



تشکیل پایه‌های ژنتیکی و ژنومی در نژادهای اسب بومی کشور

محمد باقر زندی^{۱*}، اردشیر نجاتی جوارمی^۲، عباس پاکدل^۲

۱- دانشجوی دکتری ژنتیک و اصلاح نژاد دام دانشگاه تهران

۲- هیئت علمی گروه علوم دامی دانشگاه تهران

*bzandi@ut.ac.ir

چکیده

با توسعه دانش و تکنولوژی در زمینه‌های مهندسی ژنتیک و فناوری‌های بیوتکنولوژی در علوم ژنتیک و اصلاح نژاد و استفاده از این فناوری‌ها، می‌توان در جهت رفع نیازهای خود با اصول علمی آنها را بکار گرفت که در این رابطه یکی از ضروری‌ترین نیازهای کشور، تشکیل پایه‌های ژنتیکی کامل برای نژادهای اسب بومی کشور می‌باشد. تشکیل پایه‌های ژنتیکی و ژنومیک برای نژادهای اسب بومی کشور، می‌تواند با استفاده از تکنیک نوین تراشه‌های ژنومی صورت پذیرد که با بررسی کل ژنوم هر یک از نژادها با ۷۰ هزار مارکر *SNP* شناسایی شده، انجام می‌گیرد. آزمایش مذکور با اخذ نمونه خون یا فولیکول مو از دام و استخراج *DNA* (ژنوم) و گسترش ژنوم هر اسب بر روی چیپ‌های ۷۰ هزار مارکر انجام می‌پذیرد. تعداد نمونه در هر نژاد، حداقل ۵۰ رأس می‌باشد و در مرحله اول با یک سری تکنیک‌های علمی و نرم افزاری، تنوع تک تک نژادها در هر رأس اسب بررسی می‌شود و سپس تنوع هر یک از ۷۰ هزار مارکر را در بین تعداد اسب‌های موجود در هر نژاد بررسی نموده و در نهایت با پیدا کردن تنوع‌های نژادی و تشکیل یک پایه ژنومی و یکسان در هر نژاد به تفاوت‌های نژادی و ژن‌های مرتبط پرداخته می‌شود. بعد از این مرحله، هرگونه تست ژنتیکی مرتبط با تعیین انساب و انتساب (تعلق نژاد) و همچنین تست‌های تشخیص ژن‌های مرتبط با رکوردهای ورزشی (مانند سرعت، استقامت، مقاومت به بیماری و...) توسط این تراشه‌ها با هزینه خیلی جزئی برای هر ژن، نسبت به دیگر روش‌های تشخیص مانند میکروساتلایت‌ها و... صورت می‌گیرد.

کلمات کلیدی: مهندسی ژنتیک، اسب بومی، پایه ژنومی، تعیین انساب و انتساب





اسب یکی از مهم‌ترین دام‌های پرورشی در کشور ایران می‌باشد پرورش اسب و ورزش سوارکاری از دیرباز در ایران باستان مورد توجه بوده است و اسب در میادین جنگ و صحنه‌های کارزار به عنوان سنبل دلیری و وفاداری، مقاومت و استقامت محسوب می‌شد.

ایران یکی از مراکز اصلی، اهلی کردن اسب در جهان بوده همچنان که در آثار باستانی و فسیل‌های کشف شده و در نوشته‌های محققین نیز اشاره شده است و همچنین در تاریخ هرودت نیز آمده است که اولین اسب‌های نیله توسط خشایار شاه، در زمان حمله به یونان به اروپا منتقل شده و در نتیجه اسب حیوانی است که از ایران به سایر کشورهای جهان به ارمغان برده شده است (اندرسون، ۲۰۱۲).

با وجود سابقه طولانی در پرورش و تربیت این حیوان در کشور، بررسی‌ها نشان می‌دهد که تحقیقات زیادی در این بخش صورت نگرفته و متأسفانه تا چند سال قبل عمدتاً نگاهی سنتی به پرورش اسب بوده است. هم‌اکنون با وجودی که وسایل دودزا و موتوری زیاد شده اما انسان‌ها جهت داشتن تفریح سالم و مفرح، علاقه شدیدی به پرورش اسب نشان می‌دهند و چنانچه می‌بینیم سرمایه‌گذاری‌های کلانی در این بخش صورت گرفته است و همچنان این سرمایه‌گذاری‌ها ادامه دارد که دلیل بر وجود اهمیت پرورش و پی بردن به اهمیت نقش این حیوان نجیب، در تأمین رفاه و آسایش جامعه می‌باشد حال با وجودی که می‌دانیم پرورش اسب اهمیت دارد و می‌دانیم که اجداد نیاکان میراث با ارزشی را برای ما برجای گذاشته‌اند این سوال پیش می‌آید که با وجود پیشرفت علم و وجود تکنولوژی‌های نوین در صنعت پرورش اسب و علم اصلاح نژاد، وظیفه ما برای آیندگان در قبال پرورش و اصلاح نژاد این حیوان نجیب به‌خصوص برای نژادهای بومی چیست (فتوتی، ۲۰۰۰).

مهندسی ژنتیک و علم اصلاح نژاد اسب

توسعه دانش و تکنولوژی در زمینه‌های مهندسی ژنتیک و فناوری‌های بیوتکنولوژی سبب شده است که علوم ژنتیک و اصلاح نژاد، روز به روز پیشرفت کرده و انسان با استفاده از این فناوری‌ها بتواند در جهت رفع نیازهای خود با اصول علمی آن‌را به‌کار گیرد (بیلی، ۱۹۹۸).

با تکمیل شدن پروژه‌های توالی‌یابی ژنوم انسان و بسیاری از گونه‌های حیوانات اهلی، مانند گاو و گوسفند خوک و ... گرایش تحقیقات به سمت شناخت ساختار ژنوم (مجموعه ژن‌های جانداران) و مکانیسم اثر ژن‌ها و شناسایی پایه‌های ژنومی افزایش یافته است، از سال ۱۹۸۶ با همکاری ۱۰۰ محقق علم ژنتیک از ۲۰ کشور جهان، تحقیقات ژنتیکی و تعیین توالی ژنومی بر روی نژادهای اسب، در قالب یک پروژه مشترک انجام گرفت که در نهایت به توالی ژنوم اسب دست یافتند و سپس در سال ۲۰۰۳ میلادی توالی ژنوم مربوط به ۱۴ نژاد اسب در جهان شناسایی شده و نتایج تحقیقات نیز چاپ شد (وید، ۲۰۰۹) و بعد از آن، در ادامه کار این محققین با تأکید بر کشف ژن‌های مربوط بر عملکرد در جهت یافتن راهی آسان و کم-هزینه جهت انجام آزمایشات و کاربردی کردن آن بودند تا اینکه در سال ۲۰۰۹ اولین تراشه (چیپ) تعیین توالی ژنوم اسب به صورت تجاری تهیه گردید و مورد تأکید اکثر محققین و صنعت اسب قرار گرفت. این تراشه‌ها توسط شرکت ایلومینا^۱ به صورت انحصاری تهیه و عرضه می‌گردد و شامل ۷۰ هزار مارکر (نشانه‌گر یا شناسه‌های ژنی) موجود در روی ژنوم اسب می‌باشد. از این پس هر گونه تست ژنتیکی مرتبط با تعیین انساب و انتساب (تعلق نژاد) و همچنین تست‌های تشخیص ژن‌های مرتبط با رکوردهای ورزشی (مانند سرعت، استقامت، مقاومت به بیماری و...) توسط این تراشه‌ها با هزینه خیلی جزئی برای هر ژن نسبت به دیگر روش‌های تشخیص مانند میکروساتلایت‌ها و... صورت می‌گیرد.

¹ Illumina





لازم به ذکر است که با کشف این تراشه‌ها، یعنی نشانگرهای مترکم تک نکلوتیدی^۱ انتخاب سیلمی‌ها و مادیان‌ها را بر اساس نشانگرها در مقیاس کل ژنوم اسب انجام می‌دهند که به این روش انتخاب ژنومیک گفته می‌شود (هیز، ۲۰۰۷). در روش‌های مرسوم (ستی) اصلاح نژاد، انتخاب اسب بر اساس عملکردهای فردی خود اسب که به صورت برآورد توانایی ژنتیکی آن‌ها است، (از طریق فنوتیپ یا عملکرد آن‌ها) صورت می‌گرفت، در ایران تا به حال بر اساس توانایی ژنتیکی در اسب انتخاب صورت نگرفته است؟؟؟ چنانچه می‌دانید، در انتخاب بر اساس عملکرد فردی برای برخی صفات که مربوط به مراحل پایانی زندگی است یا سن بلوغ سیلمی‌ها (مانند توانایی پرش)، بایستی تا زمان اخذ رکورد صبر نمود که یک فرایند زمان بر، پر هزینه و با دقت پایین می‌باشد.

ولی اکنون با توجه به تکنولوژی‌های پیشرفته اخیر و طراحی تراشه‌های ژنومی برای اسب‌ها، دیگر نیازی نیست که زمان را از دست داده و صبر نماییم که یک کره نر، بالغ گردد تا یک سری آزمایشات عملکردی با پروسه چند ساله، منوط به داشتن نتایج (کره‌های) با عملکرد مناسب، انجام دهیم، تا از نظر عموم ثابت گردد که می‌توان نریان (کره نر) بالغ را به عنوان سیلمی قبول کرده و در کشتش‌ها از آن استفاده کرد.

بلکه با این تراشه‌ها به محض تولید کره اسب، با گرفتن یک نمونه خون یا فولیکول مو و استخراج *DNA* (ژنوم آن) و گسترش آن بر روی تراشه‌های طراحی شده توسط شرکت می‌توان توانایی کره برای سیلمی شدن و انتخاب آن به عنوان سیلمی در نسل حاضر با دقت بالای ۰/۹۹ تشخیص داد و در نتیجه در بازه زمان کمتری تصمیم می‌گیریم که آیا این کره نگه داشته شود یا خیر، و به تکنیک‌های مدیریتی و پرورشی و اصلاح نژادی در جهت حفظ آن می‌پردازیم.

البته لازم به ذکر می‌باشد که این نوع کاربرد تنها یکی از انواع کاربردهای این فناوری در امور اصلاح نژاد در صنعت اسب است چرا که اگر بخواهیم به همه جنبه‌های کاربردی آن پردازیم نیاز به تدوین یک کتاب خواهد بود. ولی در ادامه به چند بعد دیگر کاربرد آن اشاره می‌شود.

نکته دیگر این‌که متأسفانه تا به حال برای نژادهای بومی کشور پایه ژنتیکی^۲ برای هر فردی تشکیل نشده که بر اساس آن آن تشخیص بدهیم هر اسب مربوط به کدام نژاد بوده و یا دو خون (آمیخته) حاصل مربوط به چه نژادهای می‌باشد.

البته ناگفته نماند از سال ۱۳۸۳ زحمات و تحقیقات اولیه با همکاری مرکز اصلاح نژاد دام و بهبود تولیدات دامی، موسسه تحقیقات علوم دامی، دانشگاه تهران، معاونت امور دام خراسان شمالی و تعاونی مشاوره اسب ترکمن، در جهت ایجاد پایه ژنتیکی اسب ترکمن صورت گرفت که اکنون نیز استفاده می‌شود (نجاتی جوارمی، ۲۰۰۶). در حال حاضر با به‌کارگیری تراشه‌های مذکور پایه‌های ژنومی برای هر نژاد بر اساس ۷۰ هزار مارکر می‌توان تشکیل داد و با تعیین توالی ژنوم هر اسبی با تراشه‌ها می‌توان تشخیص داد که اسب مذکور متعلق به چه نژادی و والد پدر و مادر (سیلمی و مادیان) آن کدام‌ها می‌باشد و در صورت دو خون بودن آن، با دقت بالا درصد خلوص نژادی آن برای اسب‌داران، علاقه‌مندان و پرورش دهندگان تعیین می‌شود.

همچنین تکنولوژی اخیر به پرورش‌دهندگان و اسب‌داران اجازه می‌دهد که شجره‌های اسب خود را چنانچه مشکل داشته باشند تصحیح نمایند، حتی می‌توانند تا ۱۰ نسل قبل شجره اسب‌های خود را تصحیح نمایند (پروژه اسب ژنوم، ۲۰۰۳).

برای تشکیل پایه ژنتیکی برای هر نژاد، بر اساس پایه ژنتیکی با تراشه‌های ۷۰ هزار تایی، در مرحله اول تعدادی از اسب‌های هر نژاد (که بر اساس ارزیابی تیپ توسط افراد صاحب نظر و با تجربه با احتمال بالایی تشخیص داده می‌شود، که مربوط به نژاد مربوطه هستند یا خیر)، انتخاب می‌شوند، سپس ژنوم آن‌ها توالی‌یابی می‌شود و توالی آن‌ها در بین نژاد مربوطه

^۱ SNPs

^۲ Stud base





مقایسه می‌گردد و سپس با نژادهای دیگر که ژنوتیپ شده‌اند (نژادهای بومی و خارجی) مقایسه می‌گردد. (بعد از تشکیل پایه ژنومی نیاز به استفاده از تراشه برای همه دیگر اسبها نیست بلکه با آزمایش مارکرهای میکروساتلایتی می‌توان به نتایج مطلوب دست یافت) تا اینکه پایه ژنتیکی جداگانه‌ای با دقت بالا تعیین گردد که با این روش، پرورش دهندگان و مالکان عزیز، این دغدغه فکری را نخواهند داشت که آیا نتیجه آزمایش صحت دارد یا خیر، بلکه با قاطعیت می‌توانند به نتایج این آزمایشات اطمینان کنند و در اهداف بعدی و استراتژی‌های بعدی از این نتایج بهره ببرند.

اهداف حاصل از انجام آزمایش ژنومیک اسب

حال با این روش با یک بار آزمایش *DNA* اسب، چندین هدف را در یک زمان می‌توان به دست آورد.

۱- تشکیل پایه ژنتیکی نژادی *Stud base*

۲- تعیین هویت دام و تعلق نژادی

۳- تست تعیین والدینی *Parentage test*

۴- شناسایی توانایی ژنتیکی اسبها

۵- شناسایی ژن‌های مرتبط با عملکردهای ورزشی و محل دقیق آن روی کروموزوم اسب و ...

البته لازم به ذکر می‌باشد که همه اهداف بالا برای ۷۰ هزار مارکر بوده در حالی که در روش‌های دیگر موجود، در هر بار حداکثر ۲۰ ژن، بررسی شده و برای هر کدام از اهداف بالا بایستی مجدداً مراحل انجام تکرار گردد مثلاً با استفاده از مارکرهای میکروساتلایتی برای تعیین والدین (آزمون والدین)^۱ چنانچه بخواهیم هویت و یا تعلق نژادی آن را بیابیم نیازمند تست‌های ژنتیکی کروموزوم و ژنوم میتوکندریایی می‌باشیم و در نتیجه هزینه‌های مربوطه چنانچه جمع گردد، حدود ۱۰۰۰ برابر بیشتر از انجام آزمایش با استفاده از تراشه‌ها خواهد بود و صحت کمتری نیز خواهد داشت.

منابع

1. Andersson L. 2011. How selective sweeps in domestic animals provide new insight into biological mechanisms. *The Association for the Publication of the Journal of Internal Medicine*. 1365-2796.
2. Bailey E. 1998. Odds on the FAST Gene. *Genome Res*. 8: 569-571.
3. Fotovati A. 2000. Persian Horse Breeds From Ancient Time to Present and Their Rules in Development of World Horse Breeds. *Asian-Aus. J. Anim. Sci*. 13 Supplement July 2000.
4. Hayes B. J., P. J. Bowman, A. J. Chamberlain, and M. E. Goddard. 2009. Invited review: Genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges. *J. Dairy Sci*. 92:433-443.
5. Illumina technical support. *illumina-datasheet_equine_snp50*. www.illumina.com.
6. Molly E. McCue, Danika L. Bannasch, Jessica L. Petersen, Jessica Gurr, Ernie Bailey, Matthew M. Binns, Ottmar Distl, Ge' rard Gue' rin, Telhisa Hasegawa, Emmeline W. Hill, Tosso Leeb, Gabriella Lindgren, M. Cecilia T. Penedo, Knut H. Røed, Oliver A. Ryder, June E. Swinburne, Teruaki Tozaki, Stephanie J. Valberg, Mark Vaudin, Kerstin Lindblad-Toh, Claire M. Wade, James R. Mickelson. 2012. A High Density SNP Array for the Domestic Horse and Extant Perissodactyla: Utility for Association Mapping, Genetic Diversity, and Phylogeny Studies. *PLoS Genet* 8(1): e1002451. doi:10.1371/journal.pgen.1002451.

¹ Parentage test



7. Wade, C. M., E. Giulotto, S. Sigurdsson and horse genome project. 2009. *Genome Sequence, Comparative Analysis, and Population Genetics of the Domestic Horse*. *Science* 326, 865.