



پویش ژنومی کروموزوم ۵ بلدرچین ژاپنی جهت شناسایی QTL های صفات رشد

خدیدجه ابراهیمی^۱، غلامرضا داشاب^{۲*}، هادی فرجی آروق^۳، علی مقصودی^۴، محمد رکوعی^۵

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد اصلاح نژاد دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۲- دانشیار ژنتیک و اصلاح دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۳- استادیار ژنتیک و اصلاح دام، پژوهشکده دام های خاص، دانشگاه زابل

۴- استادیار اصلاح نژاد دام، گروه علوم دامی و بیوانفورماتیک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۵- دانشیار اصلاح نژاد دام، گروه علوم دامی و بیوانفورماتیک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۵/۰۸ - تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۷/۱۶)

چکیده

هدف از این مطالعه، پویش بخشی از ژنوم (کروموزوم ۵) بلدرچین ژاپنی به منظور تشخیص QTL های مؤثر بر صفات رشد بلدرچین، بر اساس طرح دی آلل کراس جزئی چهار نسلی در پژوهشکده دام‌های خاص دانشگاه زابل بود. بدین منظور چهار سویه Wild (A)، A & M texas (B)، Italian Speckled (C) و Tuxedo (D) بلدرچین ژاپنی به صورت دو به دو و متقابل تلاقی داده شده و نسل اول را ایجاد کردند. اجداد و والدین چهارم (به ترتیب ۱۸ و ۳۶ پرنده) و تمام پرندگان حاصل از نسل چهارم (۳۱۵ پرنده) برای سه نشانگر ریزماهواره‌ای روی کروموزوم پنج تعیین ژنوتیپ شدند. همچنین، تمام پرندگان از زمان تفریح تا ۴۵ روزگی با فاصله پنج روز وزن‌کشی شدند. تجزیه و تحلیل QTL به روش مکان‌یابی درون فاصله‌ای مبتنی بر رگرسیون و مدل ژنتیکی افزایشی با استفاده از نرم افزار GridQTL انجام شد. نتایج سه QTL در موقعیت‌های مختلف برای صفات وزن تفریح، اوزان ۱۵ و ۲۰ روزگی به ترتیب موقعیت‌های ۴/۶۵، ۱۶/۰۳ و ۱۵/۶۳ را نشان داد. بنابراین، اگر اطلاعات نشانگرهای مجاور در معادلات برآورد ارزش‌های اصلاحی وارد شوند، می‌تواند منجر به بهبود صحت پیش‌بینی ارزش اصلاحی و در نهایت پیشرفت ژنتیکی شود.

واژه‌های کلیدی: پویش ژنومی، حدود اعتماد، خودگردان‌سازی، صفات وزن

* نویسنده مسئول: dashab@uoz.ac.ir

مقدمه

هدف بسیاری از مطالعات نقشه‌یابی جایگاه‌های مؤثر بر صفات کمی، شناسایی نشانگرهای ژنتیکی نزدیک به QTL (دارای عدم تعادل ناشی از پیوستگی با جایگاه مورد نظر) یا ژن‌های واقع شده در QTL (نشانگرهای مستقیم) و استفاده از این اطلاعات در برنامه‌های اصلاح نژادی و انتخاب به کمک نشانگرها است (Dekkers, 2004). در چند سال گذشته، محققان به نشانگرهای ریزماهواره توجه زیادی کرده‌اند. استفاده از این نشانگرهای مبتنی بر DNA در تهیه نقشه‌های ژنومی اهمیت بسیاری دارد (Zane *et al.*, 2002).

به طور عمده توسعه نقشه‌های ژنتیکی غنی از نشانگرهای ریزماهواره در ژنوم پرندگان کمتر از پستانداران است. فراوانی نشانگرهای ریزماهواره در ژنوم پرندگان، ۷-۵ برابر کمتر از پستانداران گزارش شده است (Primmer *et al.*, 1997). بیشترین تعداد نشانگر ریزماهواره‌ای در بین گونه‌های پرندگان در مرغ شناسایی شده است که حدود ۸۰۰ نشانگر است (Groenen *et al.*, 2000) و با استفاده از این نقشه‌های ژنتیکی پژوهش‌های متعددی در جهت شناسایی QTL های صفات اقتصادی در مرغ انجام گرفته است (Groenen *et al.*, 2000) که از آن جمله، نقشه‌یابی فاصله‌ای برای مکان‌یابی جایگاه‌های مؤثر بر وزن بدن روی کروموزوم یک، QTL های مؤثر بر وزن بدن، وزن لاشه، درصد چربی شکمی و همچنین وزن چربی شکمی گزارش شده است (Liu *et al.*, 2007).

در سال‌های اخیر پژوهش‌های پراکنده‌ای برای تهیه نقشه‌های پیوستگی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای در بلدرچین ژاپنی انجام شده است (Charati and Esmailzadeh, 2013; Moradian *et al.*, 2014; Rezvannejad, 2014). اولین مطالعات تهیه نقشه‌های پیوستگی نشانگرهای ریزماهواره‌ای در بلدرچین ژاپنی منجر به شناسایی ۱۰۰ نشانگر ریزماهواره شد (Kayang *et al.*, 2004).

در تحقیقی که به منظور شناسایی جایگاه‌های کنترل‌کننده صفات رشد در جمعیت F₂ از بلدرچین‌های ژاپنی انجام شد، QTL هایی برای وزن بدن در زمان تفریح و صفات رشد روی کروموزوم یک گزارش شد (Esmailzadeh *et al.*, 2012). همچنین، در مطالعه دیگری نیز در زمینه شناسایی جایگاه‌های صفات کمی

مرتبط با نسبت کلیبر در جمعیتی از بلدرچین ژاپنی انجام گرفت که تنها یک QTL مؤثر بر این صفت در موقعیت ۱۸ سانتی‌مورگان کروموزوم پنج گزارش شد (ایرانمنش و همکاران، ۱۳۹۵). همچنین، مطالعه شناسایی جایگاه‌های ژنی مؤثر بر عدم تقارن استخوان متاتارسوس بلدرچین ژاپنی منجر به شناسایی شش جایگاه ژنی روی کروموزوم یک شد که واریانس ناشی از جایگاه‌های شناسایی شده ۰/۳۷ تا ۵/۲۹ درصد از واریانس فنوتیپی صفات مورد نظر را شامل شد (سهرابی، ۱۳۹۰).

صفات رشد در پرندگان و از جمله بلدرچین جزء صفات کمی پیچیده و تحت تأثیر جایگاه‌های ژنی مختلف در نواحی متعدد ژنوم با اثرات متفاوت است. با وجود تلاش‌های فراوان برای ایجاد نقشه پیوستگی و شناسایی QTL در ژنوم مرغ، اطلاعات اندکی در خصوص نقشه‌یابی نواحی ژنومی مرتبط با صفات رشد در بلدرچین ژاپنی وجود دارد (Jabbari Ori *et al.*, 2014; Sohrabi *et al.*, 2014; Moradian *et al.*, 2015). لذا هدف از پژوهش حاضر، شناسایی QTL های مؤثر بر صفات رشد کروموزوم پنج در قالب یک طرح چهار نسلی بلدرچین ژاپنی است.

مواد و روش‌ها

برای اجرای پژوهش حاضر از جمعیت آمیخته بلدرچین ژاپنی حاصل از تلاقی چهار سویه متفاوت طی چهار نسل در قالب طرح دی آلل کراس جزئی در پژوهشکده دام‌های خاص دانشگاه زابل استفاده شد. تعداد پنج جفت پرند به صورت تصادفی از هر سویه شامل Wild (A)، A & M (D) Texas (B)، Italian Speckled (C) و (D) انتخاب و به صورت جفتی (A♂×B♀، B♂×A♀، C♂×D♀، D♂×C♀) با هم تلاقی داده شدند. تلاقی‌های نسل دوم شامل ۲۰ جفت AB♂×CD♀ و DC♂×BA♀ بودند. برای ایجاد نسل سوم، ۲۰ جفت پرند به تصادف انتخاب و در دو مسیر ABCD♂×DCBA♀ و ABCD♀×DCBA♂ تلاقی داده شدند (شکل ۱). از والدین نسل سوم تعداد ۱۸ جفت پرند به تصادف انتخاب و تمام تخم‌های تولیدی طی مدت سه ماه در فواصل یک هفته تفریح شدند. قفس‌های نگهداری پرندگان به صورت جفتی شامل یک نر و یک ماده بود و پرندگان تفریح شده از هر جفت والدین با

نوری ۲۴ ساعت برخوردار بودند. دمای اتاق پرورش جوجه در هفته اول ۳۵، هفته دوم ۳۰ و برای بقیه هفته‌ها ۲۰-۲۵ درجه سلسیوس در نظر گرفته شد. با توجه به نقشه پیوستگی نشانگرهای ریزماهواره بلدرچین، سه نشانگر GUJ0049، GUJ0059 و GUJ0100 روی کروموزوم ۵ برای تمام ۱۸ خانواده والدینی و نتاج حاصل از والدین هتروزایگوت در آزمایشگاه زیست فن‌آوری دانشگاه زابل تعیین ژنوتیپ شدند. اطلاعات آغازگرهای مربوط به سه نشانگر ریزماهواره روی کروموزوم ۵ بلدرچین ژاپنی در جدول ۱ ارائه شده است. سنتز آغازگرها به وسیله شرکت پیشگام (Pishgam Co. Tehran) انجام گرفت. واکنش تکثیر در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر از DNA (۱۰۰-۸۰ نانوگرم) بلدرچین، ۱۶/۵ میکرولیتر آب، ۰/۳ میکرولیتر آنزیم Taq پلی‌مراز (۱/۵ واحد)، ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای رفت و برگشتی (۲۰ پیکومول)، ۰/۵ میکرولیتر dNTP (۶ میکرومول)، ۲/۵ میکرولیتر از بافر PCR (۱۰X) و ۱ میکرولیتر MgCl₂ (۲۰ میکرومول) با برنامه حرارتی زیر به تعداد ۳۵ سیکل در دستگاه ترموسایکلر (مدل Eppendorf) برای هر یک از نشانگرها انجام شد.

شماره بالی که با سنجاق قفلی بسته شد، تعیین هویت شدند. بنابراین، جمعیت نقشه‌یابی شامل پرندگان نسل سوم و چهارم و تمام نتاج تولید شده از والدین نسل چهارم بود (۱۸ پرنده اجداد، ۳۶ پرنده والدین یا ۱۸ خانواده که با شماره‌های ۱ تا ۱۸ نامگذاری شدند و ۳۱۵ پرنده نتاج حاصل از این خانواده‌ها که در مجموع برابر با ۳۶۹ پرنده است). نمونه خون مربوط به تمام این پرندگان جهت استخراج DNA از ورید زیر بال به حجم ۲ میلی لیتر با ماده ضد انعقاد (EDTA ۱ درصد) جمع‌آوری و تا زمان استخراج در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد در آزمایشگاه زیست‌فن‌آوری دانشگاه زابل نگهداری شدند. همچنین، تمام پرندگان اعم از والدین و نتاج نسل چهارم در فواصل ۵ روز با دقت ۰/۰۱ گرم وزن‌کشی شدند که داده‌ها یا مشاهدات را تشکیل می‌دهند.

در هر نسل، جوجه‌ها بعد از تفریح شدن و اندازه‌گیری وزن در روز اول جهت ثبت شجره شماره‌گذاری شدند. جوجه‌ها از روز اول تا ۴۵ روزگی به وسیله جیره متعادل شده مبتنی بر استانداردهای NRC (شامل ۲۵ درصد پروتئین و ۲۹۰۰ کیلوکالری انرژی قابل متابولیسم بر کیلوگرم) تغذیه شدند. در طول مدت رشد، آب و خوراک به صورت آزاد در اختیار جوجه‌ها قرار داده شد و از برنامه

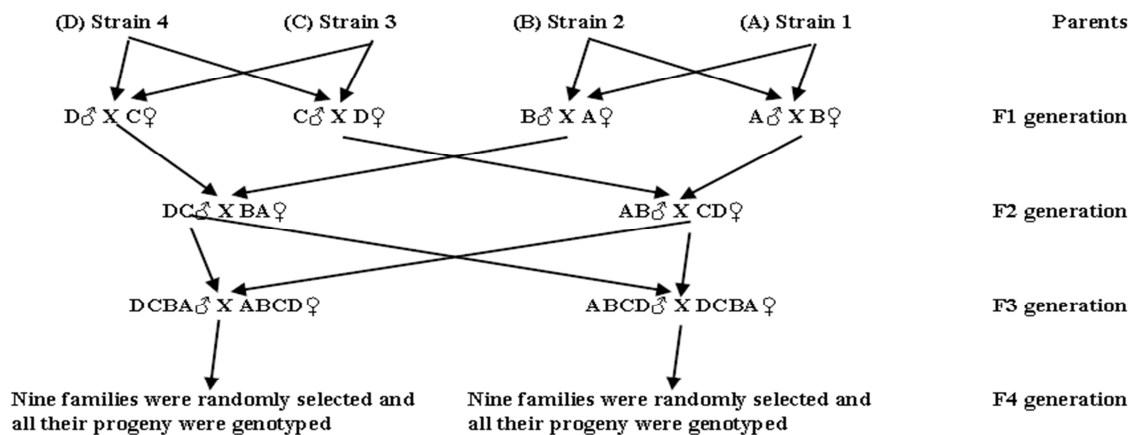


Fig. 1. The map of four generation crossing of Japanese quail for QTL mapping of growth QTLs

شکل ۱- نقشه طرح تلاقی چهار نسلی بلدرچین ژاپنی جهت مکان‌یابی QTL‌های رشد

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای مربوط به نشانگرهای کروموزوم ۵ در بلدرچین ژاپنی

Table 1. The characteristics of primers related to chromosome 5 markers in Japanese quail

| Markers | Position (cM) | Annealing temperature | Reverse sequence | Forward sequence |
|---------|---------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| GUJ0049 | 0 | 60.4 | 5'-GAAGCAGTGACAGCAGAATG-3' | 5'-CGGTAGCATTCTGACTCCA-3' |
| GUJ0059 | 12 | 56.3 | 5'-GACAAAAGTTACAGCTAGGAG-3' | 5'-TAGGTGCGAAAATCTCTGAC-3' |
| GUJ0100 | 21 | 58.7 | 5'-GCATTTCATCAGTACAACC-3' | 5'-CAGAATATAAAGGTCACAGCC-3' |

همچنین، برای برآورد دقت نقشه QTL (فاصله اطمینان برای موقعیت QTL)، از روش بوت استرپ با ۱۰۰۰۰ تکرار استفاده شد. تجزیه و تحلیل‌ها با استفاده از نرم افزار آنالین GridQTL (Seaton *et al.*, 2006) انجام شد. برای برآورد محتوای اطلاعات مفید نشانگرها یا PIC جهت بررسی کارایی نشانگرها در مطالعات پیوستگی از رابطه زیر استفاده شد:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2 - \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i-1}^k 2 p_i^2 p_j^2$$

در رابطه بالا، k تعداد آلل‌ها، P_i و P_j فراوانی آلل‌های i و j در هر نشانگر در جمعیت است. این معیار هم تحت تأثیر تعداد آلل‌های یک جایگاه نشانگر و هم تحت تأثیر فراوانی این آلل‌ها قرار دارد (Buchanan and Thue, 1998).

نتایج و بحث

خصوصیات توصیفی صفات وزن در جدول ۲ ارائه شده است. میانگین وزن تفریح در جمعیت آمیخته برابر با ۸/۵۲ گرم و در سن ۴۵ روزگی به وزن نهایی ۲۳۰/۷۲ گرم رسید. میانگین افزایش وزن پرندگان از زمان تفریح تا ۳۰ روزگی روند صعودی داشت و به ۷/۲۱ گرم در روز رسید، اما بعد از این زمان سرعت رشد روند نزولی پیدا کرد و کاهشی بود. دامنه تغییرات ضریب تغییرات صفات رشد در جمعیت مورد مطالعه بین ۱۲/۷۹ تا ۳۳ درصد متغیر بود که کمترین آن مربوط به وزن تفریح و بیشترین مربوط به اوزان ۱۰ و ۱۵ روزگی بود (جدول ۲). شرایط مدیریتی قبل از تفریح شامل دما و رطوبت دستگاه هجری موجب یکنواختی یا مشابهت بیشتر وزن تفریح می‌شود.

محتوای اطلاعات چندشکلی یا PIC از شاخص‌های مهم تعیین درجه چندشکلی یک نشانگر ژنتیکی است. کارآمدی یک نشانگر ژنتیکی برای تجزیه و تحلیل‌های پیوستگی به میزان چندشکلی آن بستگی دارد. محتوای اطلاعات چندشکلی همان هتروزیگوسیتی است به استثنای افراد هتروزیگوسیتی که مشابه والدین هستند (Buchanan and Thue, 1998). محتوای اطلاعات چندشکلی نشانگرهای مورد استفاده در مطالعه حاضر در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد تمام نشانگرها محتوای اطلاعات چندشکلی بالایی دارند و تعداد آلل‌های سه نشانگر واقع روی کروموزوم پنج، G.UJ0059، G.UJ0049 و G.UJ0100 به ترتیب برابر با ۶، ۱۰ و ۸ آلل

برنامه حرارتی جهت تکثیر نشانگرهای ریزماهواره‌ای در سه مرحله انجام شد. مرحله اول، طی یک چرخه واسرشته‌سازی اولیه دو رشته DNA در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۴ دقیقه، مرحله دوم طی ۳۵ چرخه شامل واسرشته‌سازی ثانویه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، دمای اتصال برای نشانگر G.UJ0049 در دمای ۶۰/۴۰ درجه سلسیوس، نشانگر G.UJ0059 در دمای ۵۶/۳ درجه سلسیوس و نشانگر G.UJ0100 در دمای ۵۸/۷ درجه سلسیوس به مدت ۵۰ ثانیه و بسط اولیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه انجام شد. در نهایت مرحله سوم طی یک چرخه شامل بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه خاتمه یافت. سپس محصولات تکثیر روی ژل آکریل آمید ۸ درصد در محیط بافری TBE 1X با ولتاژ ۲۲۰ به مدت ۳ ساعت الکتروفورز و با نیترا نقره رنگ آمیزی شدند (Merril *et al.*, 1981).

جهت برآورد میزان اثر جایگزینی آلل‌ها و مکان‌یابی جایگاه‌های کنترل‌کننده صفات رشد از مدل افزایشی زیر استفاده شد:

$$Y_{ijk} = \mu + H_i + S_j + aP_{ak} + e_{ijk}$$

در مدل بالا، Y_{ijk} مشاهده مربوط به i امین تفریح، Z امین جنسیت و k امین پرند، μ میانگین جمعیت، H_i اثر تفریح، S_j اثر جنس پرند که دارای دو سطح (نر و ماده) است، a اثر افزایشی آلل‌های QTL، P_{ak} احتمال شرطی دریافت آلل سویه وحشی به وسیله پرند k و e_{ijk} خطای تصادفی هستند.

مکان‌یابی بر اساس روش درون فاصله‌ای مبتنی بر رگرسیون انجام شد. بر اساس مدل آماری بالا، یک QTL در فواصل یک سانتی‌مورگان در طول کروموزوم برازش شد. نقطه‌ای که دارای حداکثر آماره F باشد، به عنوان محتمل‌ترین موقعیت QTL در نظر گرفته شد. برای تعیین معنی‌دار بودن QTL نیاز به تعیین آستانه‌های معنی‌دار کروموزومی در سطوح ۵ و ۱ درصد است که با استفاده از روش تبدیل-تجربی (Churchill and Doerge, 1994) محاسبه شد. برای اثبات وجود QTL از تست تبدیلی (Permutation test) با ۱۰۰۰۰ تکرار تحت فرض صفر مبنی بر عدم وجود QTL استفاده شد و سطح آستانه معنی‌داری در فواصل یک سانتی‌مورگانی کنترل شد.

آلل‌های QTL در جدول ۴ ارائه شده است. اثر افزایشی QTL عبارت است از اثر جایگزینی یک آلل، یعنی تفاوت بین نتایج دریافت‌کننده آلل‌های Q و q پدری، البته با فرض اینکه اثر سایر ژن‌ها به طور متوسط در بین دو گروه یکسان باشد.

بودند. لذا کارآیی مناسبی در مطالعات پیوستگی خواهند داشت. در یک مطالعه، تجزیه پیوستگی جمعیت بلدرچین ژاپنی در قالب یک طرح سه نسلی با سه نشانگر GUJ0059، GUJ0049 و GUJ0100 بیشترین تعداد آلل را برای نشانگر GUJ0049 گزارش نمود (Esmailzadeh *et al.*, 2016).

نتایج مکان‌یابی جایگاه‌های ژنی کنترل‌کننده صفات وزن از تفریح تا ۴۵ روزگی با فاصله ۵ روز با مدل اثر افزایشی

جدول ۲- توصیف آماری صفات وزن بدن در آمیخته‌های بلدرچین ژاپنی

Table 2. Statistical characteristics of body weight traits in crossbreds of Japanese quail

| Traits [#] | Mean (g) | Minimum (g) | Maximum (g) | Gain (g/day) | SD (g) | CV (%) |
|---------------------|----------|-------------|-------------|--------------|--------|--------|
| W ₀ | 8.52 | 4.85 | 11.91 | 0 | 1.09 | 12.79 |
| W ₅ | 16.98 | 5.64 | 32.48 | 1.68 | 4.15 | 24.44 |
| W ₁₀ | 31.69 | 10.04 | 75.56 | 2.94 | 10.46 | 33.0 |
| W ₁₅ | 55.26 | 13.64 | 112.18 | 4.71 | 18.24 | 33.0 |
| W ₂₀ | 86.45 | 15.56 | 185.44 | 6.23 | 24.69 | 28.56 |
| W ₂₅ | 117.31 | 37.40 | 204.09 | 6.17 | 29.24 | 24.92 |
| W ₃₀ | 153.35 | 50.06 | 259.98 | 7.21 | 35.23 | 22.97 |
| W ₃₅ | 178.43 | 62.06 | 295.86 | 5.02 | 35.07 | 19.65 |
| W ₄₀ | 205.87 | 83.71 | 314.12 | 5.49 | 36.69 | 12.82 |
| W ₄₅ | 230.72 | 110.14 | 467.77 | 4.97 | 40.77 | 17.67 |

[#]From W₀ to W₄₅: Body weights from hatch to 45 days old in grams.

جدول ۳- تعداد آلل‌های مشاهده شده و محتوای اطلاعات چندشکلی مفید نشانگرهای بر روی کروموزوم ۵ در جمعیت آمیخته بلدرچین ژاپنی

Table 3. The number of observed alleles and polymorphism information content of markers on chromosome 5 in crossbred population of Japanese quail

| Markers | Position (cM) | The number of observed alleles | PIC* |
|---------|---------------|--------------------------------|------|
| GUJ0059 | 0 | 6 | 0.97 |
| GUJ0049 | 12 | 10 | 0.95 |
| GUJ0100 | 21 | 8 | 0.94 |

*Polymorphism information content

جدول ۴- نتایج مکان‌یابی جایگاه‌های کنترل‌کننده صفات وزنی در بلدرچین ژاپنی

Table 4. The results of QTL mapping of growth traits in Japanese quail

| Traits [#] | Position (cM) | F-value chromosome-wide thresholds | Family | Effects | Adjacent marker | 95% confidence interval |
|---------------------|---------------|------------------------------------|--------|---------|-----------------|-------------------------|
| W ₀ | 4.65 | 3.52* | 436 | -1.04 | GUJ0059 | 0.0-21 |
| W ₅ | 8.51 | 1.0 | 401 | 5.32 | GUJ0049 | 0.0-21 |
| W ₁₀ | 14.28 | 2.03 | 401 | 9.41 | GUJ0049 | 0.0-21 |
| W ₁₅ | 16.03 | 3.69* | 413 | 24.19 | GUJ0049 | 0.0-21 |
| W ₂₀ | 15.63 | 2.69* | 413 | 31.69 | GUJ0049 | 0.0-21 |
| W ₂₅ | 15.09 | 1.67 | 401 | 43.27 | GUJ0049 | 0.0-21 |
| W ₃₀ | 13.46 | 1.44 | 401 | 44.62 | GUJ0049 | 0.0-21 |
| W ₃₅ | 12.92 | 1.57 | 413 | 44.31 | GUJ0049 | 0.0-21 |
| W ₄₀ | 11.47 | 0.77 | 413 | 40.61 | GUJ0049 | 0.0-21 |
| W ₄₅ | 12.47 | 0.88 | 413 | 42.99 | GUJ0049 | 0.0-21 |

* Significant at $P < 0.05$

[#]From W₀ to W₄₅: Body weights from hatch to 45 days old in grams.

در نهایت یک QTL معنی‌دار برای صفت وزن بدن در ۲۰ روزگی روزگی شناسایی شد که در موقعیت ۱۵/۶۳ سانتی‌مورگان قرار داشت و متوسط اثر جایگزینی آلی آن برابر با ۳۱/۶۹ گرم بود (جدول ۴ و شکل ۴). نکته جالب این که QTL شناسایی شده برای وزن تفریح مربوط به ابتدای کروموزوم و QTL های شناسایی شده برای اوزان ۱۵ و ۲۰ روزگی در انتهای کروموزوم قرار داشتند. اثر جایگزینی آلی‌ها در صفات وزن بعد از تفریح مثبت بود و انتخاب آلی‌ها منجر به افزایش وزن بدن می‌شود، اما متوسط اثر آلی در QTL مرتبط با وزن تفریح منفی بود که البته این می‌تواند به واسطه آثار مادری و همبستگی منفی آثار ژنتیکی مستقیم پرنده با آثار ژنتیکی مادری باشد.

برای صفت وزن تفریح یک QTL معنی‌دار در موقعیت ۴/۶۵ سانتی‌مورگان مشاهده شد (جدول ۴ و شکل ۲). البته میزان اثر جایگزینی برای آلی‌های QTL منفی بود. این بیانگر این است که جایگاه مذکور موجب کاهش وزن تفریح در بلدرچین ژاپنی می‌شود. بیشترین اثر جایگزینی آلی‌های QTL مربوط به خانواده ۱۳ بود. برای صفات وزن ۵ و ۱۰ روزگی در بلدرچین ژاپنی QTL معنی‌دار مشاهده نشد ($P > 0.05$). یکی دیگر از QTL های معنی‌دار مربوط به وزن بدن در ۱۵ روزگی بلدرچین بود که در موقعیت ۱۶/۰۳ سانتی‌مورگان شناسایی شد (جدول ۴ و شکل ۳). میزان متوسط اثر جایگزینی آلی‌های QTL، ۲۴/۱۹ گرم پیش‌بینی شد.

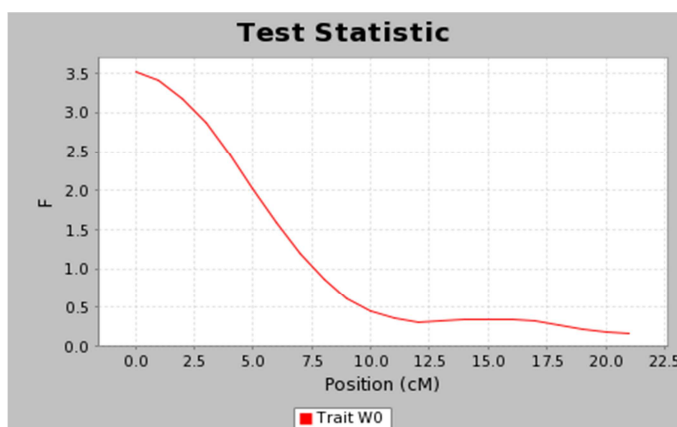


Fig. 2. The position of detected QTL of hatch weight (W_0) in Japanese quail
شکل ۲- موقعیت QTL شناسایی شده برای صفت وزن تفریح (W_0) در بلدرچین ژاپنی

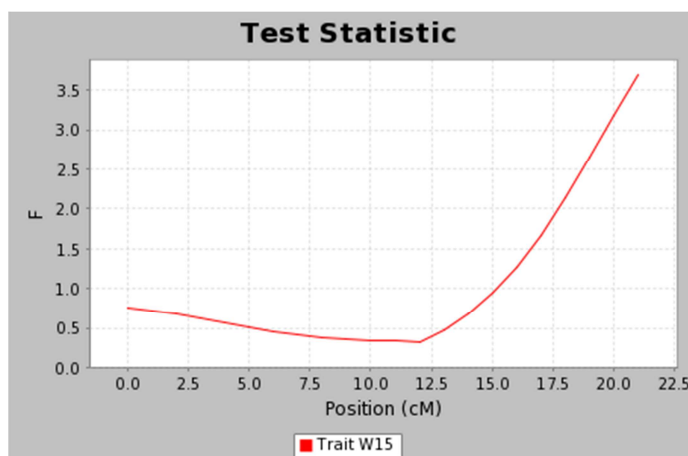


Fig. 3. The position of detected QTL of body weight at 15 days (W_{15}) in Japanese quail
شکل ۳- موقعیت QTL شناسایی شده برای صفت وزن ۱۵ روزگی (W_{15}) در بلدرچین ژاپنی

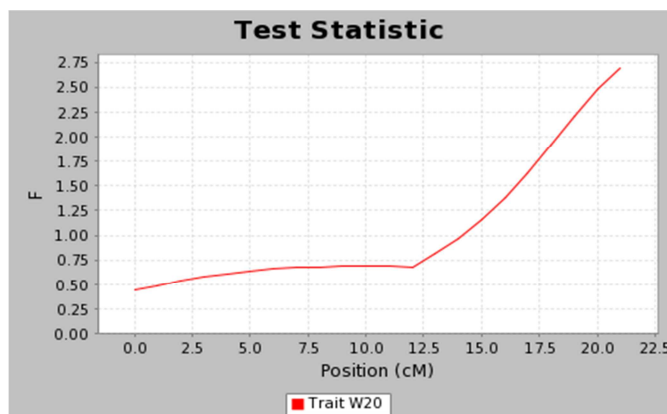


Fig. 4. The position of detected QTL of body weight at 20 days (W_{20}) in Japanese quail
 شکل ۴- موقعیت QTL شناسایی شده برای صفت وزن ۲۰ روزگی (W_{20}) در بلدرچین ژاپنی

وزن روزانه تولد تا شش هفتگی و نسبت کلیبر روی کروموزوم ۱ در خانواده‌های ناتنی حاصل از سویه وحشی بلدرچین ژاپنی به ترتیب در موقعیت‌های ۱۸، ۱۱، ۱۱، ۴، ۱۶، ۴ و ۵ سانتی‌مورگانی، QTL‌های معنی‌داری گزارش شده است (Esmailizadeh *et al.*, 2012). همچنین، سهرابی (۱۳۹۰) در مطالعه شناسایی QTL‌های مرتبط با صفات رشد روی کروموزوم ۳ بلدرچین ژاپنی، QTL‌های معنی‌داری را گزارش کردند. تجزیه اثر افزایشی آل‌های QTL برای صفت وزن سر در بلدرچین ژاپنی منجر به شناسایی یک QTL معنی‌دار در موقعیت ۴۵ سانتی-مورگان روی کروموزوم ۳ شد (Zhang *et al.*, 2006). همچنین، QTL مؤثر بر وزن تولد روی کروموزوم ۳ مرغ در موقعیت ۲۹ سانتی‌مورگانی گزارش شده است (Zhang *et al.*, 2006).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد نشانگرهای روی کروموزوم ۵ محتوای اطلاعات مفید چندشکلی بالایی دارند و برای تجزیه پیوستگی مناسب هستند. تجزیه پیوستگی منجر به شناسایی سه QTL برای صفات وزن تفریح و اوزان ۱۵ و ۲۰ روزگی شد که QTL وزن تفریح در ابتدای کروموزوم پنج و دو QTL مربوط به اوزان ۱۵ و ۲۰ روزگی تقریباً در انتهای کروموزوم پنج قرار داشتند. همچنین، متوسط اثر جایگزینی آل‌ها برای وزن تفریح منفی، ولی برای سایر صفات مثبت بودند. لذا استفاده از اطلاعات نشانگرهای مذکور در معادلات برآورد ارزش‌های اصلاحی پرندگان می‌تواند منجر به بهبود برآورد ارزش اصلاحی و پیشرفت ژنتیکی در بلدرچین شود.

تجزیه پیوستگی برای سایر صفات وزنی در بلدرچین ژاپنی منجر به شناسایی QTL معنی‌دار نشد ($P > 0.05$). اولین مطالعات در خصوص مکان‌یابی QTL‌های مؤثر بر صفات رشد بلدرچین ژاپنی شامل وزن پنج هفتگی و وزن هفتاد هفتگی پرندگان بودند، که برای هیچکدام از این صفات روی کروموزوم ۵، QTL معنی‌داری گزارش نشد و تنها QTL شناسایی شده روی کروموزوم ۵، QTL مؤثر بر دمای بدن در موقعیت ۱ سانتی‌مورگانی بود (Minvielle *et al.*, 2005). ایرانمنش و همکاران (۱۳۹۵) در تجزیه مدل اثر افزایشی جایگاه صفات کمی در قالب یک طرح سه نسلی با استفاده از تلاقی دو جانبه دو سویه سفید و سیاه، جایگاه ژنی مرتبط با افزایش وزن تولد تا یک هفتگی در موقعیت ۲۱ سانتی‌مورگان را روی کروموزوم ۵ گزارش نمودند ($P < 0.01$).

در سال‌های اخیر QTL‌های بیشتری روی کروموزوم شماره ۵ مرغ در مقایسه با بلدرچین شناسایی شد که این به دلیل توسعه نقشه نشانگرهای متراکم در ژنوم مرغ و مطالعات گسترده‌تر است. مطالعات در زمینه مکان‌یابی صفات وزنی و رشد در بلدرچین بسیار محدود است، اما مطالعات پراکنده‌ای در این ارتباط در سایر نقاط ژنوم بلدرچین انجام گرفته است. مطالعات اندکی برای مکان‌یابی جایگاه‌های کنترل‌کننده صفات رشد در بلدرچین وجود دارد که غالب آنها در مناطقی از ژنوم غیر از کروموزوم پنج قرار دارند، به طور مثال در شناسایی QTL‌های مؤثر بر وزن بدن در سنین مختلف شامل اوزان سه، چهار، پنج و شش هفتگی و همچنین میانگین افزایش وزن روزانه سه تا چهار هفتگی، میانگین افزایش

فهرست منابع

- ایرانمنش م.، اسماعیلی زاده کشکوئیه ع.، محمدآبادی م.، و سهرابی س. ۱۳۹۵. شناسایی جایگاه‌های ژنی موثر بر سرعت رشد و نسبت کلیبر روی کروموزوم شماره پنج بلدرچین ژاپنی. تحقیقات تولیدات دامی، ۵: ۱۲-۲۲.
- سهرابی س. ۱۳۹۰. نقشه‌یابی جایگاه‌های ژنی (QTL) مرتبط با رشد روی کروموزوم شماره ۱ در بلدرچین ژاپنی. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی. دانشکده کشاورزی. دانشگاه شهید باهنر کرمان.
- Buchanan F. C. and Thue T. D. 1998. Intrabreed polymorphic information content of microsatellites in cattle and sheep. *Canadian Journal of Animal Science*, 78: 425-428.
- Charati H. and Esmailizadeh A. K. 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.
- Churchill G. A. and Doerge R. W. 1994. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics*, 138: 963-971.
- Dekkers J. C. 2004. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons. *Journal of Animal Science*, 82: E313-E328.
- 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(1): 64-66.
- Groenen M. A., Cheng H. H., Bumstead N., Benkel B. F., Briles W. E., Burke T., Burt D. W., Crittenden L. B., Dodgson J., Hillel J., Lamont S., de Leon A. P., Soller M., Takahashi H. and Vignal A. 2000. A consensus linkage map of the chicken genome. *Genome Research*, 10(1): 137-147.
- Jabbari Ori R., Esmailizadeh A. K., Charati H., Mohammadabadi M. R. and Sohrabi S. 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.
- Kayang B. B., Vignal A., Inoue-Murayama M., Miwa M., Monvoisin J. L., Ito S., Minvielle F. 2004. A first-generation microsatellite linkage map of the Japanese quail. *Animal Genetics*, 35: 195-200.
- Liu X., Li H., Wang S., Hu X., Gao Y., Wang Q., Li N., Wang Y. and Zhang H. 2007. Mapping quantitative trait loci affecting body weight and abdominal fat weight on chicken chromosome one. *Poultry Science*, 86 (6): 1084-1089.
- Merril C. R., Dunau M. L. and Goldman D. 1981. A rapid sensitive silver stain for polypeptides in polyacrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 110: 201-207.
- Minvielle F., Kayang B. B., Inoue-Murayama M., Miwa M., Vignal A., Gourichon D., Neau A., Monvoisin J. L. and Ito S. I. 2005. Microsatellite mapping of QTL affecting growth, feed consumption, egg production, tonic immobility and body temperature of Japanese quail. *BMC Genomics*, 6: 87.
- Moradian H., Esmailizadeh A. K., Mohammadabadi M. R. and Sohrabi S. 2015. Identification of quantitative trait loci associated with weight and percentage of internal organs on chromosome 1 in Japanese quail. *Agricultural Biotechnology*, 6(4): 143-158.
- Moradian H., Esmailizadeh A. K., Sohrabi S., Nasirifar E., Askari N., Mohammadabadi M. R. and Baghizadeh A. 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: 455-462.
- Primmer C. R., Raudsepp T., Chowdhary B. P., Møller A. P. and Ellegren H. 1997. Low frequency of microsatellites in the avian genome. *Genome Research*, 7: 471-482.
- 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.
- Seaton G., Hernandez J., Grunche J. A., White I., Allen J., De Koning D. J. and Knott S. 2006. GridQTL: a grid portal for QTL mapping of compute intensive datasets. In *Proceedings of the 8th world congress on genetics applied to livestock production*. Belo Horizonte Brazil.
- Sohrabi S., Esmailizadeh A. K., Mohammadabadi M. R. and Moradian H. 2014. Mapping Quantitative Trait Loci underlying Kleiber ratio and identification of their mode of action in an F₂ population of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Agricultural Biotechnology*, 6(1): 111-122.
- Zane L., Bargelloni L. and Patarnello T. 2002. Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology*, 11(1): 1-16.
- Zhang S., Li H. and Shi H. 2006. Single marker and haplotype analysis of the chicken apolipoprotein B gene T123G and D9500D9-polymorphism reveals association with body growth and obesity. *Poultry Science*, 85: 178-184.



Research paper

Genome scan of Japanese quail chromosome 5 for detecting QTLs of growth traits

Kh. Ebrahimi¹, Gh. R. Dashab^{2*}, H. Faraji- Arough³, A. Maghsoudi⁴, M. Rokouei⁵

1. MSc. Graduated in Animal Breeding, Department of Animal Science, Agriculture Faculty, University of Zabol, Zabol, Iran
2. Associate Professor of Animal Breeding and Genetics, Department of Animal Science, Agriculture Faculty, University of Zabol, Zabol, Iran
3. Assistant Professor of Animal Breeding and Genetics, Research Center of Special Domestic Animals, University of Zabol, Zabol, Iran
4. Assistant Professor of Animal Breeding, Department of Animal Science and Bioinformatics, Agriculture Faculty, University of Zabol, Zabol, Iran
5. Associate Professor of Animal Breeding, Department of Animal Science and Bioinformatics, Agriculture Faculty, University of Zabol, Zabol, Iran

(Received: 30-07-2018 – Accepted: 08-10-2018)

Abstract

The aim of this study was to partial genome scan (chromosome 5) of Japanese quail to detect QTLs affecting growth traits based on a four-generation partial diallele cross design in Special Domestic Animals Research Center of University of Zabol. For this purpose, four strains of Wild (A), A and M of Texas (B), Italian Speckled (C) and Tuxedo (D) Japanese quails were crossed in two-strain reciprocal method and were created the first generation. Grandparents and fourth parents (18 and 36 birds, respectively) and all birds of fourth generation (315 birds) were genotyped for three microsatellite markers on chromosome 5. Also, all birds from hatch to 45 days were weighted at 5-day intervals. The QTL analysis was carried out using a regression-based interval mapping method and additive genetic model using GridQTL software. The results showed three different QTLs for hatch weight, weights at 15 and 20 days of age in 4.65, 16.03 and 15.63 cM, respectively. Therefore, if the adjacent marker information be entered in equation of breeding values estimation, it can lead to improve the reliability of prediction breeding value and finally result in genetic progress.

Keywords: Genome scan, Confidence interval, Bootstrapping, Weight traits

*Corresponding author: dashab@uoz.ac.ir