

مقایسه میزان هوموزیگوسیتی در جایگاه‌های SNP و ROH در گاوهای شیری پر تولید و کم تولید هلشتاین

حجت‌اله موسی‌پور^۱، اردشیر نجاتی‌جواری^{۲*}، محمد مرادی‌شهربابک^۲ و مهدی ساعتچی^۳
۱ و ۲. دانشجوی دکتری ژنتیک و اصلاح نژاد دام و استاد، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
۳. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایالتی آیووا، ایالات متحده آمریکا
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۸/۳۰ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۱۸)

چکیده

افزایش هوموزیگوسیتی حاصل از آمیزش حیوانات خویشاوند، به‌عنوان یکی از چالش‌های فرا روی صنعت پرورش گاو شیری می‌باشد که توجه زیادی را به خود جلب کرده است. پژوهش حاضر به منظور بررسی هوموزیگوسیتی بر مبنای جایگاه‌های SNP و ROH در دام‌های پر تولید و کم تولید هلشتاین انجام شده است. در این مطالعه، برای تعیین حیوانات کاندیدا برای تعیین ژنوتیپ از دو رویکرد تابعیت تصادفی و شاخص شجره‌ای استفاده شد. برای این منظور، نمونه‌گیری از ۱۵۰ رأس گاو شیری (۷۵ دام با ارزش اصلاحی بالا و ۷۵ دام با ارزش اصلاحی پایین برای صفت تولید شیر) انجام شد. یک روش بهینه به منظور انتخاب حیوانات کاندیدا برای تعیین ژنوتیپ، از طریق تلفیق برآوردهای حاصل از تابعیت تصادفی و شاخص شجره‌ای ارائه گردید. ارزش‌های اصلاحی ژنومی برای دو گروه نشان داد که تأکید بر افزایش سطح تولید در دام‌های پر تولید، اثر منفی بر روی صفات مرتبط با باروری ($DPR = -0.55$) و طول عمر تولیدی ($PL = 0.1$) داشته است. همچنین، میزان هوموزیگوسیتی بر مبنای ROH دامنه‌ای از تغییرات را برای کروموزوم‌های مختلف در دام‌های با سطح تولید بالا و پایین نشان داد که ممکن است با تفاوت در سطح تولید این دو گروه و پراکنش غیر یکنواخت ژن‌های مؤثر بر میزان تولید بر روی کروموزوم‌های مختلف در ارتباط باشد.

واژه‌های کلیدی: اطلاعات ژنومی، آمیزش خویشاوندی، هوموزیگوسیتی، باروری، طول عمر تولیدی، گاو شیری.

Comparison of homozygosity in SNP and ROH sites in Holstein dairy cows with high and low production levels

Hojatollah Mousapour¹, Ardeshir Nejati-Javaremi^{2*}, Mohammad Moradi-Shahrabak² and Mahdi Saatchi³

1, 2. Ph.D. Candidate in Animal Breeding and Genetics and Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

3. Assistant Professor in Animal Breeding and Genetics, Department of Animal Science, Iowa State University, USA

(Received: Nov. 21, 2017 - Accepted: Mar. 9, 2018)

ABSTRACT

Increased homozygosity resulted from mating of relatives is considered as one of the challenges faced in dairy farming industry which has attracted the attentions. This research has been conducted to measure homozygosity based on SNP and ROH in high- and low-producing Holstein cows. In current research, both random regression and pedigree index approaches were used to obtain candidate animals for genotyping process. The samples were obtained from 150 Holstein dairy cows (75 by high- and 75 by low-EBV for milk production). We proposed a suitable method, by integrating breeding value estimation calculated by random regression and pedigree index, to select the candidate animals for genotyping. The results showed that putting too much emphasis on production traits in high-producing dairy cows had negative impact on the traits associated with fertility ($DPR = -0.55$) and productive life ($PL = 0.1$). The calculated homozygosity based on ROH showed different amount of variation in different chromosomes in the cows with high and low production which may be related to uneven distribution of genes influencing production traits in different chromosomes.

Keywords: Dairy cattle, fertility, genomic information, inbreeding, homozygosity, productive life.

* Corresponding author E-mail: javaremi@ut.ac.ir

مقدمه

در طی دهه اخیر، صنعت پرورش گاو شیری با چالش‌های جدیدی در ارتباط با پایداری در سه بنیان اقتصادی، اجتماعی و زیست‌محیطی همراه شده است. انتخاب تنها برای بهبود صفات تولیدی و عدم توجه به سایر صفات در طولانی‌مدت، پرورش گاو شیری را با چالش‌های متعددی روبه‌رو کرده است. این امر در مورد نژاد هلشتاین و در ارتباط با صفات باروری در ماده‌ها، مقاومت در برابر ورم‌پستان، ماندگاری و بیماری‌های متابولیکی واضح‌تر می‌باشد (Boichard & Brochard, 2012). در این بین، استفاده از اطلاعات ژنومی، نوید بزرگی را به‌منظور مقابله با این چالش‌ها فراهم آورده است. این مورد همواره یک فرصت جدید را برای اصلاح‌نژاد پایدار در مفاهیم هدف اصلاح‌نژادی و تنوع ژنتیکی فراهم ساخته است. اطلاعات ژنومی حداقل دارای سه مزیت بالقوه برای اصلاح‌نژاد دام می‌باشند: (۱) پیش‌بینی زودتر ارزش‌های اصلاحی برای کاندیداهای انتخاب (۲) شناسایی روابط والدینی و کنترل ضرایب همخونی (۳) پایش و مدیریت تنوع ژنتیکی طی نسل‌ها (Henryon et al., 2014). با ظهور انتخاب ژنومی ضمن کاهش فاصله نسل، شدت انتخاب افزایش یافته است که به‌طور چشم‌گیری سبب افزایش پیشرفت ژنتیکی به‌ویژه در صفات با وراثت‌پذیری پایین شده است (García-Ruiz et al., 2016). تاکید بر این مورد ضروری خواهد بود که با کاهش فاصله نسلی اگر سیاست نحوه استفاده از نرهای برتر تغییر نکرده باشد، یک خطر بزرگ بالقوه برای افزایش ضرایب همخونی وجود دارد (Henryon et al., 2014). در مطالعه صورت‌گرفته در گاوهای هلشتاین ایران، برای سه دوره اول شیرواری، افت ناشی از همخونی به‌ازای هر ۱ درصد افزایش در ضریب همخونی به‌ترتیب ۱۸/۷۲، ۱۶/۱۹- و ۲۷/۳۸- کیلوگرم برای تولید شیر؛ ۰/۴۴۳، ۰/۳۶۷- و ۰/۶۹۰- کیلوگرم برای تولید چربی و ۰/۴۷۶، ۰/۴۲۵- و ۰/۶۶- کیلوگرم برای تولید پروتئین، گزارش شده است (Rokouei et al., 2010). در ایالات‌متحده، مقادیر افت تولید ناشی از همخونی بین نژادها مشابه بوده که به‌ازای هر ۱ درصد افزایش در ضریب همخونی، تولید شیر، چربی و

پروتئین در نژاد هلشتاین به‌ترتیب با کاهش ۲۹/۶، ۱/۱ و ۱ کیلوگرم به‌ازای هر دوره شیردهی مواجه گردید (Wiggans et al., 1995).
Smith et al. (1998)، گزارش کردند که ضرایب همخونی در گاوهای ثبت شده هلشتاین ایالات متحده، درآمد خالص حاصل از طول عمر تولیدی را می‌تواند با کاهش ۲۴/۴۳ \$، به‌ازای هر ۱ درصد افزایش در ضریب همخونی مواجه سازد. این میزان کاهش درآمد خالص طول عمر تولیدی برابر با کاهش طول عمر اقتصادی به‌میزان ۱۳/۱ روز می‌باشد که می‌تواند تولید شیر، چربی و پروتئین را به‌ترتیب با کاهش ۳۷/۲، ۱/۲ و ۱/۲ کیلوگرم، روبه‌رو سازد (Smith et al., 1998). بنابراین، پیشرفت ژنتیکی همراه با کنترل سطوح بهینه‌ای از ضریب همخونی، با توجه به اهمیت حفظ تنوع ژنتیکی و تعیین سطح قابل قبول از نرخ همخونی برای حفظ تنوع ژنتیکی در سطح مناسب، بسیار با اهمیت است (Pryce et al., 2012). اندازه مؤثر جمعیت در بین اغلب نژادهای دامی کمتر از ۱۰۰ می‌باشد و توزیع اربب مشارکت‌های ژنتیکی به‌علت انتخاب شدید و جهت‌دار تعداد محدودی حیوان، از جمله دلایلی است که سبب محاسبه مقادیر زیر ۱۰۰ برای اندازه مؤثر جمعیت در بسیاری از نژادهای اصلاحی شده است (Leroy et al., 2013).

استفاده از اطلاعات ژنومی تا حد زیادی می‌تواند درک ما را از معماری ژنتیکی افت ناشی از همخونی افزایش دهد (MacArthur et al., 2012). پایش از اطلاعات ژنومی، روابط شجره‌ای به‌منظور مدیریت سطوح همخونی در داخل جمعیت‌ها استفاده می‌شد. با این حال، روابط شجره‌ای بر مبنای نسبت مورد انتظاری از ژنوم است که بین دو والد دارای همسانی اجدادی می‌باشند و بنابراین نمی‌تواند تنوع ناشی از نمونه‌گیری مندلی و پیوستگی طی تشکیل گامت‌ها را توضیح دهد (Hill & Weir, 2011). یک راه دیگر برای ارزیابی نرخ ضریب همخونی، توجه به IBD¹ در سطح قطعات کروموزومی است که به‌صورت مشاهده قطعات کروموزومی همسان به‌صورت IBS² در چند نشانگر متوالی می‌باشد. زمانی که دو قطعه مشابه از کروموزوم

1. Identical by descent

2. Identical by state

شده و همچنین، تغییرات هوموزیگوسیتی بر مبنای جایگاه‌های SNP و ROH در دام‌های با تولید بالا و پایین مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تعیین حیوانات کاندیدا برای تعیین ژنوتیپ

در این مطالعه، به منظور دستیابی به یک رویکرد بهینه در ارتباط با انتخاب حیوانات کاندیدا به منظور تعیین ژنوتیپ، اطلاعات مربوط به گله گاو شیری شرکت کشت و دام قیام اصفهان از زیر مجموعه‌های هلدینگ کشاورزی و دامپروری فردوس پارس (حدود ۱۰,۰۰۰ رأس)، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در این بررسی با توجه به شرایط مدنظر از جمله: تکمیل اطلاعات دوره اول شیردهی (اوایل شکم دوم)، پدران دام‌های انتخابی (ایالات متحده و کانادا)، کاندیدای حذف نباشند و دارای اطلاعات کامل شجره و رکوردها باشند، نسبت به استخراج اطلاعات حیوانات اقدام گردید. با استخراج اطلاعات مدنظر، در مرحله بعد بر مبنای دو رویکرد مجزا از هم برآورد ارزش‌های اصلاحی مدنظر قرار گرفت. رویکرد اول، بر مبنای تابعیت تصادفی که مقادیر حاصل برای صفات تولید شیر، چربی، درصد چربی، پروتئین و درصد پروتئین مبنای عملکرد قرار گرفت. رویکرد دوم، بر مبنای شاخص شجره‌ای برای صفات تولید شیر، چربی، درصد چربی، پروتئین، درصد پروتئین، SCS (Somatic Cell Score)، DPR (Daughter Pregnancy Rate)، PL (Productive Life) و NM\$ (Net Merit Dollar) با لحاظ داشتن رابطه (۱) نسبت به انتخاب ۱۵۰ رأس دام ماده اقدام گردید:

$$EBV_{(Selected\ Candidates)} = \frac{1}{2} BV_{Sire} + \frac{1}{4} BV_{M.G.S} + \frac{1}{8} BV_{M.G.G.S} + \dots \quad (1)$$

حیوانات انتخابی در دو گروه با ارزش اصلاحی بالا (۷۵ رأس) و ارزش اصلاحی پایین (۷۵ رأس) برای صفت تولید شیر مدنظر قرار گرفتند. در انتخاب دام‌ها مبنای انتخاب تابعیت تصادفی لحاظ شد که برای این منظور با توجه به تحت رکورد بودن گله نمونه‌گیری شده توسط مرکز اصلاح‌نژاد دام کشور از اطلاعات ارائه شده توسط مرکز استفاده شد و در ادامه برای این گروه از دام‌ها بر

به صورت همزمان به یک فرد به ارث برسد، یک ناحیه ناگسستنی از هوموزیگوسیتی (ROH) به وجود خواهد آمد که طی آن تعداد مشخصی از آلل‌ها در n نشانگر مجاور در دو کروموزوم هومولوگ مشابه خواهد بود و در نتیجه این ناحیه دچار نوترکیبی نشده و ناگسستنی خواهد بود (Pryce et al., 2012). اشتراک‌گذاری طولی ROH در بین افراد مختلف، به احتمال زیاد ناشی از IBD بین قطعات کروموزومی است و نشان‌دهنده یک جد مشترک اخیر خواهد بود. در مقابل، اگر افراد ROH کوتاه‌تری را به اشتراک بگذارند، این امر می‌تواند به دلیل فاصله طولانی بین جد مشترک آن‌ها باشد که قطعات کروموزومی می‌توانند طی میوزهای مکرر شکسته شوند (Curik et al., 2014; Pryce et al., 2012; Purfield et al., 2012). افراد با میزان رابطه خویشاوندی ژنومی یا شجره‌ای مشابه می‌توانند نسبت‌های متفاوتی از همسانی ROH را داشته باشند. بنابراین، ROH می‌تواند به منظور مشخص نمودن دقیق‌تر تنوع خویشاوندی در سطح ژنوم مورد استفاده قرار گیرد که به وسیله هر دو مورد شجره یا GRM¹ قابل شناسایی نیست (Pryce et al., 2012). دسترسی به اطلاعات ژنوتیپ حیوانات در سطح گله، اجازه دسترسی به برنامه‌های کاربردی جدید و سودآور را فراهم می‌کند و این اطلاعات می‌توانند به منظور نظارت و حفظ تنوع ژنتیکی در سطح گله به کار گرفته شوند. اما معیار مهم برای سودآور بودن تعیین ژنوتیپ، میزان پتانسیل افزایش سود در روند انتخاب افراد برتر است (Boichard et al., 2015).

در این مطالعه، با توجه به اهمیت حفظ تنوع ژنتیکی و به منظور دستیابی به یک رویکرد مناسب و دقیق در ارتباط با انتخاب حیوانات کاندیدا، به عنوان یکی از چالش‌های مطرح در زمینه تعیین حیوانات کاندیدا برای تعیین ژنوتیپ در سطح جمعیت‌ها، دو رویکرد مجزا از هم در ارتباط با برآورد ارزش‌های اصلاحی تحت آزمون قرار گرفتند و در ادامه با دسترسی به ارزش‌های اصلاحی ژنومی (GEBV) از حیوانات ژنوتیپ شده، عملکرد رویه‌های به کارگیری

1. Genomic relationship matrix

CDCB^۲ می‌باشند. ارزش‌های ژنومی حاصل برای صفات تولیدی، باروری و ماندگاری به تفکیک دام‌های با سطح تولید بالا و پایین در جدول ۲، ارائه شده است. اطلاعات کامل تراشه استفاده‌شده برای تعیین ژنوتیپ و ارزیابی ژنومی از طریق لینک http://genomics.neogen.com/pdf/AG267_GGP (BovineLD.pdf) قابل دسترسی می‌باشد.

پالایش اطلاعات حاصل از تعیین ژنوتیپ

قبل از انجام تجزیه و تحلیل‌های مرتبط بر روی ژنوتیپ‌ها، کلیه ژنوتیپ‌ها بر اساس حداقل و حداکثر آستانه‌های تعیین شده، با استفاده از نرم‌افزار Plink (v1.09) تحت کنترل کیفیت و پالایش قرار گرفتند که کلیه SNP‌هایی که در خارج از دامنه‌های تعریف شده بودند از منبع اطلاعاتی مربوطه حذف گردیدند (Purcell *et al.*, 2007). معیارهایی که مدنظر بود، شامل: حداقل فراوانی‌های آللی ($MAF > 0.02$)، آزمون تعادل هاردی- واینبرگ ($p\text{-value} < 10^{-6}$) (HWE)، نرخ تعیین ژنوتیپ ($CR > 0.95$) و افراد با ژنوتیپ از دست‌رفته ($MG < 0.05$)؛ که طی این مرحله در مجموع اطلاعات ۷/۱۸۳ نشانگر SNP با توجه به آستانه‌های تعیین‌شده حذف شدند. بنابراین، با در نظرگرفتن تعداد ۱۵۰ رأس دام ماده که برای نمونه‌گیری و تعیین ژنوتیپ انتخاب شده بودند، تعداد ۲ رأس از این دام‌ها نیز به‌دلیل ژنوتیپ کاملاً همسان با لحاظ‌کردن تمام موارد محتمل و آزمون مجدد از منبع اطلاعاتی حذف گردیدند. در نهایت، اطلاعات مربوط به ۱۴۸ رأس دام با ۲۲/۹۲۵ نشانگر SNP مدنظر قرار گرفت. مطابقت SNP‌های ژنوم با نواحی مدنظر از طریق مطابقت با اطلاعات ژنوم مرجع گاو UMD3.1.1 و همچنین اطلاعات SNP annotations فراهم‌شده توسط شرکت Illumina انجام گردید.

برآورد ضرایب همخونی و هوموزیگوسیتی بر مبنای جایگاه‌های SNP و ROH
به‌منظور برآورد ضرایب همخونی و هوموزیگوسیتی بر

مبنای شاخص شجره‌ای اشاره شده در رابطه (۱)، برآورد ارزش‌های اصلاحی به‌عنوان رویکرد دوم انجام گردید. به‌منظور دستیابی به یک برآورد مناسب از صفات، تلفیق اطلاعات حاصل از رویکرد اول و دوم لحاظ شد که برای این منظور میانگین ارزش‌های اصلاحی حاصل از دو رویکرد استفاده گردید. برای صفات SCS, PL, DPR و NM\$ با توجه به نبود اطلاعات در رویکرد تابعیت تصادفی از اطلاعات شاخص شجره‌ای استفاده شد.

نمونه‌گیری و تعیین ژنوتیپ حیوانات

با تعیین حیوانات مدنظر برای تعیین ژنوتیپ، با هماهنگی هلدینگ کشاورزی و دامپروری فردوس پارس، نسبت به نمونه‌گیری از دام‌ها اقدام گردید. برای این منظور نمونه‌های فولیکول مو (۵۰-۸۰ رشته)، بعد از جداسازی از ناحیه انتهای دم به کارت‌های نمونه‌گیری فراهم‌شده توسط شرکت GeneSeek (Lincoln, NE) انتقال داده شد. بعد از اتمام مراحل نمونه‌گیری، کلیه کارت‌های مو به آزمایشگاه بیوتکنولوژی گروه علوم دامی دانشگاه تهران منتقل گردید و طبق دستورالعمل ارائه‌شده توسط شرکت GeneSeek به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌منظور استریل‌سازی تحت تیمار حرارتی قرار گرفت، بعد از اتمام این مرحله کلیه کارت‌های مو برای تعیین ژنوتیپ با استفاده از تراشه Low Density Genomic Profiler™ (GGP-LD) GeneSeek® برای GeneSeek[®] ارسال شدند (تراشه اشاره‌شده با همکاری^۱ USDA-ARS و شرکت Illumina طراحی شده است و در طراحی آن از اطلاعات تراشه‌های ۵۰K، ۱۵۰K و ۷۷۰k شرکت Illumina استفاده شده است).

ارزش‌های اصلاحی ژنومی

بعد از تعیین ژنوتیپ و ارزیابی‌های ژنومی توسط شرکت GeneSeek، اطلاعات مربوط به ژنوتیپ و GEBV دام‌ها در دسترس قرار گرفت که ارزش‌های ژنومی ارائه‌شده، طبق اعلام شرکت GeneSeek دارای همبستگی بالای ۹۰ درصد با ارزیابی‌های رسمی

1. United States Department of Agriculture–
Agricultural Research Service

شماره ۱ در گاو می‌باشد. بنابراین F_{ROH} به صورت یک تفسیر بیولوژیکی روشن است که می‌تواند به راحتی در مقادیر کروموزوم‌های فرد تقسیم‌بندی شود.

تجزیه و تحلیل نتایج حاصل

با دستیابی به اطلاعات GEBV و هوموزیگوسیتی مبتنی بر جایگاه‌های SNP و ROH، تغییرات هر یک از این مقادیر و معیارها با توجه به اصول مدنظر مورد بررسی قرار گرفت. از جمله بررسی ارتباط بین ضرایب همخونی (F_{SNP}) و هوموزیگوسیتی در سطوح مختلف (F_{ROH}) و همچنین، تغییرات مقادیر GEBV، در دام‌های با سطح تولید بالا و پایین که به منظور محاسبه ضرایب همبستگی پیرسون برای میزان و جهت تغییرات متغیرها از برنامه R استفاده گردید (Team, 2014).

نتایج و بحث

با تعیین ژنوتیپ دام‌های ماده انتخابی و دسترسی به اطلاعات GEBV، ضریب همبستگی بین این مقادیر با ارزش‌های اصلاحی برآورد شده بر مبنای تابعیت تصادفی و شاخص شجره‌ای (در مرحله نمونه‌گیری)، محاسبه گردید که ضرایب حاصل به شرح جدول ۱ بودند. دامنه ضرایب همبستگی محاسبه شده بین ۰/۳۱ تا ۰/۵۱ بود که با توجه به نبود منبع اطلاعاتی برای SCS، NMS، PL و DPR بر مبنای تابعیت تصادفی، ضرایب همبستگی برای این صفات محاسبه نشد. حداکثر مقدار ضرایب همبستگی برآورد شده برای صفات شیر و درصد پروتئین به میزان ۰/۵۱ بر مبنای تابعیت تصادفی و حداقل مقدار آن برای درصد چربی و درصد پروتئین به میزان ۰/۳۱ به ترتیب بر مبنای تابعیت تصادفی و شاخص شجره‌ای بود. نتایج مندرج در جدول ۱، نشان می‌دهد که برآوردهای صورت گرفته بر مبنای تابعیت تصادفی با توجه به گستره منابع اطلاعاتی در دسترس، در مجموع برای صفات تولیدی، ضرایب همبستگی بالاتری را نسبت به برآوردهای صورت گرفته بر مبنای شاخص شجره‌ای حاصل کرده است. با این حال، قابلیت شاخص شجره‌ای در برآورد ارزش‌های اصلاحی به خصوص برای صفاتی که دارای مقادیر ثبت شده در منابع اطلاعاتی نمی‌باشند، بسیار قابل توجه خواهد بود. به عبارت بهتر، استفاده از

مبنای جایگاه‌های SNP و ROH، از نرم‌افزار Plink (v1.09) استفاده شد. برآورد ضرایب همخونی بر مبنای جایگاه‌های SNP می‌تواند به صورت رابطه (۲) خلاصه شود (Purcell et al., 2007).

$$F_{SNP} = \frac{O(HOM) - E(HOM)}{E(HOM)} \quad (2)$$

در رابطه ارائه شده O(HOM) و E(HOM) به ترتیب هوموزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار بر مبنای جایگاه‌های SNP می‌باشند. نرم‌افزار Plink از رویکرد Sliding windows به منظور مشخص نمودن ROH به عنوان یک بسط که شامل حداقل تعداد مشخص از SNP‌های هوموزیگوس در داخل یک فاصله مشخص (kb) می‌باشد، استفاده می‌کند. در این مورد برای انجام محاسبات ROH در سطح گروه‌های مدنظر، طول‌های متفاوتی از SNP‌ها، شامل قطعات ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ تایی از SNP‌ها مورد بررسی قرار گرفتند که بر اساس نتایج حاصل، میزان ضرایب همخونی و هوموزیگوسیتی در کروموزوم‌های ۱ تا ۲۹ و همچنین در مجموع ژنوم اتوزوم برای جمعیت‌ها برآورد گردید این برآوردها می‌تواند بر مبنای رابطه (۳) خلاصه شوند (McQuillan et al., 2008).

$$F_{ROH} = \frac{\sum L_{ROH}}{L_{Autosome}} \quad (3)$$

در رابطه ارائه شده، F_{ROH} ضریب همخونی بر مبنای ROH، L_{ROH} مجموع طول‌های قطعات هوموزیگوس در طول ژنوم اتوزوم و $L_{Autosome}$ طول کلی ژنوم اتوزوم، در گاو می‌باشند که بر مبنای ژنوم مرجع گاو (UMD3.1.1)، ۲،۵۱۲،۰۹۰ kb در نظر گرفته شد. رابطه بالا همچنین برای هر یک از کروموزوم‌های ۱ تا ۲۹ و در طول‌های متفاوت از SNP‌ها (۱۰ تا ۵۰۰) برای برآورد ضرایب همخونی می‌تواند بر مبنای رابطه (۴) تغییر می‌یابد (McQuillan et al., 2008).

$$F_{(ROH_k/Chr_l)} = \frac{\sum L_{(ROH_k/Chr_l)}}{L_{Chr_l}} \quad (4)$$

که در اینجا $F_{(ROH_k/Chr_l)}$ ضریب همخونی بر مبنای ROH در k امین طول از SNP‌ها در امین کروموزوم اتوزوم می‌باشد. $\sum L_{(ROH_k/Chr_l)}$ مجموع طول قطعات هوموزیگوس در k امین طول از SNP‌ها برای کروموزوم شماره ۱ و L_{Chr_l} طول کلی کروموزوم

حاصل برای هر دو گروه جمعیتی در جدول ۲، ارائه شده است. نتایج مندرج در جدول ۲، نشان می‌دهد که دام‌های با سطح تولید بالا در مقایسه با گروه مقابل، عملکرد پایینی در صفات طول عمر تولیدی و باروری دارند که با سطح بالای تولید شیر در تعامل است (Walsh *et al.*, 2011). برآورد هوموزیگوسیتی بر مبنای جایگاه‌های SNP، دامنه تغییرات محدودی را برای دو گروه ارائه می‌دهد، به طوری که ضرایب همخونی (F_{SNP}) برای دو گروه با تولید بالا و پایین، به ترتیب ۰/۲ و ۰/۱۹ حاصل شد که با توجه به مبنای انتخاب دام‌ها در دو گروه با حداکثر و حداقل ارزش اصلاحی برای صفت تولید شیر و همچنین تاکید بر منشأ پدران از ایالات متحده و کانادا، نشان‌دهنده سطوح بالای هوموزیگوسیتی در دو گروه است. با توجه به منشأ جمعیت، میزان اطلاعات در دسترس و همچنین روش به‌کارگیری شده برای محاسبه ضرایب همخونی، دامنه‌ای از مقادیر برای ضرایب همخونی گزارش شده است. به‌عنوان مثال، میانگین ضریب همخونی برای نژاد هلشتاین در ایران ۲/۹ درصد محاسبه شده است که در دامنه صفر تا ۴۷/۰۳ درصد متغیر بوده است (Rokouei *et al.*, 2010). همان‌طور که در مقدمه نیز اشاره شد، حیوانات با سطوح هوموزیگوسیتی یکسان بر مبنای اطلاعات شجره یا F_{SNP} حاصل از نشانگرهای SNP، سطوح متفاوتی از همسانی بر مبنای ROH را می‌توانند داشته باشند که برای مشخص نمودن تنوع دقیق‌تر خویشاوندی در سطح ژنوم با اهمیت خواهد بود (Pryce *et al.*, 2012).

شاخص شجره‌ای در برآورد ارزش‌های اصلاحی با توجه به قابلیت دسترسی آن و هزینه پایین محاسباتی برای جمعیت، می‌تواند به‌عنوان یک رویکرد مناسب در ارتباط با برآورد ارزش‌های اصلاحی برای صفات مختلف مطرح باشد. استفاده از شاخص شجره‌ای به‌منظور برآورد ارزش‌های اصلاحی و تفکیک جمعیت‌ها حائز اهمیت بوده است (Lagerkvist *et al.*, 1994; Su *et al.*, 2012). باید به این نکته توجه شود که گستره منابع اطلاعاتی مورد استفاده برای هر یک از رویکردهای مبتنی بر تابعیت تصادفی یا شاخص شجره‌ای، بسیار اهمیت دارد. بنابراین، دیدگاه منطقی در ارتباط با این رویکردها و به‌منظور دستیابی به برآوردهای مناسب از ارزش‌های اصلاحی، می‌تواند از طریق تلفیق و وزن‌دهی به نتایج حاصل از هر دو رویکرد حاصل گردد که این وزن‌دهی با توجه به گستره منابع اطلاعاتی در دسترس، می‌تواند متفاوت باشد. با تلفیق برآوردهای حاصل از رویه‌های شاخص شجره‌ای و تابعیت تصادفی، یک بهبود مناسب در ضرایب همبستگی حاصل گردید که در تطابق با مقادیر جدول ۱، ارائه گردیده است. نتایج ارائه‌شده در جدول ۱، یک بهبود نسبی برای ضرایب همبستگی مرتبط با صفات تولید شیر، چربی، درصد چربی، پروتئین و درصد پروتئین ارائه داده است. بنابراین، نتایج حاصل نشان می‌دهد به‌منظور دستیابی به برآوردهای با صحت بالاتر، تلفیق اطلاعات حاصل از تابعیت تصادفی و شاخص شجره‌ای، رویکرد مناسبی در ارتباط با انتخاب حیوانات کاندیدا خواهد بود. با دستیابی به اطلاعات GEBV، میانگین مقادیر

جدول ۱. ضرایب همبستگی محاسبه‌شده بین ارزش‌های اصلاحی برآوردشده برای صفات مختلف با استفاده از تابعیت تصادفی، شاخص

شجره‌ای و مقادیر تلفیق‌شده (تابعیت تصادفی + شاخص شجره‌ای) با ارزش‌های اصلاحی ژنومی (GEBV) حاصل از ارزیابی ژنومی

Table 1. The Correlation coefficients between estimated breeding values for different traits using random regression, pedigree index, and integrated values (random regression + pedigree index) with genomic estimated breeding values (GEBVs)

Methods/Traits	NM\$ ⁴	Milk	Fat	%Fat	Protein	%Protein	SCS ⁵	PL ⁶	DPR ⁷
R.R ¹	-	0.51	0.37	0.31	0.46	0.51	-	-	-
P.I ²	0.41	0.43	0.39	0.34	0.42	0.31	0.38	0.5	0.37
Integrated ³	0.41	0.54	0.47	0.37	0.51	0.53	0.38	0.5	0.37

1. Random Regression; 2. Pedigree Index; 3. Integrated (Random Regression + Pedigree Index); 4. Net Merit Dollar; 5. Somatic Cell Score; 6. Productive Life; 7. Daughter Pregnancy Rate

جدول ۲. میانگین مقادیر GEBV برای گروه دام‌های با سطوح تولید بالا و پایین

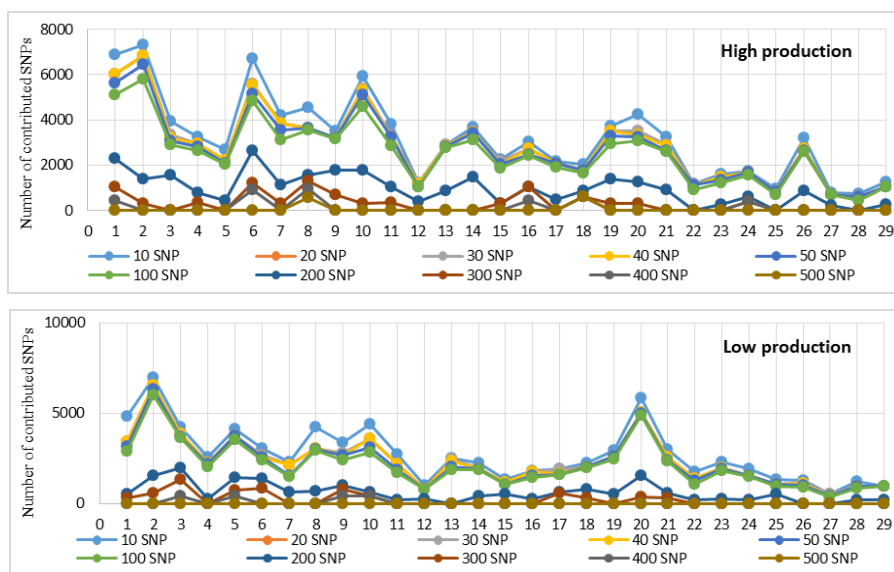
Table 2. The average GEBVs in the group of cows with high and low production levels

Group/Traits	Milk	Fat	%Fat	Protein	%Protein	SCS	PL	DPR
High	770.8	10.3	-0.068	15.18	-0.031	3.01	0.1	-0.55
Low	13.1	-0.92	-0.005	0.065	-0.0026	2.97	0.41	0.32

مصنوعی با شدت بالا می‌باشد. افزایش سطوح هوموزیگوسیتی در کروموزوم شماره ۶ نژاد قرمز نروژی با انتخاب‌های صورت گرفته برای افزایش تولید شیر در ارتباط بوده است (Hayes *et al.*, 2008). بنابراین، سطوح هوموزیگوسیتی در کروموزوم‌های مختلف با توجه به موقعیت QTL‌های مؤثر بر صفات می‌تواند با انتخاب‌های صورت گرفته برای این صفات در تعامل باشد.

مطالعات نشان داده است که ضرایب بالای همخونی و به تبعیت از آن هوموزیگوسیتی بالا، حاصل شدت انتخاب بالا برای صفات معین است که منجر به قطعات هوموزیگوس بزرگ در اطراف QTL برای افراد انتخاب‌شده می‌گردد (Sonesson & Woolliams, 2010). بنابراین، ROH بزرگ، اشاره به اجداد مشترک اخیر دارد (Keller *et al.*, 2011; Purfield *et al.*, 2012). در حالی که ROH کوتاه‌تر بیانگر اجداد مشترک دورتر در جمعیت خواهد بود (Bjelland *et al.*, 2013). در مجموع، فراوانی قطعات ROH با افزایش طول ROH، با کاهش همراه می‌شود. در جدول ۳، همبستگی بین ضرایب همخونی مبتنی بر جایگاه‌های SNP و ROH، با توجه به طول متفاوت قطعات ROH، در دامنه ۰/۲۲ تا ۰/۸۱ متغیر بود که به صورت مشخص با افزایش طول قطعات این همبستگی کاهش می‌یابد.

بنابراین، برآوردها بر مبنای ROH، دامنه‌ای از تغییرات را برای هر دو گروه در کروموزوم‌های ۱ تا ۲۹ ارائه داد. تعداد SNP‌های مشارکت‌کننده در طول‌های متفاوت ROH، برای دام‌های با سطح تولید بالا و پایین در شکل ۱ ارائه شده است. نتایج نمودار شده در شکل ۱، در طول‌های مختلف ROH، نشان می‌دهد که دام‌های با سطح تولید پایین، هوموزیگوسیتی بالایی در کروموزوم‌های شماره ۳، ۵، ۲۰، ۲۲، ۲۳، ۲۵ و ۲۸ نسبت به گروه مقابل دارند. به‌عنوان مثال، در کروموزوم شماره ۲۰ میانگین تعداد SNP مشارکت‌کننده در طول‌های مختلف ROH برای دام‌های پر تولید و کم تولید به ترتیب ۲/۲۵۳ و ۳/۲۶۷ نشانگر می‌باشد. همچنین، نتایج حاصل نشان می‌دهد که دام‌های با سطح تولید بالا درجه بالایی از هوموزیگوسیتی را بر مبنای ROH، در کروموزوم‌های معین (۱، ۶، ۸، ۱۰، ۱۴، ۱۶ و ۲۶) نشان می‌دهند. به‌عنوان مثال، در کروموزوم شماره ۶ میانگین تعداد SNP مشارکت‌کننده در طول‌های مختلف ROH برای دام‌های پر تولید و کم تولید به ترتیب ۳/۸۲۲ و ۱/۸۱۹ نشانگر می‌باشد. مطالعات نشان داده است که انتخاب برای صفات تولیدی می‌تواند سبب افزایش سطوح هوموزیگوسیتی در جایگاه‌های مرتبط با این صفات شود که ناشی از انتخاب



شکل ۱. تعداد SNP‌های مشارکت‌کننده (محور y) در طول‌های متفاوت ROH (نقطه‌های رنگی مشخص‌شده)، برای دام‌های با تولید بالا و پایین در کروموزوم‌های مختلف (محور x)

Figure 1. Number of contributed SNPs (y-axis) in different lengths of ROH (specified colored dots) for cows with high and low production in different chromosomes (x-axis)

جدول ۳. ضرایب همبستگی بین F_{ROH} و F_{SNP} در طول متفاوت قطعات ROH

Table 3. The correlation coefficients between F_{ROH} and F_{SNP} in different length of runs of homozygosity

SNP/ROH	F_{ROH10}	F_{ROH20}	F_{ROH30}	F_{ROH40}	F_{ROH50}	F_{ROH100}	F_{ROH200}	F_{ROH300}	F_{ROH400}	F_{ROH500}
F_{SNP}	0.81	0.8	0.79	0.79	0.79	0.76	0.62	0.49	0.4	0.22

صفت تولید شیر کروموزوم شماره ۱۴ با تعداد ۱۰۲۲ QTL و برای صفت نرخ آبستنی دختران کروموزوم شماره ۳ با تعداد ۶۱ QTL عمده جایگاه‌های مرتبط با صفات اشاره شده را در بر گرفته‌اند.

نتایج حاصل نشان می‌دهد افزایش سطوح تولید با تغییرات منفی برای صفات مرتبط با باروری و ماندگاری همراه بوده است. بنابراین، سطح بالای تولید می‌تواند صفات تولیدمثلی را در سطوح مختلفی تحت تأثیر قرار دهد که ارائه دهنده یک همبستگی منفی بین سطوح تولید و صفات مرتبط با تولیدمثل خواهد بود (Pryce *et al.*, 2012; Walsh *et al.*, 2011). مطالعات نشان می‌دهد که توزیع ROH در سراسر ژنوم حیواناتی که تحت انتخاب بوده‌اند در مقایسه با حیواناتی که تحت انتخاب نبوده‌اند، بسیار متغیر می‌باشد (Kim *et al.*, 2013). ضریب همبستگی بین صفات تولیدی و باروری به خوبی بر این نکته تأکید دارد که با افزایش طول قطعات هوموزیگوس، با توجه به مبنای انتخاب، صفات مرتبط با تولید، باروری و ماندگاری تحت آثار متفاوتی قرار خواهند گرفت. به عبارت بهتر، افزایش هوموزیگوسیتی (مطلوب) در جایگاه‌های مرتبط با صفات، در راستای بهبود عملکرد دام‌ها به لحاظ شاخص‌های تولیدی، با توجه به همبستگی منفی بین این دسته از صفات با صفات مرتبط با باروری و ماندگاری، تغییرات منفی این گروه از صفات را به دنبال خواهد داشت (Ismael *et al.*, 2016). مطالعات نشان داده است که تأکید بر ارتقای صفات، بدون در نظر گرفتن تغییرات ضرایب همخونی و افت ناشی از آن، با اریب همراه خواهد بود (Pryce *et al.*, 2012). بنابراین، به منظور دستیابی به تغییرات پایدار صفات، پیش هوموزیگوسیتی در جایگاه‌های SNP و ROH (به‌عنوان مولفه‌ای از هوموزیگوسیتی پایدار) در سطح جمعیت‌ها با اهمیت می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تلفیق

مطالعات نشان داده است که همبستگی بین ضرایب همخونی مبتنی بر F_{ROH} و F_{SNP} با توجه به ماهیت جمعیت و طول در نظر گرفته شده برای ROH، می‌تواند مقادیر متغیری را به خود اختصاص دهد (Marras *et al.*, 2015). انتخاب برای بهبود صفات با افزایش سطوح هوموزیگوسیتی (قطعات بزرگ ROH) در ارتباط می‌باشد که سبب افزایش همسانی در نواحی خاصی از ژنوم برای جمعیت انتخابی شده است (Kim *et al.*, 2013). علی‌رغم انتخاب‌های شدید در نژاد هلشتاین و افزایش هوموزیگوسیتی در این نژاد، بر مبنای اطلاعات موجود، هیچ‌گونه نشانه آشکاری از رسیدن به حد انتخاب وجود ندارد (Hill & Kirkpatrick, 2010). بنابراین، یک تعامل در جمعیت‌های گاو شیری برای ایجاد یکنواختی (گله) در جهت ارتقای سطح تولید در حالی که اثر نامطلوب ناشی از ضرایب همخونی (افت ناشی از همخونی در صفات تولیدمثلی و ماندگاری) به حداقل میزان خود سوق داده می‌شود، وجود خواهد داشت (Hill & Kirkpatrick, 2010). با این حال، با بررسی تغییرات مقادیر حاصل از GEBV با مقادیر هوموزیگوسیتی در جایگاه‌های SNP و ROH، دامنه‌ای از تغییرات برای این صفات در دسترس خواهد بود. به‌طور ویژه، سطوح هوموزیگوسیتی در کروموزوم‌های شماره ۳، ۵، ۲۰، ۲۲، ۲۳، ۲۵ و ۲۸ در گروه دام‌های با سطح تولید بالا و پایین وجود یک ارتباط منفی با صفات تولیدی را نشان می‌دهد که در دام‌های با تولید پایین مشهود خواهد بود. به عبارت بهتر، اثرگذاری سطوح هوموزیگوسیتی با توجه به جایگاه‌های صفات در کروموزوم‌های مختلف آثار متفاوتی به همراه خواهد داشت.

بر اساس اطلاعات ارائه شده در پایگاه https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/BT/ontrait?trait_ID=1468 تا دسامبر ۲۰۱۷، برای صفات تولید شیر و نرخ آبستنی دختران به ترتیب ۲۰۰۸ و ۸۳۸ QTL شناسایی شده است که برای

هوموزیگوسیتی در کروموزوم‌های مختلف اثرات متفاوتی در ارتباط با صفات تولیدی، باروری و ماندگاری به همراه خواهد داشت. نتایج حاصل بر این نکته تاکید دارند که به منظور دستیابی به یک انتخاب مناسب در صنعت پرورش گاو شیری، توجه همزمان به سطوح هوموزیگوسیتی و تعامل آن با صفات مرتبط با تولید، باروری و ماندگاری در برنامه‌های اصلاح‌نژادی بسیار با اهمیت خواهد بود.

سپاسگزاری

شرکت گسترش کشاورزی و دامپروری فردوس پارس برای فراهم‌نمودن اطلاعات مربوط به حیوانات و امکانات نمونه‌برداری، تشکر و قدردانی می‌گردد.

برآوردهای حاصل از تابعیت تصادفی و شاخص شجره‌ای، به‌عنوان یک رویکرد بهینه در ارتباط با انتخاب دقیق حیوانات کاندیدا به‌منظور تعیین ژنوتیپ مطرح خواهد بود که به‌نحو مؤثری می‌تواند در راستای برنامه‌های اصلاح‌نژادی به‌کار گرفته شود. برآورد سطوح هوموزیگوسیتی بر مبنای ROH، دامنه‌ای از تغییرات را برای دام‌های با سطح تولید بالا و پایین ارائه داد که با استفاده از جایگاه‌های SNP به صورت مجزا قابل شناسایی نبود. نتایج حاصل نشان داد که افزایش سطوح هوموزیگوسیتی با توجه به جایگاه‌های صفات در کروموزوم‌های مختلف، می‌تواند در دام‌های با سطح تولید بالا و پایین متفاوت باشد. بنابراین، ماهیت تغییرات

REFERENCES

1. Bjelland, D., Weigel, K., Vukasinovic, N. & Nkrumah, J. (2013). Evaluation of inbreeding depression in Holstein cattle using whole-genome SNP markers and alternative measures of genomic inbreeding. *Journal of Dairy Science* 96, 4697-4706.
2. Boichard, D. & Brochard, M. (2012). New phenotypes for new breeding goals in dairy cattle. *Animal* 6, 544-550.
3. Boichard, D., Ducrocq, V. & Fritz, S. (2015). Sustainable dairy cattle selection in the genomic era. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 132, 135-143.
4. Curik, I., Ferencaković, M. & Sölkner, J. (2014). Inbreeding and runs of homozygosity: a possible solution to an old problem. *Livestock Science* 166, 26-34.
5. García-Ruiz, A., Cole, J.B., VanRaden, P.M., Wiggans, G.R., Ruiz-López, F.J. & Van Tassell, C.P. (2016). Changes in genetic selection differentials and generation intervals in US Holstein dairy cattle as a result of genomic selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 201519061.
6. Hayes, B.J., Lien, S., Nilsen, H., Olsen, H.G., Berg, P., Maceachern, S., Potter, S. & Meuwissen, T. (2008). The origin of selection signatures on bovine chromosome 6. *Animal genetics* 39, 105-111.
7. Henryon, M., Berg, P. & Sørensen, A.C. (2014). Animal-breeding schemes using genomic information need breeding plans designed to maximise long-term genetic gains. *Livestock Science* 166, 38-47.
8. Hill, W.G. & Kirkpatrick, M. (2010). What animal breeding has taught us about evolution. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 41, 1-19.
9. Hill, W.G. & Weir, B. (2011). Variation in actual relationship as a consequence of Mendelian sampling and linkage. *Genetics Research* 93, 47-64.
10. Ismael, A., Strandberg, E., Berglund, B., Kargo, M., Fogh, A. & Løvendahl, P. (2016). Genotype by environment interaction for activity-based estrus traits in relation to production level for Danish Holstein. *Journal of Dairy Science* 99, 9834-9844.
11. Keller, M.C., Visscher, P.M. & Goddard, M.E. (2011). Quantification of inbreeding due to distant ancestors and its detection using dense single nucleotide polymorphism data. *Genetics* 189, 237-249.
12. Kim, E.-S., Cole, J.B., Huson, H., Wiggans, G.R., Van Tassell, C.P., Crooker, B.A., Liu, G., Da, Y. & Sonstegard, T.S. (2013). Effect of artificial selection on runs of homozygosity in US Holstein cattle. *PLoS One* 8, e80813.
13. Lagerkvist, G., Johansson, K. & Lundeheim, N. (1994). Selection for litter size, body weight, and pelt quality in mink (*Mustela vison*): correlated responses. *Journal of Animal Science* 72, 1126-1137.
14. Leroy, G., Mary-Huard, T., Verrier, E., Danvy, S., Charvolin, E. & Danchin-Burge, C. (2013). Methods to estimate effective population size using pedigree data: Examples in dog, sheep, cattle and horse. *Genetics Selection Evolution* 45, 1.
15. MacArthur, D.G., Balasubramanian, S., Frankish, A., Huang, N., Morris, J., Walter, K., Jostins, L., Habegger, L., Pickrell, J.K. & Montgomery, S.B. (2012). A systematic survey of loss-of-function variants in human protein-coding genes. *Science* 335, 823-828.

16. Marras, G., Gaspa, G., Sorbolini, S., Dimauro, C., Ajmone-Marsan, P., Valentini, A., Williams, J.L. & Macciotta, N.P. (2015). Analysis of runs of homozygosity and their relationship with inbreeding in five cattle breeds farmed in Italy. *Animal Genetics* 46, 110-121.
17. McQuillan, R., Leutenegger, A.-L., Abdel-Rahman, R., Franklin, C.S., Pericic, M., Barac-Lauc, L., Smolej-Narancic, N., Janicijevic, B., Polasek, O. & Tenesa, A. (2008). Runs of homozygosity in European populations. *The American Journal of Human Genetics* 83, 359-372.
18. Pryce, J., Hayes, B. & Goddard, M. (2012). Novel strategies to minimize progeny inbreeding while maximizing genetic gain using genomic information. *Journal of Dairy Science* 95, 377-388.
19. Pryce, J., Royal, M., Garnsworthy, P. & Mao, I.L. (2004). Fertility in the high-producing dairy cow. *Livestock Production Science* 86, 125-135.
20. Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M.A., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., De Bakker, P.I. & Daly, M.J. (2007). PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American Journal of Human Genetics* 81, 559-575.
21. Purfield, D.C., Berry, D.P., McParland, S. & Bradley, D.G. (2012). Runs of homozygosity and population history in cattle. *Bmc Genetics* 13, 70.
22. Rokouei, M., Torshizi, R.V., Shahrabak, M.M., Sargolzaei, M. & Sørensen, A. (2010). Monitoring inbreeding trends and inbreeding depression for economically important traits of Holstein cattle in Iran. *Journal of Dairy Science* 93, 3294-3302.
23. Smith, L.A., Cassell, B. & Pearson, R. (1998). The effects of inbreeding on the lifetime performance of dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 81, 2729-2737.
24. Sonesson, A. & Woolliams, J. (2010). Maximising genetic gain whilst controlling rates of genomic inbreeding using genomic optimum contribution selection. In: *Proceedings of the 9th World Congr Genet Appl Livest Prod.*
25. Su, G., Madsen, P., Nielsen, U.S., Mäntysaari, E.A., Aamand, G.P., Christensen, O.F. & Lund, M.S. (2012). Genomic prediction for Nordic Red Cattle using one-step and selection index blending. *Journal of Dairy Science* 95, 909-917.
26. Team, R.C. (2014). R: A language and environment for statistical computing. *Vienna: R Foundation for Statistical Computing*. Available online at: <http://www.R-project.org>.
27. Walsh, S., Williams, E. & Evans, A. (2011). A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Animal Reproduction Science* 123, 127-138.
28. Wiggans, G., VanRaden, P. & Zuurbier, J. (1995). Calculation and use of inbreeding coefficients for genetic evaluation of United States dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 78, 1584-1590.