



بررسی جایگاه صفت کمی موثر بر صفات رشد در بلدرچین ژاپنی با استفاده از طرح ناتنی پدری

احسان نصیری فر^۱، علی اسمعیلی زاده کشکونیه^۲، حسن مرادیان^۳، سعید سهرابی^۴ و مهدی طالبی^۵

۱- دانش‌آموخته دکتری گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، (نویسنده مسوول: ehsan.nasirifar@gmail.com)

۲، ۳ و ۴- استاده، دانشجوی دکتری و دانش‌آموخته دکتری گروه علوم دامی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

۵- دانشجوی دکتری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۹ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۵

چکیده

برای شناسایی جایگاه‌های صفات کمی (QTL) موثر بر صفات رشد روی کروموزوم ۲ در بلدرچین ژاپنی از یک طرح ناتنی پدری استفاده گردید. از آمیزش متقابل دو سویه سفید (تخم‌گذار) و وحشی (گوشتی) بلدرچین ژاپنی تعداد ۳۴ پرنده در نسل اول ایجاد شد و از آمیزش پرنده‌گان نسل اول در قالب ۹ خانواده ناتنی پدری تعداد ۴۲۲ نتاج در طی پنج هج متوالی تولید شد. رکوردگیری فوتویی از صفات رشد پرنده‌گان انجام شد و تمامی پرنده‌گان مربوط به ۹ خانواده ناتنی پدری برای ۴ نشانگر ریزماهواره موجود روی کروموزوم ۲ تعیین ژنوتیپ شدند. آنالیز QTL به روش مکان‌یابی درون فاصله‌ای مبتنی بر رگرسیون به صورت طرح ناتنی پدری انجام گردید. در این آنالیز علاوه بر QTL موثر بر نسبت کلیبر، QTL‌های دیگر مرتبط با رشد در موقعیت‌های ۱۳، ۵۱، ۵۳، ۵۴، ۵۵ سانتی مورگان ($P < 0.05$) و ۵۰ سانتی مورگان ($P < 0.01$) شناسایی شدند. درصد واریانس QTL در محدوده ۰/۰۱ تا ۵/۱۶ و میانگین میزان اطلاعات مفید نشانگرها در نقاط مختلف کروموزوم شماره دو (در بین و موقعیت نشانگرها) ۰/۵۸ و در محدوده ۰/۴۱ تا ۰/۷۱ قرار داشت. به احتمال زیاد صفات قرار گرفته در نزدیک یک نشانگر خاص دارای اثر پلئوتربی می‌باشند که در اصلاح نژاد بلدرچین صفات مهمی محسوب می‌شوند. نتایج نشان دهنده این است که صفات ذکر شده در ارتباط بالایی با یکدیگر هستند. در صورت تایید تفرق QTL‌های شناسایی شده در سویه‌های تجاری بلدرچین، می‌توان از نتایج این پژوهش در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: بلدرچین ژاپنی، جایگاه صفات کمی، صفات رشد، طرح ناتنی پدری، نسبت کلیبر

مقدمه

هدف اصلی مطالعات جایگاه صفت کمی (QTL) پیدا کردن ژن‌ها- نشانگرهایی است که بتوان از آنها در برنامه‌های اصلاحی انتخاب به کمک ژن- نشانگر (MAS-GAS) استفاده نمود (۲۲).

آنالیز پدری روشی است که از اطلاعات خانواده‌های تنی برای تشخیص QTL استفاده می‌کند و برای نشانگرهای تنی و چندتایی توصیف شده است. در آنالیز پدری جفت‌های تنی برای هر جایگاه، صفر یک یا دو آلل یکسان اجدادی از والدینشان به اشتراک می‌گذارند. جفت‌های پدری که آلل‌های یکسان اجدادی را برای ژن کنترل کننده یک صفت به اشتراک می‌گذارند به طور محتمل فنوتیپ‌های یکسانی برای صفت مورد بررسی نسبت به جفت‌های پدری که آلل‌هایی را به اشتراک نمی‌گذارند خواهند داشت. بنابراین، تفاوت‌های میان فنوتیپ‌های جفت‌های پدری و تعداد آلل‌های به اشتراک گذاشته یکسان اجدادی در یک نشانگر، شناسایی QTL نزدیک آن نشانگر را فراهم می‌کند (۵).

در آنالیز ناتنی فرض می‌کنیم که والدین مشترک از گروه ناتنی پدری می‌باشند و علاقه مندیم از اطلاعات تفرق نرها به عنوان ساختار واقعی ناتنی پدری استفاده کنیم. در این روش، استفاده از اطلاعات نشانگری برای تشخیص محتمل‌ترین وضعیت از دو گامت نر بر اساس اطلاعات ناشی از هتروزیگوت‌ها می‌باشد. در این روش احتمال به ارث بردن هر

یک از دو گامت نر توسط هر نتاج در هر نقطه انتخابی، ژنوتیپ نتاج و اگر ژنوتیپ مادر در دسترس باشد در گروه پیوستگی بر اساس ژنوتیپ نر محاسبه می‌شود و این احتمالات اساس آنالیز بعدی را شکل می‌دهد (۱۲). در مطالعات درون خانواده‌ای اصولاً استفاده از طرح‌های ناتنی برای تشخیص تفرق آلل‌ها در والدین مشترک با توجه به فرضیات تک فرزندی در هر آمیزش و والدین غیر خویشاوند می‌باشد (۳۲).

ترکیب مدل‌های رشد با نقشه‌یابی QTL مفهوم جنبه‌های فیزیولوژیکی بر اساس ژنتیک را در صفات کمی تسهیل می‌کند. در حالی که گزارشات زیادی از QTL برای وزن و نرخ رشد قبل از بلوغ جنسی وجود دارد، نسبتاً اطلاع کمی از QTL برای وزن بدن در هنگام بلوغ وجود دارد و دلیل آن کشتار مرغ در این سنین است (۲۹).

برای بهبود سریع صفاتی که اندازه‌گیری آنها مشکل است شناسایی جایگاه‌های موثر بر این صفات و منشاء آلل‌هایی که به طور بالقوه بر این صفات موثرند در برنامه‌های انتخابی پیشنهاد شده است. استفاده از این اطلاعات در برنامه‌های اصلاح نژاد تجاری می‌تواند ورود آلل‌های مثبت به داخل لاین‌های تجاری یا انتخاب برای افزایش فراوانی آلل‌های مطلوب با انتخاب به کمک نشانگر را در پی داشته باشد. بنابراین شناسایی دقیق این جایگاه‌های ژنی می‌تواند مفید و از لحاظ اقتصادی سودآور باشد (۱۶).

۱- انتخاب به کمک نشانگر/ انتخاب به کمک ژن: به منظور اجتناب از مشکلات روش‌های به نژادی متداول، به جای انتخاب فنوتیپی، در صفات مهم اقتصادی که توسط ژن‌های اصلی کنترل می‌شوند انتخاب مستقیم و یا غیر مستقیم ژن انجام می‌شود. در این روش ژن مورد نظر بر اساس پیوستگی که با یک نشانگر ژنتیکی دارد شناسایی و انتخاب می‌شود

از آمیزش متقابل دو سویه سفید (تخم‌گذار) و وحشی (گوشتی) بلدرچین ژاپنی تعداد ۳۴ پرند نه نسل اول ایجاد شد. از آمیزش پرندگان نسل اول در قالب نه خانواده ناتنی پدری تعداد ۴۲۲ نتاج در طی پنج هج متوالی تولید شد. به‌منظور رکوردگیری فنوتیپی از پرندگان، رکوردهای صفات رشد، شامل وزن تولد و وزن یک تا پنج هفتگی بوسیله ترازویی با دقت ۰/۱ اندازه‌گیری شد. نسبت کلیبر^۱ مربوط به دوره‌های زمانی ۱ تا ۲ هفتگی، ۲ تا ۳ هفتگی، ۳ تا ۴ هفتگی، ۴ تا ۵ هفتگی و هج تا ۵ هفتگی با استفاده از رابطه ارائه شده توسط کلیبر (۱۹۴۷) و با تقسیم میانگین افزایش وزن روزانه در هر یک از دوره‌های زمانی ذکر شده در بالا به وزن متابولیکی پرند در انتهای همان دوره محاسبه شد که در این رابطه، ADG: میانگین افزایش وزن روزانه محاسبه شده برای یک بازه زمانی مشخص و $W^{0.75}$: وزن متابولیکی در انتهای بازه زمانی مورد نظر می‌باشد (۱۸).

$$\text{Kleiber Ratio} = \frac{\text{ADG}}{W^{0.75}}$$

استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ

به منظور استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ در هنگام کشتار از تمام پرندگان خون گیری شد. استخراج DNA از نمونه‌های خون کامل با استفاده از روش استخراج نمکی انجام گرفت (۲۵). ژنوتیپ پرندگان نه خانواده ناتنی برای چهار جفت نشانگر ریزماهوره روی کروموزوم شماره ۲ تعیین شد که اطلاعات آن در جدول ۱ نشان داده شد. نشانگرهای ریزماهوره با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) تکثیر یافتند. واکنش PCR در حجم کلی ۲۵ میکرولیتر شامل: ۲ میکرولیتر DNA، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR 10X، یک میکرولیتر $MgCl_2$ ، ۰/۵ میکرولیتر dNTP، یک میکرولیتر پرایمر رفت (۲۵/۰ میکرومول)، یک میکرولیتر پرایمر برگشت (۲۵/۰ میکرومول)، ۱۶/۵ میکرولیتر آب استریل و ۰/۳ میکرولیتر آنزیم تک پلیمرز (یک واحد) به ازای هر نمونه تحت شرایط زیر انجام شد: واسرشته‌سازی ابتدایی (۵ دقیقه با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد) و سپس ۳۰ چرخه شامل مراحل واسرشته‌سازی (۳۰ ثانیه با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد)، اتصال آغازگر به رشته الگو (۳۰ ثانیه با دمای ۷۲ بهینه هر آغازگر)، بسط توسط پلیمرز (۴۵ ثانیه با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد) و در نهایت مرحله بسط نهایی (۵ دقیقه با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد) و در جدول ۱ ارائه شده است. برای تفکیک باندهای مربوطه و مشخص شدن آلل‌ها، محصولات PCR روی ژل پلی‌اکریل آمید هشت درصد بارگذاری شد. برای نمایان کردن باندها از روش رنگ آمیزی نترات نقره استفاده گردید.

در این خصوص و به منظور نقشه‌یابی QTL در بلدرچین نیز مطالعاتی انجام شده و یا در حال انجام است. بلدرچین ژاپنی متعلق به راسته گالیفرم و خانواده فاسیانیده می‌باشد. این پرند از حدود سال ۱۹۱۰ میلادی به عنوان یک منبع غذایی ارزشمند برای مصرف انسان مورد توجه قرار گرفت (۳۶) دو گونه مرغ و بلدرچین در رده‌بندی جانوری متعلق به خانواده Galliformes با کاربوتیپ یکسان و ۳۹ جفت کروموزوم (۲n=۷۸) حدود ۳۵ میلیون سال پیش انشقاق یافته‌اند (۲۱). تاکنون مطالعات زیادی در این زمینه روی مرغ انجام شده است اما در زمینه بلدرچین مطالعات اندکی وجود دارد. امروزه بیش از ۶۰۰ جایگاه صفات کمی با استفاده از اسکن ژنومی در مرغ شناسایی شده است (۳۰). در یک تحقیق تکثیر ۳۱ نشانگر ریز ماهوره‌ای مرغ در ژنوم بلدرچین با ۶۵ درصد چند شکلی در آنها گزارش شد (۱۷). همچنین از بین ۴۸ نشانگر ریز ماهوره‌ای مرغ، تکثیر ۲۸ نشانگر را در بلدرچین گزارش کردند (۳۳).

با توجه به اینکه اطلاعات چندانی در خصوص مطالعات مکان‌یابی QTL روی کروموزوم ۲ بلدرچین وجود ندارد و از آنجا که دو گونه مرغ و بلدرچین در رده‌بندی جانوری متعلق به خانواده Galliformes با کاربوتیپ یکسان و ۳۹ جفت کروموزوم (۸ جفت کروموزوم متفاوت از لحاظ سیتوژنتیکی ۱-۸ (مارکروموزوم‌ها) به اضافه کروموزوم‌های جنسی Z و W و ۳۰ جفت میکروموزوم) هستند (۳۰) و حدود ۳۵ میلیون سال پیش انشقاق یافته‌اند، بنابراین از اطلاعات به دست آمده در خصوص مرغ می‌توان در مطالعه ژنومی روی بلدرچین استفاده کرد (۲۱). تاکنون مطالعات مختلفی به منظور برآورد پارامترهای ژنتیکی برای بهبود صفات مختلف در بلدرچین ژاپنی گزارش شده است (۳،۳۱،۳۲،۳۳،۳۴،۳۵). در این بین، تعدادی از پژوهش‌های انجام گرفته بر مطالعه پارامترهای ژنتیکی موثر بر برخی از صفات مرتبط با لاشه بلدرچین تمرکز داشته‌اند (۲۳،۲۷،۳۵). در بلدرچین نیز چندین مطالعه به منظور شناسایی QTL‌های مرتبط با صفات مختلف مانند وزن بدن در ۵ هفتگی روی کروموزوم ۲ (۲۶) و همچنین روی صفات رشد و لاشه بر روی کروموزوم‌های ۱، ۳ و ۵ انجام شده است (۱۴،۱۵،۱۸،۳۴). هدف از انجام این پژوهش شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با صفات رشد با استفاده از طرح ناتنی پدری روی کروموزوم شماره ۲ در بلدرچین ژاپنی است.

مواد و روش‌ها

جمعیت نقشه‌یابی و رکوردگیری فنوتیپی

جدول ۱- مشخصات کلی نشانگرهای ریزماهواره مورد مطالعه در این تحقیق (۱۹)

Table 1. Summary of general characteristics of the microsatellites markers used in this study

| نشانگر | موقعیت (cM) | توالی آغازگر | | دما |
|---------|-------------|-----------------------|----------------------|---------|
| | | برگشت (5'-3') | رفت (3'-5') | |
| GUJ0073 | ۰ | CAACTGCAAAGACAACATCC | GCTGCTATTCTGTTGATGTG | ۱۶۰-۱۳۴ |
| GUJ0069 | ۱۳ | CACCAACCACCTTCATCTTC | TTCAGGGTAGCAGTCATCTC | ۲۱۱-۲۰۱ |
| GUJ0084 | ۴۴ | TCCCGTCTCCCGATGTGTTT | ACTCCTCCTTTTCTCCCTC | ۱۶۵-۱۵۹ |
| GUJ0093 | ۶۰ | AGCCATAGAGGGGCTATTAAG | CTCTTGATTGTAACCTGGGC | ۲۳۱-۲۱۳ |

۱- موقعیت نشانگرها روی کروموزوم دو بلدرچین ژاپنی بر اساس نقشه پیوستگی، ۲- Base pair (جفت باز)، ۳- دمای بهینه اتصال آغازگر به رشته الگو

آنالیز آماری داده‌های فنوتیپی و آنالیز QTL

به منظور آنالیز داده‌های فنوتیپی و شناسایی جایگاه‌های مرتبط با صفات مورد نظر و مشخص کردن اثرات افزایشی از مدل آماری ۱ استفاده شد. داده‌ها به وسیله نرم‌افزار ASReml آنالیز شد.

$$Y_{ijk} = \mu + II_i + S_j + e_{ijk} \quad \text{مدل ۱:}$$

در مدل فوق، Y_{ijk} مشاهده مربوط به تأمین هج، I_i جنسیت و k آمین پرنده، μ میانگین جمعیت، H_i اثر ثابت هج نام دارای ۵ سطح، S_j اثر جنس زام دارای ۲ سطح (نر و ماده)، و e_{ijk} اثر تصادفی عوامل باقیمانده می‌باشد. برای آنالیز اثر QTL از مدل ۲ استفاده شد:

$$Y_{ijklm} = \mu + a_i x_{ij} + S_k + H_l + e_{ijklm}$$

در مدل فوق Y_{ijklm} فنوتیپ مشاهده شده افراد m (فرزندان نر i)، μ میانگین خانواده نر i ، اثر جایگزینی آلی QTL درون خانواده i و x احتمال این که حیوان m اولین آلی را از نر i به ارث برده باشد (انتقال به صورت تصادفی)، S_k و H_l در مدل بالا به ترتیب اثرات ثابت جنس (نر و ماده) و هج (پنج سطح) و e_{ijklm} اثر تصادفی باقیمانده است.

جدول ۲- خلاصه آمار توصیفی داده‌های فنوتیپی نتاج

Table 2. Summary of descriptive statistics for phenotypic data of offspring

| صفت | تعداد | میانگین (گرم) | حداقل (گرم) | حداکثر (گرم) | انحراف معیار باقی مانده | درصد ضریب تغییرات |
|---|-------|---------------|-------------|--------------|-------------------------|-------------------|
| وزن هج | ۴۲۲ | ۶/۸ | ۴/۸ | ۹/۵۰ | ۰/۶۹ | ۱۰/۱ |
| وزن یک هفتگی | ۴۱۹ | ۲۳/۱ | ۱۱/۳ | ۴۱/۴۰ | ۴/۷۶ | ۲۰/۶ |
| وزن دو هفتگی | ۴۲۰ | ۴۷/۶ | ۱۲/۰ | ۷۴/۸۰ | ۹/۳۰ | ۱۹/۸ |
| وزن سه هفتگی | ۴۲۰ | ۸۲/۰ | ۱۵/۹ | ۱۲۴/۱۰ | ۱۳/۵۵ | ۱۶/۶ |
| وزن چهار هفتگی | ۴۱۷ | ۱۲۰/۹ | ۶۳/۱ | ۱۶۸/۳۰ | ۱۷/۹۶ | ۱۵/۱ |
| وزن پنج هفتگی | ۳۵۳ | ۱۵۳/۱ | ۸۲/۵ | ۲۰۲/۷۰ | ۱۸/۱۵ | ۱۲/۰ |
| میانگین افزایش وزن روزانه هج تا یک هفتگی | ۴۱۹ | ۲/۳ | ۰/۵۹ | ۴/۸۶ | ۰/۶۵ | ۲۷/۹ |
| میانگین افزایش وزن روزانه یک تا دو هفتگی | ۴۱۸ | ۳/۵ | ۰/۷۹ | ۶/۲۱ | ۰/۷۹ | ۲۳/۱ |
| میانگین افزایش وزن روزانه دو تا سه هفتگی | ۴۱۸ | ۵/۰ | ۱/۳۳ | ۸/۰۳ | ۰/۹۱ | ۱۸/۵ |
| میانگین افزایش وزن روزانه سه تا چهار هفتگی | ۴۱۶ | ۵/۴ | ۲/۰۱ | ۱۱/۳۳ | ۱/۱۴ | ۲۷/۰ |
| میانگین افزایش وزن روزانه چهار تا پنج هفتگی | ۳۴۸ | ۴/۶ | ۱/۶۰ | ۷/۹۰ | ۱/۳۲ | ۲۸/۴ |
| میانگین افزایش وزن روزانه هج تا پنج هفتگی | ۳۵۳ | ۴/۲ | ۲/۱۷ | ۵/۵۹ | ۰/۵۱ | ۱۲/۴ |
| وزن قبل از کشتار | ۴۱۸ | ۱۵۲/۴ | ۸۳/۷ | ۱۹۹/۲۰ | ۱۷/۵۸ | ۱۱/۶ |
| نسبت کلیبر هج تا یک هفتگی | ۴۱۹ | ۰/۲ | ۰/۱۰ | ۰/۳۰ | ۰/۰۳ | ۱۳/۸ |
| نسبت کلیبر یک تا دو هفتگی | ۴۱۸ | ۰/۲ | ۰/۰۷ | ۰/۲۵ | ۰/۰۲ | ۱۲/۵ |
| نسبت کلیبر دو تا سه هفتگی | ۴۱۸ | ۰/۲ | ۰/۰۹ | ۰/۳۱ | ۰/۰۲ | ۱۲/۸ |
| نسبت کلیبر سه تا چهار هفتگی | ۴۱۶ | ۰/۱ | ۰/۰۶ | ۰/۴۲ | ۰/۰۲ | ۱۵/۳ |
| نسبت کلیبر چهار تا پنج هفتگی | ۳۴۸ | ۰/۹ | ۰/۰۴ | ۰/۴۶ | ۰/۰۳ | ۲۹/۵ |
| نسبت کلیبر هج تا پنج هفتگی | ۳۵۳ | ۰/۲ | ۰/۰۸ | ۰/۱۰ | ۰/۰۰۵ | ۵/۱ |

۱- تعداد مشاهدات برای هر صفت، ۲- میانگین تصحیح شده برای اثرات ثابت جنس و هج

جدول ۳- نتایج آنالیز توام خانواده‌ها

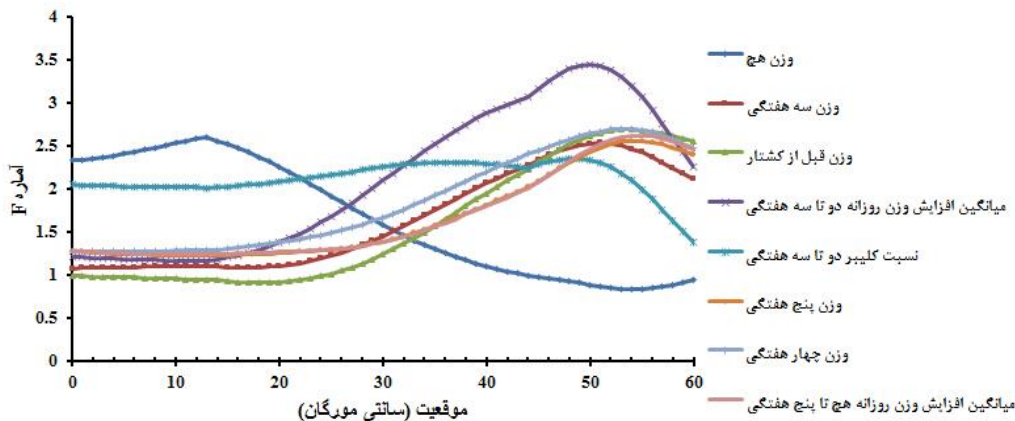
Table 3. Analysis results of families with each other

| نشانه‌گر مجاور | درصد واریانس QTL | نسبت درست‌نمایی | آماره F | موقعیت (cM) | اثر QTL | صفت |
|----------------|------------------|-----------------|---------|-------------|---------------|---|
| GUJ0073 | ۲/۴۰ | ۲۲/۸۸ | ۲/۵۹* | ۰ | -۱/۲۲(-/۲۹) | وزن هج |
| GUJ0084 | ۲/۲۸ | ۲۲/۳۳ | ۲/۵۳* | ۵۱ | -۱۹/۹۰(-۶/۳۱) | وزن سه هفتگی |
| GUJ0093 | ۴/۳۵ | ۲۳/۶۳ | ۲/۶۹* | ۵۳ | -۲۲/۰۳(-/۱۶) | وزن چهار هفتگی |
| GUJ0093 | ۲/۹۶ | ۲۲/۴۷ | ۲/۵۶* | ۵۴ | ۱۵/۰۵(۶/۲۴) | وزن پنج هفتگی |
| GUJ0093 | ۳/۶۲ | ۲۳/۶۷ | ۲/۶۹* | ۵۴ | ۱۶/۴۳(۵/۸۱) | وزن قبل از کشتار |
| GUJ0084 | ۵/۱۶ | ۳۰/۰۶ | ۳/۴۴** | ۵۰ | -۱/۴۴(-/۴۳) | میانگین افزایش وزن روزانه دو تا سه هفتگی |
| GUJ0093 | ۴/۱۱ | ۲۲/۹۹ | ۲/۶۲* | ۵۵ | ۰/۴۳(-/۱۷) | میانگین افزایش وزن روزانه هج تا پنج هفتگی |
| GUJ0084 | ۰/۰۱ | ۲۰/۸۱ | ۲/۳۵* | ۴۹ | -۱/۰۲(-/۰۱) | نسبت کلیبر دو تا سه هفتگی |

۱- موقعیت نشانگرها روی کروموزوم دو بلدرچین ژاپنی بر اساس نقشه پیوستگی

نقشه‌یابی QTL استفاده شد بنابراین اندازه اثر QTL برآورد شده در این طرح عبارت است از اثر جایگزینی یک آلل یعنی تفاوت بین نتاج دریافت‌کننده آلل‌های Q و q پدری و فرض بر این است که اثر سایر ژن‌ها به طور متوسط در بین دو گروه یکسان است. باید توجه داشت که در اینجا اثر جایگزینی آلی می‌تواند اثر غلبه را نیز شامل شود چون اثر افزایشی QTL بصورت متوسط از تفاوت دو ژنوتیپ هموزیگوت (QQ و qq) برآورد می‌شود. درصد واریانس QTL برآورد شده در آنالیز توام در محدوده ۰/۰۱ تا ۵/۱۶ قرار داشت که در جدول ۳ ارائه شده است.

صفات وزن سه هفتگی ($P < 0.05$)، میانگین افزایش وزن روزانه دو تا سه هفتگی ($P < 0.01$) و نسبت کلیبر دو تا سه هفتگی نزدیک نشانگر GUJ0084 و وزن چهار و پنج هفتگی ($P < 0.05$)، میانگین افزایش وزن روزانه هج تا پنج هفتگی ($P < 0.05$) و وزن قبل از کشتار ($P < 0.05$) نزدیک نشانگر GUJ0093 و وزن هج ($P < 0.05$) نزدیک نشانگر GUJ0073 به ترتیب در موقعیت‌های ۵۱، ۵۰، ۴۹، ۵۳، ۵۴، ۵۵، ۵۴ و صفر سانتی‌مورگان قرار داشتند. صفات میانگین افزایش وزن روزانه هج تا پنج هفتگی، وزن پنج هفتگی و وزن قبل از کشتار دارای اثر جایگزینی آلی مثبت بودند. با توجه به اینکه در این مطالعه از یک طرح ناتی پدری برای



شکل ۱- پروفیل آماره F حاصل از آنالیز توام خانواده‌ها، خط‌های افقی آستانه‌های معنی‌داری در سطح ۱ و ۵ درصد را نشان می‌دهد
Figure 1. Test statistic curves resulted from the analysis of families together. The horizontal line represent of significant thresholds in 1 and 5% level.

بود که در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت (۱۳،۲۰). در یک تحقیق ذکر شد که کاهش فاصله نشانگر اثر یکسان و مستمر روی پارامترهای آماری توان تخمین اثرات ژن، خطای استاندارد برای تخمین اثرات ژن و فاصله اطمینان مکان QTL ندارد. با توجه به توان و خطای استاندارد تخمین اثر ژن، فاصله کمتر از ۱۰ یا ۲۰ سانتی‌مورگان برای نشانگر بدون در نظر گرفتن اندازه جمعیت و اثر ژن کارایی زیادی ندارد. بنابراین برای دقت نقشه‌یابی، فاصله ۵۰، ۲۰ و ۱۰ سانتی‌مورگان یا حتی کمتر از این حد می‌تواند مفید باشد (۱۱).

در این تحقیق صفاتی که نزدیک نشانگرهای GUJ0093 و GUJ0084 قرار داشتند به رغم داشتن درصد نتاج تعیین ژنوتیپ شده کمتر به دلیل تعداد زیاد نرهای هتروزیگوت (به ترتیب ۷ و ۹) و آلل‌های آنها، بیشترین صفات معنی‌دار را داشتند. به احتمال زیاد صفات قرار گرفته نزدیک یک نشانگر خاص دارای اثر پلیوتروپی می‌باشند. لازم است ذکر شود که نشانگرهای مورد استفاده در این پژوهش با استفاده از پژوهش‌های پیشین انجام شده در خصوص شناسایی ریزماهورها در بلدرچین انتخاب شدند. با توجه به منابع منتشر شده در این خصوص، فقط چهار نشانگر ریزماهوره مناسب روی کروموزوم شماره دو قابل دسترسی

محاسبه شده بر اساس اطلاعات ژنوتیپی نشانگرها در فاصله کروموزومی بین نشانگرها است که بر اساس احتمالات ژنوتیپی و با توجه به ژنوتیپ نشانگرهای مجاور و فاصله ژنتیکی بین آنها برای هر یک سانتی‌مورگان از ناحیه کروموزومی مورد مطالعه محاسبه شده است. معمولاً میزان اطلاعات مفید در فاصله بین نشانگرها کمتر از نقطه‌ای است که نشانگر در آنجا قرار دارد (۳۶). کاهش میزان اطلاعات مفید می‌تواند ناشی از فقدان نشانگرهای دارای اطلاعات مفید در یک یا چند خانواده باشد که در این صورت ژنوتیپ احتمالی نشانگر با توجه به ژنوتیپ نشانگرهایی که در فاصله دورتری قرار دارند بدست آمده است (۲۴).

در این تحقیق نشانگرهای چند شکل حاوی اطلاعات بالا بودند. مقادیر PIC نشانگرهای مورد استفاده در این مطالعه در بخش‌های مختلف کروموزوم ۲ بلدرچین ژاپنی در جدول ۴ و شکل ۲ ارائه شده است.

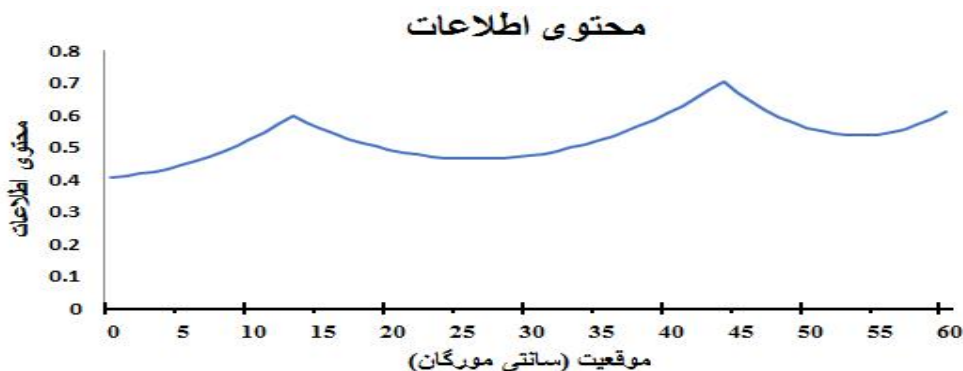
در مطالعه حاضر متوسط فاصله بین نشانگرها ۲۰ سانتی‌مورگان است که تقریباً نسبتاً مناسبی از مکان و اثرات هر کدام از جایگاه‌های صفات کمی مورد بررسی را فراهم نماید.

در این مطالعه میانگین میزان اطلاعات مفید نشانگرها (Information content) در نقاط مختلف کروموزوم شماره دو (در بین و موقعیت نشانگرها) ۰/۵۸ و در محدوده ۰/۴۱-۰/۷۱ بود. میزان اطلاعات مفید از صفر (فاقد اطلاعات مفید) تا یک (حداکثر اطلاعات مفید) متغیر است. مقدار PIC نشان‌دهنده اطلاعات مفید ارائه شده توسط نشانگر روی ژنوم است. بر طبق طبقه‌بندی Botstein و همکاران (۱۹۸۰)، $0.05 > PIC > 0.05$ نشان‌دهنده اطلاعات بالا، $0.05 > PIC > 0.25$ نشان‌دهنده اطلاعات قابل قبول و $PIC < 0.25$ نشان‌دهنده اطلاعات ناچیز می‌باشد (۱۸). میزان اطلاعات چند شکلی یا PIC نشانگر در واقع، میزان چند شکلی

جدول ۴- محتوای اطلاعاتی مفید از هر نشانگر

| نشانگر | موقعیت (cM) | فاصل (cM) | میزان اطلاعات نشانگرها | افراد تعیین ژنوتیپ شده (%) | | |
|---------|-------------|-----------|------------------------|----------------------------|---------|----------|
| | | | | نرها | ماده‌ها | تاج |
| GUJ0073 | ۰ | ۰ | ۰/۴۱ | ۹(۱۰۰٪) | ۰ | ۳۷۵(۸۸٪) |
| GUJ0069 | ۱۳ | ۱۳ | ۰/۶۰ | ۹(۱۰۰٪) | ۰ | ۳۷۶(۸۹٪) |
| GUJ0084 | ۴۴ | ۳۱ | ۰/۷۱ | ۹(۱۰۰٪) | ۰ | ۳۵۷(۸۴٪) |
| GUJ0093 | ۶۰ | ۱۶ | ۰/۶۱ | ۹(۱۰۰٪) | ۰ | ۳۱۶(۷۴٪) |

۱- موقعیت نشانگرها روی کروموزوم دو بلدرچین ژاپنی بر اساس نقشه پیوستگی



شکل ۲- محتوای اطلاعات مفید (محتوی مقادیر اطلاعات پلی مورفیسم) در سرتاسر کروموزوم ۲ بلدرچین ژاپنی برای اثر جایگزینی آلی
Figure 2. Useful information content (PIC Values) across chromosome 2 of Japanese quail for allelic substitution effect.

در خصوص صفات رشد نیز مطالعات قبلی نشان داده‌اند که رشد در اوایل و اواخر دوره زندگی توسط مکانیزم‌های ژنتیکی مختلفی کنترل می‌شود. تحقیقاتی که روی موش انجام شده است نشان می‌دهد به طور کلی دو مکانیسم فیزیولوژیکی در مراحل مختلف زندگی افزایش اندازه بدن موش را تحت تاثیر قرار می‌دهد. مطالعات ژنتیک کمی صفات رشد در موش نشان داد که تک ژن‌ها می‌توانند اثرات پلیوتروپیکی متضادی بر رشد در اوایل و اواخر دوره زندگی داشته باشند و آزمایش‌های اخیر نقشه‌برداری QTL نشان داده‌اند که QTL‌های مرتبط با صفات رشد در اوایل و اواخر زندگی موش‌ها در مکان‌های کروموزومی جداگانه و مشخص قرار گرفتند. همچنین ذکر کرده‌اند که وزن هیچ توسط دو جایگاه اپیستاتیک تحت تاثیر قرار می‌گیرد و بیان‌کننده

همچنین در این تحقیق برای نسبت کلیبر دو تا سه هفتگی QTL معنی‌دار یافت شد که نسبت کلیبر به عنوان معیار اندازه‌گیری غیرمستقیم بازده خوراک مصرفی می‌باشد. معیارهای انتخاب برای بررسی صفات رشد و افزایش گوشت تولیدی در حیوانات اهلی شامل اندازه‌گیری وزن بدن و یا ضریب تبدیل غذایی است (۲) و ضریب تبدیل غذایی به دلیل اینکه با بازده و سود اقتصادی حیوان رابطه مستقیم دارد می‌تواند معیار انتخاب بهتری باشد (۵). به دلیل اینکه اندازه‌گیری میزان خوراک مصرفی برخی از گونه‌های حیوانی به منظور محاسبه ضریب تبدیل غذایی هزینه بر و دشوار است از این رو کلیبر (۱۹۴۷) نسبت میانگین افزایش وزن روزانه (ADG) به وزن متابولیکی ($W^{0.75}$) را به عنوان معیار اندازه‌گیری غیرمستقیم بازده خوراک مصرفی پیشنهاد نمود.

گوشتی و تخم‌گذار انجام شده بود وزن بدن در یک روزگی روی کروموزوم ۲ در موقعیت ۶۴ سانتی‌مورگان، وزن بدن در ۳۵ روزگی در موقعیت ۲۶۲ سانتی‌مورگان با اثر افزایشی و ۲۲۶-۲۳۳ سانتی‌مورگان که در آنها طرح تلاقی لاین و ناتنی اجرا شده بود یافت شد (۱). همچنین در تحقیقی که روی جمعیت پلیموت راک سفید انجام شده بود وزن بدن در ۲۱ روزگی روی کروموزوم ۲ در موقعیت‌های ۶، ۷۷، ۱۰۲ و ۳۵۸ سانتی‌مورگان شناسایی شد (۴). در این پژوهش برای وزن سه هفتگی در موقعیت ۵۱ سانتی‌مورگان QTL شناسایی شد که به یافته‌های Atzmon و همکاران (۴) در مرغ نزدیک بود. همچنین این اولین گزارش از شناسایی QTL موثر بر نسبت کلبر و سایر صفات مرتبط با رشد روی کروموزوم ۲ بلدرچین ژاپنی است.

در این تحقیق، بررسی و موقعیت‌یابی جایگاه‌های موثر روی صفات مهم تجاری مرتبط با رشد با استفاده از طرح ناتنی پدری روی کروموزوم ۲ بلدرچین ژاپنی انجام و تعدادی از نواحی ژنومی مرتبط با رشد و صفات وابسته شناسایی شدند که اولین گزارش در این زمینه می‌باشد. به احتمال زیاد صفات قرار گرفته در نزدیک یک نشانگر خاص دارای اثر پلیوتربی می‌باشند که در اصلاح نژاد بلدرچین صفات مهمی محسوب می‌شوند. نتایج نشان‌دهنده این است که صفات ذکر شده در ارتباط بالایی با یکدیگر هستند. در صورت تایید تفرق QTL‌های شناسایی شده در سویه‌های تجاری بلدرچین، می‌توان از نتایج این پژوهش در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر استفاده کرد.

واریانس نسبتاً متوسط می‌باشد. بسیاری از جایگاه‌های موثر بر اواخر دوره رشد در تمام مراحل رشد دخیل هستند. مطالعات نشان داده است که QTL‌هایی که بر تمامی مراحل رشد تاثیر گذارند باعث افزایش تجمع بافت ماهیچه‌ای در پرندگان می‌شوند. این QTL‌ها می‌توانند رشد را توسط افزایش رشد سلول‌های عضلانی و یا افزایش تقسیم سلول‌های عضلانی در طول توسعه جنینی تحت تاثیر قرار دهند و پتانسیل بیشتر حیوانات برای رشد به دلیل افزایش تعداد بیشتری از سلول‌های عضلانی است. رشد قبل از ۴۶ روزگی توسط تعداد زیادی QTL تحت تاثیر قرار می‌گیرد. رشد اولیه با توسعه اندام‌های داخلی و رشد پرها مشخص می‌شود و این فرآیند رشد به احتمال زیاد توسط شبکه‌های پیچیده ژنتیکی تنظیم می‌شوند. نتایج نشان می‌دهد که مرغ قرمز جنگلی و لگهورن سفید از لحاظ رشد تفاوت زیادی با یکدیگر دارند که نشان‌دهنده فرایندهای فیزیولوژیکی متعدد تغییر یافته در طی انتخاب می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که افزایش اصلی وزن بدنی در اواسط دوره رشد صورت می‌گیرد (۷).

در یک تحقیق که روی جمعیت F2 از تلاقی لاین نر گوشتی و لاین لگهورن سفید انجام شده بود برای افزایش وزن روزانه روی کروموزوم ۲ در موقعیت ۳۰۲-۳۲۴ سانتی‌مورگان با اثر غلبه و افزایشی مثبت و در موقعیت ۳۶۰-۴۷۴ سانتی‌مورگان با اثر غلبه مثبت و افزایشی منفی QTL معنی‌دار یافت شد (۲۹). در این تحقیق نیز برای افزایش وزن روزانه (دو تا سه هفتگی) و (هج تا پنج هفتگی) به ترتیب در موقعیت‌های ۵۰ و ۵۵ سانتی‌مورگان اثر QTL منفی و مثبت یافت شد. در تحقیق دیگر که روی تلاقی

منابع

- Ambo, M., A.S. Moura, M.C. Ledur, L.F. Pinto, E.E. Baron, D.C. Ruy, K. Nones, R.L. Campos, C. Boschiero, D.W. Burt and L.L. Coutinho. 2009. Quantitative trait loci for performance traits in a broiler x layer cross. *Animal genetics*, 40: 200-8.
- Asadi Khoshoei, E., S.R. Miraei Ashtiani, A. Torkamanzehi, S.H. Rahimi and R. Vaez Torshizi. 1999. The evaluation of kleiber ratio as a selection criterion for ram selection in Lori-Bakhtiari sheep breed. *Iranian Journal of Agriculture Science*, 30: 649-655 (In Persian).
- Ayatollahi, A. 2012. Divergent selection for four-week body weight in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*): response to selection and realized heritability. *Journal of Livestock Science and Technologies*, 1(1): 61-64.
- Atzmon, G., S. Blum, M. Feldman, A. Cahaner, U. Lavi and J. Hillel. 2008. QTLs detected in a multigenerational resource chicken population. *The Journal of Heredity*, 99: 528-38.
- Badnhorst, M.A. 1990. The kleiber ratio as a possible selection for sire selection. *The Shepherd*, 35: 18-19.
- Berg, L., M.M. Scholtz and G.J. Erasmus. 1992. Identification and assessment of the best animals: The Kleiber Ratio as a selection criteria for beef cattle. *Animal Breeding and Genetics*, 10: 338-340.
- Carlborg, O., S. Kerje, K. Schutz, L. Jacobsson, P. Jensen and L. Andersson. 2003. A global search reveals epistatic interaction between QTL for early growth in the chicken. *Genome research*, 13: 413-21.
- Charati, H. and A.K. Esmailzadeh. 2013. Carcass traits and physical characteristics of eggs in Japanese quail as affected by genotype, sex and hatch. *Journal of Livestock Science and Technologies*, 2(1): 59-64.
- Chatziplis, D.G. and C.S. Haley. 2000. Selective genotyping for QTL detection using sib pair analysis in outbred populations with hierarchical structures. *Genetics Selection Evolution*, 32: 547-560.
- Churchill, G.A. and R.W. Doerge. 1994. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics*, 138: 963-971.
- Darvasi, A., A. Weinreb, V. Minke, J.I. Wellert and M. Soller. 1993. Detecting Marker-QTL Linkage and Estimating QTL Gene Effect and Map Location Using a Saturated Genetic Map. *Genetics*, 134: 943-951.
- De Koning, D.J., P.M. Visscher, S.A. Knott and C.S. Haley. 1998. A strategy for QTL detection in half-sib populations. *Animal Science*, 67: 257-268.
- Esmailzadeh, A.K. and M.R. Mohammadabadi. 2009. The molecular research of bovine genome for mapping loci associated with carcass weight, *Agricultural Biotechnology*, 1: 130-117 (In Persian).

14. Esmailzadeh, A.K., A. Baghizadeh and M. Ahmadzadeh. 2012. Genetic mapping of quantitative trait loci affecting bodyweight on chromosome 1 in a commercial strain of Japanese quail. *Animal Production Science*, 52: 64-68.
15. Haley, C.S., S.A. Knott and J.M. Elsen. 1994. Mapping quantitative trait loci in crosses between outbred lines using least squares. *Genetics*, 136: 1195-1207.
16. Ikeobi, C.O.N., J.A. Woolliams, D.R. Morrice, A. Law, D. Windsor, D.W. Burt and P.M. Hocking. 2002. Quantitative trait loci affecting fatness in the chicken. *Animal Genetics*, 33: 428-435.
17. Inoue-Murayama, M., B.B. Kayang, K. Kimura, H. Ide, A. Nomura, H. Takahashi, Y. Nagamine, T. Takeda, H. Hanada, K. Tatsuda, M. Tsudzuki, Y. Matsuda, M. Mizutani, Y. Murayama and S. Ito. 2001. Chicken microsatellite primers are not efficient markers for Japanese quail. *Animal Genetics*, 32: 7-11.
18. Jabbari, Ori R., A.K. Esmailzadeh, H. Charati, M.R. Mohammadabadi and S.S. Sohrabi. 2014. Identification of QTL for live weight and growth rate using DNA markers on chromosome 3 in an F2 population of Japanese quail. *Molecular Biology Reports*, 41: 1049-1057.
19. Kayang, B., M. Inoue-Murayama, T. Hoshi, K. Matsuo, H. Takahashi, M. Minezawa, M. Mizutani and S. Ito. 2002. Microsatellite loci in Japanese quail and cross-species amplification in chicken and guinea fowl. *Genetics Selection Evolution*, 34: 233-253.
20. Kayang, B., A. Vignal, M. Inoue-Murayama, M. Miwa, J. Monvoisin, S. Ito and F. Minvielle. 2004. A first-generation microsatellite linkage map of the Japanese quail. *Animal Genetics*, 35: 195-200.
21. Kayang, B.B., V. Fillon, M. Inoue-Murayama, M. Miwa, S. Leroux, K. Fève, J.L. Monvoisin, F. Pitel, M. Vignoles, C. Mouilhayrat, C. Beaumont, S.I. Ito, F. Minvielle and A. Vignal. 2006. Integrated maps in quail (*Coturnix japonica*) confirm the high degree of synteny conservation with chicken (*Gallus gallus*) despite 35 million years of divergence. *BMC Genomics*, 7: 101.
22. Khatkar, M. S., P.C. Thomson, I. Tammen and H.W. Raadsma. 2004. Quantitative trait loci mapping in dairy cattle: review and meta-analysis. *Genetics Selection Evolution*, 36: 163-190.
23. Khaldari, M., A. Pakdel, H. Mehrabani Yegane, A. Nejati Javaremi and P. Berg. 2010. Response to selection and genetic parameters of body and carcass weights in Japanese quail selected for 4 week body weight. *Poultry Science*, 89: 1834-1841.
24. Knott, S.A., L. Marklund, C.S. Haley, K. Andersson, W. Davies, H. Ellegren, M. Fredholm, I. Hansson, B. Hoyheim, K. Lundstrom, M. Moller and L. Andersson. 1998. Multiple markers mapping of quantitative trait loci in a cross between outbred wild boar and large white pigs. *Genetics*, 149: 1069-1080.
25. Miller, S.A., D.D. Dykes and H.F. Polesky. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, 16: 12-15.
26. Minvielle, F., B. Kayang, M. Inoue-Murayama, M. Miwa, A. Vignal, D. Gourichon, A. Neau, J. Monvoisin and Ito S. 2005. Microsatellite mapping of QTL affecting growth, feed consumption, egg production, tonic immobility and body temperature of Japanese quail. *BMC Genomics*, 6: 87.
27. Moradian, H., A.K. Esmailzadeh, S.S. Sohrabi, E. Nasirifar, N. Askari, M.R. Mohammadabadi and A. Baghizadeh. 2014b. Genetic analysis of an F2 intercross between two strains of Japanese quail provided evidence for quantitative trait loci affecting carcass composition and internal organs. *Molecular Biology Reports*, 41: 4455-4462.
28. Navarro, P., P.M. Visscher, S.A. Knott, D.W. Burt, P.M. Hocking and C.S. Haley. 2005. Mapping of quantitative trait loci affecting organ weights and blood variables in a broiler layer cross. *British Poultry Science*, 46(4): 430-42.
29. Podisi, B. K., S.A. Knott, D.W. Burt and P.M. Hocking. 2013. Comparative analysis of quantitative trait loci for body weight, growth rate and growth curve parameters from 3 to 72 weeks of age in female chickens of a broiler-layer cross. *BMC Genetics*, 14: 22.
30. Rao, Y., X.U. Shen, M.X. Xia, C. Luo, Q. Nie, D. Zhang and X. Zhang. 2007. SNP mapping of QTL affecting growth and fatness on chicken GGA1. *Genetics Selection Evolution*, 39: 569-582.
31. Rezvannejad E. 2014. Productive, reproductive performance and biochemical parameters of short-term divergently selected Japanese quail lines and their reciprocal crosses. *Journal of Livestock Science and Technologies*, 1(2): 35-42.
32. Rowe, S.J., D. Windsor, C.S. Haley, D.W. Burt, P.M. Hocking, H. Griffin, J. Vincent and D.J. De Koning. 2006. QTL analysis of body weight and conformation score in commercial broiler chickens using variance component and half-sib analyses. *Animal Genetics*, 37: 269-272.
33. Shibusawa, M., S. Minai, C. Nishida-Umehara, T. Suzuki, T. Mano, K. Amada, T. Namikawa and Matsuda Y. 2001. A comparative cytogenetic study of chromosome homology between chicken and Japanese quail. *Cytogenetics and Cell Genetics* 95: 103-109.
34. Sohrabi, S.S., A.K. Esmailzadeh, A. Baghizadeh, H. Moradian, M.R. Mohammadabadi, N. Askari and E. Nasirifar. 2012. Quantitative trait loci underlying hatching weight and growth traits in an F2 intercross between two strains of Japanese quail. *Animal Production Science*, 52: 1012-1018.
35. Vali, N., M. A. Edriss and H. R. Rahmani. 2005. Genetic parameters of body and some carcass traits in two quail strains. *International Journal of Poultry Science*, 4(5): 296-300.
36. Wakasugi, N. 1984. Japanese quail. In: *Evolution of domesticated animals* (Ed. by I.L. Mason). Longman, London, 319-21.
37. Weller, J.I. 2001. *Quantitative trait loci analysis in animals*. London: CABI Publishing. 287 pp.

Study of Quantitative Trait Loci Affecting Growth Traits in Japanese Quail using a Paternal Half-Sib Design

Ehsan Nasirifar¹, Ali Esmailzadeh Koshkoiyeh², Hasan Moradian³, Saeed Sohrabi⁴ and Mehdi Talebi⁵

1- Graduated PhD Student, Department of Animal Science, Islamic Azad University, Science and Research Branch, (Corresponding author: Ehsan.Nasirifar@gmail.com)

2, 3 and 4- Professor, PhD Student and Graduated PhD Student, Department of Animal Science, Shahid Bahonar University of Kerman

5- PhD Student, Department of Animal Science, Islamic Azad University, Science and Research Branch

Received: 31 August 2014

Accepted: 24 February 2016

Abstract

A paternal half-sib design was implemented to identify QTL on chromosome 2 affecting growth traits in Japanese quail. Using a reciprocal cross between two strains, white (laying) and wild (broiler) of Japanese quail, 34 birds were obtained in F₁ generation and 422 offspring related to 9 paternal half-sib families in 5 consecutive hatches were generated. Progeny from 9 paternal half-sib families were measured for growth traits, and genotyped for four microsatellite markers on chromosome 2. QTL analysis was performed with least squares interval mapping method based on regression in across and individual paternal half-sib families. In addition to the QTL responsible for Kleiber ratio, other QTLs related to growth in positions 13, 51, 53, 54 and 55 cM, (P<0.05) and 50 cM, (P<0.01) were identified. Percentage of trait phenotypic variation explained by QTL ranged from 0.01 to 5.16 and the average of useful polymorphism information content of the markers in different parts of the chromosome 2 (both in-between and at the markers) was 0.58 and ranging from 0.41 to 0.71. Most probably the traits located near a specific marker have polytrophic effects which are important traits in breeding quail. The results showed that the mentioned traits are highly related to each other. If approved by segregating QTL detected in commercial strains of quail, the results of this study can be used in marker-assisted selection programs.

Keywords: Growth traits, Japanese quail, Paternal half-sib designs, Quantitative trait loci, Kleiber ratio