



## شناسایی جایگاه‌های ژنی موثر بر سرعت رشد و نسبت کلیبر روی کروموزوم شماره پنج بلدرچین ژاپنی

محبوبه ایرانمنش<sup>۱\*</sup>، علی اسمعیلی زاده کشکوئی<sup>۲</sup>، محمدرضا محمدآبادی<sup>۲</sup>، سعید سهرابی<sup>۳</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک دام، گروه علوم دامی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

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

۳- دانشجوی دکتری بخش علوم دامی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

(تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۲ - تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۵)

### چکیده

این تحقیق با هدف شناسایی جایگاه‌های صفات کمی (QTL) موثر بر سرعت رشد و نسبت کلیبر روی کروموزوم شماره ۵ بلدرچین ژاپنی با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره انجام شد. آزمایش در قالب یک طرح سه نسلی با استفاده از تلاقی دو جانبه دو سویه سفید و وحشی اجرا شد. از میان پرندگان نسل دوم ۳۴ پرنده بطور تصادفی انتخاب و با تلاقی بین آنها ۴۲۲ پرنده نسل سوم ایجاد شدند. رکوردهای فنوتیپی مربوط به میانگین افزایش وزن روزانه و نسبت کلیبر روی پرندگان نسل F<sub>2</sub> ثبت شدند. تمامی ۴۷۲ پرنده مربوط به هر سه نسل برای نشانگرهای ریزماهوره موجود بر روی کروموزوم شماره ۵ تعیین ژنوتیپ شدند. برای آنالیز جایگاه صفات کمی، روش مکان‌یابی درون فاصله‌ای مبتنی بر رگرسیون در ۵ مدل مختلف آماری مورد استفاده قرار گرفت. نتایج بیانگر وجود جایگاه‌های صفات کمی معنی‌داری با اثر افزایشی برای صفات میانگین افزایش وزن روزانه از یک روزگی تا یک هفتهگی در موقعیت ۲۱ سانتی مورگانی و نسبت کلیبر سه تا چهار هفتهگی در موقعیت ۱۸ سانتی‌مورگانی بود. اثرات غلبه و ایمپرینتینگ جایگاه صفات کمی بر هیچکدام از صفات مورد مطالعه معنی‌دار نبود. واریانس افزایشی جایگاه‌های صفات کمی شناسایی شده برای صفات مختلف در محدوده ۱/۱ تا ۳/۶ بود. با برازش مدل‌های آماری مختلف، برای صفات میانگین افزایش وزن روزانه و نسبت کلیبر جایگاه‌های صفات کمی معنی‌دار با اثرات مختلف شناسایی شد.

**واژه‌های کلیدی:** بلدرچین ژاپنی، سرعت رشد نسبت کلیبر، نشانگر ریزماهوره، جایگاه صفات کمی (QTL)

## مقدمه

موثر بر سرعت رشد و نسبت کلیبر در یک جمعیت بلدرچین ژاپنی بود.

## مواد و روش‌ها

طرح آزمایشی مورد استفاده در این پژوهش شامل یک طرح سه نسلی  $F_2$  بود. تعداد ۸ پرنده نر و ۸ پرنده ماده به عنوان نسل والد (P) به تعداد مساوی از دو سویه سفید (S) و وحشی (W) انتخاب و تلاقی دوطرفه بین آنها (نر سفید  $\times$  ماده وحشی و نر وحشی  $\times$  ماده سفید) انجام شد. تعداد ۳۴ پرنده از بین پرندگان نسل اول ( $F_1$ )، شامل ۱۷ نر (SW) حاصل از تلاقی نر سفید  $\times$  ماده وحشی (۱۴ پرنده ماده و ۳ پرنده نر) و ۱۷ نر (WS) حاصل از تلاقی نر وحشی  $\times$  ماده سفید (۱۱ پرنده ماده و ۶ پرنده نر) برای تولید نسل دوم ( $F_2$ ) انتخاب شدند. از تلاقی نرهای SW با ماده‌های WS تعداد ۱۵۳ (۶۴ ماده و ۸۹ نر) پرنده  $F_2$  (SWWS) و از تلاقی نرهای WS با ماده‌های SW تعداد ۲۳۰ (۹۶ ماده و ۱۳۴ نر) پرنده  $F_2$  (WSSW) تولید شدند. تلاقی بین ماده‌های WS و نرهای WS نیز انجام شد و تعداد ۳۹ (۱۶ ماده و ۲۳ نر) پرنده  $F_2$  (WSWS) تولید شد (در مجموع ۴۲۲ پرنده نسل  $F_2$  تولید شد). جمعیت ایجاد شده جهت نقشه‌یابی شامل ۴۷۲ پرنده بود (شکل ۱). به منظور ایجاد جمعیت سه نسلی مورد نظر، ۸ پرنده نر و ۸ پرنده ماده از نسل اول (والدین) با هم تلاقی داده شده و تخم‌های حاصل از آنها با استفاده از دستگاه جوجه‌کشی هچ شده و نسل دوم ایجاد شد. از میان پرندگان این نسل (نسل دوم یا  $F_1$ ) نیز ۳۱ پرنده انتخاب شد که برای ایجاد نسل سوم ( $F_2$ ) با هم تلاقی داده شدند و جمعیت مربوط به نسل سوم را طی ۵ هچ متوالی تشکیل دادند. قفس‌های نگهداری پرندگان نسل  $F_1$  به شکلی بود که در آن سه ردیف قفس ۹ تایی به صورت سه طبقه بر روی هم قرار گرفته بود.

به منظور سهولت در تعیین هویت نتاج حاصل از هر خانواده (نتاج تنی حاصل از تلاقی هر نر با هر کدام از سه پرنده ماده) هر روز در دو نوبت تخم‌های مربوط به هر کدام از قفس‌ها جمع‌آوری و شماره مربوط به قفس به وسیله مارک‌های مخصوص بر روی تخم یادداشت می‌شد. برای تعیین هویت جوجه‌های حاصل از هچ‌های مختلف و سهولت شناسایی نتاج مربوط به هر خانواده، به محض خارج کردن جوجه‌ها از دستگاه هچر و قبل از انتقال به

رشد حیوان که شامل فرآیندهای فیزیولوژیکی پیچیده‌ای است، یکی از مهمترین و تاثیرگذارترین عوامل در علم پرورش دام و طیور به حساب می‌آید. وجود ویژگی‌های مناسب همچون رشد سریع، بلوغ زودرس و کوتاهی فاصله میان نسل‌ها سبب شده است تا بلدرچین ژاپنی به عنوان یک پرنده مطلوب نزد کشاورزان و پرورش دهندگان تلقی شده و در مطالعات اصلاح نژاد، به عنوان یک ابزار کارآمد مطرح باشد (Wakasugi, 1984). تاکنون مطالعات ژنتیکی بسیاری جهت بررسی صفات مرتبط با رشد در بلدرچین ژاپنی صورت گرفته است. اما به منظور شناسایی اساس مولکولی و ژنومی صفات مرتبط با رشد، علی‌رغم تلاش‌های فراوان صورت گرفته برای ایجاد نقشه پیوستگی و شناسایی جایگاه صفات کمی در ژنوم مرغ، اطلاعات اندکی در خصوص نقشه‌یابی نواحی ژنومی مرتبط با صفات کمی در بلدرچین ژاپنی وجود دارد. در دسترس بودن ابزارهای مولکولی در بلدرچین ژاپنی امکان بررسی اساس ژنتیکی صفات پیچیده را در این پرنده فراهم کرده است. در طی تحقیقی اولین نسل از نقشه‌های پیوسته ریزماهواره در یک جمعیت  $F_2$  در بلدرچین‌های ژاپنی معرفی شده است که آغاز پیشرفتی برای دستیابی به نقشه‌های ژنتیکی بیشتر و شناسایی جایگاه‌های صفات کمی در بلدرچین ژاپنی است (Kayang et al., 2004). در مطالعه‌ای دیگر نقشه‌یابی ریزماهواره‌های جایگاه‌های صفات کمی موثر بر صفات رشد و مصرف غذا روی CJA01، تولید تخم روی CJA06، عدم تحرک ناشی از ترس روی CJA01 و دمای بدن روی CJA01، CJA03 در یک جمعیت  $F_2$  در بلدرچین‌های ژاپنی بررسی شد که رکوردگیری صفت رشد مربوط به وزن‌های ۵ و ۷ هفتگی بود (Minvielle et al., 2005). مطالعه‌ای دیگر در زمینه‌ی شناسایی جایگاه‌های صفات کمی مرتبط با نسبت کلیبر در یک جمعیت از بلدرچین ژاپنی انجام گرفت که تنها یک جایگاه صفات کمی موثر بر این صفت در موقعیت ۱۸ سانتی مورگانی کروموزوم ۱ شناسایی شد (Esmailizadeh et al., 2012).

هدف از انجام پژوهش حاضر، کاوش کروموزوم شماره ۵ بلدرچین ژاپنی برای شناسایی جایگاه‌های صفات کمی

GUJ0100 موجود روی کروموزوم شماره ۵ انتخاب و تعیین ژنوتیپ پرندگان برای ۳ نشانگر انجام شد. آغازگرهای (پرایمر) مربوط به این سه نشانگر ریزماهواره موجود بر روی کروموزوم شماره ۵ بلدرچین ژاپنی انتخاب و جهت سنتز سفارش داده شد (شرکت ژن فناوری، جدول ۱).

واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر از DNA بلدرچین، ۱۶/۵ میکرولیتر آب، ۰/۳ میکرولیتر آنزیم Taq پلی مراز، ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای رفت و برگشتی، ۰/۵ میکرولیتر از dNTP، ۲/۵ میکرولیتر از بافر PCR و ۱ میکرولیتر از MgCL<sub>2</sub> با برنامه حرارتی زیر به تعداد ۳۵ سیکل در دستگاه ترموسایکلر برای هر یک از نشانگرها انجام شد.

بستر پرورش، پلاک‌های مخصوصی که شماره مربوط به هر فرد روی آن نوشته شده بود به پای جوجه با استفاده از منگنه وصل شد.

داده‌های فنوتیپی شامل اندازه‌گیری‌های میانگین افزایش وزن روزانه و نسبت کلیبر محاسبه شده برای محدوده‌های سنی ۱ تا ۵ هفتگی بود. برای اندازه‌گیری وزن‌های هفتگی، ۱۲ ساعت قبل از وزن‌کشی (یک شب قبل)، خوراک از در دسترس پرندگان خارج شده و فقط آب آشامیدنی در اختیار آن‌ها قرار می‌گرفت. رکوردهای اندازه‌گیری شده به وسیله ترازویی با دقت ۰/۱ گرم اندازه‌گیری شد. نمونه خون مربوطه به تمام ۴۷۲ پرنده و رکوردهای فنوتیپی مربوط به تعداد ۴۲۲ پرنده F<sub>2</sub> جمع آوری شد. با توجه به نقشه پیوستگی نشانگرهای ریزماهواره بلدرچین، ۳ نشانگر GUJ0049، GUJ0059،

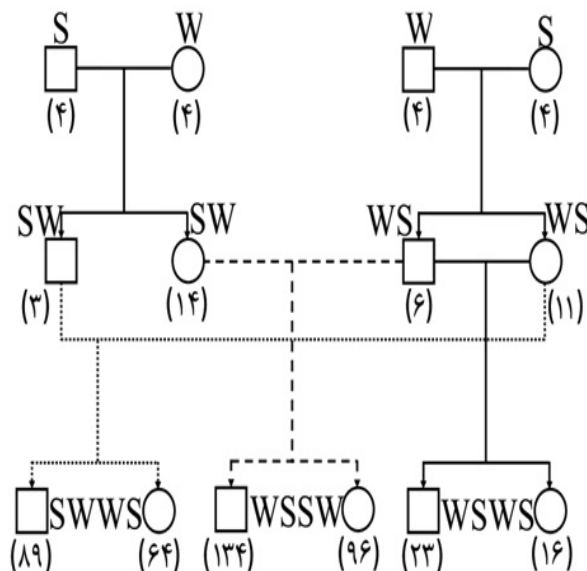


Fig. 1. Used for QTL mapping Pedigree of the population

شکل ۱- شجره جمعیت مورد استفاده برای نقشه یابی QTL

جدول ۱ - توالی پرایمرهای مربوط به مارکرهای ریزماهواره کروموزوم ۵ بلدرچین ژاپنی مورد استفاده در این مطالعه

Table 1. Primers sequence related to Japanese quail chromosome 5 microsatellite markers used in this study

Marker	Oligo sequence forward	Oligo sequence reverse
GUJ0049	5'-GAAGCAGTGACAGCAGAATG-3'	5'-CGGTAGCATTCTGACTCCA-3'
GUJ0059	5'-GACAAAGTTACAGCTAGGAG-3'	5'-TAGGTGCGAAAATCTCTGAC-3'
GUJ0100	5'-GCATTTCCATCAGTACAACC-3'	5'-CAGAATATAAGGTCACAGCC-3'

$w^{0.75}$  وزن متابولیکی در انتهای بازه زمانی مورد نظر است. به منظور برآورد اثرات افزایشی، غلبه و ایمپرینتینگ (اثر منشا والدی) جایگاه صفات کمی به ترتیب از مدل‌های آماری ۱، ۲ و ۳ استفاده شد:

$$Y_{ijk} = \mu + H_i + S_j + aP_{ak} + e_{ijk} \quad \text{مدل ۱}$$

$$Y_{ijk} = \mu + H_i + S_j + aP_{ak} + dP_{dk} + e_{ijk} \quad \text{مدل ۲}$$

$$Y_{ijk} = \mu + H_i + S_j + aP_{ak} + dP_{dk} + iP_{ik} + e_{ijk} \quad \text{مدل ۳}$$

در مدل‌های بالا،  $Y_{ijk}$  مشاهده مربوط به  $i$  امین هج،  $j$  امین هج جنسیت و  $k$  امین پرند؛  $\mu$  میانگین جمعیت؛  $H_i$  اثر هج که دارای ۵ سطح است؛  $S_j$  اثر جنس پرند که دارای ۲ سطح (نر و ماده) می باشد؛  $a$  اثر افزایشی جایگاه صفات کمی؛  $P_{ak}$  احتمال شرطی دریافت آلل سویه وحشی توسط پرند  $k$ ؛  $d$  اثر غلبه ژنی جایگاه صفات کمی؛  $P_{dk}$  احتمال شرطی هتروزیگوت بودن پرند  $k$ ؛  $i$  اثر منشا والدی آلل  $Q$  (ایمپرینتینگ)؛  $P_{ik}$  احتمال شرطی اینکه هم پرند  $k$  هتروزیگوت باشد و هم آلل سویه وحشی را از والد پدری دریافت نماید و  $e_{ijk}$  اثر تصادفی عوامل باقیمانده می باشد. روشی که برای آنالیز جایگاه صفات کمی استفاده شد، روش نقشه‌یابی درون فاصله‌ای مبتنی بر رگرسیون بود. در این روش وجود جایگاه صفات کمی در نقاط مختلف بین دو نشانگر بر اساس یک مدل خاص بررسی می‌شود. بنابراین هر بار آزمون برای یک جفت نشانگر مجاور همدیگر انجام می‌شود. در حقیقت اگر کروموزومی  $n$  نشانگر داشته باشد، نیاز به  $n-1$  آزمون خواهد بود. از این روش زمانی استفاده می‌شود که نقشه پیوستگی بین نشانگرها در دسترس باشد. روش نقشه‌یابی درون فاصله‌ای بسته به نحوه برآورد پارامتر به چهار صورت قابل انجام است. الف- روش حداکثر درست نمایی، ب- روش رگرسیون ج- نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب و نقشه‌یابی فاصله‌ای چند گانه. بر اساس مدل‌های آماری فوق، یک جایگاه صفات کمی در فواصل یک سانتی مورگان در طول کروموزوم ۵ برآزش گردید. نقطه‌ای که دارای حداکثر آماره  $F$  بود به عنوان محتمل‌ترین موقعیت جایگاه صفات کمی

برنامه حرارتی برای نشانگر GUG0049 عبارت بود از: واسرشته‌سازی دو رشته DNA در ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۴ دقیقه به منظور به دست آوردن مولکول‌های DNA تک رشته‌ای، هیبریداسیون (هم سرشته‌سازی یا اتصال) توسط آغازگرهای الیگونوکلیوتیدی که مکمل توالی DNA تک رشته‌ای شده هدف می‌باشند در دمای ۶۰/۴۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه و واکنش طولی سازی (بسط یا سنتز) با یک DNA پلی‌مراز مقاوم به حرارت در دمای ۷۲ درجه سلسیوس جهت سنتز نهایی به مدت ۱ دقیقه و ۳۰ ثانیه، برای نشانگر GUG0059 عبارت بود از: ۹۵ درجه سلسیوس جهت واسرشته‌سازی ۲ رشته DNA به مدت ۴ دقیقه، ۵۶/۳ درجه سلسیوس جهت اتصال پرایمر به مدت ۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه سلسیوس جهت سنتز نهایی برای ۱ دقیقه و ۳۰ ثانیه و برای نشانگر GUG0100 عبارت بود از: ۹۵ درجه سلسیوس جهت واسرشته‌سازی ۲ رشته DNA به مدت ۴ دقیقه، ۵۸/۷ درجه سلسیوس جهت اتصال پرایمر به مدت ۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه سلسیوس جهت سنتز نهایی به مدت ۱ دقیقه و ۳۰ ثانیه. محصولات PCR بر روی ژل آکریل‌آمید ۸٪ در محیط بافری TBE IX با ولتاژ ۲۲۰ به مدت ۳ ساعت الکتروفورز و باندها به وسیله رنگ‌آمیزی با نیترات نقره مشاهده شدند (شکل ۲). دستگاه الکتروفورز مورد استفاده از نوع عمودی دو طرفه مدل VU-130d و ابعاد ژل ۲۰ در ۲۰ سانتی‌متر بود. برای شناسایی جایگاه‌های ژنی مرتبط با رشد، فایل‌های فنوتیپی و ژنوتیپی (به ترتیب حاصل از نتایج رکوردهای فنوتیپی و آلل‌های نشانگرها) و همچنین فایل نقشه نشانگرها روی کروموزوم شماره ۵ و فواصل بین آنها مورد آنالیز قرار گرفت. نسبت کلیبر 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 ارایه شده توسط کلیبر (۱۹۴۷) و با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$KR = \frac{ADG}{W^{0.75}}$$

در این رابطه،  $KR$ ، نسبت کلیبر،  $ADG$ ، میانگین افزایش وزن روزانه محاسبه شده برای یک بازه زمانی مشخص و

جایگاه صفات کمی)، از روش بوت استرپ استفاده گردید که هر نمونه بوت استرپ مورد آنالیز قرار گرفت و بهترین برآورد موقعیت جایگاه صفات کمی ثبت گردید. آنالیزها با استفاده از نرم‌افزار آنالیز Grid QTL انجام شد (Seaton *et al.*, 2006).

### نتایج

نتایج تجزیه آماری داده‌های فنوتیپی: داده‌های جمع‌آوری شده، حاصل رکورد برداری صفات مرتبط با رشد ۴۲۲ پرنده نسل دوم بلدرچین ژاپنی بود. این صفات شامل میانگین افزایش وزن روزانه و نسبت کلیبر محاسبه شده برای محدوده‌های سنی از یک روزگی تا یک هفتگی، یک تا دو هفتگی، دو تا سه هفتگی، سه تا چهار هفتگی، چهار تا پنج هفتگی و از یک روزگی تا پنج هفتگی بود. 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 باقی مانده و ضریب تغییرات (CV) صفات بود که در جدول ۲ آورده شده است. میانگین حداقل مربعات (LSM) و اشتباه معیار (S.E) صفات مورد بررسی به تفکیک جنس و هج در جدول ۳ و ۴ آمده است.

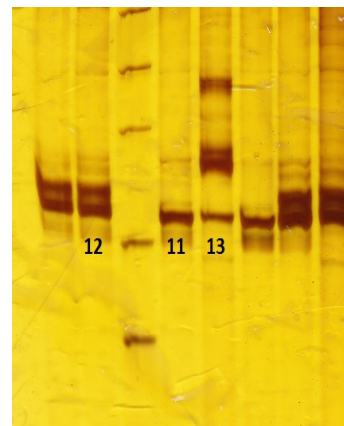


Fig. 2. An example of genotyping gel  
شکل ۲- نمونه‌ای از ژل تعیین ژنوتیپ شده

در نظر گرفته شد. برای تعیین معنی‌دار بودن جایگاه صفات کمی نیاز به تعیین آستانه‌های معنی‌دار کروموزومی در سطوح ۵ و ۱ درصد بود که با استفاده از روش تبدیل 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 جایگاه صفات کمی، رتبه بندی شدند. همچنین، برای برآورد دقت نقشه‌ی جایگاه صفات کمی (فاصله‌ی اطمینان برای موقعیت

جدول ۲ - آمار توصیفی صفات مورد بررسی در این پژوهش

Table 2. Summary statistics for the Japanese quail F2 data in this study

Trait*	Number	Mean	Minimum	Maximum	Residual standard deviation	CV
ADG.0-1	419	2.3±0.03	0.6	4.9	0.7	27.9
ADG.1-2	418	3.5±0.04	0.8	6.2	0.8	23.1
ADG.2-3	418	5.1±0.05	1.7	8.0	0.9	18.5
ADG.3-4	416	5.4±0.06	2	11.3	1.1	21.0
ADG.4-5	348	4.7±0.06	-1.6	7.9	1.3	28.3
ADG.0-5	353	4.1±0.13	2.2	5.6	0.5	12.4
KR.0-1	419	2.2±0.00	1.0	3.0	0.3	13.7
KR.1-2	418	1.9±0.00	0.7	2.5	0.2	12.5
KR.2-3	418	1.8±0.00	0.9	3.1	0.2	12.8
KR.3-4	416	1.5±0.00	0.6	4.2	0.2	15.3
KR.4-5	348	1.1±0.01	-0.4	4.6	0.3	29.5
KR.0-5	353	0.9±0.00	0.8	1.0	0.1	5.1

\*ADG.0-1: Average daily gain from hatching to 1 week of age, ADG.1-2: Average daily gain from 1 to 2 weeks of age, ADG.2-3: Average daily gain from 2 to 3 weeks of age, ADG.3-4: Average daily gain of 3 to 4 week of age, ADG.4-5: Average daily gain of 4 to 5 week of age, ADG.0-5: Average daily gain of hatching to 5 week of age, KR.0-1: Kleiber ratio of hatching to 1 week of age, KR.1-2: Kleiber ratio of 1 to 2 week of age, KR.2-3: Kleiber ratio of 2 to 3 week of age, KR.3-4: Kleiber ratio of 3 to 4 week of age, KR.4-5: Kleiber ratio of 4 to 5 week of age, KR.0-5: Kleiber ratio of hatching to 5 week of age.

جدول ۳- میانگین حداقل مربعات (LSM) و اشتباه معیار (SE) افزایش وزن روزانه به تفکیک جنس و هج

Table 3. Least squares mean and standard error of daily gain by sex and hatch

Trait*	Pre-slaughter weight	ADG.0-1	ADG.1-2	ADG.2-3	ADG.3-4	ADG.4-5	ADG.0-5
Hatch effect	***	***	***	***	**	***	***
1	158.2±2.09	2.5±0.07	4.3±0.09	6.0±0.11	5.1±0.13	4.5±0.15	4.5±0.06
2	152.8±2.12	2.9±0.08	3.7±0.10	5.2±0.11	5.4±0.14	-	-
3	154.6±2.07	1.9±0.08	3.6±0.09	5.1±0.11	5.7±0.14	3.7±0.16	3.1±0.06
4	146.9±1.68	2.6±0.06	2.9±0.08	3.9±0.09	5.3±0.11	4.1±0.13	3.9±0.05
5	149.7±1.81	1.8±0.07	3.1±0.08	5.1±0.10	5.8±0.12	4.9±0.14	4.1±0.05
Sex effect	***	NS	NS	***	**	**	***
Male	148.0±1.15	2.3±0.04	3.5±0.05	4.9±0.06	5.2±0.07	4.5±0.08	2.3±0.17
Female	156.9±1.34	2.4±0.05	3.6±0.06	5.3±0.07	5.7±0.09	4.9±0.09	21.6±0.20

\*ADG.0-1: Average daily gain from hatching to 1 week of age, ADG.1-2: Average daily gain from 1 to 2 weeks of age, ADG.2-3: Average daily gain from 2 to 3 weeks of age, ADG.3-4: Average daily gain of 3 to 4 week of age, ADG.4-5: Average daily gain of 4 to 5 week of age, ADG.0-5: Average daily gain of hatching to 5 week of age. \* P < 0.05, \*\* P < 0.01 and \*\*\* P < 0.001

جدول ۴- میانگین حداقل مربعات (LSM) و اشتباه معیار (S.E.) نسبت کلیبر به تفکیک جنس و هج

Table 4. Least squares mean and standard error of Keliber ratio separated by sex and hatch

Trait*	KR.0-1	KR.1-2	KR.2-3	KR.3-4	KR.4-5	KR.0-5
Hatch effect	***	***	***	***	***	***
1	0.23±0.003	0.21±0.003	0.20±0.005	0.13±0.01	0.09±0.003	0.09±0.0005
2	0.24±0.003	0.19±0.003	0.18±0.005	0.14±0.01	-	-
3	0.19±0.003	0.20±0.003	0.19±0.005	0.15±0.01	0.08±0.003	0.09±0.0005
4	0.23±0.002	0.16±0.002	0.15±0.004	0.14±0.008	0.12±0.003	0.09±0.0004
5	0.19±0.003	0.19±0.002	0.18±0.004	0.16±0.009	0.11±0.003	0.09±0.0005
Sex effect	NS	NS	***	**	NS	NS
Male	0.21±0.001	0.18±0.001	0.18±0.002	0.15±0.005	0.10±0.002	0.10±0.002
Female	0.22±0.002	0.19±0.002	0.18±0.003	0.14±0.006	0.11±0.002	0.11±0.002

\*KR.0-1: Kleiber ratio of hatching to 1 week of age, KR.1-2: Kleiber ratio of 1 to 2 week of age, KR.2-3: Kleiber ratio of 2 to 3 week of age, KR.3-4: Kleiber ratio of 3 to 4 week of age, KR.4-5: Kleiber ratio of 4 to 5 week of age, KR.0-5: Kleiber ratio of hatching to 5 week of age. \* P < 0.05, \*\* P < 0.01 and \*\*\* P < 0.001

کروموزوم ۵ بلدرچین ژاپنی قرار دارد که برای این مارکر میزان اطلاعات افزایشی ۰/۶۲، میزان اطلاعات غلبه ۰/۵۲ و میزان اطلاعات ایمپرینتینگ ۰/۷۳ ثبت شد.

نتایج حاصل از آنالیز اثر افزایشی و مدل توام اثر افزایشی و غلبه جایگاه‌های صفات کمی: در آنالیز مدل اثر افزایشی جایگاه صفات کمی، جایگاه ژنی مرتبط با صفت میانگین افزایش وزن روزانه از یک روزگی تا یک هفتگی در موقعیت ۲۱ سانتی مورگانی با سطح احتمال (P < ۰/۰۱) و آماره F ۱۳/۴۰ تشخیص داده شد و در آنالیز مدل توام اثر افزایشی و غلبه جایگاه صفات کمی، جایگاه ژنی مرتبط با صفت میانگین افزایش وزن روزانه از یک روزگی تا یک هفتگی در موقعیت ۲۱ سانتی مورگانی با سطح احتمال (P < ۰/۰۵) و آماره F ۶/۷۳ شناسایی شد. نسبت کلیبر محاسبه شده برای محدوده‌های سنی سه تا چهار هفتگی

میزان اطلاعات مفید نشانگرها: میزان اطلاعات مفید (Information Content) نشان می‌دهد که یک نشانگر چه مقدار اطلاعات مفید را می‌تواند در هر مکان از کروموزوم یا ژنوم فراهم کند. میزان اطلاعات مفید در نقاط مختلف کروموزوم ۵ بلدرچین در این تحقیق در جدول ۵ خلاصه شده است. از آنجایی که اغلب مقدار IC بین نشانگرها، کمتر از مقدار IC در نقطه‌ای است که نشانگر در آنجا قرار دارد، بنابراین کاهش میزان IC 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، استنباط شده است. در جمعیت مورد مطالعه، بیشترین میزان اطلاعات مربوط به مارکر GUJ0049 بود که در موقعیت ۱۲ سانتی مورگانی یعنی تقریباً وسط

اثر غلبه جایگاه صفات کمی، اثر منشاء والدی (ایمپرنیتینگ) نیز در نظر گرفته شده که نتایج حاصل از برازش این مدل، در جدول ۷ آمده است. در این آنالیز میانگین افزایش وزن روزانه از یک روزگی تا یک هفتگی در موقعیت ۲۱ سانتی مورگانی ( $P < 0.05$ ) شناسایی شد که مشابه با آنالیز مدل شماره دو است.

در موقعیت ۱۸ سانتی مورگانی با سطح احتمال ( $0.05 < P$ ) و آماره  $F_{3/47}$  شناسایی شد. موقعیت و اثر جایگاه‌های صفات کمی مکان‌یابی شده در آنالیز مدل اثر افزایشی و اثر افزایشی و غلبه جایگاه صفات کمی در جدول ۶ آورده شده است.

نتایج آنالیز مدل شامل اثر افزایشی، غلبه و ایمپرنیتینگ جایگاه صفات کمی: در این آنالیز، علاوه بر اثر افزایشی و

جدول ۵- میزان اطلاعات مفید (IC) هر کدام از مارکرها برای اثرات افزایشی، غلبه و ایمپرنیتینگ

Table 5. The useful information content of each marker for additive, dominance and imprinting effects.

Marker	Position (CM)	Additive information	Dominance information	Imprinting information	Genotyped individuals		
					F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	P
GUJ0059	0	0.52	0.24	0.24	34	412	16
GUJ0049	12	0.62	0.52	0.73	34	390	16
GUJ0100	21	0.24	0.18	0.21	34	408	16

جدول ۶- خلاصه نتایج حاصل از برازش مدل اثر افزایشی و اثر افزایشی و غلبه جایگاه صفات کمی

Table 6. Summary of quantitative trait loci (QTL) results obtained from modeling additive and joint additive and dominance QTL effects

Trait*	Position (CM)	F	LOD	Additive effect a±S.E	Closet marker
ADG.0-1	21	10.26**	2.20	-0.20±0.06	GUJ0100

Trait*	Position (CM)	F	LOD	Additive effect a±S.E	Dominance effect d±SE	Closet marker
ADG.0-1	21	5.12*	2.19	-0.20±0.06	0.001±0.08	GUJ0100
KR.3-4	18	3.47*	1.50	-0.02±0.009	0.020±0.01	GUJ0100

\*ADG.0-1: Average daily gain from hatching to 1 week of age, KR.3-4: Kleiber ratio of 3 to 4 week of age

جدول ۷- خلاصه نتایج حاصل از برازش مدل شامل اثر افزایشی، غلبه و ایمپرنیتینگ. جایگاه صفات کمی

Table 7. Summary of quantitative trait loci (QTL) results obtained from modeling QTL by additive effect, dominance and imprinting

Trait*	Position	F	LOD	Additive effect a±S.E	Dominance effect d±SE	Imprinting effect i±SE	Closet marker
ADG0-1	21	3.58*	2.30	-0.20±0.06	-0.01±0.09	0.04±0.06	GUJ0100

\*ADG.0-1: Average daily gain from hatching to 1 week of age

جدول ۸- خلاصه نتایج حاصل از برازش مدل شامل اثر متقابل جایگاه صفات کمی و هج

Table 8. Summary of quantitative trait loci (QTL) results obtained from modeling QTL by hatch interaction

Trait*	Position (CM)	Hatch 1 a±SE	Hatch 2 a±SE	Hatch 3 a±SE	Hatch 4 a±SE	Hatch 5 a±SE	F	LOD
ADG.0-1	21	-0.36±0.14	-0.24±0.15	-0.22±0.14	-0.17±0.12	-0.002±0.14	2.77*	2.97
KR.3-4	19	0.009±0.02	-0.001±0.22	0.0006±0.02	-0.07±0.01	-0.002±0.02	2.95**	3.16

\*ADG.0-1: Average daily gain from hatching to 1 week of age, KR.3-4: Kleiber ratio of 3 to 4 week of age

نتایج آنالیز مدل شامل اثر متقابل جایگاه صفات کمی و جنس: در این آنالیز اثر متقابل جایگاه صفات کمی با جنس در نظر گرفته شده است. جدول ۹ نتایج حاصل از آنالیز شماره ۵ را نشان می دهد. در این آنالیز، برای صفات میانگین افزایش وزن روزانه از یک روزگی تا یک هفتگی در موقعیت ۲۱ سانتی مورگانی و نسبت کلیبر محاسبه شده برای محدوده های سنی سه تا چهار هفتگی در موقعیت ۱۸ سانتی مورگانی با سطح احتمال ( $P < 0.05$ ) تشخیص داده شد.

نتایج آنالیز مدل شامل اثر متقابل جایگاه صفات کمی و جنس: در این آنالیز، اثر متقابل جایگاه صفات کمی و جنس در نظر گرفته شد که جدول ۸ نتایج این آنالیز را نشان می دهد. بر اساس نتایج، میانگین افزایش وزن روزانه از یک روزگی تا یک هفتگی نیز مشابه با آنالیز شماره یک، دو و سه در موقعیت ۲۱ سانتی مورگانی با سطح احتمال ( $P < 0.05$ ) مکان یابی شد. نسبت کلیبر محاسبه شده برای محدوده های سنی سه تا چهار هفتگی در موقعیت ۱۹ سانتی مورگانی با سطح احتمال ( $P < 0.01$ ) شناسایی شد.

جدول ۹- خلاصه نتایج حاصل از برازش مدل شامل اثر متقابل جایگاه صفات کمی و جنس.

Table 9. Summary of quantitative trait loci (QTL) results obtained from modeling QTL by sex interaction

Trait*	Position	Male (a±SE)	Female (a±SE)	F	LOD
ADG.0-1	21	-0.21±0.08	-0.17±0.09	5.17*	2.21
KR.3-4	18	0.001±0.01	-0.04±0.01	4.00*	1.72

\*ADG.0-1: Average daily gain from hatching to 1 week of age, KR.3-4: Kleiber ratio of 3 to 4 week of age

جدول ۱۰- واریانس و اثر جایگاه صفات کمی برای صفات معنی دار حاصل از آنالیز مدل شماره ۱، ۲ و ۳

Table 10. QTL variance and effect for the significant traits resulted from models 1, 2, 3

Trait*	Position (CM)	QTL variance percentage	QTL effect in standard deviation unit		F statistics	
ADG.0-1	21	2.21	-0.30±0.09		10.26**	
Trait	Position (CM)	QTL variance percentage	QTL effect in standard deviation unit		F statistics	
			A	D		
ADG.0-1	21	2.21	-0.24	-0.30±0.09	5.12*	
KR.3-4	18	1.23	-0.002	-0.09±0.04	3.47*	
Trait	Position (CM)	QTL variance percentage	QTL effect in standard deviation unit			F statistics
			a	d	i	
ADG.0-1	21	2.21	-0.24	0.12	-0.31±0.09	3.58*

\*ADG.0-1: Average daily gain from hatching to 1 week of age, KR.3-4: Kleiber ratio of 3 to 4 week of age

جدول ۱۱- واریانس و اثر جایگاه صفات کمی برای صفات معنی دار حاصل از آنالیز مدل شماره ۴

Table 11. QTL variance and effect for the significant traits resulted from model 4

Trait*	Position (CM)	Variance QTL (%)	QTL effect in standard deviation unit					F
			Hatch 1	Hatch 2	Hatch 3	Hatch 4	Hatch 5	
ADG.0-1	21	2.11	-0.56±0.21	-0.38±0.23	-0.33±0.22	-0.23±0.19	-0.002±0.20	2.77*
KR.3-4	19	2.47	0.04±0.10	-0.005±0.11	0.003±0.10	-0.34±0.09	-0.01±0.10	2.95**

\*ADG.0-1: Average daily gain from hatching to 1 week of age, KR.3-4: Kleiber ratio of 3 to 4 week of age



جدول ۱۲- واریانس و اثر جایگاه صفات کمی برای صفات معنی دار حاصل از آنالیز مدل شماره ۵

Table 12. QTL variance and effect for the significant traits resulted from model 5

Trait*	Position (CM)	Variance QTL Percentage	QTL effect in standard deviation unit		F statistics
			Male	Female	
			a±S.E	a±S.E	
ADG.0-1	21	1.99	-0.33±0.13	-0.27±0.14	5.17*
KR.3-4	18	1.23	0.007±0.06	-0.19±0.67	4.00*

Kleiber ratio of 3 to 4 week of age: Average daily gain from hatching to 1 week of age, KR.3-4: ADG.0-1

## بحث

( $w^{0.75}$ ) را به عنوان یک معیار برای اندازه‌گیری غیرمستقیم بازده خوراک مصرفی حیوان پیشنهاد نموده است. این نسبت به عنوان نسبت کلیبر نامیده شد (Kleiber, 1947). در پژوهش حاضر برای صفت نسبت کلیبر محاسبه شده برای محدوده سنی سه تا چهار هفتگی در آنالیز مدل‌سازی اثر افزایشی و غلبه جایگاه صفات کمی، جایگاه صفات کمی با اثر افزایشی و غلبه معنی‌دار در موقعیت ۱۸ سانتی مورگانی، در آنالیز اثر متقابل جایگاه صفات کمی و هیچ جایگاه صفات کمی با اثر افزایشی معنی‌دار در موقعیت ۱۹ سانتی مورگانی در هیچ ۴ و در آنالیز اثر متقابل جایگاه صفات کمی و جنس، جایگاه صفات کمی با اثر افزایشی معنی‌دار در موقعیت ۱۸ سانتی مورگانی برای جنس ماده شناسایی شد. همچنین بر روی کروموزوم ۱ و ۳ بلدرچین ژاپنی برای صفات نسبت کلیبر محاسبه شده در اوزان مختلف جایگاه‌های صفات کمی معنی داری شناسایی شده است. جایگاه صفات کمی موثر برای صفت نسبت کلیبر محاسبه شده برای محدوده سنی سه تا چهار هفتگی روی کروموزوم ۳ بلدرچین ژاپنی در موقعیت ۱۷ سانتی مورگانی شناسایی شد (جباری، ۱۳۹۱). جایگاه‌های صفات کمی موثر برای صفات نسبت کلیبر محاسبه شده برای محدوده سنی یک تا دو هفتگی، سه تا چهار هفتگی، چهار تا ۵ هفتگی و از یک روزگی تا پنج هفتگی توسط محققین به ترتیب در موقعیت‌های ۴۴، ۳۴، ۹۵ و ۹۷ سانتی مورگانی روی کروموزوم ۱ بلدرچین ژاپنی شناسایی شد (سهرابی، ۱۳۹۰). در این تحقیق برای صفات مختلف مرتبط با رشد جایگاه صفات کمی معنی‌دار با اثرات مختلف شناسایی شد. که درصد واریانس ناشی از اثر جایگاه‌های صفات کمی شناسایی شده برای صفات مورد بررسی در جداول ۱۰ تا ۱۲ ارائه شده است.

در مجموع ۵ آنالیز مختلف، جایگاه صفات کمی موثر بر صفات میانگین افزایش وزن روزانه از یک روزگی تا یک هفتگی و بازدهی مصرف خوراک روزانه (نسبت کلیبر) محاسبه شده برای محدوده‌های زمانی ۳ تا ۴ هفتگی شناسایی شد. برای صفت میانگین افزایش وزن روزانه از یک روزگی تا یک هفتگی در تمامی آنالیزها جایگاه صفات کمی با اثر افزایشی معنی‌دار در موقعیت ۲۱ سانتی مورگانی شناسایی شد. که در آنالیز اثر متقابل جایگاه صفات کمی و هیچ اثر افزایشی جایگاه صفات کمی در هیچ ۱ معنی‌دار بود و در آنالیز اثر متقابل جایگاه صفات کمی و جنس، اثر افزایشی جایگاه صفات کمی جنس نر معنی‌دار بود. جایگاه صفات کمی شناسایی شده در موقعیت ۲۱ سانتی مورگانی با موقعیت نشانگر GUJ0100 در ناحیه ۲۱ سانتی مورگانی هم‌پوشانی دارد. در تحقیقی دیگر برای صفات میانگین افزایش وزن روزانه سه تا چهار هفتگی، میانگین افزایش وزن روزانه یک روزگی تا شش هفتگی در موقعیت‌های ۱۶ و ۴ سانتی مورگانی جایگاه صفات کمی های معنی‌داری روی کروموزوم ۱ بلدرچین شناسایی شد (Esmailzadeh *et al.*, 2012). تحقیقات در برخی گونه‌های دام‌های اهلی نشان داده است که اگر انتخاب بر اساس سرعت رشد باشد، سبب افزایش اندازه بدن دام بالغ و موجب افزایش هزینه‌های نگهداری می‌گردد و بازده کل سیستم تولید کاهش می‌یابد (Dickerson, 1978). بنابراین جهت افزایش تولید گوشت در دام‌ها به نظر می‌رسد پژوهش برای یافتن معیار انتخاب مناسب در کنار یا به جای وزن بدن دام مشکل مذکور را تا حدودی حل نماید (Asadi Khoshoei, 1999). ضریب تبدیل غذایی یا بازده غذایی می‌تواند معیار انتخاب بهتری نسبت به وزن حیوان برای صفات رشد باشد. از اینرو کلیبر نسبت میانگین افزایش روزانه (ADG) به وزن متابولیکی

**نتیجه گیری کلی**

نتایج حاصل از نقشه یابی جایگاه صفات کمی در این تحقیق علاوه بر اطلاعات بسیار مفیدی که در زمینه جایگاه و تعداد ژن های کنترل کننده صفات کمی فراهم می کند، می تواند اصلاح گران را در گزینش به کمک نشانگر یاری نماید. اگرچه، قبل از تلاش برای شناسایی ژن های بالقوه و استفاده از آن ها در برنامه های اصلاح نژادی حیوانات از طریق انتخاب به کمک نشانگر، تایید

وجود جایگاه های صفات کمی شناسایی شده در یک کاوش ژنومی اولیه، با استفاده از جمعیت های مستقل ضروری است.

**سپاسگزاری**

از راهنمایی هایی جناب آقای مهندس سعید سهرابی و سرکار خانم مهندس مرجان احمدی قدردانی می نمایم.

**فهرست منابع**

- جباری، ر. ۱۳۹۱. مکان یابی جایگاه های ژنی مرتبط با رشد روی کروموزوم شماره ۳ با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره در بلدرچین ژاپنی. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی. دانشکده کشاورزی. دانشگاه شهید باهنر کرمان.
- سهرابی، س. ۱۳۹۰. نقشه یابی جایگاه های ژنی (QTL) مرتبط با رشد روی کروموزوم شماره ۱ در بلدرچین ژاپنی. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی. دانشکده کشاورزی. دانشگاه شهید باهنر کرمان.
- Asadi Khoshoei E., Miraei-Ashtiani S. R., Torkamanzahi A. N., Rahimi S. H. and Vaez-Torshizi R. 1999. The evaluation of Kleiber ratio as a selection criterion for ram selection in Lori-Bakhtiari sheep breed. *Iranian Journal Agriculture Science*, 30(4): 649-655.
- Dickerson G. E. 1978. Animal size and efficiency: Basic Concepts. *Production Animal*, 27: 367-379.
- Esmailizadeh A. K., Baghizadeh A. and Ahmadizadeh 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.
- Kayang B. B., Vignal A., Inoue-Murayama M., Miwa M., Monvosin J. L., Ito S. and Minvieele F. 2004. A First-generation microsatellite linkage map of the Japanese quail. *Animal Genetic*, 35: 195-200.
- Kleiber M. 1947. Body size and metabolic rate. *Physiological Reviews*, 27: 511-541.
- Minvielle F., Kayang B., Inoue-Murayama M., Miwa M., Vignal A., Gourichon D., Neau A., Monvoisin J. and Ito S. 2005. Microsatellite mapping of QTL affecting growth, feed consumption, egg production, tonic immobility and body temperature of Japanese quail. *Genomics*, 6: 87.
- Wakasugi N. 1984. Japanese quail. *Evolution of Domesticated Animals* Edited by: Mason IL. New-York, Longman Inc. 319-321.



## Identification of quantitative trait loci affecting average daily gain and Kleiber ratio on chromosome 5 in an F<sub>2</sub> population of Japanese quail

M. Iranmanesh<sup>1\*</sup>, A. Esmailzadeh<sup>2</sup>, M.R Mohammad abadi<sup>3</sup>, S. Sohrabi<sup>4</sup>

1. Graduated M.Sc., Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

2. Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

3. Ph.D student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

(Received: 8-24-2015 – Accepted: 1-24-2017)

### Abstract

This research carried out to identify effective quantitative trait loci in growth rate and Keliber ratio on chromosome 5 of Japanese quail by microsatellite markers. A three-generation resource population was developed by using two distinct Japanese quail strains, wild and white, to map quantitative trait loci underlying growth rate and Kleiber ratio. Eight pairs of white (S) and wild (W) birds were crossed reciprocally and 34 F<sub>1</sub> birds were produced. The F<sub>1</sub> birds were intercrossed to generate 422 F<sub>2</sub> offspring. All of the animals from three generations (472 birds) were genotyped for three microsatellite markers on chromosome 5. Phenotypic data including average daily again and Kleiber ratio were collected on F<sub>2</sub> birds. QTL analysis was performed using least squares regression interval mapping method fitting five various statistical models. Significant additive QTL were identified for average daily gain from hatch to one week of age and Kleiber ratio between 3 to 4 weeks of age. Dominance and imprinting QTL effects were not significant. The F<sub>2</sub> phenotypic variance explained by the detected additive QTL effects ranged from 1.1 to 3.6 for different traits Significant QTLs identified by doing various statically types for average daily gain and keliber ratio with various effect.

**Keywords:** Japanese quail, average daily gain, Kleiber ratio, Microsatellite markers, QTL

\*Corresponding author: Mahboob.iranmanesh@yahoo.com