

آزمایشات تشخیص QTL و انتخاب بکمک نشانگرها در برنامه‌های به‌نژادی گاوشیری

سعید انصاری - مهباری

پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی (منطقه شمال کشور)، رشت، ابتدای جاده تهران، صندوق پستی: ۴۱۱۵-۴۱۳۵

چکیده

تشخیص و مکان‌یابی QTL های صفات تولیدی و سپس استفاده از آنها می‌تواند منجر به افزایش دقت انتخاب بویژه در طی سنین نوجوانی گاوهای والد در برنامه‌های به‌نژادی شده که پی‌آمد این امر افزایش سرعت پیشرفت ژنتیکی خواهد بود. با توجه به گسترش تحقیقات QTL، هدف از این مطالعه پرداختن به موضوعات مربوط به چگونگی تشخیص و نیز مزایای استفاده از QTL در یک برنامه به‌نژادی بر اساس استفاده از روش شبیه‌سازی بوده است. استفاده از روشهایی نظیر رگرسیون در مطالعات QTL دارای مزایایی همچون سادگی محاسبات میباشد لیکن در این روشها از سایر اطلاعات نظیر روابط خویشاوندی بهره‌ای گرفته نمیشود و لذا سایر روشها از جمله تجزیه اجزا واریانس و حداکثر درستنمایی قابل تامل هستند. همچنین نتایج حاصله نشان میدهند استفاده از QTL در یک برنامه انتخاب می‌تواند منجر به افزایش دقت ارزیابیهای ژنتیکی و انتخاب گاوهای نر بویژه در سنین نوجوانی و یا مادران گاوهای نر گردد.

واژه‌های کلیدی: تشخیص و مکان‌یابی QTL، انتخاب بکمک نشانگرهای مولکولی، گاو شیری

مقدمه

بر اساس مدل‌های ژنتیکی در صفات کمی، جایگاههای ژنی متعددی در بروز یک صفت موثر هستند. امروزه مشخص شده مناطقی از ژنوم دارای اثرات برجسته و معنی‌داری در ظهور صفات اقتصادی هستند که اصطلاحاً QTL (Quantitative Trait Loci) اطلاق میشوند. یک QTL می‌تواند ناشی از چندین ژن باشد و یا همزمان بر بیش از یک صفت تاثیر بگذارد. برای تشخیص و سپس استفاده از QTL، نشانگرهای لینک با آنها استفاده میشوند.

اگرچه روشهای آمیزی مختلفی برای تشخیص وجود دارند لیکن هزینه نگهداری و پرورش و نیز فاصله تجدید نسل در گاوشیری باعث شده تا روشهای ناتنی نظیر daughter design (DD) و یا grand-daughter design (GDD) مورد توجه قرار گیرند (۵). پس از جمع‌آوری اطلاعات فنوتیپی و ژنوتیپی از روشهای متعدد آماری از جمله رگرسیون، تجزیه واریانس و روشهای حداکثر درستنمایی جهت تشخیص و مکان‌یابی استفاده میشود. برآورد پارامترهای QTL نخستین مرحله در استفاده از آنها جهت بالا بردن دقت تخمین ژنتیکی دامهای کاندید و انتخاب بکمک نشانگر (marker-assisted selection, MAS) می‌باشد. استفاده از QTL بعنوان اثری تصادفی جهت برآورد اثرات افزایشی QTL و استفاده از آنها در MAS در داخل فامیلهای نیمه‌تنی را در ابتدا فرناندو و گراسمن (۲) بوسیله یک جفت نشانگر نشان دادند و سپس این روش برای استفاده از اطلاعات بیشتر ژنوتیپی در محدوده‌های مشخص شده ژنومی بوسیله وانگ و همکارانش (۴) توسعه یافت. اخیراً این روشها جهت برآورد دقیق‌تر اثرات QTL در بین فامیلهای نیمه‌تنی یک جمعیت و بهره‌وری از نقشه‌های دقیق QTL (QTL-fine mapping) و نشانگرهای LD (linkage disequilibrium)، بوسیله موویسن و گورد (۳) مورد استفاده قرار گرفته و گزارش شده اند.

این مطالعه با توجه به گسترش تحقیقات QTL و نیز استفاده از آنها در برنامه‌های اصلاحی در کشورهایی همچون هلند، فرانسه، دانمارک و آلمان؛ به موضوعات مربوطه به اختصار خواهد پرداخت.

مواد و روشها

بمنظور نشان دادن مکان یابی و تشخیص QTL در روش GDD، یک خانوار نیمه‌تنی شبیه سازی شد که در آن فرض شده بود که پدر (sire) برای یک ژن بزرگ اثر بعنوان QTL بصورت هتروزیگوت میباشد. این پدر به‌مراه ۷۵ فرزند پسر (sons) برای ۵ جفت نشانگر چند آللی ژنوتیپ شده بودند. در این مطالعه صفتی با وراثت پذیری پائین (۰/۰۴) همچون صفات مربوط به خصوصیات باروری نظیر سرعت عدم برگشت (non-return rate) در نظر گرفته شد. هر پسر دارای ۱۰۰ دختر بوده که طی برنامه آزمون نتاج مقادیر DYD (daughter yield deviation) آنها بعنوان فنوتیپ در تجزیه QTL استفاده گردید. جهت بررسی تاثیر استفاده از QTL در ترتیب کردن (ranking) افراد کاندید در انتخاب یک گله، سه سطح فراوانی آللی QTL شامل ۰/۲۵، ۰/۵۰ و ۰/۷۵ استفاده شد.

نتایج

شناسایی و مکان‌یابی QTL و پارامترهای آن: با استفاده از نشانگرها میتوان توارث قطعات مشخصی از ژنوم را که با QTL لینک هستند را دنبال نمود. در مطالعات شناسایی QTL صفات اقتصادی و عملکردی گاوهای شیری اغلب از طرح‌های DD و GDD استفاده میشود. در واقع اگر فرزندان دختری در DD یا دخترهای پسران یک پدر در GDD دارای کپی یکسانی از یک آلل QTL باشند بطور معنی‌داری باهم باشند در مقایسه با گروهی دیگر از فرزندان که آللهای دیگری را از QTL به ارث برده‌اند، آنگاه امکان تشخیص QTL در درون فامیل وجود خواهد داشت. نتایج حاصل از GDD در این مطالعه نشان میدهد که یک رابطه خطی رگرسیون بین احتمال انتقال آلل QTL و فنوتیپ وجود دارد. فرض در پدر هتروزیگوت در این آزمایش، Q_1 یک آلل مثبت باشد. احتمال انتقال (p_j) این آلل با توجه به نشانگرها (M) عبارت خواهد بود از: $P[Q_1 \text{ transmitted} | M_i, M_j]$. جدول ۱ نشان میدهد که بیش از ۴۰٪ از پسرهای والد هتروزیگوت در خارج از محدوده فراوانی آللی ۰/۲۶ و ۰/۷۵ قرار دارند. عبارت دیگر آنچه در تشخیص و یافتن QTL موثر است اختلاف میانگین صفت در دختران پسرایی بوده که هموزیگوت هستند $(\mu_{Q^+Q^+} - \mu_{Q^-Q^-})$. این امر حاکی از آن است استفاده از والد‌های هموزیگوت در مطالعات درون فامیلی از قدرت تشخیص خواهد کاست و لذا بایستی در جوامع out bred نظیر گاو‌شیری که امکان ایجاد لاین‌های خالص وجود ندارد، از تعداد پدر کافی در سطح گله استفاده گردد تا به قدرت تشخیص (power) قابل توجهی بتوان دست یافت.

استفاده از QTL در برآوردهای اصلاحی: در واقع هدف از انجام برنامه MAS افزایش فراوانی آللهای مثبت در صفات اقتصادی است که با روشهای رایج بکندی صورت میگیرد یا نیاز به هزینه‌های بالائی دارند نظیر مقاومت و یا حساسیت به بیماریها. جدول ۲ نشان میدهد استفاده از ژنوتیپ نشانگرهایی که با یک QTL لینک هستند میتواند موجب تغییر در انتخاب افراد کاندید انتخاب برای نسل بعد شود. در واقع استفاده از اطلاعات مولکولی منجر به افزایش دقت انتخاب و نتیجتاً افزایش سرعت پیشرفت ژنتیکی میگردد (۱). عبارت دیگر چنانچه از روشهای رایج برآورد استفاده شود و یکی از ۳ فرد در این مثال را بخواهیم انتخاب کنیم، حیوان ۳ بهترین خواهد بود در حالیکه منظور نمودن اطلاعات یک QTL منجر به تغییر حیوان انتخابی میگردد. علاوه بر این مشاهده میشود که فراوانی آللی QTL در تغییر ترتیب بهترین کاندید انتخابی موثر میباشد بصورتیکه در فراوانی‌های بالاتر کاندید ۲ ارزش اصلاحی بالاتری نسبت به سایر کاندیدها نشان میدهد.

نتیجه‌گیری

در صورتیکه پدرها در طرح DD یا پدر والدی در طرح GDD برای آلل QTL هتروزیگوت باشد امکان تشخیص QTL وجود داشته و قدرت تشخیص افزایش میابد. اگرچه با استفاده از روشهای رگرسیون بسیار ساده بوده و میتواند احتمال اینکه چه آللی از QTL توسط یک فرد بخصوص به توارث رسیده را محاسبه نماید لیکن از سایر اطلاعات نظیر روابط خویشاوندی صرف‌نظر شده و لذا برای بهبود آزمایشات QTL، سایر روشها از جمله تجزیه واریانس و حداکثر درستمایی قابل تامل هستند. پس از مکان‌یابی و تخمین پارامترها، با بهره‌وری از اطلاعات DNA در انتخاب گله‌های گاو‌شیری این امکان فراهم میگردد که گوساله‌های نر جوان

و با ارزش را با دقت بیشتری جهت استفاده در آزمونهای نتاج انتخاب کردند. علاوه بر این در گله‌های nucleus، تلیسه‌های مادر را میتوان در سنین پائین و با دقت بیشتر انتخاب نمود. بنابراین استفاده از اطلاعات ژنوتیپی QTL منجر به افزایش دقت در برآوردهای ژنتیکی شده و لذا میتوان کاندیدهای برتر از نظر ژنتیکی را با اطمینان بالاتری مورد استفاده قرار داد. با اینحال در روش MAS بمنظور کاهش اثر Gibson لازم است پس از ۲-۳ نسل از QTL های جدید در جمعیت های مورد نظر استفاده نمود.

جدول ۱: میانگین صفت با توجه به توزیع آللی QTL در یک طرح GDD

فراوانی آللی QTL	تعداد پسرها (sons)	سرعت عدم برگشت (%)
کمتر از ۰/۲۶	۱۴	۹۶/۹
بین ۰/۲۶ و ۰/۷۵	۴۴	۱۰۰/۹
بیشتر از ۰/۷۵	۱۷	۱۰۳/۵
کل	۷۵	۱۰۰/۷

جدول ۲: تغییرات ارزشهای اصلاحی در فراوانی‌های مختلف آلل QTL برای سه گاو کاندید انتخاب[†]

حیوان ۱	حیوان ۲	حیوان ۳	ارزش اصلاحی پلی ژنیک (BV _a)
۹۹	۱۰۱	۱۰۲	ژنوتیپ QTL
Q ⁺ Q ⁺	Q ⁺ Q ⁺	Q ⁻ Q ⁺	
+۱	-۲	-۳	اثر QTL با P(Q ⁺)=۰/۲۵
۱۰۰	۹۹	۹۹	BV _a + BV _{qtl}
+۲	۰	-۲	اثر QTL با P(Q ⁺)=۰/۵۰
۱۰۱	۱۰۱	۱۰۰	BV _a + BV _{qtl}
+۳	+۲	-۱	اثر QTL با P(Q ⁺)=۰/۷۵
۱۰۲	۱۰۳	۱۰۱	BV _a + BV _{qtl}

[†] مقدار اثر جایگزینی افزایشی QTL برای آلل مثبت (Q⁺) برابر +۴ و برای آلل منفی (Q⁻) معادل -۴ مفروض شده است

منابع:

- 1- Falconer, D. S. and T. F. C. Mackay. 1996. Introduction to quantitative genetics. 4 edn. Longman, New York, 464 pp.
- 2- Fernando, R. L., and M. Grossman. 1989. Marker assisted selection using best linear unbiased prediction. Genet. Sel. Evol., 21:467-477.
- 3- Meuwissen, T. H. E., and M. E. Goddard. 2004. Mapping multiple QTL using linkage disequilibrium and linkage analysis information and multitrait data. Genet. Sel. Evol., 36: 261-279.
- 4- Wang, T., R. L. Fernando, S. van der Beek, and M. Grossman. 1995. Covariance between relatives for a marked quantitative trait locus. Genet. Sel. Evol., 27: 251-274.
- 5- Weller, J. I., Y. Kashi, and M. Soller. 1990. Power of daughter and granddaughter designs for determining linkage between marker loci and quantitative trait loci in dairy cattle. J. Dairy Sci., 74:2525-2537.