

بهینه‌سازی ژنومی پدیده‌های تکامل و ساختار جمعیتی در زنبور عسل

شماره صفحات
۵۵-۴۵عاطفه سیددخت^{۱*} و جواد رحمانی‌نیا^۲

(۱) استادیار پژوهشی، بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران.
(۲) استادیار پژوهشی، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

*نویسنده مسئول: atefeh.seyeddokht@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۶

چکیده

انتخاب ژنومی می‌تواند به برآورد دقیق‌تر ارزش‌های اصلاحی، پیشرفت ژنتیکی حاصل از انتخاب دقیق‌تر و بهتر افراد و همچنین کنترل همخونی در حیوانات کمک کند. با شبیه‌سازی کامپیوتری ژنوم و فرآیندها می‌توان پیش‌بینی‌های لازم را قبل از اجرای فرآیندهای پرهزینه ژنومی، اجرا کرد. موفقیت هر برنامه اصلاحی بستگی زیادی به چگونگی ایجاد جمعیت پایه دارد؛ چراکه تمام تنوع ژنتیکی صفاتی که در هدف اصلاحی گنجانده می‌شوند، وابستگی در جمعیت پایه ایجاد گردد. طراحی یک برنامه با هدف ایجاد جمعیت پایه‌ای در عدم تعادل پیوستگی به‌وسیله شبیه‌سازی آمیزش تصادفی بین جوامع زنبورها، در فرآیندهای اصلاح نژادی با در نظرگیری خصوصیات ژنتیکی و رفتار تولیدمثلی ویژه زنبور عسل، اهمیت دارد. در تحقیق حاضر با شبیه‌سازی عوامل مختلف جمعیتی و ژنومی با استفاده از نرم‌افزار MATLAB، معماری ژنتیکی زنبور عسل ایجاد گردید و ضمن بررسی تأثیر اندازه مؤثر جمعیت با نرم افزار NeEstimator در چهار سطح حداقل فراوانی آلی و در نسلی که دارای حداکثر عدم تعادل پیوستگی است، اثر تعداد ملکه‌ها و نرها در نسل‌های تاریخی مطالعه شد و معین گردید که با افزایش ملکه‌ها و تعداد نرها در نسل‌های تاریخی، زمان رسیدن و نسلی که در آن حداکثر عدم تعادل پیوستگی رخ می‌دهد نیز افزایش می‌یابد و بالعکس با افزایش نرخ جهش، زمان رسیدن به حداکثر عدم تعادل پیوستگی کاهش می‌یابد. افزایش تعداد نشانگرها در جمعیت‌هایی با تعداد افراد کمتر در نسل‌های تاریخی سبب کاهش زمان در رسیدن به حداکثر عدم تعادل پیوستگی شد. الگوی عدم تعادل پیوستگی در ژنوم نشانه‌ای قدرتمند از فرآیندهای ژنتیکی جمعیت است که آن را شکل می‌دهند.

کلمات کلیدی: معماری ژنتیکی، اندازه مؤثر جمعیت، عدم تعادل پیوستگی، نشانگرهای متراکم.

مقدمه

زنبورها از مهم‌ترین گرده‌افشانها در طبیعت هستند که کاهش جمعیت آن‌ها برای بشر و تنوع زیستی بسیار زیانبار است (Khalifa *et al.*, 2021). شواهد بسیاری وجود دارد که جمعیت زنبورها در حال کاهش است (FAO, 2019). این کاهش به‌طور عمده با پیدایش و تکامل جوامع بشری مرتبط است و عوامل متعددی هم از جمله ازدست‌دادن بوم و زیستگاه طبیعی و متعاقب آن تقسیم شدن و دور شدن جوامع و انزوای ژنتیکی جوامع و طبیعتاً پیدایش هم‌خونی در آن سهمیم هستند (Belsky and Joshi, 2019; Patenković *et al.*, 2022). گونه‌های مهاجم و مضر، انگل‌ها و عوامل بیماری‌زا به‌شدت می‌توانند بر بقاء جوامع زنبور مؤثر باشند (Goulson *et al.*, 2015; Insolia *et al.*, 2022). تغییرات اقلیمی و آب و هوایی هم قادرند تأثیر زیادی بر تنوع جمعیت زنبور در آینده داشته باشند (Le Conte and Navajas, 2008). بشر در کنار استراتژی‌های کنترل و حفاظت این حشرات درمقابل این عوامل، نیازمند مطالعات ژنتیک جمعیت برای پشتیبانی از استراتژی‌های حفاظت نژادی است. محققین زیست‌شناسی و حشره‌شناسان به‌دنبال بررسی تغییرات محیطی بر اکوسیستم‌ها و بوم طبیعی این حشرات برای حفاظت از آن‌ها هستند. تنوع جمعیتی بیشتر، آمادگی جوامع را برای تطابق با شرایط محیطی بیشتر می‌کند. نیاز به حفظ نژادهای بومی سبب شده که محققین دامنه تنوع را در این نژادها به‌عنوان یک معیار برای توانایی در جهت مقابله با تغییرات محیطی مورد پایش قرار دهند (Amin *et al.*, 2022). تنوع موجود به علت جهش و نوترکیبی است و انتخاب طبیعی می‌تواند این تنوع را از بین ببرد (Barton, 2010). از سوی دیگر جوامع بیولوژیوک در حقیقت محدود نیستند. گرچه اندازه و تعداد افراد یک جمعیت ممکن است زیاد باشند ولی آنچه که مسلم است این است که اندازه مؤثر جمعیت^۱ از این عدد کوچک‌تر است. حالت ایده‌آل این است که در یک جامعه با آمیزش تصادفی، اندازه مؤثر برابر اندازه واقعی جامعه باشد که غالباً اینگونه نیست. اندازه مؤثر جمعیت تعیین‌کننده میزان تنوع ژنتیکی، رانش و عدم تعادل پیوستگی^۲ در جمعیت است (Husemann *et al.*, 2016). عدم تعادل پیوستگی (LD) ارتباطی غیرتصادفی بین آلل‌ها در جایگاه‌های ژنی مختلف در یک جامعه اصلاحی است و آن را می‌توان با استفاده از همبستگی بین نشانگرها در آن جایگاه‌ها برآورد کرد (Qanbari, 2020). مقدار عدم تعادل پیوستگی بین جایگاه‌های ژنی برای موفقیت برنامه‌های اصلاحی همانند مطالعات ارتباطی در کل ژنوم (GWAS) اهمیت دارد چراکه مقدار عدم تعادل پیوستگی در تعیین تعداد SNP مورد نیاز برای نقشه‌یابی ژنی نقش دارد (Khanzadeh *et al.*, 2020; Qanbari, 2020). جوامعی که در حداکثر عدم تعادل پیوستگی هستند را می‌توان به‌عنوان نسل مینا لحاظ نمود. رخدادهای تکاملی متنوعی می‌توانند بر فراسنجه‌های جمعیتی و فراوانیهای ژنی و ژنوتیپی مؤثر باشند و شبیه‌سازی این پدیده‌های تکاملی با توجه به معماری ژنتیکی موجود زنده می‌تواند در شناخت واقعیات جوامع موجود بسیار راهگشا باشند.

1 - Effective population size (Ne)
2 - Linkage Disequilibrium (LD)

اصلاح نژاد همراه با اجرای برنامه‌های اصلاحی و ارزیابی ژنتیکی با توجه به رکوردها و شجره و بر اساس بهترین پیش‌بینی ناریب خطی از دهه‌ها پیش در تمامی گونه‌های دامی و حشرات مفید همچون زنبور دنبال شده اما امروزه لزوم استفاده از استراتژی‌های انتخاب ژنومی مبتنی بر داده‌های نشانگر مولکولی به‌عنوان روشی کاربردی غیرقابل چشم‌پوشی است. با توجه به اینکه برای شناخت اثرات انتخاب ژنومی و برنامه‌ریزی استراتژی‌های انتخاب و آمیزش نیاز است که ابتدا مطالعات شبیه‌سازی صورت گیرد و جمعیت پایه نیز به عنوان نقطه شروع برای مطالعات شبیه‌سازی از اهمیت بسزایی برخوردار است لذا در وهله اول این شبیه‌سازی به‌منظور اجرای روش‌های انتخاب مبتنی بر نشانگر ایجاد گردید. لذا در این بررسی به‌منظور مطالعه عدم تعادل پیوستگی و از بین رفتن آن در زنبور عسل-که حشره‌ای هاپلوئید-دیپلوئید است، ژنوم و پدیده‌های تکاملی مؤثر بر این حشره همچون اندازه مؤثر جمعیت در نسلی که دارای حداکثر عدم تعادل پیوستگی است شبیه‌سازی و مورد مطالعه قرار گرفت. امروزه با در دسترس بودن سویه‌ها یا جوامع اصلاح‌شده زنبور می‌توان میانگین ارزش‌های اقتصادی صفات مهم مورد بررسی در این حشره را همچون متوسط تولید عسل و یا مقاومت به کنه و حتی خصوصیات رفتاری را در زمان ایجاد جوامع پایه به‌عنوان یک معیار برای بهینه‌سازی نمونه‌گیری مدنظر گرفت. به‌عنوان نمونه، اصلاح‌گزینه‌های برای مقاومت در زنبورها می‌تواند در کاهش ازدست‌رفتن جوامع به دلایل ذکر شده در پیش کمک نماید ولی این امر نیازمند یک برنامه اصلاحی دقیق جهت اجرای ارزیابی ژنتیکی برای صفات مختلف از جمله مقاومت و سازگاری می‌باشد. مطالعات ژنومی و ارزیابی‌های اصلاحی برمبنای برآوردهای ژنومی می‌تواند در این امر بسیار مفید باشد و شبیه‌سازی ژنومی با توجه به ساختار صفات می‌تواند در مطالعه جوامع برای بررسی ساختار جمعیتی و تاریخچه جوامع کارآمد باشد (Price et al., 2010). ساختار ژنتیکی و رفتار تولیدمثلی در زنبور متمایز بوده و به‌علت نرخ بالای نوترکیبی نیازمند شبیه‌سازی متفاوتی مختص به زنبور عسل می‌باشد.

یک جمعیت پایه به‌عنوان نقطه شروع برای مطالعات شبیه‌سازی استفاده می‌شود. این جمعیت شامل افرادی در شجره است که هیچ اطلاعات اجدادی برای آنها در دسترس نیست و فرض می‌شود که در عدم تعادل پیوستگی است. همچنین با پیشرفت علوم مرتبط با ژنتیک مولکولی، NGS^۳ و توانایی تعیین ژنوتیپ وسیع‌تر در جوامع زنبور، می‌توان با دقت بیشتری روابط خویشاوندی بین و درون جوامع را برآورد نمود و با توجه به آن می‌توان به درصد افرادی که نیاز است از هر جامعه یا هر سویه نمونه‌برداری شوند پی‌برد (Eklom and Galindo, 2011; Lozier, 2014).

هدف دیگر این شبیه‌سازی، بررسی تأثیر عواملی مانند میزان جهش، تراکم نشانگرها و تعداد افراد بر میزان عدم تعادل پیوستگی در یک جمعیت است.

مواد و روش

برای بررسی سناریوهای مختلف در نسل پایه و اتفاقات حاصل از این سناریوها به شبیه‌سازی عوامل مختلفی همانند تعداد زنبورهای نر در این نسل، تعداد ملکه‌ها، تعداد جایگاه نشانگری، نرخ جهش، حداقل فراوانی آلی و تعداد جایگاه نشانگری منتخب بر اساس حداقل فراوانی آلی نیاز است. بدین منظور از برنامه ارائه شده توسط گوپتا و همکاران (۲۰۱۲) با استفاده از نرم‌افزار MATLAB نسخه ۷/۶ برای شبیه‌سازی استفاده شد (Gupta et al., 2012). معماری ژنتیکی زنبورعسل به شکل تعیین جنسیت هاپلوئید-دپلوئید (Oldroyd et al., 2018) با آمیزش چندهمسری (چندین نر با یک ملکه) بوده و تحت تأثیر نرخ جهش و نوترکیبی زیادی قرار دارد. برای این منظور، شبیه‌سازی بگونه‌ای طراحی شد که تعداد ۱۰ زنبور نر برای آمیزش هر ملکه لحاظ شود. اندازه جمعیت طبق مدل جمعیت فیشر-رایت در هر نسل ثابت و علاوه بر این، عدم همپوشانی تمام نسل‌های شبیه‌سازی شده لحاظ گردید. همچنین برای مطالعه عدم تعادل پیوستگی و از بین رفتن آن، ژنوم و پدیده‌های تکاملی مؤثر بر این حشره شبیه‌سازی شد. متوسط I^2 بعنوان برآوردگری با محدوده عدم تعادل پیوستگی کوتاه مورد بررسی قرار گرفت. ژنومی دپلوئید، حاوی ۱۶ کروموزوم برای نرهای نسل پایه و ماده‌های ملکه ساخته شد. طول هر کروموزوم مطابق طول کروموزوم حقیقی زنبور شبیه‌سازی شد و توزیع همه جایگاه‌های ژنی بر روی کروموزوم‌ها از یک توزیع یکنواخت تبعیت نمود (Toth and Zayed, 2021). برای شبیه‌سازی، روند تکامل، نوترکیبی و جهش در طی فرآیند ایجاد گامت در هر نسل لحاظ گردید. همانگونه که ذکر شد، آمیزش چند همسری (که معمولاً یک ملکه با تعداد زیادی نر آمیزش دارد) در این شبیه‌سازی استفاده شد (۱۰ نر به ازای هر ملکه). برای محاسبه نوترکیبی که احتمال مبادله قطعات کروموزومی بین کروموزومهای پدری و مادری است، از تابع نوترکیبی هالدین استفاده شد که با فرض کراسینگ‌اوور در تمام قطعات کروموزومی با توزیع پواسون عمل می‌نماید و در این حالت برای نوترکیبی یک احتمال محاسبه می‌گردد که به مقدار فاصله بین جایگاه‌های ژنی مجاور در نقشه ژنی مرتبط است (Haldane, 1919). نرخ‌های متفاوت نوترکیبی، حضور متفاوت تعداد نر و ملکه و همچنین تعداد نشانگر به‌عنوان متغیر در بررسی‌ها مورد مطالعه قرار گرفتند.

محاسبه عدم تعادل پیوستگی و اندازه مؤثر جمعیت

روش‌ها و الگوریتم‌های مختلفی مانند روش عدم تعادل پیوستگی، روش هم‌تباری مولکولی^۴، روش مازاد هتروزیگوت^۵ برای محاسبه اندازه جمعیت مؤثر ارائه شده‌اند. در این تحقیق از روش عدم تعادل پیوستگی برای محاسبه N_e استفاده شد. فرض است که k تعداد جایگاه‌های ژنی چندشکل است. برای جفت جایگاه ژنی i و j به‌گونه‌ای که $i < j$ باشد لذا S_{ij} میانگین هارمونیک برای اندازه‌ی نمونه‌ها در دو جایگاه ژنی خواهد بود. آنگاه مقدار مورد انتظار \hat{R}^2 عبارتست از:

4 - Molecular Coancestry method
5 - Heterozygote Excess method

$$\hat{R}^{2'} = \hat{R}^2 - E(\hat{R}^2) = \begin{cases} R^2 - 1/S - 3.19/S^2 & \text{اگر } S \geq 30 \\ \hat{R}^2 - 0.0018 + 0.907/S + 4.44/S^2 & \text{سایر موارد} \end{cases}$$

$$\hat{N}_e = \frac{1}{2\hat{R}^{2'}} \cdot \begin{cases} 1/3 + \sqrt{1/9 - (2.76)\hat{R}^{2'}} & \text{اگر } S \geq 30 \\ 0.308 + \sqrt{0.94864 - (2.08)\hat{R}^{2'}} & \text{سایر موارد} \end{cases}$$

بر اساس مطالعه شبیه‌سازی Peel و همکاران (Peel *et al.*, 2013)، تخمین‌های Ne برای ارباب احتمالی ناشی از داده‌های از دست رفته تصحیح می‌شوند. از آنجایی که در چنین بررسی‌هایی تخمین دامنه اطمینان از اهمیت زیادی برخوردار است لذا دامنه اطمینان برای روش عدم تعادل پیوستگی مورد استفاده در این بررسی بر اساس تقریب مجذور کای که توسط Waples (Waples, 2006) معین گردیده محاسبه شد.

در این بررسی عدم تعادل پیوستگی در جوامع مختلف زنبور عسل با توجه به سناریوهای مختلف شبیه‌سازی مورد مطالعه قرار گرفت. شش سناریوی شبیه‌سازی برای مشاهده زمان دستیابی به حداکثر عدم تعادل پیوستگی مدنظر قرار گرفت (جدول ۱). الگوی عدم تعادل اپیستازی در جوامع بسته تحت تاثیر اندازه مؤثر جمعیت می‌باشد و برآورد اندازه مؤثر جمعیت می‌تواند یک ابزار ژنومی برای بررسی جوامع در معرض خطر انقراض باشد. در این بررسی، اندازه مؤثر جمعیت در چهار سطح حداقل فراوانی آلی (۰، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰، ۰/۰۵ و ۰/۰۵) برآورد گردید. برای این امر از نرم افزار NeEstimator نسخه 2.01 استفاده گردید (Do *et al.*, 2014).

برای مشاهده زمان دستیابی به حداکثر عدم تعادل اپیستازی در همه سناریوها، شبیه‌سازی برای ۱۰۰۰ نسل اجرا شد. در سناریوی اول و دوم تعداد نرهای آمیزش کننده ۱۰۰ عدد و تعداد ملکه یا تعداد مادران ایجاد کننده ملکه ۱۰ عدد در نظر گرفته شد. نرخ نوترکیبی معادل ۰/۰۰۲۵ و نرخ حداقل فراوانی آلی ۰/۰۵ تعیین گردید.

مجموع کل تعداد نشانگرها یا SNPهای شبیه‌سازی شده برای سناریوی اول ۱۰۰۰ نشانگر و برای سناریوی دوم ۱۰۰۰۰ نشانگر بود. سناریوهای ۳ و ۴ به ترتیب با پیش فرض‌های سناریوهای ۱ و ۲ ایجاد گردیدند با این تفاوت که در این دو سناریو برای شبیه‌سازی، تعداد نرهای آمیزش کننده ۳۰۰ و تعداد مادران ایجاد کننده ملکه ۳۰ لحاظ شد. در سناریوهای ۵ و ۶ به منظور بررسی تاثیر نقش نوترکیبی، پیش فرض‌های سناریوهای ۲ و ۴ به ترتیب برای سناریوهای ۵ و ۶ اجرا شد و فقط نرخ نوترکیبی به ۰/۰۰۵ افزایش یافت.

نتایج و بحث

برای بررسی تغییرات عدم تعادل پیوستگی در طی زمان عوامل متعددی را باید مدنظر قرار داد که بطور طبیعی توانایی

ایجاد نوسان و تغییر در جمعیت را دارند. نرخ جهش، تراکم نشانگری، تعداد افراد شرکت‌کننده در آمیزش‌ها و ... از جمله این عوامل طبیعی هستند. در ژنتیک جمعیت، از بین رفتن عدم تعادل پیوستگی در نسل n (D_n) تحت تاثیر نوترکیبی بین دو جایگاه ژنی (θ) و تعداد نسل‌های تاثیرپذیر از این نوترکیبی ($n\theta$) است. اگر در نسل مبنا n را صفر لحاظ نماییم لذا میزان از بین رفتن عدم تعادل پیوستگی در نسل n برابر خواهد بود با

$$D_n = D_0(1 - \theta)n\theta$$

عوامل طبیعی دخیل در ژنتیک جمعیت همانند آمیزش غیر تصادفی، انتخاب، جهش، مهاجرت، اختلاط جمعیت‌ها، رانش ژنتیکی یا اثر کوچک بودن اندازه موثر جمعیت همگی می‌توانند برآوردهای عدم تعادل پیوستگی و از بین رفتن عدم تعادل پیوستگی را تحت تأثیر قرار دهند (Flint-Garcia *et al.*, 2003).

در جوامعی که جفت آللهای SNP بر روی هاپلوتیپی یکسان قرار گرفته‌اند و در فاز جفت شدن با هم اتصال دارند، می‌توان مقادیر بالایی از عدم تعادل پیوستگی را مشاهده نمود و در این جوامع از بین رفتن عدم تعادل پیوستگی تحت تاثیر نوترکیبی و تعداد نسل خواهد بود (Qanbari, 2020).

مطالعات زیادی برای برآورد عدم تعادل پیوستگی و از بین رفتن عدم تعادل پیوستگی انجام شده است. می‌توان از اطلاعات شجره برای برآورد اندازه موثر جمعیت استفاده کرد ولی بدلیل اینکه اغلب شجره‌های عمیقی در دست نیست، از اطلاعات نشانگری استفاده می‌شود. اکثر این مطالعات مبتنی بر همبستگی محاسبه شده بین جفت نشانگرها است که با r^2 یا D' نشان داده می‌شود. اندازه‌گیری عدم تعادل پیوستگی در یک محدوده کوتاه سبب قوت بخشی به برآوردهای عدم تعادل پیوستگی می‌گردد (Bohmanova *et al.*, 2010).

در مطالعه حاضر تأثیر برخی عوامل بر طبق سناریوهای جدول ۱ برای دستیابی به نسلی که در آن با توجه به مفروضات، حداکثر عدم تعادل پیوستگی اتفاق خواهد افتاد مورد بررسی قرار گرفت. برطبق نتایج، حداکثر عدم تعادل پیوستگی در سناریوهای شش گانه به ترتیب ۱۸۲، ۱۴۴، ۲۱۵، ۲۶۱، ۱۲۲ و ۱۷۱ بدست آمد (جدول ۲).

جدول ۱: سناریوهای مختلف شبیه سازی جهت مطالعه زمان رسیدن به حداکثر عدم تعادل پیوستگی

Table 1- Different simulation scenarios to study the time to reach maximum linkage disequilibrium

حداقل فراوانی	نرخ جهش	تعداد نشانگر	تعداد ملکه	تعداد نر	تعداد نسل شبیه سازی شده	سناریو
آلی		SNP				
۰/۰۵	۰/۰۰۲۵	۱۰۰۰	۱۰	۱۰۰	۱۰۰۰	سناریو ۱
۰/۰۵	۰/۰۰۲۵	۱۰۰۰۰	۱۰	۱۰۰	۱۰۰۰	سناریو ۲
۰/۰۵	۰/۰۰۲۵	۱۰۰۰	۳۰	۳۰۰	۱۰۰۰	سناریو ۳
۰/۰۵	۰/۰۰۲۵	۱۰۰۰۰	۳۰	۳۰۰	۱۰۰۰	سناریو ۴
۰/۰۵	۰/۰۰۵	۱۰۰۰۰	۱۰	۱۰۰	۱۰۰۰	سناریو ۵
۰/۰۵	۰/۰۰۵	۱۰۰۰۰	۳۰	۳۰۰	۱۰۰۰	سناریو ۶

جدول ۲: زمان رسیدن به حداکثر عدم تعادل پیوستگی در هریک از سناریوهای مختلف

Table 2- The time to reach the maximum linkage disequilibrium in each of the different scenarios

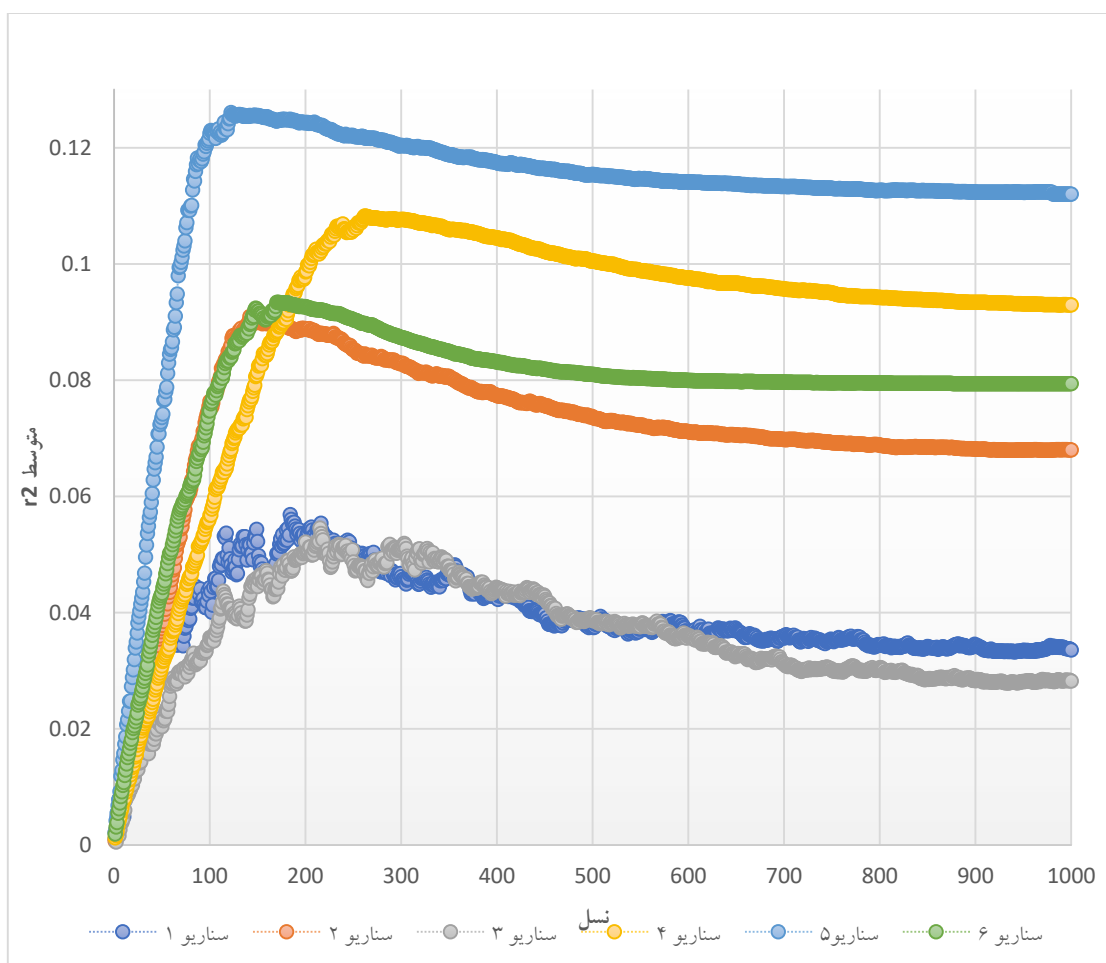
متوسط r^2 در زمان بروز حداکثر عدم تعادل پیوستگی	نسل بروز حداکثر عدم تعادل پیوستگی	
۰/۰۵۶	۱۸۲	سناریو ۱
۰/۰۸۸	۱۴۴	سناریو ۲
۰/۰۵۳	۲۱۵	سناریو ۳
۰/۱۰۸	۲۶۱	سناریو ۴
۰/۱۲۵	۱۲۲	سناریو ۵
۰/۰۹۲	۱۷۱	سناریو ۶

سرریزترین دستیابی به حداکثر عدم تعادل پیوستگی در سناریوی ۲ و دیرهنگام‌ترین رخداد حداکثر عدم تعادل پیوستگی در سناریوی ۴ اتفاق افتاد. تفاوت این دو سناریو فقط در تعداد نرها و ملکه‌ها در نسل پایه بود و مشخص گردید که با افزایش تعداد نر و ملکه‌ها، حداکثر عدم تعادل پیوستگی در طی زمانی طولانی‌تر رخ داد. با افزایش ملکه‌ها و تعداد نرها در نسل‌های تاریخی، زمان رسیدن و نسلی که در آن حداکثر عدم تعادل پیوستگی رخ می‌دهد نیز افزایش یافت و بالعکس با افزایش نرخ نوترکیبی، زمان رسیدن به حداکثر عدم تعادل پیوستگی کاهش یافت. همچنین با افزایش تعداد نشانگرها در جمعیت‌هایی با تعداد افراد کمتر در نسل‌های تاریخی سبب کاهش زمان در رسیدن به حداکثر عدم تعادل پیوستگی و در جمعیت‌هایی با تعداد افراد بیشتر در نسل‌های تاریخی سبب افزایش زمان در رسیدن به حداکثر عدم تعادل پیوستگی شد ولی این مقادیر بیشتر تحت تأثیر تغییرات زیاد از نسلی به نسل دیگر در جوامعی با تعداد افراد کمتر در نسل‌های تاریخی است. نکته جالب توجه اینکه مقادیر بیشتر میانگین r^2 در سایه حضور تعداد بیشتری نشانگر بود که اهمیت افزایش چگالی نشانگرها را در مطالعات ژنومی برای دستیابی به مقادیر بیشتری از عدم تعادل پیوستگی نمایان می‌نماید. همچنین با مقایسه تفاوت تعداد نفرات در جمعیت‌های تاریخی مشخص گردید که از دست رفتن عدم تعادل پیوستگی به‌عنوان یکی از معیارهای مهم در بحث تنوع و پایداری گونه‌ها، در جوامعی غنی‌تر از نرها و ماده‌ها در نسل تاریخی با سرعت کمتری اتفاق خواهد افتاد.

اندازه جمعیت می‌تواند تمام جنبه‌های ژنتیک جمعیت را تحت تأثیر قرار دهد. از این عامل به‌عنوان متغیری کلیدی برای تعیین گونه‌های در معرض خطر انقراض استفاده می‌شود لذا برآورد دقیق اندازه مؤثر جمعیت برای جلوگیری از ازدست دادن تنوع و بقای جمعیت ضروری است و به‌عنوان مبنایی برای تصمیم‌گیری برای حفاظت از گونه‌ها است. برطبق گزارش فائو، زمانی که اندازه مؤثر جمعیت به‌ترتیب ۲۵، ۵۰، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ باشد، تنوع ژنتیکی در طی ۱۰ نسل در حدود ۱۸، ۱۰، ۴، ۱/۶ و ۰/۸ به‌ترتیب کاهش خواهد یافت (FAO, 1992; Rischkowsky and Pilling, 2007; Ferraz et al., 2015). برای جوامع

وحشی، اندازه مؤثر جمعیت بیشتر از ۱۰۰ برای جلوگیری از کاهش شایستگی لازم است. اندازه مؤثر جمعیت بیشتر از ۱۰۰۰ برای دارا بودن پتانسیل تکامل در بلند مدت ضروری است (Frankham et al., 2014).

باتوجه به اینکه حفاظت منابع هزینه‌بر بوده و این توانایی وجود ندارد که بتوان در محیط آزمایشگاهی و تحقیقاتی آن را ذخیره نمود لذا حفظ تنوع ژنتیکی موجودات زنده باید با سودآور نمودن آن محقق شود و برنامه‌های آمیزشی هم در جهت افزایش تنوع طراحی گردند که این امر هم با اصلاح نژاد صورت می‌گیرد. از بین سناریوهای جدول ۱ بطور نمونه اندازه مؤثر جمعیت برای سناریوی چهارم در چهار سطح حداقل فراوانی آللی (۰، ۰/۰۱، ۰/۰۲ و ۰/۰۵) برآورد گردید. اندازه مؤثر جمعیت در این سطوح به ترتیب ۷۳/۹، ۷۳، ۷۲/۴ و ۷۱/۴ برآورد شد. این میزان جمعیت مؤثر نشان‌دهنده در معرض خطر بودن چنین جامعه‌ای است و باید برای افزایش جمعیت مؤثر در آن و حفظ و بهبود تنوع برنامه‌ریزی نمود. این نتایج را می‌توان از دو منظر مدنظر قرار داد. اول اینکه اگر تعداد نر و ماده‌ای که جمعیت پایه‌ای را تشکیل می‌دهند کم باشد، در نسلهای حاضر اندازه مؤثر جمعیت می‌تواند مشکل ساز گردد و درثانی از منظر عملی و کاربردی، نیاز است که سودآوری تولید را افزایش داد و برنامه آمیزشی مناسبی را برای کنترل همخوانی اجرا نمود تا بتوان بصورت ژنتیکی از اینچنین جمعیتی محافظت کرد.



شکل ۱: نمودار تغییرات عدم تعادل پیوستگی در طی نسل
Figure 1- Changes in linkage disequilibrium during generations

نتیجه‌گیری کلی

اندازه مؤثر جمعیت تعیین‌کننده میزان تنوع ژنتیکی، رانش و عدم تعادل پیوستگی در جمعیت است. مقدار عدم تعادل پیوستگی بین جایگاه‌های ژنی برای موفقیت برنامه‌های اصلاحی اهمیت دارد چراکه این مقدار در تعیین تعداد نشانگر مورد نیاز برای نقشه‌یابی ژنی نقش دارد. جوامعی که در حداکثر عدم تعادل پیوستگی هستند را می‌توان بعنوان نسل مبنا لحاظ نمود. در تحقیق حاضر ضمن بررسی تأثیر اندازه مؤثر جمعیت در نسلی که دارای حداکثر عدم تعادل پیوستگی است، اثر تعداد ملکه‌ها و نرها در نسل‌های تاریخی مطالعه شد و معین گردید که با افزایش ملکه‌ها و تعداد نرها در نسل‌های پایه، زمان رسیدن و نسلی که در آن حداکثر عدم تعادل پیوستگی رخ می‌دهد نیز افزایش می‌یابد و همچنین با افزایش نرخ جهش، زمان رسیدن به حداکثر عدم تعادل پیوستگی کاهش می‌یابد. افزایش تعداد نشانگرها در جمعیت‌هایی با تعداد افراد کمتر در نسل‌های تاریخی سبب کاهش زمان در رسیدن به حداکثر عدم تعادل پیوستگی و در جمعیت‌هایی با تعداد افراد بیشتر در نسل‌های تاریخی سبب افزایش زمان در رسیدن به حداکثر عدم تعادل پیوستگی شد که البته با توجه به شیب منحنی این تفاوت قابل توجه نبود.

منابع

- Amin, S., Khan, M.A. and Mehmood, W. (2022).** Probing Environmental Sustainability Through the Diversity-Pollution Nexus—a Global Perspective via PM_{2.5} and NO₂. *Water, Air, & Soil Pollution* 233(2): 58.
- Barton, N.H. (2010).** Mutation and the evolution of recombination. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365(1544): 1281-1294.
- Belsky, J. and Joshi, N.K. (2019).** Impact of biotic and abiotic stressors on managed and feral bees. *Insects* 10(8): 233.
- Bohmanova, J., Sargolzaei, M. and Schenkel, F.S. (2010).** Characteristics of linkage disequilibrium in North American Holsteins. *BMC genomics* 11(1): 1-11.
- Do, C., Waples, R.S., Peel, D., Macbeth, G.M., Tillett, B.J. and Ovenden, J.R. (2014).** NeEstimator v2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (N_e) from genetic data. *Mol Ecol Resour* 14(1): 209-14.
- Ekblom, R. and Galindo, J. (2011).** Applications of next generation sequencing in molecular ecology of non-model organisms. *Heredity* 107(1): 1-15.
- FAO. 1992.** Monitoring animal genetic resources and criteria for prioritization of breeds. The Management of Global Animal Genetic Resources. In Proceedings of an FAO Expert Consultation, no. 104. J. Hodges, ed. FAO, Rome, Italy.
- Ferraz, P. C., Malhado, C. H. M., Ramos, A. A., Carneiro, P. L. S., Carrillo, J. A., & Malhado, A. C. M. (2015).** Population structure and genetic variability of a closed Jaffarabadi buffalo herd from Brazil. *Buffalo Bul*, 34: 197-207.

Flint-Garcia, S.A., Thornsberry, J.M. and Buckler IV, E.S. (2003). Structure of linkage disequilibrium in plants. *Annual review of plant biology* 54(1): 357-374.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2019). Declining Bee Populations Pose Threat to Global Food Security and Nutrition.

Frankham, R., Bradshaw, C.J. and Brook, B.W. (2014). Genetics in conservation management: revised recommendations for the 50/500 rules, Red List criteria and population viability analyses. *Biological Conservation* 170: 56-63.

Goulson, D., Nicholls, E., Botías, C. and Rotheray, E.L. (2015). Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science* 347(6229): 1255957.

Gupta, P., Conrad, T., Spötter, A., Reinsch, N., and Bienefeld, K. (2012). Simulating a base population in honey bee for molecular genetic studies. *Genetics Selection Evolution*, 44(1): 1-6.

Haldane, J.B. (1919). The combination of linkage values and the calculation of distance between the loci of linked factors. *j. genet.* 8: 299-309.

Honey Bee Genome Resources [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genome/guide/bee/>]

Husemann, M., Zachos, F., Paxton, R. and Habel, J. (2016). Effective population size in ecology and evolution. *Heredity* 117(4): 191-192.

Insolia, L., Molinari, R., Rogers, S.R., Williams, G.R., Chiaromonte, F. and Calovi, M. (2022). Honey bee colony loss linked to parasites, pesticides and extreme weather across the United States. *Scientific reports* 12(1): 20787.

Khalifa, S.A., Elshafiey, E.H., Shetaia, A.A., El-Wahed, A.A.A., Algethami, A.F., Musharraf, S.G., AlAjmi, M.F., Zhao, C., Masry, S.H. and Abdel-Daim, M.M. (2021). Overview of bee pollination and its economic value for crop production. *Insects* 12(8): 688.

Khanzadeh, H., Ghavi Hossein-Zadeh, N. and Ghovvati, S. (2020). Genome wide association studies, next generation sequencing and their application in animal breeding and genetics: A review. *Iranian Journal of Applied Animal Science* 10 (3): 395-404.

Le Conte, Y. and Navajas, M. (2008). Climate change: impact on honey bee populations and diseases. *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties* 27(2): 499-510.

Lozier, J. (2014). Revisiting comparisons of genetic diversity in stable and declining species: assessing genome-wide polymorphism in North American bumble bees using RAD sequencing. *Molecular ecology* 23(4): 788-801.

Oldroyd, B.P., Aamidor, S.E., Buchmann, G., Allsopp, M.H., Remnant, E.J., Kao, F.F., Reid, R.J. and Beekman, M. (2018). Viable triploid honey bees (*Apis mellifera capensis*) are reliably produced in the progeny of CO2 narcotised queens. *G3: Genes, Genomes, Genetics* 8(10): 3357-3366.

Patenković, A., Tanasković, M., Erić, P., Erić, K., Mihajlović, M., Stanisavljević, L. and Davidović, S. (2022). Urban ecosystem drives genetic diversity in feral honey bee. *Scientific Reports* 12(1): 17692.

Peel, D., Waples, R.S., Macbeth, G., Do, C. and Ovenden, J.R. (2013). Accounting for missing data in the estimation of contemporary genetic effective population size (N_e). *Molecular Ecology Resources* 13(2): 243-253.

Price, A.L., Zaitlen, N.A., Reich, D. and Patterson, N. (2010). New approaches to population stratification in genome-wide association studies. *Nature reviews genetics* 11(7): 459-463.

Qanbari, S. (2020). On the extent of linkage disequilibrium in the genome of farm animals. *Frontiers in genetics* 10: 1304.

Rischkowsky, B., & Pilling, D. (2007). The state of the world's animal genetic resources for food and agriculture. Food & Agriculture Org.

Toth, A.L. and Zayed, A. (2021). The honey bee genome--what has it been good for? *Apidologie* 52: 45-62.

Waples, R.S. (2006). A bias correction for estimates of effective population size based on linkage disequilibrium at unlinked gene loci. *Conservation Genetics* 7(2): 167-184.