

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه شهید باهنر کرمان

دانشکده کشاورزی

بخش علوم دامی

پایان نامه تحصیلی جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد رشته علوم دامی گرایش
ژنتیک و اصلاح نژاد دام

بررسی اثر تعداد QTL و تراکم نشانگری بر صحت ارزیابی ژنومی با استفاده
از روش بیزی

مؤلف:

راضیه شعبان

اساتید راهنما:

دکتر احمد آیت اللهی مهرجودی

دکتر محمود هنرور

استاد مشاور:

دکتر علی اسماعیلی زاده کشکوئیه

دی ماه ۱۳۹۲



این پایان نامه به عنوان یکی از شرایط درجه کارشناسی ارشد به

بخش علوم دامی

دانشکده کشاورزی

دانشگاه شهید باهنر کرمان

تسلیم شده است و هیچگونه مدرکی به عنوان فراغت از تحصیل دوره مذکور شناخته نمی شود.

دانشجو: راضیه شعبان

استاد راهنما ۱: دکتر احمد آیت اللهی مهرجردی

استاد راهنما ۲: دکتر محمود هنرور

استاد مشاور: دکتر علی اسماعیلی زاده کشکوئی

داور ۱: دکتر مسعود اسدی فوزی

داور ۲: دکتر محمد رضا محمدآبادی

نماینده تحصیلات تکمیلی دانشکده: دکتر جعفر ذوالعلی

معاون آموزشی و پژوهشی دانشکده:

حق چاپ محفوظ و مخصوص به دانشگاه شهید باهنر کرمان است.

تقدیم به :

ماحصل آموخته هایم را تقدیم می کنم به آنان که مهر آسمانی شان آرام بخش آلام زمینیم است .
به خدایی که بزرگترین امیدو یاور در لحظه لحظه زندگیست. به تمام آزادمردانی که نیک می اندیشند،
دانشمندان، بزرگان، و جوانمردانی که جان و مال خود را در حفظ و اعتلای این مرز و بوم فدا نموده و
مینمایند.

و به کسانی که عشقشان را در وجودم دمید. به استوارترین تکیه گاهم، به او که نمی دانم از بزرگی اش
بگویم یا مردانگی، سخاوت، سکوت، مهربانی و به او که دلخوشی زندگیست، پدرم.

به سبزترین نگاه زندگیم، به او که دریای بی کران فداکاری و عشق است، او که وجودم برایش همه
رنج است و وجودش برایم همه مهر، او که زندگی را مدیون مهر و عطوفت او می دانم، مادرم.

که هرچه آموختم در مکتب عشق شما آموختم و هرچه بکوشم قطره ای از دریای بی کران مهربانیتان
راسپاس نتوانم بگویم. =امروز هستی ام به امید شماست و فردا کلید باغ بهشتم رضای شما. بوسه بر
دستان پرمهرتان.

پروردگارا، نه میتوانم موهایشان را که در راه عزت من سفید شد، سیاه کنم و نه برای دستان پینه بسته
شان که ثمره تلاش برای افتخار من است، مرهمی دارم . پس توفیقم ده که هر لحظه شکر گزارشان
باشم و ثانیه های عمرم را در عصای دست بودنشان بگذرانم.

و به همراهان مهربان و پشتوانه های زندگیم، آنانکه وجودشان مایه دلگرمی من است، برادران عزیزم
مهدی و محمد. قلبم لبریز از عشق به شماست و خوشبختی تان منتهای آرزویم.

تشکر و قدردانی

سپاس و ستایش خداوندی را سزااست که کسوت هستی را بر اندام موزون آفرینش بپوشانید و تجلیات قدرت لایزالیه را در مظاهر و آثار طبیعت نمایان گردانید.

بار الها! من با یاد تو، به تو تقرّب می جویم و تو را به پیشگاه توشفیغ می آورم و از تو خواستارم، به کرمّت، مرا به خودت نزدیک گردانی و یاد خود را به من الهام کنی و بر من رحمت آوری و به آنچه بهره و نصیب من ساخته ای، خشنودم قرار دهی و در همه حال به فروتنی ام واداری. «من لم یشکر المخلوق لم یشکر الخالق». بر خود لازم میدانم از کلیه کسانی که بنده را در تدوین و نگارش این پایان نامه یاری نمودند، صمیمانه تشکر و قدردانی نمایم. به خصوص از اساتید ارجمند جناب آقای دکتر احمد آیت اللهی مهرجردی و جناب آقای دکتر محمود هنرور (اساتید راهنما) که در کلیه مراحل انجام این پژوهش با خوشروئی، یاری و راهنمایی نمودند و همچنین از استاد فرهیخته جناب آقای دکتر علی اسماعیلی زاده کشکوئیه (استاد مشاور) که با دقت نظر خاصی مشاوره لازم در این خصوص ارائه نمودند و نیز از داوران گرامی جناب آقای دکتر مسعود اسدی فوزی و جناب آقای دکتر محمدرضا محمدآبادی صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم. همچنین از کلیه معلمان و اساتید دوران تحصیلم از ابتدا تا کنون بویژه دکتر حشمت اله خسروی نیاصمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم.

و در پایان از زحمات خانواده خوبم و سرکار خانم زیبا صارمی دوست مهربانم و سایر دوستان عزیزم و جناب آقای مهندس پنجی، مهندس نرم افزار دانشگاه آزاد اسلامی بروجرد و جناب آقای دکتر مسعود شیرعلی و سایر کسانی که در تدوین این تحقیق مرا یاری نمودند متشکرم و از خداوند منان سلامت و سعادت ایشان را خواستارم.

چکیده

در روش‌های ارزیابی و انتخاب حیوانات بر اساس اطلاعات فنوتیپی، نیاز اساسی در برآورد صحیح ارزش‌های اصلاحی وجود رکوردهای دقیق از صفات مورد نظر است. با گسترش ژنتیک مولکولی، امکان استفاده از اطلاعات در سطح DNA و نشانگرهای ژنتیکی جهت برآورد صحیح‌تر ارزش‌های اصلاحی و بهبود ژنتیکی سریع‌تر دام‌ها فراهم شده است. در این مطالعه جهت برآورد صحت ارزش‌های اصلاحی واقعی و برآورد شده از دو روش استنباط بیزی لاسو و ریج استفاده شد. ژنومی با طول ۲۰ مورگان و تعداد ۱۰ کروموزوم با طول یکسان ۲ مورگان شبیه‌سازی شد. به منظور ایجاد تراکم نشانگری ۴CM تا ۰/۰۶۶CM، به ترتیب تعداد ۵۰-۳۰۰۰ نشانگر SNP در فواصل مساوی بر روی هر کروموزوم قرار گرفت و تعداد ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ QTL و وراثت پذیری ۰/۰۵-۰/۵ به عنوان فرضیات شبیه‌سازی صفات در نظر گرفته شدند. ارزش‌های اصلاحی برآورد شده توسط لاسو و ریج در تمامی صفات شبیه‌سازی شده، همبستگی بسیار بالایی با ارزش‌های اصلاحی واقعی نشان دادند. برآورد ارزش‌های اصلاحی توسط دو روش نشان داد که هر دو روش عملکرد مشابهی دارند. حساسیت ریج نسبت به تغییر تعداد ژن عمده اثر و نشانگر بالا بود. در کل افزایش تراکم نشانگری و وراثت پذیری صفات باعث افزایش صحت ارزیابی‌ها شد. همچنین این افزایش در صحت ارزیابی‌ها، در افزایش ژن‌های عمده اثر نیز دیده شد.

واژه‌های کلیدی: صحت ارزش اصلاحی ژنومی، انتخاب ژنومی، بیز لاسو و ریج، ژن عمده اثر و تراکم نشانگری.

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول: پیشگفتار

- ۱-۱- مقدمه ۲
- ۲-۱- ارزیابی ژنتیکی ۲
- ۳-۱- اهداف تحقیق ۴

فصل دوم: بررسی منابع

- ۱-۲- پیشینه ای کوتاه از ژنتیک کمی ۶
- ۲-۲- اصطلاح QTL ۷
- ۳-۲- تعداد QTL ۸
- ۴-۲- نشانگرهای ژنتیکی ۹
- ۱-۴-۲- ویژگی های یک نشانگر ژنتیکی مناسب ۹
- ۲-۴-۲- کاربردهای نشانگر ژنتیکی ۱۰
- ۳-۴-۲- نشانگرهای نوع SNP ۱۱
- ۵-۲- انتخاب ژنومیکی ۱۲
- ۱-۵-۲- روش های انتخاب ژنومیکی ۱۲

- ۱۷ ۲-۵-۲ عوامل مؤثر بر انتخاب ژنومیکی
- ۱۹ ۲-۶-۲ شبیه سازی آماری
- ۱۹ ۲-۶-۱ پیشینه ای از شبیه سازی های انجام شده
- ۲۲ ۲-۶-۲ برنامه های اصلاحی پیشنهادی با دید کلی از انتخاب براساس نشانگر

فصل سوم: مواد و روش ها

- ۲۴ ۳-۱-۱ شبیه سازی جمعیت
- ۲۵ ۳-۲-۲ شبیه سازی ژنوم
- ۲۵ ۳-۳-۳ شبیه سازی QTL و فنوتیپ
- ۲۷ ۳-۴-۴ محاسبه ارزش های اصلاحی
- ۲۷ ۳-۴-۱-۱ روش آماری
- ۲۷ ۳-۴-۲ مقایسه روش ها در برآورد ارزش اصلاحی

فصل چهارم: نتایج و بحث

- ۳۱ ۴-۱-۱ بررسی نتایج برآورد برای $SNP = 500$
- ۳۱ ۴-۱-۱-۱ ثابت بودن QTL
- ۳۱ ۴-۱-۲ افزایش QTL
- ۳۲ ۴-۲-۲ بررسی نتایج برآورد برای $SNP = 1000$
- ۳۲ ۴-۲-۱-۱ ثابت بودن QTL

۳۲QTL افزایش ۲-۲-۲
۳۵SNP = ۲۰۰۰۰ بررسی نتایج برآورد برای ۳-۴
۳۷SNP = ۵۰۰۰۰ بررسی نتایج برآورد برای ۴-۴
۳۸SNP = ۱۰۰۰۰۰ بررسی نتایج برآورد برای ۵-۴
۴۰SNP = ۲۰۰۰۰۰ بررسی نتایج برآورد برای ۶-۴
۴۲SNP = ۳۰۰۰۰۰ بررسی نتایج برآورد برای ۷-۴
۴۹بحث ۸-۴
۵۲نتیجه گیری کلی ۹-۴
۵۳پیشنهادات ۱۰-۴
۵۴منابع

فهرست جداول

عنوان.....	صفحه.....
جدول ۱-۳- ساختار جمعیت استفاده شده در شبیه سازی صفات.....	۲۶.....
جدول ۱-۴- میانگین صحت برآورد ارزش های اصلاحی (SNP= ۵۰۰) نسل های مرجع و تأیید توسط دو روش لاسو و ریج.....	۳۱.....
جدول ۲-۴- میانگین صحت برآورد ارزش های اصلاحی (SNP= ۱۰۰۰) نسل های مرجع و تأیید توسط دو روش لاسو و ریج.....	۳۴.....
جدول ۳-۴- میانگین صحت برآورد ارزش های اصلاحی (SNP= ۲۰۰۰) نسل های مرجع و تأیید توسط دو روش لاسو و ریج.....	۳۵.....
جدول ۴-۴- میانگین صحت برآورد ارزش های اصلاحی (SNP= ۵۰۰۰) نسل های مرجع و تأیید توسط دو روش لاسو و ریج.....	۳۷.....
جدول ۵-۴- میانگین صحت برآورد ارزش های اصلاحی (SNP= ۱۰۰۰۰) نسل های مرجع و تأیید توسط دو روش لاسو و ریج.....	۳۹.....
جدول ۶-۴- میانگین صحت برآورد ارزش های اصلاحی (SNP= ۲۰۰۰۰) نسل های مرجع و تأیید توسط دو روش لاسو و ریج.....	۴۰.....
جدول ۷-۴- میانگین صحت برآورد ارزش های اصلاحی (SNP= ۳۰۰۰۰) نسل های مرجع و تأیید توسط دو روش لاسو و ریج.....	۴۲.....

فهرست شکل ها

عنوان.....صفحه

شکل ۱-۴ - برآورد صحت ارزش اصلاحی ژنومی در نسل های مرجع و تأیید در وراثت پذیری های
۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ و تعداد ژن های عمده اثر ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ توسط روش لاسو..... ۴۵

شکل ۲-۴ - برآورد صحت ارزش اصلاحی ژنومی در نسل های مرجع و تأیید در وراثت پذیری های
۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ و تعداد ژن های عمده اثر ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ توسط روش ریج..... ۴۶

شکل ۳-۴ - برآورد صحت ارزش اصلاحی ژنومی در نسل های مرجع و تأیید در وراثت پذیری های
۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ و تراکم نشانگری (SNP) ۵۰۰ - ۳۰۰۰۰ توسط روش لاسو..... ۴۷

شکل ۴-۴ - برآورد صحت ارزش اصلاحی ژنومی در نسل های مرجع و تأیید در وراثت پذیری های
۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ و تراکم نشانگری (SNP) ۵۰۰ - ۳۰۰۰۰ توسط روش ریج..... ۴۸

فصل اول

مقدمه

۱-۱- مقدمه

ارزیابی ژنتیکی و برآورد ارزش‌های اصلاحی حیوانات یکی از اساسی‌ترین ارکان برنامه‌های اصلاح نژادی جهت بهبود ژنتیکی می‌باشد. در روش‌های ارزیابی و انتخاب حیوانات بر اساس اطلاعات فنوتیپی، نیاز اساسی در برآورد صحیح ارزش‌های اصلاحی وجود رکوردهای دقیق از صفات مورد نظر است (Mrode, 2005). با گسترش ژنتیک مولکولی، امکان استفاده از اطلاعات در سطح DNA جهت برآورد صحیح‌تر ارزش‌های اصلاحی و بهبود ژنتیکی سریع‌تر دام‌ها فراهم آمده است (Georges *et al.*, 2005). بدین ترتیب امکان استفاده از نشانگرهای ژنتیکی برای شناسایی بخش‌هایی از ژنوم که با صفت یا صفات خاصی در ارتباط هستند، میسر شده و در پی استفاده از نشانگرهای پراکنده^۱، برخی ژن‌های عمده^۲ مؤثر بر صفات کمی تا کنون شناسایی شده‌اند. با تلفیق اطلاعات حاصل از ژن‌های عمده و یا نشانگرهایی که با ژن‌های عمده پیوستگی^۳ دارند بعلاوه اطلاعات فنوتیپی، صحت ارزیابی‌ها و در نتیجه صحت انتخاب افزایش می‌یابد (خان سفید؛ کلبه داری، ۱۳۸۴).

۱-۲- ارزیابی ژنتیکی

اصطلاح انتخاب ژنومی نخستین بار توسط Halgy و Visscher در سال ۱۹۹۸ مطرح شد و سپس در سال ۲۰۰۱ روش‌ها و اصول آن توسط Meuwissen (2001) ارائه شد (سهرابی، ۱۳۹۰). پیدا کردن ژن‌های عمده مؤثر بر صفات کمی، وقت‌گیر و پرهزینه است ولی در قبال آن بهره‌گیری از ژن‌های عمده به خصوص در کوتاه مدت منجر به افزایش بهبود روند ژنتیکی به خصوص در صفاتی که وراثت‌پذیری پایینی دارند، می‌شود (خان سفید).

Lande و Thompson اولین بار انتخاب براساس نشانگر (MAS^۴) را با هدف اصلاحی چندصفتی بررسی کردند (فروتنی فر و همکاران، ۱۳۹۰). البته باید توجه داشت که به علت محدودیت در تعداد ژن‌های عمده مؤثر بر صفات کمی عموماً این ژن‌ها بعد از چندین نسل انتخاب، در جمعیت تثبیت می‌شوند (خان سفید).

¹ Sparse Markers

² Major Genes

³ Marker closely linked Quantitative Trait Loci (Marked QTL) (MQTL)

⁴ Marker Assisted Selection

در برنامه‌های اصلاح نژادی مرسوم، برآورد ارزشهای اصلاحی با تکیه بر ارزشهای فنوتیپی فرد و خویشاوندان انجام می‌شود و این داده‌ها هنگامی اندازه‌گیری می‌شوند که حیوان به سن خاصی رسیده است که در این صورت، فاصله نسل طولانی و افزایش هزینه‌ها را به دنبال خواهد داشت (شیرعلی، ۱۳۹۰). زیرا برای این کار نیاز به اطلاعات فنوتیپی و ژنومیکی تعداد زیادی دام می‌باشد و همچنین رویارویی و تجزیه و تحلیل این حجم عظیم اطلاعات نیز نیازمند مدل‌ها و محاسبات پیچیده است (خان سفید).

تلاش برای توسعه این روش‌ها و کاهش هزینه‌های آن روز به روز در حال به ثمر رسیدن است که این خود موجب افزایش اطلاعات مولکولی موجود می‌گردد. از این رو یافتن روش‌های آماری نوین امری گریز ناپذیر به نظر می‌آید. به طوری که هم اکنون بسیاری از مراکز تحقیقاتی مرتبط با مطالعات ژنومی بر روی این بخش متمرکز شده‌اند. انجام مطالعات با استفاده از شبیه‌سازی، روشی منطقی برای چنین موضوعی است، و استفاده از شبیه‌سازی‌های رایانه‌ای در این میان جهت معرفی و بررسی راهکارهای جدید ارائه شده از اهمیت بسیاری برخوردار است (شجاعی باغینی، ۱۳۸۹).

برای برآورد ارزش‌های اصلاحی در انتخاب ژنومی، دو دیدگاه ارائه شده است. در نخستین دیدگاه، فرض بر آن است که تمامی چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNP^1) بر واریانس صفت موثرند و صفت دارای مدل ژنتیکی نامحدود می‌باشد. روش‌های بهترین پیش‌بینی خطی نااریب ژنومیک ($GBLUP^2$) از قبیل تابعیت ریج^۳ (Meuwissen *et al.*, 2001) بر پایه این دیدگاه طراحی شده‌اند. در دیدگاه دوم فرض بر آن است که تنها برخی از SNP ها بر صفت اثر دارند و صفت دارای مدل ژنتیکی ژن‌های عمده اثر می‌باشد. به عبارت دیگر فرض بر آن است که تنها تعداد محدودی از SNP ها بر صفت تاثیر دارند که از بین آنها برخی دارای اثرات عمده و سایر آنها دارای اثرات جزئی می‌باشند. بر پایه این دیدگاه، برخی روش‌های استنباط بیزی^۴ از قبیل بیز^۵، B و C و لاسو^۶ بنا شدند. در روش‌های بیزی، ابتدا پیش‌فرضی به منظور معرفی توزیع اثرات ژن‌های عمده اثر و نیز مقدار اولیه ای جهت ژن‌های عمده اثر موثر بر صفت در نظر گرفته می‌شود (شیرعلی و همکاران، ۱۳۹۰).

¹ Single-Nucleotide Polymorphism

² Genomic Best Linear Unbiased Prediction

³ Ridge

⁴ Bayesian

⁵ Bayse

⁶ Lasso

۱-۳- اهداف تحقيق

۱- بررسی اثر تراکم مارکرها بر صحت انتخاب ژنومیک

۲- بررسی اثر تعداد QTL ها بر صحت انتخاب ژنومیک

فصل دوم
بررسی منابع

۲-۱- پیشینه ای کوتاه از ژنتیک کمی

از ابتدای تاریخ، اصلاح نژاد گیاهان و حیوانات بر مبنای انتخاب افراد با فنوتیپ مطلوب به عنوان والدین نسل بعد بوده است. مقایسه بین جمعیت های اهلی و اجداد وحشی آنها، نشان می دهد که انتخاب مصنوعی، بدون هیچ دانش رسمی در زمینه ژنتیک، در تغییر فنوتیپ ها به طور کامل موثر بوده است. Wright و Halden و Fisher با ترکیب نظریه داروین و مندل در مقاله هایی از سال ۱۹۲۴ تا سال ۱۹۳۱ نشان دادند که چگونه انتخاب مصنوعی با کنترل و جهت دهی صفات کمی مورد انتخاب، روی عوامل مندلی کار می کند. Fisher همچنین نشان داد که عوامل مندلی می تواند شباهت بین خویشاوندان را توجیه نموده و توضیح دهند. این اصول از سال ۱۹۳۰ به بعد پایه اصلاح نژاد علمی حیوانات و گیاهان قرار گرفت (مرادیان، ۱۳۹۰).

Lush و Hazel با استفاده از دانش ژنتیک و آمار جمع شده تا سال ۱۹۴۰، اصول شاخص انتخاب را برای بهینه کردن انتخاب مصنوعی بر مبنای اطلاعات فنوتیپی و ارتباطات شناخته شده در میان افراد را ارائه دادند. مدل بی نهایت عوامل کم اثر که توسط Fisher در سال ۱۹۱۸ ارائه شد، بر این اصل استوار است که هر صفت کمی با تعداد زیادی ژن های مندلی مستقل در حال تفرق که همگی به صورت افزایشی عمل می کنند، کنترل می شود و هر جایگاه ژنی منفرد سهم اندکی از مجموع واریانس ژنتیکی صفت را فراهم می آورد (مرادیان، ۱۳۹۰).

هندرسون با استفاده از علائم ماتریسی، معادلات مختلط را از طریق ترکیب کردن برآورد حداقل مربعات با شاخص انتخاب، به منظور به دست آوردن برآوردهای ناریب از ارزش های ژنتیکی افراد نمونه گیری شده در محیط های مختلف مانند گله ها و بلوک ها توسعه داد. همچنین روش هایی را برای به دست آوردن برآوردهای ناریب اجزای واریانس ژنتیکی و محیطی مورد نیاز برای حل معادلات مذکور، آزمایش کرد. در نهایت وی الگوریتم ساده ای را براساس وارونه کردن ماتریس روابط خویشاوندی به دست آورد. این عمل استفاده از همه خویشاوندان شناخته شده را در ارزیابی ژنتیکی امکانپذیر نمود (مرادیان، ۱۳۹۰).

Schaeffer در سال ۲۰۰۶ اشاره کرد که اگر انتخاب ژنومی قادر باشد ارزش اصلاحی یک حیوان را تنها براساس اطلاعات نشانگری آن با دقت ۸۰ درصد برآورد کند، دیگر نیازی به آزمون نتاج در گاو

شیری نبوده و هزینه پروف گاوه‌های نر تا ۹۲ درصد کاهش و سرعت پیشرفت ژنتیکی ۳ تا ۴ برابر افزایش خواهد یافت (زیرا ارزش اصلاحی گاو نر در همان بدو تولد مشخص خواهد شد). در حال حاضر تکنولوژی به این نقطه رسیده که قادر است ۵۴۰۰۰ جایگاه در برگیرنده SNP را با هزینه ای کمتر از ۳۰۰ دلار برای هر حیوان ژنوتیپ نماید (زرگریان و همکاران، ۱۳۸۹).

۲-۲- اصطلاح QTL

اصطلاح^۱ QTL که به مفهوم مکان های ژنی کنترل کننده صفات کمی است، در حقیقت یک قطعه یا یک ناحیه از یک کروموزوم است که ژن (ژن های) کنترل کننده یک صفت کمی را حمل می کند. مکان یابی QTL از دو جهت می تواند حائز اهمیت باشد:

۱- تسهیل گزینش از طریق انتخاب به کمک نشانگرهای پیوسته با QTL های مهم کنترل کننده صفات کمی.

۲- کلون کردن QTL های مهم و با اثرات بزرگ و استفاده از آنها در پروژه های انتقال ژن (شجاعی باغینی، ۱۳۸۹).

عوامل موثر در تجزیه QTL را می توان به صورت زیر خلاصه نمود:

۱- نوع و اندازه جمعیت مورد مطالعه.

۲- نوع نشانگرها، تراکم و توزیع آنها در ژنوم.

۳- طول نقشه ژنتیکی و فاصله بین نشانگرها و QTL ها در روی نقشه.

۴- اثر سایر QTL های در حال تفرق در ژنوم.

۵- آستانه معنی دار یا سطح بحرانی در نظر گرفته شده برای آزمون های آماری.

۶- اثرات محیطی. اگر بتوان این اثرات را شناسایی و برآورد نمود، توان آزمون افزایش خواهد یافت.

۷- توزیع اندازه فنوتیپی صفت در جمعیت. انحراف از توزیع نرمال، توان آزمایش را کاهش می دهد.

^۱ Quantitative Trait Loci

۸- روش های آماری مورد استفاده در شناسایی QTL ها (شجاعی باغینی، ۱۳۸۹).

۲-۳- تعداد QTL

تعداد موثر جایگاه، می تواند به عنوان واریانس ژنتیکی افزایشی کل تعریف شود. تعداد موثر جایگاه، بخشی از واریانس ژنتیکی افزایشی را افزایش می دهد (مرادیان، ۱۳۹۰).

Robertson (1956) پیشنهاد کرد توزیع اثرات آللی برای صفات کمی نمایی است، از این رو تعداد کمی لوکوس بیشترین میزان واریانس صفت و تعداد زیادی لوکوس مابقی واریانس ژنتیکی صفت را تحت کنترل دارند. از طرفی مدل IFM^۱ توسط Fisher و Ballmer فرض می کند تعداد بسیاری QTL با اثر کوچک و با اثرات آللی برابر تنوع ژنتیکی صفت کمی را باعث می شود. اگر مدل Robertson صحیح باشد شناخت اساس ساختار ژنتیکی صفات کمی ممکن است. اما اگر مدل فیشر و Ballmer صحیح باشد شناخت اساس تنوع ژنتیکی صفات کمی با بررسی QTL های فردی که هر کدام اثر کوچک و برابری دارند و فراوانی آنها در اثر انتخاب چندان تغییری نمی کند، ممکن نیست (Mackay *et al.*, 2009, 2001).

Zhang و Smith (1992, 1993) یک توزیع نرمال از اثرات QTL را شبیه سازی کردند، سپس آنها توزیع گاما را در اثرات QTL بررسی کردند. در کل این مطالعات، یک توزیع را که اصول تعداد کمی QTL بزرگ اثر و تعداد زیادی QTL کوچک اثر است، را به کار می برند (Kyung *et al.*, 2010). همچنین در بسیاری از موارد خود ژن های عمده یا به اصطلاح QTL شناسایی نشده اند و از نشانگرهایی که با ژن های عمده پیوستگی دارند استفاده می شود که در این گونه موارد نیاز به بررسی پیوستگی نشانگر با QTL مورد نظر در جمعیت های مختلف است (خان سفید)

با توجه به اینکه بسیاری از صفات مهم اقتصادی مانند تولید شیر از جمله صفات کمی هستند که متأثر از ژن های موجود در تعداد زیادی جایگاه ژنی می باشند، شناسایی و انتخاب دام ها فقط بر پایه ژن های موجود در تعداد محدودی جایگاه با اثرات عمده مؤثر بر صفات مورد نظر و بدون لحاظ نمودن اثرات ژن های موجود در سایر جایگاه ها معقول نمی نماید، زیرا که بخش عمده ای از تغییرات در صفات مورد نظر در جمعیت ناشی از اثرات دیگر ژن هایی است که هر یک به تنهایی سهم کوچکی در ایجاد تنوع

¹ Infinitesimal Model

در جمعیت دارند (Edward et al., Lande, 1981, Thody, 1961, Bressse and Mather, 1957, Shrimpton and Robertson, 1988a,b 1987). بنابراین در انتخاب به کمک نشانگرها همیشه در کنار اطلاعات نشانگری نیاز به رکوردهای فنوتیپی که به نوعی اثرات پلی ژنیک را شامل می شوند جهت ارزیابی های ژنتیکی وجود دارد (خان سفید، م.).

دو فاکتور باید در طول برنامه اصلاحی بررسی شود، اول تعداد آلل QTL مثبت که فراوانی کمی در نسل های یکسان دارند و سرانجام کاندیداهایی برای انتخاب به کمک نشانگر در نسل بعد خواهند بود، دوم، به صورت نرمال جهش خودبخود می یابند (Kyung et al. , 2010).

۲-۴- نشانگرهای ژنتیکی

استفاده از ژنتیک مولکولی می تواند نقش عمده ای در پیشرفت برنامه های اصلاحی داشته باشد. نشانگرهای مولکولی از جمله ابزارهای مهم و کاربردی جدید ژنتیک مولکولی در زمینه انتخاب و اصلاح حیوانات هستند که استفاده رو به گسترش از آنها موجب افزایش دقت و صحت انتخاب حیوانات برتر و همچنین پیشرفت سریع برنامه های اصلاحی می شود. به هریک از خصوصیات موجود زنده که بتوان از آنها به عنوان یک نشانه و مدرک برای بررسی شباهت ها و تفاوت های بین گونه ها، جنس و ... استفاده نمود، نشانگر ژنتیکی گفته می شود. به عبارت دیگر، می توان گفت که نشانگرهای ژنتیکی توالی های خاصی از نوکلئوتیدها هستند که با الگوی خاصی در سراسر ژنوم پراکنده شده اند. در سال های اخیر نشانگرهای مولکولی، به منظور انجام مطالعات پایه ای و کاربردی سیستم های جانوری و گیاهی مورد استفاده وسیعی قرار گرفته اند (سهرابی، ۱۳۹۰).

۲-۴-۱- ویژگی های یک نشانگر ژنتیکی مناسب

۱- چندشکلی بالا^۱، اساس استفاده از نشانگرهای ژنتیکی، چندشکلی بودن آنهاست (کلبه داری، ۱۳۸۴).

۲- فراوان بودن

¹ Polymorphism