مجله علوم دامی ایران
دوره ۴۴، شماره ۱، ۱۳۹۲ (۶۰-۵۳)

مطالعه اثر استفاده از نشانگرهای متراکم نزدیک به مکانهای مشخص ژنهای موثر بر صفات بر صحت ارزیابی ژنومیک

آزاده بوستان[1*]، اردشیر نجاتی جوارمی[2]، محمد مرادی شهربابک[3] و مهدی ساعتچی[4]
۱، ۲، ۳ و ۴ دانشجوی دکتری، دانشیار ، استاد و دانش آموخته پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
(تاریخ دریافت: ۹۰/۴/۲۲ – تاریخ تصویب: ۹۰/۱۲/۱۰)

چکیده

در این تحقیق تاثیر تخمین ارزشهای اصلاحی ژنومیک با استفاده از نشانگرهای نزدیک به ژنهای موثر بر صفت در مقایسه با استفاده از نشانگرهای قرارگرفته بر روی همه قسمتهای ژنوم و همچنین اثر تغییر تعداد افراد گروه مرجع بر صحت ارزیابی ژنتیکی مورد بررسی قرار گرفت. برای ارزیابی ژنومیک از روش BLUP استفاده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از نشانگرهایی که نزدیک به ژنهای موثر بر صفات هستند و افزایش تعداد افراد گروه مرجع، صحت تخمین ارزشهای اصلاحی را افزایش می دهد. استفاده از فنوتیپ افراد گروه مرجع نسبت به استفاده از ارزش اصلاحی آنها، باعث افزایش تفاوت صحت برآورد ارزشهای اصلاحی با استفاده از نشانگرهای نزدیک به ژنهای موثر بر صفت در مقایسه با استفاده از کل نشانگرهای ژنوم می شود. همچنین افزایش تعداد نسل بین گروه مرجع و گروه تایید باعث کاهش صحت برآورد ارزشهای اصلاحی می شود.

واژه های کلیدی: گروه مرجع، گروه تایید، ارزش اصلاحی ژنومیک

مقدمه

در صنعت گاو شیری انتخاب گاوهای برتر به عنوان والدین نسل بعد برای افزایش پیشرفت ژنتیکی حائز اهمیت زیادی می باشد. در دهه های اخیر پیشرفتهای ژنتیکی قابل توجهی در صفات کمی با انتخاب بر اساس اطلاعات فنوتیپی و شجره ای و با روش BLUP[1] و کاربرد مدل های حیوانی حاصل شده است. با این وجود سرعت پیشرفت ژنتیکی به دلیل صرف زمان زیاد در جمع آوری اطلاعات فنوتیپی برای برخی از صفات آهسته بوده است. انتظار می رفت که شیوه انتخاب به کمک نشانگرها (MAS[2]) پیشرفت ژنتیکی را در مقایسه با برنامه های اصلاح نژادی مبتنی بر اطلاعات فنوتیپی و شجره ای بهبود بخشد و یا باعث کاهش هزینه آزمون نتاج شود. به این ترتیب که با انتخاب گاوهای نر قبل از آزمون نتاج برای برتری در بعضی مکانهای ژنی مشخص، تعداد گاوهای نری که نیاز به آزمون نتاج دارند، کاهش پیدا کند (البته نشان داده شده است که این شیوه برای صفاتی که محدود به جنس هستند، در سنین بالا بروز پیدا می کنند، وراثت پذیری پائین دارند و یا هزینه رکوردگیری آنها بالاست، می تواند موثر باشد). از مشکلاتی که در مورد انتخاب به کمک نشانگرهای پیوسته با ژن (MAS) مطرح است، سهم محدودی از واریانس ژنتیکی است که توسط این نشانگرها آشکار می شود. در ضمن به دلیل پایین بودن میزان عدم تعادل پیوستگی، در بیشتر موارد نیاز به تعیین فاز پیوستگی در

1. Best Linear Unbiased Prediction
2. Marker Assisted Selection

* نویسنده مسئول: آزاده بوستان تلفن: ۰۲۶۳۴۳۳۵۳۰۶ E-mail: boustan_62@yahoo.com

هر خانواده داریم که عملی بودن این روش را محـدود می سازد. یک روش جایگزین، غربالگری همه QTL[1] ها می باشد. در این روش کروموزوم بر اساس نشانگرهای بسیار متراکم به قطعاتی کوچک (یک سانتی مورگان یا کمتر) تقسیم می شود و سپس توسط این نشانگرها اثرات هر قطعه برآورد می شود. Meuwissen et al. (2001) این روش را انتخاب ژنومیک (GS^2) نامیدند. این محققین در یک مطالعه شبیه سازی مراحل آنالیز ارزیابی ژنومیک را در صورت وجود نقشه های نشانگری با تراکم بالا، ارائه داده و نشان دادند که انتخاب ژنومیک باعث تحول اساسی در اصلاح نژاد حیوانات خواهد شد. در این تحقیق روشهای آماری حداقل مربعات، BLUP و بیزی[3] برای تخمین آثار هر جفت هاپلوتیپ به طور همزمان در یک ژنوم ۱۰ مورگانی و در شرایطی که QTL ها به طور یکنواخت در ژنوم قرار داشته باشند، مورد استفاده قرار گرفتند. ارزش اصلاحی واقعی، مجموع آثار QTL ها بود. نشانگرها در فواصل یک سانتی مورگانی در طول ژنوم قرار داشتند. اثر هاپلوتیپ های نشانگری برای هر فاصله تخمین زده می شد، سپس با استفاده از ژنوتیپ حیوانات و آثار هاپلوتیپی برای هر حیوان یک ارزش اصلاحی تخمین زده می شد و این ارزش اصلاحی به عنوان ارزش اصلاحی ژنومیک نامیده می شد. در این مطالعه همبستگی ارزش اصلاحی واقعی و برآورد ارزش اصلاحی ژنومیک، تا ۰/۸۵ تخمین زده شد. در مطالعه شبیه سازی که که توسط (2007) Kolbehdari et al. صورت گرفت، ارزش اصلاحی حیوانات برای صفات با وراثت پذیری های مختلف و QTL هایی که به طور تصادفی و یا یکنواخت در ژنوم قرار گرفته بودند، به دست آمد و همبستگی بین ارزشهای اصلاحی واقعی و ارزش اصلاحی ژنومیک حدود ۰/۸ برآورد شد. به طور کلی انقلاب ژنومیک با دو پیشرفت آغاز شد. اولین پیشرفت، کشف هزاران نشانگر در شکل چند شکلی تک نوکلئوتیدی[4](SNP) و همزمان با آن کاهش قابل توجه هزینه های تعیین ژنوتیپ بود.

1. Quantitative Trait Loci
2. Genomic Selection
3. Bayesian
4. Single Nucleotide Polymorphism

دومین پیشرفت، ارائه روشهای ارزیابی برای به دست آوردن ارزشهای اصلاحی با استفاده از این نشانگرها بود. Schaeffer (2006) نشان داد که انتخاب ژنومیک می تواند منجر به حداقل دو برابر شدن نرخ پیشرفت ژنتیکی و همچنین صرفه جویی ۹۲ درصد از هزینه ها به دلیل تعیین ارزش های اصلاحی در بدو تولد و به دنبال آن کاهش فاصله نسل شود، همچنین مزایای انتخاب ژنومیک بسیار زیاد است و هر کشوری که زودتر از سایرین، این راهکار را بپذیرد، می تواند در عرصه بین المللی اصلاح نژاد گاو شیری پیشتاز باشد.

از عوامل موثر بر صحت برآورد ارزشهای اصلاحی ژنومیک، می توان به تراکم نشانگرها، روش برآورد اثر نشانگرها، تعداد نسل، تعداد افراد موجود در گروه مرجع (نسلی که با استفاده از رکوردهای فنوتیپی و ژنوتیپی آنها اثرات نشانگرها برآورد شده است) و وراثت پذیری صفت مورد نظر اشاره کرد. Calus et al. (2008) در یک مطالعه شبیه سازی ۵ تراکم نشانگری مختلف (۱۱۹ تا ۲۳۴۳ نشانگر SNP در یک ژنوم ۳ مورگانی) را مورد ارزیابی قرار داده و نشان دادند که هر چه تراکم نشانگری بالاتر باشد، صحت برآورد ارزشهای ژنومیک بیشتر خواهد بود. از جمله موانعی که در راه استفاده گسترده از ارزیابی ژنومیک در گاوهای نر و جایگزینی کامل آن بجای آزمون نتاج مطرح است، کافی نبودن صحت برآورد ارزشهای اصلاحی با استفاده از داده های واقعی و با استفاده از نشانگرهای موجود در کل ژنوم، در مقایسه با آزمون نتاج می باشد. از موانع دیگر بویژه در مورد استفاده گسترده از ارزیابی ژنومیک در جمعیت ماده، هزینه بالای تعیین ژنوتیپ حیوانات می باشد. کاهش تعداد نشانگرهای لازم برای ارزیابی ژنومیک و به عبارتی تنها استفاده از نشانگرهایی که در محدوده مکانی ژنهای مهم تاثیر گذار بر صفات قرار دارند، می تواند راه حل مناسبی برای این محدودیت ها باشد. تا به حال مطالعات زیادی برای تعیین مکان ژنهای موثر بر صفات مختلف در گاو شیری انجام شده است. به عنوان مثال در مورد صفات تولیدی، Heyen et al. (1999) با غربالگری ژنوم[5] نشان دادند که ژنهای موثر بر تولید شیر

5. Genome Scan

روی ۷ کروموزوم (کروموزوم های ۱، ۲، ۳، ۵، ۷،۱۴ و۲۹) واقع شده اند. Ashwell et al. (2004) با غربالگری ژنوم نشان دادندکه مهمترین ژنهای تاثیر گذار بر صفت تولید شیر بر روی کروموزومهای ۳، ۶، ۱۴و ۲۰ قرار دارند. در مطالعات شبیه سازی نشان داده شده است که تعیین مکان احتمالی همه QTL های بزرگ موثر بر صفات با استفاده از روش های بیزی و نشانگرهای متراکم SNP امکان پذیر می باشد (Han & Xu, 2010; Meuwissen et al., 2001). در این تحقیق تاثیر برآورد ارزشهای اصلاحی ژنومیک با استفاده از نشانگرهای واقع در محدوده ژنهای موثر بر صفت مورد ارزیابی، در مقایسه با استفاده از نشانگرهایی در سر تا سر ژنوم، بر صحت ارزیابی ژنتیکی مورد بررسی قرار خواهد گرفت. همچنین تاثیر استفاده از تعداد نسل متفاوت برای برآورد اثرات نشانگرها و نیز تاثیر دور شدن نسلی که در آن ارزشهای اصلاحی ژنومیک برآورد می شود (گروه تایید) از نسلی که در آن اثرات نشانگرها برآورد شده است (گروه مرجع) بر صحت ارزیابی ژنتیکی مورد بررسی قرار می گیرد، علاوه بر این تاثیر استفاده از فنوتیپ و ارزش اصلاحی گروه مرجع بر نتایج مورد انتظار، مقایسه خواهد شد.

مواد و روش ها

جمعیت مورد نیاز از طریق شبیه سازی تصادفی و با استفاده از محیط برنامه نویسی ویژوال بیسیک ۶[1] طراحی گردید. از آنجا که انتخاب ژنومیک از عدم تعادل پیوستگی بین نشانگرها و QTL ها بهره می گیرد، برای ایجاد عدم تعادل پیوستگی جمعیتی با اندازه موثر ۱۰۰ فرد (۵۰ نر و ۵۰ ماده) و با ۵۰ نسل آمیزش تصادفی شبیه سازی گردید.

برای اندازه گیری میزان عدم تعادل پیوستگی از معیار r^2 استفاده شد. این معیار از صفر برای جفت مکانهایی که در تعادل پیوستگی هستند تا یک برای جفت مکانهایی که در عدم تعادل پیوستگی کامل هستند، متفاوت است. اگر A_1 و A_2 آللهای جایگاه اول و B_1 و B_2 آللهای جایگاه دوم باشند، فرمول محاسبه این معیار به صورت زیر می باشد (Hill & Robertson, 1968):

$$r^2 = D^2 / (\text{فراوانی } (A_1) \times \text{فراوانی } (A_2) \times \text{فراوانی } (B_1) \times \text{فراوانی } (B_2))$$

$$D = \text{فراوانی } (A_1\text{-}B_1) \times \text{فراوانی } (A_2\text{-}B_2) - \text{فراوانی } (A_1\text{-}B_2) \times \text{فراوانی } (A_2\text{-}B_1)$$

پس از گذشت ۵۰ نسل، اندازه جمعیت به ۲۵۰ فرد افزایش یافت و بعد از آن ۵ نسل دیگر آمیزش تصادفی شبیه سازی شد و ژنوتیپ افراد و رکوردهای فنوتیپی برای هر نسل ثبت شد. تعداد کروموزومها سه عدد و طول هر کروموزوم ۱۰۰ سانتی مورگان در نظر گرفته شد. نشانگرهای SNP با فواصل ۰/۱ سانتی مورگان (۱۰۰۰ SNP روی هر کروموزوم) شبیه سازی شد. ۵۰ QTL بر روی کروموزوم ها شبیه سازی شد. از آنجا که صفات تولیدی مهم دارای وراثت پذیری متوسط می باشند، وراثت پذیری صفت مورد نظر در این تحقیق ۰/۳ در نظر گرفته شد، همینطور فرض شد که تمام واریانس ژنتیکی مربوط به QTL ها باشد. اثرات QTL ها از یک توزیع نرمال با میانگین صفر و واریانس ۱۰۰ گرفته شد (بنابراین برخی از QTL ها به طور تصادفی اثر کوچک و برخی اثر بزرگ داشتند). با فرض وراثت پذیری ۰/۳ (و با فرض عدم وجود کواریانس بین عوامل ژنتیکی و غیر ژنتیکی)، اثرات غیر ژنتیکی نیز از یک توزیع نرمال با میانگین صفر و واریانس ۲۳۳/۳۳ گرفته شد. دو حالت برای QTL ها در نظر گرفته شد. در حالت اول همه QTL ها روی یک کروموزوم و در حالت دوم بر روی دو کروموزوم در نظر گرفته شدند. به عبارت دیگر در حالت اول QTL ها بر روی یک سوم ژنوم و در حالت دوم بر روی دو سوم ژنوم شبیه سازی شده فرض شدند. این دو نحوه قرار گرفتن QTL ها روی ژنوم شبیه سازی شده، امکان مقایسه صحت انتخاب ژنومیک را بدون در نظر گرفتن محدوده قرار گرفتن QTL ها با استفاده از تمام نشانگرهای موجود در سطح ژنوم شبیه سازی شده و همچنین با در نظر گرفتن محدوده قرار گرفتن QTL ها با استفاده از نشانگرهای واقع در محدوده QTL ها، فراهم می کند. نکته قابل ذکر این است که در حالت اول فاصله QTL های روی کروموزوم و در حالت دوم تعداد QTL های واقع بر روی هر کروموزوم و فاصله QTL ها بر روی هر کروموزوم، به طور تصادفی توسط برنامه مشخص می شد.

1. Microsoft Visual Basic 6

انتخاب ژنومیک دارای دو مرحله می باشد:

۱) برآورد اثر قطعه های کروموزومی در گروه مرجع که در این مرحله باید ژنوتیپ و فنوتیپ یا ارزشهای اصلاحی افراد برای صفات مختلف موجود باشد. چنانچه ارزشهای اصلاحی گروه مرجع (جمعیتی که از روی رکوردهای افراد موجود در آن اثرات نشانگرها برآورد می شود) در دسترس باشد، اثرات نشانگرها با صحت بیشتری برآورد می شود و در نتیجه ارزشهای اصلاحی گروه تایید (جمعیتی که رکوردهای فنوتیپی یا ارزش اصلاحی آنها موجود نیست و تنها ژنوتیپ نشانگرهای مختلف برای افراد آن در دسترس می باشد) با صحت بیشتری برآورد می شود. در تحقیق حاضر رکوردهای فنوتیپی و ژنوتیپ افراد مرجع شبیه سازی شده و مورد استفاده قرار گرفت.

۲) پیش بینی ارزش اصلاحی برای حیواناتی که در گروه مرجع نیستند (به عنوان مثال دامهایی که تازه متولد شده اند و کاندیدای انتخاب برای نسل بعد هستند). در این مرحله تنها ژنوتیپ افراد مورد نیاز است. برآورد ارزش اصلاحی ژنومیک از جمع اثرات قطعات کروموزومی مختلف و بر اساس ژنوتیپ حیوان به دست می آید.

نمایش ماتریسی مدل آماری به کار رفته در این تحقیق برای برآورد اثرات نشانگرها به روش BLUP به صورت زیر می باشد:

$$\begin{bmatrix} \mathbf{1}_n'\mathbf{1} & \mathbf{1}_n'\mathbf{X} \\ \mathbf{X}'\mathbf{1}_n & \mathbf{X}'\mathbf{X}+\mathbf{I}\lambda \end{bmatrix}\begin{bmatrix} \hat{\mu} \\ \hat{\mathbf{g}} \end{bmatrix}=\begin{bmatrix} \mathbf{1}_n'\mathbf{y} \\ \mathbf{X}'\mathbf{y} \end{bmatrix}$$

$$\begin{bmatrix} \hat{\mu} \\ \hat{\mathbf{g}} \end{bmatrix}=\begin{bmatrix} \mathbf{1}_n'\mathbf{1} & \mathbf{1}_n'\mathbf{X} \\ \mathbf{X}'\mathbf{1}_n & \mathbf{X}'\mathbf{X}+\mathbf{I}\lambda \end{bmatrix}^{-1}\begin{bmatrix} \mathbf{1}_n'\mathbf{y} \\ \mathbf{X}'\mathbf{y} \end{bmatrix}$$

که در آن 1 بردار واحد، μ میانگین جامعه، $\hat{\mathbf{g}}$ بردار اثرات برآورد شده نشانگرها، n تعداد نشانگرها، $\mathbf{X}$ماتریس ضرایب ارتباط دهنده ژنوتیپ افراد به نشانگرها، $\mathbf{y}$ بردار رکوردهای فنوتیپی یا ارزشهای اصلاحی برای صفت مورد نظر و λ نسبت واریانس ژنتیکی به واریانس خطا ($\frac{\sigma_e^2}{\sigma_g^2}$) می باشد.

در این تحقیق با استفاده از ژنوتیپها و نیز رکوردهای فنوتیپی و ارزشهای اصلاحی شبیه سازی شده و به روش BLUP اثر هر یک از نشانگرهای SNP برآوردگردید. Khansefid (2010) ارزشهای اصلاحی کلاسیک افراد گروه مرجع را با استفاده از قابلیت اطمینان ارزشهای اصلاحی مربوط به یک شرکت عمده اصلاح نژاد گاو شیری در طی سالهای ۲۰۰۴ تا ۲۰۰۷ محاسبه کرد. در تحقیق حاضر از صحت برآورد های تحقیق مذکور استفاده شد. به این ترتیب برای صفت با وراثت پذیری ۰/۳ صحت ارزشهای اصلاحی در جمعیت نر در افراد نسل ۱ تا ۵ به ترتیب ۰/۹۳، ۰/۸۶، ۰/۷۵، ۰/۷۰ و ۰/۵۵ و در جمعیت ماده به ترتیب ۰/۸۰، ۰/۷۵، ۰/۷۰، ۰/۶۵ و ۰/۵۵ منظور گردید. پس از برآورد اثرات SNP ها، از طریق فرمول زیر ارزش اصلاحی ژنومیک[1] (GEBV) افراد گروه تایید محاسبه شد:

$$\mathrm{GEBV} = \sum_{i}^{n} \mathbf{X}_i \hat{\mathbf{g}}$$

که در آن $\mathbf{X_i}$ ماتریس ضرایب ارتباط دهنده افراد به ژنوتیپ نشانگرها، $\hat{\mathbf{g}}$ بردار اثرات برآورد شده نشانگرها و n تعداد نشانگرها می باشد.

همچنین صحت برآورد ارزشهای اصلاحی ژنومیک به صورت همبستگی بین ارزشهای اصلاحی برآورد شده و ارزشهای اصلاحی واقعی در نظر گرفته شد.

نتیجه گیری و بحث

جداول ۱ تا ۴ صحت برآورد ارزشهای اصلاحی حاصل از ارزیابی ژنومیک در صورت استفاده از فنوتیپ و ارزشهای اصلاحی گروه مرجع در بردار مشاهدات و در شرایطی که ژنهای موثر بر صفت مورد نظر روی یک سوم و دو سوم ژنوم شبیه سازی شده قرار داشته باشند، را نشان می دهند. همچنین تفاوت صحت ارزشهای اصلاحی ژنومیک در صورت استفاده از نشانگرهای کل ژنوم در مقایسه با نشانگرهای بخشی از ژنوم که ژنهای موثر بر صفات در آنجا قرار دارند، در این جداول نشان داده شده است. در این جداول گروه مرجع، نسل اول می باشد. اثرات نشانگرها که توسط رکوردهای فنوتیپی (یا ارزشهای اصلاحی) نسل مرجع تخمین زده شده بود، برای تخمین ارزشهای اصلاحی نسلهای بعدی مورد استفاده قرار گرفته است. با توجه به نتایج موجود در جداول می توان نتیجه گیری کرد که در صورت ثابت بودن تعداد افراد در گروه مرجع چنانچه محدوده مکانی ژنهای موثر بر صفات مشخص باشد و تنها از اطلاعات

1. Genomic Estimated Breeding Value (GEBV)

نشانگرهای موجود در این محدوده های مکانی، برای ارزیابی ژنومیک استفاده شود، صحت برآورد ارزشهای اصلاحی افزایش می یابد. در صورتی که محدوده ژنهای موثر بر صفات کوچکتر باشد (در این تحقیق یک کروموزوم در برابر دو کروموزوم)، تفاوت صحت برآورد ارزشهای اصلاحی ژنومیک با استفاده از نشانگرهای نزدیک به ژنهای موثر بر صفت در مقایسه با استفاده از نشانگرهای قرارگرفته بر روی همه قسمتهای ژنوم، افزایش می یابد. در بیشتر مطالعاتی که تاکنون انجام شده است (به طور مثال Calus ; Solberg et al., 2008 et al., 2008) نشان داده شده است که با کاهش تعداد نشانگرها، صحت برآورد ارزشهای اصلاحی کاهش می یابد اما در تحقیق حاضر نشان داده شد که در صورتی که کاهش تعداد نشانگرها انتخابی باشد و نشانگرهای نزدیک به مکانهای ژنی در ارزیابی ها مورد استفاده قرار گیرند، کاهش تعداد نشانگرها می تواند باعث افزایش صحت برآورد ارزشهای اصلاحی ژنومیک شود. همانطور که در مقدمه بیان شد، در مطالعات شبیه سازی نشان داده شده است که تعیین مکان احتمالی QTL های بزرگ موثر بر صفات با استفاده از نشانگرهای متراکم SNP امکان پذیر می باشد. Han & Xu (2010) در یک مطالعه شبیه سازی نشان دادند که روش بیزی قادر به تشخیص QTL های بزرگ موثر بر صفات می باشد. در این مطالعه همینطور نشان داده شد که با این روش احتمال تشخیص QTL اشتباه در مکان هایی از ژنوم که QTL وجود ندارد، بسیار کم می باشد. Meuwissen et al. (2001) نیز در یک مطالعه شبیه سازی نشان دادند که با استفاده از روش های بیزی و نشانگرهای متراکم SNP تعیین مکان احتمالی QTL های بزرگ موثر بر صفات با دقت بالا امکان پذیر است، تعیین مکان دقیق QTL های کوچک در بیشتر موارد امکانپذیر نیست، ولی معمولا یک QTL کوچک در مجاورت مکان واقعی این QTL های کوچک تشخیص داده می شود. می توان گفت چنانچه با روشهای مذکور محدوده مکانی احتمالی اغلب ژنهای موثر بر صفت مشخص شود، بخش زیادی از واریانس ژنتیکی صفت مربوطه توسط نشانگرهای نزدیک به این مکان ها توصیف خواهد شد. البته باید اشاره کرد که افزایش صحت برآورد ژنتیکی در اثر استفاده از نشانگرهای نزدیک به ژنهای موثر بر صفات که در این تحقیق نشان داده شده است، مربوط به شرایطی است که محدوده مکانی همه ژنهای موثر بر صفات بدون خطا مشخص باشد، به هر حال حتی اگر به دلیل وجود خطا در تشخیص محدوده مکانی ژنهای موثر بر صفات، استفاده از نشانگرهای نزدیک به محدوده های مکانی مذکور، منجر به افزایش صحت ارزیابی های ژنومیک نشود، می تواند از هزینه های تعیین ژنوتیپ حیوانات برای تعداد زیاد SNP بکاهد. این امر بویژه در جمعیت ماده که انتخاب با شدت کمتری صورت می گیرد و ارزیابی با هزینه کم مد نظر است، می تواند مورد توجه واقع گردد.

جدول ۱- صحت برآورد ارزش اصلاحی ژنومیک با استفاده از ارزشهای اصلاحی گروه مرجع* (خطای استاندارد)

کروموزوم**	نسل			
	نسل دوم	نسل سوم	نسل چهارم	نسل پنجم
۳	۰/۸۰ (۰/۰۶)	۰/۷۴ (۰/۰۸)	۰/۶۹ (۰/۱۲)	۰/۶۷ (۰/۱۰)
۱	۰/۸۸ (۰/۰۵)	۰/۸۶ (۰/۰۴)	۰/۸۳ (۰/۰۶)	۰/۸۱ (۰/۰۶)
تفاوت	۰/۰۸	۰/۱۲	۰/۱۴	۰/۱۴

*در شرایطی که نسل اول گروه مرجع و نسل دوم تا پنجم گروه تایید باشد.

**ژنهای موثر بر صفت بر روی یک کروموزوم (یک سوم ژنوم شبیه سازی شده) قرار دارند و نتایج موجود مربوط به دو حالتی است که از نشانگرهای موجود در کل ژنوم شبیه سازی شده (۳ کروموزوم) و یا از بخشهایی از ژنوم که حاوی ژنهای تاثیر گذار بر صفت هستند (۱ کروموزوم) در ارزیابی استفاده شود.

جدول ۲- صحت برآورد ارزش اصلاحی ژنومیک با استفاده از ارزشهای اصلاحی گروه مرجع* (خطای استاندارد)

کروموزوم**	نسل			
	نسل دوم	نسل سوم	نسل چهارم	نسل پنجم
۳	۰/۸۰ (۰/۰۲)	۰/۷۴ (۰/۰۳)	۰/۶۹ (۰/۰۴)	۰/۶۷ (۰/۰۴)
۲	۰/۸۳ (۰/۰۲)	۰/۷۸ (۰/۰۳)	۰/۷۵ (۰/۰۴)	۰/۷۰ (۰/۰۶)
تفاوت	۰/۰۳	۰/۰۴	۰/۰۶	۰/۰۳

*در شرایطی که نسل اول گروه مرجع و نسل دوم تا پنجم گروه تایید باشد.

**ژنهای موثر بر صفت بر روی دو کروموزوم (دو سوم ژنوم شبیه سازی شده) قرار دارند و نتایج موجود مربوط به دو حالتی است که از نشانگرهای موجود در کل ژنوم شبیه سازی شده (۳ کروموزوم) و یا از بخشهایی از ژنوم که حاوی ژنهای تاثیر گذار بر صفت هستند (۲ کروموزوم) در ارزیابی استفاده شود.

جدول ۳- صحت برآورد ارزش اصلاحی ژنومیک با استفاده از فنوتیپ گروه مرجع* (خطای استاندارد)

کروموزوم**	نسل			
	نسل دوم	نسل سوم	نسل چهارم	نسل پنجم
۳	۰/۶۱ (۰/۰۸)	۰/۵۶ (۰/۰۹)	۰/۵۳ (۰/۰۹)	۰/۵۲ (۰/۰۹)
۱	۰/۷۳ (۰/۰۵)	۰/۷۲ (۰/۰۵)	۰/۷۰ (۰/۰۷)	۰/۶۹ (۰/۰۷)
تفاوت	۰/۱۲	۰/۱۶	۰/۱۷	۰/۱۷

*گروه مرجع و تایید مطابق با جداول ۱ و ۲

**از نظر نحوه قرارگیری ژنهای موثر بر صفت و نحوه ارزیابی مطابق با جدول ۱

جدول ۴- صحت برآورد ارزش اصلاحی ژنومیک با استفاده از فنوتیپ گروه مرجع* (خطای استاندارد)

کروموزوم**	نسل			
	نسل دوم	نسل سوم	نسل چهارم	نسل پنجم
۳	۰/۶۱ (۰/۰۴)	۰/۵۶ (۰/۰۴)	۰/۵۳ (۰/۰۵)	۰/۵۲ (۰/۰۴)
۲	۰/۶۵ (۰/۰۵)	۰/۶۱ (۰/۰۵)	۰/۶۰ (۰/۰۵)	۰/۵۸ (۰/۰۶)
تفاوت	۰/۰۴	۰/۰۵	۰/۰۷	۰/۰۶

*گروه مرجع و تایید مطابق با جداول ۱ و ۲

**از نظر نحوه قرارگیری ژنهای موثر بر صفت و نحوه ارزیابی مطابق با جدول ۲

نتایج نشان می دهد که با دور شدن نسل گروه تایید از نسل گروه مرجع، صحت برآورد ارزشهای اصلاحی ژنومیک کاهش می یابد. در انتخاب ژنومیک اثر QTL ها بین نشانگرهای مجاور تقسیم می شود. هرچه اختلاف نسل بین گروه مرجع و گروه تایید بیشتر باشد، ساختار ترکیب نشانگرها تغییر بیشتری پیدا می کند و در نتیجه صحت برآورد ارزشهای اصلاحی کاهش بیشتری می یابد. Habier et al. (2007) نشان دادند که انتخاب ژنومیک از عدم تعادل پیوستگی بین نشانگر و QTL بهره می برد. با افزایش تعداد نسل بین گروه مرجع و گروه تایید، عدم تعادل پیوستگی بین نشانگر و QTL کاهش می یابد و در نتیجه صحت ارزیابی ژنومیک کاهش می یابد. Muir (2007) نیز نشان داد که با گذشت چند نسل پس از برآورد اثرات نشانگرها، صحت برآورد ارزشهای اصلاحی ژنومیک کاهش می یابد و از کارایی برآورد اثرات نشانگرها به منظور تخمین ارزشهای اصلاحی کاسته می شود و لازم است اثرات نشانگرها، از نو برآورد شود. جداول ۵ و ۶ صحت برآورد ارزشهای اصلاحی ژنومیک را در حالتی که گروه مرجع چهار نسل اول باشند و گروه تایید نسل پنجم باشد، نشان می دهند. از جمله نتایجی که از داده های جداول می توان به دست آورد این است که افزایش تعداد افراد گروه مرجع نیز باعث افزایش صحت برآورد ارزشهای اصلاحی گروه تایید می شود. افزایش صحت برآورد ارزشهای اصلاحی گروه تایید با افزایش تعداد افراد گروه مرجع، در مطالعات دیگر نیز تایید شده است. Meuwissen (2001) et al. نشان دادند که وقتی روش ارزیابی BLUP و تعداد افراد گروه مرجع ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۲۰۰ فرد باشد و از رکوردهای فنوتیپی گروه مرجع استفاده شود، صحت تخمین ارزشهای اصلاحی ژنومیک به ترتیب ۰/۵۷۹،

۰/۶۵۹ و ۰/۷۳۲ خواهد بود و بنابراین نتیجه گیری کردند که افزایش تعداد افراد گروه مرجع باعث افزایش صحت ارزیابی ها می شود. Calus & Veerkamp (2007) اثر استفاده از تعداد متفاوت رکوردهای فنوتیپی را بر صحت ارزیابی های ژنومیک در صفات با وراثت پذیری های مختلف بررسی کردند. این محققین به این نتیجه رسیدند که افزایش تعداد رکوردهای فنوتیپی باعث افزایش صحت برآورد ارزیابی های ژنومیک در تمامی صفات می شود اما اثر آن بر صفات با وراثت پذیری پایین بیشتر است، به طور مثال در مورد صفتی با وراثت پذیری ۰/۵، افزایش تعداد رکورد از ۵۰۰ به ۱۰۰۰ باعث ۶ درصد افزایش در صحت برآورد ارزشهای اصلاحی ژنومیک می شود و در مورد صفتی با وراثت پذیری ۰/۱، این افزایش تعداد رکورد، باعث ۱۵ درصد افزایش در صحت برآورد ارزشهای اصلاحی ژنومیک می شود. در مطالعه Muir (2007) نیز در تمام استراتژی های به کار رفته، افزایش تعداد رکودهای فنوتیپی باعث افزایش در صحت برآورد ارزشهای اصلاحی ژنومیک شد.

از نتایج دیگری که در این تحقیق به دست آمد، این است که استفاده ازفنوتیپ افراد گروه مرجع نسبت به استفاده از ارزشهای اصلاحی آنها، باعث افزایش تفاوت صحت ارزیابی با استفاده از نشانگرهای کل ژنوم در مقایسه با نشانگرهای بخشهایی از ژنوم که ژنهای موثر بر صفت در آنجا محدوده های مکانی قرار دارند، می شود. به طور مثال با توجه به جدول ۵، صحت برآورد ارزشهای اصلاحی با استفاده از نشانگرهای کل ژنوم در مقایسه با استفاده ازنشانگرهای نزدیک به ژنهای موثر بر صفت، در صورت استفاده از رکوردهای فنوتیپی گروه مرجع، ۰/۰۹ و در صورت استفاده از ارزشهای اصلاحی گروه مرجع، ۰/۰۶ کاهش می یابد. همینطور می توان از داده های جداول به این نتیجه رسید که به کار بردن ارزش اصلاحی گروه مرجع بجای رکورد های فنوتیپی باعث افزایش صحت برآورد ارزش های اصلاحی ژنومیک گروه تایید می شود. می توان گفت به کار بردن ارزش اصلاحی گروه مرجع بجای رکوردهای فنوتیپی در بردار مشاهدات راه مناسبی در جهت افزایش صحت ارزیابی ژنومیک می باشد، خصوصا با توجه به این موضوع که افزایش تعداد حیوانات گروه مرجع به منظور افزایش صحت ارزیابی ژنومیک، به دلیل هزینه بالای تعیین ژنوتیپ حیوانات محدودیت دارد.

جدول ۵- صحت برآورد ارزش اصلاحی ژنومیک با استفاده از فنوتیپ و ارزشهای اصلاحی گروه مرجع* (خطای استاندارد)

کروموزوم**	بردار مشاهدات	
	فنوتیپ	ارزشهای اصلاحی
۳	۰/۷۲ (۰/۰۶)	۰/۸۴ (۰/۰۶)
۱	۰/۸۱ (۰/۰۳)	۰/۹۰ (۰/۰۴)
تفاوت	۰/۰۹	۰/۰۶

*در شرایطی که نسل های اول تا چهارم گروه مرجع و نسل پنجم گروه تایید باشد.
** از نظر نحوه قرارگیری ژنهای موثر بر صفت و نحوه ارزیابی مطابق با جدول ۱

جدول ۶- صحت برآورد ارزش اصلاحی ژنومیک با استفاده از فنوتیپ و ارزشهای اصلاحی گروه مرجع* (خطای استاندارد)

کروموزوم**	بردار مشاهدات	
	فنوتیپ	ارزشهای اصلاحی
۳	۰/۷۲ (۰/۰۳)	۰/۸۴ (۰/۰۲)
۲	۰/۷۷ (۰/۰۲)	۰/۸۶ (۰/۰۲)
تفاوت	۰/۰۵	۰/۰۲

*گروه مرجع و تایید مطابق با جدول ۵
**از نظر نحوه قرارگیری ژنهای موثر بر صفت و نحوه ارزیابی مطابق با جدول ۲

نتیجه گیری کلی

در کل می توان نتیجه گیری نمود که چنانچه محدوده مکانی ژنهای موثر بر صفات مشخص باشد و تنها از اطلاعات نشانگرهای موجود در این مکانهای ژنی برای ارزیابی ژنومیک استفاده شود، صحت برآورد ارزشهای اصلاحی افزایش می یابد و هرچه محدوده

ژنهای موثر بر صفات کوچکتر باشد تفاوت صحت برآورد ارزشهای اصلاحی با استفاده از نشانگرهای کل ژنوم و نشانگرهای نزدیک به ژنهای موثر بر صفات، افزایش می یابد. همچنین با دور شدن نسل گروه تایید از نسل گروه مرجع، صحت برآورد ارزشهای اصلاحی ژنومیک کاهش می یابد و به کار بردن ارزش اصلاحی گروه مرجع بجای رکورد های فنوتیپی باعث افزایش صحت برآورد ارزش های اصلاحی ژنومیک گروه تایید می شود بنابراین استفاده از نسلهای نزدیک به گروه تایید و ارزش های اصلاحی حیوانات گروه مرجع در ارزیابی ژنومیک نیز راه های مناسبی در جهت افزایش صحت ارزیابی ژنومیک می باشند.

REFERENCES

1. Ashwell, M. S., Heyen, D. W., Sonstegard, T. S., Van Tassell, C. P., Da, Y., VanRaden, P. M., Ron, M., Weller, I. & Lewin, H. A. (2004). Detection of quantitative trait loci affecting milk production, health, and reproductive traits in Holstein cattle. *Journal of dairy science*, 87, 468–475.
2. Calus, M. P. L., Meuwissen, T. H. E., De Roos, A. P. W. & Veerkamp, R. F. (2008). Accuracy of genomic selection using different methods to define haplotypes. *Genetics*, 178, 553–561.
3. Calus, M. P. L. & Veerkmp, R. F. (2007). Accuracy of breeding values when using and ignoring the polygenic effect in genomic breeding value estimating with a maker density of one SNP per CM. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 124, 362-368.
4. Habier, D., Fernando, R. L. & Dekkers, J. C. M. (2007). The impact of genetic relationship information on genome-assisted breeding values. *Genetics*, 177, 2389-2397.
5. Han, L. & Xu, Sh. (2010). Genome-wide evaluation for quantitative trait loci under the variance component model. *Genetica*, 138,1099-1109.
6. Heyen, D. W., Weller, J. I., Ron, M., Band, M., Beever, J. E., Feldmesser, E., DA, Y., Wiggans, G. R., VanRaden, P. M. & Lewin, H. A. (1999). A genome scan for QTL influencing milk production and health traits in dairy cattle. *Physiological Genomics*, 1,165-175.
7. Hill, W. G. & Robertson, A. (1968). Linkage disequilibrium in finite population. *Theoretical and Applied Genetics*, 38, 226-231.
8. Khansefid, M. (2010). *Genetic evaluation of animals based on sires' genotypes for dense markers using computer simulation*. MS dissertation, Tehran University, Iran. (In Farsi)
9. Kolbehdari, D., Schaeffer L. R. & Robinson J. A. B. (2007). Estimation of genome-wide haplotype effects in half-sib designs. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 164, 356-361.
10. Meuwissen, T. H. E., Hayes, B. J. & Goddard, M. E. (2001). Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 157, 1819-1829.
11. Muir, W. M. (2007). Comparison of genomic and traditional BLUP estimated breeding value accuracy and selection response under alternative trait and genomic parameters. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 124, 342-355.
12. Schaeffer, L. R. (2006). Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 123, 1-6.
13. Solberg, T.R., Sonesson, A. K., Woolliams, J. A. & Meuwissen, T. H. E. (2008). Genomic selection using different marker types and densities. *Journal of animal science,* 86, 2447-2454.