



## Original Research Paper

## Simultaneous effect of genomic selection and upgrade of alleles by Genomic Editing on quantitative traits improvement in dairy breeding programs

Hossein Abdollahy <sup>1</sup>, Gholam Reza Dashab <sup>1\*</sup>, Mohammad Rokouei <sup>1</sup>, Mehdi Sargolzaei <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran

<sup>2</sup> Department of Pathobiology, University of Guelph, Guelph, Canada

### Key Words

Genomic selection  
Bayes Lasso  
Upgrade of alleles  
Genome editing

### Abstract

**Introduction:** The present study aimed to compare the effect of upgrade of alleles by genome editing was investigated on genomic variance, response to selection and coefficient of inbreeding.

**Materials & Methods:** For this study, a population of dairy cattle was simulated based on over ten generations with an effective size of 100 individuals in the base population. The genomic structure was assumed consisting of 3 chromosomes with a length of 100 cM and On each chromosome were located 1000 markers 2 allelic markers with a frequency of 0.5 and fifty QTL double alleles, in random with equal frequency. Marker effects and variance components were estimated using Bayes Lasso method and additive model. Then, upgrade of alleles was performed on 5 and 10 bulls. In the first stage 1, then 20, 25 and 50 QTN was upgraded by genome editing. The BGLR package in R software was used to estimate the additive effects and variance component. In the next step, the mean inbreeding coefficient for GS+PAGE was calculated and compared with the GS by PLINK software.

**Results:** The effect of upgrade alleles by genome editing was increased additive variance. With 1 QTNe was upgraded and inherited by next generation, additive variance relative to genome selection increased by 0.139. The response to cumulative selection in GS+PAGE model in 5 bulls and 1, 20, 25 and 50 QTNe, increased by 0.07, 0.17, 0.29 and 0.31, respectively. With increasing the number of QTNe, the inbreeding coefficient also increased slightly, but there was no significant.

**Conclusion:** Genome editing improves the genetic variance of the population without increasing inbreeding.

\* Corresponding Author's email: [dashab@uoz.ac.ir](mailto:dashab@uoz.ac.ir)

Received: 22 June 2021; Reviewed: 23 July 2021; Revised: 23 September 2021; Accepted: 23 October 2021

(DOI): [10.22034/AEJ.2021.303201.2631](https://doi.org/10.22034/AEJ.2021.303201.2631)

## مقاله پژوهشی

## تأثیر هم‌زمان انتخاب ژنومی و ارتقاء آلل‌ها به‌وسیله ویرایش ژنومی بر بهبود صفات کمی در برنامه‌های اصلاح نژاد گاو شیری

حسین عبداللهی<sup>۱</sup>، غلامرضا داشاب<sup>۱\*</sup>، محمد رکوعی<sup>۱</sup>، مهدی سرگلزایی<sup>۲</sup><sup>۱</sup> گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران<sup>۲</sup> گروه پاتولوژی، دانشگاه گوئلف، گوئلف، کانادا

## کلمات کلیدی

## چکیده

انتخاب ژنومیک  
ارتقاء آللی  
بیز لاسو  
ویرایش ژنوم

**مقدمه:** مطالعه حاضر به‌منظور مقایسه انتخاب ژنومی با اثرات ارتقاء آللی با ویرایش ژنوم بر واریانس افزایشی، پاسخ به انتخاب و ضریب هم‌خونی انجام گرفت.

**مواد و روش‌ها:** بدین‌منظور یک جمعیت گاو شیری در طی ۱۰ نسل با اندازه مؤثر ۱۰۰ فرد در جمعیت پایه شبیه‌سازی شدند. ساختار ژنومی شامل ۳ کروموزوم با طول ۱۰۰ سانتی‌مورگان فرض شد که بر روی هر کدام ۱۰۰۰ نشانگر ۲ آللی با فراوانی ۰/۵ و ۵۰ QTL به-صورت تصادفی، دو آللی و با فراوانی برابر جانمایی شدند. اثرات نشانگری و مؤلفه‌های واریانس با روش بیز لاسو و مدل افزایشی برآورد شدند. سپس ارتقاء آللی بر روی ۵ و ۱۰ گاو نر انجام گرفت. در اولین مرحله ۱ و سپس ۲۰، ۲۵ و ۵۰ QTN ارتقاء داده شدند. برای برآورد اثرات افزایشی نشانگرها و مؤلفه‌های واریانس از پکیج BGLR در نرم‌افزار R استفاده شد. در مرحله بعد میانگین ضریب هم‌خونی برای GS+PAGE و GS تنها از نرم‌افزار PLINK استفاده شد.

**نتایج:** اثر ارتقاء آللی باعث افزایش واریانس افزایشی شد. با افزایش QTNe به‌میزان یک نسل، واریانس افزایشی نسبت به انتخاب ژنومی به میزان ۰/۱۳۹ افزایش یافت. پاسخ به انتخاب تجمعی در حالت GS+PAGE زمانی که در سناریوی ۵ گاو نر و در وضعیت ۱، ۲۰، ۲۵ و ۵۰ QTNe به‌ترتیب ۰/۰۷، ۰/۱۷، ۰/۲۹ و ۰/۳۱ افزایش یافت. با افزایش تعداد QTNe میزان ضریب هم‌خونی نیز کمی افزایش یافت، ولی تفاوت معنی‌داری نداشت.

**نتیجه‌گیری و بحث:** ویرایش ژنوم موجب بهبود واریانس ژنتیکی جمعیت بدون افزایش هم‌خونی در می‌باشد.

## مقدمه

حداقل برای برخی از صفات، خروج آثار SNP از حالت نرمال وجود دارد که در نتیجه دقت بالاتر روش‌ها با پیچیدگی زیاد توزیع پیشین آثار نشانگرها، مانند رگرسیون غیرخطی یا بیز A است (۸، ۱۰). هیچ نشانه روشن، براساس دانش بیولوژیکی، درباره این توزیع پیشین وجود ندارد. بنابراین یک جایگزین محبوب بیز لاسو (Bayesian least Absolute shrinkage and selection operator) است (۱۱، ۱۲) که اجازه می‌دهد برای خروج از نرمال (SNP‌های با اثر بزرگ) درحالی‌که هنوز هم انقباض انجام می‌شود، به توانایی پیش‌بینی کمک کند. بیز لاسو به راحتی در نمونه برداری گیبس به کار گرفته می‌شود و متغیرهای اضافی  $\tau_i$  که واریانس  $i$  امین اثر SNP را توصیف می‌کند، به مدل سلسله مراتبی اضافه می‌نماید (۱۳). هم‌چنین، یک اشکال روش‌های بیزی نیاز به تعریف توزیع پیشین است که با روش بیز لاسو مرتفع می‌گردد (۱۲، ۱۳، ۱۴). برآورد لاسو برای پارامترهای رگرسیون خطی می‌تواند به عنوان یک برآورد حالت بیزین پسین هنگامی که پارامترهای رگرسیون توزیع لاپلاس اولیه (یعنی نمایی درجه دو) دارند به اجرا درآید. بنابراین، بیز لاسو برآورد فاصله‌ای قابل اعتمادتری (فواصل قابل اعتماد بیزی) را برای هدایت به انتخاب متغیرها فراهم می‌کند (۱۱). پیشرفت‌های اخیر در توسعه تکنیک‌های ویرایش ژنومی (Genome editing) براساس نوکلئاز قابل برنامه‌ریزی به‌طور قابل ملاحظه‌ای توانایی ما را در تغییر ارزشمند ژنوم سلول‌های یوکاریوتی بهبود بخشیده است. اکنون ویرایش ژنومی با استفاده از مدل‌های سلولی و حیوانی دقیق‌تر فرآیندهای پاتولوژیک در گسترش توانایی ما برای روشن کردن سهم ژنتیک به بیماری مفید بوده است. مجموعه کمپلکس نوکلئازی می‌تواند به‌طور مستقیم جهش‌های ژنتیکی در بافت آسیب‌دیده را شناسایی و اصلاح نماید، لذا در درمان بیماری‌های مقاوم به درمان‌های سنتی مؤثر هست (۱۵). با استفاده از همین قابلیت آنزیم، می‌توان در تصحیح QTN‌ها در جهت ازدیاد آلل‌های مطلوب بهره‌گرفت و بدین ترتیب مدل‌های انتخاب با استفاده از ارتقاء آلل با ویرایش ژنوم بهینه می‌شود (۱۶). استفاده از روش‌های انتخاب سنتی تثبیت آلل مطلوب را در روابط سببی کند خواهد کرد، زیرا به‌طور محتمل عوامل زیادی هستند که در سطح پایین نوترکیبی در دام رخ می‌دهد و مانع از آن می‌شود که همه آلل‌های مطلوب ناشی از انتخاب در افراد تثبیت شود. ویرایش ژنوم یک روش بالقوه جدید برای غلبه بر این مشکل است (۱۶) و روش ویرایش ژنوم قادر به اصلاح مواد ژنتیکی در جهت هدف مشخص است. در زمینه اصلاح نژاد یکی از استفاده‌های ویرایش ژنوم می‌تواند تعداد آلل‌های نامطلوب که به‌طور متفاوتی ارزش ارثی بالایی دارند را رفع کند. چنین رویکردی می‌تواند ویرایش ژنوم را بسیار مترادف با انتخاب ژنومیک سازد. افراد می‌توانند ابتدا براساس انتخاب ژنومیک انتخاب شوند و

انتخاب ژنومی، انتخاب به‌کمک نشانگرها است که در آن از اطلاعات نشانگرهای ژنتیکی که کل ژنوم را پوشش می‌دهند، استفاده می‌شود و جایگاه‌های صفات کمی در عدم تعادل پیوستگی با حداقل یک نشانگر شناسایی می‌گردند. این رویکرد با شناسایی تعداد زیادی نشانگرهای تک‌نکلئوتید (SNP=Single nucleotide polymorphism) با استفاده از توالی‌یابی نسل جدید ژنوم (NGS=Next Generation Sequencing) و ریزتراشه‌ها تسهیل شد (۱). در مقایسه با شیوه‌های معمول اصلاح نژادی، وارد کردن اطلاعات نشانگرهای ژنتیکی، می‌تواند به‌میزان قابل توجهی پاسخ به انتخاب را در حیوانات جوان‌تر که سوابق فنوتیپی ندارند، افزایش دهد (۲). هم‌چنین به‌طور بالقوه می‌تواند هزینه‌های برنامه‌اصلاح نژادی را تا ۹۰ درصد کاهش دهد (۳). فرآیند کلی انتخاب ژنومی ابتدا ایجاد یک جمعیت مرجع با استفاده از حیوانات با فنوتیپ‌های تکررکوردی یا چند رکوردی و تراشه‌های SNP ژنوتیپ شده می‌باشد و تخمین اثرات نشانگرهای هر SNP بر پایه اطلاعات جمعیت مرجع است. سپس براساس آثار نشانگری برآورد شده از اطلاعات جمعیت مرجع، ارزش‌های اصلاحی ژنومی جمعیت هدف پیش‌بینی می‌شود (۴). روش‌های مختلفی برای برآورد آثار نشانگری و پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی با فرضیات متعدد برای آثار و توزیع نشانگرها توسط محققین مختلف پیشنهاد شده است (۲، ۵، ۶). در روش رگرسیون حاشیه (Ridge Regression) بهترین پیش‌بینی ناریب خطی (Ridge Regression-best linear unbiased prediction) فرض می‌گردد، همه آثار نشانگرها دارای توزیع نرمال و یکنواختی در سراسر ژنوم هستند (۲). رگرسیون حاشیه‌ای یک فرآیند پی‌درپی دارد که ضریب لامبدا را به میانگین نزدیک‌تر می‌نماید، لذا پایدارتر است. با این حال، هیچ ضریبی برای صفر تنظیم نمی‌کند، لذا یک مدلی که به راحتی قابل تفسیر باشد را ارائه نمی‌دهد (۷). در روش بیز A، فرض می‌گردد که نشانگرها واریانس‌های مختلف دارند و بر اساس توزیع معکوس  $\chi^2$  مدل‌سازی می‌شوند (۲). توزیع پیشین در روش بیز B (۲) فرض می‌کند که واریانس نشانگرها برابر با صفر با احتمال P است و مکمل با احتمال (1-P) از یک توزیع معکوس  $\chi^2$  با درجه آزادی V و مقیاس پارامتر S پیروی می‌کند. تعریف احتمال P به ساختار ژنتیکی صفات وابسته است، که عامل پیشرفت مدل بیز B است که به‌عنوان مدل بیز Cp شناخته شده است. در بیز Cp ترکیب احتمالی P توزیع پیشین یکنواخت دارد (۵). مدل‌های منظم مخلوط (که به‌عنوان خط‌الرأس رگرسیون (Bayesian ridge regression) و یا بهترین پیش‌بینی ناریب خطی ژنومی (Genomic BLUP) شناخته شده است. برای فهم، کاربرد و بسط دادن ساده هستند (۸، ۹)، ولی

ویرایش ژن در قالب مدل افزایشی نشانگرها و با روش آماری بیز لاسو در برنامه‌های اصلاح نژادی گاو شیری بود.

## مواد و روش‌ها

یک جمعیت گاو شیری با استفاده از نرم‌افزار QMSim (۱۹) ایجاد شد. به‌منظور ایجاد عدم تعادل پیوستگی بین نشانگرها و QTLها و همچنین تعادل رانش-جهش بر مبنای روش Villumsen و همکاران (۲۰) اندازه‌مؤثر جمعیت ۱۰۰ در نظر گرفته شد که شامل ۵۰ رأس نر و ۵۰ رأس ماده بودند. این ساختار جمعیتی در جمعیت تاریخی (Historical population) برای ۴۰۰۰ نسل با آمیزش تصادفی ادامه یافت (۲۱) تا عدم تعادل پیوستگی لازم بین نشانگرها و QTLها به‌وجود آید. در ادامه اندازه جمعیت به ۶۰۰۰ رأس افزایش یافت و برای مطالعات ژنومی استفاده شدند. اندازه جمعیت مذکور برای ۶ نسل بعدی (تا نسل ۴۰۰۶) ثابت در نظر گرفته شد. به‌منظور حصول به حداکثر سرعت پیشرفت ژنتیکی از این گله تاریخی چهار مسیر مختلف مشتق و انتخاب شدند که به ترتیب گروه ۱: پدر بزرگ مادری، گروه ۲: مادر بزرگ مادری، گروه ۳: پدر بزرگ پدری و گروه ۴: مادر بزرگ پدری را تشکیل دادند. در هر گله گاوها براساس بیش‌ترین مقدار ارزش اصلاحی برآورد شده انتخاب انجام گرفته و حذف آن‌ها از گله براساس سن انجام شد. روش تخمین ارزش اصلاحی با استفاده از روش بهترین پیش‌بینی ناریب خطی بود. چهار گروه والدین مجزا که از نسل آخر جمعیت تاریخی (در خط پدری ۱۰۰ نر و ۴۰۰ ماده و در خط مادری ۲۰ نر و ۴۰۰ ماده) برحسب ارزش ارثی واقعی بالا مجزا شدند و برای ۴۰ نسل دیگر باهم آمیزش تصادفی کردند. سپس جمعیت پدری از نسل ۴۰ (در خط پدری ۱۰۰ نر و ۲۰۰ ماده و در خط مادری ۲۰ نر و ۲۰۰ ماده) برای ۱۰ نسل دیگر آمیزش تصادفی داشتند و از دهمین نسل آن‌ها جمعیت موردنظر (۱۰ نر و ۱۰۰ ماده) که برای ده نسل دیگر آمیزش داده شدند، تشکیل شد. آثار آلی و SNP کدها برای ۱۰ نسل آخر ذخیره شدند. جدول ۱ خلاصه ساختار جمعیت شبیه‌سازی شده از جمعیت تاریخی را نشان می‌دهد. ساختار ژنومی شامل ۳ کروموزوم با طول ۱۰۰ سانتی‌مورگان بودند که بر روی هر کروموزوم ۱۰۰۰ نشانگر دو آلی با فراوانی‌های برابر (۰/۵) در جمعیت پایه جانمایی شدند (فراوانی‌های آلی به دلیل عدم وزن‌دهی به یک آلل برابر در نظر گرفته شد). ۵۰ QTL دو آلی با فراوانی برابر که به صورت تصادفی در روی هر کروموزوم قرار داشتند، شبیه‌سازی شدند. اثر آلی QTL از یک توزیع گاما با شیب پارامتر ۰/۴ در نرم‌افزار QMSim (۱۹) پیاده‌سازی شد و نمونه‌برداری انجام گرفت. نرخ جهش بازگشت کننده برای QTL و نشانگر  $1 \times 10^{-4}$  (۲۱، ۲۲) در نظر گرفته شدند.

سپس برخی از آلل‌های غیرمطلوب خود را حذف کنند (۱۶). ویرایش ژنوم در دام‌ها در درجه اول آلل‌هایی را معرفی کرده است که صفات یکنواخت را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۱۷). بهبود ویژگی چندژنی با ارتقا آلل‌ها با ویرایش ژنوم (PAGE) در ترکیب با انتخاب ژنومی توسط Jenko و همکاران، در یک مطالعه شبیه‌سازی معرفی گردید. نتایج نشان داد ویرایش ژنوم پاسخ به انتخاب بعد از ۲۰ نسل را ۱/۰۸ تا ۴/۱۲ برابر افزایش داد (۱۶). در شبیه‌سازی آن‌ها فرض بر این بود که ژن‌ها و تأثیرات آن‌ها بدون خطا شناخته شده است. با این حال، یکی از مهم‌ترین موانع فنی برای اجرای GE در برنامه‌های تولیدمثل تجاری، دانش محدود در مورد جهش‌های ایجادکننده است که زمینه ساز تنوع ژنتیکی مشاهده شده است. معرفی آلل‌ها توسط GE ممکن است مزایای مختلفی داشته باشد در مقایسه با استراتژی‌های تولید مثل کلاسیک از جمله اینتروگرسیون (Genomic-assisted introgression) به کمک ژنومیک استراتژی‌های پرورش اینتروگرسیون کلاسیک دشوار، پرهزینه و وقت‌گیر است و همچنین از افزایش ژنتیکی پایین‌تر، کشیدن ارتباط و افزایش هم‌خونی در منطقه اطراف ژن هدف رنج می‌برد. Bastiaansen و همکاران، در مطالعه‌ای گزارش نمودند ویرایش ژنومی همراه با انتخاب ژنومیک، می‌تواند منجر به تغییر فراوانی یک آلل با اثر یکنواخت در جمعیت گردد. آن‌ها با استفاده از شبیه‌سازی مونت کارلو، اثرات وزن بر آلل موردنظر در هدف تولیدمثل، میزان موفقیت ویرایش ژنومی و میزان بقای زیگوت‌های ویرایش شده را در تغییر فرکانس آلل بررسی کردند. علاوه بر این، اثرات افزایش ژنتیکی در صفت چندژنی و میزان هم‌خونی در خون ارزیابی شد. مزایای داشتن حیواناتی با ویژگی مورد نظر و هزینه، از نظر تعداد حیواناتی که باید ویرایش شوند، مقایسه شد. آن‌ها در شبیه‌سازی خود نشان دادند که ویرایش ژنومی نسبت به انتخاب ژنومی به تنهایی زمان تثبیت آلل مورد نظر را به شدت کاهش می‌دهد. از دست دادن پاسخ انتخاب در صفت پلی‌ژنیک با افزودن ویرایش ژنومی تا ۷ برابر کم‌تر بود. همان سطح هم‌خونی با یا بدون ویرایش ژنومی مشاهده شد، مگر این‌که تمام تأکید انتخاب بر صفت یکنواخت باشد. سپس ویرایش ژنومی هم‌خونی طولانی مدت را کاهش داد. ترکیب ویرایش ژنومی با تأکید انتخاب متوسط برای آلل مورد نظر، تقریباً چهار برابر تعداد حیوانات با فنوتیپ نامطلوب را در تمام نسل‌ها کاهش داد. با راندمان ویرایش واقعی ۴ درصد، تعداد مراحل ویرایش مورد نیاز ۷۲ درصد و افت در پاسخ به انتخاب ۸۰ درصد افزایش یافت. با کارایی کم، افت در پاسخ به انتخاب ۲۹ درصد بیش‌تر از انتخاب ژنومی بود (۱۸). علاوه بر ملاحظات اخلاقی و رفاهی، ارزیابی دقیق هزینه‌های فنی و مزایای ویرایش ژنومی در دام‌های تجاری مورد نیاز است. بنابراین هدف از این پژوهش مقایسه انتخاب ژنومی تنها با انتخاب ژنومی همراه با

جدول ۱: خلاصه ساختار جمعیت شبیه‌سازی شده

جمعیت	نتاج	درصد نر	تعداد نرها	نهای انتخابی	ماده	تعداد ماده انتخابی	والد نر	حذف شده‌ها	والد ماده	حذف شده‌ها
پدر بزرگ مادری	۱۶۴۴۰	۰/۴۹	۸۰۴۰	۶۲۴	۸۴۰۰	۳۱۲۰	۱۶۰۰	۶۲۴	۱۶۰۰۰	۳۱۲۰
مادر بزرگ مادری	۱۶۴۴۰	۰/۴۹	۸۰۴۰	۶۲۴	۸۴۰۰	۳۱۲۰	۱۶۰۰	۶۲۴	۱۶۰۰۰	۳۱۲۰
پدر بزرگ پدری	۱۶۵۰۰	۰/۴۹	۸۱۰۰	۱۵۶۰	۸۴۰۰	۳۱۲۰	۴۰۰۰	۱۵۶۰	۱۶۰۰۰	۳۱۲۰
مادربزرگ پدری	۱۶۵۰۰	۰/۴۹	۸۱۰۰	۱۵۶۰	۸۴۰۰	۳۱۲۰	۴۰۰۰	۱۵۶۰	۱۶۰۰۰	۳۱۲۰
مادر	۲۲۲۰	۰/۴۶	۱۰۲۰	۷۲	۱۲۰۰	۳۱۲۰	۲۰۰	۷۲	۲۰۰۰	۳۶۰
پدر	۲۳۰۰	۰/۴۸	۱۱۰۰	۳۶۰	۱۲۰۰	۳۱۲۰	۱۰۰۰	۳۶۰	۲۰۰۰	۳۶۰
جمعیت هدف	۶۱۱۰	۰/۴۹	۳۰۱۰	۲۳۶	۳۱۰۰	۱۱۸۰	۶۰۰	۲۳۶	۶۰۰۰	۱۱۸۰

در اینجا  $TBV_{curr}$  میانگین TBV (True breeding value) در نسل حاضر است و  $TBV_{base}$  و  $\sigma TBV_{base}$  به ترتیب میانگین و انحراف معیار TBV در نسل ۰ تا ۵۶ پایه است. نسل ۰ تا ۵۶ به عنوان نسل پایه برای مشاهده پیشرفت ژنتیکی از شروع برنامه اصلاحی در نسل گذشته براساس GS است و مقایسه آن با نسل آینده (۵۷ تا ۱۰۶) براساس GS تنها و GS+PAGE استفاده شد. پاسخ تجمعی در طول اصلاح نژاد آینده با  $TBV_{base}$  ارزیابی می‌شود که با میانگین برابر TBV در نسل صفر به منظور ارزیابی تفاوت بین GS تنها و GS+PAGE از زمان شروع فعالیت اصلاحی آینده تنظیم شد. برای بررسی استفاده نتیجه PAGE، تغییر در فراوانی آلل‌ها برای همه QTN‌ها که در نسل صفر جدا شدند و برای ۲۰ QTN با اثر بزرگ که در نسل صفر جدا شدند مورد نظارت قرار گرفت. تغییر در واریانس ژنتیکی به سبب تغییر در فراوانی آللی این QTN‌ها برای هر نسل مورد محاسبه قرار گرفت. واریانس ژنتیکی به صورت زیر محاسبه شد (۲۳):

$$\sum_i^2 2p_i(1-p_i)\alpha_i^2 \quad (2)$$

در این فرمول  $p_i$  فراوانی آلل مطلوب در  $i$ امین QTN و  $\alpha_i$  اثر جایگزینی آللی است. واریانس ژنتیکی برای همه QTN‌ها و همچنین برای ۲۰ QTN با اثر بزرگ محاسبه شد. تعداد QTNه مشخص در هر نسل و اندازه اثر همه QTN که ویرایش کردیم در هر نسل را ثبت می‌کنیم. یک QTN حداقل در یک گاو نر ویرایش شد و مورد بررسی قرار گرفت و سرانجام متوسط ضریب هم‌خونی براساس روش ROH (FROH) (Run of Homozygosity) در هر نسل محاسبه گردید. برآوردهای ROH مستقیماً سطح هموزیگوسیتی را منعکس می‌کند و تحت تأثیر فراوانی آللی قرار نمی‌گیرد (۲۴). برای برآورد ضریب هم‌خونی از دستور Homozyg در نرم‌افزار PLINK (۲۵) استفاده گردید. با استفاده از خروجی نرم‌افزار از فرمول ۳ فواصل ROH محاسبه شد:

$$l = \frac{\ln\left(\frac{\alpha}{n\epsilon\pi l}\right)}{\ln(1-her)} \quad (3)$$

توزیع آثار نشانگری و پلی‌ژنی در نسل آخر جمعیت پایه برای صفت با وراثت‌پذیری ۰/۳ معرفی شد و ۵۰ QTL با آثار افزایشی، غالبیت و اپیستاتیک با هم ۱۰٪ واریانس فنوتیپی را شامل شدند. ارتقاء آلل‌ها به وسیله ویرایش ژنومی (Promotion of Alleles by Genome Editing) نیاز دارد که فرض گردد، حداقل تعدادی از QTN‌ها شناخته شده هستند. هنگامی که تمام QTN‌ها شناخته شده باشند، صحت GS عالی خواهد بود. PAGE در نسل اول (۰ تا ۵۶) در نظر گرفته نشد و فقط در قسمت نسلی دوم (۵۷ تا ۱۰۶) منظور شد. برای به کار بردن PAGE ابتدا تعدادی افراد نر براساس روش انتخاب بیز لاسو انتخاب شد و سپس زیرمجموعه‌های این حیوان‌های نر را برای ۱، ۲۰، ۲۵ و ۵۰ QTN ویرایش انجام شد. برای هر فرد نر، QTN با اثر جایگزینی آللی بزرگ در افراد نر برای آلل مطلوب هموزیگوت نیستند ویرایش انجام شد (QTN ویرایش شده QTNه نامیده شد). در این تحقیق هم‌چنین به طور گزینشی QTN‌هایی که کم‌ترین اثر را روی صفت مورد مطالعه داشتند، ارتقاء داده شد. سناریوهای مختلف ویرایش برای ۵، ۱۰ گاو نر انجام گرفت و این QTN‌های ارتقاء یافته به فرزندان این نرها به ارث رسید و اثر هر یک مورد بررسی قرار گرفت و در آخر این سناریوها در بردارنده GS+PAGE با GS تنها مورد مقایسه قرار گرفت و میزان پیشرفت ژنتیکی سنجش شدند. این کار بدین صورت بود که ابتدا یک QTN در آخرین نسل‌های نر مولد ارتقاء داده شده و این آلل ارتقاء داده شده بدون هیچ دستخوش دیگری به فرزند این نرها به ارث رسید. سپس در همین نرها میزان بیش‌تری QTN‌های ارتقاء داده شد. به همین ترتیب با افزایش نرها و QTN‌های ارتقاء داده شده نسل‌های بیش‌تری در محاسبات وارد شد و اثرهای آن‌ها مورد محاسبه قرار گرفت. پتانسیل PAGE برای افزایش پاسخ به انتخاب برای صفات کمی در برنامه‌های اصلاح‌نژادی به وسیله پاسخ به انتخاب تجمعی در هر نسل محاسبه شد. فرمول پاسخ به انتخاب تجمعی به صورت زیر می‌باشد (۱۶):

$$\frac{TBV_{curr} - TBV_{base}}{\sigma TBV_{base}} \quad (1)$$

به انتخاب تجمعی شد (جدول ۴). همان‌طور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود پاسخ به انتخاب تجمعی در حالت GS + PAGE زمانی که در ۵ گاو نر و در هر کدام ۱ QTN ارتقاء داده شد به میزان ۰/۰۷ افزایش یافت. زمانی که ۲۰ و ۵۰ QTN ارتقاء داده شد پاسخ تجمعی نسب به ویرایش ژنومی به ترتیب ۰/۱۷ و ۰/۳۱ افزایش یافت، اما وقتی حالت GS + PAGE بر روی ۱۰ گاو نر انجام گرفت، تفاوت معنی‌داری با حالتی که روی ۵ گاو نر ویرایش انجام شد نداشت. در مقایسه به GS تنها، GS + PAGE با تعداد نسبتاً کم QTN (به عنوان مثال، ۱ یا ۲۰ QTN) برای افزایش پاسخ به انتخاب برای صفات کمی که با هزاران QTN دارای اثرات نسبتاً کوچک است، مؤثر بود. هنگامی که ۱۰ نر تحت تأثیر PAGE قرار گرفت برای زمانی که ۲۰ و ۲۵ QTN ارتقاء داده شدند، تفاوت معنی‌داری با زمانی که ۵ گاو نر تحت تأثیر PAGE قرار گرفت، وجود نداشت. این می‌تواند به دلیل اثر سایر آللهایی باشد که بر آللهای ارتقاء یافته تأثیر می‌گذارند و منجر به کاهش واریانس ژنتیکی افزایشی و متعاقب آن کاهش پاسخ به انتخاب تجمعی می‌گردد. همچنین می‌تواند به دلیل تأثیر کم فرزندان گاوهای نر ارتقاء یافته در تشکیل کل جمعیت باشد و فرزندان آن‌ها موفق به تولیدمثل کافی و انتقال این آللهای به نسل‌های دیگر نشدند. جدول ۵ میانگین ضریب هم‌خونی برای حالت GS+PAGE نسبت به انتخاب ژنومی (GS) را نشان می‌دهد. با افزایش تعداد QTN میزان ضریب هم‌خونی نیز کمی افزایش یافته است، ولی تفاوت بین ضریب هم‌خونی در حالت ۲۰ QTN و ۲۵ QTN و همچنین زمانی که ۵ نر ویرایش شدند یا ۱۰ نر وجود نداشت. با افزایش تعداد ارتقاء آللهای ۵۰ QTN میزان هم‌خونی کمی افزایش بیش‌تری یافت. زمانی که ۱۰ نر ویرایش شد باز میزان هم‌خونی تغییر نکرد. در واقع فرزندان این ۵ نر اضافی نتوانستند در ساختار جمعیت نقش زیادی داشته باشند.

که در این فرمول،  $L$  حداقل تعداد SNPها را در ROH،  $n_s$  تعداد SNPهای ژنوتیپ شده برای هر فرد،  $n_i$  تعداد افراد،  $het$  میانگین هتروزیگوسیتی تمام SNPها،  $\alpha$  درصد اشتباه مثبت ROH را نشان می‌دهند. سپس با استفاده از فرمول ۴ ضریب هم‌خونی براساس  $F_{ROH}$  محاسبه می‌شود (۲۶):

$$F_{ROH} = \sum \frac{L_{ROH}}{L_{AUTO}} \quad (4)$$

$L_{ROH}$  مجموع طول‌های ROH در ژنوم و  $L_{AUTO}$  طول کل اتوزوم‌ها می‌باشد.

برآورد مؤلفه واریانس افزایشی که قابل انتقال به نسل‌های بعدی می‌باشد از اهداف این طرح است و تأثیر ویرایش ژنومی بر واریانس افزایشی مورد بررسی قرار گرفت. برای انتخاب ژنومیک از روش بیز لاسو استفاده شد. برای آنالیز آماری داده‌ها به کمک نرم‌افزار R از پکیج BGLR استفاده شد (۲۷) و همچنین برای ارتقاء آللهای کمکی ویرایش ژنومی از برنامه‌نویسی روی نرم‌افزار R استفاده گردید.

## نتایج

جداول ۲ و ۳ اثر ارتقاء آلی به وسیله ویرایش ژنوم بر واریانس ژنومی به ترتیب بر روی ۵ و ۱۰ گاو نر را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد ارتقاء آلی منجر به افزایش واریانس افزایشی شد. زمانی که ۱ QTN ارتقاء یافت، بعد از یک نسل واریانس افزایشی نسبت به انتخاب ژنومی به میزان ۰/۱۳۹ افزایش یافت و با ارتقاء آللهای بیش‌تر (۲۰، ۲۵ و ۵۰ QTN) در طی ۲۰ نسل روند افزایش واریانس افزایشی بیش‌تر شد. GS + PAGE برای افزایش پاسخ به انتخاب صفات کمی مؤثر بود. در مقایسه با فقط GS، ویرایش ۵ نر برای یک QTN در هر نر، و انتقال این ژن به یک نسل از فرزندان گاو نر باعث افزایش پاسخ

جدول ۲: تغییرات واریانس ژنومی انتخاب ژنومی نسبت به انتخاب ژنومی به علاوه ارتقاء آللهای با ویرایش ژنوم (GS + PAGE) با ویرایش ۵ والد نر

سناریوها	واریانس افزایشی	واریانس باقی‌مانده	واریانس ژنتیکی به واسطه نشانگرها	ارزش ژنتیکی
انتخاب ژنومیک	۰/۱۶۵	۰/۸۳۵	۰/۰۰۰۰۳	۰/۱۷۶
QTN ۱	۰/۳۰۴	۰/۶۹۶	۰/۰۰۰۰۴	۰/۱۸۷
QTN ۲۰	۰/۳۷۳	۰/۶۴۷	۰/۰۰۰۰۶	۰/۲۱۱
QTN ۲۵	۰/۳۸۵	۰/۶۱۵	۰/۰۰۰۰۸	۰/۲۴۲
QTN ۵۰	۰/۳۸۷	۰/۶۱۳	۰/۰۰۰۰۸	۰/۲۴۴

جدول ۳: تغییرات واریانس ژنومی انتخاب ژنومی نسبت به انتخاب ژنومی به علاوه ارتقاء آلل‌ها با ویرایش ژنوم (GS + PAGE) با ویرایش ۱۰ والد نر

سناریوها	واریانس افزایشی	واریانس باقی‌مانده	واریانس ژنتیکی به واسطه نشانگرها	ارزش ژنتیکی
انتخاب ژنومیک	۰/۱۶۵	۰/۸۳۵	۰/۰۰۰۰۳	۰/۱۷۶
QTNe ۱	۰/۳۳۹	۰/۶۹۶	۰/۰۰۰۰۵	۰/۱۹۱
QTNe ۲۰	۰/۳۷۳	۰/۶۴۷	۰/۰۰۰۰۶	۰/۲۱۱
QTNe ۲۵	۰/۳۸۵	۰/۶۱۵	۰/۰۰۰۰۸	۰/۲۴۴
QTNe ۵۰	۰/۳۸۷	۰/۶۱۳	۰/۰۰۰۰۸	۰/۲۴۴

جدول ۴: پاسخ تجمعی به انتخاب ژنومی (GS) در مقایسه با انتخاب ژنومی به علاوه ارتقاء آلل‌ها توسط ویرایش ژنوم (GS + PAGE)

تعداد QTNe های ویرایش شده به ازای هر والد نر					والد های نر ویرایش شده
QTNe ۵۰	QTNe ۲۵	QTNe ۲۰	QTNe ۱	QTNe (GS + تنها)	
۰/۷۱	۰/۶۹	۰/۵۷	۰/۴۷	۰/۴	۵
۰/۷۱	۰/۶۹	۰/۵۷	۰/۴۹	۰/۴	۱۰

جدول ۵: مقایسه درصد ضریب هم‌خونی جمعیت در دو وضعیت انتخاب ژنومی (GS) در مقایسه با انتخاب ژنومی به علاوه ارتقاء آلل‌ها توسط ویرایش ژنوم (GS + PAGE)

تعداد QTNe های ویرایش شده به ازای هر والد نر					والدهای نر ویرایش شده
QTNe ۵۰	QTNe ۲۵	QTNe ۲۰	QTNe ۱	QTNe (GS + تنها)	
۰/۴۵	۰/۴۴	۰/۴۴	۰/۴۳	۰/۴۳	۵
۰/۴۵	۰/۴۴	۰/۴۴	۰/۴۳	۰/۴۳	۱۰

## بحث

منتقل می‌شود و با افزایش تعداد QTNe های ارتقاء یافته این تعداد آلل‌ها هم افزایش یافته که با نتایج مطالعه Jenko و همکاران (۱۶) مطابقت داشت. هنگامی که ۱۰ نر تحت تأثیر PAGE قرار گرفت برای زمانی که ۲۰ و ۲۵ QTNe ارتقاء داده شدند، تفاوت معنی‌داری با زمانی که ۵ گاو نر تحت تأثیر PAGE قرار گرفت، وجود نداشت. این می‌تواند به دلیل اثر سایر آللهایی باشد که بر آلل‌های ارتقاء یافته تأثیر می‌گذارند و منجر به کاهش واریانس ژنتیکی افزایشی و متعاقب آن کاهش پاسخ به انتخاب تجمعی می‌گردد. هم‌چنین می‌تواند به دلیل تأثیر کم فرزندان گاوهای نر ارتقاء یافته در تشکیل کل جمعیت باشد و فرزندان آن‌ها موفق به تولیدمثل کافی و انتقال این آلل‌ها به نسل‌های دیگر نشدند. با افزایش تعداد QTNe میزان ضریب هم‌خونی نیز کمی افزایش یافته است، ولی تفاوت بین ضریب هم‌خونی در حالت ۲۰ QTNe و ۲۵ QTNe و هم‌چنین زمانی که ۵ نر ویرایش شدند یا ۱۰ نر وجود نداشت و این یافته با نتایج Jenko و همکاران (۱۶) و Bastiaansen و همکاران (۱۸) هم‌خوانی داشت. با افزایش

ویرایش ژنوم (GE) تکنیکی برای افزودن، حذف یا جایگزینی مجموعه‌ای از نوکلئوتیدها در ژنوم سلول می‌باشد. اگر این تغییرات در ژنوم سلول‌های بافت زاینده ایجاد شود، دائمی خواهد بود و می‌تواند به نسل‌های بعدی انتقال پیدا کند. مکانسیم PAGE فرآیندی هست که موجب می‌شود تا آلل‌های جایگاه‌های مختلف جدا از هم تفکیک شوند. بنابراین، آلل‌های مطلوب می‌توانند به‌طور مستقل از مکان‌های اطراف خود که به‌طور معمول به‌طور مشترک به ارث می‌روند، تثبیت شوند. زمانی که ۱ QTNe ارتقاء یافت، بعد از یک نسل واریانس افزایشی نسبت به انتخاب ژنومی به میزان ۰/۱۳۹ افزایش یافت و با ارتقاء آلل‌های بیش‌تر (۲۰، ۲۵ و ۵۰ QTNe) در طی ۲۰ نسل روند افزایش واریانس افزایشی بیشتر شد که این می‌تواند به دلیل افزایش ال‌های مطلوب باشد که در طی نسل‌ها در جمعیت افزایش می‌یابد و به نسل بعد

بیش‌تری از QTNها منجر به پاسخ به انتخاب بیش‌تر شد. هم‌چنین افزایش تعداد QTNه ضریب هم‌خونی را هم تا حدودی افزایش داد، اما ویرایش تعداد محدودی از QTNها بر روی تعداد بیش‌تری از والد‌های نر موجب شد تا ضریب هم‌خونی تغییر محسوسی در ضریب هم‌خونی نداشت. فن‌آوری‌های ویرایش ژنوم ابزار جدیدی برای بهبود ژنتیکی فراهم می‌کند و این امکان را دارد که در آینده ایفاگر نقش مهمی در اصلاح نژاد دام باشد. نتایج حاصل از مطالعه اثر ارتقاء آلی بر روی ژنوم گاو شیری به‌وسیله ویرایش ژنوم یا PAGE باعث افزایش واریانس افزایشی و پاسخ به انتخاب جمعی در جمعیت شبیه‌سازی مورد مطالعه نسبت به زمان استفاده از GS تنها شد. این ارتقاء آلی با افزایش آلل‌های مطلوب در ژنوم حیوان نر و انتقال آن به نسل‌های بعدی همراه هست. با افزایش تعداد حیوان‌هایی که تحت تأثیر PAGE قرار گرفتند میزان افزایش در واریانس افزایشی و پاسخ به انتخاب جمعی بیش‌تر شد، ولی شیب آن کم‌تر بود که این می‌تواند به دلیل شرکت کم‌تر این آلل‌ها در نتایج آینده به‌واسطه لقاح تصادفی باشد. هم‌چنین نتایج درصد هم‌خونی برای زمانی که GS+PAGE استفاده شد نسبت به GS تنها در زمانی که ۵ نر مورد ویرایش قرار گرفت با افزایش تعداد QTNه افزایش یافت، اما با افزایش تعداد نرها ویرایش شده تفاوت معنی‌داری نشان نداد، لذا دغدغه ویرایش ژنوم با افزایش هم‌خونی در جمعیت‌های بزرگ منتفی هست.

## منابع

1. **Goddard, M.E. and Hayes, B.J., 2007.** Genomic selection. *Journal of Animal Breeding and Genetic.* 124: 323-330.
2. **Meuwissen, T.H.E., Hayes, B.J. and Goddard, M.E., 2001.** Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics.* 157(4): 1819-1829.
3. **Schaeffer, L.R., 2006.** Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle. *Journal of Animal Breeding Genetics.* 123: 218-223.
4. **Song, H., Li, L., Zhang, Q., Zhang, S. and Ding, X., 2018.** Accuracy and bias of genomic prediction with different de-regression methods. *Animal.* 12(6): 1111-1117.
5. **Habier, D., Fernando, R.L., Kizilkaya, K. and Garrick, D.J., 2011.** Extension of the Bayesian alphabet for genomic selection. *BMC Bioinformatics.* 12: 186.
6. **de los Campos, G., Hickey, J.M., Pong-Wong, R., Daetwyler, H.D. and Callus, M.P.L., 2012.** Whole genome regression and prediction methods applied to plant and animal breeding. *Genetics.* 193: 327-345.
7. **Tibshirani, R., 1996.** Regression shrinkage and selection via the lasso. *Journal of the Royal Statistical Society Series B.* 58: 267-288.
8. **VanRaden, P., Van Tassell, C., Wiggans, G., Sonstegard, T., Schnabel, R., Taylor, J. and Schenkel, F., 2009.** Invited Review: Reliability of genomic predictions for North American Holstein bulls. *Journal of Dairy Science.* 92: 16-24.

تعداد ارتقاء آلل‌ها به QTN میزان هم‌خونی کمی افزایش بیش‌تری یافت در واقع این افزایش به‌دلیل آلل‌های مشابه ارتقاء یافته است که از والدین به نسل‌های بعد می‌رسد، اما این ارتقاء آلی نتوانسته است میزان هم‌خونی را افزایش دهد. زمانی که ۱۰ نر ویرایش شد باز میزان هم‌خونی تغییر نکرد که می‌تواند به‌دلیل عدم توانایی انتقال این آلل‌ها به نسل‌های بعدی باشد. در واقع فرزندان این ۵ نر اضافی نتوانستند در ساختار جمعیت نقش زیادی داشته باشند و هم‌چنین رانش تصادفی آلی هم می‌تواند باعث شود که میزان هم‌خونی تغییر چندانی نکند (۱۸). در انتخاب سنتی، توارث مشترک آلل‌های مطلوب و نامطلوب منجر به کشتی انتخاب می‌شود (هم‌چنین به‌عنوان اثر فیشر-مولر و هیل-رابرتسون شناخته می‌شود)، که منجر به تأخیر در تثبیت آلل‌های مطلوب یا حتی از بین رفتن آلل‌های مطلوب از جمعیت می‌شود. PAGE با هدف قرار دادن دقیق آلل‌های خاص، می‌تواند با افزایش سرعت تغییرات ژنتیکی و به طبع آن سود ژنتیکی را افزایش دهد و میزان هم‌خونی را در مناطقی از ژنوم که پناهگاه آلل‌های مطلوب هستند را کاهش می‌دهد که مطابق با یافته‌های Hickey و همکاران می‌باشد (۲۸). نتایج مطالعه حاضر در انتخاب ژنومیک همراه با ارتقاء آلی، یک ظرفیت عالی در افزایش پاسخ به انتخاب در برنامه‌های اصلاح‌نژادی می‌باشد. به‌نظر می‌رسد که پاسخ به انتخاب جمعی از طریق افزایش فراوانی آلل‌ها مطلوب برای صفت مورد نظر که قابل انتقال به نسل بعد باشند، افزایش می‌یابد. در این مطالعه نیز با ارتقاء آلل‌ها، یعنی افزایش تعداد آلل‌های مطلوب در جامعه، بر واریانس افزایشی اثر افزایشنده داشته است و این خود باعث افزایش پاسخ به انتخاب گردیده است. نتایج این مطالعه نشان داد که PAGE از پتانسیل‌های بسیار خوبی به‌عنوان ابزاری برای افزایش پاسخ به انتخاب صفات کمی در برنامه‌های دامداری برخوردار است. در مقایسه با تنها GS+PAGE، منجر به افزایش زیادی در پاسخ به انتخاب شد. این افزایش‌ها هم در کوتاه‌مدت و هم در درازمدت مشاهده شدند. هنگامی که ویرایش منابع محدود بود، انجام ویرایش‌های بیش‌تر در مورد هر یک از تعداد نرها منجر به پاسخ بیش‌تر به انتخاب گردید. توصیف تغییرات پاسخ به انتخاب از یک نسل به نسل بعد دو ویژگی دارد، مزیت GS+PAGE در چند نسل آخری نسبت به نسل‌های قبلی بیش‌تر بود این می‌تواند به این دلیل باشد که تفکیک QTN با اثر بزرگ‌تر به‌طور مؤثرتری به‌وسیله GS+PAGE در نسل‌های آخری استفاده می‌شود. دوم این‌که، در طول نسل‌ها، سهم نسبی PAGE در پاسخ به انتخاب افزایش یافته است، اما به‌دلیل رانش ژنتیکی که در طی گذر از یک نسل به نسل بعد اتفاق می‌افتد اثر PAGE به‌طور نسبی کم‌تر می‌شود و روند افزایش پاسخ به انتخاب روند خطی به‌خود نمی‌گیرد. هنگامی که تعداد افراد ویرایش شده محدود شدند، ویرایش بر روی تعداد



25. Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M.A.R., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P.I.W., Daly, M.J. and Sham, P.C., 2007. PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *The American Journal of Human Genetics*. 81: 559-575.
26. McQuillan, R., Leutenegger, A.L., Abdel-Rahman, R., Franklin, C.S., Pericic, M. and Barac-Lauc, L., 2008. Runs of homozygosity in European populations. *American Journal of Human Genetic*. 83: 359-372.
27. Pérez, P. and de los Campos, G., 2014. Genome-Wide Regression and Prediction with the BGLR Statistical Package. *Genetics*. 198: 483-495.
28. Hickey, J.M., Bruce, C., Whitelaw, A. and Gorjanc, G., 2016. Promotion of alleles by genome editing in livestock breeding programmes. *Journal of Animal Breeding and Genetic*. 133(2): 83-84.
9. Aguilar, I., Misztal, I., Johnson, D.L., Legarra, A., Tsuruta, S. and Lawlor, T.J., 2010. A unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. *Journal of Dairy Science*. 93: 743-752.
10. Hayes, B.J., Bowman, P.J., Chamberlain, A.J. and Goddard, M.E., 2009. Invited review: Genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges. *Journal of Dairy Science*. 92: 433-443.
11. Park, T. and Casella, G., 2008. The Bayesian Lasso. *Journal of the American Statistical Association*. 103: 681-686.
12. de los Campos, G., Naya, H., Gianola, D., Crossa, J. and Legarra, A., 2009. Predicting quantitative traits with regression models for dense molecular markers and pedigree. *Genetics*. 182: 375-385.
13. Legarra, A., Robert-Granié, C., Croiseau, P., Guillaume, F., Fritz, S. and Ducrocq, V., 2010. Aptitude of Bayesian lasso for genomic selection. In: 9. World Congress on Genetics Applied to Livestock Production (1-4). Presented at 9. World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Leipzig, DEU (2010-08-01-2010-08-06).
14. Resende, M.F.R., Muñoz, P., Resende, M.D.V., Garrick, D.J., Fernando, R.L., Davis, M.J., Jokela, E.J., Martin, T.A., Peter, G.F. and Kirst, M., 2012. Accuracy of genomic selection methods in a standard data set of Loblolly Pine (*Pinus taeda* L.). *Genetics*. 190: 1503-1510.
15. Cox, D.B.T., Randall Jeffrey Platt, R.J. and Zhang, F., 2015. Therapeutic genome editing: prospects and challenges. *Nature Medicine*. 21: 121-131.
16. Jenko, J., Gorjanc, G., Cleveland, M., Varshney, R., Whitelaw, C.B., Woolliams, J. and Hickey, J., 2015. Potential of promotion of alleles by genome editing to improve quantitative traits in livestock breeding programs. *Genetics Selection Evolution*. 47: 55.
17. Carlson, D.F., Lancto, C.A., Zang, B., Kim, E.S., Walton, M. and Oldeschulte, D., 2016. Production of hornless dairy cattle from genome-edited cell lines. *Nat. Biotechnol*. 34: 479-481.
18. Bastiaansen, J.W.M., Bovenhuis, H., Groenen, M.A.M., Hendrik-Jan Megens, H.J. and Mulder, H.A., 2018. The impact of genome editing on the introduction of monogenic traits in livestock. *Genetics Selection Evolution*. 50: 18.
19. Sargolzaei, M. and Schenkel, F.S., 2009. QMSim: a large scale genome simulator for livestock. *Bioinformatics*. 25: 680-681.
20. Villumsen, T.M., Janss, L. and Lund, M.S., 2009. The importance of haplotype length and heritability using genomic selection in dairy cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 126: 3-13.
21. Dehnavi, E., Mahyari, S.A., Schenkel, F.S. and Sargolzaei, M., 2018. The effect of using cow genomic information on accuracy and bias of genomic breeding values in a simulated Holstein dairy cattle population. *Journal of Dairy Science*. 101(6): 5166-5176.
22. Muñoz, P.R., Resende, J.M.F.R., Gezan, S.A., Resende, M.D.V., de los Campos, G. and Kirst, M., 2014. Unraveling additive from nonadditive effects using genomic relationship matrices. *Genetics*. 198: 1759-1768.
23. Falconer, D.S. and Mackay, T.F.C., 1996. Introduction to quantitative genetics. Harlow, UK: Longman.
24. Zhang, Q., PL-Calus, M., Guldbbrandtsen, B., Lund, M. and Sahana, G., 2015. Estimation of inbreeding using pedigree, 50k SNP chip genotypes and full sequence data in three cattle breeds. *BMC Genetics*. 16(88): 1186-1197.