

آنالیز آثار متقابل افزایشی، غلبه و ایمپریتینگ QTL با هیچ و جنس روی برخی صفات کروموزوم ۵ بلدرچین ژاپنی

مرجان احمدی^۱ - علی اسمعیلی زاده کشکوئی^{۲*} - احسان نصیری فر^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۱/۱۶

چکیده

یک جمعیت نسل دوم از بلدرچین ژاپنی برای یافتن جایگاه‌های ژنی مربوط به صفات لاشه روی کروموزوم ۵ با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره بررسی شد. جمعیت مورد مطالعه حاصل از تلاقی دو سویه سفید و وحشی بلدرچین ژاپنی و صفات مورد بررسی شامل وزن لاشه گرم و سرد، وزن اندام‌های داخلی و قطعات لاشه پرنده‌گان بودند. بعد از انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، افراد برای نشانگرهای به کار برده شده با استفاده از نرم افزار AlphaEaseFC 4.0 تعیین ژنوتیپ شدند. والدین (P0)، پرنده‌گان نسل F1 و F2 با استفاده از ۳ مارکر میکروساتلایت ژنوتیپ یابی شدند. آنالیز داده‌ها با استفاده از نقشه یابی مبتنی بر رگرسیون صورت گرفت. QTL‌های معنی‌دار برای صفات بازدهی لاشه، وزن مطلق و نسبی سینه، وزن نسبی و مطلق کبد، وزن مطلق و نسبی پشت، وزن مطلق و نسبی طحال، وزن سنگدان و وزن سر شناسایی شد. نسبت واریانس فنوتیپی نشان داده شده به وسیله آثار معنی‌دار افزایشی، غلبه و ایمپریتینگ QTL از ۲/۲۲ تا ۱۱/۱۱ درصد بود. نتایج نشان دادند که جایگاه شناسایی شده برای بعضی از صفات لاشه در کروموزوم ۵ یکسان بود که با توجه به ویژگی‌های صفات کمی (شامل اثرات پلیوتروپی و ایپستازی) می‌تواند در تفاوت فنوتیپی صفت تأثیرگذار باشد. چنین نتایجی نشان‌دهنده همبستگی ژنتیکی در میان صفات و پاسخ همبسته به انتخاب است.

واژه‌های کلیدی: بلدرچین ژاپنی، جمعیت F₂، صفات لاشه، کروموزوم ۵، QTL.

مقدمه

هدف از اصلاح نژاد پرورش حیواناتی است که از لحاظ بیولوژیکی و اقتصادی اهمیت دارند (۱۷). در بین گونه‌های اهلی، طیور به دلیل داشتن تعداد زیاد نتاج برای هر والد و فاصله نسلی کوتاه به محققان این امکان را می‌دهد که حتی در مزارع کوچک برنامه‌های اصلاح نژادی را اجرا کنند. در این زمینه بلدرچین به دلیل داشتن ویژگی‌های خاص (فاصله نسلی کوتاه، تعداد زیاد تخم، مقاومت به بیماری، هزینه‌های پایین پرورش) مورد توجه زیست‌شناسان و پرورش‌دهندگان تجاری قرار گرفته است. بلدرچین ژاپنی (*Coturnix*)

coturnix japonica) طی سال‌های اخیر، برای تولید گوشت و تخم در آسیا و گوشت در اروپا و آمریکا پرورش یافته است (۱۵). با وجود تنوع زیاد صفاتی که در بلدرچین ژاپنی وجود دارد تنها تعداد محدودی گروه لینکاژ و ژن برای این پرنده شناخته شده است (۷ و ۱۵). ظهور بلدرچین در ژاپن یا انتقال آن از چین به این کشور به‌عنوان یک پرنده خانگی به قرن ۱۱ برمی‌گردد (۵). بلدرچین ژاپنی متعلق به راسته گالیفرم^۴ و خانواده فاسیانیده^۵ است (۹). شباهت فیلوژنیکی زیاد این پرنده با مرغ از لحاظ تعداد کروموزوم و طول ژنوم سبب شد به‌عنوان یک مدل برای مطالعات طیور مورد استفاده قرار گیرد. همچنین شباهت بین ۹ کروموزوم و کروموزوم Z در مرغ و بلدرچین تأیید شده است و تنها تعدادی از کروموزوم‌های این دو گونه بعد از واگرایی تغییر کرده است (۲۲). طی سال‌های اخیر تلاش برای نقشه‌یابی ژنوم بلدرچین بر اساس جداسازی و شناسایی نشانگرهای ریز ماهواره آغاز شد و ۵۰ نشانگر ریز ماهواره اصلی در بلدرچین شناسایی شد که ۴۶

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان.

۲- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان.

۳- دانش‌آموخته دکتری گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران.

*- نویسنده مسئول:

(Email: aliesmaili@mail.uk.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.v2i1.52641

4- Galliformes

5- Phasianidae

خون مربوطه به تمام ۴۷۲ پرند و رکوردهای فنوتیپی مربوط به ۴۲۲ پرند F_2 جمع‌آوری شد.

در این طرح از یک نر برای آمیزش با یک ماده در نسل والدین و در نسل اول از یک نر برای آمیزش با سه ماده به دلیل تولید نتایج بیشتر استفاده شد. با توجه به هدف تحقیق برای رکوردگیری صفات، نیاز بود پرندگان کشتار شوند. به همین منظور کشتار پرندگان در سن ۳۵ روزگی انجام گردید.

داده‌ها بر اساس جنسیت، هج، پدر و مادر تفکیک شدند، که ساختار آن به طور خلاصه در جداول ۱ و ۲ آورده شده است.

نمونه خون پرندوها (کل جمعیت مورد مطالعه به منظور نقشه‌یابی) در حین کشتار جمع‌آوری شد. برای این کار، ۲/۵ میلی‌لیتر از خون پرند، به محض کشتار درون لوله‌های آزمایش پلاستیکی درب‌دار که حاوی EDTA (به منظور جلوگیری از لخته شدن خون) بود ریخته شد. بعد از کشتار و خون‌گیری، رکورد فنوتیپی مربوط به افراد F_2 برای صفات (راندمان لاشه، درصد سینه، طحال، کبد و پشت و وزن سنگدان، سینه، سر، کبد، پشت و طحال) ثبت و DNA مربوط به تمامی افراد با روش نمکی استخراج شد (۱۴). واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای افراد به کمک سه جفت آغازگر (GUJ0059، GUJ0049، GUJ0100) صورت گرفت. مکان این نشانگرهای ریزماهواره نسبت به موقعیت سانترومر به ترتیب ۰، ۱۲ و ۲۱ سانتی مورگانی کروموزوم شماره ۵ بود. برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز توالی آغازگرهای به کار برده شده برای کروموزوم ۵ در جدول ۱ آورده شده است. شرایط دمایی لازم برای انجام PCR شامل دناتوراسیون اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه، ۳۰ سیکل، دناتوراسیون ثانویه ۹۴ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال برای نشانگر GUJ0059 ۵۶/۳ درجه، نشانگر GUJ0049 ۵۸/۷ درجه و برای نشانگر GUJ0100 ۶۱/۴ درجه به مدت ۴۵ ثانیه، مرحله سنتز ۶۳ درجه به مدت ۹۰ ثانیه و سنتز نهایی ۷۲ درجه به مدت ۹۰ ثانیه بود. قطعه تکثیر شده با ولتاژ ۲۲۰ الکتروفورز و با استفاده از ژل پلی‌اکریل امید تفکیک گردید. ژل‌ها با نیترات نقره رنگ‌آمیزی شدند (۴). آمار توصیفی با استفاده از نرم افزار SAS محاسبه شد، انحراف معیار باقی‌مانده بدست آمده برای هر صفت پس از تصحیح برای اثرات ثابت محاسبه گردید. علاوه بر این اشتباه معیار و میانگین حداقل مربعات نیز برای همه صفات محاسبه شد، که این محاسبات نیز به کمک نرم افزار SAS و در قالب مدل آماری ۱ صورت گرفت.

$$Y_{ijk} = \mu + H_i + S_j + \beta_k (X_k - \bar{X}) + e_{ijk} \quad (1)$$

برای برآورد اثرات افزایشی، غلبه و ایمپرینتینگ QTL (آنالیز QTL) از مدل آماری زیر استفاده شد.

$$Y_{ijk} = \mu + H_i + S_j + \beta_k (X_k - \bar{X}) + a_{pak} + d_{pak} + i_{pik} + e_{ijk} \quad (2)$$

درصد از آنها دارای چند شکلی بودند. همچنین تعداد ۱۰۰ جایگاه به عنوان نشانگر برای نقشه‌یابی مقایسه‌ای در خانواده فاسیانیده مشخص شد (۱۲). تاکنون چندین مطالعه برای بررسی پارامترهای ژنتیکی بهبود وزن و بازده اجزای مختلف لاشه در حیوانات مختلف انجام شده است. در بلدرچین نیز در یک پژوهش پارامترهای مرتبط با خصوصیات لاشه مورد بررسی قرار گرفت (۱۸). مرادیان و همکاران (۱۸) کروموزوم ۱ را برای ارزیابی بازدهی لاشه مورد مطالعه قرار دادند. همچنین مطالعه‌ای بر روی وزن زنده (وزن در ۳، ۴، ۵ و ۶ هفتگی) در یک جمعیت ناتنی پدری از یک نژاد تجاری بلدرچین بر روی کروموزوم ۱ انجام شد (۱۱).

با توجه به این که هنوز تعداد زیادی از جایگاه‌های صفات کمی در بلدرچین مکان‌یابی نشده است، تهیه نقشه ژنتیکی در بلدرچین ژاپنی برای تعیین جایگاه و تشخیص صفات اقتصادی مهم و مقایسه بین مرغ و بلدرچین و سایر گونه‌های این خانواده مکان‌یابی جایگاه صفات کمی، ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین، هدف از این پژوهش شناسایی QTL موثر بر خصوصیات لاشه و برآورد اثر آنها در یک جمعیت F_2 بلدرچین ژاپنی بود.

مواد و روش‌ها

مراحل آزمایشگاهی این تحقیق در آزمایشگاه ژنتیک گروه علوم دامی دانشگاه شهید باهنر کرمان صورت گرفت. نمونه‌های DNA مورد استفاده برای این پژوهش از یک طرح F_2 شامل ۴۷۲ پرند (نسل دوم و افراد F_1 و والدین) استخراج و در آزمایشگاه ذخیره گردید. بعد از انجام مراحل PCR و تعیین ژنوتیپ تمام افراد، آنالیزهای مورد نظر به صورت زیر انجام گرفت.

طرح آزمایشی مورد استفاده در این پژوهش شامل یک طرح سه نسلی F_2 بود. هشت پرند نر و ۸ پرند ماده به عنوان نسل والد (P) به تعداد مساوی از دو سویه سفید (S) و وحشی (W) انتخاب و تلاقی دو طرفه بین آنها (نر سفید × ماده وحشی و نر وحشی × ماده سفید) انجام شد. سی و چهار پرند از بین پرندگان نسل اول (F_1)، شامل ۱۷ نتاج (SW) حاصل از تلاقی نر سفید × ماده وحشی (۱۴ پرند ماده و ۳ پرند نر) و ۱۷ نتاج (WS) حاصل از تلاقی نر وحشی × ماده سفید (۱۱ پرند ماده و ۶ پرند نر) برای تولید نسل دوم (F_2) انتخاب شدند. از تلاقی نرهای SW با ماده‌های WS، ۱۵۳ (۶۴ ماده و ۸۹ نر) پرند (F_2 (SWWS) و از تلاقی نرهای WS با ماده‌های SW، ۲۳۰ (۹۶ ماده و ۱۳۴ نر) پرند (F_2 (WSSW) تولید شدند. تلاقی بین ماده‌های WS و نرهای WS نیز انجام شد و ۳۹ (۱۶ ماده و ۲۳ نر) پرند (F_2 (WSWS) تولید شد (در مجموع ۴۲۲ پرند نسل F_2). جمعیت ایجاد شده جهت نقشه‌یابی شامل ۴۷۲ پرند بود که نمونه

جدول ۱- مشخصات کلی نشانگرهای ریز ماهواره مورد مطالعه در این تحقیق

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

نشانگر	کروموزوم	توالی آغازگر رفت	توالی آغازگر برگشت
Marker	Chromosome	Forward primer (5' - 3')	Reverse primer (5' - 3')
GUJ0059	5	GACAAAGTTACAGCTAGGAG	TAGGTGCGAAAATCTCTGAC
GUJ0049	5	GAAGCAGTGACAGCAGAATG	CGGTAGCATTCTGACTCCA
GUJ0100	5	GCATTTCCATCAGTACAACC	CAGAATATAAGGTCACAGCC

در این معادله، RMS میانگین مربعات خطای مدل فاقد اثر مورد نظر و FMS میانگین مربعات خطای مدل حاوی اثر مورد نظر می‌باشد.

نتایج و بحث

آمار توصیفی صفات مورد بررسی شامل تعداد مشاهدات برای هر صفت، میانگین تصحیح شده هر صفت برای اثرات ثابت، مقدار حداقل و حداکثر برای هر صفت، انحراف معیار باقی‌مانده و ضریب تغییرات (CV) برای صفات لاشه در جدول ۲ خلاصه شده است. برای شناسایی جایگاه کنترل کننده صفات لاشه و اندام‌های داخلی، بر روی کروموزوم ۵، داده‌ها با دو مدل آماری مختلف آنالیز شدند.

در مدل ۱، اثرات متقابل QTL افزایشی، غلبه و ایمپرینتینگ با هیچ بررسی شد. صفات معنی‌دار شده در این مدل راندمان لاشه در موقعیت ۱۰ سانتی مورگانی کروموزوم ۵ که در هیچ ۱ و ۲ برای اثرات افزایشی معنی‌دار شد ($P < 0/01$) و نزدیکترین نشانگر به این جایگاه GUJ0049 است. وزن سینه در موقعیت ۱۹ سانتی مورگانی ($P < 0/05$) در هیچ ۲ برای اثرات افزایشی نزدیک به نشانگر GUJ0100 و وزن نسبی طحال ($P < 0/01$) در موقعیت ۱۱ سانتی مورگانی در هیچ ۱ و ۲ برای اثرات افزایشی نزدیک به نشانگر GUJ0049 معنی‌دار شدند. همچنین وزن نسبی کبد ($P < 0/05$) در موقعیت ۱۶ سانتی مورگانی نزدیک به نشانگر GUJ0049 در هیچ ۵ برای اثرات غلبه و وزن نسبی سینه ($P < 0/01$) در موقعیت ۱۹ سانتی مورگانی نزدیک به نشانگر GUJ0100 در هیچ ۲ و ۳ برای اثرات افزایشی نیز معنی‌دار شدند. وزن کبد ($P < 0/01$) در هیچ ۵ برای اثرات غلبه در موقعیت ۱۵ سانتی مورگانی نزدیک به نشانگر GUJ0049 و وزن سر ($P < 0/05$) در موقعیت ۱۲ سانتی مورگانی در هیچ ۲ برای اثرات ایمپرینتینگ معنی‌دار شدند. جایگاه این صفت با جایگاه نشانگر GUJ0049 دقیقاً یکی است (جدول ۳ و شکل ۱).

در مدل ۲، فنوتیپ مشاهده شده افراد k ، μ میانگین جمعیت، H_i و S_j اثرات ثابت هیچ و جنس به ترتیب، β_K ضریب رگرسیون فنوتیپ مشاهده شده روی وزن لاشه، X_k وزن لاشه افراد k و a و d و i اثرات افزایشی (اختلاف فنوتیپ های هموزیگوت qq با QQ)، غلبه (انحراف میانگین Qq از میانگین دو فنوتیپ هموزیگوت qq و QQ) و ایمپرینتینگ (تفاوت دو فنوتیپ هتروزیگوت Qq در مقابل qq) P_{ak} احتمال شرطی حیوان k برای حمل آلل سویه وحشی، P_{dk} احتمال شرطی حیوان k که هتروزیگوس باشد و P_{ik} احتمال شرطی حیوان k که هتروزیگوس است و آلل سویه وحشی را از پدرش به ارث برده است، e_{ijk} اثر تصادفی باقی‌مانده است. اثرات متقابل هیچ و جنس با اثر افزایشی، غلبه و ایمپرینتینگ QTL بر اساس مدل شماره ۲ برآورد گردید.

آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار آنالیز GridQTL انجام شد که شامل ۲ مدل مختلف بود و در این مدل‌ها اثرات ثابت، جنس و هیچ بودند. تفاوت آنالیزها در نوع اثر برازش داده شده بود. تشخیص QTL با استفاده از روش چند نشانگری و به کمک روش نقشه‌یابی درون فاصله‌ای مبتنی بر رگرسیون ساده، صورت گرفت (۱۳). نقطه‌ای که دارای حداکثر آماره F بود به عنوان محتمل‌ترین موقعیت QTL در نظر گرفته شد و آستانه‌های معنی‌دار کروموزومی در سطوح ۵ و ۱ درصد با استفاده از روش تبدیل (A) محاسبه شدند. مقادیر به دست آمده از آنالیز تعداد ۱۰۰۰۰ سری داده، برای ایجاد یک توزیع تجربی از آماره‌ی آزمون تحت فرض صفر مبنی بر عدم وجود QTL، رتبه‌بندی شدند. همچنین، برای برآورد دقت نقشه QTL (فاصله اطمینان برای موقعیت QTL)، از روش بوت استرپ استفاده گردید که هر نمونه بوت استرپ مورد آنالیز قرار گرفت و بهترین برآورد موقعیت QTL ثبت گردید. این عمل به تعداد ۱۰۰۰۰ مرتبه تکرار و توزیع برآوردهای موقعیت QTL در طول کروموزوم به دست آمد. واریانس مربوط به اثرات QTL برای صفات معنی‌دار با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد که محدوده آن بین ۱۱/۱۱-۲/۲۲ بود.

$$\text{درصد واریانس} = \frac{RMS - FMS}{RMS} * 100 \quad (3)$$

جدول ۲- خلاصه آمار توصیفی داده های فنوتیپی پرندگان نسل F2
Table 2- Summary statistics for the Japanese quail F2 birds data

صفت Trait	تعداد Number	میانگین تصحیح شده ^۱ Adjusted mean	حداقل Min	حداکثر Max	انحراف معیار باقی مانده Residual standard deviation	ضریب تغییرات (درصد) CV (%)
راندمان لاشه (درصد) Carcass efficiency (%)	417	73.50	27.46	97.73	13.3	4.25
درصد سینه Breast percentage	421	35.29	3.90	47.63	2.91	8.24
درصد طحال Spleen percentage	415	0.78	0.20	0.20	0.86	110.28
درصد کبد Liver percentage	421	3.06	1.75	8.93	0.55	18.07
درصد پشت Back percentage	421	16.72	10.01	35.53	1.63	9.77
وزن سنگدان (گرم) Gizzard weight (g)	422	1.00	1.86	6.05	0.45	11.35
وزن سینه (گرم) Breast weight (g)	422	36.90	14.39	54.08	3.10	8.39
وزن سر (گرم) Head weight (g)	422	5.90	4.06	7.53	0.29	5.00
وزن کبد (گرم) Liver weight (g)	422	3.40	1.85	9.64	0.55	15.84
وزن پشت (گرم) Back weight (g)	422	17.30	8.54	30.95	1.83	10.58
وزن طحال (گرم) Spleen weight (g)	416	0.10	0.02	0.23	0.03	32.42

^۱ میانگین تصحیح شده برای اثرات ثابت جنس و هج در مدل.

^۱ Trait mean adjusted for fixed and hatch effects in the model.

جدول ۳- خلاصه نتایج حاصل از آنالیز اثر متقابل افزایشی، غلبه و ایمرینتینگ QTL با هج
Table 3- Analysis results of additive, dominance and Imprinting QTL effects by hatch interaction

صفت Trait	موقعیت ^۱ (cM) Positon	هج Hatch	اثر متقابل QTL و هج QTL effect by hatch interaction			نشانهگر مجاور Closest marker	واریانس QTL V _{QTL} (%)	آماره F F-Value
			ایمرینتینگ I (SE) ^۲	غلبه D (SE) ^۳	افزایشی A (SE) ^۴			
راندمان لاشه Carcass efficiency	10	1	-	-2.52(0.95)	2.84(0.68)	GUJ0049	6.39	2.86**
وزن سینه Breast weight (g)	19	2	-	-	-1.99(0.60)	GUJ0100	2.94	1.84*
درصد طحال Spleen percentage	11	2	-	-0.40(0.15)	-0.29(0.10)	GUJ0049	4.51	2.29**
درصد کبد Liver percentage	16	5	-	-0.56(0.20)	0.47(0.12)	GUJ0049	3.44	1.99*
درصد سینه Breast percentage	19	3	-	-4.47(1.13)	-2.47(0.67)	GUJ0100	5.89	2.73**
وزن کبد Liver weight (g)	15	5	-	-0.55(0.18)	0.52(0.11)	GUJ0049	4.61	2.33**
وزن سر Head weight (g)	12	2	0.14(0.05)	-	-	GUJ0049	4.01	2.12*

^۱ موقعیت QTL بر حسب سانتی مورگان روی کروموزوم ۵ بر اساس نقشه پیوستگی.

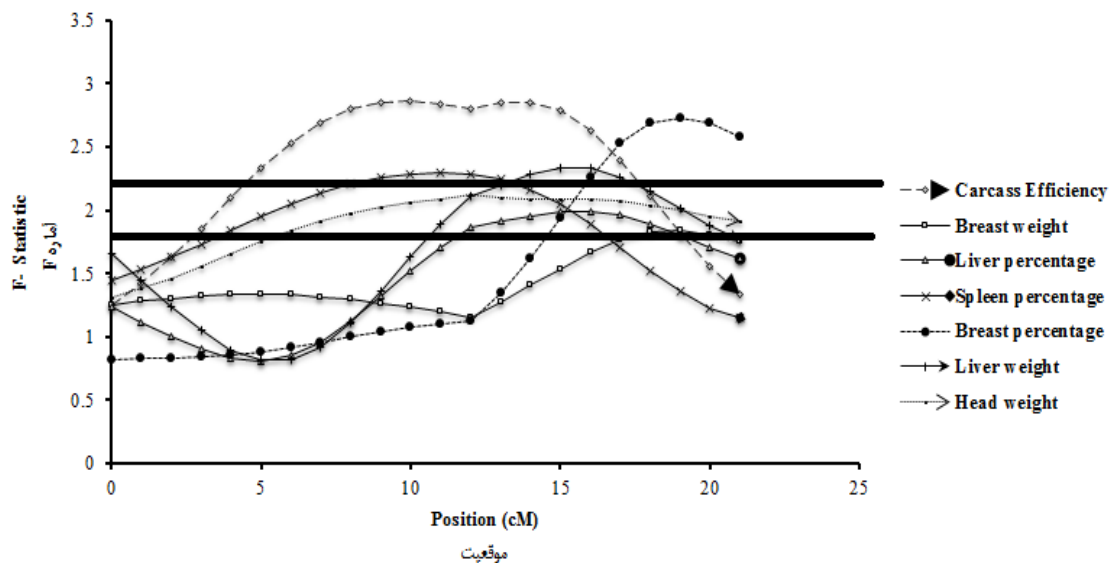
^{۲,۳,۴} به ترتیب بیانگر اثر ایمرینتینگ، غلبه و افزایشی QTL با اشتباه استاندارد می‌باشند.

* و ** به ترتیب بیانگر اثر معنی‌دار QTL در سطح ۵ و ۱ درصد در سطح کروموزوم می‌باشند.

^۱ QTL Location on chromosome 5 of Japanese quail based on linkage map.

^{2, 3, 4} Imprinting (I), Dominance (D) and additive (A) QTL effects with standard error, Respectively.

*, ** are P < 0.05 and P < 0.01 chromosome-wide Significance level of QTL, respectively.



شکل ۱- نتایج معنی‌دار حاصل از آنالیز مدل شامل اثر متقابل QTL و هیچ خط‌های افقی آستانه‌های معنی‌داری در سطح ۱ و ۵ درصد را نشان می‌دهد.
Figure 1- Test statistic curves resulted from the fitting model of QTL effect by hatch interaction. The horizontal lines represent the significant thresholds in 1 and 5% levels respectively.

جدول ۴- خلاصه نتایج حاصل از آنالیز اثر متقابل افزایشی، غلبه و ایمپرینتینگ QTL با جنس

Table 4- Results of additive analysis, dominance and imprinting QTL effects by sex interaction

صفت Trait	موقعیت ^۱ Position (cM)	جنس ^۲ Sex	اثر متقابل QTL و جنس QTL effect by sex interaction			نشانهگر مجاور Closest Marker	واریانس QTL V _{QTL} (%)	آماره F F-Value
			ایمپرینتینگ I(SE) ^۳	غلبه D(SE) ^۴	افزایشی A(SE) ^۵			
وزن پشت (گرم) Back weight (g)	12	1	-	-	-0.52(0.19)	GUJ0049	2.28	2.61*
وزن سر (گرم) Head weight (g)	17	2	-	-0.15(0.05)	-0.09(0.04)	GUJ0100	5.53	5.08**
وزن سنگدان (گرم) Gizzard weight (g)	0	2	-	0.21(0.07)	-	GUJ0059	4.20	4.04**
درصد سینه (گرم) Breast percentage (%)	19	2	-	1.90(0.63)	-1.31(0.37)	GUJ0100	4.58	3.28*
درصد پشت (گرم) Back percentage (%)	12	1	-	-	-0.51(0.19)	GUJ0049	2.22	2.57*
وزن طحال (گرم) Spleen weight (g)	10	2	-	-0.01 (0.00)	-	GUJ0049	11.11	2.67*

^۱ موقعیت QTL بر حسب سانتی مورگان روی کروموزوم ۵ بر اساس نقشه پیوستگی.

^۲ جنس نر= ۱ جنس ماده= ۲.

^{۳، ۴، ۵} به ترتیب بیانگر اثر ایمپرینتینگ، غلبه و افزایشی QTL با اشتباه استاندارد می‌باشند.

* و ** به ترتیب بیانگر اثر معنی‌دار QTL در سطح ۵ و ۱ درصد در سطح کروموزوم می‌باشند.

¹ QTL Location on chromosome 5 of Japanese quail based on linkage map;

² Male= 1 and Female=2

^{3, 4, 5} The Imprinting (I), Dominance (D) and additive (A) QTL effects with standard error, Respectively.

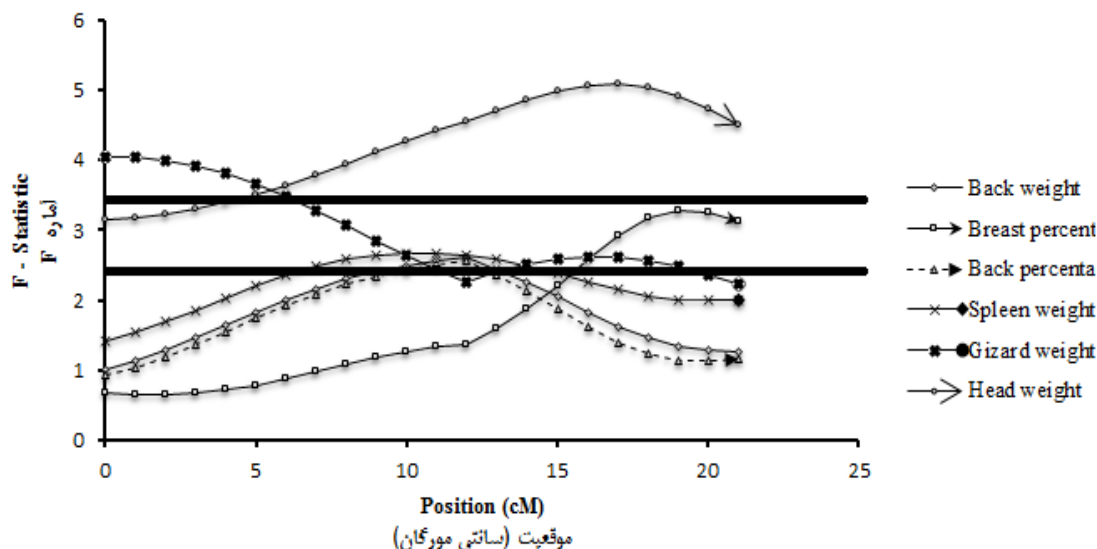
*, ** are P < 0.05 and P < 0.01 chromosome-wide Significance level of QTL, respectively.

وزن سر ($P < 0.01$) در موقعیت ۱۷ سانتی مورگانی در جنس ماده، وزن سنگدان در ابتدای کروموزوم (صفر سانتی مورگانی) در جنس ماده ($P < 0.01$)، برای وزن نسبی سینه در موقعیت ۱۹ سانتی مورگانی

با استفاده از مدل دو اثرات متقابل QTL افزایشی، غلبه و ایمپرینتینگ با جنس برآزش شد، جایگاه ژنی مرتبط برای صفات وزن پشت در موقعیت ۱۲ سانتی مورگانی ($P < 0.05$) در جنس نر، صفت

نشانگر GUJ0100 و جایگاه صفت وزن سنگدان با جایگاه نشانگر GUJ0059 یکی است. برای صفات وزن پشت، وزن سر، وزن نسبی سینه، وزن نسبی پشت اثر افزایشی و برای صفات وزن سنگدان و وزن طحال اثر غلبه معنی‌دار شد (جدول ۴ و شکل ۲).

در جنس ماده، وزن نسبی پشت در موقعیت ۱۲ سانتی مورگانی ($P < 0.05$) در جنس نر و برای وزن طحال در جنس نر ($P < 0.05$) در ۱۰ سانتی مورگانی کروموزوم ۵ شناسایی شد. جایگاه شناسایی شده برای وزن پشت، وزن طحال و وزن نسبی پشت نزدیک به جایگاه نشانگر GUJ0049، وزن سر و وزن نسبی سینه نزدیک به



شکل ۲- نتایج معنی‌دار حاصل از آنالیز مدل شامل اثر متقابل QTL و جنس

Figure 2- Test statistic curves resulted from the fitting model of QTL effect by sex interaction

خط‌های افقی آستانه‌های معنی‌داری در سطح ۱ و ۵ درصد را نشان می‌دهد.

The horizontal lines represent of significant thresholds in 1 and 5% levels, respectively.

نشانگر در برنامه‌های اصلاحی و انتخاب به کمک نشانگر با توجه به مجاور بودن آن با صفت می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. در مطالعه‌ای که روی کروموزوم ۱ در مرغ انجام شد، QTL‌هایی در موقعیت ۱۳۸ و ۳۳۳ سانتی مورگان برای وزن سینه (۲۱) و در موقعیت ۱۴۷ سانتی مورگانی برای وزن نسبی سینه روی کروموزوم ۵ گزارش شد (۲۴). جایگاه به دست آمده توسط اوموتو و همکاران (۲۴) روی کروموزوم ۵ در مرغ با مطالعه حاضر از لحاظ شماره مطابقت دارد ولی باید این نکته را در نظر داشت که طول کروموزوم ۵ در مرغ با بلدرچین متفاوت است. همچنین در مطالعه‌ای مشابه که برای صفات لاشه روی کروموزوم ۱ در بلدرچین ژاپنی انجام شد، برای وزن نسبی سینه در موقعیت ۲۰۶ سانتی مورگانی QTL گزارش کردند که در این مطالعه علاوه بر وزن نسبی، برای وزن مطلق سینه در موقعیت صفر و ۱۷۲ سانتی مورگانی کروموزوم ۱ QTL معنی‌دار شناسایی شده بود (۱۸).

اگر چه درصد پشت اهمیت اقتصادی ندارد اما به صورت مستقیم با قسمت‌های اقتصادی مهم در ارتباط است و از سوی دیگر به تعادل ساختار بدن کمک می‌کند (۳). برای صفت وزن نسبی و مطلق پشت

بازدهی لاشه در اقتصاد مرغداری مسئله مهمی است و در ارزش گذاری و قیمت گذاری پرنده زنده اهمیت زیادی دارد. برای صفت راندمان لاشه با اثرات افزایشی، QTL معنی‌دار در موقعیت ۹ سانتی مورگانی ($P < 0.01$) شناسایی شد که واریانس ناشی از آن برابر $6/39$ بود. نزدیکترین نشانگر برای این QTL، GUJ0049 است. با توجه به مطالعات انجام شده، برای راندمان لاشه در بلدرچین نیز در موقعیت ۱۰ سانتی مورگانی کروموزوم ۱، QTL گزارش کرده‌اند (۱۸).

برای وزن مطلق سینه هنگامی که اثر متقابل افزایشی، غلبه و ایمپرتینینگ QTL با هیچ برآزش گردید، در موقعیت ۱۹ سانتی مورگان نزدیک به جایگاه نشانگر GUJ0100، ($P < 0.05$)، QTL معنی‌دار مشاهده شد. واریانس ناشی از آن برابر با $2/94$ بود. در این مدل برای وزن نسبی این صفت نیز در همین جایگاه ($P < 0.01$) QTL معنی‌دار مشاهده شد که واریانس ناشی از آن برابر با $5/89$ است. علاوه بر آن در آنالیز اثر متقابل افزایشی، غلبه و ایمپرتینینگ QTL با جنس، محتمل‌ترین موقعیت برای وزن نسبی سینه با سطح اطمینان ($P < 0.05$)، در فاصله ۱۹ سانتی مورگانی کروموزوم ۵ بود. نزدیکترین نشانگر برای جایگاه این صفت GUJ0100 بود، این

بلدرچین بر روی کروموزوم ۱ یافت شده بود (۱۱). همچنین QTL های معنی داری برای وزن های سرد و گرم لاشه، وزن غده یورویپجیال و درصد پانکراس (با اثر افزایشی در ۰-۳۶ سانتی مورگان)، درصد پیش معده و وزن سر (با اثر غلبه در ۶-۲۰ سانتی مورگان) و درصد سنگدان (با اثر ایمپرنتینگ در صفر سانتی مورگان) بر روی کروموزوم ۳ در بلدرچین گزارش شده است (۶).

همان طور که در نتایج مشاهده شد و با توجه به اینکه جنسیت یک محیط (محیط ارگاناسمی) برای بیان ژن است، بعضی از QTL های شناسایی شده برای اثرات متقابل جنس معنی دار بود که می تواند ناشی از اثرات متقابل ژنوتیپ و محیط (محیط ارگاناسمی) باشد (۲). تفاوت های فیزیولوژیکی بین دو جنس می تواند بیان ژن را تحت تأثیر قرار دهد و با توجه به این امر، QTL برای یک جنس خاص در صفات لاشه قابل انتظار است.

نتیجه گیری کلی

جایگاه شناسایی شده برای بعضی از صفات لاشه (وزن سر و وزن پشت در موقعیت ۱۲ سانتی مورگانی، وزن طحال و راندامن لاشه در موقعیت ۱۰ سانتی مورگانی) روی کروموزوم ۵، یکسان و یا نزدیک به یکدیگر بودند. این نکته با توجه به ویژگی های صفات کمی (شامل اثرات پلیوتروپی و اپیستازی) می تواند در تفاوت فنوتیپی به وجود آمده صفت تأثیرگذار باشد. چنین نتایجی نشان دهنده همبستگی ژنتیکی در میان صفات و پاسخ همبسته به انتخاب است. اگر در واقع آنها به وسیله یک جایگاه پلیوتروپی یا به وسیله QTL های خیلی نزدیک (که در واقع LD هستند)، کنترل شوند برای تشخیص عدم تعادل پیوستگی در QTL پلیوتروپی به آنالیزهای بیشتری نیاز است. علاوه بر آن مشاهده شد که در برخی از صفات مورد مطالعه، جایگاه نشانگر با جایگاه QTL دقیقاً یکی است (وزن مطلق و نسبی پشت و سر با نشانگر GUJ0049 و وزن سنگدان با نشانگر GUJ0059). این نوع نشانگرها جزو نشانگرهای مستقیم هستند یعنی دقیقاً ژن را شناسایی می کنند که می توانند در برنامه های اصلاحی مورد توجه قرار گیرند.

هنگامی که اثرات متقابل افزایشی، غلبه و ایمپرنتینگ QTL با جنس برآزش گردید، یک QTL در موقعیت ۱۲ سانتی مورگان ($P < 0.05$) شناسایی شد که واریانس ناشی از آن به ترتیب برابر با ۲/۲۲ و ۲/۲۸ بود. این QTL ها برای جنس نر دارای اثر معنی دار بودند. جایگاه شناسایی شده برای این صفت در مرغ، کروموزوم های ۲، ۱۱ (محتمل ترین موقعیت ۲۰ سانتی مورگانی) و ۱۲ (محتمل ترین موقعیت ۱۱/۳ سانتی مورگانی) است (۳).

برای وزن مطلق و نسبی کبد هنگامی که اثرات افزایشی، غلبه و ایمپرنتینگ QTL با هیچ برآزش گردید به ترتیب در موقعیت ۱۵ و ۱۶ سانتی مورگانی کروموزوم ۵، QTL معنی دار شناسایی شد. نشانگر مجاور این جایگاه ها GUJ0049 است. همچنین در موقعیت ۱۱۸/۳ سانتی مورگان روی کروموزوم ۵ در مرغ QTL معنی دار برای وزن نسبی کبد گزارش کردند (۲۵).

همچنین QTL یافت شده برای وزن نسبی سنگدان روی کروموزوم ۵ در موقعیت صفر سانتی مورگانی ($P < 0.01$) بود. واریانس ناشی از آن برابر ۴/۲۰ است. برای وزن سنگدان روی کروموزوم ۸ و ۱۱ مرغ QTL معنی دار شناسایی شده است (۱۹). همچنین در تحقیقی دیگر QTL موثر بر وزن نسبی سنگدان روی کروموزوم ۵ مرغ در محدوده ۷۵-۸۳ سانتی مورگان (محتمل ترین نقطه آن ۵۷/۲ سانتی مورگان) (۲۳) و در محدوده ۸۸-۱۹۸ سانتی مورگان (محتمل ترین نقطه آن ۱۴۳ سانتی مورگان) (۲۰) گزارش شد. در تحقیقات دیگر روی کروموزوم ۱ مرغ در موقعیت ۳۳۲ سانتی مورگانی برای وزن سنگدان QTL معنی دار گزارش کردند (۲۱).

QTL شناسایی شده برای وزن سر در موقعیت ۱۷ سانتی مورگانی کروموزوم ۵، در مدلی که اثرات متقابل افزایشی، غلبه و ایمپرنتینگ QTL با جنس برآزش گردید برای جنس ماده معنی دار شد ($P < 0.01$). نزدیک ترین نشانگر برای این QTL، GUJ0049 است. در موقعیت های مختلفی روی کروموزوم ۲، ۳، ۴ (۴۶ سانتی مورگانی)، ۵، ۷، ۸، ۹ و ۱۱ برای وزن سر QTL احتمالی در مرغ گزارش شده است (۳).

علاوه بر این QTL های معنی داری برای وزن زنده (وزن در ۳، ۴، ۵ و ۶ هفتگی) در یک جمعیت ناتی پدری از یک نژاد تجاری

منابع

- 1- Anderson, L. and M. Georges. 2004. Domestic animal genomics: deciphering the genetics of complex traits. *Nature Reviews Genetics*, 5: 202-212.
- 2- Anholt, R. R. and T. F. Mackay. 2004. Quantitative genetic analyses of complex behaviors in *Drosophila*. *Nature Reviews Genetics*, 5: 838-849.
- 3- Baron, E. E., A. S. Moura., M. C. Ledur., L. F. Pinto., C. Boschiero., D. C. Ruy., K. Nones., E. L. Zanella., M. F. Rosario., D. W. Burt, and L. L. Coutinho. 2010. QTL for percentage of carcass and carcass parts in a broiler × layer cross. *Animal Genetics*, 42(2): 117-124.
- 4- Bassam, B. J., G. Caetano-Anollés, and P. M. Gresshoff, 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 196: 80-83.

- 5- Cain, J. R. and W. O. Cawley. 1972. Care Management Propagation: Japanese quail (*Coturnix*). Texas Agricultural Experiment Station. Available at <http://hdl.handle.net/1969.1/92988>.
- 6- Charati, H., A. K. Esmailzadeh., R. Jabbari Ori., H. Moradian., A. Ayatollahi Mehrgardi. 2014. Detection of quantitative trait loci affecting carcass traits and internal organs on chromosome 3 in an F₂ intercross of Japanese quail. *Animal Science Papers and Reports*, 4: 369-383.
- 7- Cheng, K. and M. Kimura. 1990. Mutations and Major Variants in Japanese Quail. Pages 333-362 in *Poultry Breeding and Genetics*. R. D. Crawford ed. Amsterdam.
- 8- Churchill, G. A. and R. W. Doerge. 1994. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics*, 138: 967-971.
- 9- Crawford, R. D. 1990. Origin and History of Poultry Species. Pages 1-41 in *Poultry Breeding and Genetics*. R. D. Crawford ed. Amsterdam.
- 10- Ellegren, H. 2004. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics*, 5: 435-445.
- 11- Esmailzadeh, A. K., A. Baghizadeh, and Ahmadzadeh, M. 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.
- 12- Kayang, B. B., M. Murayama., T. Hoshi., K. Matsuo., H. Takahashi., M. Minezawa., M. Mizutani, and S. Ito. 2001. Microsatellite loci in Japanese quail and cross-species amplification in chicken and guinea fowl. *Genetics Selection Evolution*, 34: 233-253.
- 13- Knott, S. A., L. Marklund., C. S. Haley., K. Anderson., W. Davies., H. Ellegren., M. Fredholm., B. Hoyheim., I. Hannsson., K. Lundstrom., M. Moller, and L. Andersson. 1998. Multiple marker mapping of quantitative trait loci in an outbred cross between wild boar and large white pigs. *Genetics*, 149:1069-1080.
- 14- 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: 1215.
- 15- Minvielle, F. 2004. The future of Japanese quail for research and production. *World's Poultry Science*, 60:500-507.
- 16- Minvielle, F., S. Ito, M. Inoue-Murayama., M. Mizutani, and N. Wakasugi. 2000. Genetic analyses of plumage color mutations on the Z chromosome of Japanese quail. *The Journal of Heredity*, 91: 499-501.
- 17- Montaldo, H. H. and C. A. Meza-Herrera. 1998. Use of molecular markers and major genes in the genetic improvement of livestock. *Electronic Journal of Biotechnology*, 1(2): 15-16.
- 18- Moradian, H., A. K. Esmailzadeh., S. S. Sohrabi., E. Nasirifar., N. Askari., M. R. Mohammadabadi, and A. Baghizadeh. 2014. 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.
- 19- Moura, A. S. A. M. T., C. Boschiero., R. L. R. Campos., M. Ambo., K. Nones., M. C. Ledur., M. F. Rosario., C. M. R. Melo., D. W. Burt, and L. L. Coutinho. 2006. Mapping QTL for performance and carcass traits in chicken chromosomes 6, 7, 8, 11 and 13. 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. UNESP FMVZ, Botucatu, Brazil.
- 20- 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.
- 21- Nones, K., M. C. Ledur., D. C. Ruy., E. E. Baron., C. M. R. Melo., A. S. A. M. T. Moura., E. L. Zanella., D. W. Burt, and L. L. Coutinho. 2005. Mapping QTLs on chicken chromosome 1 for performance and carcass traits in a broiler × layer cross. *Animal Genetics*, 37: 95-100.
- 22- Shibusawa, M., S. Minai., C. Nishida-Umehara., T. Suzuki., T. Mano., K. Yamada., T. Namikawa, and Y. Matsuda. 2001. A comparative cytogenetic study of chromosome homology between chicken and Japanese quail. *Cytogenetic and Cell Genetics*, 95: 103-9.
- 23- Tercic, D., A. Holcman., P. Dovc., D. R. Morrice., D. W. Burt., P. M. Hocking, and S. Horvat. 2009. Identification of chromosomal regions associated with growth and carcass traits in an F₃ full sib intercross line originating from a cross of chicken lines divergently selected on body weight. *Animal Genetics*, 40(5): 743-8.
- 24- Uemoto, Y., S. Sato., S. Odawara., H. Nokata., Y. Oyamada., Y. Taguchi., S. Yanai., O. Sasaki., H. Takahashi., K. Nirasawa, and E. Kobayashi. 2009. Genetic mapping of quantitative trait loci affecting growth and carcass traits in F₂ intercross chickens. *Poultry Science*, 88(3): 477-482.
- 25- Zhou, H., N. Deeb., C. M. Evock-Clover., C. M. Ashwell, and S. J. Lamont. 2006. Genome-wide linkage analysis to identify chromosomal regions affecting phenotypic traits in the chicken II. Body composition. *Poultry Science*, 85(10): 1712-21.

Analysis of Additive, Dominance and Imprinting QTL Effects by Sex and Hatch Interactions on Some Traits of Japanese Quail on Chromosome 5

M. Ahmadi¹ - A.K. Esmailizadeh^{2*} - E. Nasirifar³

Received: 07-01-2016

Accepted: 04-04-2016

Introduction The purpose of breeding is to rear animals which are biologically and economically important. Among the domestic species, the poultry, due to the large number of offspring per parent and short generation interval, enable researchers to run breeding programs even on small farms. In this regard, quail because of certain characteristics: short generation interval, large numbers of eggs, disease resistance, and low cost farming is of great interest to biologists and commercial growers. Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) has been grown for the production of meat and eggs in Asia and for its meat in Europe and America during the recent years. Despite the great diversity of traits in Japanese quail, only a limited number of genes and linkage groups related to the bird have been identified. Japanese quail belongs to the order Galliformes and the Phasianidae family. The considerable phylogenetic similarity between quail and chickens in the number of chromosomes and the genome size makes the quail qualified enough as a model for studies on poultry. Furthermore, the similarities between 9 chromosomes and chromosome Z in quail and chicken have been confirmed and following the divergence, only small numbers of chromosomes of the two species have changed. In recent years, the attempts at mapping of quail genome based on the segregation and identification of microsatellite markers has begun and 50 microsatellite markers were identified in quail. This study examined F2 population of Japanese quail to find the loci for carcass traits on chromosome 5 using microsatellite markers. The population included crosses of two strains of Japanese quail (white and wild strains) and the traits examined included weights of hot and cold carcasses, internal organs and carcass parts.

Materials and Methods Polymerase chain reaction (PCR) amplifications of each marker for 472 birds were carried out on a Thermal Cycler (Eppendorf, UK). Afterward, the population was genotyped using AlphaEaseFC 4.0 software for each marker. Parental (P0), F1 and F2 individuals were genotyped with 3 microsatellite markers. A genetic model, line-cross, was applied for QTL interval mapping analyses using the regression method in the GridQTL software. Data analysis was performed with least squares regression interval mapping method. The line-cross analysis employed the models including joint effects of additive, dominance and imprinting. The QTL by sex interaction was assessed to determine whether the effect did differ between the two sexes. The additive QTL effect by hatch interaction was also analyzed.

Results and Discussion Significant QTLs were identified for carcass efficiency, breast percentage and breast weight, liver percentage and liver weight, back weight and back percentage, spleen weight and spleen percentage, gizzard and head on chromosome 5. The QTL for breast weight and percentage were identified at 19 cM (in position marker GUJ0100) on chromosome 5. The QTL for head weight and percentage and weight of back were identified at 12 cM (in position marker GUJ049) on chromosome 5. Other QTLs were mapped at 10 cM for carcass efficiency and spleen weight, at 0 cM for Gizzard weight, at 17 cM for head weight, at 15 cM for weight of liver, at 16 cM for liver percentage and at 11 cM for spleen percentage. The proportion of the F2 phenotypic variation explained by the significant additive, dominance and imprinting QTL effects ranged from 2.22 to 11.11%. In the current study, QTL affecting different traits were mapped to similar chromosomal regions. These evidence are indicative of genetic correlation among traits and correlated response to selection. If these traits are really controlled by the same pleiotropic QTL or by closely linked QTL, therefore they are in linkage disequilibrium (LD). However, higher resolution analysis is required to distinguish LD from pleiotropic.

Conclusion The present study identified informative QTL regions that may form a useful resource as part of our advance on developing DNA tests for carcass quality and internal organs in Japanese quail. However, it should be noted that to identify candidate genes and informative markers in linkage disequilibrium with QTL

1- Former MSc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran,

2- Professor of Animal Sciences Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran,

3- Former PhD Student, Department of Animal Science, Science and Research Branch of Islamic Azad University, Tehran, Iran.

(* - Corresponding Author Email: aliesmaili@mail.uk.ac.ir)

affecting carcass and internal organs traits, association studies using SNP markers may be needed for the significant QTL regions detected in this study. The results showed that the identified positions for some carcass and internal organs traits on chromosome 5 were similar to the characteristics of quantitative traits (including pleiotropic and epistasis effects) and can be effective in phenotypic differences of trait. Such results are indicative of genetic correlation among traits and correlated response to selection.

Keywords: Carcass traits, Chromosome 5, F2 population, Japanese quail, QTL.