دوفصلنامه ترویجی
علوم و فنون دامپروری
شماره ۴۵، بهار و تابستان ۱۴۰۳
ص‌ص: ۹~۱۸

ارزیابی ژنومی صفات رشد در جمعیت‌های طیور

• **حامد اسدالهی[۱]، سعید انصاری مهیاری[۱*]، رسول واعظ ترشیزی[۲]، حسین عمرانی[۳]، علی‌رضا احسانی[۲]**
۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۳- موسسه تحقیقات علوم دامی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، کرج، ایران

تاریخ دریافت : بهمن ۱۴۰۲ تاریخ پذیرش : فروردین ۱۴۰۳
شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۲۲۴۴۹۳۳۷
Email: hamed_asadolahi@yahoo.com

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ AASRJ.2022.359403.1259

چکیده

با توجه به اهمیت صفات مربوط به رشد، هنگام استفاده از اطلاعات ژنومی و نشانگرهای ژنتیکی برای انجام ارزیابی‌های ژنومی در سطح مزرعه با هزینه‌های بالای تعیین ژنوتیپ به عنوان یک مسئله جدی مواجه خواهیم بود. نتایج تحلیلی نشان می‌دهد که پیاده‌سازی ارزیابی‌های ژنومی توسط سطوحی از نشانگرهای با فراوانی آللی مختلف (MAF) از طریق جداسازی SNP های دارای اثر بالاتر، به عنوان یک روش مناسب غربالگری SNP ها در جهت افزایش صحت ارزیابی و کاهش هزینه‌های ژنوتیپ می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. در واقع ارزیابی ژنومی تک‌مرحله‌ای بر مبنای استفاده از MAF های مختلف می‌تواند به‌عنوان یک الگوی جدید در جهت شناسایی SNP های با اثر بالا و افزایش صحت ارزیابی‌ها مورد استفاده قرار گیرد. به طور کلی نتایج پژوهش‌های محققین مختلف نشان می‌دهد که پیاده‌سازی ارزیابی‌های ژنومی با استفاده از مقادیر مختلف MAF، در جمعیت‌های طیور می‌تواند کاهش هزینه‌ها و افزایش بهره‌وری اقتصادی را به‌همراه داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: مرغ، ارزیابی ژنومی، MAF، SNP

بیان مسئله

رشد روزافزون جمعیت موجب افزایش نیاز به منابع پروتئین حیوانی و به‌ویژه گوشت مرغ شده است. این مسئله اجرای برنامه‌های اصلاح نژادی برای افزایش وزن بدن، سرعت رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی را موجب شده است (Leahy, 2007). پیشرفت‌های ژنتیکی و بهبود مدیریت تغذیه‌ای باعث افزایش سرعت رشد و بازدهی خوراک در جوجه‌های گوشتی شده است. جوجه‌های گوشتی در سال ۱۹۵۰ در مدت ۱۴ هفته به وزن ارائه به بازار می‌رسیدند (Havenstein, et al., 1994)، اما امروزه به دلیل پیشرفت‌های ژنتیکی و برنامه‌های مدیریتی مناسب، زمان مورد نیاز برای رسیدن به وزن زنده ۲ کیلوگرم در جوجه‌های گوشتی به ۳۷ روز رسیده است (Shariatmadari, 2012) و میانگین افزایش وزن روزانه ۷۳ گرم در این جوجه‌ها دور از انتظار نیست (Leeson, 2007). در برنامه‌های اصلاحی تجاری که با هدف افزایش سرعت رشد به‌طور مداوم انتخاب بر روی صفات اقتصادی لاین‌های گوشتی انجام می‌شود، کوتاهتر شدن دوره پرورش و بهبود ضریب تبدیل غذایی مد نظر قرار دارد. البته این پیشرفت ژنتیکی با توجه به وراثت‌پذیری متوسط وزن بدن (۳۵ /۰) با صرف هزینه قابل توجه برای رکوردگیری صفات رشد، در جمعیت‌های بزرگ همراه بوده است. از طرفی به دلیل سرعت رشد بالای طیور گوشتی، با کاهش پاسخ ایمنی (Rauw, et al., 1998) و بروز مشکلات متابولیکی از جمله آسیت در چند دهه گذشته مواجه بوده‌ایم. همچنین رشد عضلانی سریع در جوجه‌های گوشتی در اثر انتخاب ژنتیکی باعث عدم تعادل بین تولید گوشت و رشد اسکلتی و درنتیجه توسعه غیرطبیعی اسکلت شده است (Oviedo-Rondon, et al., 2006). درک کنترل ژنتیکی صفات رشد و شناسایی ظرفیت ژنتیکی پرنده‌ها یکی از مهم‌ترین اهداف اصلاح نژادی در پرورش طیور بوده که این موضوع را می‌توان در برنامه‌های انتخاب گنجاند. اگرچه روش انتخاب مرسوم در جوجه‌های گوشتی به‌طور قابل توجهی سرعت رشد و تولید گوشت را در چند دهه گذشته افزایش داده است، با این وجود به دلیل همبستگی منفی بین صفات تولیدی و صفات شایستگی، متخصصین اصلاح نژاد طیور با چالش‌های جدیدی مواجه هستند. در حال حاضر، انتخاب به کمک QTL[1] ها، نشانگرهای ژنتیکی و همچنین نواحی ژنومی مؤثر بر صفات تولیدی و ارزیابی‌های ژنومی برای بهبود همزمان صفات تولیدی و صفات شایستگی می‌تواند به عنوان یک راهکار مدنظر قرار گیرد. تاکنون بیش از ۵۱۹۶ جایگاه صفت کمی برای ۲۳۵ صفت در پایگاه داده‌های ژنومی طیور (Chicken QTLdb) ثبت گردیده است. اغلب این QTL ها با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره[2] شناسایی شده‌اند. به دلیل تعداد محدود نشانگر ریز ماهواره‌ها در سطح ژنوم، دو نشانگر همجوار در فاصله ۱۰ تا ۲۰ سانتی مورگانی همدیگر قرار دارند و لذا نقشه‌های تهیه شده بر اساس این نشانگرها، از قدرت نقشه یابی بالا برخوردار نبوده و به نقشه‌یابی دقیق (fine mapping) برای تعیین محل دقیق جایگاه شناسایی شده نیاز است. با پیشرفت‌های اخیر در تهیه تراشه‌های SNP[3] طیور و استفاده از چندشکلی در تک نوکلئوتیدی‌ها به عنوان نشانگر، امکان پوشش کامل‌تر ژنوم و نقشه یابی با وضوح بالاتر که با روش‌های پیشین از قبیل نشانگرهای ریز ماهواره، یا سایر نشانگرهای بیولوژیکی مقدور نبود، امکان‌پذیر گردید. استفاده از SNP ها، بهبود صحت مکان‌یابی QTL ها و نواحی ژنومی مؤثر بر صفات تولیدی و در واقع بهبود مطالعات ژنومی را در پی داشت. مطالعات ژنوم را می‌توان در جوامع تصادفی انجام داد اما پژوهش‌ها نشان داده است که طراحی یک جامعه F_2 به‌منظور انجام پویش‌های ژنومی در مقایسه با یک جامعه تصادفی باعث کاهش نرخ کشف اشتباه[4] و افزایش دقت نقشه یابی می‌گردد (Ledur, et al., 2009).

ارائه راه حل

در این راستا هزینه تعیین ژنوتیپ دام‌ها یکی از عوامل مهم محدودکننده در اصلاح نژاد دام و طیور به شمار می‌آید. جهت

[1] Quantitative Trait Loci
[2] Microsatellite
[3] Single Nucleotide Polymorphism
[4] False Discovery Rate

ارزیابی‌های ژنومی حیوانات و دام‌ها، با توجه به اینکه افزایش تعداد نشانگرها به بیش از ۴۵۰۰۰ نشانگر (تعداد نشانگر موجود در تراشه‌های با تراکم متوسط)، تنها تأثیر اندکی بر صحت یا اریبی ارزیابی‌ها خواهد داشت (Weller, 2016)، لذا در این بازبینی، تاثیر گروه‌های انتخابی نشانگر و سطوح مختلف MAF [5] که برای جداسازی و غربالگری SNP های مهم‌تر و دارای اثر بالاتر می تواند یک راهکار کارآمد باشد و به کار بردن این SNP ها برای انجام ارزیابی‌های ژنومی جهت بررسی اینکه کدام توالی‌های نشانگری صحتی برابر و یا نزدیک به صحت ارزیابی در هنگام به‌کارگیری تمام نشانگرهای موجود برآورد می‌کنند، موضوعی است که در این مقاله مورد بحث قرار گرفت (Liu, et al., 2020; Abdollahi, et al., 2014).

بررسی منابع

نقش ساختار جمعیت در مطالعات ژنوم

ساختار جمعیتی و خویشاوندی می‌تواند نتایج یک مطالعه ژنومی را با مشکل مواجه نماید و سبب کاهش قدرت این‌گونه مطالعات و افزایش نتایج مثبت کاذب[6] در آزمون شود. روش‌های متعددی جهت آنالیز داده‌های ژنومی با در نظر گرفتن اثرات خویشاوندی و تصحیح ساختار جمعیت ارائه گردیده است که روش تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA)، بهترین پیش‌بینی کننده نااریب خطی ژنومی (GBLUP)، مدل ترکیبی کارآمد تسریع شده (EMMAX [7])، مدل سازی زبان شرطی (CMLM[8])، مدل خطی مختلط فشرده غنی شده (ECMLM [9]) و آنالیز مقیاس‌بندی چند بعدی (MDS[10]) از مهم‌ترین این روش‌ها می‌باشند. در نظر گرفتن آزمون سنجش چندبعدی MDS رایج‌ترین روش در مد نظر قرار دادن لایه‌بندی جمعیتی و خویشاوندی است که باعث کاهش نتایج مثبت کاذب می‌گردد، به‌گونه‌ای که تحقیقات متعدد نشان داده است با انجام این آزمون افراد یک خانواده با همدیگر در یک کلاستر قرار می‌گیرند.

روش PCA نیازمند آن است که داده‌های مورد استفاده توزیع نرمال چندجمله‌ای داشته باشند. استفاده از PCA به کاهش مشکل "n≫p" یعنی کم‌تر بودن تعداد حیوانات موجود در آنالیز از تعداد ژنوتیپ‌ها، در پیش‌بینی ژنومی کمک می‌کند (Calus, et al., 2014). مطالعات متعدد نشان داده است که مدل‌های مختلط با تصحیح اثرات ساختار جمعیتی و روابط خویشاوندی باعث کاهش نتایج مثبت کاذب می‌گردد (Sharma, et al., 2015; Kang, et al., 2010). مدل مختلط GBLUP یکی از این روش‌ها است. در روش آماری GBLUP فرض بر این است که تغییرات صفت تابع مدل ژنتیکی نامحدود است و کلیه چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی بر روی صفت مورد نظر مؤثرند. در این روش از ماتریس خویشاوندی ژنومی به‌جای ماتریس خویشاوندی شجره‌ای استفاده می‌شود (Villanueva, et al., 2005; Hayes, et al., 2009). معمولاً در جوامع مختلف حیوانی یا انسانی شجره کامل و قابل اعتمادی ثبت نمی‌شود و محاسبه ماتریس روابط خویشاوندی ژنومی و قرار دادن آن به‌عنوان یک اثر تصادفی در مدل آماری از مؤثرترین روش‌های تصحیح اثر ساختار جمعیتی و روابط خویشاوندی است (Price, et al., 2010; Zhang, et al., 2010). در روش آماری CMLMکه مبتنی بر خوشه‌بندی ماتریس خویشاوندی بر اساس روش UPGMA[11] است، تعداد n فرد داخل s خوشه متراکم گردیده و بدین ترتیب افراد یک خانواده به دلیل تشابه ژنی در درون یک خوشه قرار داده می‌شوند. مطالعات نشان داده است که این روش، نرخ کشف کاذب را بهتر از روش‌های مدل مختلط استاندارد کنترل می‌کند (Zhang, et al., 2010). در واقع روشCMLM نسبت به روش مرسوم MLM قدرت آماری را بهبود می‌بخشد. در این حالت چنانچه هر فرد در یک گروه (s = n) قرار گیرد، این روش معادل روشMLM خواهد بود و چنانچه همه افراد در یک گروه قرار گیرند (s = 1)، این روش معادل GLM می‌باشد (Zhang, et al., 2010). در روش UPMGA برای تمام تبارها یک نرخ تکاملی ثابت (ساعت مولکولی) در طول زمان فرض می‌شود و

[5] Minor allele frequency
[6] False positive
[7] Efficient Mixed-Model Association Expedited
[8] Conditional Masked Language Modeling
[9] Enriched Compressed Mixed Linear Model
[10] Multi-Dimensional Scaling
[11] Unweighted Pair-Group Method using an Arithmetic Avereage

بدین ترتیب طول شاخه‌ها نصف فاصله ژنتیکی بین دو گروه می‌باشند. فهم این روش ساده است. در این روش دو واحدی که فاصله میان آن‌ها در ماتریس فاصله کمترین است یک خوشه را تشکیل می‌دهند. آنگاه فاصله سایر واحدها از این خوشه به‌صورت میانگین فاصله بین آن‌ها و هر یک از اعضاء این خوشه به دست می‌آید و سپس واحدی که کم‌ترین فاصله را از خوشه حاصله دارد همراه با خوشه قبلی خوشه‌بندی می‌گردد. این روند تا خوشه‌بندی تمام واحدها ادامه می‌یابد. در این روش برای به دست آوردن فاصله دو گروه بر روی درخت حاصله می‌توان طول شاخه‌هایی که آن‌ها را به هم متصل ساخته‌اند باهم جمع نمود (Weir, 1996). روش Enhanced Compression MLMکه بسط یافته روش CMLM است، به‌وسیله Li و همکاران (۲۰۱۴) معرفی گردید. در این روش کاربر می‌تواند از الگوریتم‌های خوشه‌بندی بیشتری به‌منظور خوشه‌بندی ماتریس خویشاوندی استفاده نماید.

اهمیت صفات رشد و لاشه در ارزیابی‌های ژنومی

صفات رشد و لاشه جز صفات بسیار مهم در مرغ‌های گوشتی است. بااین‌حال، صفات لاشه فقط می‌تواند بعد از مرگ اندازه‌گیری شود. انتخاب ژنومی ممکن است به عنوان ابزاری قدرتمند برای پیش‌بینی دقیق ارزش‌های اصلاحی، تا حد زیادی دقت انتخاب برای صفات مختلف رشد و لاشه در مرغ را بهبود بخشد (Liu, et al., 2014).

در تحقیقی که به‌منظور پویش ژنومی صفات رشد و ترکیبات لاشه انجام گرفت از نسل F_2 حاصل از تلاقی دو نژاد با سرعت رشد بالا (سویه‌ای از کاب) و یک نژاد کند رشد بومی چین استفاده گردید، تعداد ۳۶۷ پرنده نسل F_2 به‌وسیله تراشه 60_K تعیین ژنوتیپ شد. این تراشه ۲۸ کروموزوم و یک گروه لینکاژی را پوشش می‌داد. به منظور بررسی ارتباط بین ژنوتیپ SNPها و صفات از دو روش GLM [12] و CMLM [13] استفاده گردید و ژن‌های مرتبط شناسایی شدند (Liu, et al., 2015).

در تحقیق دیگری که به منظور پویش ژنومی صفات رشد در یک نژاد چینی انجام گرفت از تراشه 60_k جهت تعیین ژنوتیپ ۴۰۰ قطعه پرنده استفاده شد. صفات رشد شامل وزن‌های ۲، ۴، ۶، ۸ ،۱۰ ، ۱۲، ۱۴ و ۱۶ هفتگی ثبت گردید و از روش آماری GLMجهت بررسی ارتباط صفات و ژنوتیپ SNP ها استفاده شد. طی این پژوهش نواحی معنی‌دار شناسایی شدند (Zhang, et al., 2015).

همچنین Jin و همکاران (۲۰۱۵) به‌منظور بررسی ژنومی صفات وزن بدن از تکنیک SLAF-Seq [14] در یک نژاد خالص بومی چین (yancheng) استفاده کردند. در این مطالعه وزن بدن ۲۰۰ پرنده از ابتدا تا ۱۶ هفتگی ثبت گردید و به‌منظور بررسی ارتباط SNPها و صفات وزن بدن در این مطالعه از روش CMLM و بسته آماری GAPIT [15] استفاده شد.

Abasht و همکاران (۲۰۰۷) به مطالعه ارتباط ژنوم بر روی صفت وزن چربی محوطه بطنی پرداختند. در این طرح، جمعیت F_2از تلاقی خروس سویه گوشتی با هر یک از دو لاین لگهورن و فایومی تولید گردید. تعداد ۷۲۰ پرنده نسل F_2 در طی ۳ هچ ایجاد و در سن ۸ هفتگی کشتار و وزن چربی محوطه بطنی و وزن لاشه اندازه‌گیری شد. از تراشه SNP حاوی ۳۰۰۰ نشانگر، جهت تعیین ژنوتیپ افراد استفاده شد. آنالیز ارتباط آماری تک جایگاهی به‌وسیله رگرسیون فنوتیپ (وزن چربی محوطه بطنی) بر روی ژنوتیپ SNP هر یک از افراد جمعیت نسل F_2 انجام گرفت و معنی‌داری مورد بررسی قرار گرفت.

Wahlberg و همکاران (۲۰۰۹) در تحقیقی به مطالعه QTL های مؤثر بر روی وزن بدن در دو لاین پلیموت راک پرداختند. در این تحقیق از طرح آمیزشی F_2 حاصل از تلاقی دوطرفه دو لاین پلیموت راک با سرعت رشد بالا و پایین استفاده شد. درمجموع تعداد ۸۷۴ پرنده نسل F_2 ایجاد شد و رکوردهای هفتگی ۱۴، ۲۸ ،۴۲ ، ۵۶ و ۷۰ روزگی ثبت گردید. برای ایجاد نقشه پیوستگی از تعداد ۱۳۸ جایگاه ریز ماهواره و ۳۸۴ جایگاه SNPاستفاده شد. این تعداد SNP از یک تراشه ۱۳ هزارتایی انتخاب شدند. نتایج آنالیز این تعداد جایگاه نشان داد که بخش

[12] General Linear Model
[13] Compressed Mixed Linear Model
[14] Specific-Locus Amplified Fragment Sequencing
[15] Genome Association and Prediction Integrated Tool

قابل توجهی از تنوع ژنتیکی مربوط به جمعیت پایه در اثر انتخاب از دست رفته و حدود ۶۰ درصد از SNP ها در یکی از دو لاین تثبیت شده‌اند.

در تحقیقی دیگر Besnier و همکاران (۲۰۱۱) یک نقشه یابی دقیق را بر اساس QTL های شناسایی‌شده برای صفت وزن بدن در ۹ ناحیه ژنومی مرغ ارائه کردند. در این تحقیق از دو لاین انتخابی پلیموت راک سفید که به مدت ۴۰ نسل برای وزن بدن آن‌ها انتخاب انجام شده بود، استفاده شد. این دو لاین برای صفت وزن بدن (وزن بدن بالا و وزن بدن پائین) در ۵۶ روزگی انتخاب شده بودند. با استفاده از طرح آمیزشی F_2 موقعیت نه QTLدر ژنوم شناسایی شد. در این تحقیق برای نقشه‌یابی دقیق این مناطق، از طرح آمیزشی ۹ نسل حاصل از همان دو لاین قبلی با تعداد ۱۵۲۹ پرنده استفاده شد. تمام پرندگان برای وزن ۸ هفتگی رکوردگیری شدند و با استفاده از یک تراشه SNP با ۱۳۰۰۰ نشانگر تعیین ژنوتیپ شدند. نتایج این تحقیق نشان داد که اغلب QTL های شناسایی‌شده در سطح ژنوم، QTL های واقعی هستند و با انجام آمیزش‌های چند نسلی می‌توان موقعیت دقیق آن‌ها را نقشه یابی نمود.

در تحقیقاتی که به‌وسیله Gu و همکاران (۲۰۱۱) به‌منظور مطالعه ژنومی صفات رشد در یک جمعیت F_2 انجام گرفت، از تلاقی دوطرفه دو نژاد پلیموت راک سفید و نژاد ابریشمی استفاده شد. این مطالعه ۲۷۸ پرنده از سه نسل F_0 ، F_1 و F_2 را شامل می‌شد. وزن هفتگی مربوط به ۲۲۹ پرنده F_2 از زمان تولد تا ۱۲ هفتگی اندازه‌گیری شد. افزایش وزن روزانه از تولد تا شش هفتگی و از شش هفتگی تا دوازده هفتگی محاسبه گردید. همچنین به‌منظور مطالعه ژنوم از آرایه 60_K استفاده شد. در نهایت مطالعات ژنومی نیز در هفته‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. در تحقیقی که توسط Xie و همکاران (۲۰۱۲) انجام شد، برای یافتن نواحی ژنومی مرتبط با صفات رشد از طرح آمیزشی F_2 با تلاقی دوطرفه دو نژاد بومی Xinghua با سرعت رشد پایین و White Recessive Rock با سرعت رشد بالا استفاده گردید. با تلاقی ۱۷ مرغ و ۱۷ خروس نسل F_1 در سن ۳۰ هفتگی، تعداد ۴۸۹ پرنده در طی ۶ هچ به‌دست آمد. نتایج این تحقیق منجر به شناسایی یک ناحیه Mb ۱/۵ بر روی کروموزوم شماره ۱ شد که ارتباط بالایی را با صفات رشد نشان می‌داد.

در تحقیقی که توسط Yan-fa و همکاران (۲۰۱۳) انجام گرفت، با استفاده از GWAS[16] تعداد ۱۴ ژن برای صفات کیفیت گوشت مرغ شناسایی کردند. در این تحقیق از تلاقی دو نژاد بومی چین به‌نام Beijing-you و لاین تجاری Cobb، نسل F_2 ایجاد شد. تعداد ۶ خروس بومی چین هرکدام با ۱۲ مرغ کاب برای تشکیل نسل F_1 تلاقی داده شدند. سپس با تلاقی ۶ خروس و ۲۰ مرغ نسل F_1، افراد نسل F_2 تشکیل گردید و درمجموع تعداد ۳۶۷ پرنده F_2 در ۵ هچ تولید گردید. پرنده‌ها به مدت ۹۳ روز پرورش داده شدند و پس از کشتار صفات مربوط به ترکیبات لاشه و کیفیت گوشت مورد رکورد برداری قرار گرفت. پس از استخراج DNA، تعیین ژنوتیپ افراد با استفاده از تراشه SNP حاوی ۶۰ هزار جایگاه انجام گرفت. پس از کنترل کیفی SNP، تعداد ۴۲۵۸۵ نشانگر SNP که بر روی ۲۸ کروموزوم غیرجنسی توزیع شده بودند، برای آنالیزهای بعدی مورد استفاده قرار گرفتند. با استفاده از روش CMLM، تعداد جایگاه‌های معنی‌دار برای ۱۰ صفت مربوط به کیفیت گوشت شناسایی گردید.

در مطالعه‌ای که توسط Emrani و همکاران (۲۰۱۷) به منظور یافتن ژن‌ها و مناطق ژنومی مؤثر بر صفات رشد، بر روی ۳۱۲ پرنده F_2 حاصل از تلاقی لاین آرین و بومی ارومیه ایران انجام شد، جهت انجام پویش ژنوم با استفاده از تراشه Illumnia 60K chicken SNP Beadchip از مدل‌های GLM و CMLM استفاده شد. وزن بدن (BW) و متوسط افزایش وزن روزانه (ADG) از بدو تولد تا سن ۱۲ هفتگی برای همه پرنده‌ها اندازه‌گیری شد. با استفاده از روش Bonferroni در سطح ٪۵ تعداد ۹ و ۱۲ نشانگر ارتباط معنی‌داری را به ترتیب برای BW و ADG نشان دادند. در مرحله بعد ژن‌های مرتبط شناسایی شدند. نتایج نشان داد که ژن‌های یافت‌شده می‌توانند بینش جدیدی در ارتباط با کنترل ژنتیکی صفات رشد در جوجه‌های گوشتی ایجاد کنند (Emrani, et al., 2017).

[16] Genome-Wide Association Study

روش‌های ارزیابی ژنومی

مطالعات ژنومی مختلفی که بر روی صفات تولیدی دام و طیور انجام می‌شود، می‌تواند به‌عنوان مقدمه‌ای برای انجام پیش‌بینی‌ها و ارزیابی‌های ژنومی در نظر گرفته شود. روش‌های ارزیابی ژنومی را می‌توان به دو گروه تقسیم نمود: روش‌های تک‌مرحله‌ای[17] و روش‌های چند مرحله‌ای[18]. اکثر ارزیابی‌های ژنومی در حال حاضر مبتنی بر روش چندمرحله‌ای است که نیاز به ۱) ارزیابی سنتی با یک مدل حیوانی، ۲) استخراج مشاهدات و ۳) مدل ژنومی برای پیش‌بینی مقادیر مستقیم ارزش ژنومی[19](DGV) حیوانات کاندیدای بدون رکورد خاص است. در روش‌های چند مرحله‌ای ابتدا ارزش ارثی بر مبنای داده‌های فنوتیپی و شجره محاسبه می‌شوند. در مرحله دوم، ارزش ارثی برای افراد دارای ژنوتیپ، به صورت تابعی از نشانگرهای ژنتیکی تجزیه و تحلیل می‌گردند. در مرحله آخر نیز معمولاً ارزیابی‌های ژنومی در یک شاخص که شامل اطلاعات شجره و ارزیابی‌های ژنومی مستقیم است، تلفیق می‌شوند. در روش‌های تک‌مرحله‌ای رکوردهای واقعی آنالیز شده و اثرات نشانگرها و تنوع ژنتیکی افزایشی که در اثرات نشانگر در نظر گرفته نمی‌شوند، برآورد می‌گردند. اثرات مزاحم نظیر گله، سال، فصل یا جنسیت نیز در مدل وارد می‌شوند. اگر یک مدل حیوان تک صفتی به کار گرفته شود، یک معادله برای اثر ژنتیکی افزایشی هر فرد، یک معادله برای هر نشانگر و یک معادله برای سطوح اثرات ثابت وجود خواهد داشت. در این ارزیابی‌ها علی‌رغم برتری این روش نسبت به روش‌های چند مرحله‌ای به دلیل تفاوت در صحت پیش‌بینی، چون‌که تعداد معادلات در نظر گرفته شده در مدل بسیار زیاد است، این روش نیازمند حجم بالایی از محاسبات است و جواب‌ها را تنها می‌توان با روش‌های تکرار به دست آورد که در این بین همگرایی برای جواب‌ها نیز یک مسأله خواهد بود (Weller, 2016). در تجزیه‌وتحلیل تک‌مرحله‌ای، سوابق فنوتیپی مستقیماً با اطلاعات ژنومی ترکیب می‌شوند و در نتیجه ارزش اصلاحی ژنومی افزایشی[20](GEBV)، هر دو منبع اطلاعات را به‌صورت بهینه ترکیب می‌کند (Koivula, et al., 2012). نتایج مطالعه Koivula و همکاران که به‌منظور بررسی امکان‌سنجی مدل تک‌مرحله‌ای TD (test day) با استفاده از سوابق فنوتیپی گاوهای RDC Nordic و تعیین صحت ارزیابی در هنگام استفاده از مدل TD تک‌مرحله‌ای اجرا شد، نشان داد که استفاده از رکوردهای فنوتیپی test day در آنالیز تک‌مرحله‌ای کاری عملی و آسان است. علاوه بر این، مدل‌های TD تک‌مرحله‌ای قابل مقایسه با مدل‌های TD معمول بوده و قابلیت اعتماد GEBV و ضرایب رگرسیون صحت به مراتب بالاتری را نشان می‌دهند. با توجه به اینکه ممکن است برآورد صحت با خطا همراه باشد، اما میزان آن در DGV نسبت به Sire model کمتر بوده و درنتیجه این گزینه (آنالیز تک‌مرحله‌ای ژنومی) می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش ارزیابی چندمرحله‌ای فعلی و به کارگیری آن در انتخاب‌های ژنومی آینده باشد (Koivula, et al., 2012).

انتخاب ژنومی[21](GS) از ارزش اصلاحی مولکولی[22](MBV) حاصل از نشانگرهای متراکم در کل ژنوم برای انتخاب حیوانات جوان استفاده می‌کند. در مطالعه‌ای که توسط Moser و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد، دقت و صحت پنج روش رگرسیونی مختلف در یک برنامه تجربی در گاوهای شیری مورد مقایسه قرار گرفت. در این پژوهش از ژنوتیپ‌های ۷۳۷۲ نشانگر SNP و[23] EBV دقیق از ۱۹۴۵ گاو شیری برای پیش‌بینی MBV صفات درصد پروتئین (PPT) و شاخص سود (شاخص انتخاب استرالیا، ASI) استفاده شد. برای این منظور، روش‌های رگرسیون حداقل مربعات[24](FR-LS)، رگرسیون بیزین[25](Bayes-R)، رگرسیون تصادفی بهترین پیش‌بینی کننده نااریب خطی[26](RR-BLUP)، رگرسیون حداقل مربعات جزئی[27](PLSR) و رگرسیون بردار پشتیبانی غیر پارامتری[28](SVR) در یک مجموعه از ۱۲۳۹ گاو به کار گرفته شد. دقت و اریبی پیش‌بینی MBV از اعتبارسنجی

[17] Single-step method
[18] Multi-step method
[19] Database of Genomic Variants
[20] Genomic Estimated Breeding Values

[21] Genomic Selection
[22] Molecular Breeding Value
[23] Estimated Breeding Value
[24] Least Squares Regression
[25] Bayesian Regression
[26] Random Regression Best Linear Unbiased Prediction
[27] Partial Least Squares Regression
[28] Support Vector Regression

متقابل[29] مجموعه ۷۰۶ گاو جوان آزمایش شد. نتایج نشان داد، روش FR-LS نسبت به سایر روش‌ها در هر دو صفت از دقت کمتری برخوردار بوده و دقت به دست آمده توسط Bayes-R، RR-BLUP، PLSR و SVR بسیار به هم شبیه و برای صفات ASI و PPT به ترتیب در محدوده (۰/۴۵-۰/۳۹) و (۰/۶۱-۰/۵۵) قرار داشت. به طور کلی، SVR بالاترین دقت را نشان داد. همه روش‌ها منجر به مقداری اریبی در پیش‌بینی MBV برای ASI شد و برای PPT فقط RR-BLUP و پیش‌بینی‌های SVR نااریب بود. ترکیب پیش‌بینی‌های MBV با پیش‌بینی‌های مبتنی بر شجره (EBV)، در مقایسه با پیش‌بینی‌های مبتنی بر شجره به‌تنهایی، دقت بالاتری برابر با ۱/۳۴– ۱/۰۵ برابر را نشان داد و روش‌های PLSR و RR-BLUP کمترین زمان محاسبات را در پی داشت. به طور کلی، چهار روش استفاده از اطلاعات کلیه SNP ها یعنی RR-BLUP، Bayes-R، PLSR و SVR دقت مشابهی از پیش‌بینی MBV برای انتخاب ژنومی ایجاد می‌کنند و استفاده از آن‌ها در انتخاب نسل‌های بعدی در گاوهای شیری مناسب خواهد بود. استفاده از روش FR-LS در انتخاب ژنومی توصیه نمی‌شود (Moser, et al., 2009).

در مطالعه‌ای که توسط Calus و همکاران (۲۰۱۴) انجام شد، دقت ارزیابی مدل‌های مختلف پیش‌بینی ژنومی BLUP با استفاده از ژنوم (GBLUP)[30]، RR-BLUP، آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA)[31] و به دنبال آن RRPCA[32] و روش‌های Bayesian با روش معمول BLUP[33] با استفاده از داده‌های شجره، در دو لاین مختلف مرغ تخمگذار مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. دقت پیش‌بینی به‌عنوان همبستگی بین ارزش اصلاحی پیش‌بینی‌شده و فنوتیپ‌های مشاهده شده در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد، مدل‌های مختلف پیش‌بینی ژنومی مورد استفاده دقت بالاتری را نسبت به روش BLUP مبتنی بر شجره داشتند (۰/۱۶-۰/۱۳). تفاوت بین دقت مدل‌های پیش‌بینی ژنومی مختلف با یکدیگر اندک و همبستگی بین آن‌ها بالا و در محدوده ۰/۹۶- ۰/۸۸ قرار داشت. همچنین انتخاب روش‌های Bayesian و GBLUP به‌طورکلی دقت‌های مشابهی را ارائه دادند و در کل RRPCA برای دو لاین بیشترین دقت را به دنبال داشت.

در مطالعه‌ای که توسط Ni و همکاران (۲۰۱۷) بر روی داده‌های array با تراکم بالا و داده‌های کل ژنوم حاصل از ۸۹۲ مرغ از یک لاین تجاری مرغ قهوه‌ای انجام شد، برای ارزیابی دقت پیش‌بینی از روش GBLUP و روش‌های مختلف وزن‌دهی SNP استفاده شد. نتایج نشان داد که فقط با استفاده از SNP های واقعی (genic SNPs) از داده‌های WGS[34] تأثیر مثبتی بر دقت پیش‌بینی مشاهده می‌شود و SNP های نسبت‌دهی شده[35] اثر مثبتی بر افزایش دقت نخواهند داشت.

در مطالعه‌ای که به بررسی کارایی پیش‌بینی ژنومی برای صفات رشد و لاشه در جوجه‌های چینی پرداخت، صفات وزن بدن در ۶ هفته، وزن بدن در ۱۲ هفته، درصد عضلات سینه‌ای و درصد عضلات ران مورد بررسی قرار گرفت. ارزش اصلاحی برآورد شده ژنومی با استفاده از روش‌های GBLUP و بیزین با چهار توزیع پیش‌بینی شد. دقت ارزیابی ژنومی به‌عنوان همبستگی بین GEBV برآورد شده و ارزش فنوتیپی تصحیح‌شده اندازه‌گیری شد. تفاوت در دقت پیش‌بینی بین مدل‌ها بسیار اندک بود. نتایج نشان داد که دقت GEBV به میزان ۰/۱۹۷ به طور متوسط در تمام صفات بالاتر از شاخص شجره معمولی بود (Liu, et al., 2014).

در مطالعه‌ای که توسط Li و همکاران (۲۰۱۸) بر روی ۲۰۹۳ رأس گاو برهمن برای انجام پیش‌بینی‌های ژنومی با استفاده از روش‌های (Gradient Boosting Machine (GBM)، Extreme Gradient Boosting Method (XgBoost) و Random Forests (RF) به‌عنوان three machine learning methods انجام شد، به ترتیب از بین ۳۸۰۸۲ نشانگر SNP تعداد ۴۰۰، ۱۰۰۰ و ۳۰۰۰ نشانگر انتخاب شد و برای ساخت ماتریس روابط خویشاوندی ژنومی و در نهایت برآورد GEBV مورد استفاده قرار گرفتند. دقت پیش‌بینی GEBV در هنگام به‌کارگیری تمام SNP ها و همینطور استفاده

[29] Cross-Validation
[30] Genomic Best Linear Unbiased Prediction
[31] Principal Component Analysis
[32] Randomized Robust Principal Component Analysis
[33] Best Linear Unbiased Prediction
[34] Whole Genome Sequencing
[35] Imputed

از نشانگرهای SNP شناسایی شده توسط RF و GBM بسیار مشابه با یکدیگر و به ترتیب برابر با ۰/۴۳، ۰/۴۲ و ۰/۴۶ بود. نتایج نشان داد که از این سه روش، RF و GBM به طور مداوم در شناسایی زیرمجموعه‌های SNP مرتبط با ژن‌های مؤثر بر صفات رشد و دقت پیش‌بینی ژنومی از XgBoost بهتر عمل خواهند کرد.

در یک تحقیق توسط Zhang و همکاران (۲۰۲۰) جهت بررسی کارایی پارامترهای ژنتیکی در ایجاد پاسخ ایمنی به ویروس آنفلوانزای مرغی در بخشی از مرغ‌های پکن، از روش‌های BLUP و GBLUP استفاده شد. داده‌های فنوتیپی در هر دو روش یکسان بوده و شامل ۵۱۹ پرنده بود. با استفاده از مدل GBLUP، همه افراد با تراشه‌های Illumina 60_K SNP ژنوتیپ شدند. دقت پیش‌بینی به دست آمده از BLUP و GBLUP با ۵۰ بار اعتبارسنجی (5-fold cross-validation) مقایسه شد. نتایج نشان داد که دقت پیش‌بینی در BLUP و GBLUP در جمعیت حاضر تفاوت چندانی نداشت.

بررسی توانایی پیش‌بینی زیر مجموعه‌هایی از نشانگرهای SNP

در مطالعه‌ای که توسط Abdollahi و همکاران (۲۰۱۴)، جهت بررسی توانایی پیش‌بینی زیر مجموعه‌هایی از نشانگرهای SNP بر اساس سطوح مختلف MAF، اندازه اثر و تراکم نشانگر بر روی تعداد ۱۳۵۲ پرنده انجام شد، نشان داده شد که قدرت پیش‌بینی SNP ها در سطوح مختلف MAF، با یکدیگر متفاوت بود. نتایج نشان داد استفاده از سطوح مختلف MAF برای جدا سازی و غربالگری SNP های با اثر بالاتر می‌تواند به عنوان یک روش مناسب در جهت افزایش صحت ارزیابی‌ها به کار رود.

در پژوهشی دیگری که توسط Liu و همکاران (۲۰۲۰) بر روی جوجه‌های گوشتی جهت مقایسه صحت پیش‌بینی ژنومی بین توالی‌یابی با توان بالا (high-throughput) و تراشه‌های SNP انجام شد، یک روش غربالگری برای نشانگرهای SNP، با عنوان انتخاب نشانگر اولیه یا[۳۶] PMS، برای تعیین اینکه آیا یک نشانگر SNP می‌تواند برای پیش‌بینی ژنومی استفاده شود، مورد استفاده قرار گرفت. در مجموع تعداد ۳۹۵ پرنده از نسل F_2 جمعیت حاضر برای صفات وزن بدن (BW) در هفته ۱۲ هم و نسبت تبدیل خوراک (FCR)، انتخاب شده و مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفتند. از SLAF-Seq و Illumina Chicken 60_K SNP Beadchip برای تعیین ژنوتیپ استفاده شد. برای پیش‌بینی ارزش اصلاحی ژنومی روش GBLUP به کار گرفته شد و صحت پیش‌بینی ژنومی با استفاده از روش اعتبارسنجی متقابل leave-one-out cross-validation تأیید شد. بدون غربالگری نشانگر SNP، صحت GEBV برای BW و FCR در هنگام استفاده از SLAF-Seq به ترتیب برابر با ۰/۵۰۹ و ۰/۲۴۹ و در هنگام استفاده از تراشه SNP برابر با ۰/۵۱۶ و ۰/۲۳۲ بود. با غربالگری نشانگر SNP به روش PMS، دقت GEBV دو صفت در زمان استفاده از SLAF-Seq به ترتیب ۰/۶۷۱ و ۰/۴۹۹ و در زمان استفاده از تراشه SNP عدد ۰/۶۰۵ و ۰/۴۲۲ به دست آمد. در اینجا روش غربالگری نشانگر SNP منجر به افزایش دقت پیش‌بینی به میزان ۰/۲۵۰–۰/۰۸۹ شد. در واقع با استفاده از روش PMS، پس از حذف نشانگرهای بی‌اهمیت، تعداد نشانگرهای SNP به دست آمده از دو سیستم متفاوت تعیین ژنوتیپ به‌طور چشمگیری کاهش یافت و دقت پیش‌بینی ژنومی حاصل از این غربالگری از میزان دقت ارزیابی توسط تمام نشانگرها بالاتر بود. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که استفاده از روش‌های غربالگری SNP مانند PMS، می‌تواند دقت GEBV را بهبود بخشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه این امکان وجود دارد که SNP های با فراوانی آللی خاص صحت پیش‌بینی بالاتری را نسبت به اطلاعات تمام SNP ها نشان دهند، این گروه از نشانگرها می‌توانند به عنوان جایگزین در ارزیابی‌های مختلف به کار گرفته شوند. به طور کلی در صورت تایید این نتایج در مطالعات مختلف، استفاده از SNP های با فراوانی آللی خاص و حتی ایجاد تراشه نشانگری کم تراکم برای صفات مورد نظر، علاوه بر تحمیل هزینه ژنوتیپ پایین،

[36] Pre-Marker-Selection

می‌تواند به‌واسطه افزایش صحت پیش‌بینی ژنومی برای رتبه‌بندی مطمئن افراد بر اساس شایستگی ژنتیکی مورد استفاده قرار گیرد. این یافته ها می‌تواند پیشرفت های ژنتیکی در برنامه های اصلاحی آینده را تسریع بخشد.

توصیه ترویجی

با توجه به اهمیت صفات مربوط به رشد، هنگام استفاده از اطلاعات ژنومی و نشانگرهای ژنتیکی برای انجام ارزیابی‌های ژنومی در سطح مزرعه با هزینه‌های بالای تعیین ژنوتیپ به عنوان یک مسئله جدی مواجه خواهیم بود. لذا نتایج تحلیلی نشان می‌دهد که پیاده‌سازی ارزیابی‌های ژنومی با استفاده از سطوح مختلفی از MAF با استفاده از جداسازی SNP های دارای اثر بالاتر، به عنوان یک روش مناسب غربالگری SNP ها در جهت افزایش صحت ارزیابی و کاهش هزینه‌های ژنوتیپ می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. در این راستا، این مقاله مروری پیشنهاد می‌کند که این فناوری در مزارع مختلف مرغ پیاده‌سازی گردد و نتایج آن بر اساس شرایط موجود در کشور تحلیل و ترویج شود.

منابع

Abasht, B. and Lamont, S. J. (2007). Genome-Wide Association Study of Fatness in Chickens. Animal Industry Report: AS 653, ASL R2218. Available at: http://lib.dr.iastate.edu/ans_air/vol653/iss1/44.

Abdollahi - Arpanahi, R., Nejati - Javaremi, A., Pakdel, A., Moradi - Shahrbabak, M., Morota, G., Valente, B.D., Kranis, A., Rosa, G.J.M. and Gianola, D. (2014). Effect of allele frequencies, effect sizes and number of markers on prediction of quantitative traits in chickens. Journal of animal breeding and genetics, 131(2): pp.123-133.

Besnier, F., Wahlberg, P., Ronnegard, L., Ek, W., Andersson, L., Siegel, P.B. and Carlborg, O. (2011). Fine mapping and replication of QTL in outbred chicken advanced intercross lines. Genetics Selection Evolution, 43:3.

Calus, M.P., Huang, H., Vereijken, A., Visscher, J., ten Napel, J. and Windig, J.J. (2014). Genomic prediction based on data from three layer lines: a comparison between linear methods. Genetics Selection Evolution, 46(1): p.57.

Calus, M.P., Huang, H., Vereijken, A., Visscher, J., ten Napel, J. and Windig, J.J. (2014). Genomic prediction based on data from three layer lines: a comparison between linear methods. Genetics Selection Evolution, 46(1): p.57.

Emrani, H., Torshizi, R.V., Masoudi, A.A. and Ehsani, A. (2017). Identification of new loci for body weight traits in F2 chicken population using genome-wide association study. Livestock Science, 206: pp.125-131.

Gu, X.R., Feng, C.G., Ma, L., Song, C., Wang, Y.Q., Da, Y., Li, H., Chen, K., Ye, S., Ge, C., Hu, X. and Li, N. (2011). Genome-wide association study of body weight in chicken F2 resource population. PLoS One, 6(7): e21872.

Havenstein, G.B., Ferket, P.R., Scheideler, S.E. and Larson, B.T. (1994). Growth, livability and feed conversion of 1957 vs.1991 broilers when fed "typical" 1957 and 1991 broiler diets. Poultry Science, 73: 1785- 1794.

Hayes, B.J., Visscher, P.M. and Goddard, M.E. (2009). Increased accuracy of artificial selection by using the realized relationship matrix. Genet Res. 91: 47–60.

Jin, C.F., Chen, Y.J., Yang, Z.Q., Shi, K. and Chen, C.K. (2015). A genome-wide association study of growth trait-related single nucleotide polymorphisms in Chinese Yancheng chickens. Genet. Mol. Res, 14(4): pp.15783-15792.

Kang, H.M., Sul. J.H., Service, S.K., Zaitlen, N.A., Kong, S.Y., Freimer, N.B., Sabatti, C. and Eskin, E. (2010). Variance component model to account for sample structure in genome-wide association studies. Nature Genetics, 42(4): 348-54.

Koivula, M., Strandén, I., Pösö, J., Aamand, G.P. and Mäntysaari, E.A. (2012). Single step genomic evaluations for the Nordic Red Dairy cattle test day data. Interbull Bulletin, (46).

Leahy, G.M.C. (2007). Farm-Animal Welfare, Legislation, and Trade. Law and contemporary problems.

Ledur, M.C., Navarro, N. and Perez-Enciso, M. (2009). Large-scale SNP genotyping incrosses between outbred lines: how useful is it? Heredity, 105: 173–182.

Leeson, S. (2007). Metabolic challenges past, present, and future. Journal of Applied Poultry Research, 16: 121-125.

Li, B., Zhang, N., Wang, Y.G., George, A.W., Reverter, A. and Li, Y. (2018). Genomic prediction of breeding values using a subset of SNPs identified by three machine learning methods. Frontiers in genetics, 9: p.237.

Li, M., Liu, X., Bradbury, P., Yu, J., Zhang, Y.M., Todhunter, R.J., Buckler, E.S. and Zhang, Z. (2014). Enrichment of statistical power for genome-wide association studies. BMC biology, 12(1): p.73.

Liu, R., Sun, Y., Zhao, G., Wang, H., Zheng, M., Li, P. Liu, L. and Wen, J. (2015). Identification of loci and genes for growth related traits from a genome-wide association study in a slow- × fast-growing broiler chicken cross. Genes & Genomics, 37: 829-836.

Liu, T., Luo, C., Ma, J., Wang, Y., Shu, D., Su, G. and Qu, H. (2020). High-Throughput Sequencing With the Preselection of Markers Is a Good Alternative to SNP Chips for Genomic Prediction in Broilers. Frontiers in Genetics, 11: p.108.

Liu, T., Qu, H., Luo, C., Shu, D., Wang, J., Lund, M.S. and Su, G. (2014). Accuracy of genomic prediction for growth and carcass traits in Chinese triple-yellow chickens. BMC genetics, 15(1): p.110.

Moser, G., Tier, B., Crump, R.E., Khatkar, M.S. and Raadsma, H.W. (2009). A comparison of five methods to predict genomic breeding values of dairy bulls from genome-wide SNP markers. Genetics Selection Evolution, 41(1): p.56.

Ni, G., Cavero, D., Fangmann, A., Erbe, M. and Simianer, H. (2017). Whole-genome sequence-based genomic prediction in laying chickens with different genomic relationship matrices to account for genetic architecture. Genetics Selection Evolution, 49(1): p.8.

Oviedo-Rondon, E.O., Ferket, P.R. and Havenstein, G.B. (2006). Understanding long bone development in broilers and turkeys. Avian and Poultry Biology Reviews, 17: 77-88.

Price, A.L., Zaitlen, N.A., Reich, D. and Patterson, N. (2010). New approachesto population stratification in genome-wide association studies. Nature Reviews Genetics, 11: 459-63.

Rauw, W.M., Kanis, E., Noordhuizen-Stassen, E.N. and Grommers, F.J. (1998). Undesirable side effects of selection for high production efficiency in farm animals: a review. Livestock Production Science, 56: 15-33.

Shariatmadari, F. (2012). Plans of feeding broiler chickens. World's Poultry Science Journal, 68: 21-30.

Sharma, A., Lee, J.S., Dang, C.G., Sudrajad, P., Cheol Kim, H., Yeon, S, H., Kang, H. S., and Lee, S.H. (2015). Stories and Challenges of Genome Wide Association Studies in Livestock — A Review.Asian Australas. J. Anim.Sci. 28(10): 1371-1379.

Villanueva, B., Pong-Wong, R., Fernandez, J. and Toro, M.A. (2005). Benefits from marker-assisted selection under an additive polygenic genetic model. J. Anim. Sci. 83: 1747-1752.

Wahlberg, P., Carlborg, O., Foglio, M., Tordoir, X., Syvänen, A.C., Lathrop, M., Gut, G., Siegel, P.B. and Andersson, L. (2009). Genetic analysis of an F2 intercross between two chicken lines divergently selected for body-weight. BMC Genomics, 10: 248.

Weir, B.S. (1996). Genetic Data Analysis II, 2nd edition. Sinauer Associates.Sunderland, MA, USA.

Weller, J.I. (2016). Genomic selection in animals. John Wiley & Sons Incorporated.

Yanfa, S., Zhao, G., Liu, R., Zheng, M., Hu, Y., Wu, D., Zhang, L., Li, P. and Wen, L. (2013). The identification of 14 new genes for meat quality traits in chicken using a genome-wide association study. BMC Genomics, 14: 458.

Zhang, J., Wang, J., Li, Q., Wang, Q., Wen, J. and Zhao, G. (2020). Comparison of the Efficiency of BLUP and GBLUP in Genomic Prediction of Immune Traits in Chickens. Animals, 10(3): p.419.

Zhang, Q. and Xiao, X. (2015). Genome sequence–independent identification of RNA editing sites. Nature methods, 12(4): p.347.

Zhang, Z., Ersoz, E., Lai, C.Q., Todhunter, R.J., Tiwari, H.K., Gore, M.A., Bradbury, P.J., Yu, J., Arnett, D.K., Ordovas, J.M. and Buckler, E.S. (2010). Mixed linear model approach adapted for genome-wide association studies. Nature Genetics, 42(4): 355-360.