

ارزیابی ژنومی تک مرحله‌ای (Single Step GBLUP): مطالعه

موردی در ارزیابی ژنومی گاو گوشتی

Single Step GBLUP (SS-GBLUP): case study using beef cattle genomic data

یحیی محمدی^{۱*}، مرتضی ستایی مختاری^۲، محمد رزم کبیر^۳، رستم عبدالهی آرپناهی^۴

۱- استادیار، ایلام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

۲- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت

۳- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان

۴- استادیار، گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

Mohammadi Y^{*1}, Sattaei Mokhtari M², Razmkabir M³, Abdollahi-Arpanahi R⁴

1- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture,
University of Ilam

2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture,
University of Jiroft

3- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture,
University of Kurdistan

4- Assistant Professor, Department of Animal Science, Abureyhan Campus,
University of Tehran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mohamadi_yahya@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۱۴ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۵/۱۷)

چکیده

روش تک مرحله‌ای (SS-GBLUP) انتخاب ژنومی در مقایسه با روش چندمرحله‌ای، با توجه به ادغام ماتریس خویشاوندی روابط ژنومی آلی و ماتریس خویشاوندی شجره‌ای و استفاده هم‌زمان تمام حیوانات ژنوتیپ شده و نشده در مدل‌های ژنومی اخیراً کاربرد وسیعی در برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی ایفا کرده است. هدف از مطالعه اخیر مقایسه تفاوت صحت ارزیابی ژنومی برای روش‌های BLUP سنتی، G-BLUP، SNP-BLUP و SS-GBLUP برای صفت وزن لاشه در گاو گوشتی بود. نتایج این مطالعه نشان داد که متوسط صحت پیش‌بینی ژنومی روش‌های فوق به ترتیب برابر با ۰/۷۷±۰/۱۱، ۰/۸۸±۰/۲۱، ۰/۸۷±۰/۲۳ و ۰/۹۵±۰/۲۵ برآورد شد. صحت پیش‌بینی ژنومی در روش SS-GBLUP نسبت به روش‌های BLUP سنتی، G-BLUP و SNP-BLUP به ترتیب ۰/۱۸، ۰/۰۷ و ۰/۰۸ بیش‌تر برآورد شد. میانگین مربعات خطای پیش‌بینی برای روش‌های فوق به ترتیب ۳/۴۶، ۲/۲۲ و ۱/۷۶ به‌دست آمد. روش SS-GBLUP با توجه به پایین بودن میانگین مربعات خطا و بالا بودن صحت پیش‌بینی ژنومی روش مطلوب‌تری بود. ضرایب رگرسیون پیش‌بینی ژنومی برای روش‌های SNP-BLUP، G-BLUP و SS-GBLUP به ترتیب ۰/۸۱، ۰/۸۲ و ۰/۹۰ به‌دست آمد و بنابراین اریب برآوردها در SS-GBLUP نسبت به دو روش دیگر کمتر است.

واژه‌های کلیدی

انتخاب ژنومی
روش تک‌مرحله‌ای
صحت پیش‌بینی
گاو گوشتی
وزن لاشه

SS-GBLUP، SNP-BLUP، G-BLUP و روش تک مرحله‌ای SS-GBLUP بودند. تمام تجزیه‌ها برای برآورد ارزش‌های اصلاحی ژنومی به کمک نرم‌افزار MIXBLUP انجام شد (Napel et al. 2014).

مدل آماری در روش GBLUP به صورت رابطه ۱ است:

$$y = 1\mu + Zu + e \quad (1)$$

y بردار ارزش‌های فنوتیپی تصحیح شده برای اثرات ثابت $(n \times 1)$ ، μ میانگین و یا عرض از مبدأ، u بردار در برگیرنده ارزش‌های اصلاحی ژنومی $(n \times 1)$ ، e بردار اثرات تصادفی باقی مانده $(n \times 1)$ ، Z ماتریس ضرائب است که مشاهدات را به بردار ارزش‌های اصلاحی مرتبط می‌کند $(n \times p)$ و 1 نیز بردار واحد است.

روش رگرسیون ریج هم‌چنین در برخی منابع با عناوینی هم‌چون SNP-BLUP نیز بیان می‌شود و برای اولین بار در سال ۱۹۷۰ استفاده شد (Hoerl 1970)، مدل آماری این روش به صورت رابطه ۲ می‌باشد:

$$y = Zg + e \quad (2)$$

در رابطه ۲، $g \sim N(0, I\sigma_u^2)$ بردار اثرات نشانگرها $(p \times 1)$ و Z ماتریس طرح $(n \times p)$ که به مشاهدات y مربوط می‌کند. در روش تک‌مرحله‌ای به‌طور هم‌زمان از اطلاعات افراد ژنوتیپ شده و ژنوتیپ نشده به‌وسیله ترکیب ماتریس خویشاوندی ژنومی (G) و ماتریس خویشاوندی شجره‌ای (A) استفاده می‌شود. مدل آماری آن به صورت رابطه ۳ می‌باشد:

$$y = 1\mu + Za + e \quad (3)$$

در رابطه ۳، y بردار مشاهدات برای افراد ژنوتیپ شده و نشده، 1 بردار واحد، Z ماتریس طرح و a بردار اثرات ژنتیکی افزایشی که شامل مجموع اثرات ژنومی و اثرات پلی‌ژنی است. در معادله فوق فرض می‌شود که $(a \sim N(0, H\sigma_a^2))$ و H ماتریس خویشاوندی ژنتیکی تصحیح شده هستند که با ماتریس خویشاوندی براساس شجره ترکیب شده است (Legarra et al. 2009).

رابطه (۴)

$$H = \begin{bmatrix} G_{\omega} & G_{\omega}A_{11}^{-1}A_{12} \\ A_{21}A_{11}^{-1}G_{\omega} & A_{21}A_{11}^{-1}G_{\omega}A_{11}^{-1}A_{12} + A_{22} - A_{21}A_{11}^{-1}A_{12} \end{bmatrix}$$

در رابطه ۴، A_{11} یک زیر ماتریس (sub-matrix) از ماتریس خویشاوندی شجره‌ای (A) برای حیوانات ژنوتیپ شده، A_{22} یک زیر ماتریس از ماتریس A برای حیوانات ژنوتیپ نشده، A_{12}

انتخاب ژنومی^۱ در سال‌های اخیر به‌عنوان یک روش مهم برای برآورد ارزش‌های اصلاحی در دام معرفی شده است. در صنعت گاو شیری انتخاب ژنومی مشارکت بالایی برای انتخاب گاوهای نر جوان براساس ارزش‌های اصلاحی ژنومی داشته است (Hayes et al. 2009). با این حال به چند دلیل در صنعت گاو گوشتی این روش کاربرد موفقیت‌آمیزی نداشته است (Berry et al. 2016). در ابتدا انتخاب ژنومی به کمک روش چند مرحله‌ای^۲ انجام شده، که در این روش ابتدا اثرات نشانگر در جمعیت مرجع^۳ برآورد شده و سپس ارزش‌های مستقیم ژنومی^۴ در جمعیت کاندید^۵ تخمین زده می‌شود (Meuwissen et al. 2001). به دلیل معایب روش چندمرحله‌ای با توسعه مدل‌ها، روش تک مرحله‌ای^۶ پیشنهاد شد که در این روش به‌طور هم‌زمان اطلاعات ژنومی و شجره‌ای در مدل قرار داده می‌شوند. در این روش برای حیوانات تعیین ژنوتیپ شده و نشده به‌طور هم‌زمان ارزش اصلاحی ژنومی برآورد می‌شود (Legarra et al. 2009; Aguilar et al. 2010). این روش برای جمعیت‌هایی مانند گاو گوشتی که به دلیل کوچک بودن اندازه جمعیت و ارتباط ضعیف نمی‌تواند تعداد زیادی حیوان ژنوتیپ شده را داشته باشند، می‌تواند مفید باشد (Mouresan et al. 2016). لذا هدف از این مطالعه مقایسه تفاوت صحت انتخاب ژنومی برای روش‌های BLUP سنتی، G-BLUP، SNP-BLUP و روش SS-GBLUP برای صفت وزن لاشه در گاو گوشتی بود.

داده‌های فنوتیپی مورد استفاده در این مطالعه از رکوردهای وزن لاشه گوساله‌های گوشتی متولد شده بین سال‌های ۱۹۷۹ تا ۲۰۱۳ بود که توسط مرکز ژنومی و اصلاح نژاد دانشگاه واخنینگن (هلند) تهیه شد. داده‌های ژنوتیپی مورد استفاده در این تحقیق برای صفت وزن لاشه شامل ۱۰۵۸۵۲ گاو گوشتی بود. حیوانات با کمک تراشه نشانگری ۵۰ کیلوبازی از شرکت ایلومینا (Illumina, San Diego, CA) تعیین ژنوتیپ شدند. مدل‌های آماری استفاده شده در این مطالعه شامل روش‌های BLUP سنتی،

1 Genomic selection

2 Multiple step

3 Reference population

4 Direct genomic value

5 Testing Population

6 Single step

این روش‌ها از آزمون Hotelling- Williams t- test استفاده شد (Olson et al. 2011).

تعداد حیوانات در فایل داده، شجره و حیوانات ژنوتیپ شده و همچنین زمان محاسبات با روش‌های مختلف در جدول ۱ آورده شده‌است. همانطور که دیده می‌شود در روش G-BLUP و SNP-BLUP با وجود تعداد مساوی حیوانات ژنوتیپ شده و اندازه یکسان فایل ژنوتیپی، زمان تجزیه متفاوت بود. به طوری که زمان تجزیه در روش SNP-BLUP حدود ۳ برابر روش G-BLUP به دست آمد. دلیل تفاوت آن‌ها به ابعاد در معادلات مختلط (MME) برمی‌گردد. زیرا در روش G-BLUP ابعاد معادلات مختلط برابر با تعداد افراد بعلاوه تعداد سطوح اثرات ثابت است ولی در روش SNP-BLUP ابعاد ماتریس معادلات مختلط تابعی از تعداد نشانگر و اثرات ثابت است و طبیعی است که در چنین مطالعاتی تعداد نشانگرها خیلی بیش‌تر از تعداد افراد می‌باشد لذا زمان تجزیه این روش نیز بیش‌تر است. علت زمان‌بر بودن تجزیه در روش تک‌مرحله‌ای SS-GBLUP نسبت به دو روش دیگر استفاده هم‌زمان از فایل داده، شجره و حیوانات ژنوتیپ شده و همچنین تشکیل ماتریس H می‌باشد.

(A_{21}) یک زیر ماتریس از ماتریس A برای خویشاوندی بین حیوانات ژنوتیپ شده و نشده و G_w برابر با $G_w = (1 - w)G + wA_{11}$ یا ماتریس خویشاوندی ژنومی شبیه ماتریس مدل G-BLUP می‌باشد. معکوس ماتریس H به صورت رابطه ۵ می‌باشد:

$$H^{-1} = \begin{bmatrix} G_w^{-1} & 0 \\ 0 & 0 \end{bmatrix} + A^{-1} \quad \text{رابطه (۵)}$$

برای ارزیابی توانایی پیش‌بینی مدل‌ها از سه معیار زیر استفاده شد: (۱) صحت پیش‌بینی ژنومی در این مطالعه از طریق همبستگی بین ارزش اصلاحی ژنومی هر یک از روش‌ها با داده‌های فنوتیپی تصحیح شده صفت (۲) میانگین مربعات خطای پیش‌بینی ژنومی که از رابطه زیر پیش‌بینی شد (Howard et al. 2014):

$$MSE = \frac{1}{N} \sum (GBV - EBV)^2 \quad \text{رابطه (۶)}$$

در رابطه ۶، GBV و y به ترتیب ارزش اصلاحی ژنومی و فنوتیپ تصحیح شده صفت وزن لاشه و N تعداد مشاهدات می‌باشد. (۳) ضریب رگرسیون پیش‌بینی ژنومی از ضریب رگرسیون فنوتیپ تصحیح شده از پیش‌بینی GBV به دست آمد. انتظار این است که این ضریب نزدیک به یک باشد که در این حالت نشان‌دهنده این است که مقیاس ارزش اصلاحی ژنومی مشابه فنوتیپ تصحیح شده می‌باشد و اریب آن کمتر است. برای معنی‌داری هر کدام از

جدول ۱- خلاصه‌ای از تعداد رکوردها استفاده شده در معادلات پیش‌بینی ژنومی در مدل‌های مختلف

متغیرها	BLUP سنتی	G-BLUP	SNP-BLUP	SS-GBLUP
تعداد حیوانات در فایل داده	۵۵۹۸۷	۸۹۹	۸۹۹	۵۵۹۸۷
تعداد حیوانات در فایل شجره	۲۳۱۶۹۰	-	-	۲۳۱۶۹۰
تعداد حیوانات ژنوتیپ شده دارای رکورد	-	۸۹۹	۸۹۹	۳۵۰۱۹
زمان انجام تجزیه (ثانیه)	۱۹	۳۶	۱۰۸	۱۹۰۱۰

جدول ۲- مقایسه صحت انتخاب (میانگین \pm خطای معیار)، میانگین مربعات خطا و ضریب رگرسیون پیش‌بینی ژنومی در مدل‌های مختلف برای صفت وزن لاشه در گاوهای گوشتی

متغیرها	BLUP سنتی	G-BLUP	SNP-BLUP	SS-GBLUP
صحت انتخاب	۰/۸۷ \pm ۰/۱۱ ^{ct}	۰/۸۸ \pm ۰/۲۱ ^b	۰/۸۸ \pm ۰/۲۳ ^b	۰/۹۵ \pm ۰/۲۵ ^a
میانگین مربعات خطا	۳/۴۶ ^a	۲/۲۱ ^b	۲/۲۲ ^b	۱/۷۶ ^c
ضریب رگرسیون پیش‌بینی ژنومی	-	۰/۸۲	۰/۸۱	۰/۹۰

f آزمون معنی‌داری به کمک روش Hotelling- Williams t- test انجام گرفت

روش‌های ژنومی نسبت به روش سنتی، ارزش اصلاحی را با صحت بالاتری برآورد نمودند. میانگین مربعات خطای پیش‌بینی برای روش‌های BLUP سنتی، G-BLUP، SNP-BLUP و روش تک مرحله‌ای SS-GBLUP به ترتیب ۳/۴۶، ۲/۲۱، ۲/۲۲ و ۱/۷۶ به دست آمد. بنابراین، روش تک مرحله‌ای با توجه به پایین بودن میانگین مربعات خطای آن روش مطلوب‌تری می‌باشد. همچنین در مقایسه روش G-BLUP و SNP-BLUP نسبت به روش BLUP سنتی، روش‌های ژنومی با توجه به پایین بودن میانگین مربعات، روش مطلوب‌تری نسبت به روش سنتی انتخاب می‌باشند (جدول ۲). در مطالعه‌ای که با داده‌های شبیه‌سازی صورت گرفت، میانگین مربعات خطای پیش‌بینی برای روش‌های BLUP سنتی، G-BLUP و روش SS-GBLUP مورد مقایسه قرار گرفت و گزارش داده شد که MSE در روش SS-GBLUP نسبت به دو روش دیگر کوچک‌تر می‌باشد (Vitezica et al. 2011) که نتایج این مطالعه با تحقیق حاضر مطابقت داشت. ضریب رگرسیون پیش‌بینی ژنومی به ترتیب برای روش‌های G-BLUP، SNP-BLUP و SS-GBLUP برابر با ۰/۸۲، ۰/۸۱ و ۰/۹۰ برآورد شد (جدول ۲). این نشان می‌دهد که واریانس ارزش‌های اصلاحی ژنومی بیش از حد برآورد شده است. ضریب رگرسیون در روش‌های مختلف کوچک‌تر از یک برآورد شد. یک دلیل احتمالی این مساله این است که نشانگرها در LD کامل با ژن‌های عامل نبوده و لذا واریانس ژنتیکی کل به‌طور کامل محاسبه نمی‌شود. دلیل دیگر این موضوع می‌تواند این باشد که داده‌های استفاده شده در مطالعه حاضر یک نمونه تصادفی نبوده بلکه مجموعه داده انتخابی می‌باشند. با توجه به مقادیر برآورد شده، می‌توان گفت که ارزش اصلاحی ژنومی به دست آمده توسط روش SS-GBLUP نسبت به دیگر روش‌ها ناریب‌تر بوده است زیرا که ضریب رگرسیون آن به عدد یک نزدیک‌تر است. در یک مطالعه ضریب رگرسیون پیش‌بینی ژنومی با استفاده از میانگین ارزش اصلاحی والدین، SNP-BLUP، G-BLUP و SS-GBLUP برای صفت تولید شیر به ترتیب ۰/۷۳، ۰/۷۶، ۰/۷۷ و ۰/۸۰، برای صفت پروتئین ۰/۷۷/۷۷، ۰/۷۸ و ۰/۸۳ و برای صفت چربی شیر ۰/۸۳، ۰/۸۵، ۰/۸۶ و ۰/۹۰ گزارش شد (Koivula et al. 2012). نتایج این تحقیق در توافق با نتایج حاضر برای ناریب

صحت پیش‌بینی ارزیابی ژنومی چهار روش مورد مطالعه در جدول ۲ دیده می‌شود. متوسط صحت پیش‌بینی ژنومی روش‌های سنتی، G-BLUP، SNP-BLUP و روش SS-GBLUP به ترتیب برابر با ۰/۷۷±۰/۱۱، ۰/۸۸±۰/۲۱، ۰/۸۷±۰/۲۳ و ۰/۹۵±۰/۲۵ برآورد شد. صحت پیش‌بینی ژنومی در روش SS-GBLUP نسبت به روش‌های BLUP سنتی، G-BLUP و SNP-BLUP به ترتیب ۰/۱۸، ۰/۰۷ و ۰/۰۷ بیش‌تر برآورد شد. یک دلیل احتمالی برتری روش SS-GBLUP نسبت به روش‌های G-BLUP و SNP-BLUP، استفاده هم‌زمان از منابع اطلاعات ژنومی و شجره‌ای از حیوانات دارای ژنوتیپ و فاقد ژنوتیپ می‌باشد. به‌طور کلی روش‌های انتخاب ژنومی (SS-GBLUP، G-BLUP و SNP-BLUP) با توجه به توانایی برآورد اثرات نمونه‌گیری مندلی نسبت به روش سنتی انتخاب (BLUP سنتی) دارای صحت پیش‌بینی ژنومی بیش‌تری می‌باشند (Van Raden 2008). در مطالعه‌ای تفاوت صحت پیش‌بینی ژنومی روش‌های G-BLUP، SNP-BLUP و SS-GBLUP مورد بررسی قرار گرفت و نتیجه‌گیری شد که صحت پیش‌بینی ژنومی در روش SS-GBLUP نسبت به دو روش دیگر اندکی بالاتر است (Koivula et al. 2012). در مطالعه دیگر روی گاوهای گوشتی Japanese Black صحت پیش‌بینی روش‌های BLUP کلاسیک و SS-GBLUP برای صفات امتیاز ماربلینگ و وزن لاشه انجام شد و نتیجه گرفته شد که صحت پیش‌بینی روش SS-GBLUP نسبت به روش دیگر برای این دو صفت بالاتر برآورد شد (Onogi et al. 2014). از طرف دیگر همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود صحت پیش‌بینی ژنومی دو روش G-BLUP و SNP-BLUP با همدیگر برابر است. همبستگی ژنتیکی بین ارزش‌های اصلاحی ژنومی در این دو روش نیز ۹۹/۹ درصد برآورد شد. در مطالعه‌ای همبستگی ژنتیکی بین ارزش‌های اصلاحی ژنومی صفات تولیدی برای روش‌های G-BLUP و SNP-BLUP نیز ۹۹ درصد برآورد شد و مشخص شد که صحت پیش‌بینی ژنومی در این دو روش نیز اختلاف معنی‌داری نداشته و در توافق با نتایج حاضر بود (Koivula et al. 2012). از طرفی دیگر تفاوت صحت پیش‌بینی ژنومی در روش‌های G-BLUP و SNP-BLUP نسبت به روش BLUP سنتی به ترتیب ۰/۱۱۲ و ۰/۱۱۱ به دست آمد و می‌توان گفت

کمتر از روش‌های دیگر برآورد شد. با توجه به کم بودن اندازه جمعیت گاو گوشتی و پایین بودن ارتباط بین و داخل جمعیت و از طرف دیگر کم بودن تعداد دام تعیین ژنوتیپ شده در دسترس، برای بهره‌مندی از مزایای انتخاب ژنومی در صنعت گاو گوشتی، استفاده از روش ارزیابی ژنومی تک مرحله‌ای با ترکیب هر دو اطلاعات شجره‌ای و ژنومی برای افزایش صحت ارزیابی‌های ژنومی توصیه می‌شود.

بودن روش تک مرحله‌ای SS-GBLUP نسبت به دیگر روش‌ها بود.

با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان گفت که روش تک مرحله‌ای SS-GBLUP نسبت به روش‌های BLUP سنتی، G-BLUP و SNP-BLUP صحت بالاتر و میانگین مربعات خطای کمتری را برای ارزش‌های اصلاحی ژنومی در صفت وزن لاشه در گاو گوشتی برآورد نمودند. همچنین اریب ناشی از این روش نیز

منابع

- Aguilar I, Misztal I, Johnson DL, Legarra A, Tsuruta S (2010) Hot topic: A unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. *Journal Dairy Science* 93:743-752.
- Berry DP, Garcia JF, Garrick DJ (2016). Development and implementation of genomic predictions in beef cattle. *Animal Frontiers* 6:32.
- Hayes B, Bowman P, Chamberlain A and Goddard M (2009) Genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges. *Journal of Dairy Science* 92:433-443.
- Hoerl AE (1970) Ridge regression: biased estimation for non orthogonal problems. *Technometrics*. 12:55-67.
- Howard R, Carriquiry AL and Beavis WD (2014) Parametric and nonparametric statistical methods for genomic selection of traits with additive and epistatic genetic architectures. *G3* 4:1027-1046.
- Koivula M, Strandén I, Su G, Mäntysaari EA (2012) Different methods to calculate genomic predictions-Comparisons of BLUP at the single nucleotide polymorphism level, BLUP at the individual level (G-BLUP), and the one-step approach (H-BLUP). *Journal Dairy Science* 95:4065-4073.
- Legarra A, Aguilar I, Misztal I (2009) A relationship matrix including full pedigree and genomic information. *Journal Dairy Science* 92:4656-4663.
- Meuwissen THE, Hayes BJ, Goddard ME (2001) Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* 157:1819-1829.
- Mouresan EF, Altarriba J, Moreno C, Munilla S, Gonzalez-Rodriguez A, Varona L (2016) Performance of genomic selection under a single-step approach in autochthonous Spanish beef cattle populations. *Journal Animal Breeding and Genetics* 1-11.
- Napel JT, Mulder HA, Lidauer M, Strandén I, Mäntysaari E, Pool MH, Veerkamp RF (2014) MiXBLUP, the Mixed-model Best Linear Unbiased Prediction software for PCs for large genetic evaluation systems. Version 1.3.1., Wageningen, the Netherlands.
- Olson KM, VanRaden PM, Tooker ME, Cooper TA (2011) Differences among methods to validate genomic evaluations for dairy cattle. *Journal Dairy Science* 94:2613-2620.
- Onogi A, Ogino A, Komatsu T, Shoji N, Simizu K, Kurogi K, Yasumori T, Togashi K, Iwata H (2014) Genomic prediction in Japanese Black cattle: Application of a single-step approach to beef cattle. *Journal Animal Science* 92: 1931-1938
- VanRaden PM (2008) Efficient methods to compute genomic predictions. *Journal Dairy Science* 91:4414-4423.
- Vitezica ZG, Aguilar I, Misztal I, Legarra A (2011) Bias in genomic predictions for populations under selection. *Genetic Research (Camb)* 93:357-366.