

Estimating genomic inbreeding coefficient in some Holstein cattle herds in East Azerbaijan Province using dense marker chip data

Mohammadreza Sheikhlou¹, Mahkameh Rezapour², Arash Javanmard³,
Fateme Bahri Binabaj⁴, Rashid Safari⁵

¹ Associate Professor, Department of Animal Science, Ahar Faculty of Agriculture & Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran

² MSc Graduate, Department of Animal Science, Ahar Faculty of Agriculture & Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran

³ Associate professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

⁴ Assistant Professor, Animal Science Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research Center, Mashhad, Iran

⁵ Assistant Professor, Department of Animal Science, Ahar Faculty of Agriculture & Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Article Info

Article type:

Research Full Paper

Article history:

Received:

Revised:

Accepted:

Keywords:

Genomic inbreeding
Runs of homozygosity
Holstein cattle

ABSTRACT

Background and Objectives: In dairy cattle breeding, high selection pressure to improve some economic traits along the use of a limited number of superior bulls by using artificial insemination technique has led to an increase in the relationship between cows and also an increase in the average inbreeding of the population. The most important result of inbreeding at the level of commercial herds is a decrease in the level of economic traits, which is called inbreeding depression. Pedigree information is usually used to estimate inbreeding. However, estimates obtained from pedigrees depend largely on the depth of the pedigree and its completeness. In recent years, along with the emergence of genome sequencing techniques, interest in using genomic information to accurately estimate inbreeding coefficients has increased. The aim of the present study was to estimate the genomic inbreeding coefficient in some Holstein cattle herds in East Azerbaijan Province of Iran using dense single nucleotide marker chip data.

Materials and Methods: In this study, genotypic information of 43 heifers belonging to 5 Holstein dairy farms in Tabriz city was used to estimate genomic inbreeding. Hair follicles of each animal (80 to 100 strands) were sampled from the tail tip and after DNA extraction, genotype was determined using Illumina BovineSNP50 BeadChip array. Data quality control was performed using PLINK software. All loci with a genotype call rate of less than 95% and with a minor allele frequency of less than 0.01 were excluded from the data set. Also, loci with a significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium were identified and removed from the data. All SNP markers located on the X and Y sex chromosomes were also removed from the data set. The genomic inbreeding coefficient was estimated using the runs of homozygosity (ROH) criteria.

Results: Out of a total of 41177 genotyped markers, 40904 markers

were able to pass various quality control steps. One marker was removed due to a minor allele frequency of less than 0.01%, 264 markers due to a genotyping rate of less than 95% in each sample, and 8 markers due to Hardy-Weinberg disequilibrium. The average number of ROH with lengths of 1-2, 2-4, 4-6, 6-8, and more than 16 Mb was estimated to be 25.7, 25.6, 20, 9.14, and 2.8, respectively. As the length of the desired segments for the ROH increased, the average number of segments in animals decreased. Also, the average length of ROH in the aforementioned length categories was estimated to be 216.3, 216.1, 197.6, 137.1, and 67, respectively. The average genomic inbreeding coefficient estimated using ROH with lengths of 1-2, 2-4, 4-6, 6-8, and more than 16 Mb was 8.6, 8.6, 7, 5, and 2 percent, respectively.

Conclusion: The average genomic inbreeding coefficient of cows, considering the 1 to 2 Mb of ROH segments, was estimated to be 8.6%. By increasing the length of the considered segments for ROH to more than 16 Mb, the average genomic inbreeding of cows decreased to 2%. The higher frequency of shorter ROH compared to longer segments indicated that the majority of inbreeding in cattle is related to past generations and has arisen due to the existence of common ancestors in distant generations of the pedigree. Considering the average inbreeding for the Holstein cattle population, the estimated average inbreeding of 2% in the 16 Mb ROH, which reflects the recent mating system used in the herds, was at an acceptable level.

Cite this article: Sheikhlou, M.R., Rezapour, M., Javanmard, A., Bahri Binabaj, F., Safari, R. (2026). Estimating genomic inbreeding coefficient in some Holstein cattle herds in East Azerbaijan Province using dense marker chip data. *Journal of Ruminant Research*, 14(3),



© The Author(s)



Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

برآورد ضریب همخونی ژنومی در برخی گله‌های گاو هلستاین استان آذربایجان شرقی با استفاده از داده‌های تراشه متراکم نشانگری

محمدرضا شیخلو^{۱*}، مهکامه رضاپور^۲، آرش جوانمرد^۳، فاطمه بحری بیناباج^۴، رشید صفری^۵

^۱ (مسئول مکاتبه) دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران، رایانامه: MR.Sheikhlou@tabrizu.ac.ir

^۲ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح دام دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، ایران

^۳ دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

^۴ استادیار بخش تحقیقات علوم دامی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، مشهد، ایران

^۵ استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی - پژوهشی	سابقه و هدف: در اصلاح نژاد گاو شیری، شدت انتخاب بالا برای بهبود برخی صفات اقتصادی و همچنین استفاده از تعداد محدودی گاو نر برتر بواسطه بهره‌گیری از تکنیک تلقیح مصنوعی، منجر به افزایش رابطه خویشاوندی بین گاوها و همچنین افزایش میانگین همخونی جمعیت شده است. مهم‌ترین نتیجه همخونی در گله‌های تجاری، کاهش در سطح صفات اقتصادی دامها است که پسروری همخونی یا افت ناشی از همخونی نامیده می‌شود. به طور معمول برای برآورد همخونی از اطلاعات شجره استفاده می‌شود. اما برآوردهای حاصل از شجره تا حد زیادی به عمق شجره و کامل بودن آن بستگی دارد. در سال‌های اخیر همزمان با ظهور تکنیک‌های توالی‌یابی ژنوم، علاقه به استفاده از اطلاعات ژنومی برای تخمین دقیق ضرایب همخونی افزایش یافته است. هدف از تحقیق حاضر، برآورد ضریب همخونی ژنومی در برخی از گله‌های گاو هلستاین استان آذربایجان شرقی با استفاده از اطلاعات داده‌های تراشه متراکم نشانگرهای تک نوکلئوتیدی بود.
تاریخ دریافت: تاریخ ویرایش: تاریخ پذیرش:	
واژه‌های کلیدی: همخونی ژنومی رشته‌های هموزیگوت ژنومی گاو هلستاین	مواد و روش‌ها: در این تحقیق از اطلاعات ژنوتیپی ۴۳ راس تلیسه متعلق به پنج واحد گاو‌داری شیری نژاد هلستاین شهرستان تبریز برای برآورد همخونی ژنومی استفاده شد. فولیکولهای مو هر حیوان (۸۰ تا ۱۰۰ رشته) از ناحیه انتهای دم نمونه‌گیری شد و پس از استخراج دی‌ان‌ای با استفاده از آرایه Illumina BovineSNP50 BeadChip تعیین ژنوتیپ شدند. کنترل کیفیت داده‌ها با نرم افزار PLINK انجام گرفت. کلیه جایگاه‌های ژنی دارای نرخ فراخوانی تعیین ژنوتیپ کمتر از ۹۵ درصد و با فراوانی آلل نادر کمتر از ۰/۰۱ از مجموعه داده‌ها کنار گذاشته شدند. همچنین جایگاه‌هایی که انحراف معنی‌داری از حالت تعادل هاردی وینبرگ داشتند شناسایی شده و از داده‌ها حذف شدند. تمام نشانگرهای تک نوکلئوتیدی واقع شده بر روی کروموزومهای جنسی X و Y نیز از مجموعه داده‌ها حذف شد. ضریب همخونی ژنومی با استفاده از روش رشته‌های هموزیگوت ژنومی برآورد گردید.

یافته‌ها: از مجموع ۴۱۱۷۷ نشانگر تعیین ژنوتیپ شده، ۴۰۹۰۴ نشانگر توانستند مراحل مختلف کنترل کیفیت را بگذرانند. یک نشانگر به دلیل حداقل فراوانی آللی کمتر از ۰/۰۱ درصد، ۲۶۴ نشانگر به دلیل نرخ تعیین ژنوتیپ کمتر از ۹۵ درصد در هر نمونه و ۸ نشانگر به دلیل نداشتن تعادل هاردی-واینبرگ حذف شد. میانگین تعداد رشته‌های هموزیگوت ژنومی با طول ۱-۲، ۲-۴، ۴-۶، ۶-۸ و بیشتر از ۱۶ مگاباز به ترتیب ۲۵/۷، ۲۰، ۹/۱۴، ۲/۸ برآورد شد که با افزایش طول قطعات مدنظر برای رشته‌های هموزیگوت ژنومی، میانگین تعداد قطعات در حیوان‌ها کاهش یافت. همچنین، میانگین طول قطعات رشته‌های هموزیگوت ژنومی در کلاس‌های طولی مذکور به ترتیب ۲۱۶/۳، ۲۱۶/۱، ۱۹۷/۶، ۱۳۷/۱ و ۶۷ برآورد شد. میانگین ضریب همخونی ژنومی برآورد شده با استفاده از قطعات رشته‌های هموزیگوت ژنومی ۱، ۲، ۴، ۸ و ۱۶ مگابازی به ترتیب ۸/۶، ۸/۶، ۷، ۵ و ۲ درصد بود.

نتیجه‌گیری: میانگین ضریب همخونی ژنومی گاوها با در نظر گرفتن قطعات رشته‌های هموزیگوت ژنومی ۱ تا ۲ مگابایتی، ۸/۶ درصد برآورد گردید. با افزایش طول قطعات مدنظر برای رشته‌های هموزیگوت ژنومی به بیشتر از ۱۶ مگابایت، میانگین همخونی ژنومی گاوها به ۲ درصد کاهش یافت. بیشتر بودن فراوانی رشته‌های هموزیگوت ژنومی کوتاه‌تر نسبت به قطعات بلندتر نشان دهنده این موضوع بود که قسمت عمده همخونی موجود در دامها مربوط به نسل‌های گذشته بود و در اثر وجود اجداد مشترک در نسل‌های دور شجره به وجود آمده است. با توجه به میانگین همخونی برای جامعه گاوهای هلشتاین، میانگین همخونی ۲ درصدی برآورد شده در رشته‌های هموزیگوت ژنومی ۱۶ مگابایتی که منعکس کننده سیستم آمیزشی اخیر استفاده شده در گله‌ها است، در سطح قابل قبولی بود.

استناد: شیخلو، محمدرضا؛ رضاپور، مهکامه؛ جوانمرد، آرش؛ بحری بیناباج، فاطمه؛ صفری، رشید. (۱۴۰۵). برآورد ضریب همخونی ژنومی در برخی گله‌های گاو هلشتاین استان آذربایجان شرقی با استفاده از داده‌های تراشه متراکم نشانگری. پژوهش در نشخوارکنندگان، ۱۴(۳).



© نویسندگان

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان



مقدمه

برنامه‌های اصلاح نژادی مبتنی بر انتخاب نسل والدین یکی از دلایل اصلی کاهش تنوع ژنتیکی دام‌های اهلی است. انتخاب دام‌های برتر از تعداد محدودی خانواده، باعث بالا رفتن میانگین خویشاوندی در جمعیت و افزایش ضریب همخوانی می‌شود. همخوانی باعث افزایش اتوزیگوسیتی جایگاه‌ها در سراسر ژنوم می‌شود و این امر به نوبه خود موجب هموزیگوسیتی آلل‌های مغلوب زیان آور و بروز فنوتیپ‌های نامطلوب می‌شوند. مهم‌ترین نتیجه همخوانی در سطح گله‌های تجاری، کاهش عملکرد و میانگین صفات اقتصادی است که پسروری همخوانی یا افت ناشی از همخوانی^۱ نامیده می‌شود (Falconer، ۱۹۶۰؛ Smith و همکاران، ۱۹۹۸). در اصلاح نژاد گاو شیری، شدت انتخاب بالا برای بهبود برخی صفات اقتصادی و همچنین استفاده از تعداد محدودی گاوهای نر برتر بواسطه بهره‌گیری از تکنیک تلقیح مصنوعی، به کاهش اندازه موثر جمعیت، افزایش رابطه خویشاوندی بین گاوها و همچنین افزایش میانگین همخوانی جمعیت منجر شده است. این موضوع در طی دهه‌های گذشته با استفاده از آزمون نتاج تاثیر بسزایی در کاهش تنوع ژنتیکی داخل نژادی گاوهای شیری داشته است. به عنوان مثال در گاو هلشتاین، بعضی از گاوهای نر برتر با استفاده از تکنیک تلقیح مصنوعی بیش از ۲۵۰۰۰۰ دختر شیرده و ۳۰۰۰ پسر آزمون نتاج شده در سرتاسر دنیا دارند و از حدود ۵۰۰۰ گاو نر جوان که هر ساله تحت برنامه آزمون نتاج قرار می‌گیرند، پنجاه درصد آن‌ها نوادگان ۱۰ گاو نر معروف هستند (Weigel، ۲۰۰۱). توسعه انتخاب ژنومی در سالهای اخیر و به کارگیری آن در اصلاح نژاد گاو شیری به دلیل پیش بینی ارزش ارثی با قابلیت اعتماد قابل قبول در سنین پایین‌تر و

کاهش فاصله نسلی به نرخ پیشرفت ژنتیکی بالاتر در مقایسه با روشهای مبتنی بر استفاده از میانگین ارزش ارثی والدین برای انتخاب گاوهای نر جوان منجر شده است. انتظار می‌رود نرخ افزایش همخوانی جمعیت در روش انتخاب ژنومی به علت در نظر گرفتن دقیق‌تر تغییرات نمونه‌گیری مندلی و کاهش انتخاب دام‌های خویشاوند متعلق به خانواده‌های خاص، نسبت به روشهای ارزیابی ژنتیکی مبتنی بر شجره، کمتر باشد. با این حال، کاهش فاصله نسل و جایگزینی زودتر حیوانات منتخب با حیوانات جوان دارای ارزش ارثی ژنومی بالاتر، این مزیت را خنثی کرده و باعث افزایش نرخ همخوانی سالانه در جمعیت می‌شود (Henryon و همکاران، ۲۰۱۴؛ Pryce و همکاران، ۲۰۱۲).

ضریب همخوانی برآورد شده با استفاده از شجره، به احتمال توارث آلل‌ها از هر فرد به نوادگانش بر اساس نمونه‌گیری مندلی تکیه دارد، به طوریکه در این روش ضریب همخوانی برآورد شده برای برادر - خواهران تنی همیشه با هم برابر است (Peixoto و همکاران، ۲۰۱۰). شجره‌های ناقص یا غیرقابل اطمینان که با دقت کافی ثبت نشده باشند باعث اریب زیاد در برآورد همخوانی می‌شود. در سال‌های اخیر همزمان با ظهور تکنیک‌های توالی‌یابی ژنوم، استفاده از اطلاعات ژنومی برای تخمین دقیق ضرایب همخوانی افزایش یافته است. طول رشته‌های هموزیگوت در سراسر ژنوم^۲ یکی از آماره‌های مورد استفاده برای برآورد همخوانی بر اساس نشانگرهای مترکم در سراسر ژنوم است (Vignal و همکاران، ۲۰۰۲). رشته‌های هموزیگوت ژنومی به توالی - های هموزیگوت به هم پیوسته از نشانگرهای چندشکل تک‌نوکلئوتیدی^۳ در ژنوتیپ هر فرد گفته می‌شود که از طریق هاپلوتیپ‌های یکسانی از والدین

2. Runs of Homozygosity

3. Single Nucleotide Polymorphism

1. Inbreeding Depression

نسل‌های اخیر و همخونی بوجود آمده در نسل‌های دورتر هستند (Curik و همکاران، ۲۰۱۴). بنابراین، نحوه توزیع و طول رشته‌های هموزیگوت ژنومی می‌تواند در تعیین همخونی جدید و قدیم نیز مورد استفاده قرار گیرد. Kim و همکاران، (۲۰۱۳) نشان دادند که میزان رشته‌های هموزیگوت ژنومی به طول ۱/۵ تا ۵/۰ مگاباز در بین گاوهای شیری دو جمعیت گاو هلشتاین که یکی از آنها به مدت ۴۰ سال تحت برنامه انتخاب برای صفت تولید شیر بود و یکی از آنها تحت هیچ برنامه انتخابی نبوده است، با هم برابر بود در حالی که رشته‌های به طول ۱۰ مگاباز یا بالاتر فقط در جمعیت تحت انتخاب قابل مشاهده بودند. تحقیقات مختلفی به مطالعه میزان ضریب همخونی گاوهای هلشتاین ایران پرداخته‌اند که در اکثر آن‌ها از اطلاعات شجره برای برآورد همخونی استفاده شده است (Rokouei و همکاران، ۲۰۱۰؛ Dadar و همکاران، ۲۰۱۴؛ Tohidi و همکاران، ۲۰۲۳؛ Vahedi و همکاران، ۲۰۲۰). هدف از تحقیق حاضر، برآورد ضریب همخونی ژنومی در برخی از گله‌های گاو هلشتاین استان آذربایجان شرقی با استفاده از اطلاعات داده‌های تراشه متراکم نشانگرهای تک نوکلئوتیدی بود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری و تعیین ژنوتیپ حیوانات: اطلاعات ژنوتیپی ۴۳ راس تلیسه از پنج گله هلشتاین شهرستان تبریز برای برآورد همخونی ژنومی استفاده شد. دامداری‌های مورد نظر از برنامه‌های تعیین اسپرم برای مدیریت ژنتیکی گله استفاده می‌نمایند. با توجه به افزایش میانگین همخونی گاوهای نر مورد استفاده برای اسپرم‌گیری در کشورهای تولیدکننده اسپرم، از تلیسه‌هایی استفاده شد که نتاج حاصل از اسپرم گاوهای نر برتر اخیر وارد شده به کشور بودند. برای

به فرزندان انتقال یافته باشند. در این روش نسبت طول کل رشته‌های هموزیگوت ژنومی در ژنوم هر فرد به طول کل کروموزوم اتوزومال پوشش داده شده توسط نشانگرهای چندشکل تک‌نوکلئوتیدی، به عنوان ضریب همخونی ژنومی فرد در نظر گرفته می‌شود (Purfield و همکاران، ۲۰۱۲). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که همخونی برآورد شده بر اساس رشته‌های هموزیگوت ژنومی معیار بهتری از اتوزیگوسیتی فردی نسبت به روش تخمین همخونی بر اساس اطلاعات شجره ارائه می‌دهد. چرا که با استفاده از رشته‌های هموزیگوت ژنومی می‌توان نواحی دقیق ژنوم فرد را که در حالت مشابه نسبی^۱ قرار دارند، شناسایی نمود (Szmatoła و همکاران، ۲۰۱۹؛ Al-Mamun و همکاران، ۲۰۱۵). شناخت این نواحی می‌تواند به طراحی برنامه‌های تلاقی بین دامها برای به حداقل رساندن اثرات نامطلوب همخونی کمک نماید. از سوی دیگر، فشار انتخاب مصنوعی می‌تواند با افزایش هموزیگوسیتی در یک ناحیه خاص از ژنوم، منجر به افزایش فراوانی آلل‌های مطلوب تاثیرگذار بر صفت تحت انتخاب گردد که از این نواحی معمولاً به نشانه‌های انتخاب^۲ یاد می‌شود (He و همکاران، ۲۰۲۰؛ Sabeti و همکاران، ۲۰۲۰). بدین ترتیب، اندازه و محل رشته‌های هموزیگوت ژنومی می‌تواند با فشار انتخاب وارد شده بر جمعیت در ارتباط باشد که در این صورت رشته‌های هموزیگوت ژنومی به طور نامتوازن در نواحی خاصی از ژنوم قابل مشاهده خواهند بود. بنابراین، بررسی فراوانی آللی و هموزیگوتی ژنوم، یک روش موثر در شناسایی نواحی تحت فشار انتخاب در ژنوم است. رشته‌های هموزیگوت ژنومی با طول بلند و کوتاه در سطح ژنوم به ترتیب نشان دهنده همخونی به وجود آمده در

1. Identical by Descent
2. Signatures of Selection

موجود در کروموزمهای X و Y بین دو جنس نر و ماده با هم متفاوت است، به منظور یکسان شدن نشانگرهای مورد استفاده در هر دو جنس، در این تحقیق از نشانگرهای اتوزومی استفاده شد. بدین منظور تمام نشانگرهای SNP واقع شده بر روی کروموزم‌های جنسی X و Y از مجموعه داده‌ها حذف شد.

برآورد ضریب همخوانی ژنومی: ضریب همخوانی ژنومی با استفاده از رشته‌های هموزیگوت ژنومی یا ROH برآورد شد. این ضریب همخوانی مستقیماً منعکس‌کننده سطح هموزیگوسیتی بوده و تحت تاثیر فراوانی آللی قرار نمی‌گیرد (Dixit و همکاران، ۲۰۲۰). نرم افزار PLINK از رویکرد Sliding windows که شامل حداقل تعداد مشخصی از SNP‌های هموزیگوت در داخل یک فاصله مشخص (kb) باشد، به منظور شناسایی رشته‌های هموزیگوت ژنومی استفاده می‌کند. رشته‌های هموزیگوت ژنومی برای هر فرد با نرم افزار PLINK و در نظر گرفتن معیارهای زیر شناسایی شد (Dixit و همکاران، ۲۰۲۰):

۱) تعریف یک Sliding window به طول ۵۰ SNP در سطح ژنوم (۲) حداقل نسبت نشانگرهای هموزیگوت در داخل هر پنجره ۵ درصد (۳) حداقل ۱۰۰ SNP متوالی در یک ROH (۴) حداقل طول ۱ مگابایت برای قطعه‌های ROH (۵) حداقل فاصله (گپ) بین SNP‌های هموزیگوت متوالی ۱۰۰۰ کیلوبایت (۵) حداقل تراکم ۱ SNP در هر ۵۰ کیلوبایت (۶) حداکثر ۲ نشانگر SNP با ژنوتیپ از دست رفته در داخل هر ROH (۷) حداکثر ۱ نشانگر هتروزیگوت در داخل هر ROH.

رشته‌های هموزیگوت ژنومی شناسایی شده با در نظر گرفتن طول رشته‌ها به پنج گروه ۱ تا ۲ مگاباز، ۲ تا ۴ مگاباز، ۴ تا ۸ مگاباز، ۸ تا ۱۶ مگاباز و بیشتر از

تعیین ژنوتیپ دام‌ها، نمونه‌های فولیکول مو از هر حیوان (۸۰ تا ۱۰۰ رشته) بعد از جداسازی از ناحیه انتهای دم به کیسه‌های نایلونی جداگانه منتقل شد و برای استخراج دی ان ای و تعیین ژنوتیپ با استفاده از تراشه GeneSeek® Genomic Profiler™ Bovine 50K به آزمایشگاه ژنتیک حیوانی شرکت Neogen Genomics کشور آمریکا ارسال شدند. این تراشه با همکاری^۱ USDA-ARS-AGIL و شرکت Illumina طراحی شده و اطلاعات مربوط به ۵۰ هزار جایگاه نشانگری SNP در طول ژنوم را با فاصله نشانگری ۵۹ کیلو جفت باز در اختیار قرار می‌دهد.

پالایش اطلاعات حاصل از تعیین ژنوتیپ: کنترل کیفیت داده‌ها با نرم افزار PLINK انجام شد (Purcell و همکاران، ۲۰۰۷). اطلاعات مربوط به دام‌های با ژنوتیپ از دست رفته بیش از ۵ درصد از مجموعه داده‌ها حذف شدند. کلیه جایگاههای ژنی دارای نرخ فراخوانی تعیین ژنوتیپ کمتر از ۹۵ درصد از مجموعه داده‌ها کنار گذاشته شدند. همچنین، فراوانی آلل نادر^۲ برای کلیه جایگاه‌ها محاسبه شد و کلیه جایگاههای با فراوانی آلل نادر کمتر از ۰/۰۱ از محاسبات کنار گذاشته شد (Purfield و همکاران، ۲۰۱۲).

در مرحله بعد، کلیه جایگاه‌هایی که انحراف معنی‌داری از حالت تعادل هاردی وینبرگ داشتند، شناسایی شده و از داده‌ها حذف شدند. برای این منظور از آماره کی دو و آزمون تعادل هاردی وینبرگ و P-value کمتر از 10^{-6} که با استفاده از تصحیح بنفرونی به دست آمد به عنوان معیاری برای بررسی انحراف از تعادل هاردی-وینبرگ استفاده شد (Gomez-Raya و همکاران، ۲۰۱۵). از آنجا که نحوه وراثت جایگاه‌های

1. United States Department of Agriculture – Agricultural Research Service –Animal Genomics and Improvement Laboratory
2. Minor allele frequency

های قطعات هموزیگوت در طول ژنوم اتوزوم و LAUTO طول کل ژنوم اتوزومی پوشش داده شده توسط نشانگرهای SNP در گاو یعنی عدد ۲۵۱۰۶۰۵ است. FROH برآورد شده به عنوان نسبتی از ژنوم اتوزوم است که در برگیرنده رشته‌های هموزیگوت از نشانگرهای SNP است.

۱۶ مگاباز تقسیم بندی شدند (Peripolli و همکاران، ۲۰۱۸؛ Szmatoła و همکاران، ۲۰۱۹). سپس ضریب FROH در هر فرد برای کل ژنوم اتوزوم با استفاده از فرمول زیر برآورد شد:

$$F_{ROH} = \sum \frac{L_{ROH}}{L_{AUTO}}$$

در رابطه ارائه شده، FROH ضریب همخوانی بر مبنای رشته‌های هموزیگوت ژنومی، LROH مجموع طول

جدول ۱- نتایج کنترل کیفی داده‌های حاصل از تعیین ژنوتیپ در حیوانات تحت بررسی

Table 1- Quality control results for data obtained from genotyping animals under study

43	تعداد کل حیوانات تعیین ژنوتیپ شده Total number of animals genotyped
2	تعداد دام‌های با ژنوتیپ از دست رفته بیش از ۵٪ Number of animals with missing genotypes >5%
41	تعداد کل نمونه‌های باقی مانده Total number of samples remaining
41177	تعداد کل نشانگرهای مورد بررسی Total number of markers examined
1	حذف نشانگرها با $MAF \leq 0.01$ Removed markers with $MAF \leq 0.01$
264	حذف نشانگرها با نرخ تعیین ژنوتیپ کمتر از ۹۵٪ در هر نمونه Remove markers with genotyping rate <95% per sample
8	حذف نشانگرها با انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ ($P < 10^{-6}$) Remove markers with deviation from Hardy-Weinberg equilibrium ($P < 10^{-6}$)
40904	تعداد نشانگرهای باقی مانده Number of markers remaining

نتایج و بحث

نشانگر توانستند مراحل مختلف کنترل کیفیت را بگذرانند. یک نشانگر به دلیل حداقل فراوانی آللی کمتر از ۰/۰۱ درصد، ۲۶۴ نشانگر به دلیل نرخ تعیین ژنوتیپ کمتر از ۹۵ درصد در هر نمونه و ۸ نشانگر به دلیل انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ حذف شد.

بیشترین تعداد SNP حذف شده برای نرخ تعیین ژنوتیپ در کروموزوم شماره ۱۲ بود. بیشترین تعداد نشانگر بعد از کنترل کیفیت در کروموزوم شماره ۱ و کمترین تعداد در کروموزوم شماره ۲۵ باقی ماند.

کنترل کیفیت و فیلتراسیون داده‌های خام حاصل از مراحل ژنوتایپینگ: نتایج حاصل از ویرایش داده‌ها در جدول ۱ آورده شده است. بعد از کنترل کیفیت اولیه (در مرحله تعیین ژنوتیپ)، اطلاعات مربوط به ۲ گاو با ژنوتیپ از دست رفته بیشتر از ۵ درصد از مجموعه داده‌ها حذف شدند و در نتیجه ۴۱ حیوان برای آنالیزهای بعدی باقی ماندند. در این حیوانات، از مجموع ۴۱۱۷۷ نشانگر تعیین ژنوتیپ شده، ۴۰۹۰۴

میانگین، تعداد و طول قطعات رشته‌های هموزیگوت
ژنومی حیوانات، از پارامترهای مهم نشان دهنده
ساختار و تنوع ژنتیکی جمعیت است. جدول ۲، آمار
توصیفی تعداد قطعات رشته‌های هموزیگوت ژنومی
در کلاس بندی‌های مختلف طولی را در حیوانات

تحت بررسی نشان می‌دهد. میانگین تعداد رشته‌های
هموزیگوت ژنومی با طول‌های ۱-۲، ۲-۴، ۴-۶، ۶-۸
و بیشتر از ۱۶ مگاباز به ترتیب ۲۵/۷، ۲۵/۶، ۲۰،
۹/۱۴ و ۲/۸ برآورد گردید.

جدول ۲- آمار توصیفی تعداد قطعات رشته‌های هموزیگوت ژنومی (ROH) در کلاس‌های مختلف طولی در حیوانات تحت بررسی
Table 2- Descriptive statistics of the number of ROH in different length classes in the animals under study

طول قطعات رشته‌های هموزیگوت ژنومی (mb) Length of ROH (mb)					
>16	6-8	4-6	2-4	1-2	
2.8	9.14	20	25.6	25.7	میانگین تعداد قطعات ROH در هر حیوان Average number of ROH per animal
1.7	3.41	5.7	6.73	6.8	انحراف معیار Standard deviation
0	4	11	13	13	حداقل Minimum
7	17	32	42	42	حداکثر Maximum

همان طور که در جدول ۲ دیده می‌شود با افزایش طول قطعات مدنظر برای رشته‌های هموزیگوت ژنومی، میانگین
تعداد این قطعات در حیوانات کاهش می‌یابد. این روند کاهشی در میانگین تعداد قطعات رشته‌های هموزیگوت
ژنومی در حیوانات به موازات افزایش طول قطعات، در تحقیق Szmatoła و همکاران (۲۰۱۹) نیز دیده شد.
Szmatoła و همکاران (۲۰۱۹) طول رشته‌های هموزیگوت ژنومی را در ۸ نژاد گاو مورد بررسی قرار دادند. میانگین
تعداد قطعات رشته‌های هموزیگوت ژنومی در فواصل مشابه تحقیق حاضر در نژاد هلشتاین به ترتیب ۵۳/۳، ۴۲/۳،
۲۲/۴، ۱۰/۱ و ۳ عدد گزارش گردید. طبق نتایج آن تحقیق نژادهای هلشتاین فریزین، هلشتاین فریزین قرمز و سفید،
سیمیتال، لیموزین، مونت بلیارد و شاروله، مقدار بیشتری از تعداد رشته‌های هموزیگوت ژنومی را نسبت به نژادهای
تحت برنامه‌های حفاظت ژنتیکی داشتند. Peripolli و همکاران (۲۰۱۸) در نژاد گیر^۱ میانگین تعداد رشته‌های
هموزیگوت ژنومی به ازای هر حیوان را ۵۵/۱۲ عدد گزارش کردند. Dixit و همکاران (۲۰۲۰) میانگین تعداد رشته-
های هموزیگوت ژنومی به ازای هر حیوان را در چند نژاد از گاو بوس اندیکوس محلی بین ۲۴ تا ۶۳ رشته گزارش
کردند.

جدول ۳ آماره‌های توصیفی مربوط به طول قطعات رشته‌های هموزیگوت ژنومی را در حیوانات مورد بررسی
نشان می‌دهد. میانگین طول قطعات رشته‌های هموزیگوت ژنومی در کلاس‌های طولی ۱-۲، ۲-۴، ۴-۶، ۶-۸ و بیشتر
از ۱۶ مگاباز به ترتیب ۲۱۶/۳، ۲۱۶/۱، ۱۹۷/۶، ۱۳۷/۱ و ۶۷ برآورد گردید.

جدول ۳- آمار توصیفی طول قطعات رشته‌های هموزیگوت ژنومی (ROH) در کلاس‌های مختلف طولی در حیوانات تحت بررسی
Table 3- Descriptive statistics of the length of ROH in different length classes in the animals under study
طول قطعات رشته‌های هموزیگوت ژنومی (mb)

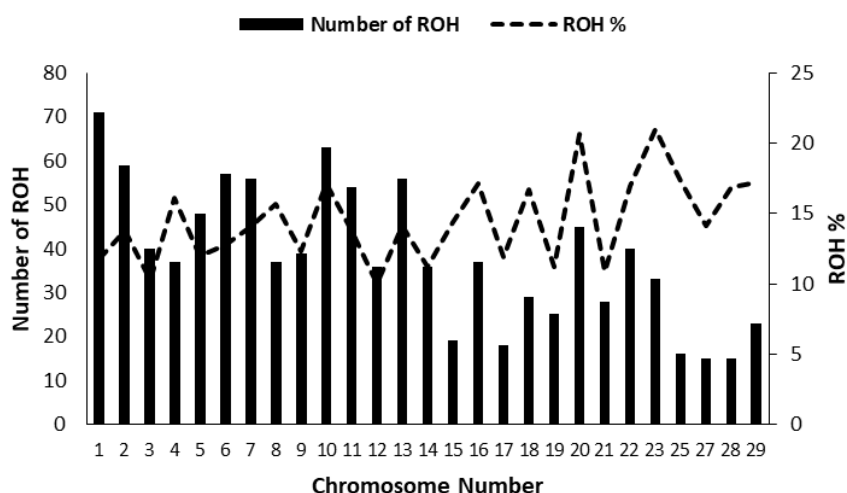
Length of ROH (mb)					
>16	6-8	4-6	2-4	1-2	
67	137.1	197.6	216.1	216.3	میانگین طول کل قطعات ROH در هر حیوان Average length of ROH in each class per animal
42.3	53.4	61.09	63.2	63.3	انحراف معیار Standard deviation
0	42.4	98.8	98.8	98.8	حداقل Minimum
191.5	304.2	352.4	371.3	371.3	حداکثر Maximum

در آن قرار داشت. کوتاهترین قطعه‌ی رشته‌های هموزیگوت ژنومی که در این تحقیق مشاهده شد ۱/۷ مگاباز بود که ۵۱ نشانگر SNP را در داخل خود جا داده بود. Peripolli و همکاران (۲۰۱۸) در نژاد گیر نتایج متفاوتی را نسبت به این تحقیق بدست آوردند. در آن تحقیق رشته‌های هموزیگوت ژنومی با طول بین ۱ تا ۲ مگاباز حدود ۶۰ درصد رشته‌های هموزیگوت ژنومی تشخیص داده شده را به خود اختصاص دادند در حالی که فراوانی رشته‌های هموزیگوت ژنومی بزرگتر از ۱۶ مگاباز در کل رشته‌های هموزیگوت ژنومی ۲۵ برابر کمتر از رشته‌های هموزیگوت ژنومی با طول ۱ تا ۲ مگاباز بود. Szmatoła و همکاران (۲۰۱۹) در نژاد هلشتاین میانگین طول قطعات رشته‌های هموزیگوت ژنومی را برای فواصل مشابه تحقیق حاضر ۲۹۵/۱، ۲۷۷، ۲۲۰/۸، ۱۵۱/۳ و ۷۴/۲ مگابایت برآورد کردند، که با نتایج تحقیق حاضر کم و بیش مطابقت دارد. در تحقیقی که Purfield و همکاران (۲۰۱۲) بر روی ۸۶۷ گاو از نژادهای مختلف شیری و گوشتی انجام دادند گزارش کردند که همه‌ی ۸۶۷ حیوان تحت بررسی حداقل یک رشته هموزیگوت ژنومی با طول بین ۱ تا

رشته‌های هموزیگوت ژنومی بلند و طولانی می‌توانند نشانه‌ای از همخونی بوجود آمده در نسل‌های اخیر جمعیت باشند در حالی که رشته‌های هموزیگوت ژنومی کوتاه‌تر نشان دهنده اثرات اجداد مشترک در نسل‌های دور است (Al-Mamun و همکاران، ۲۰۱۵). در تحقیق حاضر رشته‌های هموزیگوت ژنومی بزرگتر از ۱۶ مگاباز در حدود ۱۰ درصد رشته‌های هموزیگوت ژنومی تشخیص داده شده در کل حیوانات را تشکیل دادند. این امر نشان می‌دهد که حدود ۹۰ درصد رشته‌های هموزیگوت ژنومی موجود در این نمونه‌ها مربوط به نسل‌های گذشته و در اثر وجود اجداد مشترک در نسل‌های دور شجره بوده و با همخونی قدیم در نسل‌های دورتر در ارتباط هستند. از سوی دیگر رشته‌های هموزیگوت ژنومی کوچک‌تر از ۴ مگاباز ۲۲ درصد رشته‌های هموزیگوت ژنومی تشخیص داده شده در جمعیت را به خود اختصاص دادند. در این پژوهش، طولانی‌ترین قطعه‌ی رشته‌های هموزیگوت ژنومی مشاهده شده در یک حیوان حدود ۷۰ مگاباز طول داشت که شامل ۱۰۶۶ نشانگر SNP بود و قطعه بعدی ۵۳/۴ مگاباز طول داشت که ۷۷۲ نشانگر SNP

است. علت این موضوع می‌تواند به اندازه موثر جمعیت کمتر در نژادهای شیری مربوط باشد. در تحقیق Peripolli و همکاران (۲۰۱۸) میانگین طول قطعات رشته‌های هموزیگوت ژنومی ۳/۱۷ مگاباز گزارش شده بود که بیشترین طول رشته‌های هموزیگوت ژنومی مشاهده شده ۱۰۸ مگاباز بود. آن تحقیق اکثر رشته‌های هموزیگوت ژنومی مشاهده شده مربوط به قطعات کوتاه بین ۱ تا ۲ مگاباز بود که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

۵ مگاباز را دارا بودند و تقریباً ۹۸٪ حیوانات حداقل یک رشته هموزیگوت ژنومی با طول بین ۵ تا ۱۰ مگاباز داشتند. همچنین این محققین گزارش کردند که اکثر قطعات رشته‌های هموزیگوت ژنومی در طول‌های کوتاه دیده شدند ولی نژادهای هلشتاین، هلشتاین-فریزین و فریزین نسبت به دیگر نژادها، مقدار بیشتری از رشته‌های هموزیگوت ژنومی با طول بلند را داشتند که نشان دهنده وقوع بیشتر همخوانی در نسل‌های جدید در این نژادها



شکل ۱- توزیع تعداد رشته‌های هموزیگوت ژنومی در هر کروموزوم (محور عمودی سمت چپ) و درصد آنها نسبت به طول کروموزوم (محور عمودی سمت راست) در حیوانات تحت بررسی

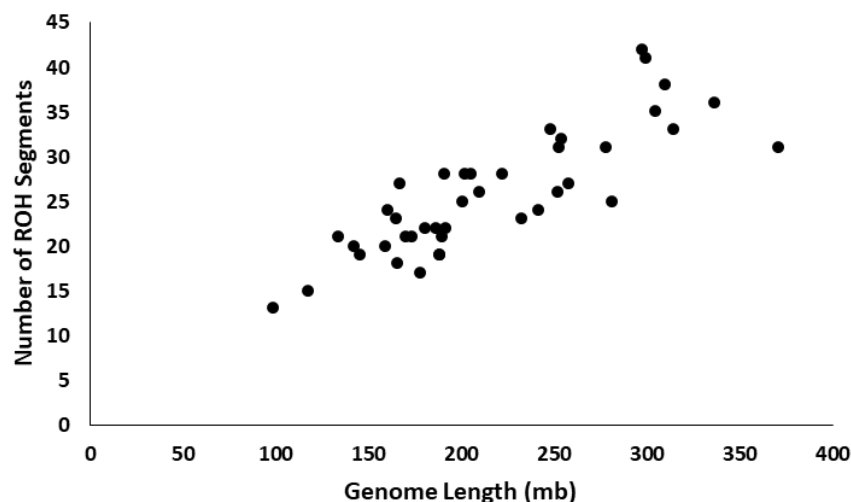
Figure 1 - Distribution of the number of ROH per chromosome (left vertical axis) and their percentage relative to the chromosome length (right vertical axis) in the animals under study

های هموزیگوت ژنومی در آن کروموزوم‌ها فقط ۱۵ عدد بود. کروموزوم‌های ۲۰ و ۲۳ بیشترین درصد رشته‌های هموزیگوت ژنومی نسبت به طول کروموزوم را به خود اختصاص دادند. در تحقیق Peripolli و همکاران (۲۰۱۸) بیشترین درصد رشته‌های هموزیگوت ژنومی در نژاد گیر روی کروموزوم‌های ۲۶ و ۲۸ دیده شد. در نژادهای مختلف گاو، کروموزوم‌های ۲۹ و ۱۵ بیشترین مقدار رشته‌های هموزیگوت ژنومی را نسبت به طول ژنوم به خود

شکل ۱ توزیع تعداد رشته‌های هموزیگوت ژنومی در هر کروموزوم و درصد آنها نسبت به طول هر کروموزوم را نشان می‌دهد. با توجه به شکل ۱ بیشترین تعداد رشته‌های هموزیگوت ژنومی در بین کروموزوم‌های تحت بررسی در کروموزوم شماره ۱ و ۱۰ به ترتیب با ۷۱ و ۶۳ رشته هموزیگوت ژنومی در هر کروموزوم دیده شدند و کمترین مقدار رشته‌های هموزیگوت ژنومی در کروموزوم‌های شماره ۲۷ و ۲۸ بود که تعداد رشته-

رشته‌های هموزیگوت ژنومی قرار دارند را در کل حیوانات تحت بررسی در تحقیق حاضر نشان می‌دهد. بیشترین طول رشته‌های هموزیگوت ژنومی متعلق به حیوانی بود که ۳۷۱ مگاباز از ژنوم آن بصورت هموزیگوت قرار داشت که ۳۱ قطعه رشته هموزیگوت ژنومی در این حیوان دیده شد.

اختصاص دادند (Dixit و همکاران، ۲۰۲۰). همچنین این محققین گزارش کردند که رشته‌های هموزیگوت ژنومی بزرگتر را بیشتر در نژاد های شیری گیر، تارپارکر و ساحبوال و نژاد دو منظوره شیری-گوشتی هاریانا مشاهده کردند. شکل ۲ تعداد قطعات رشته‌های هموزیگوت ژنومی و طول کل ژنوم که در حالت



شکل ۲- توزیع تعداد قطعات رشته‌های هموزیگوت ژنومی و طول کل ژنوم در حالت هموزیگوت در کل حیوانات تحت بررسی
Figure 2- Distribution of the number of ROH and the total genome length in the homozygous state in all animals under study

طول رشته‌های هموزیگوت ژنومی ۴۸ مگاباز بود.

جدول ۴ آمار توصیفی ضریب همخوانی ژنومی برآورد شده را با استفاده از طول رشته‌های هموزیگوت ژنومی در کلاس‌های مختلف نشان می‌دهد. ضریب همخوانی ژنومی (FROH) یکی از معتبرترین ضرایب همخوانی قابل برآورد برای همخوانی است. معمولاً ضریب همخوانی ژنومی برای تمام رشته‌های هموزیگوت ژنومی شناسایی شده با طول بیشتر از یک مگاباز برآورد می‌شود. میانگین ضریب همخوانی ژنومی برآورد شده با استفاده از قطعات رشته‌های هموزیگوت ژنومی ۲-۱، ۴-۲، ۶-۴، ۸-۶ و بیشتر از ۱۶ مگاباز به ترتیب ۰/۰۸۶، ۰/۰۸۶، ۰/۰۷، ۰/۰۵ و ۰/۰۲ بود. در تحقیق Szmatoła و همکاران (۲۰۱۹) ضریب همخوانی را

حیوانی که کمترین میزان رشته‌های هموزیگوت ژنومی را از خود نشان داد حدود ۹۸ مگاباز از ژنوم آن در حالت هموزیگوت ژنومی قرار داشت که ۱۳ قطعه رشته هموزیگوت ژنومی در طول ژنوم این حیوان وجود داشت. همان طور که دیده می‌شود حیوان‌های تحت بررسی از لحاظ تعداد قطعات رشته‌های هموزیگوت ژنومی و مقداری از طول ژنوم که به صورت هموزیگوت قرار داشت با همدیگر متفاوت بودند. در تحقیق Peripolli و همکاران (۲۰۱۸) بیشترین طول رشته‌های هموزیگوت ژنومی مربوط به حیوانی بود که ۷۳۰ مگاباز از ژنوم آن در حالت رشته‌های هموزیگوت ژنومی قرار داشت در حالی که این مقدار برای حیوانی با کمترین مقدار

برای گاوهای نژاد هلشتاین فریزین با استفاده از
 قطعات رشته‌های هموزیگوت ژنومی ۱ مگابازی ۰/۰۸
 گزارش کردند که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.
 همان طور که در جدول ۴ دیده می‌شود با افزایش
 طول قطعات مدنظر برای رشته‌های هموزیگوت
 ژنومی، میانگین همخونی ژنومی در حیوان‌ها کاهش
 می‌یابد که می‌تواند بازتابی از کنترل همخونی در
 نسل‌های اخیر باشد.

جدول ۴- آماره‌های توصیفی ضریب همخونی ژنومیک دامهای تحت بررسی

Table 4- Descriptive statistics of the genomic inbreeding coefficient of the animals under study					
(mb) طول قطعات رشته‌های هموزیگوت ژنومی					همخونی Inbreeding
Length of ROH (mb)					
>16	6-8	4-6	2-4	1-2	
0.02	0.05	0.07	0.086	0.086	میانگین Average
0.01	0.02	0.02	0.025	0.025	انحراف معیار Standard deviation
0	0.01	0.03	0.039	0.039	حداقل Minimum
0.07	0.12	0.14	0.147	0.147	حداکثر Maximum

براساس رشته‌های هموزیگوت ژنومی بزرگتر از یک
 مگاباز را در نژاد کانگایام مشاهده کردند.
 Mousapour و همکاران (۲۰۱۹) در تحقیقی بر
 روی گاوهای شیری پرتولید و کم تولید هلشتاین
 ایران، ضرایب همخونی برای دو گروه با تولید بالا و
 پایین را به ترتیب ۰/۲ و ۰/۱۹ گزارش کردند که با
 توجه به مبنای انتخاب دام‌ها در دو گروه با حداکثر و
 حداقل ارزش اصلاحی برای صفت تولید شیر و
 همچنین تاکید بر منشا پدران از ایالت متحده و کانادا،
 نشان‌دهنده سطح بالای هموزیگوسیتی در دو گروه
 بود.

نتیجه‌گیری

میانگین ضریب همخونی ژنومی گاوها با در نظر
 گرفتن قطعات رشته‌های هموزیگوت ژنومی ۱
 مگابایتی ۸/۶ درصد برآورد گردید. با افزایش طول

Szmatola و همکاران (۲۰۱۹) میانگین ضریب
 همخونی ژنومیک برآورد شده برای رشته‌های
 هموزیگوت ژنومی بالای یک مگاباز در نژاد هرفورد
 را ۰/۱۵۱ گزارش کردند. این محققین مقادیر نسبتاً کم
 ضریب همخونی ژنومیک را برای نژاد لیموزین
 (۰/۰۵۹)، شاروله (۰/۰۶۵) و سیمینتال (۰/۰۶۰)
 گزارش کردند. همچنین، این محققین ضریب
 همخونی ژنومی را براساس رشته‌های هموزیگوت
 ژنومی بزرگتر از ۸ و ۱۶ مگاباز در نژادهای مختلف
 مقایسه کردند و بیشترین مقادیر ضریب همخونی
 ژنومی را در نژاد مونبیلارد (۰/۰۶۳ و ۰/۰۳۸) گزارش
 کردند. همچنین، ضریب همخونی ژنومی براساس
 رشته‌های هموزیگوت ژنومی بزرگتر از ۸ و ۱۶ مگاباز
 برای نژاد هلشتاین سیاه و سفید ۰/۰۶۱ و ۰/۰۲۹ بود
 که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی داشت. Dixit و
 همکاران (۲۰۲۰) بیشترین میانگین همخونی ژنومی

می‌شود. شایان ذکر است که با توجه به برنامه اصلاح نژادی و گاوهای نر انتخاب شده در سالهای اولیه اجرای برنامه انتخاب گاو نژاد هلشتاین، انجمن گاو نژاد هلشتاین (Holstein Association, USA) میانگین همخوانی گاوهای این نژاد را در حدود ۵/۸ درصد گزارش کرده است. با توجه به میانگین ۵/۸ درصدی همخوانی برای جامعه گاوهای هلشتاین، میانگین همخوانی ۲ درصدی برآورد شده در رشته‌های هموزیگوت ژنومی ۱۶ مگابایتی (که منعکس‌کننده آمیزشی اخیر استفاده شده در گله‌ها است) در سطح قابل قبولی است.

قطعات مدنظر برای رشته‌های هموزیگوت ژنومی به ۱۶ مگابایت، میانگین همخوانی ژنومیک گاوها به ۲ درصد کاهش یافت. بیشتر بودن فراوانی رشته‌های هموزیگوت ژنومی کوتاهتر نسبت به قطعات بلندتر نشان دهنده این موضوع بود که قسمت عمده همخوانی موجود مربوط به نسل‌های گذشته بود و در اثر وجود اجداد مشترک در نسل‌های دور شجره بوجود آمده است. با این وجود، ۲۲ درصد از رشته‌های هموزیگوت ژنومی تشخیص داده شده در جمعیت، مربوط به قطعات کوچکتر از ۴ مگابایت بود که نشان می‌دهد سیستم آمیزشی کنونی به کاررفته در گله‌ها نیز باعث به وجود آمدن درجاتی از همخوانی

منابع

- Al-Mamun, H. A., Clark, S. A., Kwan, P., & Gondro, C. (2015). Genome-wide linkage disequilibrium and genetic diversity in five populations of Australian domestic sheep. *Genetics Selection Evolution*, 47(1):1-14
- Curik, I., Ferenčaković, M., & Sölkner, J. (2015). Inbreeding and runs of homozygosity: a possible solution to an old problem. *Livestock Science*, 166: 26-34
- Dixit, S., Singh, S., Ganguly, I., Bhatia, A. K., Sharma, A., & Kumar, N. A. (2020). Genome-wide runs of homozygosity revealed selection signatures in *Bos indicus*. *Frontiers in genetics*, 11: 92-101
- Falconer, D. S., Mackay, F. C. (1996). *Introduction to Quantitative Genetics*. Longman Group Ltd., England.
- Gomez-Raya, L., Rodríguez, C., Barragán, C., & Silió, L. (2015). Genomic inbreeding coefficients based on the distribution of the length of runs of homozygosity in a closed line of Iberian pigs. *Genetics Selection Evolution*, 47(1): 1-15
- He, S., Di, J., Han, B., Chen, L., Liu, M., & Li, W. (2020). Genome-wide scan for runs of homozygosity identifies candidate genes related to economically important traits in Chinese Merino. *Animals*, 10(3): 524-537
- Henryon, M., Berg, P., & Sørensen, A. (2014). Animal-breeding schemes using genomic information need breeding plans designed to maximise long-term genetic gains. *Livestock Science*, 47: 38-47
- Kim, E. S., Cole, J. B., Huson, H., Wiggans, G. R., Van Tassel, C. P., & Crooker, B.A. (2013). Effect of artificial selection on runs of homozygosity in U.S. Holstein cattle. *PLoS One*, 15: 85-96
- Rokouei, M., Vaez Torshizi, R., Moradi Shahrababak, M., Sargolzaei, M., & Sørensen, A.C. (2010). Monitoring inbreeding trends and inbreeding depression for economically important traits of Holstein cattle in Iran. *Journal of Dairy Science*, 93: 3294-3302
- Meuwissen, T. H., Hayes, B. J., & Goddard, M. (2001). Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 157(4):1819-29.
- Dadar, M., Ansari Mahyari, S., Rokouei, M., & Edriss, M. A. (2014). Rates of inbreeding and genetic diversity in Iranian Holstein Cattle. *Animal Scienec Journal*, 85 (10): 888-894

- Mousapour, M., Nejati-Javaremi, A., Moradi-ShahreBabak, M., & Saatchi, M. (2019). Comparison of homozygosity in SNP and ROH sites in Holstein dairy cows with high and low production level. *Iranian Journal of Animal Science*, 50(3): 249-258. (In Persian).
- Peixoto, M., Poggian, C., Verneque, R., Egito, A., Carvalho, M., & Penna, V. (2010). Genetic basis and inbreeding in the Brazilian Guzerat (*Bos indicus*) subpopulation selected for milk production. *Livestock Science*, 131(2-3): 168-74.
- Peripolli, E., Stafuzza, N. B., Munari, D. P., Lima, A. L. F., Irgang, R., & Machado, M. A. (2018). Assessment of runs of homozygosity islands and estimates of genomic inbreeding in Gyr (*Bos indicus*) dairy cattle. *BMC Genomics*, 19(1): 1-13
- Pryce, J., Hayes, B., & Goddard, M. (2012). Novel strategies to minimize progeny inbreeding while maximizing genetic gain using genomic information. *Journal of dairy science*, 95(1): 377-88
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A., & Bender, D. (2007). PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American journal of human genetics*, 81(3): 559-75
- Purfield, D. C., Berry, D. P., McParland, S., & Bradley, D. G. (2012). Runs of homozygosity and population history in cattle. *BMC Genetics*, 13(1): 1-11
- Tohidi, R., Roger, I. C., Mohammad Nazari, B., & Pahlavan, R. (2023). The effect of new and ancestral inbreeding on milk production traits in Iranian Holstein cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 140(3): 276-286
- Sabeti, P. C., Reich, D. E., Higgins, J. M., Levine, H. Z., Richter, D. J., & Schaffner, S. F. (2002). Detecting recent positive selection in the human genome from haplotype structure. *Nature*, 419(6909): 832-837
- Smith, L. A., Cassell, B., & Pearson, R. (1998). The effects of inbreeding on the lifetime performance of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 81(10): 2729-2737
- Szmatola, T., Gurgul, A., Jasielczuk, I., Zabek, T., Ropka-Molik, K., & Litwińczuk Z. (2019). A comprehensive analysis of runs of homozygosity of eleven cattle breeds representing different production types. *Animals*, 9(12):1024-1033
- Vahedi, R., Farhanfar, S., & Sayadnezhad, M. (2020). Evaluation of the impact of inbreeding coefficient on milk production, lactation length and first calving age of Iranian dairy cows using Quantile regression. *Journal of Animal Science Researches*, 30(2): 25-39. (In Persian).
- Vignal, A., Milan, D., San Cristobal, M., & Eggen, A. (2002). A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution*, 34(3): 275-30.
- Weigel, K. A. (2001). Controlling inbreeding in modern breeding programs. *Journal of Dairy Science*, 84: 177-184