۰/۳۵، ۰/۳۵ و ۰/۵۲ برآورد شد (اعداد روی قطر جدول). طبق نتایج به دست آمده، بالاترین مقدار همبستگی ژنومی برای دو صفت وزن تولد و وزن شیرگیری برآورد شد و این مقدار برابر ۰/۵۱ بود. همبستگی ژنتیکی بالا و مثبت، بدین معناست که، انتخاب برای یک صفت باعث بهبود سریع‌تر صفت دیگر شده و نیازی به انتخاب برای هر دو صفت وجود ندارد. کمترین مقدار همبستگی ژنومی بین دو صفت طول و قطر تار پشم به دست آمد. در مطالعات انجام شده برای برآورد همبستگی ژنتیکی بین صفات مختلف گزارش‌های متفاوتی ارائه شده است. گوان

جدول ۵- اجزای واریانس ژنومی با استفاده از آنالیز دو متغیره با استفاده از تمام نشانگرها (اعداد روی قطر وراثت‌پذیری ژنومی و اعداد بالای قطر مقدار همبستگی ژنومی را نشان می‌دهند)

Table 5. Genomic variance components using bivariate analysis using all markers (numbers on the diameter of genomic heritability and numbers above the diameter indicate the amount of genomic correlation)

طول تار پشم (میلی‌متر)	قطر تار پشم (میکرون)	وزن شیرگیری (کیلوگرم)	وزن تولد (کیلوگرم)	صفت (واحد)	استانه فراوانی آللی کمیاب
۰/۴۷±۰/۲۶	۰/۳۲±۰/۱۹	۰/۵۱±۰/۱۷	۰/۵۵±۰/۱۴	وزن تولد (کیلوگرم)	MAF>0.01
۰/۰۹±۰/۳۳	۰/۴۸±۰/۱۹	۰/۳۵±۰/۲۲		وزن شیرگیری (کیلوگرم)	
۰/۱۴±۰/۳۰	۰/۳۵±۰/۲۱			قطر تار پشم (میکرون)	
۰/۵۲±۰/۱۳				طول تار پشم (میلیمتر)	

مختلف MAF تعریف شد. مقدار وراثت‌پذیری ژنومی مرتبط با گروه‌های مختلف MAF، برای صفات اوزان تولد و شیرگیری، طول و قطر تار پشم، در شکل‌های ۲ تا ۵ نشان داده شده

اجزای واریانس ژنومی مرتبط با گروه‌های مختلف MAF جهت در نظر گرفتن سهم نشانگرها در طیف آللی مختلف در توجیه واریانس ژنتیکی، برای صفات مورد مطالعه پنج گروه

در گروه اول با فراوانی آلی کمیاب $0.1-0.01$ بود و کمترین مقدار در گروه سوم و پنجم مشاهده شد. برای صفت طول تار پشم، الگوی توزیع واریانس ژنتیکی توجیه شده به وسیله SNPها، بین پنج گروه MAF، دارای نوسان بوده و از صفر در گروه‌های دوم و سوم تا 0.34 در گروه پنجم متغیر بود. همانطور که نتایج نشان دادند برای سه صفت وزن تولد، وزن شیرگیری و قطر تار پشم، بیشترین مقدار توجیه واریانس ژنومی، در محدوده فراوانی آلی کمتر از 0.2 بود. عبداللهی و همکاران (۱) در مطالعه‌ای روی جوجه‌های گوشتی گزارش نمودند که ۷۵ درصد از واریانس ژنومی برای صفات وزن بدن و عضله سینه توسط نشانگرهای با فراوانی کمتر از 0.2 توجیه می‌شود که با نتایج به دست آمده در این پژوهش مطابقت داشت (۱). در یک تحقیق در گاو سیاه ژاپنی و روی صفت وزن بدن، مقدار نسبتا بالایی از واریانس ژنتیکی افزایشی، هنگام استفاده از SNPهای با فراوانی آلی کمیاب (MAF) بیشتر از 0.2 توجیه شد (۱۴) که با نتایج این مطالعه برای صفت طول تار پشم مطابقت داشت. با توجه به این که در جمعیت‌های دامی انتخاب صورت می‌گیرد توزیع واریانس ژنتیکی بر حسب فراوانی آلی متغیر می‌باشد. عدم تعادل لینکاژ، بین واریانت‌های علی با فراوانی پایین و SNPهای ژنوتیپ شده رایج، پایین است (۱۰)، بنابراین مشاهده شده که SNPهای رایج با $MAF > 0.2$ ، بخش قابل توجهی از تنوع را در نقاطی که واریانت‌های علی رایج، دارای ارتباط بالایی با این SNPها هستند، توجیه می‌کند (۱۰). پارک و همکاران (۱۵) در مطالعه‌ای روی جمعیت گاو کرهای (Hanwoo) ژنوم را بر اساس کروموزوم‌های مختلف پارتیشن‌بندی کردند و سهم هر کروموزوم را در توجیه واریانس ژنومی به دست آوردند. طبق نتایج به دست آمده کروموزوم ۱۴ بیشتر از ۱۰ درصد از واریانس ژنومی را برای صفات وزن بدن در ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ماهگی توجیه کرد (۱۵). راشدی و همکاران (۱۸)، در مطالعه‌ای روی گوسفندان مریوس استرالیا گزارش کردند که حدود ۸۰ درصد واریانس ژنتیکی وزن تولد و حدود ۸۶ درصد واریانس ژنتیکی وزن شیرگیری توسط SNPهای رایج با $MAF > 0.18$ توجیه شد (۱۸). طبق پیشنهاد لی و همکاران (۱۱)، حجم نمونه بسیار بزرگ، ایده‌آل و پوشش بهتر واریانت‌های با فراوانی پایین مورد نیاز است تا استنتاج قوی و قابل اعتمادتری از میزان واریانس ژنتیکی توجیه شده، به دست آید (۱۱).

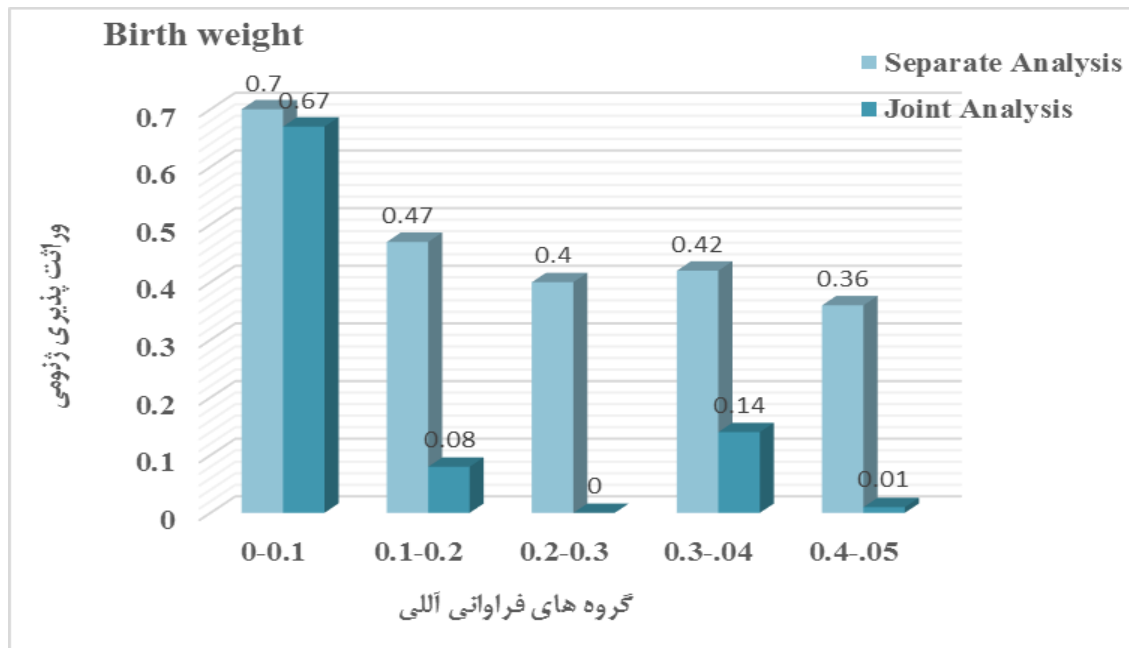
است. برآوردهای به دست آمده از پنج گروه مختلف MAF، در آنالیزهای جداگانه و توأم با یکدیگر متفاوت بود. در آنالیز جداگانه، واریانس‌های مربوط به هر گروه، به دلیل عدم تعادل پیوستگی ژن‌ها می‌تواند اریب باشد. برای هر چهار صفت، مقادیر برآورد شده در آنالیزهای جداگانه، برای همه گروه‌ها، بیشتر از مقادیر به دست آمده در آنالیز توأم بود. به دلیل اینکه در آنالیزهای جداگانه، هر بخش ژنوم بصورت کاملاً جدا از بخش دیگر در توجیه واریانس ژنومی عمل می‌کند، تحت تأثیر عمل ژن‌ها در گروه‌های دیگر قرار ندارد. با توجه به پلی ژنی بودن صفات کمی، نتایج آنالیزهای جداگانه و توأم می‌تواند متفاوت باشد. در تجزیه و تحلیل جداگانه، مقدار واریانس ژنومی به دست آمده برای گروه‌های مختلف تا حدی مشابه بود. در آنالیز توأم، بین واریانس ژنتیکی شناسایی شده توسط زیرگروه‌های مختلف، به دلیل ارتباط هر گروه با گروه‌های دیگر، تنوع بالایی وجود داشت. مجموع وراثت‌پذیری برآورد شده در آنالیز توأم، مشابه مقدار به دست آمده از کل SNPها، برای هر چهار صفت بود، اما در آنالیز جداگانه به دلیل اینکه هر گروه با گروه‌های دیگر فراوانی آلی کمیاب، ارتباط نداشته و کل نشانگرها در توجیه واریانس ژنومی صفات کمی در نظر گرفته نشد، مجموع وراثت‌پذیری در پنج گروه مختلف فراوانی آلی کمیاب، بسیار بیشتر از مقدار حاصل از کل SNPها بود. اجزای واریانس ژنومی و پارامترهای ژنتیکی با استفاده از آنالیز توأم مرتبط با گروه‌های مختلف فراوانی آلی کمیاب در جدول ۶ آورده شده است. مجموع وراثت‌پذیری برآورد شده برای گروه‌های مختلف فراوانی آلی کمیاب، در آنالیز توأم، تقریباً مشابه مقدار به دست آمده از کل SNPها، برای همه صفات بود. اگر چه تعداد SNPها در گروه‌های مختلف، مشابه بود، اما مقدار واریانس ژنتیکی توجیه شده توسط گروه‌های MAF متفاوت بود. وراثت‌پذیری ژنومی برای وزن تولد در دامنه ۰ تا حدود 0.67 در پنج گروه MAF متغیر بود. بیشترین مقدار برآورد شده در گروه اول با فراوانی آلی $0.1-0.01$ بود. برای صفت وزن شیرگیری در این آستانه، مقدار وراثت‌پذیری ژنومی در دامنه صفر تا 0.55 متغیر بود. گروه فراوانی آلی $0.1-0.01$ بیشترین مقدار واریانس ژنومی را به خود اختصاص داد. برای صفات مرتبط با پشم در آنالیز توأم، بین واریانس ژنتیکی شناسایی شده توسط زیرگروه‌های مختلف، تنوع بالایی وجود داشت. مقدار وراثت‌پذیری ژنومی قطر تار پشم در پنج گروه MAF در دامنه ۰ تا حدود 0.35 متغیر بود. بیشترین مقدار برآورد شده

جدول ۶- اجزای واریانس ژنومی و پارامترهای ژنتیکی با استفاده از آنالیز توأم مرتبط با گروه‌های مختلف فراوانی آللی کمیاب در $MAF > 0.01$

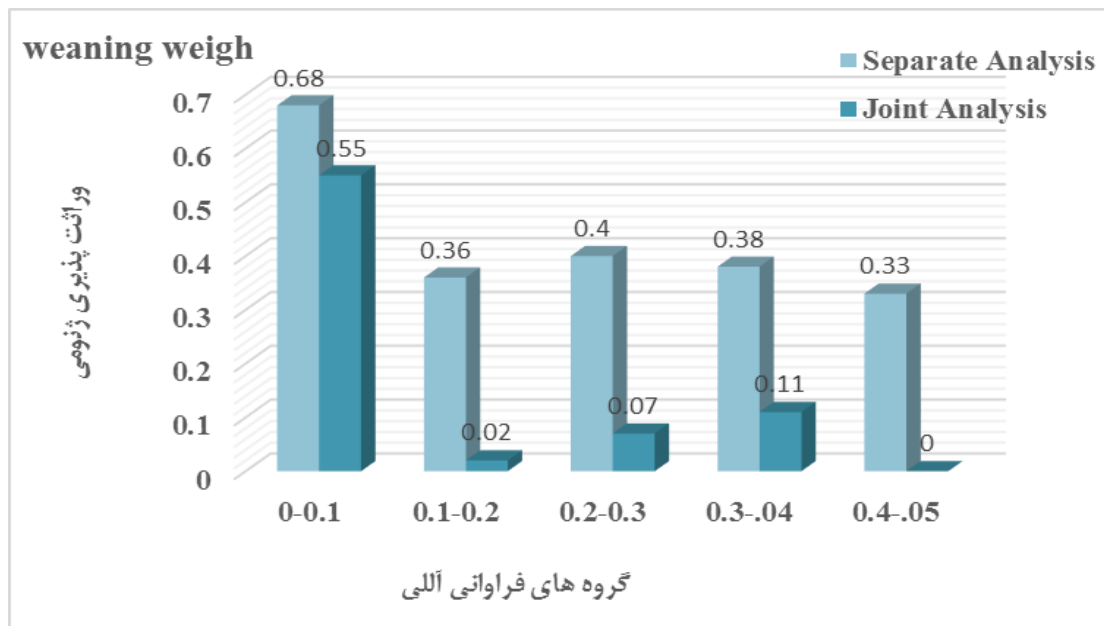
Table 6. Genomic variance components and genetic parameters using joint analysis related to different groups of rare allelic frequency in $MAF > 0.01$

$\sigma_g^2 \pm SE$	$\sigma_p^2 \pm SE$	$\sigma_e^2 \pm SE$	MAF-bin	صفت
$.09 \pm .11$	$.099 \pm .08$	$.066 \pm .07$	$.01-.01$	وزن تولد (کیلوگرم)
		$.07 \pm .04$	$.01-.02$	
		$.00 \pm .07$	$.02-.03$	
		$.014 \pm .07$	$.03-.04$	
		$.01 \pm .05$	$.04-.05$	
4.69 ± 2.49	19.17 ± 0.15	10.68 ± 0.17	$.01-.01$	وزن شیرگیری (کیلوگرم)
		$.3 \pm .31$	$.01-.02$	
		1.42 ± 0.24	$.02-.03$	
		2.08 ± 0.98	$.03-.04$	
		$.2 \pm .72$	$.04-.05$	
6.09 ± 2.08	16.63 ± 1.37	5.79 ± 0.94	$.01-.01$	قطر تار پشم (میکرون)
		$.00 \pm .39$	$.01-.02$	
		4.65 ± 0.3	$.02-.03$	
		$.10 \pm .04$	$.03-.04$	
		$.00 \pm .06$	$.04-.05$	
167.32 ± 70.59	373.73 ± 45.68	8.58 ± 0.31	$.01-.01$	طول تار پشم (میلی‌متر)
		$.00 \pm .62$	$.01-.02$	
		$.00 \pm .54$	$.02-.03$	
		72.29 ± 0.84	$.03-.04$	
		125.53 ± 0.92	$.04-.05$	

MAF-bin: گروه‌های مختلف فراوانی آللی کمیاب، σ_g^2 : واریانس افزایشی ژنومی، σ_p^2 : واریانس فنوتیپی، σ_e^2 : واریانس باقیمانده، t_m : وراثت‌پذیری ژنومی، SE: مقدار خطای معیار

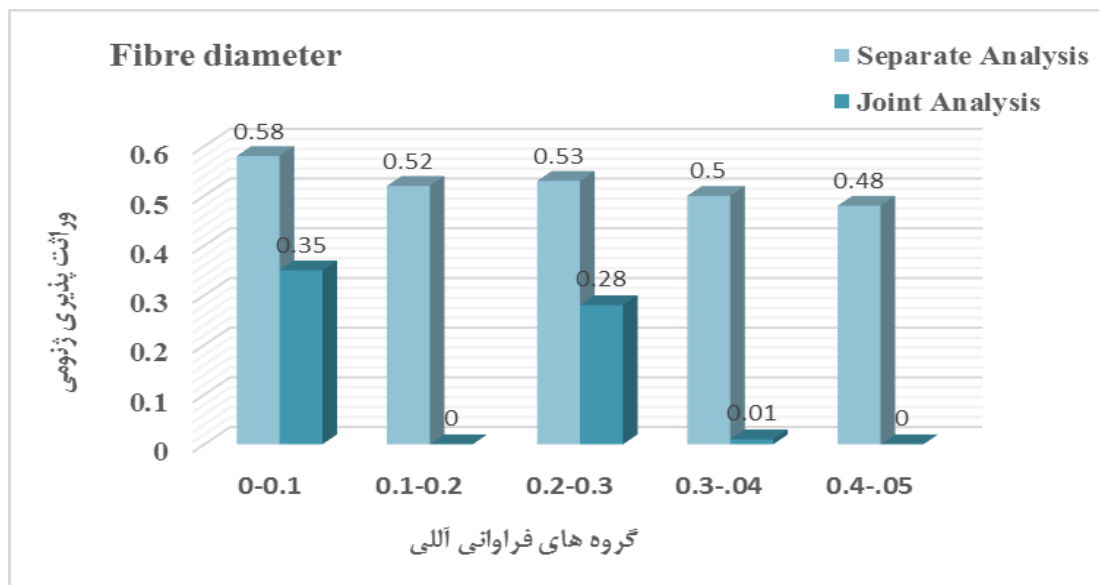


شکل ۲- وراثت‌پذیری ژنومی برآورد شده با استفاده از SNPها در پنج گروه مختلف MAF برای وزن تولد با دو روش آنالیز جداگانه و توأم
Figure 2. Genomic heritability estimates with SNPs into 5 groups of MAF for Birth weight via separate and joint analysis



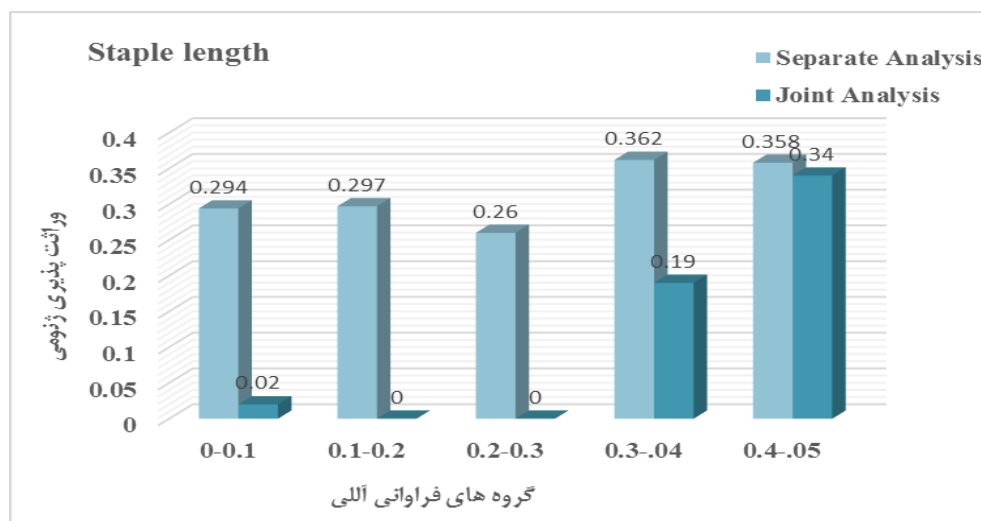
شکل ۳ - وراثت پذیری ژنومی برآورد شده با استفاده از SNPها در پنج گروه مختلف MAF برای وزن شیرگیری با دو روش آنالیز جداگانه و توأم

Figure 3. Genomic heritability estimates with SNPs in 5 different groups of MAF for Weaning weight via separate and joint analysis



شکل ۴ - وراثت پذیری ژنومی برآورد شده با استفاده از SNPها در پنج گروه مختلف MAF برای قطر تار پشم با دو روش آنالیز جداگانه و توأم

Figure 4. Genomic heritability estimates with SNPs in 5 different groups of MAF for fibre diameter via separate and joint analysis



شکل ۵- وراثت‌پذیری ژنومی برآورد شده با استفاده از SNPها در پنج گروه مختلف MAF برای طول تار پشم با دو روش آنالیز جداگانه و توأم

Figure 5. Genomic heritability estimates with SNPs in 5 different groups of MAF for Staple length via separate and joint analysis

با فراوانی پایین مورد نیاز است تا استنتاج قوی‌تر و قابل اعتمادتری به دست آید. در مجموع واریانس‌های ژنتیکی ۵ گروه مختلف MAF، در آنالیز جداگانه نسبت به واریانس محاسبه شده توسط همه SNPها به صورت همزمان، بسیار بزرگتر بود. اما مجموع این واریانس‌ها در آنالیز توأم، تقریباً مشابه مقدار به دست آمده از کل SNPها، برای صفات مورد مطالعه بود.

نتیجه‌گیری کلی

طبق نتایج به دست آمده، اگرچه تعداد SNPها در گروه‌های مختلف، مشابه بود، اما سهم گروه‌های مختلف SNPها با فراوانی آللی کمیاب در توجیه واریانس ژنتیکی برای چهار صفت مورد بررسی متفاوت بوده و به طور کلی بخش قابل توجهی از واریانس ژنتیکی، توسط SNPهای با $MAF < 0.20$ توجیه شد. با توجه به نتایج به دست آمده حجم نمونه بسیار بزرگ، ایده‌آل و پوشش بهتر واریانت‌های

منابع

1. Abdollahi-Arpanahi, R., A. Pakdel, A. Nejati-Javaremi, M. Moradi Shahrababak, G. Morota, B.D.Valente, et al. 2014. Dissection of additive genetic variability for quantitative traits in chickens using SNP markers. *Animal Breeding and Genetics*, 131: 183-193.
2. Atefi, A., A.A. Shadparvar and N. Ghavi Hossein-Zadeh. 2020. Effect of markers effect estimation methods, population structure and trait architecture on the accuracy of genomic breeding values. *Research on Animal Production*, 11(30): 101-108 (In Persian).
3. Emrani, H., R. Vaez Torshizi, A. Masoudi and A. Ehsani. 2017. Estimation of genomic heritability for growth traits in an F2 crosses of Arian broiler line and Azerbaijan indigenous chicken using 60K SNP Beadchip. *Animal Science Journal (Pajouhesh and Sazandegi)*, 114: 273-284.
4. Ghafouri Kesbi, F., G. Rahimi Mianji, M. Honarvar and A. Nejati Javaremi. 2016. Tuning and application of random forest algorithm in genomic evaluation. *Rap*, 7(13): 185-178 (In Persian).
5. Gowan, G.R., A. Chopra, V. Prakash and A.L. Arora. 2010. Estimates of (co)variance components and genetic parameters for bodyweights and first greasy fleece weight in Malpura sheep. *Livestock Science*, 131: 94-101.
6. Hayes, B.J., P.J. Bowman, A.J. Chamberlain and M.E. Goddard. 2009. Invited review: Genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges. *Journal of dairy Science*, 92: 433-443.
7. Jafaroghli, M., A. Rashidi, M.S. Mokhtari and A.A. Shadparvar. 2010. (Co) Variance components and genetic parameter estimates for growth traits in Moghani sheep. *Small Ruminant Research*, 91: 170-177.
8. Jensen, J., G. Su and P. Madsen. 2012. Partitioning additive genetic variance into genomic and remaining polygenic components for complex traits in dairy cattle. *BMC Genetics*. 13: 44.
9. Khaldari, M. 2011. *Statistical Methods*. Tehran. University Jihad Publications, Tehran Branch (In Persian).
10. Lee, S.H., T.R. DeCandia, S. Ripke, J. Yang, P.F. Sullivan, M.E. Goddard and et al. 2012. Estimating the proportion of variation in susceptibility to schizophrenia captured by common SNPs. *Nature Genetics*, 44: 247-250.

11. Lee, S.H., D. Harold, D.R. Nyholt, M.E. Goddard, K.T. Zondervan, J. Williams and et al. 2013. Estimation and partitioning of polygenic variation captured by common SNPs for Alzheimer's disease, multiple sclerosis and endometriosis. *Human Molecular Genetics*, 22: 832-841.
12. Madad Jirandeh, M., J. Shoja, S. Alijani, A. Rafat and J.C.M. Dekkers. 2020. Comparison of single and multi-step bayesian methods for predicting genomic breeding values in genotyped and non-genotyped animals-A aimulation study. *Research on Animal Production*, 10(26): 122-131.
13. Matebesi, P.A., S.W.P. Cloete and J.B. Van Wyk. 2009. Genetic parameter estimation of 16-month live weight and objectively measured wool traits in the Tygerhoek Merino flock. *South African Journal of Animal Science*, 39(1): 73-82.
14. Ogawa, S.H., H. Matsuda, Y. Taniguchi, T. Watanabe, Y. Sugimoto and H. Iwaisaki. 2016. Estimated genetic variance explained by single nucleotide polymorphisms of different minor allele frequencies for carcass traits in Japanese black cattle. *Journal of Biosciences and Medicines*, 4: 89-97.
15. Park, M.N., D. Seo, K.Y. Chung, S.H. Lee, Y.J. Chung, H.J. Lee, J.H. Lee, B. Park, T.J. Choi and S.H. Lee. 2020. Genomic partitioning of growth traits using a high-density single nucleotide polymorphism array in Hanwoo (Korean cattle). *Asian-Australas Journal Animal Science*, 33(10): 1558-1565. October 2020 <https://doi.org/10.5713/ajas.19.0699> pISSN 1011-2367 eISSN 1976-5517.
16. Pimentel, E.C.G., M. Erbe, S. König and H. Simianer. 2011. Genome partitioning of genetic variation for milk production and composition traits in Holstein cattle. *Frontiers in Genetics*, 2,19.
17. Purcell, S., B. Neale, K. Todd-Brown, L. Thomas. M.A.R. Ferreira, D. Bender and et al. 2007. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *American Journal of Human Genetic*, 81: 559-575.
18. Rashedi Dehsahraei, A., J. Fayazi, R. Abdollaho Arpanahi, J. Van Der Werf and H. Roshanfekar. 2017. Estimation of variance components for body weight of Merino sheep at birth and weaning using single nucleotide markers and REML and Bayesian approaches. *Journal of Ruminant Research*, 5(2): 29-44.
19. Rashedi Dehsahraei, A., J. Fayazi, R. Abdollaho Arpanahi, J. Van Der Werf and H. Roshanfekar. 2018. The effect of *Prosopis farcta* on the performance, some blood parameters, immune and antioxidant system of broiler chickens under heat stress conditions. *Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi)* 120: 35-46 (In Persian).
20. Safari, E., N.M. Fogarti, A.R. Gilmour, K.D. Atkins, S.I. Mortimer, A.A. Swan and et al. 2007. Across population genetic parameters for wool, growth, and reproduction traits in Australian Merino sheep. 2. Estimates of heritability and variance components. *Australian Journal of Agricultural Research*. 58(2): 177-184.
21. Uemoto, Y., Sh. Sasaki, T. Kojima, Y. Sugimoto and T. Watanabe. 2015. Impact of QTL minor allele frequency on genomic evaluation using real genotype data and simulated phenotypes in Japanese Black cattle. *BMC Genetics*, 2015 16:134.
22. Varkoohi, S. 2014. A review of genomic selection methods in livestock breeding. First National Conference on Agriculture, Environment and Food Security. Jiroft University (In Persian).
23. Yang, J., B. Benyamin, B.P. McEvoy, S. Gordon, A.K. Henders, D.R. Nyholt and et al. 2010. Common SNPs explain a large proportion of the heritability for human height. *Nature Genetics*, 42: 565-569.
24. Yang, J., H. Lee, M. Goddard and P. Visscher. 2014. GCTA: A tool for genome-wide complex trait analysis. Version 1.24, 28 July 2014. University of Queensland.

Estimation of Variance Components and Genome Partitioning According to Minor Allele Frequency for Quantitative Traits in Sheep

Amir Taheri Yeganeh¹, Mohammad Reza Sanjabi², Jama Fayazi³, Mohammad Zandi⁴ and Julius Van der Werf⁵

1- PhD student of genetic and animal breeding of Iranian Research Organization for Science and Technology, IROST

2- Associate Professor, Iranian Research Organization for Science and Technology, IROST,
(Corresponding author: msanjabi2021@gmail.com)

3- Professor of Genetics and Animal Breeding, Dept. of Animal sciences, Agriculture and Natural Resources
University of Khouzestan

4- Associate Professor, Iranian Research Organization for Science and Technology, IROST

5- Professor, School of Environmental and Rural Sciences, University of New England, Armidale, Australia

Received: 5 August, 2021

Accepted: 7 December, 2021

Extended Abstract

Introduction and Objective: Accurate estimation of genetic variance components is essential for the correct prediction of breeding values. The discovery of SNP markers and advances in molecular genetics and the discovery of new methods for sequencing the entire genome of living organisms and the development of bioinformatics methods and computer science have provided a great deal of molecular data and created a branch of genetics called genomics. This study aimed to estimate the genomic variance components of Border sheep using SNP data.

Material and Methods: For this study, the SNP panel, which was genotyped with a 50k marker chip from Illumina, was used. Data were collected at Falkiner Farm in Australia. The studied traits were birth and weaning weights, diameter, and length of wool yarn. To study the relationship between allelic frequency and the amount of justified genetic variance justified, SNPs were classified into five different groups of rare allelic frequency (MAF), with approximately equal numbers in each group. The analyses were performed with the approach of limited genomic maximum likelihood and the method of analysis of complex genome traits with GCTA software.

Results: Genomic heritability estimated by SNPs with a rare allelic frequency of more than one percent for birth weights, weaning, diameter, and length of wool were 0.58, 0.47, 0.59, and 0.2, respectively. The contribution of different groups of SNPs with rare allelic frequencies in justifying genetic variance for different traits was different and in general a significant part of genetic variance was justified by SNPs with $MAF < 0.20$. The genomic correlation was estimated between high body weight traits and low wool traits. In total, the genetic variances of the 5 different MAF groups, which is a separate analysis were much larger than the variance calculated by all SNPs simultaneously, were much larger. But the sum of these variances in the combined analysis was similar to the value obtained from the total SNPs for all the studied traits.

Conclusion: Although the number of SNPs was different in different groups, the amount of genetic variance justified by different MAF groups was different. According to the results, a very large, ideal sample size and better coverage of low-frequency variants are needed to obtain a stronger and more reliable inference.

Keywords: Allele Frequency, Genomic Variance, Sheep, SNP chip