مقالات علمی ترویجی

# مروری اجمالی بر محاسبه همخونی: از کلاسیک تا ژنومیک

**روناک صالحی[1*]، فرزاد غفوری[2]**
[1]دانشجوی دکتری تخصصی ژنتیک و اصلاح نژاد دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز
[2]دانشجوی دکتری تخصصی ژنتیک و اصلاح نژاد دام و طیور گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
*نویسنده مسئول: ronak.salchi71@gmail.com



## چکیده
تمرکز اصلاحگران بر صفات اقتصادی و افزایش تولید از طریق انتخاب ژنتیکی پیامدهای منفی همچون بروز همخونی را به دنبال خواهد داشت که نتیجهٔ آن پسروی ژنتیکی، افزایش ناهنجاری‌های ژنتیکی، حساسیت به بیماری‌ها و نهایتاً مرگ و میر خواهد بود. افزایش میزان همخونی در صنعت دامپروری به مسئله‌ای جدی تبدیل شده است، به گونه‌ای که محاسبه میزان آن، استفاده از نرم‌افزارهای جدید و ثابت نگاه داشتن میزان همخونی در حد بهینه در جمعیت، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. با استفاده از اطلاعات شجره، اطلاعات ژنوتیپی حاصل از نشانگرهای مولکولی و اخیراً ابرداده‌های حاصل از توالی‌یابی نسل آینده و فناوری اسنیپ چیپ، محاسبه همخونی در سطوح مختلف را امکان پذیر ساخته است که هر کدام مزایا و معایب قابل بحث و همچنین ساختار محاسباتی ویژه‌ای دارند. این روش‌ها باعث شده است که محاسبه همخونی دقیق‌تر و با صحت بالاتری صورت گیرد. پیدایش تکنولوژی‌های پیشرفته در ژنتیک مولکولی، منجر به شناسایی جزایر ROH در سطح کل ژنوم گونه‌های مختلف دامی شده است و به دنبال آن مطالعات گسترده‌ای در علوم دامی در این زمینه صورت گرفته است. با استفاده از این روش‌ها می‌توان سهم همخونی با منشأ اجدادی و اطلاعات ژنومیکی حاصل از تلاقی‌های صورت گرفته را طبقه‌بندی کرد. هدف اصلی در این مطالعه بیان مفهوم همخونی و علل بروز آن، اصول محاسباتی، تفسیر و پیشرفته‌های اخیر در زمینه محاسبه همخونی از روش‌های کلاسیک تا ژنومیک می‌باشد. ناگفته نماند که دستیابی به میزان همخونی در یک گله، پایان کار از دیدگاه اصلاح‌نژادی محسوب نمی‌شود، بلکه براساس ساختار و میزان همخونی در جمعیت، باید راهکارهای علمی و عملی مختلف جهت کاهش و اجتناب از همخونی بیشتر صورت پذیرد. با توجه به روش‌های محاسبه همخونی بررسی شده در این مطالعه، روش ROH بهترین و قوی‌ترین روش می‌باشد، زیرا در این روش می‌توان قطعات کوچک IBD را در محاسبه همخونی لحاظ کرد. در مقابل در روش‌های کلاسیک (شجره)، به دلیل کامل نبودن شجره‌های ثبت شده و اشتباهات موجود، دقت محاسبه همخونی پایین می‌باشد. در منابع مختلف علمی ضریب همبستگی بین FROH و FP، ۸۵-۵۰ درصد گزارش شده است.

**کلمات کلیدی:** همخونی، کلاسیک، ژنومیک، نشانگرهای DNA، جزایر ROH

## مقدمه
واژه همخونی (Inbreeding) به معنای آمیزش افراد خویشاوند است. در اصلاح دام همخونی از آمیزش دام‌هایی که درجه خویشاوندی آن‌ها نسبت به متوسط خویشاوندی داخل نژاد یا جامعه بالاتر است، حاصل می‌شود. دو حیوان زمانی خویشاوند هستند که در شجره خود حداقل دارای یک جد مشترک باشند. به عبارت دیگر می‌توان عنوان کرد دو حیوان که دارای جد مشترک هستند، ممکن است ژن‌هایی را دارا باشند که کپی یکسانی از ژن‌های به ارث رسیده از جد مشترک آن‌ها باشد. اگر این دو حیوان خویشاوند با هم آمیزش داده شوند، احتمال انتقال ژن‌های مشابه و یکسان به نتاج آن‌ها بالا خواهد بود. به این نوع آمیزش که در آن والدین با هم خویشاوند هستند، همخونی گفته می‌شود (لاش، ۱۹۴۵). معیار اندازه‌گیری همخونی، ضریب همخونی است. ضریب همخونی یک معیار برای اندازه‌گیری یا سنجش سطح همخونی فرد یا

افراد است و بیانگر میزان یا درصد آلل‌های مشابه در ژنوتیپ فرد یا افراد می‌باشد (ملکوت، ۱۹۶۹). اساس همخونی برآورد شده از اطلاعات شجره، احتمالات نمونه‌گیری مندلی است، در این حالت ضرایب همخونی برای تمامی برادران و خواهران تنی همیشه یکسان است. معمولاً در استفاده از اطلاعات شجره جهت محاسبهٔ ضریب همخونی، مقادیر ضریب همخونی برآورد شده پایین‌تر از مقادیر ضریب همخونی واقعی برآورد می‌شود. برآورد پایین‌تر از مقادیر واقعی ضریب همخونی بیشتر به علت ثبت ناقص اطلاعات شجره‌ای به خصوص برای نسل‌های دورتر می‌باشد (کِلِر و همکاران، ۲۰۱۱). مطالعات شبیه‌سازی نشان می‌دهد که با انجام انتخاب در جمعیت‌ها، میزان همخونی برآورد شده کمتر از مقدار ضریب همخونی واقعی خواهد بود؛ زیرا در برآورد ضریب همخونی از طریق اطلاعات جمعیت فرض بر این است که جایگاه مورد بررسی، یک جایگاه خنثی در رابطه با شایستگی است و دو آلل روی کروموزوم‌های هومولوگ شانس مساوی برای انتخاب شدن دارند. این در حالی است که برای یکسری از جایگاه‌ها، آلل‌های مختلف، اثرمتفاوتی بر ماهیت و عملکرد صفات تحت تأثیر انتخاب مصنوعی دارندبه گونه‌ای که منجر به انتخاب نامتعادل برای دو آلل در جایگاه مورد نظر خواهد شد. امروزه در کنار روش مبتنی بر شجره، تمایل به استفاده از روش‌های مبتنی بر اطلاعات ژنومی افزایش پیدا کرده است.

روش‌های مبتنی بر ژنوم محدودیت‌های روش مبتنی بر شجره را ندارند و برآورد آن‌ها به ضریب همخونی واقعی نزدیک‌تر است (فوراتان و همکاران، ۲۰۱۸). میزان همخونی و تاثیر افزایش آن بر عملکرد دام‌های اهلی از قبیل گاو، گوسفند و گاومیش مورد بررسی قرار گرفته است. بهینه‌ترین مقدار همخونی در دام‌ها ۶/۲۵ می‌باشد. در صورتی که مقدار همخونی پایین‌تر از بهینه‌ترین مقدار باشد، قابل چشم‌پوشی است؛ اما در صورتی که از مقدار بهینه بالاتر برود احتمال بروز نقایص ژنتیکی بیشتر خواهد شد (فالکونر و مک، ۱۹۹۶). همخونی به دلیل اثرات نامطلوب آن بر روی صفات مهم اقتصادی و وارایانس ژنتیک افزایشی، باید کنترل شود. لذا مطرح کردن همخونی از کلاسیک تا ژنومیک و بیان مزایا و معایب مقدار ضریب همخونی می‌تواند در اعمال برنامه‌های اصلاح نژادی و کنترل همخونی در طراحی آمیزش‌ها مفید واقع گردد.

## مزایا و معایب همخونی در جمعیت

### آثار منفی همخونی

۱- افزایش هموزیگوسیتی (خلوص ژنتیکی): مهمترین اثر همخونی افزایش هموزیگوسیتی یا افزایش فراوانی جفت ژن‌های مشابه می‌باشد. به عبارت دیگر افزایش هموزیگوسیتی به معنی افزایش تعداد جایگاه‌های هموزیگوت در دام‌های خویشاوند و همخون و در نتیجه افزایش فراوانی ژنوتیپ هموزیگوت در آن جامعه است (واگت و همکاران،۱۹۹۳). با توجه به اینکه در هر نسل نسبت به نسل گذشته درصدی از آلل‌های افراد به یک‌دیگر شبیه می‌شود، به تدریج جمعیت به سمت همانند شدن و افزایش خلوص ژنتیکی پیش می‌رود. از این حالت بیشتر برای خلوص نژادی و پرورش حیوانات خالص استفاده می‌گردد.

۲- کاهش هتروزیگوسیتی: همان طور که عنوان گردید، همخونی باعث افزایش هموزیگوتی یا افزایش فراوانی جفت ژن‌های مشابه می‌شود که در مقابل باعث کاهش هتروزیگوتی در ژنوتیپ‌ها می‌شود (فالکونر و مک، ۱۹۹۶). در ادامه، این پدیده موجب کاهش واریانس ژنتیکی در داخل جمعیت می‌شود، اما در صورتی که آمیزش خویشاوندی در بین جمعیت‌ها بررسی شود، منجر به افزایش واریانس ژنتیکی خواهد شد.

۳- افزایش بروز نقائص ژنتیکی: این اثر بیشتر از سایر آثار همخونی بروز می‌کند که عمدتاً به دلیل افزایش فراوانی نسبی ژنوتیپ‌های همزیگوت مغلوب رخ می‌دهد. اغلب آلل‌های مغلوب در جایگاه‌های هموزیگوت، کشنده هستند. همخونی باعث افزایش تعداد آلل‌های مغلوب در یک جمعیت نمی‌شود، بلکه تنها اثر آن‌ها را از طریق افزایش ژنوتیپ‌های هموزیگوت آشکار می‌کند (کسل، ۲۰۰۰).

۴- شاخص‌ترین پیامد همخونی، افت همخونی (Inbreeding depression) می‌باشد. کاهش میانگین عملکرد حیوانات همخون در مقایسه با میانگین عملکرد حیوانات غیرهمخون است که ناشی از افزایش هموزیگوسیتی در لوکوس‌ها است. در نتیجه برای صفاتی که ارتباط کمتری با شایستگی دارند، ارزش فنوتیپی تغییر نکرده و یا مقدار تغییر آن ناچیز است (بوردن، ۲۰۰۰).

### آثار مثبت همخونی

با وجود نتایج منفی گزارش شده از همخونی، استفاده از همخونی یک روش نسبتاً مفید در پرورش حیوانات می‌باشد. یکی از کاربردهای همخونی، ایجاد زمینه جهت

بـروز ژن‌هـای مغلـوب و نامطلـوب و در نتیجـه شناسـایی حیوانـات حامـل ژن‌هـای مغلـوب اتوزومـی نظیـر کوتولگـی در گاو می‌باشـد. همچنیـن چنانچـه هـدف پـرورش، ایجـاد سـویه‌ها یـا لاین‌هـای خالـص باشـد پـرورش خویشـاوندی و یـا همخونـی یـه صـورت فشـرده مـورد اسـتفاده قـرار می‌گیـرد. ایـن روش پـرورش بـه طـور موفقیت‌آمیـزی توسـط پرورش‌دهنـدگان گله‌هـای هسـته مـورد اسـتفاده قـرار گرفتـه اسـت. بـا تلاقـی بیـن لاین‌هـای همخـون می‌تـوان میـزان اثـر هتروزیـس را در نتـاج متولـد شـده افزایـش داد بـه گونـه‌ای که پرورش‌دهنـدگان مرغ‌هـای تخم‌گـذار از ایـن روش بـرای افزایش عملکرد تولید استفاده می‌کنند (مارتین، ۲۰۰۰).

عوامـل و منابـع ایجادکننـده مقـدار همخونـی در جمعیـت متفـاوت می‌باشـند. از مهمتریـن ایـن عوامـل می‌تـوان بـه تلاقـی بیـن تلاقـی بـرادر و خواهر تنـی، بـرادر و خواهـر ناتنی، تلاقـی بـک کـراس (تلاقـی فرزنـد بـا یکـی از والدیـن) و انتخاب غیرتصادفی اشاره کرد (مارتین، ۲۰۰۰).

دو راهـکار جهـت کاهـش میـزان همخونـی ارائـه شـده اسـت. اول، کنتـرل رابطـهٔ خویشـاوندی در آمیزش‌هـا و کاهـش co-selection در بیـن افـراد خویشـاوند اسـت و دوم، محاسـبه ضرایـب همخونـی بـا اسـتفاده از روش‌هـای ژنومیـک بـه جـای اسـتفاده از اطلاعـات شـجره بـه تنهایـی، در طراحـی سیستم‌های آمیزشی می‌باشد.

## روش‌های محاسبه همخونی

۱- استفاده از کاهش هتروزیگوسیتی

معادله (۱) $F = \frac{H_{.} - H}{H_{.}}$

در معادلـه (۱)، $H_{.}$ = میـزان هتروزیگوسـیتی جمعیت با آمیزش تصادفـی و H = میـزان هتروزیگوسـیتی جامعـه واقعـی، هستند

۲- محاسبه همخونی در جمعیت ایده ال

معادله (۲) $\Delta F = \frac{1}{2N_e}$

در معادلـه (۲)، $N_e$ = جامعـه‌ای کـه آمیـزش بیـن آن‌هـا کامـلاً تصادفی بوده و حیوانات غیرخویشاوند باشند.

۳- محاسبه ضریب همخونی با استفاده از روش مسیر

معادله (۳) $Fx = \sum_{A=1}^{K} \left(\frac{1}{2}\right)(1 + F)$

در معادله (۳)، $F_x$ ضریب همخونی حیوان X، $\left(\frac{1}{2}\right)$ بخشـی از ماده ژنتیکـی حیـوان کـه بـه نتـاج منتقـل می‌شـود و F ضریـب همخونی جد مشترک می‌باشد.

۴- محاسبه ضریب همخونی با استفاده از روش جدول

معادله (۴) $a_{xy} = \frac{1}{2}(a_{xc} + a_{xd})$

در معادله (۴)، $a_{xc}$ رابطه خویشاوندی پدر حیوان y با حیوان x و $a_{xd}$ رابطه خویشاوندی مادر حیوان y با حیوان x می‌باشد.

۵- محاسبه ضریب همخونی در جمعیت های بزرگ

بـرای بـرآورد ضرایـب همخونـی حیوانـات در جمعیت‌هـای بـزرگ الگوریتم‌هایـی ارائـه شـده اسـت کـه اسـاس کار آن‌هـا تشـکیل ماتریـس خویشـاوندی می‌باشـد. بـا معرفـی روش آمـاری بهتریـن پیش‌بینـی کننده‌های خطـی نااریـب (BLUP) و ارزیابـی ژنتیکـی در مقیـاس بـزرگ، امـکان محاسـبه ضرایـب همخونـی و خویشـاوندی بـا اسـتفاده از اطلاعـات شـجره‌ای بسـیار زیـاد حاصـل از داده‌هـای مزرعـه‌ای امکان‌پذیـر شـد. محاسـبه ضرایـب همخونـی بـا اسـتفاده از نتایـج آنالیـز داده‌هـا بـا اسـتفاده از مدل حیوانـی (Animal Model) می‌باشـد. مزیت اسـتفاده از روش BLUP در ارزیابـی ژنتیکـی در مقیاس بزرگ این اسـت کـه خویشـاوندی بیـن حیوانـات گله‌هـای مختلـف را در نظـر می‌گیـرد. یکـی از معایـب ایـن روش آن اسـت کـه محاسـبات واقعـی، تنهـا در زمـان دسترسـی بـه مجموعـه اطلاعـات مزرعـه‌ای قابـل اجـرا خواهـد بـود؛ بنابرایـن در ایـن نـوع از مدل‌هـا بایـد از تمامـی روابـط خویشـاوندی حیوانـات اسـتفاده کـرد کـه لازمـه آن وجـود شـجره کامـل حیوانـات اسـت. تعـداد محـدودی از متخصصـان اصلاح‌نـژاد دام از برنامـه نرم‌افـزاری مبتنـی بـر BLUP بـرای پیش‌بینـی ارزش اصلاحـی داخـل گلـه اسـتفاده می‌کننـد، ولـی بـا ایـن وجـود محاسـبه ضرایـب خویشـاوندی و همخونـی بـه ایـن طریـق نسـبت بـه استفاده از روش جدول بسیار آسان‌تر می‌باشد.

۶- نحوه محاسبه همخونی با استفاده از نشانگرهای DNA

در محاسـبه مقدار همخونی با اسـتفاده از نشانگرهای DNA فقط باندهـای مشـخص و برجسـته از روی ژل اندازه‌گیـری می‌شـوند و بـا توجـه بـه باندهـای مشـترک میـزان همخونـی محاسـبه می‌گردد.

معادله (۵) $BS = \frac{2\,Cab}{(Na+Nb)}$

در معادلـه (۵)، BS باندهـای برجسـته و Cab تعـداد باندهـای مشترک برجسته افراد a و b همچنین Na و Nb تعداد کل باندها برای افراد a و b است.

ضریـب همخونـی هـر نـژاد بـا اسـتفاده از معادلـه (۶) قابـل محاسبه‌می‌باشد.

معادله (۶) $U = \frac{1}{N}\sum_{i-1}^{N} vi$

کـه کاهنلیـن و همکاران (۱۹۹۰)، ضریب همخونی را با اسـتفاده از معادله (۷) محاسبه کردند (کاهنلین و همکاران، ۱۹۹۰).

معادله (۷) $F_x = \frac{(U - ۰.۴۱۷)}{۰.۵۶۶}$

در معادله (۶ و ۷)، U = رابطه خطی بین فراوانی باندها و متغیرها، N = تعداد باندهای متفاوت، Vi = فراوانی باند iام و $F_X$ = ضریب همخونی، هستند.

## اهمیت محاسبه و کنترل ضریب همخونی

همخونی در جمعیت باعث کاهش شایستگی، کاهش عملکرد حیوانات و کاهش واریانس ژنتیکی است و می توان گفت که مانعی برای پیشرفت بهتر برنامه‌های اصلاح‌نژادی محسوب می‌گردد. بنابراین با کنترل همخونی میزان پیشرفت ژنتیکی و آینده برنامه‌های اصلاح نژادی تضمین خواهد شد.

## محاسبه ضریب همخونی با استفاده از اطلاعات شجره

ریموند پرل در سری مقالات چاپ شده در سال‌های ۱۹۱۳ تا ۱۹۱۷ اولین تلاش‌ها برای اندازگیری میزان همخونی با استفاده از اطلاعات شجره ($F_{PED}$) را انجام داد. رایت (۱۹۲۲) تعریفی از همخونی روشی تحت عنوان روش برداری ارائه داد. در این روش شجره گسترده حیوانات به شکل برداری ترسیم می‌شود به گونه‌ای که مسیر انتقال ژن‌ها از والدین به فرزندان از طریق بردارها مشخص می‌گردد. اگرچه این روش از لحاظ محاسباتی ساده بود، اما تفسیر آن به ویژه برای افراد با شجره کامل و وسیع با دشواری همراه بود.

مالکو (۱۹۴۸) تعریف ساده‌تری از همخونی بر اساس احتمال تشابه با منشأ اجداد دو هاپلوتایپ را در یک جایگاه ژنی مطرح کرد. طبق تعریف او، ضریب همخونی برابر با احتمال IBD بودن دو هاپلوتایپ در یک نمونه تصادفی از جایگاه‌های ژنی است. در غیاب جهش و نوترکیبی، مفروض است که تمام جایگاه‌های ژنی مطابق یک الگوی نسبت شناسی یکسان تفرق می‌یابند، بنابراین انتظار بر این است که ضریب همخونی مشابهی داشته باشند. در این حالت میزان $F_{PED}$ برابر با متوسط و یا نسبتی از تشابه ژنومی (Genome-wide autozygosity) یک فرد است. برآورد همخونی بر پایه اطلاعات IBD، بر اساس جمعیت اجدادی که در آن تمام افراد با هم غیرخویشاوند هستند، محاسبه می‌شود. در هنگام محاسبه $F_{PED}$، افرادی که در شجره موجود نیستند، به عنوان غیرخویشاوند و حیوانات موجود در نسل صفر به عنوان جمعیت مرجع یا پایه در نظر گرفته می‌شوند.

## معایب محاسبه همخونی با استفاده از اطلاعات شجره

۱- تعداد کم نوترکیبی طی پدیده میوز و انتخاب در نظر گرفته نمی‌شود. به عنوان مثال در انسان ضریب $F_{PED}$، علی‌رغم وجود واریانس اتوزیگوتی مورد انتظار (برابر با $۵/۹۰ \times ۱۰^{-۴}$)، برای تمام نتاج حاصل از یک آمیزش پسرعمو-دخترعمو همیشه یکسان (برابر با $۶/۲۵ \times ۱۰^{-۲}$) است (کاروزر و همکاران، ۲۰۰۶). در واقعیت این واریانس با انجام هر میوز افزایش می‌یابد، به گونه‌ای که میزان واریانس اتوزیگوتی مورد انتظار در نتاج حاصل از دو عموزاده (Third-cousin) بیشتر از خود عموزاده‌ها است.

۲- جمعیت‌ها را غیرخویشاوند در نظر می‌گیرد.

۳- اشتباهات موجود در شجره قابل تفکیک شدن نیست.

۴- عمق شجره (نسل‌ها) حداقل باید ۷ نسل باشد و در صورتی که عمق پایین‌تر باشد، برآوردها دقیق نخواهد بود. زمان شروع ثبت شجره یک جمعیت بر میزان همخونی مؤثر است. در هر شجره هر چه میزان خویشاندان و اجداد بیشتر باشد، احتمال وجود حیوانات خویشاند افزایش یافته و در نتیجه میزان همخونی محاسبه شده افزایش می‌یابد. مهمترین عامل مؤثر بر صحت و دقت برآورد، میزان افت همخونی و کامل بودن شجره است. بنابراین مطالعات با معیار کامل بودن شجره بیشتر، برآوردهای صحیح‌تر و دقیق‌تری از افت همخونی دارند (وان رادن، ۲۰۱۶).

## محاسبه ضریب همخونی با استفاده از اطلاعات ژنومی

۱- ضریب همخونی به روش ماتریس خویشاوندی ژنومی (FGRM): این روش با استفاده از اطلاعات ژنومی برآورد می‌شود (وان رادن، ۲۰۰۸).

۲- ضریب همخونی به روش هموزایگوسیتی (FHOM): ضریب همخونی به عنوان درصد آلل‌های مشابه ناشی از وجود یک جد یا اجداد مشترک در ژنوتیپ افراد در نظر گرفته می‌شود، بنابراین ضریب همخونی بر پایهٔ میزان هموزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار برآورد می‌گردد (رایت، ۱۹۲۲).

۳- ضریب همخونی به روش همبستگی گامتی (FUNI): از دیگر روش‌های اندازه‌گیری ضریب همخونی با استفاده از داده‌های ژنومی روش همبستگی گامتی است (رایت، ۱۹۲۲).

۴- تخمین نرخ همخونی با استفاده از رشته‌های هموزیگوت نشانگرهای ژنتیکی (FROH): همخونی با استفاده از رشته‌های هموزیگوت نشانگرهای ژنتیکی ROH به عنوان رشته‌های

هموزیگوت به هم پیوسته از ژنوتیپ هر فرد گفته می‌شود که آن‌ها از هاپلوتایپ‌های یکسانی از والدین به فرزند انتقال یافته باشند (پورفیلد و همکاران، ۲۰۱۲).

پیشرفت‌های اولیه در استفاده از اطلاعات مولکولی به منظور برآورد همخونی و هتروزیگوسیتی چند جایگاهی برای افراد (MLH= Multi-locus heterozygosity) از تحقیقات تئوری در سطح جمعیت و برنامه‌های شبیه‌سازی رایانه‌ای در سطح فردی آغاز شد (کوریک و همکاران، ۲۰۱۴). کابالرو و تورو (۲۰۰۲) با الهام گرفتن از روش جدولی در محاسبه ضریب همخونی بر پایه اطلاعات شجره با استفاده از ماتریس روابط خویشاوندی افزایشی، ضریب همخونی مولکولی ($F_{Mi}$) را به صورت معادله (۸)، بر اساس شباهت‌های IBS محاسبه و معرفی کردند.

معادله (۸) $F_{Mi} = ۲f_{mii} - ۱$

در معادله (۸) $f_{mii}$ = تشابه خویشاوندی فرد با خود می‌باشد.

روش محاسبه $F_{Mi}$ ساده بوده و مقادیر محاسبه شده با استفاده از این رابطه برابر با بخشی از هموزیگوسیتی فرد است (ساورا و همکاران، ۲۰۱۳). ضریب $F_{Mi}$ همچنین برابر با (1-MLH) است و اساس تشکیل‌دهندهٔ ماتریس‌های متعدد برای محاسبه همخونی با استفاده از اطلاعات حاصل از تکنولوژی‌های مولکولی شامل ریزماهواره‌ها و همچنین اطلاعات مولکولی شامل چندشکلی‌های هم‌بارز را تشکیل می‌دهد. این ماتریس‌ها برای ارزیابی ژنتیکی جمعیت وحشی که در آن‌ها تشکیل ساختار شجره امکان پذیر نیست، بسیار مفید است. در روش‌های مولکولی، ضریب همخونی با استفاده از آماره های هتروزیگوسیتی چند جایگاهی ژنی محاسبه می‌شوند. متداول‌ترین این آماره‌ها به ترتیب عبارت‌اند از MLH (نسبت جایگاه‌های ژنی هتروزیگوت)، متوسط $d^2$ (میانگین توان دوم تفاوت بین تعداد واحد تکرار دو آلل در یک جایگاه ریزماهواره در طول ژنوم) و شباهت درونی (Internal relatedness) و یا به اختصار IR، است که به صورت معادله زیر تعریف می‌شود (آموس و همکاران، ۲۰۰۱).

معادله (۹) $IR = \frac{(2H - \sum h_i)}{(2L - \sum h_i)}$

در معادله (۹)، H = نمایانگر تعداد جایگاه ژنی هموزیگوت، L = تعداد کل جایگاه‌های ژنی و $h_i$ = فراوانی i امین آلل در هر ژنوتیپ، هستند.

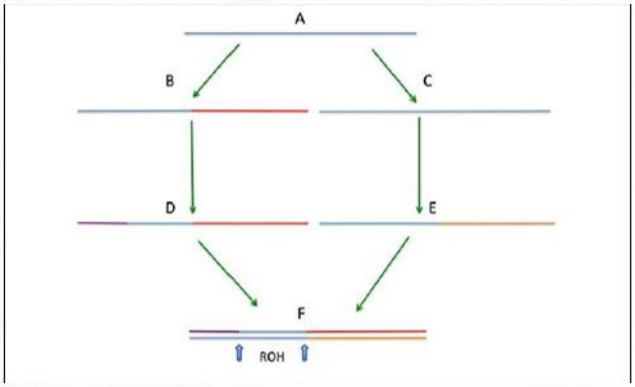
در سال‌های ۲۰۰۴ و ۲۰۰۵، برنامه‌های شبیه‌سازی رایانه‌ای و مطالعات صورت گرفته در سطح تئوری نشان داد که تعداد ریزماهواره‌ها (عموماً در دامنه ۱۵ تا ۵۰ نشانگر) متغیر هستند. به منظور تعیین میزان واقعی همخونی بسیار ناچیز بوده و این موضوع زنگ هشداری در استفاده از ماتریس‌های محاسبه همخونی بر پایه اطلاعات ریزماهواره‌ها بود. در حال حاضر اطلاعات حاصل از تراشه‌های متراکم و نیمه متراکم SNPها به طور همزمان در دسترس هستند و بنابراین علاقه‌مندی‌ها به سمت استفاده از نشانگر SNP برای برآورد هم‌خونی و MLH سوق یافته است.

## محاسبه ضریب هم‌خونی بر پایه اطلاعات ROH

برومن و وبر (۱۹۹۹) برای اولین بار قطعات هموزیگوت در طول ژنوم انسان را تشخیص دادند و بعدها این قطعات تحت عنوان ROH نامیده شد. شاید بتوان گفت که گیپسون و همکاران (۲۰۰۶)، اهمیت این قطعات را دریافتند و مطالعاتی بر روی تعداد، توزیع و طول این قطعات در پروژه HapMap انجام دادند.

لنز و همکاران (۲۰۰۷)، مطالعه برومن و وبر را تایید کردند و نشان دادند که این قطعه‌ها می‌توانند برای مکان‌یابی جایگاه‌های ژنی مرتبط با بیماری‌هایی همچون اسکیزوفرنی مورد استفاده قرار گیرند. این محققین برای اولین بار واژه ROH را برای این قطعات با طول بیشتر از ۱۰۰ SNP هموزیگوت پشت سرهم در یک کروموزوم معرفی کردند. مک کویلن و همکاران (۲۰۰۸) استفاده از قطعات ROH در ژنتیک جمعیت را با استفاده از ارزیابی جمعیت‌های اروپایی شامل مناطق ایزوله شده کرواسی (Croatia) و اسکاتلند (Scotland) نشان دادند.

این محققین ضریب همخونی ژنومی $F_{ROH}$ را شامل ۳ ضریب همخونی $F_{ROH\cdot/۵}$، $F_{ROH۱/۵}$ و $F_{ROH۵/.}$ به ترتیب بر اساس ROH با طول ۰/۵، ۱/۵ و ۵ Mb (Mega base Pair) تعریف نمودند. این محققین نشان دادند که ضریب $F_{ROH}$ با ضرایب $F_{PED}$ و MLH همبستگی در دامنه ۰/۷۴ تا ۰/۸۲ دارد. پس از این مطالعه، مفهوم ROH در حوزه ژنومی جمعیت و سرشماری (Demography)، پسروی ناشی از همخونی، ژن‌های مرتبط با بیماری‌ها و نوترکیبی مورد تحقیق و بررسی قرار گرفت. معیار ROH یکی از روش‌های مورد استفاده برای ارزیابی همخونی بر اساس نشانگرهای متراکم در سراسر ژنوم در یک جمعیت می‌باشد، به گونه‌ای که نشانگر طول‌های بهم پیوسته ژنوتیپ هموزیگوت انتقال یافته از والدین به فرزندان خود بوده است (شکل ۱).




شکل ۱- معیار ROH یکی از روش‌های مورد استفاده برای ارزیابی همخونی، که نشانگر طول‌های بهم پیوسته ژنوتیپ هموزیگوت انتقال یافته از والدین به فرزندان خود بوده است.

ROH با طول‌های بلند و کوتاه به ترتیب بیانگر همخونی های نسل کنونی و اجداد می‌باشد. این نکته نیز قابل ذکر هست که سه روش $F_{HOM}$، $F_{GRM}$ و $F_{UNI}$، برای برآورد همخونی به فراوانی آللی وابسته هستند. این روش‌ها منشأ خلوص ژنتیکی و تمایز بین آلل‌های هموزیگوت ناشی از تشابه ژنتیکی آلل‌ها به صورت تصادفی (IBS) و خویشاوندی ناشی از شجره (IBD) را در نظر نمی‌گیرد (بل لند و همکاران، ۲۰۱۳). لذا نرخ همخونی به دست آمده از روش‌های ذکر شده از صحت بسیار کمی برخوردار خواهد بود. در حالی که برآوردهای مبتنی بر ROH مستقیماً منعکس‌کننده سطح هموزیگوسیتی می‌باشد و تحت تأثیر فراوانی آللی قرار نمی‌گیرد. رافت و همکاران (۱۳۹۷) برآورد ضریب همخونی ژنومیک و اندازه مؤثر جمعیت در گوسفندان نژاد زندی را با استفاده از تراشه‌های متراکم نشانگر بررسی کردند. در این تحقیق ضریب همخونی محاسبه شده با استفاده از سه روش $F_{GRM}$، $F_{HOM}$ و $F_{UNI}$، مشابه و برابر ۰/۰۶۳ برآورد شد. علاوه بر این میزان همخونی در روش ROH برابر ۰/۰۵۳ بود. قریشی‌فر و همکاران (۲۰۱۹) معیار ROH را در گوسفندان نژاد زندی با استفاده از ۹۶ نمونه ژنوتیپ شده با Ovine SNP50 بررسی کردند، که مقدار گزارش شده ROH برابر با ۰/۰۲۳ است. مخبر و همکاران (۱۳۹۷) میزان نرخ افزایش همخونی با سه آمارهٔ $F_3$، $F_2$، $F_1$، به وسیله نرم‌افزار GCTA و نیز اطلاعات اندازه موثر جمعیت را نیز برآورد کردند. این میزان به عنوان معیاری از ضریب همخونی برای جمعیت گاومیش‌های آذری، خوزستانی و مازندرانی به ترتیب برابر ۰/۰۳۱، ۰/۰۴۴ و ۰/۰۶۵ گزارش گردید. همچنین میزان نرخ افزایش همخونی با استفاده از اطلاعات اندازهٔ مؤثر جمعیت برای گاومیش‌های آذری، خوزستانی و مازندرانی به ترتیب برابر ۰/۱، ۰/۲ و ۱/۳ برآورد گردید.

چید ندی و همکاران (۲۰۱۷) ضریب همخونی را بر اساس روش ROH در گوسفندان اسپانیایی چورا با استفاده از تراشه های با تراکم بالا مورد ارزیابی قرار دادند. میانگین ضریب همخونی را ۰/۴۲ گزارش کردند، به گونه‌ای که بیشترین و کمترین تعداد ROH را به ترتیب روی کروموزوم‌های ۲ و ۲۶ گزارش کردند.

سه نرم افزار اصلی برای شناسایی قطعات ROH در داده‌های SNP (Purcell et al. 2007) PLINK v1,07، (www.goldenhelix.com) SVS و CgaTOH می‌باشند.

قطعات ROH در مطالعات حیوانات اهلی در بسیاری از مطالعات استفاده داشته‌اند. سولکنر و همکاران (۲۰۱۰) و فرانکاکویک و همکاران (۲۰۱۳) اولین پژوهشگرانی بودند که مفهوم ROH را در جمعیت گاوی مطرح کردند. ضریب $F_{ROH}$ تفسیر بیولوژیک آسانی دارد و حتی می‌تواند برای یک یا چند کروموزوم و حتی بخشی از یک کروموزوم محاسبه شود. از دیگر مزایای $F_{ROH}$ این است که جمعیت مرجع مشخص است و بر اساس این فرضیه دو فرد خویشاوند و یا دو گامت تشکیل دهنده یک فرد با یکدیگر یکسری قطعات کروموزومی مشابه با فرض IBD را به اشتراک می‌گذارند. اگرچه تعیین جمعیت مرجع نسبتاً آسان است، اما تعیین تعداد نسل تا جد مشترک در جمعیت‌هایی با شجره پیچیده ساده نیست. در واقع این موضوع نیاز به ارزیابی توزیع، تعداد و طول هاپلوتایپ‌های IBD تحت تابع تعداد نسل تا جمعیت مرجع دارد.

## روش‌های کنترل همخونی

در شرایط استفاده از ارزیابی ژنومی هرچند نرخ همخونی در هر نسل به دلیل برآورد اثرات نمونه‌گیری مندلی کاهش می‌یابد، اما نرخ همخونی سالانه به دلیل کاهش فاصله نسل افزایش می‌یابد. همچنین در اثر انجام انتخاب ژنومی احتمال هموزیگوت شدن قطعات کروموزومی اطراف QTL در افراد انتخابی افزایش می‌یابد. کنترل همخونی در دو سطح جمعیتی و فردی می‌تواند صورت پذیرد (پریس و همکاران، ۲۰۱۲). به منظور ثابت نگه‌داشتن همخونی در سطح جمعیت توصیه می‌شود که نرخ همخونی جمعیت در یک سطح معین (مثلاً یک درصد به ازای نسل) محدود شود و سپس پیشرفت ژنتیکی در بلند مدت از طریق

بهترین سهم ژنتیکی حیوانات به حداکثر رسانده شود (مویسن و همکاران، ۱۹۹۷). روش بهترین سهم‌انتخاب در مقایسه با انتخاب براساس ارزش اصلاحی مورد انتظار در یک سطح معین همخونی، پیشرفت ژنتیکی بالاتری فراهم می‌کند. در این روش به جزئیات ارزش اصلاحی توجهی نمی‌شود و صرفاً مشارکت گاوهای نر را با هدف نگه‌داشتن یک سطح همخونی ایده‌آل جهت حداکثرکردن پیشرفت در نظر می‌گیرند. شایستگی مورد انتظار نتاج آینده و ضریب هم نسلی میان والدین انتخابی اجزای معمول در شاخصی (تابع اهداف) است که بایستی در بهترین مشارکت انتخابی بهینه شود. در این راستا از یک وزن منفی برای ضریب هم نسلی جهت کنترل همخونی در بلند مدت استفاده می‌شود. به منظور محاسبه همخونی و برآورد شایستگی ژنتیکی افراد جهت انتخاب افراد کاندیدا به عنوان والدین نسل آینده و همچنین تعیین آمیزش بین والدین، از ماتریس خویشاوندی شجره، ماتریس روابط ژنومی، احتمالات IBD قطعات کروموزومی و قطعات ROH می‌توان استفاده نمود (پریس و همکاران، ۲۰۱۲). استفاده از ماتریس ژنومی به جای ماتریس ارتباطات شجره در طراحی آمیزش موجب کاهش دو برابری در هموزیگوسیتی نتاج در مقایسه با آمیزش تصادفی می‌شود. به نظر می‌رسد استفاده از بهترین سهم ژنتیکی شجره‌ای، توانایی کمتری در محدود نمودن هم‌خونی در مکان‌هایی با QTL بزرگ اثر دارد. این در حالی است که بهترین سهم ژنومی منجر به افزایش یکنواخت IBD در طول ژنوم می‌شود. این موضوع برتری استفاده از ماتریس روابط ژنومی به جای شجره در کنترل هم‌خونی در برنامه انتخاب ژنومی را نشان می‌دهد. (پریس و همکاران، ۲۰۱۲). مقدار افزایش پیشرفت ژنتیکی در هنگام استفاده از اطلاعات ژنومی در بهترین سهم انتخاب برنامه‌های اصلاح‌نژادی به ساختار جمعیت بستگی دارد.

اطلاعات ROH دارای دیگر کاربردهای مهم در آینده خواهد بود. انتخاب ژنومی نه‌تنها می‌تواند تعداد ROH با اثرات مضر را افزایش دهد، بلکه می‌تواند تعداد ROH ها با اثرات مثبت بر صفات تحت انتخاب را نیز افزایش دهد. بنابراین مطلوب به نظر می‌رسد که بتوان اثرات مثبت و منفی قطعات ROH رایج در جمعیت را بر صفات تحت انتخاب بررسی نمود و از این اطلاعات به منظور اجرای دقیق‌تر برنامه‌های انتخاب و آمیزش در گاوهای شیری و همچنین یافتن جهش‌های سببی استفاده نمود. این در حالی است که افزایش میزان همخونی در صنعت دامپروری به مسئله و چالشی جدی مبدل گشته است. با توجه به اثرات نامطلوب همخونی در صفات اقتصادی و با توجه به اریب رو به پایین میزان همخونی محاسبه شده با استفاده از اطلاعات شجره‌ای نسبت به میزان واقعی حتی با وجود اطلاعات شجره کافی، راه‌اندازی و شروع ارزیابی‌های ژنومی در داخل کشور جهت در اختیار داشتن داده‌های ژنومی و محاسبه همخونی با استفاده از اطلاعات ROH مطلوب به نظر می‌رسد.

## نتیجه‌گیری کلی

به نظر می‌رسد در آرایه‌های SNP Chip با تراکم بالا، همبستگی بین میزان همخونی برآورد شده از طریق شجره و رشته‌های هموزیگوت ($F_{ROH}$) بالا می‌رود. این موضوع نشان می‌دهد که در زمان نبود شجره، روش ROH می‌تواند بهترین معیار برای برآورد همخونی باشد. بهترین کارایی این روش‌ها زمانی است که در نشانگرهای با تراکم بسیار بالا انجام شود. همچنین تأثیر برآورد روش‌های مختلف همخونی بر میزان صحت ارزش‌های ژنومیکی برآورد شده، مورد بررسی قرار گیرد، چون کلید اصلی در تمام انتخاب‌های اصلاح نژادی میزان صحت برآورد ارزش اصلاحی حیوانات است که با توجه به این میزان برآورد والدین نسل آینده انتخاب می شوند. با توجه به روش‌های محاسبه همخونی ذکر شده، روش ROH بهترین و قوی‌ترین روش می‌باشد؛ زیرا در این روش می‌توان قطعات کوچک IBD را در محاسبه همخونی لحاظ کرد. لذا با استفاده از روش‌های کلاسیک (شجره)، به دلیل کامل نبودن شجره‌های ثبت شده و اشتباهات موجود در آن‌ها دقت محاسبه همخونی کاهش می‌یابد. این در حالی است که در منابع مختلف علمی ضریب همبستگی بین $F_{ROH}$ و $F_P$، ۸۵-۵۰ درصد گزارش شده است.

## منابع


بحری بیناباج، ف. هادی فرجی، آ.رکوعی، م. جعفری، م. و شیخلو، م.ر. (۱۳۹۳). "برآورد میزان پسروی ناشی از همخونی بر صفات مرتبط با رشد بره‌های قره گل". نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان. ۴(۲): ۱۵۶-۱۳۷.

رافت، ع. محمدی، ه. مرادی شهر بابک، ح. شجاع، ج. و مرادی شهر بابک، ح. (۱۳۹۷). "برآورد ضریب همخونی ژنومیکی و اندازه موثر جمعیت در گوسفندان نژاد زندی با استفاده از تراشه‌های متراکم‌نشانگری". نشریه‌علوم‌دامی.شماره۱۱۹:۱۲۹-۱۴۲.

مخبـر، م. مـرادی شـهر بابـک، م. مـرادی شـهر بابـک، ح. و ویلیامـز، ج. (۱۳۹۷). "بـرآورد ضرایب همخونی در جمعیت‌های گاومیش ایران با اسـتفاده از داده‌های ژنومی". هشـتمین کنگره علوم دامی ایران. ص:۴-۱.

Amos, W., J.W. Wilmer, K. Fullard, T. Burg, J. Croxall, D. Bloch, and T. Coulson. (2001). The influence of parental relatedness on reproductive success. In Proceedings of the Royal Society of London B: *Biological Science.* 268(1480): 2021-2027.

Bjelland, D.W., K.A. Weigel, N. Vukasinovic, and J.D. Nkrumah. (2013). Evaluation of inbreeding depression in Holstein cattle using whole-genome SNP markers and alternative measures of genomic inbreeding. *J. Dairy Sci.* 96(7):4697-706.

Bourdon R.M. (2000). Understanding animal breeding. 2th edition. Prentice Hall. *Inc.New* Jersey U.S.A. 538pp.

Carothers, A.D., I. Rudan, I. Kolcic, O. Polasek, C. Hayward, A.F. Wright, H. Campbell, P.Teague, N. Hastie, and J.L. Weber. (2006). Estimating human inbreeding coefficients: comparison of genealogical and marker heterozygosity approaches. Ann. Hum. *Genet.* 70(5): 666-676.

Cassel B.G. (2000). Inbreeding. http://www.ext.vt.edu/pubs/dairy/404-080/404-80-

Chitneedi, P. K., Arranz, J. J., Suarez-Vega, A., García-Gámez, E., and Gutiérrez-Gil, B. (2017). Estimations of linkage disequilibrium, effective population size and ROH-based inbreeding coefficients in Spanish Churra sheep using imputed high-density SNP genotypes. *Animal Genetics*, 48(4), 436-446.

Curik, I., M. Ferenčaković, and J. Sölkner. (2014). Inbreeding and runs of homozygosity: A possible solution to an old problem. *Lives. Sci.* 166: 26-34.

Falconer D.S. and Mackay T.F.C. (1996). Introduction to Quantitative Genetics. *4th Ed.Longman Group LTD. Harlow Essex UK.*

Ferenčaković, M., J. Sölkner, and I. Curik. (2013). Estimating autozygosity from high-throughput information: effects of SNP density and genotyping errors. *Genet. Sel. Evol.* 45(1): 42.

Forutan, M., Ansari-Mahyari, S., Baes, C., Melzer, N. Schenkel, F.S. and Sargolzaei, M. (2018). Inbreeding and runs of homozygosity before and after genomic selection in North American Holstein cattle. *BMC Genomics.*19:98

Ghoreishifar, S. M., Moradi-Shahrbabak, H., Parna, N., Davoudi, P., and Khansefid, M. (2019). Linkage disequilibrium and within-breed genetic diversity in Iranian Zandi sheep. Archives *Animal Breeding*, 62(1), 143-151.

Gibson, J., Morton, N. E., and Collins, A. (2006). Extended tracts of homozygosity in outbred human populations. *Human Molecular Genetics*, 15(5), 789-795.

Illumina. (2011). Quality scores for next-generation sequencing. Retrieved from: http://www.illumina.com/documents/products/technotes/technote_Q-Scores.pdf

Keller, M.C., Visscher, P.M., and Goddard, M.E. (2011). Quantification of inbreeding due to distant ancestors and its detection using dense single nucleotide polymorphism data. *Genetics.* 189(1), 237-249.

Kuhnlein, U., Zadworny, D., Dawe, Y., Fairfull, R. W., and Gavora, J. S. (1990). Assessment of inbreeding by DNA fingerprinting: development of a calibration curve using defined strains of chickens. *Genetics*, 125(1), 161-165.

Lencz, T., C. Lambert, P. DeRosse, K.E. Burdick, T.V. Morgan, J.M. Kane, R. Kucherlapati, and A.K. Malhotra. (2007). Runs of homozygosity reveal highly penetrant recessive loci in schizophrenia. *In Proceedings of the National Academy of Sciences.* 104(50): 19942-19947.

Lush, J.L. (1945). Animal breeding plans. 3rd ed. *Iowa State University Press Iowa.*

Malécot, G., and D.M. Yermanos. (1969). The mathematics of heredity. *Freeman, San Francisco.*

Martin, L.C. (2000). Simple genetics.From: http://studbook.co.za/blup/inbreed.html.

McQuillan, R., A.-L. Leutenegger, R. Abdel-Rahman, C.S. Franklin, M. Pericic, L. Barac-Lauc, N. Smolej-Narancic, B. Janicijevic, O. Polasek, and A. Tenesa. (2008). Runs of homozygosity in European populations. Am. J. Hum. *Genet.* 83(3): 359-372

Meuwissen, T.H. (1997). Maximizing the response of selection with a predefined rate of inbreeding. *J. Anim. Sci.* 75(4): 934-40.

Pryce, J.E., B.J. Hayes, and M.E. Goddard. (2012). Novel strategies to minimize progeny inbreeding while maximizing genetic gain using genomic information. *J. Dairy Sci.* 95(1): 377-88.

Purfield, D.C., D.P. Berry, S. McParland, and D.G. Bradley. (2012). Runs of homozygosity and population history in cattle. *BMC Genet.* 13(1): 70.

Saura, M., Fernández, A., Rodríguez, M. C., Toro, M. A., Barragán, C., Fernández, A. I., and Villanueva, B. (2013). Genome-wide estimates of coancestry and inbreeding in a closed herd of ancient Iberian pigs. *PLoS One*, 8(10), e78314.

Sölkner, J., M. Ferencakovic, B. Gredler, and I. Curik. (2010). Genomic metrics of individual autozygosity, applied to a cattle population. *In 61st Annual Meeting of the European Association of Animal Production.*

VanRaden, P.M. (2008). Efficient methods to compute genomic predictions. *J. Dairy Sci.* 91(11): 4414-23.

Vogt D. Swarts H.A. and Massey J. (1993). Inbreeding: It's meaning Uses and effects on farm animals. http://www.muextension .missouri.edu/.

Wright, S. (1922). Coefficients of inbreeding and relationship. *Amer. Nat.* 56(645): 330-338.

# An Overview of Computing Inbreeding: From Classical to Genomic

**Ronak Salehi[1]*, Farzad Ghafouri[2]**

[1] Ph.D. Student of Animal Breeding and Genetics, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture at University of Tabriz.

[2] Ph.D. Student of Animal and Poultry Breeding & Genetics, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources at University of Tehran.

***Corresponding Author E-mail:** ronak.salehi71@gmail.com



## Abstract

The focus of the breeders on economic traits and increased production through genetic selection will have negative consequences such as inbreeding, resulting in genetic recurrence, increased genetic abnormalities, susceptibility to disease and ultimately mortality. Increasing the amount of inbreeding in the livestock industry has become a serious issue, so it is important to calculate the amount, use of new software and keep the inbreeding rate optimum in the population. Using pedigree information, genotypic information from molecular markers and, more recently, metadata from next-generation sequencing and SNP-Chip technology, it has been possible to calculate inbreeding at different levels, each having its own disadvantages and disadvantages as well as its own computational structure. These methods have made the calculation of inbreeding more accurate. Recent advances in molecular genetics have led to the identification of the ROH Islets at the whole genome level of various animal species, followed by extensive studies in the animal sciences. These methods can classify the inbreeding rate of the ancestors and the genomic information obtained from the crosses. The main purpose of this study is to describe the concept of inbreeding and its causes, computational principles, recent advances in computational inference from classical to genomic methods. It goes without saying that achieving inbreeding is not an end of the breed from a eugenics perspective, but rather on the structure and extent of inbreeding in the population, different scientific and practical approaches must be taken to reduce and avoid further inbreeding. According to the inbreeding calculation methods studied in this study, the ROH method is the best and most powerful one because it can be considered small parts of IBD in inbreeding calculation. Conversely, in classical (pedigree) methods, the accuracy of inbreeding calculation is low because of incomplete registered pedigrees and errors. In various scientific sources, the correlation coefficient between FROH and FP is reported to be 50-85%.

**Keyword(s):** Inbreeding, Classical, Genomic, DNA Markers, ROH Islets.