

ژنوتیپ کردن انتخابی در گزینش بکمک نشانگرهای مولکولی طی

آزمون نتاج گاوهای نر جوان

سعید انصاری مهیاری*

استادیار دانشگاه صنعتی اصفهان، گروه علوم دامی

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: saeidansarimahyari@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۸۷/۸/۱۵ - تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۲/۱)

چکیده

افزایش پیشرفت ژنتیکی بواسطه استفاده از اطلاعات مولکولی DNA بیانگر افزایش صحت در برآوردهای ارزش اصلاحی و در نهایت شایستگی ژنتیکی افراد یک جمعیت می‌باشد. در این بررسی تاثیر انتخاب با استفاده از نشانگرهای ژنتیکی مرتبط با جایگاه‌های ژنی صفات کمی (QTL) از طریق افزایش در صحت گزینش گاوهای نر طی سنبل نوجوانی جهت آزمون نتاج در یک برنامه به‌نژادی بکمک نشانگرهای مولکولی مورد ارزیابی قرار داده شد. همچنین با استفاده از روش‌های شبیه‌سازی تصادفی و بازسازی جمعیتی تجاری از گله‌های شیری، اثر منظور نمودن تمام یا بخشی از اطلاعات ژنوتیپی جهت انجام آزمون نتاج گاوهای نر بالقوه کاندید بر روی صحت برآوردهای ارزش اصلاحی در طی ۲۵ سال مورد بررسی قرار گرفت. دو سطح ژنوتیپ کردن انتخابی (۲۰ و ۵۰٪) استفاده شد تا با حالت ژنوتیپ کردن همه افراد بالقوه کاندید (۱۰۰٪) و یا روش رایج که بدون ژنوتیپ کردن است (۰٪) مقایسه شود. صفتی با وراثت پذیری پایین ($h^2=0.04$) که در دخترها بروز می‌کند در نظر گرفته شد. یک QTL دو آللی با ۲۵ درصد از واریانس ژنتیکی و ۴ نشانگر در محدوده ۴ سانتی‌مورگان از یک کروموزوم تحت عدم تعادل پیوستگی شبیه‌سازی شده بود. استفاده از نشانگرهای مولکولی در تمام سطوح حاکی از امکان بهبود قابل توجه در دقت برآورد ارزش ژنتیکی در مقایسه با روش رایج و بدون استفاده از ژنوتیپ داشتند. در مقایسه با ژنوتیپ کردن کل افراد کاندید در طی سال‌های ۶ تا ۱۱، مقدار برتری حاصل شده در صورت استفاده از اطلاعات QTL عبارت بودند از: ۰.۸۲-٪ تا ۰.۷۶٪ برای سطح ژنوتیپی ۵۰٪؛ ۰.۶۷-٪ تا ۰.۵۱٪ برای سطح ژنوتیپی ۲۰٪ و ۰.۵۵-٪ تا ۰.۴۶٪ در عدم استفاده از ژنوتیپ. همچنین با افزایش فراوانی آلل مثبت QTL طی انتخاب و تثبیت تدریجی آن، از مقدار صحت برآوردهای حاصله با اطلاعات ژنوتیپی کاسته شد. بنابراین به منظور کاهش هزینه‌ها در آزمایشات آزمون نتاج، استفاده از اطلاعات QTL به‌مراه ژنوتیپ کردن انتخابی طی سنبل اولیه گاوهای نر روشی موثر در شناسایی کاندیدها بوده که ضمن بهبود صحت انتخاب باعث کاهش هزینه‌های تعیین ژنوتیپ میشود.

واژه‌های کلیدی

نشانگرهای ژنتیکی،
گاو شیری،
صحت انتخاب،
جوامع غیرهمخون

مقدمه

می‌گردد. تحقیقات متعددی در جهت شناسایی و ژنوتیپ کردن افرادی که بیشترین تاثیر را در مطالعات مولکولی DNA دارند صورت پذیرفته است (همچون تشخیص و مکان‌یابی QTL) از آن جمله می‌توان به استفاده صرف از اطلاعات فنوتیپی (۳)، بکارگیری نتایج حاصل از تجزیه تفرق بوسیله استفاده از اطلاعات شجره‌ای و مولکولی (۸) و نیز استفاده ترکیبی از تمام داده‌های فنوتیپی، مولکولی و شجره‌ای (۱) اشاره نمود. در رابطه با ژنوتیپ کردن انتخابی در جوامع تحت انتخاب تنها می‌توان به گزارشی که اخیراً بر روی جمعیتی غیرهمخون شبیه‌سازی شده صورت گرفته اشاره داشت که در آن امکان ژنوتیپ کردن انتخابی در طی اجرای یک برنامه کاربردی انتخاب به‌کمک نشانگرهای مولکولی نشان داده شده است (۲).

این تحقیق بمنظور بررسی تغییرات صحت انتخاب با استفاده از ژنوتیپ کردن انتخابی از طریق شناسایی بهترین کاندیدها در یک برنامه آزمون نتاج گاوهای نر جوان در جمعیت گاو شیری تجاری بازسازی شده به اجرا در آمد تا علاوه بر بررسی امکان کاهش هزینه‌های ژنوتیپ کردن، با کاهش تعداد کاندیدها در سنین پایین‌تر بتوان نسبت به کاهش هزینه‌های برنامه‌های آزمون نتاج جهت تشخیص گاوهای نر آزمون شده اقدام نمود.

مواد و روش‌ها

جمعیتی غیرهمخون با خصوصیات گله‌های تجاری گاوشیری که تحت برنامه‌های به‌نژادی قرار داشت به روشهای تصادفی^۶ با استفاده از بسته نرم‌افزاری ADAM (۹) شبیه‌سازی شده و والدین هر نسل بصورت نسل‌های پیوسته در طی ۲۵ سال تولید و انتخاب می‌شدند.

اطلاعات ژنوتیپی در این آزمایش شامل یک QTL دو آللی بوده که ۲۵ درصد از کل واریانس ژنتیکی ناشی از آن بوده و همچنین ۴ نشانگر که هر کدام با ۵ آلل و در محدوده ۴ سانتی‌مورگان از یک قطعه کروموزوم قرار داشتند. این نشانگرها تحت عدم تعادل پیوستگی با QTL مورد نظر قرار داشتند. نشانگرها در فواصل

توسعه و پیشرفت‌های قابل توجه در شناسایی و کاربرد نشانگرهای مولکولی طی سالیان اخیر منجر شده است تا در برنامه‌های به‌نژادی تحقیقات متعددی در زمینه امکان استفاده از نشانگرهای مرتبط با جایگاه‌های ژنی صفات کمی^۱ به اجرا درآیند (۱۲). اصولاً در گله‌های گاوشیری برنامه‌های به‌نژادی بصورتی طراحی و به اجرا در می‌آیند تا از طریق افزایش دقت و صحت در برآوردهای ارزش اصلاحی بتوان به حداکثر پیشرفت ژنتیکی ممکن دست یافت (۵). اگرچه آزمون نتاج از جمله راه‌های موثر در این مسیر است لیکن پیشرفتهای فن‌آوری زیستی طی یک دهه اخیر نشان داده است با بهره‌وری از نشانگرهای مولکولی مرتبط با ژن‌های کمی علاوه بر افزایش صحت انتخاب در سنین نوجوانی، جوانی و حتی بلافاصله پس از تولد، این امکان وجود دارد که صرفاً افرادی با ارزش ژنتیکی بالا نگهداری و مورد استفاده قرار داده شوند (۹، ۱۱ و ۱۳). علاوه بر این در شرایطی که انتخاب به روش‌های معمول از دقت پائینی برخوردار هستند نظیر صفات سلامت^۲، تولیدمثل و یا مقاومت به بیماری‌ها که از وراثت‌پذیری پائینی برخوردارند، میتوان از نشانگرهای مولکولی مرتبط با QTL های شناسایی شده‌ای که بر اینگونه صفات موثر هستند، بویژه در جوامع حیوانی غیرهمخون^۳ نظیر گاوشیری استفاده نمود (۱۳).

هر چند پیشرفت‌هایی که در فن‌آوری ژنوتیپ کردن بدست آمده تاثیر هزینه ژنوتیپ را بتدریج کاسته یا بمرور خواهد کاست لیکن بنظر میرسد همچنان این معضل در طی سالیان آتی در مطالعه جوامع بزرگ غیرهمخون ممکن است مطرح باشد. علاوه بر این از نقطه نظر کاربردی مشکلات ابزاری و امکانات لازم در جمع‌آوری اطلاعات ژنتیکی از نواحی مختلف و گله‌های متفاوت (یا بعبارت دیگر مشکلات لجستیکی^۴)، از دیگر معضلات مطرح در نمونه‌گیری و تعیین ژنوتیپ تمام افراد یک جمعیت می‌باشد که نتیجتاً باعث بروز مشکلاتی در تعیین ژنوتیپ تمام افراد کاندید

¹ Quantitative trait loci (QTL)

² Health traits

³ Outbred populations

⁴ Logistics problems

⁵ Proven Sires

⁶ Stochastic simulation

اصلاحی پلی ژنیک والدین بعنوان معیار انتخاب کاندیدها منظور می شدند. مطابق با شکل ۱، در روش استفاده از اطلاعات ژنوتیپی، پس از تعیین کاندیدها بر اساس متوسط برآورد ارزش اصلاحی والدین، ابتدا بستگی به استراتژی مورد نظر بخشی یا تمام افراد بعنوان گاوهای نرکاندید ژنوتیپ شده و سپس مجدداً ارزش اصلاحی جدید با توجه به اطلاعات ژنوتیپی^۹ (MA-BLUP) برای انتخاب گاوهای نر جوان برآورد شده و نهایتاً این مقادیر جهت یافتن گاو نر جوان برتر جهت آزمون نتاج استفاده می شد. در روش ژنوتیپ کردن انتخابی، از روش انتخابی متوسط والدینی (رجوع شود به انصاری مهباری و همکاران، ۲۰۰۸) در دو سطح ۲۰ و ۵۰ درصد استفاده شد. براساس این روش پس از تخمین اثر مربوط به QTL^{۱۰} در افراد کاندید، با منظور کردن برآورد اثر پلی ژنیک والدین مقدار کل ارزش ژنتیکی کاندیدها محاسبه شده و در نهایت آنهایی که به نقطه مرزی انتخاب^{۱۱} نزدیکتر بودند مشخص گردید. این افراد تا دستیابی به سطح ژنوتیپی مورد نظر جهت ژنوتیپ کردن تعیین ژنوتیپ می شدند.

^۹ Marker Assisted BLUP

^{۱۰} Predicted QTL effect

^{۱۱} Truncation point

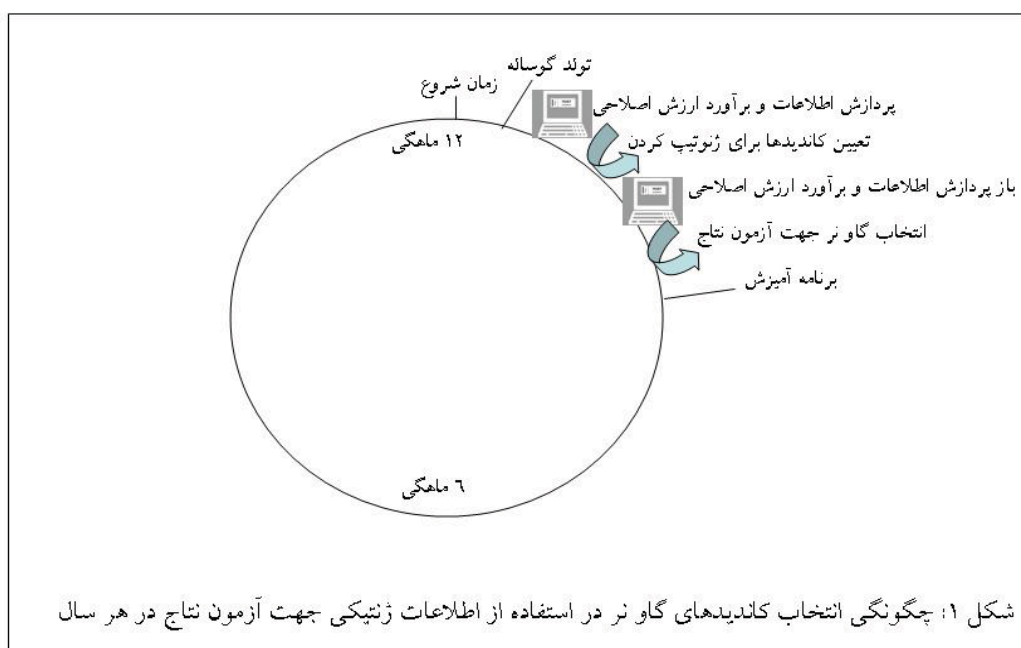
صفر، ۱/۵، ۳/۵ و ۴ سانتی مورگان بوده و موقعیت QTL بین نشانگرهای دوم و سوم (در موقعیت ۲/۵ سانتی مورگان) قرار داشت.

بر اساس یک مدل توارثی مختلط، اثرات ژنتیکی افزایشی (QTL) و پلی ژنیک)، ارزش های اصلاحی حقیقی^۷ (TBV) حیوانات شبیه سازی شد. صفتی کمی و وابسته به جنس همچون مقاومت به بیماری ورم پستان با وراثت پذیری پائین ($h^2=0.04$) در نظر گرفته شد. اثر افزایشی پلی ژنیک حیوانات در نسل پایه از توزیع نرمال با میانگین صفر و واریانس ۰/۰۳ استخراج شد. در نسل های بعدی برای بدست آوردن اثر پلی ژنیک حیوانات، علاوه بر اثرات افزایشی والدینی اثر نمونه ای مندلی (همراه با منظور نمودن اثرات ناشی از همخوانی در هر نسل) در محاسبات منظور گردید. بدیهی است در نسل پایه اثر نمونه ای مندلی در نظر گرفته نشد.

در هر سال از مجموع حدود ۵۰۰ گاو نر بدست آمده از ۱۰۰۰ گاو مادر والدی، ۲۰۰ گاو نر جوان بر اساس برآورد ارزش های اصلاحی (بصورتی که اشاره خواهد شد) جهت آزمون نتاج بعنوان کاندید مشخص می شدند. در روش عدم استفاده از اطلاعات ژنوتیپی (BLUP معمولی^۸)، متوسط برآورد ارزش های

^۷ True breeding values

^۸ Best Linear Unbiased Prediction



می‌دهند در تمام سطوح تعیین ژنوتیپ و استفاده از نشانگرهای ژنتیکی، با افزایش زمان (پس از سال‌های ۷ تا ۱۳) از مقدار دقت برآوردها کاسته شده تا اینکه تقریباً در وضعیتی نسبتاً یکنواخت‌تری قرار می‌گیرند. بدیهی است این پدیده در واقع ناشی از وجود اثر بولمر^{۱۴} در کاهش واریانس ژنتیکی (۶) و نیز افزایش همخونی گله (۱۳) می‌تواند باشد. با این حال تحقیقات نشان داده‌اند به‌گزینی بکمک نشانگرها و برآورد ارزش‌های اثری به روش بهترین تخمین ناریب خطی با استفاده از نشانگرها (روش MA-BLUP) می‌تواند بطور قابل توجهی منجر به کاهش میزان همخونی و نیز افزایش میزان پاسخ به انتخاب در مقایسه به روش‌های رایج در برآورد ارزش اثری (روش BLUP) و یا شاخص انتخاب بر روی فنوتیپ صفات گردد (۲، ۴ و ۱۰). این کاهش در میزان همخونی بدلیل کاهش در استفاده از ارتباط خویشاوندی بین افراد و توجه بیشتر به اطلاعات مربوط به نمونه‌گیری مندلی جهت برآورد ارزش‌های اثری می‌باشد.

پیامد بهبود دقت انتخاب با استفاده از اطلاعات ژنوتیپی در صفات کمی که با روش‌های غیر مولکولی پیشرفت قابل توجهی نشان نمی‌دهند، افزایش پیشرفت ژنتیکی آنها خواهد بود (۵). نتایج این تحقیق موید آنست که بکار بردن اطلاعات ژنوتیپی مرتبط به QTL های شناخته شده در مرحله شناسایی گاوهای نر جوان جهت آزمون نتاج، قادر خواهد بود دقت انتخاب گاوهای نر آزمون شده را افزایش دهد (شکل ۳). بعبارت دیگر استفاده از این اطلاعات باعث افزایش در دقت گزینش گاوهای نر پس از ارزیابی فرزندان آنها خواهد شد. همچنین در طی سال‌های ابتدایی (قبل از سال ۱۱)، مقدار دقت در انتخاب در سطح پایین‌تری درحالت استفاده از ژنوتیپ نشان داده بود (شکل ۳). در واقع این امر بدلیل فاصله زمانی مورد نیاز جهت شناسایی و بدست آوردن گاوهای نر آزمون شده است که حدود ۶ سال بطول می‌انجامد. در سال چهارم، افزایش در دقت با استفاده از اطلاعات ژنوتیپی بدست آمده بود (شکل ۲) و افزایش دقت در استفاده از اطلاعات ژنتیکی پس از سال ۱۰ مشاهده می‌شود (شکل ۳).

مقدار ارزش اصلاحی برآوردی^{۱۲} جهت انتخاب والدین نسل بعد با استفاده از یک مدل حیوانی حاوی اثر ثابت HYS (فصل-سال-گله) و اثرات تصادفی افزایشی پلی‌ژنیک حیوان و نیز QTL (البته در حالت ۰٪ ژنوتیپ کردن این بخش منظور نشده بود)، بدست آمد. نهایتاً مقدار صحت انتخاب^{۱۳} براساس همبستگی بین مقدار کل (مجموع اثرات QTL و پلی‌ژنیک) ارزش‌های اصلاحی حقیقی و ارزش‌های اصلاحی برآوردی، محاسبه تا مقایسه استراتژی‌های مختلف صورت پذیرد.

نتایج و بحث

نتایج این تحقیق نشان داد با استفاده از نشانگرهای مولکولی بطور قابل توجهی میتوان دقت برآورد ارزش‌های اصلاحی در تمام سطوح ژنوتیپ کردن افراد کاندید (۲۰٪، ۵۰٪ و ۱۰۰٪) افزایش داد (شکل ۲). این برتری نسبت به ژنوتیپ کردن تمام افراد (۱۰۰٪) در طی سال‌های ۶ تا ۱۱ برای سطح ژنوتیپی ۵۰٪ در دامنه ۷۶ تا ۸۲٪ و برای سطح ۲۰٪ در محدوده ۵۱ تا ۶۷٪ قرار داشت. دقت انتخاب در حالت عدم استفاده از اطلاعات ژنوتیپی صرفاً ۴۶ تا ۵۵٪ در مقایسه با مقدار دقت حاصل از روش استفاده از تمام اطلاعات ژنوتیپی کلیه افراد کاندید جهت آزمون نتاج بدست آمد (شکل ۲). نتیجتاً برآیند دقت در روش انتخاب بدون استفاده از نشانگرهای مولکولی پائین بودن پیشرفت ژنتیکی در مقایسه با استفاده از نشانگرهای مولکولی خواهد بود (۲). بتدریج در سال‌های ابتدایی با انجام انتخاب کاندیدهای مناسب جهت ژنوتیپ کردن و سپس به‌گزینی در جمعیت، بر تعداد افراد ژنوتیپ شده افزوده شده و لذا مشاهده می‌گردد مقدار دقت انتخاب طی سال‌های ابتدایی افزایش یافته و در سطح بالاتری قرار دارد. بعبارت دیگر دلیل این پدیده را می‌توان افزایش تدریجی در اطلاعات ژنوتیپی و تاثیر واریانس ژنتیکی ناشی از آلل مطلوب QTL دانست در حالیکه پس از سال ۱۳، با کاهش این واریانس بدلیل بالا رفتن فراوانی آلل مطلوب، افزایش تعداد افراد ژنوتیپ شده تاثیر چندانی بر دقت برآورد ارزش اصلاحی نداشت. روند تغییرات دقت انتخاب در طی نسل‌های متوالی (شکل ۲) نشان

¹⁴ Bulmer

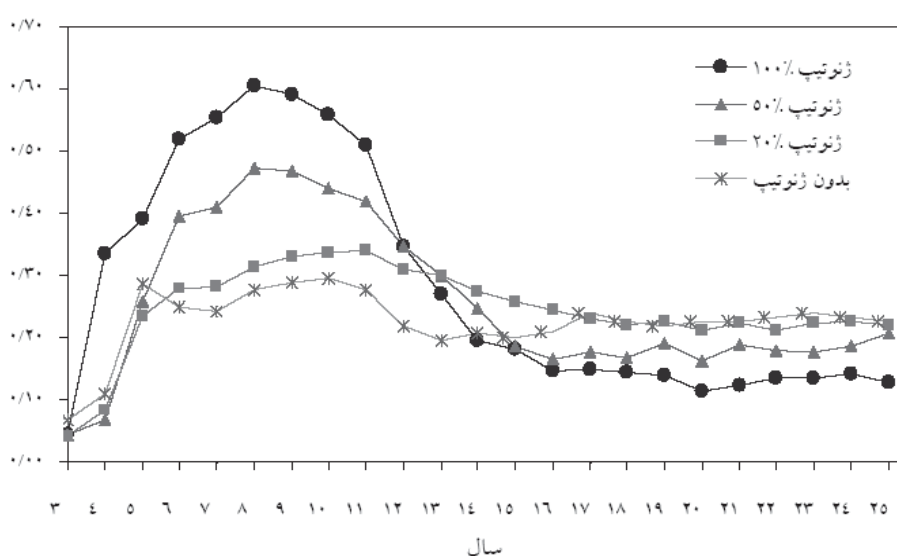
¹² Estimated breeding values

¹³ Selection accuracy

مطلوب QTL و نتیجتاً کاهش واریانس ژنتیکی ناشی از آن در صفت مورد نظر، لازم و ضروری می‌باشد. با توجه به اینکه عملاً در برنامه‌های بهنژادی گله‌های گاو شیری، همزمان چندین صفت مطرح است و همچنین چندین QTL بر یک صفت ممکن است موثر باشد لازم است حالات چند صفتی یا چند QTL نیز در مطالعات آتی در ارتباط با روش‌های ژنوتیپ کردن انتخابی استفاده شده در این تحقیق مورد مطالعه قرار داده شوند.

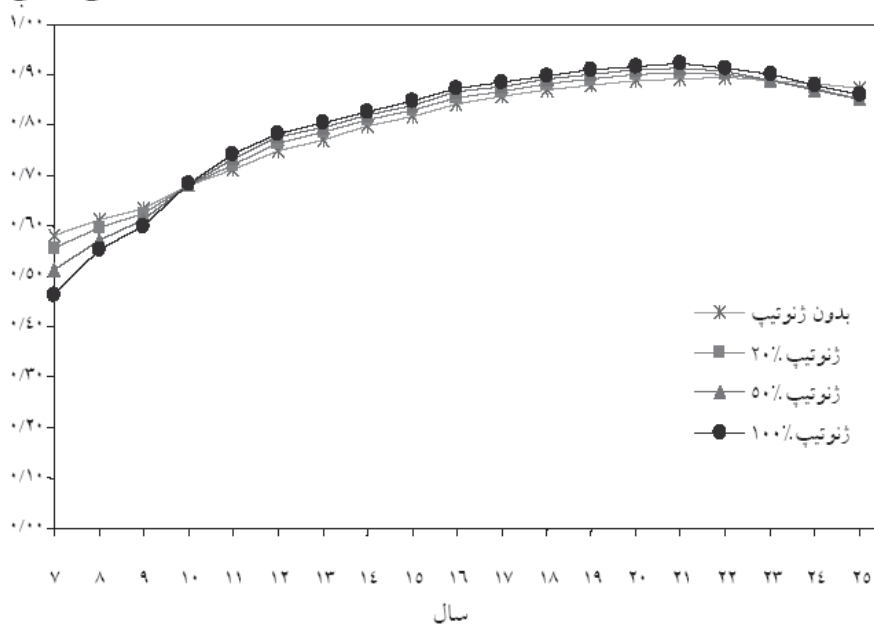
بطور کلی نتایج این تحقیق نشان داد استفاده از اطلاعات مولکولی DNA همراه با ژنوتیپ کردن انتخابی می‌تواند بعنوان روشی کارآمد جهت افزایش دقت ارزیابی و کاهش هزینه‌های ژنوتیپ کردن مورد استفاده قرار گیرد. بدیهی است این امر بطور بالقوه منجر به کاهش هزینه آزمون نتاج در گله‌های گاو شیری تجاری می‌شود. با این حال استفاده از QTL های جدید پس از ۲-۳ نسل انتخاب بکمک نشانگرهای مولکولی بدلیل تثبیت فراوانی آلل

دقت انتخاب



شکل ۲ - روند تغییرات دقت انتخاب گاو نر برای آزمون نتاج در سطوح مختلف تعیین ژنوتیپ

دقت انتخاب



شکل ۳ - روند تغییرات دقت نهایی گاو نر آزمون شده در سطوح مختلف تعیین ژنوتیپ

منابع

1. Ansari-Mahyari S and Berg P (2008) Combined use of phenotypic and genotypic information in sampling animals for genotyping in detection of quantitative trait loci. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 125:100–109.
2. Ansari-Mahyari S, Sørensen A C, Lund M S, Thomsen H and Berg P (2008) Across-family marker-assisted selection using selective genotyping strategies in dairy cattle breeding schemes. *Journal of Dairy Science*, 91:1628–1639.
3. Darvasi A and Soller M (1992) Selective genotyping for determination of linkage between a marker locus and a quantitative trait locus. *Theoretical and Applied Genetics*, 85:353–359.
4. Dekkers J C M (2007) Prediction of response to marker-assisted and genomic selection using selection index theory. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 124: 331–341.
5. Dekkers J C M and Van der Werf J H J (2007) Strategies, limitations, and opportunities for marker-assisted selection in livestock. *In: Marker-Assisted Selection: Current Status and Future Perspectives in Crops, Livestock, Forestry and Fish*. Edited by E. P. Guimarães, J. Ruane, B. D. Scherf, A. Sonnino, and J. D. Dargie. FAO, Rome, Italy.
6. Falconer D S and Mackay T F C (1996) *Introduction to quantitative genetics*. Longman, New York.
7. Goddard M E and Hayes B J (2002) Optimisation of response using molecular data. CDROM Communication No. 22-01. Proceeding of 7th World Congress Genetics in Applied Livestock Production, Montpellier, France.
8. Kinghorn B P (1999) Use of segregation analysis to reduce genotyping costs. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 116: 175–180.
9. Pedersen L D, Sørensen A C, Henryon M, Ansari-Mahyari S and Berg P (2009) *ADAM*: A computer program to simulate selective-breeding schemes for animals. *Livestock Science*, 121:343–344.
10. Sonesson A (2007) Within-family marker-assisted selection for aquaculture species. *Genetics Selection Evolution*, 39:301–317
11. Spelman R J and Garrick D J (1998) Genetic and economic responses for within-family marker-assisted selection in dairy cattle breeding schemes. *Journal of Dairy Science*, 81: 2942–2950.
12. Spelman R J and Bovenhuis H (1998) Genetic responses from marker assisted selection in an outbred population for differing marker bracket sizes and with two identified quantitative trait loci. *Genetics*, 148:1389–1396.
13. Villanueva B, Pong-Wong R, Fernandez J and Toro M A (2005) Benefits from marker- assisted selection under an additive polygenic genetic model. *Journal of Animal Science*, 83: 1747-1752.

Selective genotyping to use marker-assisted selection in progeny testing of young bulls

Ansari-Mahyari S^{1*}

1. Assistant Professor, Agricultural Biotechnology Research Institute - North Region of Iran, Rasht, Iran

* Corresponding Author, Email: saeidansarimahyari@gmail.com

ABSTRACT

The extra genetic progress by using DNA information indicated that the genetic merit can enhance through increasing the accuracy of genetic evaluations across a population. This study investigated whether selection using genetic markers linked to quantitative trait loci (QTL) increased selection accuracy of potential young bulls for progeny testing experiment in marker-assisted selection (MAS) breeding scheme. Besides, the effect of selective genotyping in potential bulls as candidates for progeny testing on the accuracy of total estimated breeding values was studied based on stochastic simulation of a population resembling a commercial dairy cattle breeding scheme for 25 yr. Two levels of selective genotyping (20 and 50%) were performed to sample young bulls compared to either complete genotyping (100%) or no genotyping (0%) of potential candidates. A trait with low heritability ($h^2=0.04$) only expressed in females was used. One bi-allelic QTL with 25% of the genetic variance and 4 markers were simulated in an identified 4cM region of a chromosome in linkage disequilibrium. Using marker information in selection schemes indicated that the accuracies among the potential candidates were higher than conventional evaluations without including genotype information. In comparison to complete genotyping of young bulls during years 6-11, the superiority of using QTL information were 76-82% with 50% genotyping, 51-67% with 20% genotyping, and 46-55% using conventional prediction methods. Lower accuracies were appeared in using genotypic information where favorable QTL allele was closed to fixation. Therefore, using a detected-QTL and selective genotyping during the young ages to identify the proper candidates (young bulls) can be considered as an efficient method to improve the selection accuracy with lower genotyping costs.

Key Words

Genetic markers, Dairy cattle, Accuracy of selection, Outbred populations