مجله کشاورزی، جلد ۷، شماره ۱، سال ۱۳۸۴، ۷۲-۵۳

روشهای تشخیص و تعیین مکان ژن‌های کمّی در جوامع دامی

(مقاله تحلیلی [*])

داود کلبه‌داری [**]

مقدمه

بخش عمده صفات اقتصادی در دام‌ها و گیاهان از نوع کمّی [۱] هستند که دارای توزیع پیوسته [۲] می‌باشند. براساس تئوری ژنتیک کمّی، واریانس ژنتیکی این صفات در جامعه با دو مدل ژنتیکی " تعداد نامحدود ژن [۳] " و " تعداد محدود ژن [۴] " توصیف می‌شود. در مدل ژنتیکی تعداد نامحدود ژن فرض این است که صفات کمّی توسط تعداد نامحدودی از ژن‌های ناپیوسته با اثرهای ژنتیکی بسیار اندک کنترل می‌شوند (۱۵). در دهه‌های گذشته از این مدل ژنتیکی برای ابداع روشهای موردنیاز در اصلاح نژاد دام‌ها و گیاهان استفاده شده است که سبب پیشرفت ژنتیکی در جوامع دامی و گیاهی گردیده است. باتوجه به مطالعات سال‌های اخیر درمورد ژنوم این فرضیه وجود دارد که ممکن است کل تغییرات صفات در جامعه ناشی از اثر ژنتیکی ۲۰ تا ۵۰ هزار ژن موجود در ژنوم باشد. براساس این فرضیه این امکان وجود دارد که تعداد محدودی ژن (۵۰ تا ۱۰۰ ژن) بخش عمده واریانس ژنتیکی یک صفت کمّی را کنترل کنند که با مدل ژنتیکی تعداد محدود ژن مطابقت دارد (۱۱ و ۱۲).

در طی ۱۰ سال گذشته علم ژنتیک مولکولی [۵] پیشرفت زیادی داشته و در زمان حاضر امکان

1 - Quantitative trait

2 - Continuous

3 - Infinitesimal model

4 - Finite locus model

[*] - Review Paper

[**] – استادیار گروه علوم دامی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

5 - Molecular genetics

تشخیص تعداد زیادی نشانگر [1] در فاصله بسیار نزدیکی برروی کروموزوم‌ها وجود دارد. بنابراین امکان بررسی نشانگرها در دام‌ها و چگونگی انتقال آنها به نسل بعد وجود دارد. در این صورت می‌توان پیوستگی [2] نشانگرها را با مکان ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمّی [3] دارای پیوستگی ژنتیکی [4] با نشانگرها را مطالعه نمود. درنهایت از اطلاعات مربوط به مکان ژن‌های کمّی می‌توان برای پیش‌بینی دقیق‌تر ارزش ارثی [5] دام‌ها و انتخاب آنها به کمک نشانگرها [6] (MAS) استفاده کرد (۱۲ و ۴۳).

۱ . نشانگرها

اولین مطالعه درمورد تشخیص [7] مکان ژن‌های کمّی به کمک نشانگرها در سال ۱۹۲۳ میلادی انجام شد (۵۳). سپس در دهه ۱۹۸۰ میلادی روشهای آزمایشگاهی براساس نشانگرها و با استفاده از روشهای آنزیم‌ها، پروتئین‌ها و چندشکلی خونی [8] ابداع شد. در طی چند دهه اخیر با پیشرفت سریع علم ژنتیک مولکولی امکان شناسایی تعداد زیادی از نشانگرها در ناحیه کوچکی از ژنوم فراهم شد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که به‌طورکلی نشانگرهای مورد استفاده در مطالعات پیوستگی ژنتیکی متعادل [9] و نامتعادل [10] باید دارای چندین ویژگی باشند. مهمترین این ویژگی‌ها عبارت از داشتن بیش از یک آلل در جامعه [11]، امکان دسترسی در تمام نقاط ژنوم، ساده بودن روش آزمایشگاهی و صرفه اقتصادی (۱۲). مهمترین نشانگرهای ژنتیکی مورد استفاده شامل چند شکلی در طول قطعه برشی [12] (RFLP)، تعداد متنوع توالی‌های تکراری متوالی [13] یا ماهوارک‌ها [14]، ریزماهوارک‌ها تکثیرکننده تصادفی [15]، چند شکلی در DNA [16] (RAPD)، چند شکلی در طول قطعه تکثیر شده (AFLP) [17]، چند شکلی فرم فضایی رشته‌های منفرد [18] (SSCP)

6 - Markers

1 - Association

2 - Quantitative Trait Loci (QTL)

3 - Linkage

4 - Breeding value

5 - Marker Assisted Selection (MAS)

6 - Detection

7 - Blood polymorphisms

8 - Linkage equilibrium

9 - Linkage disequilibrium

10 - Highly polymorphic

11 - Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLP)

12 - Variable number of tandem repeats

13 - Mini satellites

14 - Micro satellites

15 - Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

16 - Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP)

17 - Single Stranded Conformational Polymorphisms (SSCP)

و چند شکلی یک نوکلئوتیدی [1] (SNP) می‌باشند (۱۲ و ۴۳).

باتوجه به پیشرفت‌های حاصل در پروژه ژنوم انسانی تعداد زیادی نشانگر در قسمت‌های مختلف کروموزوم‌ها شناسایی و قابل دسترس می‌باشند. نحوه تشخیص و استفاده از نشانگرها براساس روشهای مختلف علم ژنتیک مولکولی متفاوت می‌باشد. بعضی از نشانگرها (مثل RFLP) براساس دورگ‌گیری [2] مستقیم و بعضی دیگر (مثل SNP) براساس واکنش زنجیره‌ای پلیمیراز [3] (PCR) می‌باشند. در روش PCR رشته DNA بین دو ناحیه مشخص تکثیر می‌گردد. در مطالعات جدید از SNP که دارای ویژگی‌های مناسب یک نشانگر است و به تعداد زیاد در قسمت‌های مختلف ژنوم شناسایی شده استفاده می‌شود. تنوع این نشانگر (SNP) در ژنوم درمقایسه با ماهوارک‌ها و ریزماهوارک‌ها به دلیل داشتن فقط دو آلل کم است ولی فراوانی آنها در ژنوم بیشتر است. به‌طورکلی برای تشخیص مکان ژن‌های کمّی در ژنوم از ریزماهوارک‌ها استفاده می‌شود. چون این نشانگر دارای چندین آلل است لذا احتمال وجود تعداد افراد هتروزیگوت در جامعه زیاد است. همچنین برای تعیین محل دقیق [4] ژن‌های کمّی برروی کروموزوم‌ها بیشتر از SNP که تعداد آنها زیاد و نزدیک بهم است استفاده می‌شود (۲۴، ۴۳ و ۶۳).

برای تعیین محل ژن‌های کمّی به نشانگرهایی نیاز است که فراوانی آنها در ژنوم زیاد و پیوسته و نزدیک به یکدیگر باشند. در جوامع خویشاوند [5] (مثل جوامع انسانی و حیوانات اهلی) به دلیل ارتباط ژنتیکی افراد جامعه با یکدیگر ممکن است در بعضی از افراد، نشانگرهای چند آللی نیز مثل ریزماهوارک‌ها به‌صورت هموزیگوت باشند. برای تعیین محل ژن‌های کمّی به نشانگرهایی نیاز است که قابلیت دسترسی به آنها، چندآللی و هتروزیگوسیته زیاد باشد. در حال حاضر مهمترین مشکل تشخیص و تعیین مکان ژن‌های کمّی هزینه اقتصادی تعیین ژنوتیپ نشانگرها و کم بودن دقت [6] برآورد این روشهای ژنتیکی و آماری می‌باشد. در حال حاضر مطالعات زیادی برای کاهش هزینه‌های اقتصادی و ژنوتیپ نشانگرها و افزایش دقت روشهای آماری و ژنتیکی در حال انجام است (۴۴).

۲ . پیوستگی ژنتیکی متعادل

برای تشخیص مکان ژن‌های کمّی در ژنوم از روش آماری مربوط به پیوستگی ژنتیکی متعادل استفاده می‌شود. در این روش همبستگی بین نشانگر و مکان ژن‌های کمّی پیوسته با آن بررسی می‌شود.

18 - Single Nucleotide Polymorphisms (SNP)

1 - Hybridizations

2 - Polymerase Chain Reactions (PCR)

3 - Fine mapping

4 - Outbred populations

5 - Confidence interval

درصورتی‌که داده‌های لازم از شجره و یا خانواده جوامع انسانی، گیاهی و دامی موجود باشد، می‌توان پیوستگی بین نشانگرها و مکان ژن‌های کمّی نزدیک به آنها را مطالعه نمود. در عمل، با برآورد میزان نوترکیبی [۱] بین دو مکان ژنی پیوسته برای تعیین محل و ترتیب ژن‌های موردنظر استفاده می‌شود. میزان نوترکیبی عبارت از درصد گامت‌های نوترکیب حاصل از کراسینگ اور بین دو مکان ژنی می‌باشد. در روش آماری پیوستگی ژنتیکی متعادل بررسی و تعیین ترتیب آلل‌های [۲] نوترکیب در والدین و نتاج و انتقال آنها از والدین به نتاج دارای اهمیت زیاد می‌باشد. اگر نشانگرها در نزدیکی ژن‌های موردنظر باشند می‌توان محل ژن‌های موردنظر را تشخیص داد (۶۵).

برای تعیین محل ژن‌ها بر روی کروموزوم‌ها از فاصله فیزیکی [۳] و فاصله ژنتیکی [۴] استفاده می‌شود. فاصله فیزیکی بین ژن‌ها با استفاده از روش Radiation hybrid بازسازی می‌شود. در این روش واحد اندازه‌گیری ژنوم براساس تعداد جفت باز موجود برروی دو رشته DNA می‌باشد و با علامتbp [۵] نشان داده می‌شود. در روش فاصله ژنتیکی با تعیین تعداد کراسینگ اور بین دو مکان ژنی فاصله دو ژن مشخص می‌شود. در این روش از واحد مورگان [۶] برای تعیین فاصله ژنتیکی بین دو ژن استفاده می‌شود. طبق تعریف، یک سانتی مورگان فاصله ژنتیکی بین دو ژن به این مفهوم است که در مرحله تقسیم میوز به‌طور میانگین در یک سلول از هر ۱۰۰ سلول در یک ناحیه مشخص از ژنوم یک کراسینگ اور انجام می‌گیرد (۱۲، ۴۳ و ۶۵).

در روش پیوستگی ژنتیکی متعادل می‌توان از اطلاعات حاصل از روش فاصله ژنتیکی برای تعیین محل ژن‌ها برروی کروموزوم‌ها استفاده نمود. برای تبدیل میزان نوترکیبی به فاصله ژنتیکی از دو تابع نقشه ژنتیکی [۷] استفاده می‌شود. در تابع نقشه ژنتیکی کوسامبی [۸] کراسینگ اورهای دوگانه درنظر گرفته نمی‌شود (۳۸)، ولی در تابع نقشه ژنتیکی هالدن [۹] کراسینگ اورهای دوگانه نیز درنظر گرفته می‌شود (۲۳). برآورد نوترکیبی در حیواناتی (نظیر طیور) امکان‌پذیر است که در آنها می‌توان لاین‌های خالص [۱۰] براساس نشانگر ایجاد نمود. با آمیزش دو لاین هموزیگوت غالب و مغلوب برای ژن نشانگر،

1 - Recombination fraction
2 - Linkage phase
3 - Physical distance
4 - Genetic map distance
5 - Base pairs (bp)
6 - Morgan or centiMorgan (cM)
7 - Genetic mapping function
8 - Kosambi
9 - Haldene
10 - Inbred line

کلیه فرزندان نسل اول [1] هتروزیگوت هستند. نسل دوم [2]، از آمیزش پرندگان نسل اول تولید می‌شود. همچنین می‌توان فرزندان نسل اول را با یکی از والدین آمیزش [3] داد. نحوه قرار گرفتن آلل‌های ژن نشانگر در والدین و نسل اول قابل تشخیص است و به سادگی می‌توان گامت‌های نوترکیب را شناسایی نمود. برآورد نوترکیبی در جوامعی که امکان تهیه لاین خالص برای ژن نشانگر وجود ندارد (مثل انسان و بعضی از دام‌ها و گیاهان) بسیار مشکل است. برای این موارد روشهای آماری مناسب ارایه شده است که در بخش‌های بعد ارایه خواهد شد (۱۲ و ۴۳).

پس، تشخیص مکان ژن‌های کمّی با روش پیوستگی ژنتیکی متعادل براساس تعیین همبستگی ژنتیکی بین نشانگر و عملکرد صفت کمّی می‌باشد. در جوامع خویشاوند، برای بررسی پیوستگی ژنتیکی متعادل، از نوترکیبی ایجاد شده در داخل خانواده‌ها استفاده می‌شود. در مواردی که نشانگرها به یکدیگر نزدیک باشند، با مطالعه ژنوتیپ نشانگر در دو یا سه نسل (از والدین تا نتاج) می‌توان نوترکیبی نشانگر را بررسی نموده و از اطلاعات آن برای تشخیص مکان ژن‌های کمّی استفاده کرد. دقت روش پیوستگی ژنتیکی متعادل برای تعیین محل ژن‌های کمّی در ژنوم بسیار متفاوت است. به‌طورکلی با این روش محل قرار گرفتن مکان ژن‌های کمّی در فاصله ۱۰ تا ۲۰ سانتی مورگان از نشانگر قابل تشخیص است (۵ و ۱۲).

۱ – ۲ . طرح‌های مناسب برای تشخیص مکان ژن‌های کمّی با استفاده از پیوستگی ژنتیکی متعادل

برای تشخیص مکان ژن‌های کمّی با روش پیوستگی ژنتیکی متعادل چندین طرح آزمایشی [4] برای جوامع خالص برای ژن نشانگر و خویشاوند ارایه شده است. مکان ژن‌های کمّی با استفاده از همبستگی اطلاعات ژنوتیپ نشانگر و فنوتیپ صفت کمّی تعیین می‌شود. عمده‌ترین روشهای آماری تشخیص مکان ژن‌های کمّی شامل انتخاب ژنوتیپی [5]، تفرق ژنی [6]، آمیزش بین لاین‌های خالص [7] و تجزیه و تحلیل آماری ژنوتیپ نشانگر داخل و یا بین خانواده‌ها [8] می‌باشد (۴۳ و ۶۶).

در روش انتخاب ژنوتیپی، پیوستگی بین نشانگر و مکان ژن‌های کمّی فقط از ژنوتیپ افراد دارای

1 - Experimental designs

2 - Selective genotyping

3 - Bulked segregation analysis

4 - Crosses between inbred lines

5 - Within or among family analysis

11 - F1

12 - F2

13 - Back cross

بیشترین و کمترین عملکرد [۱] استفاده می‌شود. در این روش فرض این است که افراد با بیشترین و کمترین عملکرد دارای بیشترین اطلاعات مربوط به پیوستگی ژنتیکی متعادل نسبت به افراد دارای عملکرد درحد میانگین جامعه می‌باشند. در استفاده از این روش برای تشخیص مکان ژن‌های کمّی تعداد افراد مورد نیاز برای تعیین ژنوتیپ نشانگر کمتر است. این روش برای تشخیص چندین مکان ژن‌های کمّی در جوامع خویشاوند و در داخل خانواده‌ها نیز تعمیم داده شده است (۵، ۴۳ و ۶۶). در استفاده از روش انتخاب ژنوتیپی هر چند تعداد افراد مورد نیاز برای تعیین ژنوتیپ کاهش می‌یابد ولی هنوز از نظر اقتصادی مقرون به صرفه نمی‌باشد.

روش تفرق ژنی در گروه‌هایی از جامعه یک روش دیگر برای تعیین مکان ژن‌های کمّی است که در آن افراد جامعه براساس تولید یک صفت کمّی در گروه‌های مختلف تقسیم‌بندی می‌شوند. در روش تفرق ژنی DNA افراد در گروه‌هایی از جامعه دارای بیشترین و یا کمترین تولید را با یگدیکر مخلوط نموده و از نظر پیوستگی ژنتیکی متعادل بررسی می‌نمایند. در یک تحقیق در گاو شیری با استفاده از این روش، پیوستگی ژنتیکی متعادل تعدادی از ریزماهواره‌ها با درصد پروتئین و چربی شیر تعیین شد. در این روش برای افزایش دقت آماری در تشخیص مکان ژن‌های کمّی به تعداد کمتری افراد نیاز است (۴۳ و ۶۶).

در جوامع لاین‌های خالص برای نشانگر موردنظر برای تشخیص مکان ژن‌های کمّی از مقایسه میانگین زیر جوامع حاصل از تلاقی لاین‌های خالص استفاده می‌شود. ولی در جوامع خویشاوند واریانس بین جوامع مقایسه می‌شود. در جوامع لاین‌های خالص برای نشانگر تمام نتاج نسل اول برای نشانگر موردنظر و جایگاه ژن‌های کمّی هتروزیگوت می‌باشند و میزان عدم تعادل پیوستگی ژنتیکی [۲] بین آنها حداکثر است. چون بهترین شرایط در تعیین مکان ژن‌های کمی در حالت حداکثر بودن نامتعادلی پیوستگی می‌باشد لذا جمعیت‌های حاصل از آمیزش بین لاین‌های خالص یکی از بهترین جعمیت‌ها برای چنین مطالعاتی می‌باشند. در جوامع خویشاوند میزان هتروزیگوت بودن افراد متفاوت بوده و کاملاً هتروزیگوت نیستند. این وضعیت سبب می‌شود که تشخیص مکان ژن‌های کمّی در این جوامع مشکل‌تر باشد. به‌طورکلی برای تشخیص مکان ژن‌های کمّی در جوامع خویشاوند نحوه انتقال آلل‌های متفاوت نشانگر از والدین به فرزندان در داخل یک خانواده مطالعه می‌شود. در جوامع انسانی از تعداد محدودی برادر – خواهر تنی [۳] و در جوامع

1 - Linkage disequilibrium

2 - Full sibs

6 - Extreme phenotype

دام‌ها از تعداد زیادی برادران و خواهران ناتنی [1] برای مطالعه استفاده می‌شود (۴۳ و ۶۶).

برای تجزیه و تحلیل داده‌های جوامع دامی با استفاده از نتاج ناتنی روشهای آماری و همچنین طرح‌های آزمایشی متفاوتی ارایه شده است. دو طرح آزمایشی عمده برای این جوامع شامل طرح آزمایشی دختران [2] و طرح آزمایشی نوه‌های دختری می‌باشد [3]. در طرح آزمایشی دختران، نتاج ماده یک گاو نر دارای آلل‌های متفاوت برای یک نشانگر مقایسه می‌شوند. تفاوت نتاج ماده یک گاو نر که دارای آلل‌های متفاوت برای نشانگر پیوسته به مکان ژن‌های کمّی هستند از نظر میانگین صفت کمّی مورد مطالعه زیاد است. در این روش ژنوتیپ دختران و پدران آنها از نظر نشانگرها تعیین و دختران برای صفات کمّی موردنظر و مقادیر صفات کمّی در دختران اندازه‌گیری می‌شود. در طرح آزمایشی نوه‌های دختری ژنوتیپ پدر و پدربزرگ دختران تعیین شده و از دختران برای صفات کمّی موردنظر داده‌برداری می‌شود. دقت آماری طرح آزمایشی دختران با افزایش تعداد دختران یک پدر افزایش می‌یابد. در طرح آزمایشی نوه‌های دختری با افزایش تعداد پسران یک پدربزرگ دقت آماری افزایش می‌یابد (۶۱).

۲ – ۲ . روشهای آماری

برای تشخیص مکان ژن‌های کمّی در جوامع دامی چندین روش آماری برای تعیین پیوستگی ژن‌ها و نشانگرها ارایه شده است. پنج روش عمده ارایه شده برای تجزیه و تحلیل این داده‌ها عبارت از رگرسیون خطی [4] (LR)، حداکثر درست‌نمایی [5] (ML)، بهترین پیش‌بینی نااریب خطی [6] (BLUP)، حداکثر درست‌نمایی محدود شده [7] (REML) و تجزیه و تحلیل با روش بیژین [8] (BA) می‌باشد. انتخاب هر یک از این روشها برای تجزیه و تحلیل داده‌ها بستگی به ساختار داده‌های طرح آزمایشی و پیش فرض‌های توزیع آماری داده‌ها دارد. برای تشخیص مکان ژن‌های کمّی در جوامع خویشاوند با شجره‌نامه کامل این روشهای آماری براساس ثابت [9] و یا تصادفی [10] درنظر گرفتن اثر ژن‌های کمّی در مدل آماری به دو گروه تقسیم‌بندی می‌شوند (۴، ۱۶، ۳۱ و ۳۶).

از روش رگرسیون خطی می‌توان برای داده‌هایی با یک یا چندین نشانگر پیوسته استفاده نمود. در جوامع لاین‌های خالص و خویشاوند از

1 - Granddaughter design

2 - Daughter design

3 - Half sibs

4 - Linear Regression (LR)

5 - Maximum Likelihood (ML)

6 - Best Linear Unbiased Prediction (BLUP)

7 - Restricted Maximum Likelihood (REML)

8 - Bayesian Analysis (BA)

9 - Fixed effects

10 - Random effects

مکان‌یابی فاصله‌ای [1] می‌توان برای تشخیص و شناسایی مکان ژن‌های کمّی استفاده نمود. پیش فرض‌های آماری در این مطالعات شامل غیرخویشاوند بودن پدرها، غیرخویشاوندن بودن مادرها، آمیزش تصادفی در داخل جامعه و وجود یک فرزند از هر مادر می‌باشد. این روشها برای تشخیص چندین مکان ژنی و چندین صفت کمّی ارائه شده است. مهمترین ویژگی روش رگرسیون ساده بودن محاسبات با استفاده از نرم‌افزارهای آماری موجود و تشخیص چندین مکان ژن کمّی برای چندین صفت کمّی مورد مطالعه است (۱۶، ۲۵، ۳۴ و ۳۷).

روش حداکثر درست‌نمایی نیز برای تجزیه و تحلیل داده‌های نتاج ناتنی در جوامع خویشاوند و بین خانواده‌ها ارایه شده است. پیش فرض‌های این روش نیز مشابه روش رگرسیون خطی است. از این روش می‌توان برای تجزیه و تحلیل نشانگرها و تشخیص مکان ژن‌های کمّی استفاده نمود. همچنین با این روش امکان برآورد میزان اثر ژن‌های کمّی نیز وجود دارد. در مواردی که مکان ژن‌های کمّی خارج از محدوده نشانگرها باشد این روش مشابه حالتی است که از یک نشانگر استفاده می‌شود (۴، ۲۵ و ۶۶).

استفاده از ژنوتیپ یک نشانگر برای برآورد اثر تصادفی مکان ژن‌های کمّی در یک مدل خطی با درنظر گرفتن اثر کلیه ژن‌های کمّی [2] در سال ۱۹۸۹ ارایه شد (۱۴). مطالعات متعددی در اصلاح نژاد دام براساس منظور نمودن اثر مکان ژن‌های کمّی به‌عنوان یک اثر تصادفی در مدل خطی دام [3] انجام شده است (۱۹، ۲۲، ۳۷ و ۶۲). با استفاده از این روش امکان پیش‌بینی ظرفیت ژنتیکی حیوان از نظر مکان ژن‌های کمّی وجود دارد و این امکان نیز وجود دارد که از این اطلاعات برای انتخاب دام‌ها با استفاده از روش انتخاب با کمک نشانگرها (MAS)[4] استفاده نمود. این روش با استفاده از روش تجزیه واریانس و استفاده از REML برای چندین نشانگر پیوسته و تشخیص مکان ژن‌های کمّی ارایه شده است. ویژگی مهم این روش برآورد دقیق‌تر پارامترهای آماری لازم و همچنین پیش‌بینی ظرفیت حیوان برای اثر مکان ژن‌های کمّی است. علاوه بر این در مواردی که منحنی توزیع داده‌ها نرمال نیست برآورد حاصل از REML دقیق‌تر است (۷، ۱۶، ۱۸ و ۳۷). در این روش از شجره و ژنوتیپ دام‌های شجره استفاده می‌شود. در مواردی نیز اطلاعات شجره‌ای حیوانات قابل دسترس نیست و نیاز به استفاده از روشهای دیگر (نظیر روش آماری برای داده‌های گم شده [5]) است. علاوه بر این نیاز به برآورد ماتریس واریانس-کوواریانس

1 - Polygenic effects

2 - Animal model

3 - Marker Assisted Selection

4 - Missing data

9 - Interval mapping

خویشاوندی [1] و ماتریس واریانس-کوواریانس تشابه ژنتیکی از طریق سلف مشترک [2] می‌باشد (۱۶ و ۳۷).

در روش بیژین برای توزیع آماری [3] داده‌های نامعلوم پیش‌فرض اولیه درنظر گرفته می‌شود. این روش برای مطالعات اصلاح دام با استفاده از روش MCMC [4] طراحی شده است. از این روش در طرح‌های آزمایشی نتاج ناتنی برای یک و چند نشانگر استفاده شده است. نتایج تحقیقات نشان داده است که این روش نیز برای تشخیص مکان ژن‌های کمّی مناسب است (۳۱، ۵۶، ۵۹ و ۶۶).

۳ - ۲ . محاسبه ماتریس واریانس-کوواریانس تشابه ژنتیکی از طریق سلف مشترک

در روشهای آماری مورد استفاده برای تعیین مکان ژن‌های کمّی به‌عنوان یک اثر تصادفی نیاز به ماتریس واریانس-کوواریانس تشابه ژنتیکی از طریق سلف مشترک (ماتریس IBD) می‌باشد (۱۴). سه الگوریتم [5] مهم برای محاسبه این ماتریس عبارت از تکرار مرحله‌ای (Recursively)، همبستگی (Correlation) و شبیه‌سازی (Simulation) می‌باشند (۱۶ و ۳۷). در روش تکرار مرحله‌ای ماتریس خویشاوندی گامتی شرطی [6] با استفاده از اطلاعات ژنوتیپ یک نشانگر پیوسته به مکان ژن‌های کمّی محاسبه می‌شود. در این روش فرض بر این است که یک رابطه خطی بین ماتریس کوواریانس‌های مربوط به مدل‌های خطی مختلط و ماتریس خویشاوندی گامتی شرطی وجود دارد. در مواردی که ژنوتیپ نشانگرها و ترتیب آلل‌های آنها مشخص باشند با استفاده از این روش امکان محاسبه ماتریس خویشاوندی گامتی شرطی وجود دارد (۱۶، ۲۲ و ۳۱). در روش تکرار مرحله‌ای مشابه روش هندرسون برای محاسبه ماتریس خویشاوندی و معکوس آن عمل می‌شود (۲۸). در این روش تعداد ردیف و ستون ماتریس برابر با 2N×2N و N تعداد حیوانات در محاسبات می‌باشد. این روش برای چندین نشانگر نیز تعمیم داده شده است. این روش برای داده‌های نامعلوم و مواردی که ترتیب آلل‌های ژن‌ها در روی کروموزوم مشخص نیست [7] نیز تعمیم داده شده است. در طی دهه گذشته مطالعات زیادی در مورد روش تکرار مرحله‌ای انجام شده است. ولی هنوز این آلگوریتم برای شجره‌های بزرگ [8] و برای چندین نشانگر و داده‌های نامعلوم مشکل اساسی دارد و نیاز به

---

5 - Numerator relationship matrix (A)

6 - Identical by descent (IBD)

7 - Posterior distribution

1 - Markov Chain Monte Carlo (MCMC)

2 - Algorithm

3 - Conditional genetic relationship matrix

4 - Unknown linkage phase

5 - Large pedigree data

مطالعات بیشتر برای کامل نمودن آن است (۲۲، ۳۲، ۳۷، ۴۰، ۵۱، ۶۰ و ۶۴).

الگوریتم همبستگی نیز یک روش دیگر برای محاسبه ماتریس IBD می‌باشد. در این روش اثر ژن‌های پیوسته با نشانگرها را با استفاده از اطلاعات سهم نوترکیبی بین آنها تابعی از اثر مؤلفه‌های واریانس افزایشی و غلبه [۱] ژن موردنظر درنظر می‌گیرند. در این الگوریتم از روش MCMC برای محاسبه اطلاعات نشانگرهای نامعلوم استفاده می‌شود. تعداد ردیف و ستون این ماتریس در این روش N×N و N تعداد حیوانات در محاسبات می‌باشد. برای محاسبه ماتریس IBD از نرم‌افزار ژنتیکی SOLAR[۲] استفاده می‌شود (۲ و ۳).

در الگوریتم شبیه‌سازی نیز با استفاده از روش MCMC ماتریس IBD محاسبه می‌شود. در این روش ماتریس IBD براساس پیش‌بینی‌های حاصل از توابع شرطی [۳] و با مشاهده اطلاعات نشانگرها محاسبه می‌شود. نرم‌افزار LOKI برای محاسبه این ماتریس براساس اطلاعات چندین نشانگر پیوسته و شجره‌نامه کامل [۴] و حتی درصورت داده‌های نامعلوم براساس الگوریتم تفرق طراحی شده است. تعداد ردیف و ستون ماتریس با این روش N×N و N تعداد حیوانات در محاسبات می‌باشد (۱۰، ۲۷، ۵۷ و ۵۸).

۳ . پیوستگی ژنتیکی نامتعادل

حاصل تفاوت فراوانی مرکب [۵] دو آلل از یک مکان ژنی و حاصل ضرب فراوانی این دو آلل ضریب عدم تعادل ژنتیکی [۶] نامیده می‌شود. با درنظر گرفتن دو آلل برای یک مکان ژنی عدم تعادل ژنتیکی با استفاده از رابطه (۱) محاسبه می‌شود :

$$D_A = P_{AA} - P_A^2 \qquad (1)$$

در این معادله، P_{AA} فراوانی ژنوتیپی AA و P_A فراوانی آلل A است. هنگامی‌که جامعه در حالت تعادل باشد D_A برابر با صفر است (۶۵).

براساس قانون تعادل هاردی واینبرگ [۷] در جوامع بزرگ [۸] با آمیزش تصادفی [۹] و عدم انتخاب [۱۰]، مهاجرت [۱۱] و جهش [۱۲] فراوانی آلل‌ها از نسلی به نسل دیگر ثابت می‌باشد. مقدار انحراف از

---

6 - Additive and dominance components of variance

1 - Sequential Oligogenetic Linkage Analysis Routines (SOLAR)

2 - Expectation conditional on observed marker data

3 - Complete pedigree

4 - Joint frequencies

5 - Disequilibrium coefficient

6 - Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE)

7 - Large populations

8 - Random mating

9 - Selection

10 - Migration

11 - Mutation

این تعادل را ضریب عدم تعادل ژنتیکی می‌نامند. پیوستگی غیرتصادفی بین آلل‌های دو مکان ژنی مختلف سبب پیوستگی ژنتیکی نامتعادل می‌شود. هرگونه پیوستگی بین ژن‌ها (حتی درصورت عدم پیوستگی فیزیکی آنها بر روی یک کروموزم) به پیوستگی ژنتیکی نامتعادل مربوط می‌شود. به این لحاظ پیوستگی ژنتیکی نامتعادل را عدم تعادل گامتی [1] نیز می‌نامند. از پیوستگی ژنتیکی نامتعادل بین نشانگرها و ژن‌های کنترل‌کننده صفات می‌توان برای تعیین مکان ژن‌ها استفاده نمود. حداکثر درست‌نمایی پیوستگی ژنتیکی نامتعادل برای آلل‌های A و B دو مکان ژنی را می‌توان به‌طور مستقیم از فراوانی گامت‌های مشاهده شده و با استفاده از رابطه (۲) محاسبه نمود (۶۵) :

$$D_{AB} = P_{AB} - P_A P_B \qquad (2)$$

در این رابطه، D_{AB} میزان پیوستگی ژنتیکی نامتعادل بین دو مکان ژنی، P_{AB} فراوانی گامت AB و P_A و P_B به‌ترتیب فراوانی آلل‌های A و B می‌باشد. روش دیگر محاسبه پیوستگی ژنتیکی نامتعادل بین دو ژن براساس فراوانی انواع شکل‌های متفاوت گامتی آنها می‌باشد. مطابق قانون هاردی واینبرگ اگر جامعه در حال تعادل ژنتیکی باشد فراوانی انواع متفاوت گامت‌ها باید یکسان باشد. به‌عنوان مثال، فرض می‌شود یک نشانگر با دو آلل M_1 و M_2 به‌صورت پیوسته با یک مکان ژن کمّی با دو آلل Q_1 و Q_2 باشد. برای این دو ژن در جامعه چهار نوع گامت متفاوت M_1Q_1 ، M_1Q_2 ، M_2Q_1 و M_2Q_2 می‌تواند وجود داشته باشد که فراوانی آن‌ها به‌ترتیب r ، s ، t و u درنظر گرفته می‌شود. مقدار پیوستگی ژنتیکی نامتعادل برابر است با :

$$D_{MQ} = ru - st \qquad (3)$$

در این رابطه، میزان D_{MQ} به فراوانی آلل‌های دو مکان ژنی بستگی دارد (۱۲).

برای دو مکان ژنی که به‌صورت پیوسته در روی یک کروموزوم قرار دارند با درنظر گرفتن سهم نوترکیبی θ، میزان عدم تعادل بین آنها پس از هر نسل آمیزش تصادفی به مقدار $1\text{-}\theta$ کاهش می‌یابد. یعنی :

$$D^t_{MQ} = (1-\theta)^t D^0_{MQ} \qquad (4)$$

در این رابطه، θ میزان نوترکیبی بین دو مکان ژنی و D^t_{MQ} میزان عدم تعادل بعد از t نسل است. در جوامع بزرگ با آمیزش تصادفی میزان عدم تعادل ژنتیکی بین دو ژن پیوسته دارای فاصله فیزیکی نسبتاً زیاد تقریباً به نصف کاهش می‌یابد. برای مقادیر کمتر وقوع نوترکیبی بین ژن‌ها، تعداد نسل لازم برای تغییر عدم تعادل به صفر بیشتر است.

12 - Ganetic phase disequilibrium

به‌عنوان مثال، برای ژن‌های با فاصله فیزیکی یک سانتی مورگان (1cM) حدود ۵۰ نسل آمیزش تصادفی نیاز است تا مقدار اولیه عدم تعادل ژنتیکی به صفر برسد (۱۲).

چندین فرضیه و روش برای برآورد و تشخیص عدم تعادل ژنتیکی برای جوامع گوناگون ارایه شده است. در اغلب این روشها مقدار عدم تعادل ژنتیکی بستگی به اندازه مؤثر جامعه [1] دارد. همچنین مقدار آن به سابقه جامعه از نظر تلاقی با حیوانات جوامع دیگر یا تبدیل به جوامع کوچکتر و گرایش تصادفی [2] بستگی دارد. در جوامع ثابت، میزان عدم تعادل ژنتیکی تحت تأثیر رانش تصادفی و میزان نوترکیبی می‌باشد (۲۹، ۳۰ و ۴۲).

از عوامل مؤثر در ایجاد پیوستگی ژنتیکی نامتعادل در جامعه انتخاب، مهاجرت، جهش و گرایش تصادفی می‌باشند. عدم تعادل ژنتیکی برای ژن‌های دارای پیوستگی خیلی نزدیک، برای چندین نسل در جامعه باقی می‌ماند. درحالتی‌که فاصله نشانگر با مکان ژنی کمّی کم باشد، عدم تعادل ژنتیکی بین آنها برای چندین نسل قابل تشخیص است. انتخاب، مهاجرت و گرایش تصادفی از عوامل مؤثر در تغییرات جوامع دامی می‌باشد (۲۴).

عموماً در جوامع دامی عدم تعادل ژنتیکی بین نشانگرها و ژن‌های کمّی در داخل خانواده‌ها یا در داخل جامعه قابل بررسی است. عمدتاً در جوامع گاو شیری گاوهای نر دارای تعداد زیادی نتاج می‌باشند، بنابراین امکان تجزیه و تحلیل داده‌ها در داخل این خانواده‌های گاو نر وجود دارد. به‌طورکلی عدم تعادل ژنتیکی به پیوستگی بین نشانگرها و ژن‌های کمّی بستگی دارد. درضمن میزان این عدم تعادل به سابقه جامعه و وجود عوامل مؤثر در عدم تعادل بستگی دارد (۴).

در جوامع لاین‌های خالص برای یک نشانگر عدم تعادل ناشی از پیوستگی ژنتیکی با تلاقی دو لاین خالص برای نشانگر و در جوامع خویشاوند براساس مشخصات داخل خانواده‌ها ایجاد می‌شود. براساس خصوصیات متفاوت این دو جامعه طرح‌های آزمایشی متفاوتی برای تشخیص عدم تعادل ژنتیکی و تعیین محل ژن‌های کمّی ارایه شده است. در جوامع لاین‌های خالص برای نشانگر در اغلب موارد والدین خالص و یکسان هستند. ولی در جوامع خویشاوند نشانگرها دارای ژنوتیپ متفاوت می‌باشند. لذا قدرت آماری طرح‌های آزمایشی جوامع خویشاوند کمتر از جوامع با لاین‌های خالص است. در جوامع لاین‌های خالص تفرق ژنی فقط برای دو آلل است. درحالی‌که در جوامع خویشاوند تفرق ژنی برای چندین آلل یک مکان ژنی در افراد مختلف وجود دارد. در جوامع خویشاوند ممکن است در خانواده‌های مختلف ترتیب آلل‌های نشانگرها و ژن‌های کمّی به صورت‌های متفاوت

1 - Effective population size

1 - Random drift

باشد که در هر خانوداه نیاز به بررسی جداگانه دارد. ولی در جوامع لاین‌های خالص تشخیص این ترتیب ساده است. بنابراین لازم است که در جوامع خویشاوند نشانگرهای مورد استفاده دارای شکل‌های آللی متفاوت باشند تا تشخیص همبستگی بین آنها و ژن‌های کمّی امکان‌پذیر باشد (۴۳).

با استفاده از روش پیوستگی ژنتیکی نامتعادل چندین تحقیق در جوامع گاوهای شیری نژاد هلشتاین انجام شده است. نتایج حاصل نشان داده که عدم تعادل ژنتیکی در این جوامع وجود دارد و امکان استفاده از این روش برای تعیین محل ژن‌های کمّی وجود دارد (۱۳ و ۵۲).

۱ – ۳ . تعیین محل ژن‌ها توسط پیوستگی ژنتیکی نامتعادل

روشهایی که در بخش پیوستگی ژنتیکی متعادل برای تشخیص ژن‌ها شرح داده شد براساس پیوستگی بین نشانگرها و ژن‌های کمّی می‌باشد. در این روش داده‌های داخل خانواده‌ها یا داخل شجره‌ها یا یک نوع خاص آمیزش مطالعه می‌شود. دقت آماری این روشها برای تعیین محل قرار گرفتن ژن‌های کمّی بر روی ژنوم بسیار کم و با یک دامنه برآورد حدود ۱۰ الی ۲۰ سانتی مورگان است. برای افزایش دقت تعیین محل ژن‌های کمّی از روشهای پیوستگی ژنتیکی نامتعادل استفاده می‌شود. در این روش دامنه برآورد محل ژن‌ها محدودتر و در کمتر از یک سانتی مورگان است. در این روش از کلیه اطلاعات نوترکیبی درازمدت در جامعه استفاده می‌شود. همچنین در این روش نیاز به تعداد بیشتری نشانگر و با فاصله فیزیکی بسیار نزدیک می‌باشد (۴۹ و ۶۵).

۲ – ۳ . روشهای آماری

برای تعیین محل ژن‌های کمّی در ژنوم با استفاده از پیوستگی ژنتیکی نامتعادل از ضریب عدم تعادل ژنتیکی موجود بین نشانگرها و ژن‌های موردنظر استفاده می‌شود. میزان ضریب عدم تعادل در جوامع به اندازه مؤثر جامعه (یا به عبارتی تعداد مولدهای نر و ماده در هر نسل) و میزان نوترکیبی بین نشانگرها و ژن‌ها کمّی بستگی دارد. در بعضی مطالعات اندازه مؤثر جامعه را برای نسل‌های متوالی ثابت و در بعضی دیگر این مقدار را برحسب تعداد حیوانات جوان‌تر موجود در آمیزش‌ها متغیر درنظر گرفته‌اند. نتایج حاصل از تحقیقات نشان داده است که برآوردهای ضریب عدم تعادل حاصل از روشهای مبتنی بر مقادیر متغیر اندازه مؤثر جامعه دقیق‌تراست (۲۶، ۳۰ و ۶۷).

برای جوامع انسانی روشهای آماری متفاوتی براساس پیوستگی ژنتیکی نامتعادل ارایه شده است. در اغلب این روشها از روش آماری حداکثر درست‌نمایی برای برآورد ضریب عدم تعادل ژنتیکی استفاده شده است. این روشها برای سایر جوامع زنده از جمله جوامع گیاهی و دامی تعمیم داده شده است. دقت تعیین محل ژن‌های موردنظر با این

روش بیشتر است و دامنه برآورد آن به حدود یک سانتی مورگان کاهش یافته است (۳۳، ۴۲، ۴۵، ۵۰ و ۵۵).

عدم تعادل ژنتیکی برای یک ناحیه به‌خصوص از کروموزوم‌ها در یک جامعه نشانه وجود تشابه ژنتیکی ناشی از سلف مشترک در این بخش از ژنوم می‌باشد. پس اگر بخشی از ژنوم حاوی نشانگرهای IBD باشد می‌توان نتیجه‌گیری نمود که ژن‌های آن دارای سلف مشترک می‌باشد. بنابراین دو فرد از جامعه که به دلیل خویشاوند بودن برای بخشی از ژنوم دارای تشابه ژنتیکی هستند درحقیقت برای نشانگرها و ژن‌های کمّی این بخش از ژنوم دارای آلل‌های مشابه هستند. لذا می‌توان احتمال تشابه ژنتیکی بین افراد در جامعه برای نقاط مشخص از ژنوم را محاسبه نمود و ماتریس خویشاوندی ناشی از سلف مشترک (IBD) بین تمام افراد را برآورد نمود. قبل از محاسبه ماتریس خویشاوندی (IBD) لازم است که ترتیب آلل‌ها در افراد جامعه با استفاده از اطلاعات والدین تعیین شود. در این روش قبل از محاسبه ماتریس خویشاوندی (IBD) لازم است که هاپلوتیپ‌ها توسط ژنوتیپ نشانگرها بازسازی شود. در این روش دو پیش فرض اولیه برای مقادیر اندازه مؤثر جامعه و تعداد نسل از زمان جهش اولیه در این محل معین از ژنوم تا نسل حاضر درنظر گرفته می‌شود. برای مطالعات شبیه‌سازی شده رایانه‌ای بهترین مقادیر اندازه مؤثر جامعه و تعداد نسل برابر با ۱۰۰ و ۱۰۰ می‌باشد. پس از تشکیل ماتریس خویشاوندی با این روش، امکان استفاده از آن در روش BLUP وجود دارد. با استفاده از روش REML محل ژن‌های کمّی و اثر ژنتیکی آنها تعیین می‌شود. دقت این روش بیشتر و دامنه برآورد آن در جوامع خویشاوند دامی برای تعیین محل ژن‌های کمّی معادل یک الی سه سانتی مورگان است. در جدیدترین روشها سعی بر ترکیب دو روش پیوستگی ژنتیکی متعادل و نامتعادل در یک روش واحد است (۶، ۹، ۲۰، ۲۱، ۳۶، ۳۹، ۴۱، ۴۶، ۴۷، ۴۸ و ۵۴).

منابع مورد استفاده

1 . Abdallah JM, Goffinet B, Cierco-Ayrolles C and Pérez-Enciso M (2003) Linkage disequilibrium fine mapping of quantitative trait loci: A simulation study, Genet. Sel. Evol. 35: 523-532.

2 . Almasy L and Blangero J (1998) Multipoint quantitative trait linkage analysis in general pedigree, Am. J. Hum. Genet. 62: 1198-1211.

3 . Amos CI (1994) Robust variance-components approach for assessing genetic linkage in pedigrees, Am. J. Hum. Genet. 54: 535-543.

4 . Bovenhuis H, van Arendonk JAM, Davis G, Elsen JM, Haley CS, Hill WG, Baret PV, Hetzel DJS, and Nicholas FW (1997) Detection of quantitative trait loci in farm animals, Livest. Prod. Sci. 52: 135-144.

5 . Darvasi A, Weinreb A, Minke V, Weller JI and Soller M (1993) Detecting marker-QTL linkage and estimating QTL effect and map location using a saturated genetic map, Genetics 134: 943-951.

6 . Dekkers JCM and Hospital F (2002) The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations, Nat. Rev. Genet. 3: 22-32.

7 . De Koning DJ, Pong-Wong R, Varona L, Evans GJ, Giuffra E, Sanchez A, Plastow G, Noguera JL, Andersson L and Haley CS (2003) Full pedigree quantitative trait locus analysis in commercial pigs using variance components, J. Anim. Sci. 81: 2155-2163.

8 . De Koning DJ, Rattinik AP, Harlizius M, van Arendonk JAM, Brascamp EW and Groenen MAM (2000) Genome-wide scan for body composition in pigs reveals important role of imprinting, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 97: 7947-7950.

9 . Du FX, Sorensen P, Thaller G and Hoeschele I (2002) Joint linkage disequilibrium and linkage mapping of quantitative trait loci, 7^{th} World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Session 21.

10 . Elston RC and Stewart J (1971) A general model for the analysis of pedigree data, Hum. Heredity 21: 523-542.

11 . Ewing B and Green P (2000) Analysis of expressed sequence tags indicates 35,000 human genes. Nat Genet. 25: 232-4.

12 . Falconer DS and Mackay TFC (1996) Introduction of quantitative genetics, 4th edn., Longman limited, London.

13 . Farnir F, Coppieters W, Arranz JJ Berzi P, Cambisano N, Grisart B, Karim L, Marcq F, Moreau L, Mni M, Nezer C, Simon P, Vanmanshoven P, Wagenaar D and Georges M (2000) Extensive genome-wide linkage disequilibrium in cattle, Genome Res. 10: 220-227.

14 . Fernando RLM and Grossman M (1989) Marker assisted selection using best linear unbiased prediction, Genet. Sel. Evol. 21: 467-477.

15 . Fisher RA (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.

16 . George AW, Visscher PM and Haley CS (2000) Mapping quantitative trait loci in complex pedigrees, Genetics 156: 2081-2092.

17 . Georges MD, Nielsen M, Mackinnon A, Mishra R, Okimoto R, Pasquino AT, Sargeant LS, Sorensen A, Steele MR, Zao Z, Womack JE and Hoeschele I (1995) Mapping quantitative trait loci controlling milk production in dairy cattle by exploiting progeny testing, Genetics 139: 907-920.

18 . Gilmour AR, Thompson R and Cullis BR (1995) Average information REML: an efficient algorithm for variance parameter estimation in linear mixed models, Biometrics 51: 1440-1450.

19 . Goddard ME (1992) A mixed model for analyses of data on multiple genetic markers, Theor. Appl. Genet. 83: 878-886.

20 . Goddard ME (2003) Animal breeding in the (post-) genomic era, Anim. Sci. 76: 353-365.

21 . Grapes L, Dekkers JCM, Rothschild MF and Fernando RL (2004) Comparing linkage disequilibrium-based methods for fine mapping quantitative trait loci, Genetics 166: 1561-1570.

22 . Grignola FE, Hoeschele I and Tier B (1996) Mapping quantitative trait loci in outcross populations *via* residual maximum likelihood. I. Methodology, Genet. Sel. Evol. 28: 479-490.

23 . Haldane JBS (1919) The combination of linkage values, and the calculation of distances between the loci of linked factors, J. Genet. 8: 299-309.

24 . Haley CS (1999) Advances in quantitative trait locus mapping, Proc. of From J. Lush to genomic May 16-18, Iowa, pp 47-59.

25 . Haley CS and Knott SA (1992) A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers, Heredity 69: 315-324.

26 . Hastbacka J, de la Chapelle A, Kaitila I, Sistonen P, Weaver A and Lander E (1992) Linkage disequilibrium mapping in isolated

founder populations: diastrophic dysplasia in Finland, Nat. Genet. 2: 204-211.

27 . Heath SC (1997) Markov chain Monte Carlo segregation and linkage analysis for oligogenic models, Am. J. Hum. Genet. 61: 748-760.

28 . Henderson CR (1976) A simple method for computing the inverse of a numerator relationship matrix used in prediction of breeding values, Biometrics 32: 69-83.

29 . Hill WG and Robertson A (1968) Linkage disequilibrium in finite populations, Theor. Appl. Genet. 38: 226-231.

30 . Hill WG and Weir BS (1994) Maximum-likelihood estimation of gene location by linkage disequilibrium. Am. J. Hum. Genet. 54: 705-714.

31 . Hoeschele I, Uimari P, Grignola FE, Zhang Q and Gage KM (1997) Advances in statistical methods to map quantitative trait loci in outbred populations, Genetics 147: 1445-1457.

32 . Jansen RC and Stam P (1994) High resolution of quantitative trait into multiple loci via interval mapping, Genetics 136: 1447-1455.

33 . Kaplan N, Hill WG and Weir BS (1995) Likelihood methods for locating disease genes in non equilibrium populations, Am. J. Hum. Genet. 56: 18-32.

34 . Knott SA, Elsen JM and Haley CS (1996) Methods for multiple marker mapping of quantitative trait loci in half- sib populations, Theor. Appl. Genet. 93: 71-80.

35 . Knott SA and Haley CS (2000) Multitrait least squares for quantitative trait loci detection, Genetics 156: 899-911.

36 . Kolbehdari D (2004) Fine mapping of QTL using linkage and linkage disequilibrium analysis in half-sib designs. Ph.D. Thesis, University of Guelph, Canada.

37 . Kolbehdari D, Jansen GB, Schaeffer LR and Allen OB (2005) Power of QTL detection by either fixed or random models in half-sib designs. Genetic Selection Evolution 37: 601-614.

38 . Kosambi DD (1944) The estimation of map distances from recombination values, Ann. Eugen. 12

39 . Lee SH and van der Werf JHJ (2004) The efficiency of designs for fine-mapping of quantitative trait loci using combined linkage

disequilibrium and linkage, Genet. Sel. Evol. 36: 145-161.

40 . Liu Y, Jansen GB and Lin CY (2002) The covariance between relatives conditional on genetic markers, Genet. Sel. Evol. 34: 657-678.

41 . Lund MS, Sørensen P, Guldbrandtsen B and Sorensen DA (2003) Multitrait fine mapping of quantitative trait loci using combined linkage disequilibria and linkage analysis, Genetics 163: 405-410.

42 . Luo ZW, Tao SH and Zeng Z-B (2000) Inferring linkage disequilibrium between a polymorphic marker locus and a trait locus in natural populations, Genetics 156: 457-467.

43 . Lynch M and Walsh B (1998) Genetics and analysis of quantitative traits, 1st edn. Sinauer, Associates Sunderland.

44 . Mackay TFC (2001) The genetic architecture of quantitative traits, Ann. Rev. Genet. 35; 303-339.

45 . McPeek MS and Strahs A (1999) Assessment of linkage disequilibrium by the decay of haplotype sharing, with application to fine-scale genetic mapping, Am. J. Hum. Genet. 65: 858-875.

46 . Meuwissen THE and Goddard ME (2000) Fine mapping quantitative trait loci using linkage disequilibria with closely linked marker loci, Genetics 155: 421-430.

47 . Meuwissen THE and Goddard ME (2001) Prediction of identity by descent probabilities from marker haplotypes, Genet. Sel. Evol. 33: 605-634.

48 . Meuwissen THE and Goddard ME (2004) Mapping multiple QTL using linkage disequilibrium and linkage analysis information and multitrait data, Genet. Sel. Evol. 36: 261-279.

49 . Ott J (1999) Analysis of human genetic linkage, 3rd ed. Johns Hopkins University Press, Baltimore.

50 . Pérez-Enciso M, Toro A, Tenenhaus M and Gianola D (2003) Combining gene expression and molecular marker information for mapping complex trait genes: a simulation study, Genetics 164: 1597-1606.

51 . Pong-Wong R, George AW, Woolliams JA and Haley CS (2001) A simple and rapidmethod for calculating identity-by-descent matrices using multiple markers, Genet. Sel. Evol. 33: 453-471.

52 . Riquet J, Coppieters W, Cambisano N, Arranz J-J, Berzi P, Davis SK, Grisart B, Fanir F, Karim L, Mni M, Simon P, Taylor JF, Vanmanshoven P, Wagenaar D, Womack JE and Georges M (1999) Fine mapping of quantitative trait loci by identity by descent in outbred populations: application to milk production in dairy cattle, Proc. Natl. Acad. Sci. 96: 9252-9257.

53 . Sax K (1923) Association of size differences with seed-coat pattern and pigmentation in Phaseolus vulgaris, Genetic 8: 552-560.

54 . Stephens M, Smith NJ and Donnelly P (2001) A new statistical method for haplotype reconstruction from population data, Am. J. Hum. Genet. 68: 978-989.

55 . Terwilliger JD (1995) A powerful likelihood method for the analysis of linkage disequilibrium between trait loci and one or more polymorphic loci, Am. J. Hum. Genet. 56: 777-787.

56 . Thaller G, Dempfle L and Hoeschele I (1996) Maximum likelihood analysis of rare binary traits under different modes of inheritance, Genetics 143: 1819-1829.

57 . Thompson EA (1994) Monte Carlo estimation of multilocus autozygosity probabilities, in: Proc. 1994 Interface Conference, SAS R, Cary, NC, pp. 498-506.

58 . Thompson EA and Heath SC (1999) Estimation of conditional multilocus gene identity among relatives. In: Seillier-Moseiwitch F., Donnelly P., Waterman M. (Eds.), Statistics in Molecular Biology, Springer-Verlag IMS lecture note series, New York.

59 . Uimari P, Thaller G and Hoeschele I (1996) The use of multiple markers in a Bayesian method for mapping quantitative trait loci, Genetics 143: 1831-1842.

60 . van Arendonk JAM, Tier B and Kinghorn BP (1994) Use of multiple genetic markers in prediction of breeding values, Genetics 137: 319-329.

61 . van der Beek S, van Arendonk JAM and Groen AF (1995) Power of two- and three-generation QTL mapping experiments in an outbred population containing full- sibs and half families, Theor. Appl. Genet. 91: 1115-1124.

62 . VanRaden PM and Wiggans GR (1991) Derivation, calculation, and use of national animal model information, J. Dairy Sci. 74: 2737-2746.

63 . Vignal A, Milan D, SanCristobal M and Eggen A (2002) A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics, Genet. Sel. Evol.34:275-305.

64 . Wang T, Fernando RL, van der Beek S, Grossman M and van Arendonk JAM (1995) Covariance between relatives for a marked quantitative trait locus, Theor. Appl. Genet. 27: 251-274.

65 . Weir BS (1996) Genetic data analysis II, 2nd edn., Sinauer, Sunderland.

66 . Weller JI (2001) Quantitative trait loci analysis in animals, CABI Publishing, CAB International.

67 . Xiong M and Guo S-W (1997) Fine-scale genetic mapping based on linkage disequilibrium: theory and applications, Am. J. Hum. Genet. 60: 1513-1531.

68 . Zeng ZB (1994) Theoretical basis for separation of multiple linked gene effects in mapping of quantitative trait loci, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 10972-10976.