A MODEL FOR MARKER-ASSISTED SELECTION FOR FAST GROWTH IN NATIVE EGYPTIAN CHICKENS

By

MOSTAFA MOHAMED ABDELHAMID HELAL

B.Sc. Agric. Sci. (Poultry Production), Fac. Agric., Cairo Univ., ١٩٩٩
M.Sc. Agric. Sci. (Poultry Breeding and Genetics), Fac. Agric., Cairo Univ., ٢٠٠٥

THESIS

Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

DOCTOR OF PHILOSOPHY

In

Agricultural Sciences

(Poultry Production)

Department of Animal Production
Faculty of Agriculture
Cairo University
EGYPT

٢٠١١

APPROVAL SHEET

A MODEL FOR MARKER-ASSISTED SELECTION FOR FAST GROWTH IN NATIVE EGYPTIAN CHICKENS

Ph.D. Thesis
In
Agric. Sci. (Poultry Genetics)

By

MOSTAFA MOHAMED ABDELHAMID HELAL

B.Sc. Agric. Sci. (Poultry Production), Fac. Agric., Cairo Univ., ١٩٩٩
M.Sc. Agric. Sci. (Poultry Breeding and Genetics), Fac. Agric., Cairo Univ., ٢٠٠٥

APPROVAL COMMITTEE

Dr. MOHAMED SAYED SALAMA .....
Professor of Molecular Genetics and Genetic Engineering, Fac. Sci., Ain Shams University

Dr. AHMED MOHAMED EL-SHARKAWY.....
Professor of Genetics, Fac. Agric., Cairo University

Dr. ESSAM ABBAS EL-GENDY.....
Professor of Poultry Genetics and Biotechnology, Fac. Agric., Cairo University

Date:
٣١/١٢/٢٠١١

SUPERVISION SHEET

A MODEL FOR MARKER-ASSISTED SELECTION FOR FAST GROWTH IN NATIVE EGYPTIAN CHICKENS

Ph.D. Thesis
In
Agric. Sci. (Poultry Genetics)

By

MOSTAFA MOHAMED ABDELHAMID HELAL

B.Sc. Agric. Sci. (Poultry Production), Fac. Agric., Cairo Univ., ١٩٩٩
M.Sc. Agric. Sci. (Poultry Breeding and Genetics), Fac. Agric., Cairo Univ., ٢٠٠٥

SUPERVISION COMMITTEE

Dr. ESSAM ABBAS EL-GENDY
Professor of Poultry Genetics and Biotechnology, Fac. Agric., Cairo University

Dr. AHMAD MOSTAGEER MOSTAFA (Late)
Late Professor of Animal Breeding, Fac. Agric., Cairo University

Name of Candidate: Mostafa Mohamed Abdelhamid Helal **Degree:** Ph.D.
Title of Thesis: A Model for Marker-Assisted Selection for Fast Growth in Native Egyptian Chickens
Supervisors: Dr. Essam Abbas El-Gendy
Dr. Ahamed Mostageer Mostafa (Late)
Department: Animal Production **Branch:** Poultry Genetics **Approval:** ٣١/١٢/٢٠١١

ABSTRACT

The objective of this study was to use the data of growth patterns of local chickens accompanied with their molecular data to develop a strategy for marker-assisted selection for growth. Four lines were used and have been derived from a naturally heat resistant local breed in Egypt. They were a homozygous normally-feathered selected line (CE١), homozygous naked-neck selected line (CE٣) and their corresponding control lines (CE٢ and CE٤). Lines CE١ and CE٣ have been selected for high ٦-wk BW for five generations. Three generations were obtained for this study. Lines CE١ and CE٣ were significantly heavier at ٦ weeks of age than their corresponding control lines CE٢ and CE٤ by ٢٤,١٥ and ٢٧,٠٧٪ in the base generation and by ٥١,٤ and ٣٤,٥٪ in the second selected generation. The differences reached to ٥٧,١ and ٦٢,٨٪ at ١٨ weeks of age in the base generation and ٤٩,٣ and ٢٨,٧٪ in the second selected generation. Line CE١ was significantly heavier than line CE٣ throughout the growing period. The total number of alleles per locus averaged ٧,٧٨ alleles. Polymorphism percentage averaged ٥٠,١ and ٥٥,١٪ in lines CE١ and CE٣ versus ٣٨,٦ and ٤٩,٦٪ in lines CE٢ and CE٤. Percentage of unique alleles averaged ٤,٣ and ٤,٦٪ in lines CE١ and CE٣. Many polymorphic allelic bands were differed in their frequencies between high and low performed families in lines CE١ and CE٣. A total of ٣٤ polymorphic alleles in ١٩ loci were flown over generations and the flow trends were different in different lines and families within lines. Principle component analysis was applied to the data of both lines and two main components were found and three canonical correlations were obtained. Four and five bands were persistently concomitant with the highly performed families in lines CE١ and CE٣, respectively. These bands would have brought ٦-wk BW into higher levels of performance by ٢٥,١ and ١٦,٦٪ in the second generation if they would have been considered in the selection for ٦-wk BW.

Key words: Growth, local chickens, marker-assisted selection, microsatellite markers.

DEDICATION

I dedicate this thesis to whom my heartfelt thanks; to my mother, my wife, my brother and my sister, as well as to the soul of my father, without their support the accomplishment of this thesis would not be possible. I wish also to extend my dedication of this work to all people who supported me through out the course this work.

ACKNOWLEDGEMENT

Thanks to Allah, the Master of all creation, for sending his blessings on this work to be done as he well.

I am deeply grateful and greatly indebted to Dr. ***Essam Abbas El-Gendy****, Professor of Poultry Genetics and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Cairo University for his keen supervision, designing the experiment, kind help during the course of this work, providing me with all facilities to do this work, and helping in writing the thesis. Special acknowledgement of gratitude and appreciation is directed to him.*

I deeply appreciate Dr. ***Ahmed Mostageer,*** *late Professor of Animal Breeding, Faculty of Agriculture, Cairo University for his supervision and kind help, may God bless his soul.*

CONTENTS

	Page
INTRODUCTION.	١
REVIEW OF LITERATURE.....	٣
١. Impact of selection in commercial meat-type chickens	٣
a. Selection for growth in local chickens.....	٨
b. Naked-neck (Na) gene.....	٩
c. Genetic parameter estimates for growth-related traits in chickens.....	١١
٣. Integration of molecular genetics and poultry breeding	١٣
a. Quantitative trait loci (QTL)	١٦
b. Marker-assisted selection (MAS)	٢٢
MATERIALS AND METHODS.....	٢٩
RESULTS AND DISCUSSION.....	٤١
١. Growth performance.....	٤١
٢. Genome scanning	٦٧
a. Genome evaluation.....	٦٧
b. An approach to marker assisted selection.....	٨٣
SUMMARY.....	١٠٧
REFERENCES	١١١
ARABIC SUMMARY	

LIST OF TABLES

No.	Title	Page
١.	Compositions and amounts of rations fed to the chickens at different ages	٣١
٢.	Number of pooled DNA samples, by family, line and generation	٣٤
٣.	The microsatellite primers used, the chromosome numbers on which microsatellite markers can be recognized and their forwarded and reverse sequences	٣٥
٤.	PCR mixture composition	٣٧
٥.	Microsatellite-PCR program	٣٧
٦.	Levels of significance of the effects of line, sex and their interaction on the growth of chicks	٤٢
٧.	Body weights (LSM±SE, g) with age of the different lines in the base generation.	٤٣
٨.	Body weights (LSM±SE, g) with age of the different lines in the first selected generation	٤٥
٩.	Body weights (LSM±SE, g) with age of the different lines in the second selected generation	٤٦
١٠.	Six-week body weights (LSM±SE, g) within line, sex and generation	٥٦
١١.	Body weight gains (LSM±SE, g) with age of the different lines in the base generation	٥٨
١٢.	Body weight gains (LSM±SE, g) with age of the different lines in the first selected generation	٦٠

١٣. Body weight gains (LSM±SE, g) with age of the different lines in the second selected generation..... ٦١

١٤. Body weight gains in ٦-week intervals within line and generation ٦٢

١٥. Sire heritability estimates for growth measurements of the selected lines in the first and second selected generations….. ٦٥

١٦. Number and molecular weight of different alleles detected by the primers in each line, overall generations..... ٦٨

١٧. Total number of alleles recognized by the microsatellite primers in the subsequent generations in each line..... ٦٩

١٨. The genomic variability within lines in the subsequent generations. ٧١

١٩. Polymorphic information content for the allelic bands of each line, overall generations..... ٧٣

٢٠. Average genetic distance indices, overall primers, between different lines and generations..... ٧٦

٢١. Pair-wise coefficients of the average of genetic distances among different lines in the subsequent generations. …… ٧٨

٢٢. Frequencies of the allelic bands flown over subsequent generations in different trends of both selected lines ٨٩

٢٣. The principle component analysis for the banding patterns and ٦-wk BW in the subsequent generations in line CE١….. ٩٣

٢٤. The principle component analysis for the banding patterns and ٦-wk BW in the subsequent generations in line CE٣….. ٩٥

٢٥. The polymorphic allelic bands associated to lines over subsequent generations..... ٩٧

٢٦. The principle component analysis for the banding patterns of the bands associated with line CE١ in the subsequent generations..... ٩٨

٢٧. The principle component analysis for the banding patterns of the bands associated with line CE٣ in the subsequent generations. ١٠٠

٢٨. The canonical correlation estimates between molecular and phenotypic variables. ١٠١

٢٩ Predicted mean ٦-wk BW (g) of the selected lines CE١ and CE٣. ..... ١٠٤

LIST OF FIGURES

No.	Title	Page
١.	Body weights, by age, of all lines in the base generation.....	٤٨
٢.	Body weights, by age, of all lines in the first selected generation.....	٥٠
٣.	Body weights, by age, of all lines in the second selected generation.....	٥١
٤.	Selection progress of body weights of the normally feathered selected line (CE١) and naked-neck selected control line (CE٣) in the base generation.....	٥٢
٥.	Selection progress of body weights of the normally feathered selected line (CE١) and naked-neck selected control line (CE٣) in the first selected generation.....	٥٣
٦.	Selection progress of body weights of the normally feathered selected line (CE١) and naked-neck selected control line (CE٣) in the second selected generation.....	٥٤
٧.	Six-week body weights of males of different lines in the subsequent generations	٥٦
٨.	Six-week body weights of females of different lines in the subsequent generations	٥٧
٩.	Body weight gain during ٦-week intervals of different lines in the base (a), first (b) and second (c) generations	٦٣
١٠.	A phylogenetic dendogram among normally-feathered selected line CE١, normally-feathered control line CE٢, naked-neck selected line CE٣, and the naked-neck control line CE٤, in the base generation.....	٧٩

١١. A phylogenetic dendogram among normally-feathered selected line CE١, normally-feathered control line CE٢, naked-neck selected line CE٣, and the naked-neck control line CE٤, in the first selected generation ٧٩

١٢. A phylogenetic dendogram among normally-feathered selected line CE١, normally-feathered control line CE٢, naked-neck selected line CE٣, and the naked-neck control line CE٤, in the second selected generation. ٨٠

١٣. The phylogenetic dendogram for the subsequent generations in the normally feathered selected line CE١ (a) and its genetic control line CE٢ (b). ٨١

١٤. The phylogenetic dendogram for the subsequent generations in naked-neck selected line CE٣ (a) and its genetic control line CE٤ (b)..... ٨٢

١٥ Plotting diagram for the allelic amplificons recognized by the different markers in the subsequent generations in each line. ٨٤-٨٧

١٦ Plotting diagram for the allelic amplifications that were flown differently in different lines. ٨٨

١٧ The average frequencies of the selected bands associated with high and low ٦-wk BW in line CE١ in the subsequent generations. ١٠٦

١٨ The average frequencies of the selected bands associated with high and low ٦-wk BW in line CE١ in the subsequent generations ١٠٣

١٩ Obtained and predicted ٦-wk BW (g), as a deviation from the corresponding control, of line CE١ (a) and line CE٣ (b) in the subsequent generation. ١٠٥

الملخص العربي

نموذج للانتخاب للنمو السريع بمساعدة الواسمات في الدجاج المحلي المصري

تم إجراء هذه الدراسة بهدف تقييم استخدام بيانات النمو مع بيانات المسح الجينومي في الانتخاب بمساعدة الواسمات في الدجاج المحلي المصري. استخدمت ٤ خطوط من الدجاج، جميعها مشتقة من سلالة محلية مصرية . الخط الأول (CE١) عبارة عن الدجاج ذو التريش الطبيعي والمنتخب لزيادة وزن الجسم عند ٦ أسابيع لمده خمسة أجيال ، الخط الثاني (CE٢) يمثل سلالة الكونترول للخط الأول ، والخط الثالث(CE٣) عبارة عن سلالة عارية الرقبة منتخبة لزيادة وزن الجسم عند ٦ أسابيع لمدة خمسة أجيال ، والخط الرابع (CE٤) يمثل كنترول الخط الثالث. تم إنتاج ثلاثة أجيال للخطوط في هذه الدراسة وهى جيل الأساس بالإضافة إلي جيلين منتخبين.

تم وزن الكتاكيت الناتجة لكل خط في كل جيل عند الفقس ثم كل أسبوعين حتى عمر ٢٠ أسبوع. وتم سحب عينات من الدم لكل خط في كل جيل لاستخلاص الدنا من هذه العينات وتم استخدم تفاعل البلمرة المتسلسل البيسرة باستخدام ٢٧ من الواسمات الوراثية الدقيقة.

وكانت أبرز النتائج كما يلي:-

١- الأداء الإنتاجي

كان الخطان المنتخبان CE١ ، CE٣ أثقل معنوياً في الوزن من الكونترول المقارن لأي منهما بـ ٢٥,١٥ و ٢٧,٠٧% عند عمر ٦ أسابيع في جيل الأساس ، و بـ ٥١,٤ و ٣٤,٥% في الجيل المنتخب الثاني . ووصلت الفروق إلي ٥٧,١ و ٦٢,٨% عند عمر ١٨ أسبوع في جيل الأساس ، و كذلك إلي ٤٩,٣ و٢٨,٧% في الجيل المنتخب الثاني. أوضحت نتائج وزن الجسم في الأجيال المتعاقبة أن السلالة ذات التريش الطبيعي كانت أثقل وزناً من السلالة عارية الرقبة خلال معظم فترات النمو وهو الأمر الذي يشير إلي أن السلالة عارية الرقبة تنمو بمعدلات أبطأ نسبياً من السلالة ذات التريش الطبيعي .

كان تأثير الجنس معنوياً وهو متوقع نظراً للاختلاف الطبيعي الراجع للجنس.

كانت تقديرات العمق الوراثي لمختلف قياسات النمو عالية خلال الأعمار المبكرة وانخفضت تدريجياً مع الزيادة في العمر ، حيث كانت ٠,١٨ و٠,١٧ في الجيل الأول والثاني في السلالة المنتخبة ذات الترييش الطبيعي (CE١) لصفة وزن الجسم عند عمر ٦ أسابيع ، أما في الخط عاري الرقبة (CE٣) فقد كانت القيم أعلي قليلاً ووصت إلي ٠,٢١ و ٠,١٩ للجيلين الأول والثاني علي التوالي.

٢- المسح الجينومي

أ. التقييم الجينومي

أنتجت بادئات الدنا ١٣٤٥ شريطاً تنتمي إلي ٨٥ أليل في كل الأجيال ، وكان متوسط عدد الاليلات ٧,٧٨ اليل / موقع وراثي. وتراوح الوزن الجزيئي لكل الاليلات بين ٣٠ و ٨٤٦ زوج من القواعد الوراثية. وتراوح عدد الاليلات التي تم التعرف عليها بين ١ إلي ٧ أليلات وهو الأمر الذي يشير إلي أن معظم المواقع كانت متعددة الاليلات.

كان التباين الوراثي في الخط المنتخب ذو الترييش الطبيعي (CE١) منخفضاً بشكلٍ عام وتراوح بين ٠,١١ و ٠,٢٥ و ٠,٢٣ للأجيال الثلاثة علي التوالي .أما في الخط عاري الرقبة (CE٣) ، فقد كانت قيم التباين الجينومي ٠,١٠ و ٠,٢٠ و ٠,٢٠ للأجيال الثلاثة علي التوالي. ولم تختلف قيم التباين الوراثي كثيراً داخل خطوط الكونترول عن نظائرها في الخطوط المنتخبة . وانخفاض هذه القيم داخل الخطوط المنتخبة هو أمر متوقع نظراً لوقوع الخطوط تحت ضغط الانتخاب.

كان متوسط نسبة تعدد المظاهر ٥٠,١ و ٥٥,١% في الخطين المنتخبين CE١ و CE٣ علي التوالي، في مقابل ٣٨,٦ و ٤٩,٦% لخطي الكونترول المقارنين لهما .

كان متوسط الاليلات المميزة ٤,٣% في الخط المنتخب ذو الترييش الطبيعي (CE١)، مقابل ٠,٧% فقط في خط الكونترول المقارن له، وبالمثل تم الحصول علي أليلات مميزة بنسبة ٤,٦% في الخط المنتخب عاري الرقبة CE٣ في مقابل ١,٢% لخط الكنترول المقارن له .

كانت المسافة الوراثية بين الخط المنتخب CE٣ والكونترول المقارن له ٠,٧٤٠ في الجيل المنتخب الثاني . وكانت المسافة الوراثية بين الخط عاري الرقبة CE٣ والكونترول المقارن له ٠,٨١٥.

ب. الانتخاب بمساعدة الواسمات

ظهرت بعض الليلات بتكرارات عالية في بعض الخطوط بينما كانت التكرارات قليلة في الخطوط الاخري . كما تم تحديد العديد من الاليلات المميزة لكل خط ، كما كانت هناك العديد من الاليلات المختلفة في تكراراتها بين العائلات عالية وتلك منخفضة الأوزان ، ويستنتج من ذلك أن العائلات يمكن تميزها عن طريق الأليلات المتواجدة فيها بالإضافة إلي التمييز بينها بالأداء الإنتاجي. تم تتبع تدفق ٣٤ أليل في ١٩ موقع وراثي من جيل إلي جيل . ووضح أن الزيادة في تكرارات بعض الأليلات في العائلات ذات الأداء الإنتاجي المرتفع يعبر عن تراكم الجينات في الخطين المنتخبين.

عند استخدام تحليل المكونات الرئيسية ، تم تحديد ٧ مكونات في كل من الخطين المنتخبين . وأوضح أول مكونين رئيسيين ٦٩,٥٧ و ٧٧,٤٢ ٪ من التباين في خط CE١ وCE٣ على التوالي. مساهمة البيانات الجزيئية كانت متوسطة إلي مرتفعة في تحديد التباين في الخطين المنتخبين حيث تم اكتشاف ١١ شريط وراثي مرتبطين بالخط CE١ و١٣ شريطاً وراثياً مرتبطين بالخط CE٣ .

تم الحصول على ثلاثة ارتباطات. كان أكبر ارتباط ٠,٤٥١٣ ، والذي قدر العلاقة بين البيانات الجزيئية والمظهرية بين الأجيال بـ ٨١,٣٤ ٪ .

وتم تحديد ٤ أليلات متعددة المظاهر ارتبطت ارتباطاً وثيقاً بالعائلات ذات الأداء الإنتاجي المرتفع في الخط CE١ بالإضافة إلي خمسة أليلات في الخط CE٣ وهذه الاليلات عند استخدامها في الانتخاب كانت ستؤدي إلي زيادة في وزن الجسم عند عمر ٦ أسابيع بحوالي ٢٥,١ و ١٦,٦% للخطين ذو الترييش الطبيعي (CE١) وعاري الرقبة (CE٣)علي التوالي.