حفظ تنوع ژنتیکی با استفاده از دراپ ژنی

مجید خالداری[1]، عباس پاکدل[2]، حسن مهربانی یگانه[2]، اردشیر نجاتی جوارمی[2]، Peer Berg[3]
1- دانشجوی دوره دکتری دانشگاه تهران
2- اعضای هیئت علمی دانشگاه تهران
3- Department of Genetic and Biotechnology, Aarhus University, Denmark

چکیده

حفظ تنوع ژنتیکی جمعیت برای اطمینان از پاسخ به انتخاب بلندمدت، یک وظیفه مهم در برنامه های اصلاحی است، لذا در این تحقیق استفاده از شجره و شبیه سازی دراپ ژنی برای مدیریت حفظ تنوع ژنتیکی در یک جمعیت تحت انتخاب از بلدرچین ژاپنی بررسی شده است. ابتدا با استفاده از نرم افزار شبیه سازی دراپ ژنی و شجره حاصل از چهار نسل انتخاب برای وزن بدن، توزیع فراوانی آللها برای هر یک از افراد جمعیت پایه تخمین زده شد و سپس سهم ژنتیکی هر یک از این افراد در نسل آخر، آماره های F و اندازه مؤثر جمعیت محاسبه شدند. نتایج نشان داد 59 درصد از فوندرها فاقد نتاج در نسل حاضر هستند. در ضمن 87 و 95 درصد ژنوم نسل آخر به ترتیب از 32 و 42 پرنده نسل پایه تشکیل یافته است. از توزیع ها، اطلاعات مفیدتری از قبیل احتمال انقراض آللی، احتمال بقاء آللها در شرایط بحرانی و احتمال انقراض آللها در آینده حاصل شد. لذا برای یک توسعه پایدار از پاسخ به انتخاب حفظ آللهای مربوط به فوندرهای با سهم ژنتیکی ضعیف یک وظیفه ضروری است.

کلمات کلیدی: تنوع ژنتیکی، دراپ ژنی، پاسخ به انتخاب

مقدمه

همگام با افزایش پیشرفتهای ژنتیکی، حفظ تنوع ژنتیکی در جمعیت برای اطمینان از پاسخ به انتخاب بلندمدت، یک وظیفه مهم در برنامه های اصلاحی است(Barker 2001). لذا به دلیل زیانهای بالقوه و یا حتی ناپدید شدن تنوع ژنتیکی در جوامع کوچک (Ralls and Ballou, 1983) آنالیز شجره سبب می شود تا اصلاحگران به حداقل کردن تنوع در اندازه خانواده و حداکثر نمودن اندازه مؤثر در جمعیت اقدام کنند (Lacy 1989). با طراحی برنامه های اصلاحی برای افزایش تعداد نتاج از برخی افراد جمعیت پایه (Founder) که سهم ژنتکی ضعیفی در جمعیت دارند، می توان کاهش تنوع ژنتیکی در جمعیت را حداقل نمود (Foose et al, 1986). اگرچه میانگین توزیع فراوانی ژنی برای یک فرد از جمعیت پایه باید مطابق با سهم ژنتیکی محاسبه شده از طریق آنالیز شجره باشد ولی احتمال انقراض آللهای هر فرد فقط می تواند با استفاده از دراپ کردن ژنها از طریق شبیه سازی حاصل شود(Honda 2002) . دراپ کردن ژنها یک روش شبیه سازی است که در آن دو آلل متفاوت به هر یک از افراد جمعیت پایه اختصاص داده می شود و سپس با استفاده از قانون تفرق مندلی برای کلیه افراد موجود در شجره یک ژنوتیپ تولید می شود. در این روش فرض می شود انحراف از تفرق مندلی (احتمال انتقال 50 درصد برای هر آلل) و جهش وجود ندارد (MacCluer et al, 1986). این عمل منجر به شبیه سازی یک ژنوم برای هر فرد می شود که تعداد جایگاههای دو آللی ناپیوسته آن معادل تعداد تکرارهای دراپ ژنی خواهد بود (Suwanlee et al. 2007). لذا این روش اطلاعات بیشتری درباره ساختار ژنتیکی جمعیت نسبت به محاسبه سهم ژنتیکی برای هریک از افراد جمعیت پایه ارایه می دهد (McClure 1986). هدف از مطالعه حاضر این بود که شجره و شبیه سازی دراپ ژنی چگونه می توانند برای مدیریت حفظ تنوع ژنتیکی در یک جمعیت تحت انتخاب از بلدرچین ژاپنی استفاده شوند. لذا ابتدا با

استفاده از نرم افزار شبیه سازی دراپ ژنی و شجره حاصل از چهار نسل انتخاب برای وزن بدن، توزیع فراوانی آللها برای هر یک از افراد جمعیت پایه تخمین زده شد و سپس سهم ژنتیکی هر یک از این افراد در نسل آخر، آماره های F و اندازه مؤثر جمعیت محاسبه شدند. از توزیع ها، اطلاعات مفیدتری از قبیل احتمال انقراض آللی، احتمال بقاء آللها در شرایط بحرانی و احتمال انقراض آللها در آینده حاصل شد.

مواد و روشها

برای بررسی اثر انتخاب بر پاسخهای کوتاه مدت و همچنین تخمین پارامترهای ژنتیکی وزن 4 هفتگی در بلدرچین، از جمعیت پایه موجود در مزرعه تحقیقاتی پردیس کشاورزی کرج 126 پرنده (نسل صفر) به طور تصادفی انتخاب و پس از نصب شماره پا برای آنها با نسبت جنسی 1 نر به 2 ماده آمیزش نمودند. در نسل بعد 30 پرنده دیگر از جمعیت پایه انتخاب شد. لذا در این مطالعه از شجره حاصل از 4 نسل انتخاب جمعیت مذکور استفاده شد. برای حصول توزیع های قابل اعتماد از فراوانیهای آللی در جمعیت مرجع فرآیند دراپ کردن ژنها با استفاده از نرم افزار MENDEL 1000 مرتبه تکرار شد (Lange et al. 2001).

از توزیع های حاصل، احتمالات زیر محاسبه شد: Pr (lost) به عنوان احتمال انقراض آللهای هر فرد از نسبت تکرارهایی که هر دو آلل فرد در جمعیت مرجع وجود نداشتند، محاسبه شد. لذا افرادی که آللهایشان از جمعیت حذف شده بودن Pr (lost)برابر یک بود. Pr(risk) به عنوان احتمال ریسک زیادی از حذف از نسبت تکرارهایی که فراوانی آلل q بین 0/01 – 0 بود، محاسبه شد. سرانجام احتمال بقاء آللها در یک فراوانی کم مشروط به آنکه آللهای فرد در جمعیت مرجع باقی بمانند از رابطه $\Pr(risk \mid survive) = \frac{\Pr(risk)}{1-\Pr(lost)}$ محاسبه شد. این احتمال شرطی یک معرف از خطر انقراض آلل در آینده می باشد. سهم ژنتیکی افراد جمعیت پایه و آماره های F با استفاده از نرم افزار eva- inbred (Berg, 2006) محاسبه شدند. اندازه مؤثر مورد انتظار جمعیت از طریق افزایش همخونی بین دو نسل محاسبه شد (Ne = 1/2ΔF) که $\Delta F = \frac{F_t - F_{t-1}}{1-F_{t-1}}$ و F_t و F_{t-1} به ترتیب میانگین همخونی در نسل t و t-1 هستند (Nomura et al. 2001).

نتایج

آماره های توصیفی تعداد آلل های باقیمانده در هر جمعیت مرجع در جدول 1 و تعداد افراد، افراد همخون، آماره های F و انداره مؤثر در جدول 2 ارایه شده است. معدل سهم ژنتیکی افراد پایه به نسل آخر در شکل 1 ارایه شده است. نتایج نشان داد از 156 پرنده نسل پایه فقط 64 پرنده (22 نر و 42 ماده) دارای سهم ژنتیکی در نسل آخر هستند. در ضمن 87 و 95 درصد ژنوم نسل آخر به ترتیب از 32 و 42 پرنده نسل پایه تشکیل یافته است. معدل سهم ژنتیکی نرها و ماده ها به ژنوم نسل آخر به ترتیب 1/79 و 1/40 می باشد. مجموع سهم نسبی پرندگان نر و ماده به ترتیب 41/1 و 58/9 درصد بود.

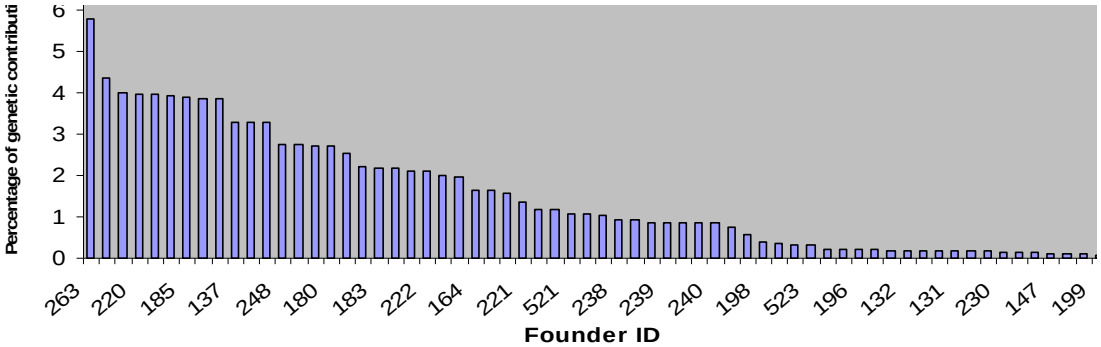
جدول 1- آماره های توصیفی تعداد آلل باقیمانده در هر تکرار و تعداد کل آللها در بین تکرارها

نسل	میانگین	حداقل	حداکثر	ضریب تنوع (درصد)	تعداد کل آللها در بین تکرارها
0	252	252	252	0	252
1	288/7	280	295	1/2	287/8
2	138/5	130	145	2/1	192
3	85/8	70	95	4/2	142
4	59/6	52	67	5/3	128

جدول 2- تعداد افراد، افراد همخون، آماره های F و اندازه مؤثر

نسل	تعداد افراد	افراد همخون	F_{IT}	F_{IT}	F_{ST}	ΔF	اندازه مؤثر
0	126	0	0	0	0	0	-
1	367	0	0	0	0	0/0033	151/5
2	407	14	0/0086	0/0033	0/0053	0/0076	65/8
3	410	67	0/0152	0/0109	0/0044	0/0110	45/5
4	325	116	0/0168	0/0218	-0/0051	-	-
مجموع	1635	197	0/0088	-	-	-	-

F_{IT}: معدل ضریب همخونی جمعیت، F_{IT}: ضریب همخونی جمعیت تحت آمیزش تصادفی، F_{ST}: انحراف از معدل همخونی تحت آمیزش تصادفی



شکل 1- سهم ژنتیکی افراد باقیمانده از جمعیت پایه درنسل آخر

بر اساس نتایج حاصل از نسل آخر، اطلاعات مفیدتری از فوندرهای باقیمانده برای آنالیز توزیع فراوانی های آللی و همچنین سهم ژنتیکی محاسبه شده از آنالیز شجره در جدول 4 ارایه شده است.

جدول 4- آماره های حاصل از توزیع فراوانی های آللی در نسل آخر

ID	Sex	Genetic contribution	Allele frequency		pr(lost)[2]	Pr(risk)[3]	Pr(risk|survive)[4]
			Average	CV (%)			
263	m	0.0577	0.0568	54.5	0.0000	0.2818	0.2818
513	f	0.0435	0.0441	62.4	0.0061	0.2455	0.2476
186	m	0.0400	0.0397	67.2	0.0061	0.3697	0.3720
220	f	0.0398	0.0419	69.9	0.0242	0.3091	0.3168
219	m	0.0398	0.0387	71.3	0.0242	0.3515	0.3602
350	f	0.0392	0.0396	65.1	0.0061	0.3455	0.3476
185	f	0.0388	0.0386	74.4	0.0121	0.3879	0.3926
208	f	0.0387	0.0397	62.5	0.0061	0.2909	0.2927
207	m	0.0387	0.0383	67.8	0.0545	0.3333	0.3526
137	f	0.0327	0.0339	77.9	0.0182	0.3152	0.3210
506	f	0.0327	0.0312	76.6	0.0061	0.2061	0.2073
138	m	0.0327	0.0332	63	0.0242	0.3333	0.3416
248	f	0.0275	0.0247	63.6	0.0788	0.2424	0.2632
249	m	0.0275	0.0287	59.8	0.0909	0.2667	0.2933
181	f	0.0273	0.0270	63.2	0.1091	0.2545	0.2857
180	m	0.0273	0.0271	62.5	0.0667	0.2424	0.2597
314	m	0.0254	0.0243	64.3	0.0061	0.3818	0.3841
505	f	0.0223	0.0223	58.1	0.0000	0.2727	0.2727
.		.	.	.	.	.	.
.		.	.	.	.	.	.
.		.	.	.	.	.	.
512	f	0.0015	0.0016	50.7	0.5697	0.0606	0.1408
231	m	0.0015	0.0015	48	0.5636	0.1152	0.2639
147	f	0.0012	0.0008	39.4	0.7697	0.0545	0.2368
187	f	0.0012	0.0013	32.4	0.7576	0.0545	0.2250
148	m	0.0012	0.0012	45.2	0.7758	0.0485	0.2162

m: male, f: female, [2] Probability of allele extinction, [3] Probability of alleles being at high risk of extinction, [4] Probability of alleles surviving at critically low frequency

بحث

سهم ژنتیکی فوندرها در نسل آخر نشان می دهد 92 فوندر (59 درصد) فاقد نتاج هستند (شکل 1). همچنیین حدود 87 و 95 درصد ژنوم نسل آخر به ترتیب توسط 34 و 42 فوندر تشکیل یافته است. پس از یک افزایش در تعداد فوندرها (جدول 1) و همچنین معدل تعداد آللهای باقیمانده در هر تکرار (جدول 2) ناشی از معرفی فوندرهای جدید به جمعیت، این مقادر به ترتیب به 64 و 59/6 در نسل آخر کاهش یافتند. با این حال شمارش تعداد آللها بین تکرارها نشان داد کلیه آللهای منتسب به فوندرهای باقیمانده در جمعیت وجود دارند (جدول 2). هر چند تعداد آللهای باقیمانده در هر جمعیت مرجع بین تکرارها متفاوتند ولی ضرایب تنوع کوچک تأکید می کنند که معدل ها معرف خوبی از تعداد آللهای باقیمانده

در هر تکرار هستند. عامل اصلی برای روند کاهشی تعداد فوندرها و معدل آللی و روند افزایشی ضریب تنوع (جدول 2)، استفاده بیشتر از نتاج فوندرهای برتر برای نسل بعد می باشد.

کاهش ناگهانی تعداد آللها در نسل های ابتدایی توسط مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (Honda et al. 2002; Rodriganez et al. 1998). همانطور که انتظار می رود معدل فراوانی آللی طی تکرارها مطابق با سهم ژنتیکی فوندرها است. از آماره های حاصل از توزیع فراوانی های آللی فوندرهای ارایه شده در جدول 4 می توان استنباط نمود فوندرهای با سهم ژنتیکی بالاتر، احتمال کمتری از انقراض آللی دارند (Pr(lost)) و احتمال انقراض آللی همگام با کاهش سهم ژنتیکی افزایش می یابد. در مدیریت تنوع ژنتیکی Pr(lost) حاوی اطلاعات مفیدی است زیرا احتمال کم انقراض آللی تأکید می کند که آلل های فوندر به طور مطمنی به نتاج منتقل می شوند (Trinderup et al. 1999).

احتمال انقراض آللی برای سه فوندر برتر(263، 513 و 186) تقریبا صفر است ولی بقاء آللها در خطر نسبی بالایی از انقراض در آینده می باشد (0/28، 0/24 و 0/37). در مقابل احتمال انقراض آللها برای سه فوندر با کمترین سهم ژنتیکی زیاد است (0/75<) ولی بقاء آللها در خطر نسبی کمتری از انقراض در آینده می باشد. خطر کم انقراض آللی در آینده (Pr(risk|survive)) برای فوندرهای ضعیف نشان می دهد که آللهای آنها از یک وضعیت باتل نک شدید عبور کرده اند ولی خطر نسبی بالایی از انقراض در آینده برای فوندرهای برتر نشان می دهد که سهم ژنتیکی نمی تواند حاوی اطلاعات مفید برای توزیع فراوانی آللی باشد که با نتایج حاصل از هوندا و همکاران (2002) مطابقت دارد . این موضوع به طور آشکاری از مقایسه دو فوندر 263 و 505 قابل مشاهده است. هر رو فوندر احتمال انقراض آللی و احتمال انقراض در آینده مشابهی دارند ولی سهم ژنتکی 263 حدود 2/5 برابر فوندر 505 است. می توان نتیجه گیری نمود که یک جمعیت حاصل از سهم نابرابر فوندرها، تنوع ژنتیکی کمتری از یک جمعیت حاصل از فوندرهای با سهم ژنتیکی برابر و تعداد یکسان از فوندرها دارد (Lacy, 1989). کاهش تنوع ناشی از کاهش هتروزیگوسیتی و کاهش تنوع آللی است. هتروزیگوسیتی کمتر اغلب منجر به کاهش شایستگی و فقدان تنوع آللی سبب عدم پاسخ به انتخاب طولانی مدت می شود (Falconer and Mackey, 1996). لذا برای یک توسعه پایدار از پاسخ به انتخاب حفظ آللهای مربوط به فوندرهای با سهم ژنتیکی ضعیف یک وظیفه ضروری است.

منابع

1- Barker, J. S. F. 2001. Conservation and management of genetic diversity: a domestic animal perspective. Canadian Journal of Forest Research 31:588-595.

Falconer, D.S., and F. C. Mackay .1996. Introduction to Quantitative Genetics, 4th ed., Longman Group Ltd, England.

2- Foose, T.J., R. Lande, N. R. Flesness, G. Rabb and B. Read. 1986. propagation plans. Zoo biology. 5: 139-146.

3- Lacy, R. C. 1989. Analysis of founder representation in pedigrees: founder equivalents and founder genome equivalents. Zoo Biology 8, 111–123.

4- Lange, K. R. Cantor, S. Horvath, M. Perola, C. Sabatti, J. Sinsheimer, and E. Sobel .2001. MENDEL version 4.0: A complete package for the exact enetic analysis of discrete traits in pedigree and population data sets. Amer J Hum Genet 69(supplement):504.

5- MacCluer, J. W., J. L. VandeBerg, B. Read, and O. A. Ryder.1986. Pedigree analysis by computer simulation. Zool Biol 5:147–160.

6- Nomura, T., T. Honda and F. Mukai. 2001. inbreeding and effective population size of Japanese black cattle. J. Anim. Sci. 79:366-370.

7- Ralls, K., P. H. Harvey, and A. M. Lyles. 1986. Inbreeding in natural populations of birds and mammals. Conservation biology. 35-56.

8- Rodriganez, J., M. A. Toro, M. C. Rodriguez, and L. Silio.1998. Effect of founder allele survival and inbreeding depression on litter size in a closed line of Large White pigs. Animal Science 67, 573–582.
9- Trinderup, M., J. N. Jørgensen, and M. Hansen. 1999. Conservation considerations on Danish Shorthorn Cattle using pedigree analysis. Animal Genetic Resources Information. 26:27-33.

Abstract
Preservation of genetic diversity in the population is an important task to assure a possible long-term response to selection in animal breeding. The purpose of this study was to consider how pedigree and gene dropping method can be used for management planes for maintaining genetic variation in a under selected population quail. So, firstly, by using the gene dropping simulation software to actual pedigree, the distributions of frequencies of alleles originated from founders were estimated. Secondly, genetic contribution of founders to current population, then parameters such as F-statistics and effective size number were described. The result show from 156 early founders there are only 64 founders (22 males and 42 females) in last generation. A total of 87 % of genome in the last generation has been composed by 34 founders that contribution of 13 and 21 male and female were 37 and 50 %, respectively. From the distributions, much information useful for the management of genetic diversity, such as the probability of allele extinction, the probability of alleles surviving at a critically low frequency, and risk of future allele extinction was derived.