



## بررسی انحراف برآوردهای موقعیت و اثرات QTL از مقادیر واقعی در حضور غالبیت با روش رگرسیون

### هالی و نات

کریم نوبری<sup>1</sup>، محمد رضا نصیری<sup>2</sup>، علی اصغر اسلمی نژاد<sup>2</sup> علی اسماعیلی زاده کشکوئی<sup>3</sup>  
<sup>1</sup> دانشجوی دکتری ژنتیک و اصلاح دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد<sup>2</sup> دانشیار  
گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد<sup>3</sup> استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه  
شهید باهنر کرمان

### چکیده

مطالعه شبیه سازی جهت بررسی اثر انحراف استاندارد جایگاه QTL، نسبت انحراف معیار افزایشی به انحراف معیار غالبیت در جایگاه QTL، اندازه جمعیت، فاصله مارکری و موقعیت جایگاه QTL نسبت به جایگاه مارکرهای اطراف بر روی انحراف برآورد موقعیت، اثر افزایشی و غالبیت QTL انجام شد. به طوری که برآوردها توسط روش رگرسیونی Haley و Knott انجام گرفت. افزایش فاصله مارکر میزان انحراف اثر افزایشی را کاهش داد. افزایش نسبت اثر غالبیت بخصوص در مواردی که انحراف معیار جایگاه صفت کمی پایین است باعث برآوردهای دقیق تر موقعیت QTL گردید. با افزایش نسبت اثر افزایشی میزان انحراف برآورد موقعیت QTL از مقدار واقعی افزایش یافت. وازه های کلیدی: مکانیابی QTL، طرح F2، روش رگرسیونی، اثر غالبیت

### مقدمه

اکثر صفات مهم اقتصادی در تولید بخش دامپروری از نوع کمی می باشند. در جهت تشریح تغییرات ژنتیکی مشاهده شده در مورد این نوع صفات دو نوع مدل پیشنهاد شده است که به مدل محدود و نامحدود مشهور می باشد. در مدل نامحدود فرض می گردد که صفات به وسیله تعداد نامحدودی از جایگاههای ناپیوسته که دارای اثر افزایشی ناپیزی می باشند تعیین می گیرند. در این مدل فرض بر این است که هر جایگاه اثر بی نهایت کوچکی بر روی صفت کمی دارد (2). این مدل برای برآورد ارزش اصلاحی در اصلاح نژاد بسیار کارآمد بوده و هنوز هم کاربردهای زیادی دارد (4). با پی بردن به محدود بودن مواد وراثتی و اینکه احتمالاً حدود بیست هزار ژن موثر یا جایگاه موثر در ژنوم وجود دارند (1) این عقیده که جایگاه های محدودی تعیین کننده تغییرات صفات کمی می باشند ایجاد شد. Hayes و Goddard در مطالعه خود در سال 2001 پیشنهاد کردند که حدود 100-50 ژن تعیین کننده تغییراتی است که در صفات کمی مشاهده می گردد. جهت شناسایی این نوع جایگاهها که اصطلاحاً جایگاه صفت کمی (QTL) می گویند مطالعات گسترده ای در دو دهه اخیر صورت گرفته است. یکی از طرحهای مکانیابی QTL که به طور عمده مورد استفاده قرار می گیرد طرح F2 می باشد. جمعیت F2 حاصل از تلاقی دو لاین والدی می باشد که این دو لاین والدی تفاوت زیادی از لحاظ صفت مورد بررسی دارند. در اکثر تحقیقات فرض بر این است که در هر یک از دو لاین والدی آللهای متفاوتی برای جایگاه QTL و مارکرها تثبیت شده اند. به دلیل اینکه آللهای QTL و مارکرها در نسل F2 تفرق می یابند، در این نسل نقشه یابی QTL صورت می گیرد. در این طرح به دلیل اینکه سه نوع ژنوتیپ QTL در جمعیت قابل مشاهده است هر دو اثر غالبیت و افزایشی قابل برآورد می باشد. طرح F2 اولین طرحی می باشد که برای نقشه یابی QTL در یک جمعیت دامی مورد استفاده قرار گرفت (5). Haley و Knott جهت استفاده از مارکرهای کنار هم (Flanking Markers) برای نقشه یابی جایگاه های صفات



کمی روشی را که بر پایه رگرسیون چند گانه بود ارائه دادند. این روش با سرعت محاسباتی بالا بوده و همچنین پکیجهای عمومی نیز می توانند جهت تجزیه و تحلیل با استفاده از این روش مورد استفاده قرار گیرند. آنها با یک طرح F2 نشان دادند که نتایج بدست آمده از این روش خیلی مشابه نتایج حاصل از روش حداکثر درست نمایی می باشد (5).

مواد و روشها

**شبیه سازی:** جمعیت و داده های طرح F2 به کمک نرم افزار آماری R شبیه سازی شدند. دو لاین والدی همخون که دارای یک کروموزوم اتوزوم حاوی 11 مارکر و یک جایگاه صفت کمی (بین مارکرهای ششم و هفتم) که در همه آنها آللهای نامشابه در هر یک از دو لاین هموزیگوت بودند، بنابراین هر یک از لاینها یک نوع آلل به نسل بعد به اشتراک می گذارند که نوترکیبی بین جایگاهها (QTL، مارکرها) تحت تابع نقشه یابی هالدان شبیه سازی گردید. این دو لاین والدی با یکدیگر تلاقی یافته و نسل F1 که همگی هتروزیگوت بودند را ایجاد می نماید. با تلاقی درونی (Intercross) نسل F1، جمعیت F2 حاصل می شود که نقشه یابی QTL در آن انجام می شود.

**سناریوهای شبیه سازی:** پارامترهای شبیه سازی شده ترکیبی از سه اندازه جمعیت، دو فاصله مارکری، سه سطح انحراف معیار ناشی از QTL، سه سطح نسبت انحراف افزایشی به معیار غالبیت جایگاه QTL و سه سطح موقعیت QTL نسبت به دو مارکر کناری (مارکرهای 6 و 7) می باشد. با ترکیب پارامترهای شبیه سازی مختلف در مجموع 162 سناریوی مختلف جهت شبیه سازی ایجاد شد. اندازه جمعیت به تعداد 300، 600 و 900 و فاصله های مارکری 5، 10 سانتی مورگان مورد بررسی قرار می گیرد. انحراف معیار ناشی از QTL سه سطح 0.2، 0.5 و 0.8 داشت و نسبت انحراف معیار افزایشی به غالبیت جایگاه QTL 0.25، 0.5 و 0.75 بود. علاوه بر اثر انحراف معیار QTL یک اثر تصادفی با توزیع نرمال، میانگین صفر و انحراف معیار یک در همه سناریوها شبیه سازی گردید. کلبه اثرات از توزیع نرمال با میانگین صفر و انحراف معیار مربوطه نمونه برداری شده اند. همچنین جایگاه QTL یکبار در روی مارکر 6 و یکبار دقیقاً در بین مارکر 6 و 7 و یکبار در 1/4م انتهای این فاصله متمایل به مارکر 6 خواهد بود. هر کدام از سناریوهای فوق به تعداد 100 بار تکرار گردید.

**نقشه یابی QTL:** برای هر سری داده حاصل از شبیه سازی، نقشه یابی QTL با استفاده از روش رگرسیونی هالی و نات به کمک پکیج R/QTL صورت گرفت. اسکن ژنومی به کمک مدل QTL منفرد جهت برآورد محتمل ترین موقعیت QTL که دارای بیشترین اسکور LOD بر روی کروموزوم می باشد صورت گرفت. این اسکور LOD با رویه scanone پکیج R/QTL به صورت  $LOD = (n/2) \log_{10}(RSS_0/RSS_1)$  محاسبه می گردد که n اندازه نمونه،  $RSS_0$  مجموع مربعات باقیمانده در فرض صفر و  $RSS_1$  مجموع مربعات باقیمانده مدل می باشد. با استفاده از مدل QTL منفرد موقعیت، اثرات افزایشی و غالبیت QTL بدست آمد و انحراف آنها از مقدار شبیه سازی شده در تکرارهای مختلف همه سناریوها محاسبه شد.

**تجزیه نتایج حاصل از سناریوها:** نتایج حاصل از تجزیه سناریوها با استفاده از نرم افزار آماری SAS با رویه GLM مورد آنالیز قرار گرفته و تاثیر هر یک از پارامترهای شبیه سازی شده و همچنین اثر متقابل میزان انحراف معیار کلی QTL و سهم های مختلف انحراف معیار افزایشی و غالبیت از این انحراف معیار را بر روی میزان انحراف برآوردها از مقدار واقعی بررسی می گردد.



## نتایج و بحث

اثر پارامترهای مختلف شبیه سازی شده بر روی انحراف برآوردهای موقعیت جایگاه، اثر افزایشی و اثر غالبیت جایگاه QTL در جدول 1 آورده شده است.

**انحراف موقعیت برآورد شده QTL از موقعیت شبیه سازی شده:** همه اثرات شبیه سازی شده برای انحراف موقعیت برآورد شده (برحسب سانتی مورگان) از مقدار واقعی و همچنین اثر متقابل بین انحراف معیار کلی و نسبت انحراف معیارهای اثر افزایشی و غالبیت معنی دار بود ( $P < 0.0001$ ). با افزایش اندازه جمعیت میزان انحراف موقعیت کاهش یافت و با افزایش فاصله مارکری میزان انحراف افزایش یافت. به نظر می رسد که با افزایش اندازه جمعیت میزان نوترکیبی بین QTL و مارکرها با دقت بیشتر برآورد گردیده است و با کاهش فاصله مارکرها تعقیب QTL به کمک مارکر به دلیل پیوستگی بیشتر دقت بیشتری داشته است. با افزایش میزان انحراف معیار کلی QTL میزان انحراف مذکور کاهش یافت. ولی این کاهش انحراف هنگامی که انحراف معیار کلی QTL از 0.2 به 0.5 افزایش می یابد بیشتر از حالتی است که انحراف معیار کلی QTL از 0.5 به 0.8 افزایش می یابد. با افزایش نسبت انحراف معیار افزایشی به غالبیت مربوط به جایگاه صفت کمی میزان انحراف مذکور افزایش یافت و این افزایش انحراف در تغییر این نسبت از 0.25 به 0.5 بیشتر از تغییر آن از 0.5 به 0.75 بود. به نظر می رسد که افزایش سهم غالبیت برآورد موقعیت QTL را در هنگام ارتباط دادن احتمالات شرطی ژنوتیپ QTL به فنوتیپ ها به سمت فاصله صحیح مارکری اریب کرده است. در مواردی که جایگاه صفت کمی بر روی جایگاه مارکر ششم طراحی شده بود میزان انحراف برآورد موقعیت آن بطور معنی داری کاهش یافت به دلیل اینکه تعقیب مارکر به منزله تعقیب QTL می باشد. در بقیه حالات تغییر معنی داری ایجاد نکرد. تغییر نسبت انحراف معیار افزایشی به انحراف معیار غالبیت از 0.25 به 0.5 در پایین ترین سطح انحراف معیار کلی QTL (0.2) به شدت میزان انحراف موقعیت برآورد شده را افزایش داد و در بقیه سطوح این روند با شدت کمتری حضور داشت.

**انحراف اثر افزایشی برآورد شده از اثر افزایشی شبیه سازی شده:** همه اثرات شبه سازی شده بر روی این پارامتر معنی دار بودند ( $P < 0.0006$ ). همچنین اثر متقابل بین انحراف معیار کلی جایگاه و نسبت بین انحراف معیارهای افزایشی به غالبیت معنی دار بود ( $P < 0.0001$ ). با افزایش اندازه جمعیت و کاهش فاصله مارکری میزان انحراف مورد بررسی کاهش یافت. انحراف معیار کلی جایگاه میزان انحراف را افزایش داد و هنگامی که انحراف معیار کلی جایگاه از 0.2 به 0.5 افزایش یافت میزان این انحراف با شدت بیشتری افزایش یافت. افزایش نسبت انحراف معیارهای افزایشی به غالبیت نیز میزان این انحراف برآورد را افزایش داد. هنگامی که جایگاه صفت کمی بر روی مارکر 6 قرار داشت میزان انحراف برآورد بطور معنی داری کاهش یافت. افزایش نسبت انحراف معیارهای افزایشی به غالبیت در همه سطوح انحراف معیار کلی QTL، میزان انحراف برآورد اثر افزایشی را افزایش داد و این افزایش در حالت انحراف معیار کلی 0.5 بیشتر بود.

**انحراف اثر غالبیت برآورد شده از اثر غالبیت شبیه سازی شده:** این پارامتر بطور معنی داری ( $P < 0.0001$ ) تحت تاثیر همه اثرات شبیه سازی شده بجز موقعیت جایگاه صفت کمی نسبت به مارکرها و همچنین تداخل بین انحراف معیار جایگاه و نسبت انحراف معیارهای افزایشی به غالبیت قرار گرفت. افزایش اندازه جمعیت و فاصله مارکری باعث کاهش این انحراف گردید. و فقط افزایش میزان انحراف معیار از 0.2 به 0.5 باعث کاهش انحراف گردید. کاهش نسبت انحراف معیارهای افزایشی به غالبیت از 0.75 به 0.5 به طور معنی داری باعث کاهش انحراف مذکور گردید. افزایش نسبت انحراف معیارهای افزایشی به غالبیت هنگامی که انحراف معیار جایگاه کم و متوسط (0.2 و 0.5) بود میزان انحراف برآورد را افزایش داد ولی افزایش این نسبت از 0.25 به 0.5 در حالتی که انحراف معیار جایگاه 0.8 بود انحراف برآورد



را کاهش و افزایش نسبت از 0.5 به 0.75 در این سطح از انحراف معیار جایگاه انحراف برآورد را افزایش داد. دقت برآورد اثر غالبیت در حالتی که سهم آن در جایگاههایی با اثر کلی کم افزایش یابد بالا می رود. ولی افزایش بیش از حد سهم آن در جایگاههایی که اثر کلی بیشتری دارند باعث کاهش دقت می گردد. در فواصل مارکری زیاد علیرغم عدم دقت در موقعیت جایگاه صفت کمی میزان اثر افزایشی بدست آمده قابل اعتماد می باشد. افزایش میزان انحراف معیار QTL از مقادیر کم به سمت مقادیر متوسط تاثیر مثبت بر میزان دقت برآورد مکان QTL می گذارد. بخصوص در حالتی که انحراف معیار QTL پایین است افزایش نسبت اثر غالبیت به اثر افزایشی باعث افزایش دقت برآورد موقعیت QTL می گردد. افزایش نسبت انحراف معیار افزایشی به غالبیت باعث کاهش دقت برآورد موقعیت QTL گردید. فقط در مواردی که QTL بر روی جایگاه مارکر قرار داشته باشد باعث کاهش معنی دار انحرافات می گردد.

### Considering deviation between estimated and simulated QTL position and effects using Haley-Knott regression method in presence of dominance

Karim nobari<sup>1</sup>, mohammad reza nassiry<sup>1</sup>, ali asghar aslaminejad<sup>1</sup>, ali esmailzade kashkuie<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Science-agriculture faculty-ferdowsi university of mashhad

<sup>2</sup>Department of Animal Science-agriculture faculty-shahid bahonar university of kerman

#### Abstract

A simulation study was carried out on an F2 population in order to determine the effect of standard deviation of QTL (Qsd), ratio of additive to dominance standard deviations (Rad), population size (Ps), marker spacing (Ms), standard deviation of QTL (Qsd), ratio of additive to dominance standard deviations (Rad) and relative position of QTL to marker bracket (rpQ) on deviation of estimated QTL location, additive and dominance effects from actual that the estimates obtained from Haley and Knott regression method. Increase of Ms decreased the deviation of additive effect. Increase in the ratio of dominance effect lead to obtain accurate QTL positions specially when Qsd was low. As increase in ratio of additive effect deviation of estimated QTL position increased.

Keywords : QTL mapping, F2 design, regression method, dominance effect

منابع

1. Ewing, B, and P. Green. 2000. Analysis of expressed sequence tags indicates 35,000 human genes. *Nat Genet.* 25:232-4.
2. Fisher, R. A. 1934. The amount of information supplied by records of families as a function of the linkage in the population sampled. *Ann. Eugen.* 6:66-70.
3. Hayes, B., and M. E. Goddard. 2001. The distribution of the effects of genes affecting quantitative traits in livestock. *Genet. Sel Evol.* 33: 209-229.
4. Henderson, C. R. 1984. application of linear models in animal breeding. University of Guelph Press, Guelph, Canada.
5. Haley, C. S., and S. A. KNOTT. 1992. A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers. *Heredity* 69:315—324.



جدول ۱: اثر پارامترهای مختلف شبیه سازی شده بر روی انحراف برآوردهای موقعیت جایگاه، اثر افزایشی و اثر غالبیت جایگاه QTL

انحراف اثر افزایشی برآورد شده	انحراف اثر افزایشی برآورد شده از اثر	انحراف اثر افزایشی برآورد شده از اثر	انحراف موقعیت برآورد شده QTL برحسب
اندازه جمعیت			
300	0/109772 <sup>a</sup>	0/714027 <sup>a</sup>	4/84647 <sup>a</sup>
600	0/071919 <sup>b</sup>	0/710238 <sup>b</sup>	2/6837 <sup>b</sup>
900	0/058341 <sup>c</sup>	0/650734 <sup>c</sup>	1/9397 <sup>c</sup>
±SEM	0/00090	0/00096	0/07550
P-Value	<0/0001	<0/0001	<0/0001
فاصله مارکری			
5	0/077771 <sup>b</sup>	0/711532 <sup>a</sup>	2/50531 <sup>b</sup>
10	0/083162 <sup>a</sup>	0/672611 <sup>b</sup>	3/87936 <sup>a</sup>
±SEM	0/00074	0/00078	0/06164
P-Value	<0/0001	<0/0001	<0/0001
انحراف معیار کلی جایگاه			
0.2	0/088566 <sup>a</sup>	0/290091 <sup>c</sup>	7/0809 <sup>a</sup>
0.5	0/075652 <sup>b</sup>	0/710090 <sup>b</sup>	1/4797 <sup>b</sup>
0.8	0/076830 <sup>b</sup>	1/099915 <sup>a</sup>	0/8473 <sup>c</sup>
±SEM	0/00090	0/00096	0/07550
P-Value	<0/0001	<0/0001	<0/0001
نسبت انحراف معیار اثر افزایشی نسبت به انحراف معیار اثر غالبیت			
0.25	0/077642 <sup>b</sup>	0/356420 <sup>c</sup>	2/6360 <sup>c</sup>
0.5	0/78736 <sup>b</sup>	0/711993 <sup>b</sup>	3/3431 <sup>b</sup>
0.75	0/085130 <sup>a</sup>	1/027377 <sup>a</sup>	3/5815 <sup>a</sup>
±SEM	0/00090	0/00096	0/07550
P-Value	<0/0001	<0/0001	<0/0001
فاصله جایگاه صفت کمی نسبت به مارکر شماره 6 بر حسب واحد فاصله			
0	0/079606 <sup>a</sup>	0/695441 <sup>a</sup>	2/6109 <sup>b</sup>
0.25	0/080599 <sup>a</sup>	0/691059 <sup>b</sup>	3/4683 <sup>a</sup>
0.5	0/081043 <sup>a</sup>	0/690807 <sup>b</sup>	0/4592 <sup>a</sup>
±SEM	0/00090	0/00096	0/07550
P-Value	<0/5141	<0/0006	<0/0001