

Meta-analysis of genome-wide association studies on milk fatty acids in Holstein cows

Somayeh Bakhshalizadeh¹, Saeed Zerehdaran^{2*}, Karim Hassanpour³

¹ Graduated Ph.D. student, Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

² Professor, Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran,
Email: zerehdaran@um.ac.ir

³ Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Tabriz University, Tabriz, Iran

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:

Received: 01/02/2024

Revised: 02/13/2024

Accepted: 02/14/2024

Keywords:

Genome-wide association studies

Holstein cow

Meta-analysis

Milk fatty acids

ABSTRACT

Background and Objectives: Cow's milk is known as one of the primary food sources for humans, offering a broad spectrum of nutritional compounds. Fatty acids are considered as a key component of milk, recognized as essential constituents of the fat present in milk. These components contribute to the creation of a unique fatty acid profile in milk. These components contribute to the creation of a unique fatty acid profile in milk. Genome-wide association studies (GWAS), with high statistical accuracy, play a crucial role in identifying potential causative loci. Numerous GWAS in cattle, particularly in Holstein cows, provide favorable conditions for integrating multiple independent studies. Using advanced techniques such as meta-analysis, the possibility of more precise identification of loci associated with quantitative traits of milk fatty acids in Holstein cows has been facilitated. The main objective of this research is the precise identification of loci associated with quantitative traits of milk fatty acids in Holstein cows. To achieve this goal, techniques such as meta-analysis was employed. This study may improve the accuracy of genetic selections and optimizing fatty acids in Holstein cow milk, through identification of genetic structure of fatty acids.

Materials and Methods: Searching for GWAS studies in Holstein cows, was conducted on Google Scholar using relevant keywords such as Holstein cows, GWAS and milk fatty acids. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) derived from Holstein cows (Chinese, Danish, and Dutch) from various countries was available in four independent studies published during 2012 to 2019. A total of 1524 SNPs related to milk fatty acids was available from previous GWAS studies. Meta-analysis using a summary statistics approach (i.e., P-values, sample size, allelic effects, etc.) was performed among Holstein cows. In the present study, the METAL software was employed for meta-analysis, utilizing a weighted Z-score model. This method combined and assessed significant SNPs with a P-value less than 0.05.

Results: The most significant SNPs associated with milk fatty acids were identified. For instance, the most meaningful SNPs for the C16:0 trait were rs109421300 and rs137372738, with P-values of

1.05e-102 and 6.62e-23, respectively. These SNPs play a crucial and key role in producing C16:0 fatty acid and may influence the quality of milk production.

Conclusion: Overall, the results of this study demonstrated that based on SNPs with higher significant levels through meta-analysis compared to individual GWAS studies, it is possible to identify SNPs associated with quantitative traits with higher accuracy. Such studies contribute to a better understanding of genomic regions related to quantitative traits for milk fatty acids. Therefore, the identification of SNPs and key genes with high accuracy can play a significant role in genomic assessment and the design of breeding programs for improving fatty acids and the quality of milk production.

Cite this article: Bakhshalizadeh, S., Zerehdaran, S., Hassanpour, K. (2024). Meta-analysis of genome-wide association studies on milk fatty acids in Holstein cows. *Journal of Ruminant Research*, 12(3), 87-106.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/ejrr.2024.22033.1930

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

فرا تحلیل مطالعات پویش ژنومی بررسی ارتباط نشانگرهای تک نوکلئوتیدی با اسیدهای چرب شیر در گاو هلشتاین

سمیه بخشعلی زاده^۱، سعید زره داران^{۲*}، کریم حسن پور^۳

^۱ دانش آموخته دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

^۲ استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، رایانامه: zerehdaran@um.ac.ir

^۳ استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی - پژوهشی	سابقه و هدف: شیر گاو به عنوان یکی از منابع غذایی اصلی با طیف وسیعی از ترکیبات مغذی برای انسان ها ارائه می شود. یکی از اجزای کلیدی شیر، اسیدهای چرب هستند که به عنوان اجزای اساسی چربی موجود در شیر شناخته می شوند. این اجزا باعث ایجاد ساختار چربی منحصر به فرد در شیر می شوند. پویش ژنومی با دقت آماری بالا، نقش مهمی در شناسایی جایگاه های علی کاندید مؤثر در بروز صفات کمی دارد. تعداد زیادی از مطالعات پویش ژنومی در گاو، به ویژه در گاوهای هلشتاین، شرایط مطلوبی را برای ادغام چندین مطالعه مستقل فراهم می کند. با استفاده از روش هایی مانند فراتحلیل، امکان شناسایی دقیق تر جایگاه های مرتبط با صفات کمی اسیدهای چرب شیر در گاوهای هلشتاین فراهم شده است. هدف اصلی این پژوهش، شناسایی دقیق جایگاه های صفات کمی مرتبط با اسیدهای چرب شیر در گاوهای هلشتاین است. برای دستیابی به این هدف، از تکنیک فراتحلیل بهره گرفته شد. این مطالعه می تواند با شناخت بهتر از ساختار ژنتیکی اسیدهای چرب، در بهبود صحت انتخاب های ژنتیکی و بهینه سازی اسیدهای چرب در شیر گاوهای هلشتاین مؤثر باشد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۱۲ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۱۱/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۲۵	
واژه های کلیدی: اسیدهای چرب شیر فرا تحلیل گاوهای هلشتاین مطالعات پویش ژنومی	مواد و روش ها: جستجو برای مجموعه مطالعات پویش ژنومی در گوگل اسکولار با استفاده از کلیدواژه های گاوهای هلشتاین، مطالعات پویش ژنومی و اسیدهای چرب شیر انجام شد. مجموعه چندشکلی های تک نوکلئوتیدی به دست آمده برای گاوهای هلشتاین (چینی، دانمارکی و هلندی) از کشورهای مختلف در ۴ مطالعه مستقل از سال ۲۰۱۲ تا ۲۰۱۹ در دسترس بود. از مطالعات قبلی پویش ژنومی، تعداد ۱۵۲۴ چندشکلی تک نوکلئوتیدی مرتبط با اسیدهای چرب شیر در دسترس می باشد. فراتحلیل با استفاده از خلاصه آماری پویش ژنومی (یعنی مقادیر P، اندازه نمونه، اثرات آلی و غیره) در بین گاوهای هلشتاین انجام شد. در مطالعه حاضر، از نرم افزار METAL برای فراتحلیل مدل وزنی امتیاز Z استفاده شد. این روش، چندشکلی های تک نوکلئوتیدی معنی دار را با P کمتر از ۰/۰۵ با هم ترکیب و ارزیابی می کند.
	یافته ها: این مطالعه، مهم ترین چندشکلی های تک نوکلئوتیدی را برای اسیدهای چرب شیر

شناسایی کرد، به عنوان مثال، معنی دارترین چندشکلی تک نوکلئوتیدی برای اسید چرب اشباع ۱۶ کربنه C16:0 شامل rs109421300 و rs137372738 به ترتیب با $P=1/05e-102$ و $P=23e-$ بودند؛ بنابراین این چندشکلی های تک نوکلئوتیدی نقش مهمی در بهبود اسیدهای چرب شیر و کیفیت تولید شیر دارند.

نتیجه گیری: در مجموع، نتایج این مطالعه نشان داد که با توجه به سطوح معنی داری بالاتر برای چندشکلی های تک نوکلئوتیدی در مطالعه فراتحلیل در مقایسه با مطالعات پویش ژنومی انفرادی، می توان با صحت بیشتری به شناسایی جایگاه های کمی و چندشکلی های تک نوکلئوتیدی پرداخت. این نوع مطالعات کمک می کند تا درک بهتری از مناطق جایگاه های کمی برای صفات اسیدهای چرب شیر داشته باشیم؛ بنابراین، شناسایی چندشکلی های تک نوکلئوتیدی و ژن های مهم با صحت بالاتر می تواند نقش مؤثری در ارزیابی ژنومی و طراحی برنامه های اصلاح نژادی با هدف بهبود اسیدهای چرب و کیفیت تولید شیر داشته باشد.

استناد: بخشعلی زاده، سمیه؛ زره داران، سعید؛ حسن پور، کریم. (۱۴۰۳). فراتحلیل مطالعات پویش ژنومی بررسی ارتباط نشانگرهای تک نوکلئوتیدی با اسیدهای چرب شیر در گاو هلشتاین. پژوهش در نشخوارکنندگان، ۱۲(۳)، ۱۰۶-۸۷.

DOI: 10.22069/ejrr.2024.22033.1930



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

چربی شیر یکی از مهم ترین اجزای تشکیل دهنده آن می باشد که به طور مستقیم با اقتصاد تغذیه ای شیر و محصولات لبنی مرتبط است. چربی موجود در شیر و محصولات لبنی تا ۳۰ درصد از کل مصرف چربی در رژیم غذایی انسان را تشکیل می دهند (Blake و Mansbridge, ۱۹۹۷). مطالعات قبلی، اثرات اسیدهای چرب در تغذیه انسان و همچنین محدوده توصیه شده برای مصرف چربی در رژیم غذایی را تعیین کرده اند (Connor, ۲۰۰۰، FAO-WHO, ۲۰۰۸، Brouwer و همکاران, ۲۰۱۳). چربی شیر ترکیب پیچیده ای از لیپیدها است که حدود ۷۰ درصد از آن اسیدهای چرب اشباع و ۳۰ درصد اسیدهای چرب غیر اشباع هستند (Grummer, ۱۹۹۱، Pereira, ۲۰۱۴). برخی از اسیدهای چرب اساسی، همچون فسفولیپیدها که جزء اصلی غشاهای سلولی محسوب می شوند، به عنوان مواد مغذی ضروری برای حفظ سلامتی انسان شناخته می شوند (Spector و Yorek, ۱۹۸۵). باین حال، مقادیر بالای اسیدهای چرب اشباع در شیر معمولاً نامطلوب است، زیرا با برخی بیماری ها از جمله افزایش کلسترول خون، چاقی و مشکلات قلبی عروقی همراه است (Brouwer و همکاران, ۲۰۱۳، Pulina و همکاران, ۲۰۱۷). اسیدهای چرب اشباع و اسیدهای چرب غیر اشباع با طول زنجیره کربنی متفاوت، پارامترهای وراثتی متنوعی دارند. به عنوان مثال، اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه و اسیدهای چرب با زنجیره متوسط وراثت پذیری متوسط تا بالا را نشان داده اند. در حالی که اسیدهای چرب با زنجیره بلند معمولاً وراثت پذیری پایین تا متوسط دارند. علاوه بر پارامترهای ژنتیکی، شناخت فرآیند تولید اسیدهای چرب شیر از طریق شناسایی مناطق مهم ژنومی و ژن های کاندید می تواند به پیشرفت ژنتیکی چنین

صفاتی کمک کند؛ بنابراین، این امر با گنجاندن اطلاعات مربوط در پیش بینی ارزش های اصلاحی ژنومی، با استفاده از روش هایی که اثر مناطق مختلف ژنوم را در نظر می گیرند، به راحتی قابل انجام است (Tullo و همکاران, ۲۰۱۴؛ Narayana و همکاران, ۲۰۱۷، Cai و همکاران, ۲۰۲۰).

تحلیل پویش ژنومی یک روش استاندارد برای شناسایی مناطق ژنومی است که به طور قابل توجهی با صفات مورد نظر ارتباط دارند. این تحلیل به درک معماری ژنتیکی و زیربنای بیولوژیکی سنتز اسیدهای چرب شیر کمک می کند. در پویش ژنومی، ارتباط هزاران نمونه از چندشکلی های تک نوکلئوتیدی^۱ با صفات مورد نظر بررسی می شود. سپس، با استفاده از عدم تعادل پیوستگی^۲، جهش های ایجادکننده از طریق یک یا چند نشانگر ژنتیکی پیوسته شناسایی می شوند (Bouwman و همکاران, ۲۰۱۲)؛ بنابراین، اجرای مطالعات پویش ژنومی در حیوانات، به ویژه در گاوهای شیری، فرصت های مناسبی را برای جمع مطالعات انفرادی و بهبود دقت نتایج با استفاده از روش های مناسب نظیر فرا تحلیل فراهم می کند. فرا تحلیل به عنوان یک روش کمی و تجزیه و تحلیل آماری، اطلاعات حاصل از مطالعات متعدد در زمینه های علمی مختلف را با یکدیگر ترکیب می کند. در حالی که ممکن است مطالعات منفرد و مستقل انجام شده و به تنهایی تأثیر چندانی نداشته باشند (Lean و همکاران, ۲۰۰۹؛ Mallett و همکاران, ۲۰۱۲). فرا تحلیل قادر است منابع موجود و مرتبط با یک موضوع تحقیقاتی را جمع آوری، ترکیب و ارزیابی کند و سپس این اطلاعات را مرحله به مرحله برای پاسخی قطعی به سؤال تحقیق به صورت کمی تبدیل کند (Mallett و همکاران, ۲۰۱۲)؛ بنابراین، این

¹ Single nucleotide polymorphism

² Linkage disequilibrium

سلول‌های بدنی در گاوهای شیری در ایران نیز به کاررفته است. نتایج این تحقیقات نشان دادند که با شناسایی ژن‌ها و مسیرهای مرتبط می‌توان از عفونت و عوامل بیماری‌زا در بروز بیماری ورم‌پستان جلوگیری کرد (Bakhshalizadeh و همکاران، ۲۰۲۱). در مطالعه کنونی، یک فراتحلیل روی چندین مطالعه پویش ژنومی مرتبط با صفات اسیدهای چرب شیر در گاوهای هلشتاین انجام شد تا درک بهتری از جایگاه‌های صفات کمی^۱ برای این صفات ایجاد شود.

مواد و روش‌ها

استخراج داده‌ها: برای جمع‌آوری مجموعه داده‌های خلاصه پویش ژنومی، یک جستجوی جامع با استفاده از کلید واژه‌های گاوهای هلشتاین، مطالعات پویش ژنومی و اسیدهای چرب شیر در گوگل اسکولار^۲ انجام شد. استخراج داده‌های مجموعه مطالعات پویش ژنومی برای صفات اسیدهای چرب شیر در جدول ۱ ارائه شده است.

از کل مقالات جمع‌آوری شده، ۴ مقاله پژوهشی برای صفات اسیدهای چرب شیر استفاده شد. سایر مقالات مورداستفاده در مطالعه حاضر مربوط به بازه زمانی ۲۰۱۲ تا ۲۰۱۹ بود. بر این اساس، نتایج جستجوهای اولیه وارد چک لیست ارزیابی شدند که شامل عنوان مقاله، نام نویسنده، سال انتشار، تعداد حیوانات موجود در هر مطالعه و سایر موارد موردنیاز بودند. سپس، مقالات با توجه به اهداف مدنظر برای فراتحلیل از چک‌لیست ارزیابی انتخاب شدند. بدین صورت، عنوان، خلاصه و متن کامل مقالات موردبررسی قرار گرفت و بر اساس معیارهای ورود و خروج، مورد قضاوت قرار داده شدند.

روش امکان ارزیابی نتایج مختلف در چندین مجموعه داده را فراهم کند (Higgins و همکاران، ۲۰۰۷). فراتحلیل داده‌های مطالعات پویش ژنومی می‌تواند با افزایش حجم نمونه نسبت به مطالعات انفرادی، دقت آزمون را افزایش دهد. باین حال، تجزیه و تحلیل داده‌ها در مطالعات مختلف ممکن است با استفاده از نرم‌افزارهای متفاوتی انجام شده باشد و انواع مختلفی از ژنوتیپ‌های مؤثر در هر مطالعه شناسایی شود (Anderson و همکاران، ۲۰۰۸). با وجود انجام آزمون‌های متعدد، تجزیه و تحلیل پویش ژنومی در مطالعات مختلف، شناسایی متغیرهای علی در نواحی ژنومی برای بسیاری از چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی مجاوری که دارای مقادیر P مشابه هستند به دلیل عدم تعادل پیوستگی قوی مشکلی پیچیده است (Goddard و Hayes، ۲۰۰۹)؛ بنابراین، با تجمع مطالعات انفرادی، فراتحلیل می‌تواند دقت در شناسایی متغیرهای علی را در فواصل کوتاهی از عدم تعادل پیوستگی حفظ کرده و صحت آن را به طور فزاینده‌ای افزایش دهد (Van den Berg و همکاران، ۲۰۲۰). همچنین، نتایج متفاوت در مطالعات ناشی از عواملی همچون اندازه‌ی نمونه کم، کیفیت پایین نمونه، تفاوت در پروتکل‌ها، استفاده از بستر آزمایشگاهی متفاوت و تجزیه و تحلیل‌های آماری مختلف، به شناسایی ژن‌هایی با بیان متفاوت انجامیده است (Li و همکاران، ۲۰۱۶). روش فراتحلیل می‌تواند به حل این مشکلات کمک کند. فراتحلیل، با ترکیب اطلاعات حاصل از چندین مطالعه مرتبط، دقت و اعتمادپذیری نتایج را بهبود می‌بخشد (Ramasamy و همکاران، ۲۰۰۸، Rung و Brazma، ۲۰۱۳، Van den Berg و همکاران، ۲۰۱۶a). این روش، به طراحی تحقیقات در زمینه فراتحلیل مطالعات پویش ژنومی برای صفت نمره

¹ Quantitative trait loci

² Google Scholar

جدول ۱ - شرح مطالعات پوشش ژنومی مورد استفاده در فراتحلیل
Table 1- Description of genome-wide association studies used in the meta-analysis

شماره Number	عنوان مقاله Title of the paper	تعداد گاوهای چینی Number of Chinese cows	تعداد گاوهای دانمارکی Number of Danish cows	تعداد گاوهای هلندی Number of Dutch cows	تعداد SNPهای معنی دار Number of significant SNPs	فنوتیپ Phenotype	منبع Reference
1	Genomic regions associated with bovine milk fatty acids in both summer and winter milk samples مناطق ژنومی مرتبط با اسیدهای چرب شیر گاو در هر دو نمونه شیر تابستانی و زمستانی	-	-	1564	87	Daughter yield deviations انحراف عملکرد دختران	(3)
2	Genome-wide association and biological pathway analysis for milk-fat composition in Danish Holstein and Danish Jersey cattle تجزیه و تحلیل مطالعات پوشش ژنومی و مسیرهای بیولوژیکی برای اجزای چربی شیر در گاوهای هلشتاین دانمارکی و چرسی دانمارکی	-	456	-	1233	Estimated breeding values برآورد ارزش های اصلاحی	(5)
3	Genome wide association study identifies 20 novel promising genes associated with milk fatty acid traits in Chinese Holstein مطالعات پوشش ژنومی ۲۰ ژن جدید امیدوار کننده مرتبط با صفات اسید چرب شیر در هلشتاین چینی را شناسایی می کند.	784	-	-	146	Daughter yield deviations انحراف عملکرد دختران	(19)
4	Multi-population GWAS and enrichment analyses reveal novel genomic regions and promising candidate genes underlying bovine milk fatty acid composition مطالعات پوشش ژنومی چند جمعیتی و تجزیه و تحلیل غنی سازی، مناطق ژنومی جدید و ژنهای کاندید امیدوار کننده ای را نشان می دهد که زیربنای اجزای اسیدهای چرب شیر گاو هستند.	700	614	1566	58	Estimated breeding values برآورد ارزش های اصلاحی	(10)

مقالاتی که مرتبط با بحث پژوهش نبودند، حذف و مقالات حذف شده به همراه دلایل حذف شدن، بایگانی و نگهداری شدند. در مورد مقالات باقی مانده، اطلاعات مربوط به صفات اسیدهای چرب شیر (مانند ژن، چندشکلی تک نوکلئوتیدی، مقادیر P، اندازه نمونه، اثرات آللی، خطای استاندارد و فراوانی های آللی) به طور دقیق از هر یک از مطالعات جمع آوری و در صفحات گسترده اکسل ذخیره شدند. طبقه بندی داده ها بر اساس موقعیت جغرافیایی حیوانات شامل گاوهای چینی، دانمارکی و هلندی انجام شد. پس از جمع آوری خلاصه های آماری از چندین مطالعه پوشش ژنومی، یک سری ارزیابی برای اطمینان از حداکثر کیفیت و یکپارچگی داده ها صورت گرفت. در برخی از مقالات تحقیقی، نام چندشکلی های تک نوکلئوتیدی به صورت متفاوت ثبت شده بود؛ بنابراین، از پایگاه اطلاعاتی ایلومینا (<https://www.illumina.com>) برای به دست آوردن نام و موقعیت چندشکلی های تک نوکلئوتیدی استفاده شد. در مجموع، بر اساس مطالعات قبلی پوشش ژنومی، تعداد ۱۵۲۴ چندشکلی های تک نوکلئوتیدی مرتبط با اسیدهای چرب شیر شناسایی شده است.

فرا تحلیل و ناهمگنی جایگاه های صفات کمی:

صفات مورد مطالعه در این تحقیق شامل اسیدهای چرب C14:0، C14:1، C14:0، C12:0، C10:0، C8:0، Index، C16:0، C16:1، C18:0، C18:1n9c و C18:0 بود. مدل آماری استفاده شده در مطالعات قبلی پوشش ژنومی بین چندشکلی تک نوکلئوتیدی و صفت مورد نظر به شرح زیر بود (Nayeri و Stothard، ۲۰۱۶، Yue و همکاران، ۲۰۱۷، Marete و همکاران، ۲۰۱۸، Gebreyesus و همکاران، ۲۰۱۹):

$$y = 1\mu + x\beta + g + e$$

که در آن، y برداری از فنوتیپ ها، μ میانگین، x برداری از آلل های تعیین ژنوتیپ شده برای هر

چندشکلی تک نوکلئوتیدی، β برداری از اثرات جایگزینی آلل ثابت برای چندشکلی تک نوکلئوتیدی، g برداری از اثرات ژنتیکی افزایشی تصادفی با $g \sim \mathcal{N}(0, G\sigma_g^2)$ که در آن G ماتریس روابط ژنومی، σ_g^2 واریانس برآورد شده برای همه چندشکلی های تک نوکلئوتیدی، e برداری از اثرات تصادفی باقی مانده با $e \sim \mathcal{N}(0, I\sigma_e^2)$ که در آن I یک ماتریس همانندی است و σ_e^2 واریانس خطا است.

واریانس y برابر است با: $V(y) = G\sigma_g^2 + I\sigma_e^2$ ، درآیه های ماتریس G به شرح زیر برآورد می شود:

$$g_{jk} = \frac{1}{w} \sum_{i=1}^w \frac{(z_{ij} - 2p_i)(z_{ik} - 2p_i)}{2p_i(1 - p_i)}$$

که در آن، w تعداد کل چندشکلی تک نوکلئوتیدی است، z_{ij} و z_{ik} به ترتیب تعداد کپی های آلل های مرجع برای لامین چندشکلی تک نوکلئوتیدی در لامین و k لامین گاو است و p_i فراوانی آلل های مرجع برآورد شده از داده های نشانگر است (VanRaden، ۲۰۰۸).

پس از جمع آوری خلاصه آماری از چندین مطالعه پوشش ژنومی، تحلیل جامع در نرم افزار METAL (Willer و همکاران، ۲۰۱۰) با بهره گیری از مدل وزنی امتیاز Z انجام شد. در این مطالعه، مدل وزنی امتیاز Z برای برآورد مقادیر P و جهت های اثرات چندشکلی تک نوکلئوتیدی استفاده شد. وزن های انفرادی پوشش ژنومی بر اساس اندازه نمونه برای محاسبه امتیاز Z به شرح زیر است (Willer و همکاران، ۲۰۱۰):

$$Z_f = \Phi^{-1} \left(1 - \frac{P_f}{2} \right) \times \Delta_f$$

که در آن، Z_f امتیاز Z برای جمعیت f است، Φ^{-1} معکوس توزیع تجمعی نرمال استاندارد است، P_f مقدار P است. Δ_f جهت اثرات چندشکلی تک نوکلئوتیدی برآورد شده برای جمعیت f است. به طور کلی، امتیاز Z و مقدار P به ترتیب با استفاده از معادلات زیر محاسبه شدند:

$$Z = \frac{\sum_f Z_f W_f}{\sqrt{\sum_f W_f^2}}$$

$$P = 2\Phi(-|Z|)$$

که در آن، n_f ، تعداد نمونه‌های اندازه‌گیری شده در جمعیت f است.

ناهمگنی اندازه اثرات در مطالعات مختلف پویش ژنومی از طریق آزمون کوکران Q و با استفاده از نرم افزار METAL برآورد شد. آماره کوکران Q طبق فرمول زیر محاسبه شد (Cochran, 1954):

$$Q = \sum w_i^k (d_i - d_+^k)^2$$

که در آن d_+^k خلاصه اندازه اثر با اثرات ثابت، d_i اندازه اثر خاص مطالعه و w_i^k وزن هر مطالعه بود. این آماره از توزیع χ^2 با درجه آزادی $k-1$ پیروی می‌کند (k تعداد مطالعات یا مجموعه داده‌های یکپارچه شده است). واضح است که Q برای برآورد واریانس بین مطالعات استفاده شده است.

بنابراین، ناهمگنی نشان‌دهنده این است که جایگاه‌های کمی تفکیک شده بین مطالعات مختلف معنی دار است (P کمتر از 0/05) (Willer و همکاران، 2010). مقادیر فنوتیپی گزارش شده در مطالعات پویش ژنومی برای گاوهای نر شامل انحراف عملکرد دختران و برآورد ارزش‌های اصلاحی بود. مقادیر فنوتیپی در مطالعات پویش ژنومی برای صفات اسیدهای چرب شیر در جدول ۱ خلاصه شده است.

نتایج و بحث

فرا تحلیل مرتبط با صفات اسیدهای چرب شیر در جمعیت گاوهای هلشتاین، بر اساس خلاصه آماری از چهار مطالعه منتشر شده انجام شده است. اهمیت آستانه آماری در زمینه مطالعات پویش ژنومی به شکل‌های متنوع مشخص گردید. در فرآیند پویش ژنومی، تعیین آستانه آماری برای شناسایی مثبت‌های واقعی از مثبت‌ها و منفی‌های کاذب از اهمیت چشمگیری برخوردار است. روش‌های چند آزمونی برای محاسبه

آستانه معنی‌داری توسعه یافته که ممکن است بیش از حد محافظه کارانه باشد و منفی‌های کاذب را افزایش دهد (Saffari و همکاران، 2018). روش‌های چند آزمونی در مطالعات پویش ژنومی ممکن است دقت فرا تحلیل را تحت تأثیر بگذارد. علاوه بر این، ممکن است گاوهای شیری جهش‌های علی متفاوتی (به عنوان مثال، به دلیل اثرات اپیستازی) را داشته باشند که ممکن است دقت نتایج فرا تحلیل را کاهش دهد. این عوامل باعث ایجاد اثرات متضاد برای برخی از جایگاه‌های کمی در بین گاوهای شیری می‌شود (Gjuvsland و همکاران، 2013). نتایج فرا تحلیل و ناهمگنی برای صفات اسیدهای چرب شیر به شرح زیر است (جدول ۲):

اسید چرب C8:0: جایگاه‌های کمی مرتبط با اسید چرب C8:0 روی کروموزوم‌های ۱۴، ۱۷، ۱۹ و ۲۱ مشاهده شدند. تعداد جایگاه‌های کمی در گاوهای هلشتاین چینی، دانمارکی و هلندی به ترتیب ۱۲، ۱۲ و ۱۲ بود. چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی معنی‌دار rs109421300 (P=4/07e-12) فراتر رفته شامل (P=4/10e-32، ژن (کروموزوم ۱۴: ۱۸۰۱۱۱۶، P=4/10e-32، ژن DGAT1¹ و mbp 1/7 - 1/8) و rs109290136 (کروموزوم ۱۷: ۳۰۰۸۰۸۵۱، P=6/55e-22) و بین ژنی) بودند. معنی‌دارترین ناهمگنی جایگاه کمی در چندشکلی rs137372738 (کروموزوم ۱۹: ۵۱۳۸۶۷۳۵ و P=3/73e-23) شناسایی شد.

اسید چرب C10:0: جایگاه‌های کمی مرتبط با این اسید چرب در کروموزوم‌های ۱۴، ۱۵، ۱۷ و ۱۹ مشاهده شدند. در حالی که تعداد جایگاه‌های کمی در گاوهای هلشتاین چینی، دانمارکی و هلندی به ترتیب ۲۲، ۲۴ و ۲۴ بود. فرا تحلیل، چندشکلی‌های تک

¹ Diacylglycerol O-Acyltransferase 1

۵۱۳۸۶۷۳۵، $P=8/27e-9$ و ژن FASN) بود که جهت اثرات این چندشکلی تک نوکلئوتیدی منفی بود و نشان دهنده اثرات ژنتیکی کمتر نسبت به اثرات میانگین بود.

اسید چرب C14:0: جایگاه‌های کمی مرتبط با C14:0 روی کروموزوم‌های ۱۴، ۱۵ و ۱۹ مشاهده شد. تعداد جایگاه‌های کمی شناسایی شده برای گاوهای هلشتاین چینی، دانمارکی و هلندی به ترتیب ۲۴، ۴۷ و ۲۴ بود. معنی‌دارترین چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی شناسایی شده در فراتحلیل شامل rs109421300 (کروموزوم ۱۴: 1.8×10^{-11} ، $P=7/97e-31$ و ژن DGAT1) و rs137372738 (کروموزوم ۱۹: ۵۱۳۸۶۷۳۵

$P=2/76e-61$ و ژن FASN) بودند. یک جایگاه کمی روی کروموزوم ۱۹ در فواصل ۵۰ - ۵۲ mbp با چندشکلی تک نوکلئوتیدی مشابه که شامل rs41921177 (کروموزوم ۱۹: 5.132675×10^{-19}) بود که در هر دو از گاوهای هلشتاین چینی و دانمارکی مشاهده شد. این چندشکلی تک نوکلئوتیدی یک متغیر ایترونی در داخل ژن FASN است که فراتحلیل P کمتری ($P=3/18e-3$) را نسبت به هر یک از مطالعات پویش ژنومی ($P=2/52e-8$) نشان داد. معنی‌دارترین ناهمگنی برای چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی روی دو کروموزوم مشاهده شد. چندشکلی تک نوکلئوتیدی اول rs41921177 (کروموزوم ۱۹: 5.132675×10^{-19} و ژن FASN) بود که معنی‌دارترین ناهمگنی را نسبت به بقیه چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی داشت. چندشکلی تک نوکلئوتیدی دوم (rs137372738) هم روی کروموزوم ۱۹: ۵۱۳۸۶۷۳۵ نزدیک به ژن FASN بود.

نوکلئوتیدی معنی‌دار را روی rs109421300 (کروموزوم ۱۴: 1.8×10^{-11} ، $P=1/12e-22$ و ژن DGAT1) و چندشکلی rs137372738 (کروموزوم ۱۹: ۵۱۳۸۶۷۳۵، $P=1/71e-68$ ، بین ژنی و $49/5 - 53/3$ mbp) شناسایی کرد. سایر جایگاه‌های کمی شناسایی شده در فراتحلیل با آستانه معنی‌داری بیشتر نسبت به پویش ژنومی شناسایی شدند که شامل چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی rs109421300 (کروموزوم ۱۴: 1.8×10^{-11} ، $P=6/75e-17$ و بین ژنی) و rs109290136 (کروموزوم ۱۷: $3.0080851 \times 10^{-17}$ ، $P=4/28e-17$ و $33/5 - 28/2$ mbp) بودند. معنی‌دارترین ناهمگنی جایگاه کمی شامل چندشکلی تک نوکلئوتیدی rs137372738 (کروموزوم ۱۹: ۵۱۳۸۶۷۳۵ و $P=1/33e-10$) بود که جهت اثرات آن در بین گاوهای شیرین منفی بود و اثرات ژنتیکی کوچک‌تری را نسبت به اثرات میانگین نشان داد.

اسید چرب C12:0: جایگاه‌های کمی مرتبط با اسید چرب C12:0 روی کروموزوم‌های ۱۰، ۱۴، ۱۹ و ۲۵ مشاهده شدند. درحالی‌که جایگاه‌های کمی در گاوهای هلشتاین چینی، دانمارکی و هلندی به ترتیب شامل ۴۸، ۲۷ و ۲۷ جایگاه کمی بودند. معنی‌دارترین جهش علی‌که قبلاً در مطالعات پویش ژنومی شناسایی شده بود، شامل چندشکلی rs137372738 (کروموزوم ۱۹: 5.132675×10^{-19} ، $P=2/25e-63$ و ژن FASN¹) بود که با استفاده از فراتحلیل تأیید شد. سایر جایگاه‌های کمی معنی‌دار هم با استفاده از فراتحلیل شناسایی شدند که شامل rs110702652 (کروموزوم ۱۰: 1.128463×10^{-18} و بین ژنی) و rs135719091 (کروموزوم ۲۵: 9.907918×10^{-16} ، $P=8/53e-16$ و بین ژنی) بودند. همچنین، معنی‌دارترین ناهمگنی چندشکلی تک نوکلئوتیدی هم rs137372738 (کروموزوم ۱۹: ۵۱۳۸۶۷۳۵ و $P=2/71e-68$ ، بین ژنی و $49/5 - 53/3$ mbp) شناسایی کرد.

اسید چرب C12:0: جایگاه‌های کمی مرتبط با اسید چرب C12:0 روی کروموزوم‌های ۱۰، ۱۴، ۱۹ و ۲۵ مشاهده شدند. درحالی‌که جایگاه‌های کمی در گاوهای هلشتاین چینی، دانمارکی و هلندی به ترتیب شامل ۴۸، ۲۷ و ۲۷ جایگاه کمی بودند. معنی‌دارترین جهش علی‌که قبلاً در مطالعات پویش ژنومی شناسایی شده بود، شامل چندشکلی rs137372738 (کروموزوم ۱۹: 5.132675×10^{-19} ، $P=2/25e-63$ و ژن FASN¹) بود که با استفاده از فراتحلیل تأیید شد. سایر جایگاه‌های کمی معنی‌دار هم با استفاده از فراتحلیل شناسایی شدند که شامل rs110702652 (کروموزوم ۱۰: 1.128463×10^{-18} و بین ژنی) و rs135719091 (کروموزوم ۲۵: 9.907918×10^{-16} ، $P=8/53e-16$ و بین ژنی) بودند. همچنین، معنی‌دارترین ناهمگنی چندشکلی تک نوکلئوتیدی هم rs137372738 (کروموزوم ۱۹: ۵۱۳۸۶۷۳۵ و $P=2/71e-68$ ، بین ژنی و $49/5 - 53/3$ mbp) شناسایی کرد.

¹ Fatty acid synthase

جدول ۲- فهرستی از چندشکلی های تک نوکلئوتیدی معنی دار شناسایی شده در فراتحلیل برای صفات اسیدهای چرب شیر.

Table 2- List of significant single nucleotide polymorphism identified in the meta-analysis for milk fatty acids traits.

صفات Traits	جایگاه صفات QTL ¹ کمی	کروموزوم Chromosome	موقعیت (bp) Position(bp)	تعداد Rs Number	آل Allele	ژن Gene	P _{meta-analysis} فرا تحلیل	مقدار P P	جهت اثرات (و شواهد ناهمگی) در عرض سه مطالعه GWAS Effect direction (and evidence of heterogeneity) across three GWAS studies ²	گاو هلشتاین Chinese Holstein cows	گاو هلشتاین Danish Holstein cows	گاو هلشتاین Dutch Holstein cows	P-value	P-value	P-value
C8:0	1	14	1801116	rs109421300	-	DGAT1	4.10e-32	+++ (7.69e-02)	4.07e-12	4.07e-12	4.07e-12	4.07e-12	4.07e-12	4.07e-12	4.07e-12
	2	17	30080851	rs109290136	-	-	6.55e-22	+++ (1.82e-01)	1.55e-08	1.55e-08	1.55e-08	1.55e-08	1.55e-08	1.55e-08	1.55e-08
	3	19	51386735	rs137372738	A/G	FASN	3.82e-09	+++ (3.73e-23)	1.62e-10	1.62e-10	1.62e-10	1.62e-10	1.62e-10	1.62e-10	1.62e-10
	4	21	55657471	rs136411088	-	-	2.58e-09	+++ (5.22e-01)	4.79e-04	4.79e-04	4.79e-04	4.79e-04	4.79e-04	4.79e-04	4.79e-04
C10:0	1	14	1801116	rs109421300	-	DGAT1	1.12e-22	+++ (1.70e-01)	8.22e-09	8.22e-09	8.22e-09	8.22e-09	8.22e-09	8.22e-09	8.22e-09
	2	15	65881003	rs109352799	-	-	6.75e-17	+++ (2.76e-01)	9.12e-07	9.12e-07	9.12e-07	9.12e-07	9.12e-07	9.12e-07	9.12e-07
	3	17	30080851	rs109290136	-	-	4.28e-17	+++ (2.72e-01)	7.76e-07	7.76e-07	7.76e-07	7.76e-07	7.76e-07	7.76e-07	7.76e-07
	4	19	51386735	rs137372738	A/G	FASN	1.71e-68	--- (1.33e-10)	4.75e-09	4.75e-09	4.75e-09	4.75e-09	4.75e-09	4.75e-09	4.75e-09
C12:0	1	10	1128463	rs110702652	-	-	2.01e-18	+++ (2.43e-01)	2.63e-07	2.63e-07	2.63e-07	2.63e-07	2.63e-07	2.63e-07	2.63e-07
	2	14	1801116	rs109421300	-	DGAT1	5.24e-06	+++ (6.82e-01)	7.41e-03	7.41e-03	7.41e-03	7.41e-03	7.41e-03	7.41e-03	7.41e-03
	3	19	51386735	rs137372738	A/G	FASN	2.25e-63	--- (8.27e-09)	3.01e-09	3.01e-09	3.01e-09	3.01e-09	3.01e-09	3.01e-09	3.01e-09
	4	25	9907918	rs135719091	-	-	8.53e-16	+++ (3.03e-01)	2.24e-06	2.24e-06	2.24e-06	2.24e-06	2.24e-06	2.24e-06	2.24e-06
C14:0	1	14	1801116	rs109421300	-	DGAT1	7.97e-31	--- (8.57e-02)	1.15e-11	1.15e-11	1.15e-11	1.15e-11	1.15e-11	1.15e-11	1.15e-11
	2	15	28561382	rs29027621	-	-	1.30e-19	+++ (2.20e-01)	1.0e-07	1.0e-07	1.0e-07	1.0e-07	1.0e-07	1.0e-07	1.0e-07
	3	19	51326750	rs41921177	A/G	FASN	3.18e-03	-? (5.98e-11)	2.52e-08	2.52e-08	2.52e-08	2.52e-08	2.52e-08	2.52e-08	2.52e-08
	4	19	51386735	rs137372738	A/G	FASN	2.76e-61	--- (3.29e-07)	3.49e-10	3.49e-10	3.49e-10	3.49e-10	3.49e-10	3.49e-10	3.49e-10
C14:1	1	14	44945313	rs134996766	-	-	1.02e-17	+++ (2.58e-01)	4.68e-07	4.68e-07	4.68e-07	4.68e-07	4.68e-07	4.68e-07	4.68e-07
	2	14	1801116	rs109421300	-	-	2.45e-13	+++ (3.65e-01)	1.45e-05	1.45e-05	1.45e-05	1.45e-05	1.45e-05	1.45e-05	1.45e-05
	3	26	22118554	rs42088972	-	BTRC	1.87e-16	+++ (6.54e-01)	3.56e-10	3.56e-10	3.56e-10	3.56e-10	3.56e-10	3.56e-10	3.56e-10
	4	26	21702714	rs42093978	-	SCD1	1.84e-14	+++ (8.53e-01)	5.50e-10	5.50e-10	5.50e-10	5.50e-10	5.50e-10	5.50e-10	5.50e-10
C14 Index	1	5	93945655	rs134637616	-	-	1.79e-23	--- (1.59e-01)	4.37e-09	4.37e-09	4.37e-09	4.37e-09	4.37e-09	4.37e-09	4.37e-09
	2	14	1801116	rs109421300	-	DGAT1	7.67e-42	--- (3.38e-02)	1.15e-05	1.15e-05	1.15e-05	1.15e-05	1.15e-05	1.15e-05	1.15e-05
	3	26	22118554	rs42088972	-	BTRC	3.50e-23	+++ (2.37e-01)	7.55e-15	7.55e-15	7.55e-15	7.55e-15	7.55e-15	7.55e-15	7.55e-15

4	26	23876476	rs41589654	-	CNNM 2	7.35e-19	++?(5.69-01)	1.98e-11	5.51e-09	-
1	1	19928881	rs137639512	-	-	2.80e-16	---(2.91e-01)	1.51e-06	1.51e-06	1.51e-06
2	14	1801116	rs109421300	-	DGATI	1.05e-102	+++ (7.63e-18)	9.04e-06	1.0e-58	1.0e-58
3	14	6023464	rs42305197	-	-	5.94e-20	---(2.14e-01)	7.59e-08	7.59e-08	7.59e-08
4	19	51386735	rs137372738	-	-	6.62e-23	+++ (1.67e-01)	6.92e-09	6.92e-09	6.92e-09
1	2	66786664	rs134492772	-	-	9.58e-18	---(2.57e-01)	4.57e-07	4.57e-07	4.57e-07
2	5	93945655	rs134637616	-	-	5.93e-17	---(2.75e-01)	8.71e-07	8.71e-07	8.71e-07
3	14	1801116	rs109421300	-	DGATI	6.94e-73	++(1.63e-42)	1.15e-55	7.70e-07	1.15e-55
4	17	22643383	rs109202336	-	-	2.75e-21	+++ (1.91e-01)	2.57e-08	2.57e-08	2.57e-08
1	10	12917984	rs41655411	-	-	5.98e-15	+++ (3.25e-01)	4.47e-06	4.47e-06	4.47e-06
2	14	44945313	rs134996766	-	-	3.61e-12	---(4.10e-01)	4.37e-05	4.37e-05	4.37e-05
3	20	32523159	rs109459239	-	-	2.04e-16	+++ (2.88e-01)	1.35e-06	1.35e-06	1.35e-06
4	24	10210368	rs109823093	-	-	1.98e-15	---(3.13e-01)	3.02e-06	3.02e-06	3.02e-06
1	14	1801116	rs109421300	-	DGATI	1.52e-49	+--(4.27e-48)	3.01e-06	4.47e-47	4.47e-47
2	14	6023464	rs42305197	-	-	2.10e-17	+++ (2.65e-01)	6.03e-07	6.03e-07	6.03e-07
3	21	55657471	rs136411088	-	-	2.10e-17	---(2.65e-01)	6.03e-07	6.03e-07	6.03e-07
4	25	24719140	rs136738972	-	-	2.11e-15	+++ (3.13e-01)	3.09e-06	3.09e-06	3.09e-06

اجایگاه‌های کمی؛ جمعیتی از نرها به ترتیب در کشورهای چین، دانمارک و هلند مورد مشاهده قرار گرفت. مقادیر فنوتیپی شامل انحراف عملکرد دختران (DYD) و برآورد ارزش‌های اصلاحی (EBV) بود. بنابراین، مقادیر فنوتیپی نرها در چین EBV و DYD بودند. و در دانمارک و هلند تنها EBV بود. علامت "+" و "-" نشان‌دهنده اثرات جایگزینی مثبت و منفی از آلل متناوب است. علامت "q" نشان می‌دهد که این نوع از جایگاه کمی در نرهای مختلف از کشورهای متفاوت مربوطه تفکیک نشده است. مقدار P آزمون کوکران برای ناهمگنی اندازه اثرات در کشورهای مختلف در برآورد آورده شده است و اگر P کمتر از ۰/۰۵ باشد، یعنی معنی دار است.

¹Quantitative traits; ²Populations of sires in order are in China, Danish, and Dutch countries. Phenotypic values included daughter yield deviations (DYD) and estimated breeding values (EBV). Thus, phenotypic values of sires in China were EBV and DYD, and in Danish and Dutch EBV. "+" and "-" denote the positive and negative substitution effects of the alternate allele. "q" indicates that the variant did not segregate in the respective sires from different countries. The P value of Cochran's Q-test for heterogeneity of the effect sizes across countries is given in parentheses and is significant if $P \leq 0.05$.

گاوهای هلشتاین چینی، دانمارکی و هلندی به ترتیب ۳۱، ۴۷ و ۱۸ بود. معنی دارترین جایگاه کمی در یک چندشکلی تک نوکلئوتیدی rs109421300 (کروموزوم ۱۴: ۱۸۰۱۱۱۶، $P=1/05e-102$ ، ژن DGAT1 و ۱۵/۲ - ۲۰/۵ mbp) شناسایی شد. سایر چندشکلی های تک نوکلئوتیدی معنی دار شامل rs42305197 (کروموزوم ۱۴: ۶۰۲۳۴۶۴ و $P=5/94e-20$) و rs137372738 (کروموزوم ۱۹: ۵۱۳۸۶۷۳۵ و $P=6/62e-23$) بودند. معنی دارترین ناهمگنی چندشکلی تک نوکلئوتیدی در rs109421300 (کروموزوم ۱۴: ۱۸۰۱۱۱۶، $P=7/63$ و ژن DGAT1) مشاهده شد.

اسید چرب C16:1: تعداد جایگاه های کمی مرتبط با C16:1 روی کروموزوم های ۲، ۵، ۱۴ و ۱۷ شناسایی شد. جایگاه های کمی در گاوهای هلشتاین چینی، دانمارکی و هلندی به ترتیب ۳۰، ۵۳ و ۲۵ بود. معنی دارترین چندشکلی تک نوکلئوتیدی مرتبط با جایگاه کمی در rs109421300 (کروموزوم ۱۴: ۱۸۰۱۱۱۶، $P=6/94e-73$ و ژن DGAT1) مشاهده شد. سایر چندشکلی های تک نوکلئوتیدی معنی دار شامل rs134637616 (کروموزوم ۵: ۹۳۹۴۵۶۵۵ و ۱۷-۱۷ e-۲۲۶۴۳۳۸۳ و $P=5/93$) و rs109202336 (کروموزوم ۱۷: ۲۲۶۴۳۳۸۳ و $P=2/75e-21$) بودند. معنی دارترین ناهمگنی چندشکلی تک نوکلئوتیدی در rs109421300 (کروموزوم ۱۴: ۱۸۰۱۱۱۶، $P=1/63e-42$ و ژن DGAT1) مشاهده شد. جهت این چندشکلی تک نوکلئوتیدی در برخی از پدرها منفی و در برخی ها مثبت بود که به ترتیب به دلیل اثرات ژنتیکی کمتر و بیشتر نسبت به اثرات میانگین بود.

اسید چرب C18:0: جایگاه های کمی مرتبط با C18:0 روی کروموزوم های ۱۰، ۱۴، ۲۰ و ۲۴ شناسایی شد. تعداد جایگاه های کمی در گاوهای هلشتاین چینی، دانمارکی و هلندی به ترتیب ۱۰۵، ۱۷ و ۱۷ بود. معنی دارترین جایگاه کمی در چندشکلی تک

اسید چرب C14:1: جایگاه های کمی شناسایی شده برای C14:1 روی کروموزوم های ۱۴ و ۲۶ یافت شد. تعداد جایگاه های کمی برای گاوهای هلشتاین چینی، دانمارکی و هلندی به ترتیب ۷۰، ۱۱۷ و ۱۷ بود. معنی دارترین چندشکلی تک نوکلئوتیدی شناسایی شده در جایگاه کمی برای هر سه گاو هلشتاین چینی، دانمارکی و هلندی rs134996766 (کروموزوم ۱۴: ۴۴۹۴۵۳۱۳ و $P=1/02e-17$ و بین ژنی) بود. چندشکلی تک نوکلئوتیدی معنی دار دیگر rs42088972 (کروموزوم ۲۶: ۲۲۱۱۸۵۵۴، $P=1/87e-16$ و ژن $BTRC^A$) بود که در گاوهای هلشتاین چینی و دانمارکی شناسایی شد. علاوه بر این، برای C14:1 هیچ ناهمگنی معنی داری در جایگاه های کمی شناسایی نشد.

اسید چرب C14 Index: جایگاه های کمی مرتبط با C14 Index روی کروموزوم های ۵، ۱۴ و ۲۶ مشاهده شدند. تعداد جایگاه های کمی شناسایی شده در گاوهای هلشتاین چینی، دانمارکی و هلندی به ترتیب ۹۰، ۲۳۷ و ۲۰ بود. معنی دارترین جایگاه کمی در چندشکلی تک نوکلئوتیدی rs109421300 (کروموزوم ۱۴: ۱۸۰۱۱۱۶، $P=7/67e-42$ و ژن DGAT1) بود. سایر چندشکلی های تک نوکلئوتیدی معنی دار، شامل rs134637616 (کروموزوم ۵: ۹۳۹۴۵۶۵۵، $P=23e-23$) و rs42088972 (کروموزوم ۲۶: ۲۲۱۱۸۵۵۴، $P=3/50e-23$ و ژن $BTRC$) بودند. معنی دارترین ناهمگنی جایگاه های صفات کمی شامل یک چندشکلی تک نوکلئوتیدی rs109421300 (کروموزوم ۱۴: ۱۸۰۱۱۱۶، $P=3/38e-2$ و ژن DGAT1) بود.

اسید چرب C16:0: تعداد جایگاه های کمی شناسایی شده برای C16:0 روی کروموزوم های ۱، ۱۴ و ۱۹ بود. تعداد جایگاه های کمی شناسایی شده برای

⁸ Beta-transducin repeat containing E3 ubiquitin protein ligase

مطالعات پویش ژنومی افزایش می‌دهد که دلیل آن می‌تواند ناشی از افزایش حجم نمونه و شکستگی عدم تعادل پیوستگی باشد (Van den Berg و همکاران، ۲۰۱۶b).

عدم تعادل پیوستگی بین چندشکلی تک نوکلئوتیدی و انواع علی در بین گاوهای هلشتاین مختلف ممکن است متفاوت باشد و منجر به رابطه ضعیف بین چندشکلی تک نوکلئوتیدی و صفت مورد نظر شود که فراتحلیل بر ساختارهای مختلف عدم تعادل پیوستگی در بین گاوهای هلشتاین از کشورهای مختلف غلبه می‌کند (Marete و همکاران، ۲۰۱۸، Van den Berg و همکاران، ۲۰۲۰). در مطالعه حاضر، شناسایی بسیاری از جایگاه‌های کمی معنی‌دار را می‌توان به افزایش حجم نمونه و گنجاندن گاوهای هلشتاین از کشورهای مختلف نسبت داد.

فراتحلیل، جایگاه‌های کمی را در فواصل ۱ تا ۹۴ mbp با چهار جایگاه برای هر اسید چرب مانند اسیدهای چرب C8:0، C10:0، C12:0، C14:0، C14:1، C16:0، C16:1، C18:0 و Index، C18:1n9c شناسایی کرد. در مطالعات قبلی فراتحلیل روی صفات تولید شیر، تعداد جایگاه‌های کمی شناسایی شده در فواصل ۱ mbp برای درصد چربی و درصد پروتئین به ترتیب ۱۲ و ۲۳ بود (Van den Berg و همکاران، ۲۰۲۰). در فراتحلیل دیگری از پویش ژنومی، تعداد جایگاه‌های کمی شناسایی شده برای درصد چربی و درصد پروتئین به ترتیب ۲۹ و ۵۹ بود (Jiang و همکاران، ۲۰۱۹). Marete و همکاران (۲۰۱۸) جایگاه‌های کمی را برای عملکرد شیر، درصد چربی و درصد پروتئین در یک فراتحلیل چند نژادی (نژادهای مونتبلیارد، نورمانده و هلشتاین) شناسایی کردند. تعداد جایگاه‌های کمی شناسایی شده برای عملکرد شیر، درصد چربی و درصد پروتئین به ترتیب ۳۶، ۴۸ و ۲۹ بود. در فراتحلیل دیگر، تعداد جایگاه‌های

نوکلئوتیدی مرتبط با rs109459239 (کروموزوم ۲۰: ۳۲۵۲۳۱۵۹ و $P=2/04e-16$) مشاهده شد. سایر چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی معنی‌دار شامل rs41655411 (کروموزوم ۱۰: ۱۲۹۱۷۹۸۴ و $e-15$ و $P=5/98$) و rs109823093 (کروموزوم ۲۴: ۱۰۲۱۰۳۶۸ و $P=1/98e-15$) بودند. همچنین، هیچ ناهمگنی معنی‌داری برای C18:0 شناسایی نشد.

اسید چرب C18:1n9c: جایگاه‌های کمی مرتبط با C18:1n9c روی کروموزوم‌های ۱۴، ۲۱ و ۲۵ یافت شد. تعداد جایگاه‌های کمی در گاوهای هلشتاین چینی، دانمارکی و هلندی به ترتیب ۴۶، ۳۰ و ۳۰ بود. معنی‌دارترین چندشکلی تک نوکلئوتیدی در rs109421300 (کروموزوم ۱۴: ۱۸۰۱۱۱۶، $e-49$ و $P=1/52$) و ژن DGAT1 مشاهده شد. سایر چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی معنی‌دار شامل rs42305197 (کروموزوم ۱۴: ۶۰۲۳۴۶۴ و $e-17$ و $P=2/10$) و rs136411088 (کروموزوم ۲۱: ۵۵۶۵۷۴۷۱ و $P=2/10e-17$) بودند. معنی‌دارترین ناهمگنی چندشکلی تک نوکلئوتیدی شامل rs109421300 (کروموزوم ۱۴: ۱۸۰۱۱۱۶، $P=4/27e-48$) و ژن DGAT1 بود. جهت این چندشکلی تک نوکلئوتیدی (rs109421300) در برخی از گاوهای شیری منفی و در برخی‌ها مثبت بود که به ترتیب به دلیل اثرات ژنتیکی کمتر و بیشتر نسبت به اثرات میانگین بود.

در مطالعه حاضر، فراتحلیلی از خلاصه‌های آماری مطالعات پویش ژنومی برای صفات اسیدهای چرب شیر با استفاده از مدل وزنی امتیاز Z برای به دست آوردن مقادیر P برای هر چندشکلی تک نوکلئوتیدی انجام شد. این فراتحلیل، جایگاه‌های کمی بیشتری را با سطوح معنی‌داری بالاتر نسبت به مطالعات پویش ژنومی نشان داد. این نتایج نشان می‌دهد که فراتحلیل خلاصه‌های آماری مطالعات پویش ژنومی در بین گاوهای شیری دقت نقشه‌برداری را در مقایسه با

مرتبط را در مقایسه با مطالعات پویش ژنومی افزایش دهد (Raven و همکاران، ۲۰۱۴، Marete و همکاران، ۲۰۱۸). یک جایگاه کمی روی کروموزوم ۱۴: ۱۸۰۱۱۱۶ (rs109421300) $P=1/52e-49$ و اسیدچرب C18:1n9c (C18:1n9c) نزدیک به ژن DGAT1 قرار داشت. ناهمگنی فراتحلیل برای این جایگاه کمی در سه گاو هلشتاین از کشورهای مختلف مشاهده شد؛ اما در جهت اثرات بین گاوهای هلشتاین چینی، دانمارکی و هلندی تضاد وجود داشت. ناهمگنی مهم است زیرا ژن DGAT1 یک ژن کد کننده ضروری است که در متابولیسم چربی، سنتز تری گلیسرولها و تولید شیر نقش دارد (Khan و همکاران، ۲۰۲۱). در این فراتحلیل، بسیاری از جایگاههای کمی در بین گاوهای هلشتاین تفکیک نشده بودند. به عنوان مثال، نقشه برداری انواع علی مرتبط با ژن BTRC (برای اسید چرب C14:1) فقط در دو گاو هلشتاین چینی و دانمارکی تفکیک شده بود.

بیشتر چندشکلیهای تک نوکلئوتیدی اثراتی را در جهت مشابه برای انواع علی معنی دار در بین گاوهای هلشتاین نشان دادند، به عنوان مثال، کروموزوم ۱۹: ۵۱۳۸۶۷۳۵ در داخل ژن FASN برای اسیدچرب C14:0 دارای جهتی مشابه بود. در نتیجه، بیشتر جایگاههای کمی در بین گاوهای شیری که تفکیک شده بودند بیشتر برای صفاتی با وراثت پذیری بالا مربوط می شوند (Marete و همکاران، ۲۰۱۸)؛ بنابراین، انجام فراتحلیل با استفاده از خلاصه های آماری مطالعات پویش ژنومی در بین گاوهای هلشتاین، صحت شناسایی جایگاههای کمی را افزایش می دهد.

اثرات پلیوتروپی: یکی از کاربردهای فراتحلیل پویش ژنومی، شناسایی اثرات پلیوتروپی در تجزیه و تحلیل چند صفتی است. با این حال، برخی از چندشکلیهای تک نوکلئوتیدی ممکن است چندین صفت را به طور همزمان تحت تأثیر قرار دهند که به اثرات پلیوتروپی

کمی برای نژادهای برانویه، فلوکیه و هلشتاین برای هر یک از صفات درصد چربی و درصد پروتئین ۲۵ بود (Pausch و همکاران، ۲۰۱۷).

معنی دارترین چندشکلیهای تک نوکلئوتیدی (rs109421300) برای اسیدهای چرب C8:0، C10:0، C14:0، C16:0، C18:1، C16:1، C14:0، C18:1n9c و rs109290136 برای اسید چرب C8:0؛ rs137372738؛ C8:0 برای اسیدهای چرب C8:0، C10:0، C12:0، C14:0 و C16:0؛ rs134996766 و rs42088972 برای اسید چرب C14:1 و rs109459239 برای اسید چرب C18:0) در مناطق ژنومی برای صفات اسیدهای چرب شیر شناسایی گردید. چندشکلیهای تک نوکلئوتیدی که در فراتحلیل حاضر شناسایی شدند در فراتحلیل های انجام شده توسط محققان دیگر مانند Pausch و همکاران (۲۰۱۷)، Marete و همکاران (۲۰۱۸) و Van den Berg و همکاران (۲۰۲۰) شناسایی نشده بودند، به جز دو چندشکلی تک نوکلئوتیدی (rs137372738 و rs109421300) که قبلاً توسط Pausch و همکاران (۲۰۱۷) و Marete و همکاران (۲۰۱۸) برای درصد چربی و درصد پروتئین شناسایی شده بودند. در این فراتحلیل، مقدار P برای برخی از چندشکلیهای تک نوکلئوتیدی در مقایسه با مطالعات پویش ژنومی کاهش یافت که دلیل آن می تواند ناشی از گاوهای هلشتاین از کشورهای مختلف باشد، چون جهش های علی متفاوتی از هر یک از آنها جدا می شود. یک جایگاه کمی روی کروموزوم ۱۴: ۱۸۰۱۱۱۶ (rs109421300) $e-10.2$ $P=1/0.5$ و اسید چرب C16:0) با مقدار P کمتر نسبت به مطالعات پویش ژنومی شناسایی شد. این فراتحلیل مقدار P را برای برخی از جایگاههای کمی کاهش داد، به عنوان مثال، کاهش مقدار P برای اسید چرب C16:0 روی کروموزوم های ۱۴ و ۱۹ مشاهده شد. برای صفاتی با وراثت پذیری بالا و برای گاوهای از کشورهای مختلف، فراتحلیل می تواند دقت مطالعات

معروف است (Xiang و همکاران، ۲۰۲۱). شناسایی چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی با اثرات پلیوتروپی

جدول ۳- لیستی از اثرات پلیوتروپی چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی برای صفات اسیدهای چرب شیر در گاوهای هلشتاین.

Table 3- List of pleiotropic effects of single nucleotide polymorphism for milk fatty acids traits in Holstein cows.

کروموزوم Chromosome	موقعیت (bp) Position(bp)	تعداد Rs Rs Number	صفات Traits
5	93945655	rs134637616	C14 Index, C16:1 C8:0, C10:0, C12:0, C14:0, C14:1, C14 Index, C16:0, C16:1, C18:0, C18:1n9c
14	1801116	rs109421300	C16:0, C18:1n9c
14	6023464	rs42305197	C14:1, C18:0
14	44945313	rs134996766	C8:0, C10:0
17	30080851	rs109290136	C8:0, C10:0, C12:0, C14:0, C16:0
19	51386735	rs137372738	C8:0, C18:1n9c
21	55657471	rs136411088	C14:1, C14 Index
26	22118554	rs42088972	

روی صفات مورد مطالعه در گاوهای هلشتاین گزارش نشده بودند. در نتیجه، فراتحلیل چند صفتی توانایی ما را در شناسایی فعل‌وانفعالات پلیوتروپی بین صفات اسیدهای چرب شیر بهبود می‌بخشد و انواع چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی را با اثرات پلیوتروپی برای صفات اسیدهای چرب شیر تشخیص می‌دهد (Cai و همکاران، ۲۰۲۰).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، یک فراتحلیل برای صفات اسیدهای چرب شیر در گاوهای هلشتاین انجام شد. مقدار P برای هر چندشکلی تک نوکلئوتیدی با استفاده از مدل وزنی امتیاز Z به دست آمد. فراتحلیل توان تشخیص جایگاه‌های صفات کمی را افزایش داد، در نتیجه، قوی‌ترین چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی rs109421300 (ژن DGAT1) و rs137372738 (ژن FASN) را برای صفات اسیدهای چرب شیر روی کروموزوم‌های ۱۴ و ۱۹ شناسایی کرد. چندشکلی‌های

در این فراتحلیل، چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی با اثرات پلیوتروپی روی کروموزوم‌های ۵، ۱۴، ۱۷، ۱۹، ۲۱ و ۲۶ مشاهده شدند. بیشترین اثرات پلیوتروپی روی کروموزوم ۱۴ مشاهده شد. یک جایگاه کمی (rs109421300) روی کروموزوم ۱۴: ۱۸۰۱۱۱۶ با بیشترین اثرات پلیوتروپی توانست اسیدهای چرب C8:0، C10:0، C12:0، C14:0، C14:1، C14 Index، C16:0، C16:1، C18:1n9c و C18:1n9c را تحت تأثیر قرار دهد. این چندشکلی تک نوکلئوتیدی یک متغیر ایترونی در داخل ژن DGAT1 است. نتایج حاصل در تطابق با یافته‌های Liu و همکاران (۲۰۲۰) در گاوهای هلشتاین می‌باشد.

چندشکلی تک نوکلئوتیدی دیگری مانند rs137372738 (کروموزوم ۱۹: ۵۱۳۸۶۷۳۵۱ و ژن FASN) با اثرات پلیوتروپی روی اسیدهای چرب C8:0، C10:0، C12:0، C14:0 و C16:0 مشاهده شدند. طبق دانش ما در مطالعات قبلی، این چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی با اثرات پلیوتروپی

کمک می کند تا درک بهتری از مناطق جایگاه های کمی و ساختار ژنوم برای صفات اسیدهای چرب شیر داشته باشیم و ارزیابی ژنومی را در گاوهای هلشتاین بهبود بخشیم. بنابراین، این اولین فرا تحلیل مطالعات پویش ژنومی برای صفات اسیدهای چرب شیر در گاوهای هلشتاین است.

سیاسگزاری

نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از حمایت دانشگاه فردوسی مشهد (طرح پژوهشی: ۳/۴۸۷۰۸) ابراز می نمایند.

تک نوکلئوتیدی با اثرات پلیوتروپی برای صفات اسیدهای چرب شیر نیز شناسایی شدند. به عنوان مثال، یک چندشکلی تک نوکلئوتیدی (rs109421300) اثرات پلیوتروپی را بر اسیدهای چرب C14:0, C8:0, C10:0, C12:0, C14:0, C14:1, C14, C16:0, C16:1 و C18:1n9c نشان داد؛ بنابراین، ترکیب خلاصه های آماری از مطالعات پویش ژنومی با استفاده از یک روش قدرتمند مانند فرا تحلیل به ما کمک می کند تا جایگاه های کمی و چندشکلی های تک نوکلئوتیدی کاندید را به طور دقیق شناسایی کنیم. همچنین، این نوع مطالعات به ما

References

- Anderson, C. A., Pettersson, F. H., Barrett, J. C., Zhuang, J. J., Ragoussis, J., Cardon, L. R. & Morris, A. P. (2008). Evaluating the effects of imputation on the power, coverage, and cost efficiency of genome-wide SNP platforms. *The American Journal of Human Genetics*, 83: 112-119.
- Bakhshalizadeh, S., Zerehdaran, S. & Javadmanesh, A. (2021). Meta-analysis of genome-wide association studies and gene networks analysis for milk production traits in Holstein cows. *Livestock Science*, 250: 104605.
- Bouwman, A. C., Visker, M. H., van Arendonk, J. A. & Bovenhuis, H. (2012). Genomic regions associated with bovine milk fatty acids in both summer and winter milk samples, *BMC Genetics*, 13: 1-13.
- Brouwer, I. A., Wanders, A. J. & Katan, M. B. (2013). Tran's fatty acids and cardiovascular health: research completed. *European Journal of Clinical Nutrition*, 67: 541-547.
- Cai, Z., Dusza, M., Guldbrandtsen, B., Lund, M.S. & Sahana, G. (2020). Distinguishing pleiotropy from linked QTL between milk production traits and mastitis resistance in Nordic Holstein cattle. *Genetics Selection Evolution*, 52: 1-15.
- Cochran, W. G. (1954). The combination of estimates from different experiments. *Biometrics*, 10: 101-129.
- Connor, W. E. (2000). Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71:171S-175S.
- FAO-WHO. (2008). FAO Food Nutrition Paper. # 91. Fats and Fatty Acids in Human Nutrition, Report of an Expert Consultation. Available online: <http://www.fao.org/3/a-i1953e>.
- Gebreyesus, G., Buitenhuis, A. J., Poulsen, N. A., Visker, M. H. P. W., Zhang, Q., Van Valenberg, H. J. F. & Bovenhuis, H. (2019). Multi-population GWAS and enrichment analyses reveal novel genomic regions and promising candidate genes underlying bovine milk fatty acid composition. *Bmc Genomics*, 20: 1-16.
- Gjuvsland, A. B., Wang, Y., Plahte, E. & Omholt, S. W. (2013). Monotonicity is a key feature of genotype-phenotype maps. *Frontiers in Genetics*, 4: 216.
- Goddard, M. E. & Hayes, B. J. (2009). Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. *Nature Reviews Genetics*, 10: 381-391.
- Grummer, R. R. (1991). Effect of feed on the composition of milk fat. *Journal of Dairy Science*, 74: 3244-3257.

- Higgins, J. P., Little, J., Ioannidis, J. P., Bray, M. S., Manolio, T. A., Smeeth, L. & Khoury, M. J. (2007). Turning the pump handle: evolving methods for integrating the evidence on gene-disease association. *American Journal of Epidemiology*, 166: 863-866.
- Jiang, J., Cole, J.B., Freebern, E., Da, Y., VanRaden, P.M. & Ma, L. (2019). Functional annotation and Bayesian fine-mapping reveals candidate genes for important agronomic traits in Holstein bulls. *Communications Biology*, 2: 212.
- Khan, M.Z., Ma, Y., Ma, J., Xiao, J., Liu, Y., Liu, S., Khan, A., Khan, I.M. & Cao, Z. (2021). Association of DGAT1 with cattle, buffalo, goat, and sheep milk and meat production traits. *Frontiers in Veterinary Science*, 8:712470.
- Lean, I. J., Rabiee, A. R., Duffield, T. F. & Dohoo, I. R. (2009). Invited review: Use of meta-analysis in animal health and reproduction: Methods and applications. *Journal of Dairy Science*, 92: 3545-3565.
- Liu, L., Zhou, J., Chen, C.J., Zhang, J., Wen, W., Tian, J., Zhang, Z. & Gu, Y. (2020). GWAS-based identification of new loci for milk yield, fat, and protein in Holstein cattle. *Animals*, 10: 2048.
- Mallett, R., Hagen-Zanker, J., Slater, R. & Duvendack, M. (2012). The benefits and challenges of using systematic reviews in international development research. *Journal of Development Effectiveness*, 4: 445-455.
- Mansbridge, R. J. & Blake, J. S. (1997). Nutritional factors affecting the fatty acid composition of bovine milk. *British Journal of Nutrition*, 78: S37-S47.
- Marete, A. G., Guldbandsen, B., Lund, M. S., Fritz, S., Sahana, G. & Boichard, D. (2018). A meta-analysis including pre-selected sequence variants associated with seven traits in three French dairy cattle populations. *Frontiers in Genetics*, 9: 522.
- Narayana, S. G., Schenkel, F. S., Fleming, A., Koeck, A., Malchiodi, F., Jamrozik, J. & Miglior, F. (2017). Genetic analysis of groups of mid-infrared predicted fatty acids in milk. *Journal of Dairy Science*, 100: 4731-4744.
- Nayeri, S. & Stothard, P. (2016). Tissues, metabolic pathways and genes of key importance in lactating dairy cattle. *Springer Science Reviews*, 4: 49-77.
- Palombo, V., Milanese, M., Sgorlon, S., Capomaccio, S., Mele, M., Nicolazzi, E. & D'Andrea, M. (2018). Genome-wide association study of milk fatty acid composition in Italian Simmental and Italian Holstein cows using single nucleotide polymorphism arrays. *Journal of Dairy Science*, 101: 11004-11019.
- Pausch, H., Emmerling, R., Gredler-Grandl, B., Fries, R., Daetwyler, H.D. & Goddard, M.E. (2017). Meta-analysis of sequence-based association studies across three cattle breeds reveals 25 QTL for fat and protein percentages in milk at nucleotide resolution. *BMC Genomic*, 18: 1-11.
- Pereira, P. C. (2014). Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition*, 30: 619-627.
- Pulina, G., Francesconi, A. H. D., Stefanon, B., Sevi, A., Calamari, L., Lacetera, N. & Ronchi, B. (2017). Sustainable ruminant production to help feed the planet. *Italian Journal of Animal Science*, 16: 140-171.
- Ramasamy, A., Mondry, A., Holmes, C. C. & Altman, D. G. (2008). Key issues in conducting a meta-analysis of gene expression microarray datasets. *PLoS Medicine*, 5: e184.
- Raven, L.A., Cocks, B.G. & Hayes, B.J. (2014). Multibreed genome wide association can improve precision of mapping causative variants underlying milk production in dairy cattle. *BMC Genomics*, 15: 1-14.
- Rung, J. & Brazma, A. (2013). Reuse of public genome-wide gene expression data. *Nature Reviews Genetics*, 14: 89-99.
- Saffari, A., Silver, M. J., Zavattari, P., Moi, L., Columbano, A., Meaburn, E. L. & Dudbridge, F. (2018). Estimation of a significance threshold for epigenome-wide association studies. *Genetic Epidemiology*, 42:20-33.
- Spector, A. A. & Yorek, M. A. (1985). Membrane lipid composition and cellular function. *Journal of Lipid Research*, 26: 1015-1035.

- Tullo, E., Frigo, E., Rossoni, A., Finocchiaro, R., Serra, M., Rizzi, N. & Bagnato, A. (2014). Genetic parameters of fatty acids in Italian Brown Swiss and Holstein cows. *Italian Journal of Animal Science*, 13: 3208.
- Van den Berg, I., Boichard, D. & Lund, M. S. (2016a). Comparing power and precision of within-breed and multibreed genome-wide association studies of production traits using whole-genome sequence data for 5 French and Danish dairy cattle breeds. *Journal of Dairy Science*, 99: 8932-8945.
- Van den Berg, I., Boichard, D., Guldbbrandtsen, B. & Lund, M.S. (2016b). Using sequence variants in linkage disequilibrium with causative mutations to improve across-breed prediction in dairy cattle: a simulation study. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 6: 2553-2561.
- Van den Berg, I., Xiang, R., Jenko, J., Pausch, H., Boussaha, M., Schrooten, C., Tribout, T., Gjuvslund, A.B., Boichard, D., Nordbø, Ø. & Sanchez, M.P. (2020). Meta-analysis for milk fat and protein percentage using imputed sequence variant genotypes in 94,321 cattle from eight cattle breeds. *Genetics Selection Evolution*, 52: 1-16.
- VanRaden, P. M. (2008). Efficient methods to compute genomic predictions. *Journal of Dairy Science*, 91: 4414-4423.
- Willer, C. J., Li, Y. & Abecasis, G. R. (2010). METAL: fast and efficient meta-analysis of genome wide association scans. *Bioinformatics*, 26: 2190-2191.
- Xiang, R., MacLeod, I.M., Daetwyler, H.D., de Jong, G., O'Connor, E., Schrooten, C., Chamberlain, A.J. & Goddard, M.E. (2021). Genome-wide fine-mapping identifies pleiotropic and functional variants that predict many traits across global cattle populations. *Nature Communications*, 12: 860.
- Yue, S. J., Zhao, Y. Q., Gu, X. R., Yin, B., Jiang, Y. L., Wang, Z. H. & Shi, K. R. (2017). A genome-wide association study suggests new candidate genes for milk production traits in Chinese Holstein cattle. *Animal Genetics*, 48: 677-681.

