



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

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

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

۲- استاد، دانشجوی دکتری و دانش آموخته دکتری گروه علوم دامی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

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

۴- تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۹/۰۵

۵- تاریخ دریافت: 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 مقابله دو سویه سفید (تخم گذار) و وحشی (گوشته) 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 توالی تولید شد. رکورددگیری فنتیبی از صفات رشد پرنده‌گان انجام شد و تمامی پرنده‌گان مربوط به ۹ خانواده ناتنی پدری برای ۴ نشانگر ریزمه‌واره موجود روی کروموزوم ۲ تعیین ژنتیپ شدند. آنالیز QTL به روش مکان‌بایی درون فاصله‌ای مبتنی بر رگرسیون به صورت طرح ناتنی پدری انجام گردید. در این آنالیز علاوه بر QTL موثر بر نسبت کلیبر، های دیگر مرتبط با رشد در موقعیت‌های ۱، ۲، ۳، ۵۱، ۵۳، ۵۴، ۵۵ سانتی‌مترگان ($P < 0.05$) و ۵۰ سانتی‌مترگان ($P < 0.1$) شناسایی شدند. درصد واریانس QTL در محدوده ۰/۰۰ تا ۰/۱۶ و میانگین میزان اطلاعات مفید نشانگرها در نقاط مختلف کروموزوم شماره دو (در بین و موقعیت نشانگرها) ۰/۵۸ و در محدوده ۰/۴۱-۰/۷۱ قرار داشت. به احتمال زیاد صفات قرار گرفته در نزدیک یک نشانگر خاص دارای اثر پلیوتربی می‌باشد 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

یک از دو گامت نر توسط هر نتاج در هر نقطه انتخابی، ژنتیپ نتاج و اگر ژنتیپ مادر در دسترس باشد در گروه پیوستگی بر اساس ژنتیپ نر محاسبه می‌شود و این احتمالات اساس آنالیز بعدی را شکل می‌دهد (۲۲). در اطلاعات 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 (۳۳).

ترکیب مدل‌های رشد با نقشه‌بایی 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 سین 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 آلل‌هایی مشیت 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).

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^۱ (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 آل 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 فنتیپ‌های یکسانی برای صفت مورد بررسی نسبت به جفت-های پدری که آلل‌های را به اشتراک نمی‌گذارند خواهند داشت. بنابراین، تفاوت‌های میان فنتیپ‌های 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 محتمل ترین وضعیت از دو گامت نر بر اساس اطلاعات ناشی از هتروزیگوت‌ها می‌باشد. در این روش احتمال به ارت بردن هر

۱- انتخاب به کمک نشانگر/ انتخاب به کمک ژن: به منظور انتخاب از مشکلات روش‌های به نژادی متداول، به جای انتخاب فنتیپی، در صفات مهم اقتصادی که توسط ژن‌های اصلی کنترل می‌شوند انتخاب مستقیم 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 (گوشتشی) بلدرچین ژاپنی تعداد ۳۴ پرنده نسل اول ایجاد شد. از آمیزش پرنده‌گان نسل اول در قالب نه خانواده ناتنی پدری تعداد ۴۲۲ نتایج در طی پنج هج متوالی تولید شد. به منظور رکورددگیری فنتویپی از پرنده‌گان، رکوردهای صفات رشد، شامل وزن تولد و وزن یک تا پنج هفتگی بوسیله ترازویی با دقیق ۰/۱ اندازه گیری 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 تخصیص میانگین افزایش وزن روزانه در هر یک از دوره‌های زمانی ذکر شده در بالا به وزن متابولیکی پرنده 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).

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

استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ

به منظور استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ در هنگام کشتار از تمام پرنده‌گان خون گیری شد. استخراج DNA از نمونه‌های خون کامل با استفاده از روش استخراج نمکی انجام گرفت (۲۵). ژنوتیپ پرنده‌گان نه خانواده ناتنی برای چهار جفت نشانگر ریزماهواره روی کروموزوم شماره ۲ تعیین شد که اطلاعات آن در جدول ۱ نشان داده شد. نشانگرهای ریزماهواره با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) تکثیر یافتند. واکنش PCR در حجم کلی ۲۵ میکرولیتر شامل: ۲ میکرولیتر DNA، ۰/۵ میکرولیتر بافر PCR 10X، ۰/۵ میکرولیتر MgCl₂، ۰/۵ میکرولیتر dNTP، یک میکرولیتر پرایمیر برگشت (۰/۵ میکرومول)، یک میکرولیتر آب استریل و ۰/۳ میکرولیتر آنزیم تک پلیمراز (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 (۰/۳۰ ثانیه با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد)، اتصال آغازگر به رشته الکو (۰/۳۰ ثانیه با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد)، بسط توسط پلیمراز (۰/۴۵ ثانیه با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد) و در نهایت مرحله بسط نهایی (۰/۵ 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 پلی اکریل آمید هشت درصد بارگذاری شد. برای نمایان کردن باندها از روش رنگ آمیزی نیترات 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 پرنده 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 کاربوبوتیپ 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 ماهواره‌ای مرغ در ژنوم بلدرچین با درصد چند شکلی در آنها گزارش شد (۱۷). همچنین از بین ۴۸ نشانگر ریز ماهواره‌ای 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 کاربوبوتیپ یکسان و ۳۹ جفت کروموزوم (۸) جفت کروموزوم متفاوت از لحاظ سیتوزنیکی ۸-۱ (ماکروکروموزوم‌ها) به اضافه کروموزوم‌های جنسی Z و W و ۳۰ جفت میکروکروموزوم (۳۰) هستند (۲۰) 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 مختلف در برآورد پارامترهای ژنتیکی برای بهبود صفات مختلف در بلدرچین ژاپنی گزارش شده است (۳۵،۳۱،۲۸،۲۷،۳،۳۰،۱۴). در این بین، تعدادی از پژوهش‌های انجام گرفته بر مطالعه پارامترهای ژنتیکی موثر بر برخی از صفات مرتبط با لاشه بلدرچین تمرکز داشته‌اند (۳۵،۲۷،۲۳). 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 (۳۴،۱۸،۱۵،۱۴). 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 رکورددگیری فنتویپی

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)	برگشت (5'-3')	توالی آغازگر (5'-3')	رفت (5'-3')	دما (bp)	دهمانه اندازه الی (bp)
GUJ0073	.	CAACTGCAAAGACAACATCC	GCTGCTATTCTGTGTG	۱۴۴-۱۶۰	۵۲
GUJ0069	۱۳	CACCAACCACCTTCATCTTC	TTCAGGGTAGCAGTCATCTC	۲۰-۲۱	۵۴
GUJ0084	۴۴	TCCCGTCTCCCAGATGTGTT	ACTCCTCCCTTTCTCCCTC	۱۵۹-۱۶۵	۵۵
GUJ0093	۶۰	AGCCATAGAGGGCTATTAAG	CTCTTGATTGTAACGGGC	۲۱۱-۲۳۱	۶۰

۱- موقعیت نشانگرها روی کروموزوم دو بلدرچین زاپنی بر اساس نقشه پیوستگی، ۲- دمای بهینه اتصال آغازگر به رشته الگو

برای آنالیز QTL از روش نقشه‌بایی درون فاصله‌ای مبتنی بر رگرسیون استفاده شد (۱۵). بر اساس مدل‌های آماری فوق، یک QTL در فواصل یک سانتی مورگان در طول کروموزوم ۲ برازش گردید. نقطه‌ای که دارای حداکثر آماره F بود به عنوان محتمل ترین موقعیت QTL در نظر گرفته شد. تعیین آستانه‌های معنی دار کروموزومی در سطح ۵٪ و ۱٪ با استفاده از روش تبدیل (۱۰) محاسبه شد. مقادیر بدست آمده از آنالیز تعداد ده هزار سری داده برای ایجاد یک توزیع تجربی از آماره آزمون تحت فرض صفر مبنی بر عدم وجود QTL، رتبه‌بندی شدند. آنالیزها با استفاده از نرم‌افزار آنلاین GridQTL انجام شد.

نتایج و بحث

آمار توصیفی داده‌های فنوتیپی پرندگان برای ۱۹ صفت موردنظر در این مطالعه شامل تعداد رکوردها، میانگین‌ها، انحراف معیار باقی‌مانده، محدوده و درصد ضریب تغییرات در جدول ۲ ارائه شده است. موقعیت‌های احتمالی، مقادیر آماره F، نسبت درستنمایی، درصد واریانس QTL، نزدیکترین نشانگر به موقعیت موردنظر و اثرات آلتی QTL بررسی شده با استفاده از آنالیز QTL برای صفات رشد و نسبت کلیبر در جدول ۳ و شکل ۱ آورده شده است.

آنالیز آماری داده‌های فنوتیپی و آنالیز QTL

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

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

در مدل فوق، Y_{ijk} مشاهده مربوط به امین هج، زمین جنسیت و k امین پرنده، μ میانگین جمعیت، H_i اثر ثابت هج آم دارای ۵ سطح، S_j اثر جنس زم دارای ۲ سطح (نر و ماده)، e_{ijk} اثر تصادفی عوامل باقیمانده می‌باشد.

برای آنالیز اثر QTL از مدل ۲ استفاده شد:

$$\text{مدل ۲: } Y_{ijklm} = \mu + a_i x_{ij} + S_k + H_l + e_{ijklm}$$

در مدل فوق y_{ijk} فنوتیپ مشاهده شده افراد m (فرزندان نر i ، میانگین خانواده نر j ، اثر جایگزینی آلتی QTL درون خانواده i و x احتمال این که حیوان m اولين آلل را از نر i به ارث برد 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 ^۱ (گرم)	حداکثر (گرم)	حداقل (گرم)	انحراف باقی مانده (گرم)	درصد ضریب تغییرات
وزن هج	۴۲۲	۶۱/۸	۶۱/۸	۴۱/۸	۹۵/۰	۱۰/۱
وزن یک هفتگی	۴۱۹	۲۳۱	۲۳۱	۱۱/۳	۴۱/۴۰	۲۰/۶
وزن دو هفتگی	۴۲۰	۴۷/۶	۴۷/۶	۱۲/۰	۷۴/۸۰	۱۹/۸
وزن سه هفتگی	۴۲۰	۸۳/۰	۸۳/۰	۱۰/۹	۱۲/۰	۱۶/۶
وزن چهار هفتگی	۴۱۷	۱۰/۹	۱۰/۹	۶۳/۱	۱۲/۰	۱۵/۱
وزن پنج هفتگی	۳۵۷	۱۰۳/۱	۱۰۳/۱	۸۲/۵	۲۰/۷۰	۱۲/۰
میانگین افزایش وزن روزانه هج تا یک هفتگی	۴۱۹	۲/۳	۲/۳	۰/۵۹	۴۱/۸۶	۲۷/۹
میانگین افزایش وزن روزانه هج تا دو هفتگی	۴۱۸	۳/۵	۳/۵	۰/۷۹	۶/۲۱	۲۳/۱
میانگین افزایش وزن روزانه دو تا سه هفتگی	۴۱۸	۵/۰	۵/۰	۰/۷۹	۸/۰۳	۱۷/۸
میانگین افزایش وزن روزانه سه تا چهار هفتگی	۴۱۶	۵/۴	۵/۴	۲/۰۱	۱۱/۳۳	۲۱/۰
میانگین افزایش وزن روزانه چهار تا پنج هفتگی	۳۳۸	۴/۶	۴/۶	۱/۶۰	۷/۹	۲۸/۴
میانگین افزایش وزن روزانه هج تا پنج هفتگی	۳۵۳	۴/۲	۴/۲	۲/۱۷	۵/۵۹	۱۲/۴
وزن قل از کشtar	۴۱۸	۱۵۲/۴	۱۵۲/۴	۸۳/۷	۱۹۹/۲۰	۱۱/۶
نسبت کلیبر هج تا یک هفتگی	۴۱۹	۰/۲	۰/۲	۰/۱۰	۰/۳۰	۱۳/۸
نسبت کلیبر یک تا دو هفتگی	۴۱۸	۰/۲	۰/۲	۰/۰۷	۰/۲۵	۱۲/۵
نسبت کلیبر دو تا سه هفتگی	۴۱۸	۰/۲	۰/۲	۰/۰۷	۰/۰۷	۱۲/۸
نسبت کلیبر سه تا چهار هفتگی	۴۱۶	۰/۱	۰/۱	۰/۰۶	۰/۴۲	۱۵/۳
نسبت کلیبر چهار تا پنج هفتگی	۳۴۸	۰/۹	۰/۹	۰/۰۴	۰/۴۶	۲۹/۵
نسبت کلیبر هج تا پنج هفتگی	۳۵۷	۰/۲	۰/۲	۰/۰۸	۰/۰۵	۵/۱

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

جدول ۳- نتایج آنالیز توام خانواده‌ها

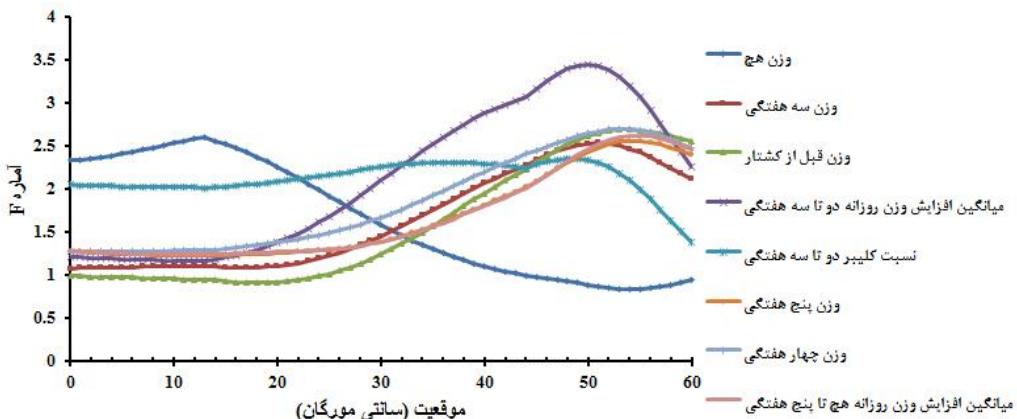
Table 3. Analysis results of families with each other

صفت	اثر QTL	موقعیت (cM)	F آماره	نسبت درستمالی	درصد واریانس QTL	نشانگر مجاور
وزن هج	-۱/۲۲(-/۲۹)	.	۲/۵۹*	۲۲/۸۸	۷/۲۰	GUJ0073
وزن سه هفتگی	-۱۹/۹۰(۶/۳۱)	۵۱	۲/۵۳*	۲۲/۳۳	۷/۲۸	GUJ0084
وزن چهار هفتگی	-۲۲/-۳/۱۶	۵۳	۲/۵۹*	۲۳/۶۳	۴/۱۵	GUJ0093
وزن پنج هفتگی	۱۵/۰۵(۶/۲۴)	۵۴	۲/۵۶*	۲۲/۴۷	۲/۹۶	GUJ0093
وزن قبل از کشتار	۱۶/۴۳(۵/۸۱)	۵۶	۲/۵۹*	۲۳/۶۷	۷/۱۲	GUJ0093
میانگین افزایش وزن روزانه دو تا سه هفتگی	-۱/۴۴(-/۴۳)	۵۰	۲/۴۴**	۳۰/۰۶	۵/۱۶	GUJ0084
میانگین افزایش وزن روزانه هج تا پنج هفتگی	-۰/۴۳(-/۱۷)	۵۵	۲/۶۷*	۲۲/۹۹	۴/۱۱	GUJ0093
نسبت کلیبر دو تا سه هفتگی	-۰/۰۲(-/۱۱)	۴۹	۲/۳۵*	۲۰/۸۱	۰/۰۱	GUJ0084

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 آل یعنی تفاوت بین نتایج دریافت‌کننده آلل‌های Q و 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 آللی QTL می‌تواند اثر غلبه را نیز شامل شود چون اثر افزایشی QTL بصورت متوسط از تفاوت دو ژنتیپ 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 دارای اثر جایگزینی آللی نزدیک نشانگر GUJ0093 و وزن هج ($P<0/05$) نزدیک نشانگر GUJ0073 به ترتیب در موقعیت‌های ۵۱، ۴۹، ۵۰، ۵۱، ۵۳، 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 آللی مشتبه بودند. با توجه به اینکه در این مطالعه از یک طرح ناتنی پدری برای



شکل ۱- پروفیل آماره F حاصل از آنالیز توام خانواده‌ها، خطوط ای 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 تواف 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 نقسیه‌یابی، فاصله ۵۰، ۲۰ و ۱۰ سانتی‌مورگان یا حتی کمتر از این حد می‌تواند مفید باشد (۱۱).

در این تحقیق صفاتی که نزدیک نشانگرهاي GUJ0093 و GUJ0084 قرار داشتند به رغم داشتن درصد نتایج تعیین ژنتیپ شده کمتر به دلیل تعداد زیاد نژادهای 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 بیلوتریپ می‌باشند. لازم است ذکر شود که نشانگرهاي مورد استفاده در این پژوهش با استفاده از پژوهش‌های پیشین انجام شده در خصوص شناسایی ریزماهواره‌ها در بلدرچین انتخاب شدند. با توجه به منابع منتشر شده در این خصوص، فقط چهار نشانگر ریزماهواره مناسب روی کروموزوم شماره دو قابل دسترسی

محاسبه شده بر اساس اطلاعات ژنتیکی نشانگرها در فاصله کروموزومی بین نشانگرها است که بر اساس احتمالات ژنتیکی و با توجه به ژنتیک نشانگرهای مجاور و فاصله ژنتیکی بین آنها برای هر یک سانتی مورگان از ناحیه کروموزومی مورد مطالعه محاسبه شده است. عموماً 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 ژنتیک احتمالی نشانگر با توجه به ژنتیک نشانگرهایی که در فاصله دورتری قرار دارد بدست آمده است (۲۴).

در این تحقیق نشانگرهای چند شکل حاوی اطلاعات بالا بودند. مقادیر PIC نشانگرهای مورد استفاده در این مطالعه در بخش های مختلف کروموزوم ۲ بلرچین ژانپی در جدول ۴ و شکل ۲ آراهه شده است.

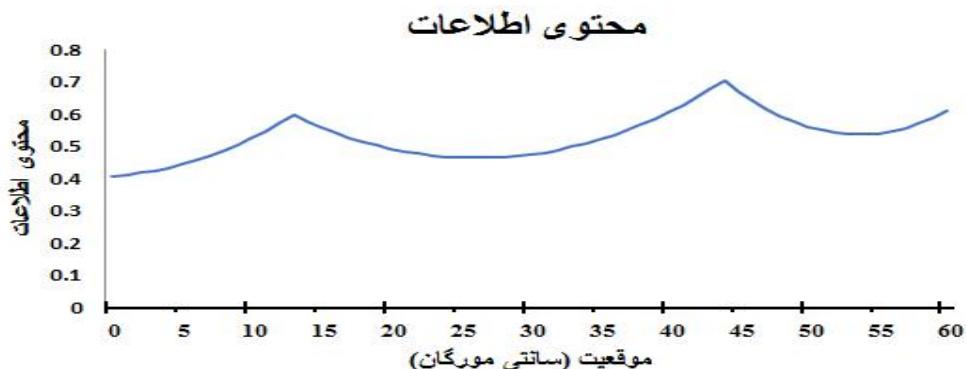
در مطالعه حاضر متوسط فاصله بین نشانگرهای سانتی‌مترگان است که تقریب نسبتاً مناسبی از مکان و اثرات هر کدام از جایگاه‌های صفات کمی مورد بررسی را فراهم نماید.

در این مطالعه میانگین میزان اطلاعات مفید نشانگرها (Information content) در نقاط مختلف کروموزوم شماره دو (در بین و موقعیت نشانگرها) /۵۸٪ و در محدوده ۴۱-۷۱٪ بود. میزان اطلاعات مفید از صفر (فاقد اطلاعات مفید) تا یک (حداکثر اطلاعات مفید) متغیر است. مقدار PIC نشان دهنده اطلاعات مفید ارائه شده توسط نشانگر روی ژنوم است. بر طبق طبقه بندی Botstein و همکاران (۱۹۸۰)،^۱ $PIC < 0.05$ نشان دهنده اطلاعات بالا، $0.05 < PIC < 0.25$ نشان دهنده اطلاعات قابل قبول و $PIC > 0.25$ نشان دهنده اطلاعات ناقیز می باشد.^(۱۸) میزان اطلاعات چند شکل، یا PIC^* نشانگر در واقع، میزان چند شکل،

جدول ۴- محتوای اطلاعاتی مفید از هر نشانگر

Table 4. Useful information content of each marker							
نشارنگر	موقعیت (cM)	فواصل (cM)	میزان اطلاعات شانگرها	افراد تعین ژنتیک شده (%)	نرها	نرها	نرها
آل‌ها				نرها	ماده‌ها	نرها	نرها
۳	۷	۳۷۵(۸۸%)	۰	۹(۱۰۰%)	۰	۰/۴۱	۰
۲	۲	۳۶۷(۸۷%)	۰	۹(۱۰۰%)	۰	۰/۶۰	۱۳
۲	۷	۳۷۵(۸۷%)	۰	۹(۱۰۰%)	۰	۰/۷۱	۴۴
۳	۹	۳۱۶(۷۶%)	۰	۹(۱۰۰%)	۰	۰/۶۱	۶۰

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



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

در خصوصیات رشد نیز مطالعات قبلی نشان داده اند که رشد در اوایل و اواخر دوره زندگی توسط مکانیزم های ژنتیکی مختلفی کنترل می شود. تحقیقاتی که روی موش انعام شده است نشان می دهد به طور کلی دو مکانیسم فیزیولوژیکی در مراحل مختلف زندگی افزایش اندازه بدن موش را تحت تاثیر قرار می دهد. مطالعات ژنتیک کمی صفات رشد در موش نشان داد که تک ژن ها می توانند اثرات پلیوتروپیکی متضادی بر رشد در اوایل و اواخر دوره زندگی داشته باشند و آزمایش های اخیر نقشه برداری QTL نشان داده اند که QTL های مرتبط با صفات رشد در اوایل و اواخر زندگی موش ها در مکان های کروموزومی جداگانه و مشخص قرار گرفتند. همچنین ذکر کرده اند که وزن هچ توسط دو جایگاه اپیستاتیک تحت تاثیر قرار می گیرد و بیان کننده

همچنین در این تحقیق برای نسبت کلیر دو تا سه هفتگی QTL معنی دار یافت شد که نسبت کلیر به عنوان معیار اندازه گیری غیرمستقیم بازده خوارک مصرفی می باشد. معیارهای انتخاب برای بررسی صفات رشد و افزایش گوشت تولیدی در حیوانات اهلی شامل اندازه گیری 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 می تواند معیار انتخاب بهتری باشد (۵). به دلیل اینکه اندازه گیری میزان خوارک مصرفی برخی از گونه های حیوانی به منظور محاسبه ضریب تبدیل غذایی هزینه برو و دشوار است از این رو کلیر (۱۹۴۷) نسبت میانگین افزایش وزن روزانه (ADG) به وزن متابولیکی ($W^{0.75}$) را به عنوان معیار اندازه گیری غیرمستقیم بازده خوارک 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 ۲۳۳-۲۲۶ سانتی‌مورگان که در آنها طرح تلاقی لاین و ناتی 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 ۵۶، ۷۷ و ۳۵۸ و ۱۰۲ سانتی‌مورگان شناسایی شد (۴). در این پژوهش برای وزن سه هفتگی در موقعیت ۵۱ سانتی‌مورگان QTL شناسایی شد که به یافته‌های Atzman و همکاران (۴) در مرغ نزدیک بود. همچنین این اولین گزارش از شناسایی QTL موثر بر نسبت کلیر و سایر صفات مرتبط با رشد روی کروموزوم ۲ بلدرچین ژانپنی است.

در این تحقیق، بررسی و موقعیت‌یابی جایگاه‌های موثر روی صفات مهم تجاری مرتبط با رشد با استفاده از طرح ناتی پدری روی کروموزوم ۲ بلدرچین ژانپنی 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 نزاد 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 مؤثر بر اوآخر دوره رشد در تمام مراحل رشد دخیل هستند. مطالعات نشان داده است که QTL‌هایی که بر تمامی مراحل رشد تأثیر 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 جنبی تحت تأثیر 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 تأثیر 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 نقاوی زیادی با یکدیگر دارند که نشان‌دهنده فرآیندهای 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 ۳۲۴-۳۰۲ سانتی‌مورگان با اثر غلبه و افزایشی مثبت و در موقعیت ۴۷۴-۳۶۰ سانتی‌مورگان با اثر غلبه مثبت و افزایشی منفی معنی‌دار یافت شد (۲۹). در این تحقیق نیز برای QTL افزایش وزن روزانه (دو تا پنج هفتگی) و (هچ تا پانچ 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.
- Atzman, G., S. Blum, M. Feldman, A. Cahana, 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. Esmailizadeh. 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.
- Esmailizadeh, 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. Esmailizadeh, A.K., A. Baghizadeh and M. Ahmadizadeh. 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. Esmailizadeh, 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. Khattkar, 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. Esmailizadeh, 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. Esmailizadeh, 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 Esmailizadeh Koshkoyeh², 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