

تأثیر راهبردهای مختلف انتخاب حیوانات گروه مرجع بر درستی ارزیابی ژنگانی برای صفات با وراثت پذیری متوسط در جمعیت گاو شیری

آزاده بوستان^{۱*}، الهام رضوان نژاد^۲، اردشیر نجاتی جوارمی^۳، نعمت هدایت ایوریک^۴ و رضا سید شریفی^۲

۱. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان

۲. استادیار، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی محیطی و علوم پیشرفته، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته

۳. دانشیار، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

۴. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۸/۲۶)

چکیده

یکی از پرسش‌های مطرح در زمینه ارزیابی ژنگانی (ژنومیک)، تأثیرگذاری یا تأثیرگذار نبودن استفاده از حیوانات برتر به‌عنوان گروه مرجع، بر درستی ارزش اصلاحی برآوردی کاندیدای انتخاب است. در این تحقیق درستی ارزیابی ژنگانی در شرایطی که تنها حیوانات برتر در جمعیت مرجع بودند (راهبرد ۱) با شرایطی که حیوانات گروه مرجع نمونه‌ای تصادفی از جمعیت بودند (راهبرد ۲) و شرایطی که این گروه از بین برترین و ضعیف‌ترین حیوانات انتخاب شده بودند (راهبرد ۳) مقایسه شد. برای برآورد اثرات نشانگرها از مدل بهترین پیش‌بینی ناریب خطی استفاده شد. نتایج نشان داد که به کار بردن تنها حیوانات برتر به‌عنوان جمعیت مرجع می‌تواند باعث کاهش درستی ارزیابی ژنگانی شود. اگر نسبت حیوانات در گروه مرجع کم باشد (به‌طور مثال ۱۰ درصد)، تفاوت بین راهبردها و دیگر راهبردها بیشتر از شرایطی است که این نسبت زیاد باشد (به‌طور مثال ۵۰ درصد). به‌عنوان مثال در شرایطی که ۱۰ درصد حیوانات نسل چهارم (نسل پیش از گروه تأیید) به‌عنوان جمعیت مرجع استفاده شدند، درستی ارزش‌های اصلاحی برآوردی راهبرد ۳، ۰/۳۴ بیشتر از راهبرد ۱ بود ولی تفاوت این دو راهبرد هنگامی که ۵۰ درصد حیوانات در جمعیت مرجع بودند، تنها ۰/۰۴ بود. نتایج نشان داد افزودن بر حیوانات برتر که ارزش اصلاحی برآوردی سنتی با درستی بالا دارند، تعیین ژنوتیپ شماری از حیواناتی که از نظر ژنتیکی برتر نیستند و قرار گرفتن آنها در جمعیت مرجع، می‌تواند باعث افزایش درستی ارزیابی ژنگانی شود.

واژه‌های کلیدی: ارزش اصلاحی برآورد شده، جمعیت مرجع، حیوانات برتر، درستی ارزیابی ژنگانی، گروه تأیید.

Effects of different strategies for selection of animals as reference population on the accuracy of genomic evaluation for moderate heritability traits in dairy cattle

Azadeh Boustan^{1*}, Elham Rezvannejad², Ardeshir Nejati Javareh³, Nemat Hedayat Evrigh⁴, Reza Seyed Sharifi⁴

1. Assistant Professor, Department of Animal Science, Moghan College of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Iran

2. Assistant Professor, Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Science, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran

3. Associate Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

4. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture Science and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Iran

(Received: Feb. 10, 2015- Accepted: Nov. 16, 2016)

ABSTRACT

An important question about genomic evaluation is the effectiveness of using superior animals as reference population, on the accuracy of estimated breeding values of selection candidates. In this research, the accuracy of genomic evaluation is selecting superior animals as reference population (strategy1) was compared to situations in which the animals in reference population were a random sample of population (strategy2) and superior and inferior animals (strategy3). Best linear unbiased prediction method was used to estimate marker effects. The results showed that using only superior animals as reference population would decrease the accuracy of genomic evaluation. If the ratio of animals in the reference group is low (for example 10%) the difference between strategy1 and the other strategies would be more than the situation in which this ratio is high (for example 50%). For example in situation that the generation before validation set (generation four) was used as reference population, the accuracy of strategy1 was about 0.34 lower than strategy3 when 10% of animals were used as reference population but this difference was decreased to 0.04 when 50% of animals were used as reference population. These results showed that genotyping and using some of no superior animals in the reference population, beside to superior animals with high accurate traditional estimated breeding values, could lead to increase in the accuracy of genomic evaluation.

Keywords: Accuracy of genomic evaluation, estimated breeding value, reference population, superior animals, validation set.

مقدمه

در سه دهه اخیر توسعه فناوری در زمینه ژنتیک مولکولی شایان توجه بوده است. امروزه ژنگان (ژنوم) بسیاری از حیوانات اهلی تعیین توالی و نقشه‌یابی شده است. تعیین توالی ژنگان بر پایه SNP در مورد ژنگان گاو امروزه به شکل تجاری در دسترس است و منجر به استفاده از روشی شده است که انتخاب ژنگانی (ژنومی) نامیده می‌شود. نخستین بار در یک بررسی همانندسازی در سال ۲۰۰۱ مراحل تجزیه ارزیابی ژنگانی در صورت وجود نقشه‌های نشانگری با تراکم بالا، ارائه شد و نشان داده شد که انتخاب ژنگانی باعث دگرگونی بنیادی در اصلاح نژاد حیوانات خواهد شد (Meuwissen et al., 2001). در برنامه اصلاح نژادی گاو شیری، ارزیابی ژنگانی می‌تواند منجر به انتخاب حیوانات در سنین بسیار پایین، پیش از داشتن دسترسی به رکورد حیوانات شود. نشان داده شده است، انتخاب ژنگانی می‌تواند منجر به دست‌کم دو برابر شدن میزان پیشرفت ژنتیکی و همچنین صرفه‌جویی ۹۲ درصد از هزینه‌ها به دلیل تعیین ارزش‌های اصلاحی در زمان تولد و به دنبال آن کاهش فاصله نسل شود (Schaeffer, 2006).

درستی ارزیابی ژنگانی به دو عامل بستگی دارد: (۱) درستی برآورد اثرگذاری نشانگرها (۲) نسبتی از واریانس ژنتیکی که توسط این نشانگرها نشان داده می‌شود (Daetwyler et al., 2008; Goddard, 2009). نسبتی از واریانس ژنتیکی که توسط نشانگرها بیان می‌شود به‌طور شایان ملاحظه‌ای تحت تأثیر تراکم نشانگرها قرار دارد. این امر در بسیاری از بررسی‌ها ارزیابی شده است. به‌طور مثال در یک بررسی شبیه‌سازی پنج تراکم نشانگری مختلف (۱۱۹ تا ۲۳۴۳ نشانگر SNP در یک ژنگان ۳ مورگانی) ارزیابی شد و نشان داده شد، با افزایش تراکم نشانگری، درستی برآورد ارزش‌های ژنگانی افزایش می‌یابد (Calus et al., 2008). در ارزیابی ژنگانی، ارزش اصلاحی برآوردی حیوانات جوان بر پایه اثرگذاری برآوردی نشانگرها از یک جمعیت حیوانی به نام جمعیت مرجع به‌دست می‌آید. در این جمعیت (مرجع) ژنوتیپ‌های SNP و فنوتیپ ویژگی‌های مورد

نظر موجود هستند. یکی از عامل‌های مهم و تأثیرگذار در درستی برآورد اثرگذاری نشانگرها، عامل‌های مربوط به جمعیت مرجع است. از جمله این عامل‌ها، شمار افراد جمعیت مرجع و شمار نسل بین جمعیت مرجع و حیوانات جوان (جمعیت بدون رکورد فنوتیپی) است. در یک پژوهش برای صفتی با وراثت‌پذیری ۰/۵ و فاصله‌های نشانگری ۱ سانتی مورگان هنگامی شمار افراد جمعیت مرجع از ۵۰۰ فرد به ۱۰۰۰ و ۲۲۰۰ فرد افزایش یافت در شرایطی که از مدل بهترین پیش‌بینی ناریب خطی (BLUP) برای برآورد اثرگذاری نشانگری استفاده شد، درستی برآورد ارزیابی ژنگانی از ۰/۵۸ به ترتیب به ۰/۶۶ و ۰/۷۳ افزایش یافت (Meuwissen et al., 2001). در بررسی دیگری برای صفتی با وراثت‌پذیری ۰/۱، هنگامی شمار افراد دارای رکورد از ۵۰۰ به ۱۱۰۰ فرد افزایش یافت درستی ارزیابی ژنگانیک از ۰/۳۸ به ۰/۵۵ رسید (Calus & Veerkamp, 2007). به دلیل هزینه به نسبت بالا، ژنگان همه دام‌ها تعیین توالی نمی‌شود. در جمعیت گاو شیری اغلب کشورها تنها ژنگان دام‌های برتر (گاوهای ماده برتر و گاوهای نر آزمون نتاج‌شده یا کاندیدشده برای آزمون نتاج) تعیین توالی می‌شود. بنابراین جمعیت مرجع به‌طور عمده شامل دام‌های برتر است. به‌طور مثال ارزیابی ژنگانی در سال ۲۰۰۸ برای گاوهای هلشتاین آمریکا با ارزیابی برای ۵۲۸۵ گاو نر آزمون نتاج‌شده معرفی شد. پس از آن نیز شمار گاوهای نر آزمون نتاج‌شده در آمریکا که تعیین ژنوتیپ شده‌اند چندین برابر شد (VanRaden et al., 2009; Lourenco et al., 2014). در بررسی Lourenco et al. (2014) که برای بررسی استفاده از روش‌های مختلف ارزیابی ژنگانی، در یک جمعیت گاو شیری هلشتاین با استفاده از دام‌های تعیین ژنوتیپ‌شده انجام شده بود، نیز در جمعیت مرجع تنها حیوانات ماده برتر و حیوانات نر آزمون نتاج‌شده حضور داشتند.

یکی از پرسش‌های مطرح در زمینه ارزیابی ژنگانی، تأثیر یا تأثیر نداشتن استفاده از دام‌های برتر در ارزیابی ژنگانی گاوهای شیری و در صورت تأثیرگذاری میزان این تأثیر است. در این تحقیق

$$PEV = SQR((1-R^2) * \sigma_g^2) \quad (2)$$

در این رابطه‌ها TBV_i ارزش اصلاحی حقیقی حیوان i ، SQR جذر، R^2 قابلیت اطمینان، PEV واریانس خطای پیش‌بینی‌شده، σ_g^2 واریانس ژنتیکی e_i نیز نشان‌دهنده خطا است که از یک توزیع نرمال با میانگین صفر و واریانس یک، به دست می‌آید.

در این تحقیق قابلیت اطمینان^۱ ارزش‌های اصلاحی متداول (کلاسیک) 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 و ۰/۶۵ و ۰/۵۵ در نظر گرفته شد (بر پایه نتایج Khansefid (2010)). به‌طور مثال برای شبیه‌سازی ارزش‌های اصلاحی متداول جمعیت نسل ۱، در جمعیت نر از قابلیت اطمینان برابر با ۰/۹۳ و در جمعیت ماده از ۰/۸ استفاده شد.

همچنین برای برآورد اثرگذاری نشانگرها در جمعیت مرجع از روش ریدج رگرسیون (یا RR-BLUP) و مدل زیر استفاده شد (Hayes, 2007):

$$\begin{bmatrix} \hat{\mu} \\ \hat{g} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1_n' 1 & 1_n' X \\ X' 1_n & X' X + \lambda I \end{bmatrix}^{-1} \begin{bmatrix} 1_n' y \\ X' y \end{bmatrix} \quad (3)$$

$$\lambda = \frac{\sigma_e^2}{\sigma_g^2}$$

μ میانگین جامعه، \hat{g} بردار اثرگذاری برآوردشده نشانگرها، n شمار افراد، x ماتریس ضریب‌های ارتباط‌دهنده ژنوتیپ افراد به نشانگرها و y بردار ارزش‌های اصلاحی برای صفت موردنظر است. در رابطه محاسبه λ میزان σ_g^2 باید بر شمار m یا همان شمار نشانگرها تقسیم شود.

برآورد ارزش اصلاحی ژنگانی در جمعیت تأیید از راه حاصل جمع اثرگذاری قطعه‌های مختلف کروموزومی بر پایه ژنوتیپ حیوان (رابطه ۴) صورت گرفت (Hayes, 2007):

$$GEBV = \sum_i^n X_i \hat{g} \quad (4)$$

در این رابطه X_i ماتریس ضریب‌های ارتباط‌دهنده افراد

تفاوت درستی ارزیابی ژنگانی در ویژگی‌هایی با وراثت‌پذیری متوسط، در شرایطی که دام‌های جمعیت مرجع از دام‌های برتر باشند نسبت به شرایطی که این دام‌ها نمونه‌ای تصادفی از جمعیت نسل‌های پیش باشند و یا ترکیبی از برترین و ضعیف‌ترین دام‌ها باشند، بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

طراحی جمعیت مورد نیاز از راه شبیه‌سازی تصادفی و با استفاده از محیط برنامه‌نویسی Microsoft Visual Basic 6 انجام شد. اثرگذاری QTL‌ها از یک توزیع نرمال با میانگین صفر و واریانس ۵۰ گرفته شد. از آنجاکه ارزیابی ژنگانی با استفاده از نداشتن تعادل پیوستگی بین نشانگرها و QTL‌ها انجام می‌گیرد، در این تحقیق برای ایجاد تعادل نداشتن پیوستگی جمعیتی با اندازه مؤثر ۱۰۰ فرد (۵۰ نر و ۵۰ ماده) شبیه‌سازی شد تا برای ۵۰ نسل با یکدیگر آمیزش تصادفی داشته باشند. پس از گذشت ۵۰ نسل، اندازه جمعیت به ۲۵۰۰ فرد گسترش یافت و پس از آن پنج نسل آمیزش تصادفی شبیه‌سازی شد و ثبت اطلاعات ژنوتیپی و فنوتیپی برای هر نسل صورت گرفت. اندازه جمعیت برای هر نسل همان ۲۵۰۰ فرد در نظر گرفته شد. برای اندازه‌گیری میزان تعادل نداشتن 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 تعادل نداشتن پیوستگی کامل هستند، متغیر است. از آنجاکه ویژگی‌های تولیدی مهم وراثت‌پذیری متوسط دارند، وراثت‌پذیری صفت مورد نظر برای این شبیه‌سازی ۰/۳ در نظر گرفته شد. شمار کروموزوم‌ها سه عدد و طول هر کروموزوم ۱۰۰ سانتی مورگان در نظر گرفته شد. شمار QTL‌ها، پنجاه عدد در نظر گرفته شد. نشانگرهای SNP با فاصله ۰/۱ سانتی مورگان روی هر کروموزوم شبیه‌سازی شدند.

برای شبیه‌سازی ارزش اصلاحی سنتی حیوانات با قابلیت اطمینان‌های مختلف، از رابطه‌های ۱ و ۲ استفاده شد (Saatchi, 2009):

$$EBV_i = (TBV_i * SQR(R^2)) + (e_i * PEV) \quad (1)$$

توسط نشانگرها توجیه نمی‌شود. همچنین نتایج نشان می‌دهد که در شرایطی که شمار کمتری حیوان تعیین ژنوتیپ شوند استفاده از حیوانات برتر جمعیت به‌عنوان جمعیت مرجع منجر به کاهش شدیدتری در درستی ارزیابی ژنگانی خواهد شد که این امر نیز می‌تواند به این دلیل باشد که در شرایطی که تنها از حیوانات برتر در جمعیت مرجع استفاده شود هرچه شمار این حیوانات کمتر باشد، واریانس ژنتیکی که در مورد صفت مورد نظر توسط نشانگرها توجیه می‌شود، کاهش بیشتری می‌یابد و در پی آن درستی ارزیابی ژنگانی کاهش بیشتری خواهد یافت.

Boligon *et al.* (2012) در بررسی از راهبردهای به‌کاررفته در این تحقیق برای انتخاب حیوانات گروه مرجع برای تعیین ژنوتیپ و برآورد اثرگذاری نشانگری استفاده کردند. قابل‌بیان است که در تحقیق یادشده از حیوانات برتر گروه مرجع برای تلاقی و مشارکت در نسل آینده (گروه تأیید) استفاده می‌شد (۲ تا ۳۴ درصد از حیوانات برتر). در این تحقیق رکوردهای فنوتیپی شبیه‌سازی شدند و این رکوردها برای برآورد اثرگذاری نشانگری استفاده شدند. روند نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق همسان نتایج این بررسی بود. به‌عبارتی در تحقیق یادشده نیز بالاترین همبستگی بین ارزش‌های اصلاحی ژنگانی برآورد شده و ارزش‌های اصلاحی واقعی، در شرایطی که دست‌آمد که حیوانات برتر و ضعیف‌تر جامعه به‌طور انتخابی برای تعیین ژنوتیپ و برآورد اثرگذاری نشانگری استفاده شدند (همسان راهبرد ۳ در این تحقیق) و استفاده از حیوانات برتر جامعه مرجع (همسان راهبرد ۱ در این تحقیق) عملکرد پایین‌تری نسبت به انتخاب تصادفی حیوانات جامعه مرجع نشان داد.

همان‌طور که از نتایج موجود در جدول‌ها مشخص است در همه راهبردها در شرایطی که از یک نسل پیش (نسل چهارم) از گروه تأیید (نسل پنجم) به‌عنوان گروه مرجع برای برآورد اثرگذاری نشانگری استفاده شد درستی ارزیابی‌ها بیشتر از شرایطی بود که حیوانات چهار نسل پیش (نسل اول) به‌عنوان گروه مرجع، استفاده شدند. این نتیجه در تحقیقات دیگر نیز نشان داده شده است. Muir (2007) نشان داد، با

به ژنوتیپ نشانگرها و بردار اثرگذاری برآوردشده نشانگرها است.

در این بررسی همبستگی بین ارزش‌های اصلاحی برآوردشده و ارزش‌های اصلاحی واقعی به‌عنوان درستی برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنگانی در نظر گرفته شد. واریانس خطای پیش‌بینی (PMSE) نیز برای راهبردهای مختلف محاسبه شد.

در این تحقیق سه راهبرد برای انتخاب جمعیت مرجع استفاده شد. ۱- انتخاب حیوانات برتر جمعیت بر پایه ارزش‌های اصلاحی متداول ۲- انتخاب حیوانات به‌طور تصادفی ۳- انتخاب برترین و ضعیف‌ترین حیوانات بر پایه ارزش‌های اصلاحی متداول. نسل اول، نسل چهارم و ترکیب نسلی اول و دوم به‌عنوان گروه مرجع استفاده شدند. جمعیت مرجع شامل ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ درصد حیوانات (نر و ماده) از نسل‌های یادشده بود که با این سه راهبرد انتخاب شده بودند. نسل پنجم به‌عنوان گروه تأیید در نظر گرفته شد. درستی ارزیابی ژنگانی در شرایطی که هیچ انتخابی صورت نگرفته باشد و حیوانات نسل‌های اول تا چهارم به‌عنوان گروه مرجع باشند نیز برآورد شد. این شبیه‌سازی ده مرتبه تکرار شد و میانگین نتایج گزارش شد.

نتایج و بحث

جدول‌های ۱ تا ۳ درستی ارزیابی ژنگانی (\pm خطای استاندارد) را برای راهبردهای مختلف و در شرایط استفاده از نسبت‌های مختلف حیوانات (۱۰ درصد تا ۵۰ درصد) در صورت استفاده از جمعیت نسل اول، ترکیب نسل‌های اول و دوم و همین‌طور نسل چهارم به‌عنوان جمعیت مرجع نشان می‌دهد.

یکی از عامل‌های تأثیرگذار بر درستی ارزیابی ژنگانی نسبتی از واریانس ژنتیکی است که توسط نشانگرها توجیه می‌شود (Daetwyler *et al.*, 2008; Goddard, 2009). همان‌طور که در نتایج مشخص است استفاده از حیوانات برتر جمعیت به‌تنهایی (راهبرد ۱)، باعث کاهش درستی ارزیابی ژنگانی شد. این امر می‌تواند به این علت باشد که در چنین شرایطی همه واریانس ژنتیکی برای صفت مورد نظر

گذشت چند نسل پس از برآورد اثرگذاری نشانگرها، درستی برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنگانی کاهش می‌یابد و از کارایی اثرگذاری نشانگری برآورد شده برای برآورد ارزش‌های اصلاحی کاسته می‌شود و لازم است اثرگذاری نشانگری دوباره برآورد شود. یک دلیل برای این موضوع این است که با افزایش شمار نسل بین گروه مرجع و گروه تأیید، تعادل نداشتن پیوستگی بین نشانگر و QTL کاهش می‌یابد و در نتیجه از درستی ارزیابی ژنگانی کاسته می‌شود. دلیل دیگر برای کاهش درستی ارزیابی ژنگانی در نتیجه به کار بردن نسل‌های دورتر به‌عنوان گروه مرجع، می‌تواند کاهش رابطه خویشاوندی بین گروه مرجع و گروه تأیید باشد.

ارتباط خویشاوندی بین کاندیدای انتخاب و جمعیت مرجع بر درستی ارزیابی‌ها حتی از میزان تعادل نداشتن پیوستگی بین نشانگر و QTL نیز بیشتر است. Hayes (2007) بیان کرد چنانچه نشانگرهایی که در انتخاب ژنگانی استفاده می‌شوند در واقع اثرگذاری QTLها را نشان می‌دادند، برآورد اثر قطعه‌های کروموزومی در یک نسل برای همه نسل‌ها کافی بود ولی واقعیت این است که نشانگرها و QTLها، تعادل نداشتن پیوستگی پایین یا متوسط دارند. در طول زمان نوترکیبی بین نشانگرها و QTLها، باعث کاهش درستی برآورد GEBV خواهد شد.

جدول ۱. صحت ارزیابی ژنومیک (\pm خطای استاندارد) در شرایط استفاده از جمعیت نسل اول به‌عنوان جمعیت مرجع

Table 1. Accuracy of genomic evaluation (\pm standard error) using generation 1 as reference population

	Percentile (%) and the number of reference group animals from generation 1				
	10% 250	20% 500	30% 750	40% 1000	50% 1250
Strategy 1	0.39 (0.06)	0.55 (0.10)	0.65 (0.06)	0.72 (0.04)	0.77 (0.04)
Strategy 2	0.66 (0.06)	0.74 (0.06)	0.77 (0.05)	0.78 (0.04)	0.82 (0.03)
Strategy 3	0.70 (0.05)	0.76 (0.06)	0.78 (0.05)	0.79 (0.04)	0.83 (0.03)

* Animals in generation 5 were validation set

* گروه تأیید شامل حیوانات نسل پنجم می‌باشد.

جدول ۲. صحت ارزیابی ژنومیک (\pm خطای استاندارد) در شرایط استفاده از جمعیت نسل‌های اول و دوم به‌عنوان جمعیت مرجع

Table 2. Accuracy of genomic evaluation (\pm standard error) using generations 1 to 2 as reference population

	Percentile (%) and the number of reference group animals from generations 1 to 2				
	10% 500	20% 1000	30% 1500	40% 2000	50% 2500
Strategy 1	0.49 (0.09)	0.62 (0.03)	0.75 (0.02)	0.80 (0.02)	0.82 (0.02)
Strategy 2	0.72 (0.03)	0.80 (0.03)	0.84 (0.02)	0.85 (0.02)	0.87 (0.01)
Strategy 3	0.77 (0.02)	0.83 (0.02)	0.85 (0.02)	0.87 (0.01)	0.87 (0.02)

* Animals in generation 5 were validation set

* گروه تأیید شامل حیوانات نسل پنجم می‌باشد.

جدول ۳. صحت ارزیابی ژنومیک (\pm خطای استاندارد) در شرایط استفاده از جمعیت نسل چهارم به‌عنوان جمعیت مرجع

Table 3. Accuracy of genomic evaluation (\pm standard error) using generation 4 as reference population

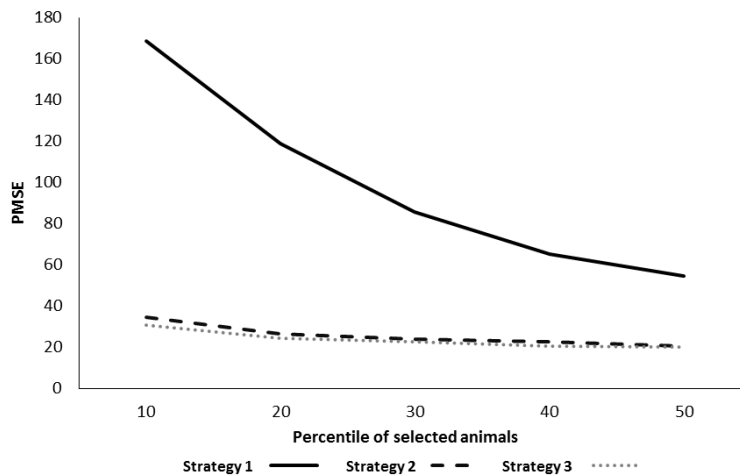
	Percentile (%) and the number of reference group animals from generation 4				
	10% 250	20% 500	30% 750	40% 1000	50% 1250
Strategy 1	0.41 (0.10)	0.61 (0.11)	0.71 (0.06)	0.78 (0.04)	0.82 (0.04)
Strategy 2	0.68 (0.05)	0.77 (0.06)	0.81 (0.04)	0.83 (0.03)	0.85 (0.02)
Strategy 3	0.75 (0.03)	0.80 (0.04)	0.82 (0.03)	0.83 (0.03)	0.86 (0.02)

* Animals in generation 5 were validation set

* گروه تأیید شامل حیوانات نسل پنجم می‌باشد.

این معیار نیز پایین‌تر است. از نتایج موجود در این نمودارها می‌توان داوری کرد، در شرایطی که از نسبت کمتری از افراد جمعیت (۱۰ درصد) به‌عنوان گروه مرجع استفاده شود تفاوت واریانس پیش‌بینی خطای راهبرد ۱ با راهبرد ۲ و ۳ بسیار بیشتر از هنگامی است که از نسبت بیشتری از افراد جمعیت (۵۰ درصد) به‌عنوان گروه مرجع استفاده شود.

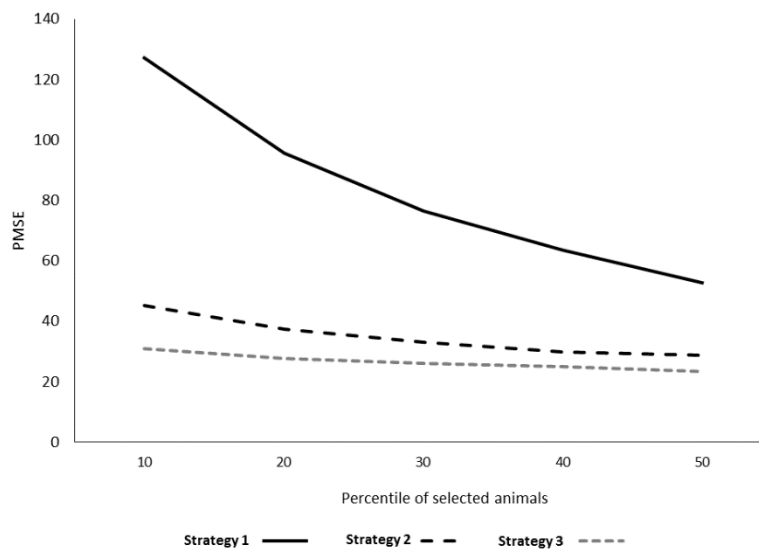
شکل‌های ۱ و ۲ واریانس خطای پیش‌بینی (PMSE) راهبردهای ۱ تا ۳ را در شرایطی که درصد‌های مختلفی از نسل اول و چهارم به‌عنوان گروه مرجع استفاده کردند، نشان می‌دهد. همان‌طور که در این نمودارها نیز مشخص است واریانس پیش‌بینی خطای راهبرد ۱ بیشتر از دو راهبرد دیگر بوده است و به عبارتی درستی راهبرد ۱ از راهبرد ۲ و ۳ بر پایه



شکل ۱. واریانس خطای پیش‌بینی استراتژی‌های ۱ تا ۳ در صورت انتخاب درصدهای مختلف حیوانات نسل اول به‌عنوان جمعیت مرجع. * گروه تأیید شامل حیوانات نسل پنجم است.

Figure 1. Prediction mean squared error for strategies 1 to 3 using different percentiles of generation 1 as reference population.

* Validation group includes animals in generation 5



شکل ۲. واریانس خطای پیش‌بینی استراتژی‌های ۱ تا ۳ در صورت انتخاب درصدهای مختلف حیوانات نسل چهارم به‌عنوان جمعیت مرجع.

* گروه تأیید شامل حیوانات نسل پنجم است.

Figure 2. Prediction mean squared error for strategies 1 to 3 using different percentiles of generation 4 as reference population.

* Validation group includes animals in generation 5.

نسبت به استفاده از حیوانات برتر جمعیت به‌تنهایی (راهبرد ۱) افزایش داد، درحالی‌که در همین شرایط در صورت استفاده از ۵۰ درصد حیوانات درستی تنها به میزان ۰/۰۶ افزایش یافت.

البته اهمیت گاوهای نر برتر آزمون نتاج و تعیین ژنوتیپ‌شده در ارزیابی ژنگانی قابل‌چشم‌پوشی نیست

نتایج موجود در جدول‌ها نیز همین روند را دارد. به‌طور مثال بنا بر نتایج جدول ۱، استفاده از حیوانات برتر و ضعیف‌تر جمعیت (راهبرد ۳) در گروه مرجع در شرایطی که نسل اول به‌عنوان نسل گروه مرجع در نظر گرفته شد در صورت استفاده از ۱۰ درصد حیوانات، درستی ارزیابی ژنگانی را تا حدودی ۰/۳۱

هنگامی که از دام‌های ماده برتر (به‌عنوان مثال مادر نرها) در جمعیت مرجع استفاده شود این اریب وجود دارد. (Ibañez-Escriche & Gonzalez-Recio, 2011) بیان کردند در ارزیابی ژنگانی بهترین و بدترین حیوانات برای صفت مورد نظر بایستی تعیین ژنوتیپ شوند، اگر این ارزیابی برای چندین صفت مورد استفاده باشد، لازم است یک جمعیت تصادفی با میانگین فراوانی آلی نزدیک به کل جمعیت به‌عنوان جمعیت مرجع منظور شود. نتایج موجود در این پژوهش این نظریه را تأیید می‌کند.

جدول ۴ درستی ارزیابی ژنگانی (±خطای استاندارد) را در شرایطی که گروه مرجع انتخابی نباشد و در صورت استفاده از نسل اول، نسل‌های اول و دوم، نسل چهارم، نسل‌های سوم و چهارم و همه حیوانات نسل‌های اول تا چهارم به‌عنوان گروه مرجع نشان می‌دهد.

بالتر بودن درستی برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنگانی در شرایطی که انتخابی در جمعیت مرجع صورت نگیرد و همه حیوانات به‌عنوان جمعیت مرجع تعیین ژنوتیپ و استفاده شوند (جدول ۴)، نسبت به شرایطی که جمعیت مرجع از بین حیوانات به‌گونه‌ای انتخاب شوند (جدول‌های ۱ تا ۳)، به علت بیشتر بودن شمار حیوانات در جمعیت مرجع است. این امر در پژوهش‌های دیگر نیز به اثبات رسیده است. به‌طور مثال در تحقیق Zhou et al. (2013) هنگامی که از ۸۰ گاو نر و ۲۰۹۱ گاو ماده هلشتاین چینی به‌عنوان جمعیت مرجع استفاده شدند، درستی پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنگانی برای ویژگی‌های تولید شیر و چربی و پروتئین شیر به ترتیب ۰/۲۲، ۰/۱۵ و ۰/۱۱ بود و هنگامی ۵۲۱۶ گاو نر از جمعیتی که خویشاوندی ژنتیکی به این جمعیت داشت به گروه مرجع اضافه شد درستی‌های یادشده به ۰/۵۱، ۰/۴۷ و ۰/۳۶ افزایش یافت. در رابطه با جامعه مرجع از موارد دیگری که می‌تواند باعث افزایش قابلیت اطمینان ارزش اصلاحی برآوردی شود، استفاده از ترکیب اطلاعات تولیدی نژادهای مختلف و یا یک نژاد در مناطق متفاوت در جمعیت مرجع است (Brøndum et al., 2011; Hayes et al., 2009) که این راهبرد نیز افزون بر مواردی که به آن اشاره شد می‌تواند برای بهبود قابلیت اطمینان ارزش‌های اصلاحی استفاده شود.

مهم‌ترین علت این امر این است که ارزش اصلاحی این حیوانات بالاترین درستی را نسبت به دیگر دام‌ها دارد و هرچه درستی ارزش اصلاحی حیوانات جمعیت مرجع بیشتر باشد درستی ارزیابی ژنگانی برای گروه تأیید افزایش خواهد یافت. بنابراین می‌توان گفت در هیچ شرایطی انتخاب نکردن گاوهای نر برتر آزمون نتایج‌شده برای تعیین ژنوتیپ و برآورد اثرگذاری نشانگری معقول و منطقی نیست. دلیل دیگر اهمیت گاوهای نر برتر در جمعیت مرجع، اریب نبودن ارزش‌های اصلاحی برآورد شده برای این دام‌ها است. Dassonneville et al. (2012) عنوان کردند که تیمارهای ترجیحی که روی گاوهای ماده انجام می‌شود می‌تواند ارزیابی ژنگانی را هنگامی که این دام‌ها در جمعیت مرجع حضور داشته باشند تحت تأثیر قرار دهد و این امر به خاطر اریبی ناشی از این تیمارها است. تیمارهای ترجیحی اعمال مدیریتی هستند که ممکن است برای برخی از گاوها در گله انجام شود و برای دیگر گاوها در همان گله انجام نگیرد. این اعمال مدیریتی می‌تواند شامل تغییر نوع تغذیه، سامانه تولیدمثلی و یا جایگاه این دام‌ها باشد. از سوی دیگر چنانچه از فنوتیپ دام‌های گروه مرجع برای برآورد اثرگذاری نشانگری استفاده شود، در مورد گاوهای نر، انحراف عملکرد دختران (DYD) استفاده می‌شود که شامل عملکرد متوسط دختران گاوهای نر است که برای همه اثرگذاری‌های ثابت (مانند گله سال فصل)، اثرگذاری محیطی دائمی و ژنتیک مادران آن‌ها (نصف ارزش ژنتیکی افزایشی مادر گاو ماده) تصحیح شده است (VanRaden & Wiggans, 1991). در پی آن می‌توان گفت که انحراف عملکرد دختران، می‌تواند عملکرد دام نر را با اریب کم نشان دهد. درحالی‌که فنوتیپ اندازه‌گیری‌شده برای گاوهای ماده عملکرد خود دام به‌تنهایی است. به‌طورمسلّم فنوتیپ مربوط به گاوهای ماده دارای اریب بیشتر از انحراف عملکرد دختران گاوهای نر است و این امر یکی از دشواری‌های استفاده از دام‌های ماده در جمعیت مرجع برای ارزیابی ژنگانی است. البته اریب فنوتیپ یا ارزش اصلاحی دام‌های ماده بیشتر در شرایطی وجود دارد که این دام‌ها به‌طور انتخابی استفاده شوند. به عبارتی

جدول ۴. صحت ارزیابی ژنومیک (خطای استاندارد) در شرایط استفاده از همه حیوانات نسل‌های قبل از گروه تایید به‌عنوان گروه مرجع
Table 4. Accuracy of genomic evaluation (\pm standard error) using all animals of generations before validation group as reference population

	Generation (s)				
	Generation 1	Generations 1 to 2	Generation 4	Generations 3 to 4	Generations 1 to 4
Number of animals in reference population	2500	5000	2500	5000	10000
	0.88 (0.01)	0.91 (0.01)	0.91 (0.01)	0.92 (0.01)	0.94 (0.01)

* Animals in generation 5 were validation set

* گروه تایید شامل حیوانات نسل پنجم می‌باشد.

نیستند در جمعیت مرجع، اهمیت کمتری دارد. البته شایان بیان است که در همه شرایط وجود گاوهای نر برتر آزمون نتاج و تعیین ژنوتیپ شده در جمعیت مرجع (به دلیل درستی بالای ارزش‌های اصلاحی) در ارزیابی ژنگانی قابل چشم‌پوشی نیست.

سپاسگزاری

مقاله حاضر حاصل طرح تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی با عنوان "تعیین استراتژی مناسب برای انتخاب جامعه مرجع در ارزیابی ژنومیک گاوهای شیری" مصوب تیرماه سال ۱۳۹۳ بوده و بدین وسیله از حمایت‌های مالی معاونت پژوهشی این دانشگاه، تشکر و قدردانی می‌گردد.

نتیجه‌گیری کلی

در شرایطی که نسبت کمی (به‌طور مثال ۱۰ درصد) از جمعیت به‌عنوان گروه مرجع تعیین ژنوتیپ شوند، انتخاب حیوانات برتر و تعیین ژنوتیپ آن‌ها به‌عنوان جمعیت مرجع می‌تواند درستی ارزیابی ژنگانی را بکاهد. در چنین شرایطی بخش مهمی از واریانس ژنتیکی برای صفت موردنظر توسط نشانگرها شناسایی نمی‌شود. در این شرایط چنانچه شماری از حیواناتی که از نظر ژنتیکی برتر نیستند نیز تعیین ژنوتیپ و در جمعیت مرجع برای برآورد اثرگذاری نشانگری استفاده شوند می‌توان درستی ارزیابی‌ها را افزایش داد. چنانچه نسبت زیادی از حیوانات به‌عنوان جمعیت مرجع تعیین ژنوتیپ شوند حضور حیواناتی که از نظر ژنتیکی برتر

REFERENCES

- Boligon, A. A., Long, N., Albuquerque, L. G., Weigel, K. A., Gianola, D. & Rosa, G. J. M. (2012). Comparison of selective genotyping strategies for prediction of breeding values in a population undergoing selection. *Journal of Animal Science*, 90, 4716-4722.
- Brøndum, R. F., Rius-Vilarrasa, E., Strandén, I., Su, G., Guldbbrandtsen, B., Fikse, W. F. & Lund, M. S. (2011). Reliabilities of genomic prediction using combined reference data of the Nordic Red dairy cattle populations. *Journal Dairy Science*, 94, 4700-4707
- 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.
- Calus, M. P. L. & Veerkamp, R. F. (2007). Accuracy of breeding values when using and ignoring the polygenic effect in genomic breeding value estimating with a marker density of one SNP per CM. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 124, 362-368.
- Daetwyler, H. D., Villanueva, B. & Woolliams, J. A. (2008). Accuracy of predicting the genetic risk of disease using a genome-wide approach. *PLoS ONE*, 3, e3395.
- Dassonneville, R., Baur, A., Fritz, S., Boichard, D. & Ducrocq, V. (2012). Inclusion of cow records in genomic evaluations and impact on bias due to preferential treatment. *Genetics Selection Evolution*, 44(1), 40.
- Goddard, M. (2009). Genomic selection: Prediction of accuracy and maximisation of long term response. *Genetica*, 136, 245-257.
- Hayes, B. J. (2007). *QTL mapping, MAS and genomic selection*. A short course organized by Animal Breeding and Genetics, department of Animal Science, Iowa State University.
- Hayes, B. J., Bowman, P. J., Chamberlain, A. C., Verbyla, K. & Goddard, M. E. (2009). Accuracy of genomic breeding values in multi-breed dairy cattle populations. *Genetics Selection Evolution*, 41, 51.
- Ibañez-Escriche, N. & Gonzalez-Recio, O. (2011). Review. Promises, pitfalls and challenges of genomic selection in breeding programs. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 9(2), 404-413.
- Khansefid, M. (2010). *Genetic evaluation of animals with genotypes of bull animals for dense markers by simulation*. MS thesis, University of Tehran, Iran. (in Farsi)

12. Lourenco, D. A. L., Misztal, I., Tsuruta, S., Aguilar, I., Ezra, E., Ron, M., Shirak, A. & Weller, J. I. (2014). Methods for genomic evaluation of a relatively small genotyped dairy population and effect of genotyped cow information in multiparity analyses. *Journal of Dairy Science*, 97, 1742-1752.
13. 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.
14. 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.
15. Saatchi, M. (2009). *Estimation of breeding values using dense marker information in dairy cattle population*. Ph.D. thesis, University of Tehran, Iran. (in Farsi)
16. Schaeffer, L. R. (2006). Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 123, 1-6.
17. VanRaden, P. M., Van Tassel, C. P., Wiggans, G. R., Sonstegard, T. S., Schnabel, R. D., Taylor, J. F. & Schenkel, F. S. (2009). Invited review: Reliability of genomic predictions for North American Holstein bulls. *Journal of Dairy Science*, 92, 16-24.
18. VanRaden, P. M. & Wiggans, G. R. (1991). Derivation, calculation and use of national animal model information. *Journal of Dairy Science*, 74, 2737-2746.
19. Wientjes, Y. C. J., Veerkamp, F. R. & Calus, M. P. L. (2013). The Effect of Linkage Disequilibrium and Family Relationships on the Reliability of Genomic Prediction. *Genetics*, 193, 621-631.
20. Zhou, L., Ding, X., Zhang, Q., Wang, Y., Lund, M. S. & Su, G. (2013). Consistency of linkage disequilibrium between Chinese and Nordic Holsteins and genomic prediction for Chinese Holsteins using a joint reference population. *Genetics Selection Evolution*, 45(1), 7.