

مکان یابی جایگاه‌های ژنی مرتبط با انواع گلbulهای سفید، دمای بدن و بہت زدگی در بلدرچین ژاپنی

Mapping quantitative trait loci affecting leukocytes, body temperature and tonic immobility in Japanese quail

هادی چراتی^{*}، علی اسماعیلی‌زاده کشکوئیه^۱، رقیه جباری عوری^۱، احمد آیت‌الله‌ی Mehrgardی^۱

۱- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار، دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار، دانشگاه شهید باهنر کرمان

Charati H^{*1}, Esmailizadeh KA¹, Jabari R¹, Ayatollahi Mehrgardi A¹

1. MSc Student, Associate Professor, MSc Student, Assistant Professor, University of Shahid Bahonar, Kerman

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: hadicharati@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۱۴ - تاریخ پذیرش: ۹۲/۷/۳۰)

چکیده

به منظور مکان یابی جایگاه‌های ژنی (QTL) مرتبط با تنفس (نسبت هتروفیل به لنفوسیت)، ترس (بہت زدگی) (TI)، انواع گلbulهای سفید و دمای بدن در بلدرچین ژاپنی از یک طرح سه نسلی F2 به عنوان جمعیت نقشه یابی استفاده شد. نمونه خون ۴۷۲ پرنده در سن ۵ هفتگی جمع آوری و DNA به روش استخراج نمکی - کلروفورم، استخراج شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز جهت تکثیر نشانگرهای ریزماهواره‌ای GUJ0041 و GUJ0035 و GUJ0099 در کروموزوم شماره ۳ انجام شد. تجزیه QTL به روش نقشه یابی درون فاصله‌ای انجام شد. برای دو صفت دمای بدن و بہت زدگی QTL معنی داری روی کروموزوم شماره ۳ شناسایی نشد. اثرات اصلی QTL نیز بر هیچکدام از صفات مورد مطالعه معنی دار نبود، اما اثر متقابل جنس و اثر افزایشی QTL برای درصد هتروفیل، لنفوسیت، نسبت هتروفیل به لنفوسیت (در موقعیت ۳۸ سانتی مورگان نسبت به سانتروم) و درصد انوزنوفیل (در موقعیت ۲ سانتی مورگانی) معنی داری ($P < 0.05$) بود. اثر متقابل هجج و اثر افزایشی QTL نیز برای درصد مونوسیت در موقعیت ۳۴ سانتی مورگان (P < 0.01) و برای درصد انوزنوفیل در موقعیت ۵ سانتی مورگان کروموزوم شماره ۳، معنی داری بود ($P < 0.05$).

واژه‌های کلیدی

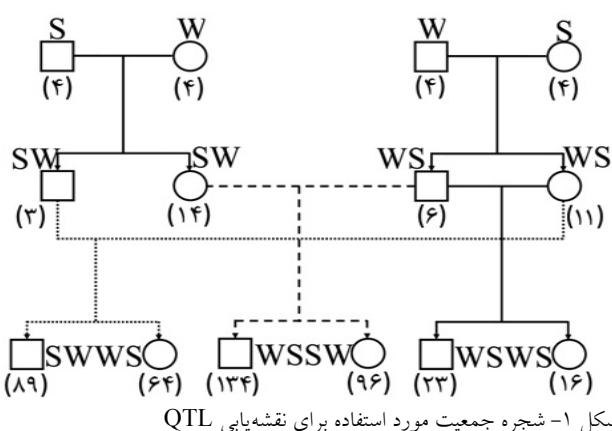
بہت زدگی
دمای بدن
گلbulهای سفید
نشانگرهای ریز ماهواره
QTL

مقدمه

مرتبط با انواع لنفوسيت‌ها، دمای بدن و روی کروموزوم شماره سه سایر گونه‌های طیور وجود ندارد و فقط نتایج QTL مرتبط با Baron et al. (2010) ارجاع اراده شده‌اند. برای مثال در تحقیق Aslam et al. (2011) گزارش شده، همچنین QTL شماره سه در موقعیت ۱۱۲ سانتی مورگان و همچنین QTL شماره مرتبط با نسبت وزن بال به کل وزن لاشه را روی کروموزوم شماره سه مرغ گزارش شد. همچنین (Valance et al. 2008) معنی‌داری را برای صفات وزن بدن، بازده سینه و کیفیت گوشت روی کروموزوم شماره سه بوقلمون گزارش کردند. در خصوص کروموزوم شماره سه بلدرچین نیز گزارشی از وجود QTL مرتبط با انواع گلbulهای سفید، دمای بدن و TI در دسترس نیست. لذا هدف از اجرای این تحقیق، مکان یابی جایگاه‌های ژنی مرتبط با درصد انواع گلbulهای سفید، دمای بدن و TI روی کروموزوم شماره سه در بلدرچین را پنی بود.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایشی مورد استفاده در این پژوهش شامل یک طرح سه نسلی F2 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 انجام شد (شکل ۱).



شکل ۱- شجره جمعیت مورد استفاده برای نقشه‌یابی QTL (S سویه سفید و W سویه وحشی)

کل جمعیت ایجاد شده جهت نقشه‌یابی شامل ۴۷۲ پرنده بود که نمونه خون مربوط به تمام ۴۷۲ پرنده (جهت استخراج DNA) جمع‌آوری شد. رکوردهای فنوتیپی مربوط به تعداد ۴۲۲ پرنده

افزایش غیرطبیعی هتروفیل‌ها بیانگر تنفس در طیور بوده (Harmon 1998; Richard 1998) و نسبت هتروفیل به لنفوسيت به عنوان یک شاخص فیزیولوژیکی مناسب و قابل اعتماد برای ارزیابی میزان تنفس در طیور (Gross and Siegel 1983) از جمله در مرغ Campo and Davila 2002) بهترین (TI¹) یک پاسخ ناخودآگاه به محرك‌های بیرونی است و مدت زمان آن می‌تواند نشان‌دهنده میزان ترس حیوان باشد (Valance et al. 2008). این واکنش در تعدادی از گونه‌های مهره‌داران از جمله پرنده‌گان (Gallup and Gordon 1979) رخ می‌دهد. بعضی از خصوصیات TI شامل بازدارندگی موقت از پاسخ مستقیم، کاهش صداده‌یی، به هم زدن متناوب چشم‌ها، لرزش ماهیچه‌ای زیاد شبیه پارکینسون و تغییر در ضربان قلب، تنفس و درجه حرارت بدن می‌باشد (Gallup 1977; Valance et al. 2008). این پدیده همراه با کاهش در هوشیاری نبوده و تکان دادن اتفاقی سر و پaha، بستن چشم و عدم صداده‌یی وضعیت کامل عدم تحرک را نشان می‌دهد. به علاوه (Faure and Jones 1981) پیشنهاد کردند که TI در مرغان بالغ دو مرحله دارد: مرحله اول ممانعت رفتاری بوده که از زمان القا تا اولین حرکت سر طول می‌کشد. پرنده در طی مرحله دوم هوشیار می‌شود و ممکن است صدا داده و چندین بار قبل از برخواستن سرش را تکان دهد. در پژوهشی (Minvielle et al. 2005) لاین بلدرچین انتخاب شده برای مدت زمان بالای TI و لاین انتخاب شده برای مدت زمان کوتاه TI را با هم تلاقی دادند و نسل اول را تولید کردند. سپس افراد نسل اول را با هم تلاقی دادند و افراد نسل دوم را ایجاد کردند. در نهایت تجزیه داده‌ها بیانگر QTL‌های معنی‌داری برای دمای رکتوم در سن ۵ هفتگی و TI روی کروموزوم شماره یک بود. در مطالعه‌ی دیگری که روی دو لاین بلدرچین با دوره‌ی TI کوتاه و دوره‌ی TI طولانی انجام گرفت نشان داده شد که TI و رفتار در فضای باز ممکن است تحت تاثیر نواحی ژنومی یکسان باشند (Beaumont et al. 2005). اگرچه شباهت زیادی بین زنوم بلدرچین و سایر گونه‌های طیور وجود دارد، گزارشی از QTL

¹ Tonic immobility

اتصال آغازگر GUJ0041 به مدت ۴۵ ثانیه، ۶۳ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه و ۳۰ ثانیه جهت سنتز نهایی و به تعداد ۳۵ سیکل بود. برای تفکیک محصولات PCR از الکتروفورز به وسیله ژل پلی اکریل آمید (الکتروفورز عمودی) استفاده شد. به منظور آشکارسازی باندهای موجود بر روی ژل، از روش رنگ-آمیزی نیترات نقره استفاده شد.

مدل‌های آماری مورد استفاده برای برآوردن موقعیت و آثار مربوط به QTL، از مدل‌های آماری مختلفی استفاده شد.

$$Y_{ijk} = \mu + H_i + S_j + aP_{ak} + e_{ijk} \quad (1)$$

$$Y_{ijk} = \mu + H_i + S_j + aP_{ak} + dP_{dk} + e_{ijk} \quad (2)$$

$$Y_{ijk} = \mu + H_i + S_j + aP_{ak} + dP_{dk} + iP_{ik} + e_{ijk} \quad (3)$$

مدل شماره یک فقط در برگیرنده آثار افزایشی QTL بود، که در این مدل: Y_{ijk} ، مشاهده مربوط به a امین هج، H_i اثر هج که دارای ۵ سطح بود، S_j اثر جنس پرنده که دارای دو سطح (نر و ماده) بود، a ، اثر افزایشی QTL، P_{ak} ، احتمال شرطی دریافت آلل سویه و حشی توسط پرنده k است. مدل شماره دو در برگیرنده آثار افزایشی و غلبه QTL بود، که در این مدل: d ، اثر غلبه ژنی QTL و P_{dk} احتمال شرطی هتروزیگوت بودن پرنده k ، بود. مدل شماره ۳ در برگیرنده آثار افزایشی، غلبه و اثر منشا والدی بود، که در این مدل: a ، اثر منشا والدی آلل Q (ایمپریتینگ^۱)، و P_{ik} ، احتمال شرطی اینکه هم پرنده k هتروزیگوت باشد و هم آلل سویه و حشی را از والد پدری دریافت نماید. علاوه بر ۳ مدل ذکر شده، اثر متقابل هج و اثر افزایشی QTL و اثر متقابل جنس و اثر افزایشی QTL نیز در دو تجزیه دیگر مورد بررسی قرار گرفت.

روشی که برای تجزیه QTL از آن استفاده شد، روش نقشه‌یابی درون فاصله‌ای مبتنی بر رگرسیون بود (Knott et al. 1996). بر اساس مدل‌های آماری مورد استفاده، یک QTL در هر یک سانتی‌مورگان در طول کروموزوم شماره سه برازش شد. نقطه‌ای که دارای حداکثر آماره F بود به عنوان محتمل ترین موقعیت QTL در نظر گرفته شد. برای تعیین معنی دار بودن QTL نیاز به تعیین آستانه‌های معنی دار کروموزومی در سطوح پنج درصد و یک

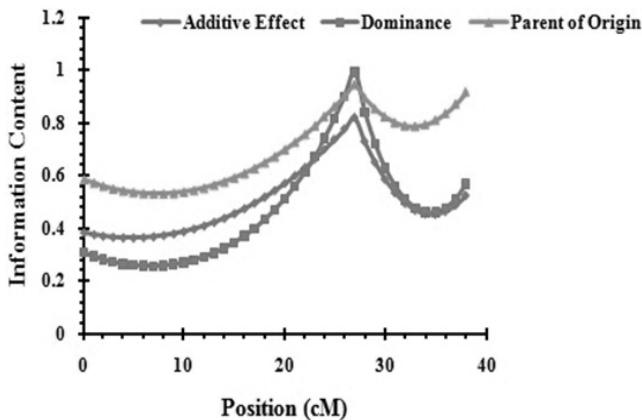
نسل F2 جمع‌آوری شده بود. معیار اندازه‌گیری میزان ترس، بهت زدگی یا مدت زمان عدم حرک حیوان پس از تحریک دستی (TI) بود (Jones 1986). برای اندازه‌گیری TI، پرنده به پشت خوابانده و با دست به مدت ۱۵ ثانیه به همین حالت ثابت نگهداشته شد. پس از آن مدت زمان عدم حرک حیوان تا زمانی که به خودی خود بلند شود، با استفاده از یک کورنومتر ثبت شد. تعداد تحریکات لازم برای شروع عدم حرک (N) یعنی تعداد دفعاتی که لازم بود پرنده به مدت ۱۵ ثانیه با دست نگهداشته شود نیز ثبت شد. اگر بعد از ۵ مرتبه تلاش، TI تحریک نمی‌شد، آزمایش روی آن پرنده خاتمه یافته و عدد صفر برای TI آن پرنده ثبت می‌شد. در صورتیکه TI بعد از ۱۵ دقیقه ادامه داشت، آزمایش روی پرنده خاتمه یافته و حداکثر مقدار TI (۹۰۰ ثانیه) برای آن ثبت می‌شد. در زمان اندازه‌گیری TI (سن ۳۵ روزگی)، علاوه بر وزن زنده، دمای بدن پرنده در ناحیه رکتوم با استفاده از دماسنج دیجیتال ثبت شد. برای شمارش گلبول‌های سفید خون، در هنگام کشtar در سن ۳۸ روزگی مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر خون جمع‌آوری و به داخل لوله‌های حاوی EDTA (برای جلوگیری از انعقاد خون) منتقل شد. سپس اسلایدهای خونی تهیه و در معرض هوا خشک شدند. اسلایدها با رنگ گیمسا - رایت رنگ-آمیزی شدند. شمارش گلبول‌های سفید بر اساس راهنمای استاندارد برای طیور (Ritchie et al. 1994) انجام شد. DNA به روش استخراج نمکی - کلروفورم از نمونه خون پرنده‌گان استخراج شد. آغازگر مربوط به هر کدام از نشانگرهای ریزماهواره Kayang et al. (2001) انتخاب و جهت سنتز به شرکت ژن فناوران سفارش داده شد (جدول ۱).

واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (PCR) شامل ۲/۲ میکرولیتر از DNA بدلرچین، ۱۶/۵ میکرولیتر آب، ۰/۳ میکرولیتر آنزیم Tag پلی مراز، یک میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای رفت و برگشت، ۰/۵ میکرولیتر از ۲/۵ dNTP میکرولیتر از بافر PCR و یک میکرولیتر از MgCl₂ بود. برنامه حرارتی مورد استفاده برای انجام واکنش PCR شامل ۹۴ درجه سانتی گراد جهت و اسرشته‌سازی دو رشته DNA برای ۳۰ ثانیه، ۵۵ درجه سانتی گراد برای اتصال آغازگرهای GUJ0099 و GUJ0035، ۵۷ درجه سانتی گراد برای

^۱ Imprinting

نام نشانگر	توالی آغازگر پیشو (5'-3')	توالی آغازگر پیشو (5'-3')	دامنه اندازه الی (جفت باز)
GUJ0099	TTTTAAGTTTCCCCAGGCAG	CTCTTATCCATCCCTTCCTTC	246-284
GUJ0035	GGGCAATAAAAGAAAGACTG	AATACTGGTTTGATGGC	144-150
GUJ0041	TGAAACATACCTGAGTGCTA	AAAATGTCTGCAAAATGGGC	114-126

میزان اطلاعات^۱ نشانگرها (IC) بر مبنای صفر تا یک (یا صفر تا ۱۰۰ درصد) 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 شماره سه بلدرچین در این تحقیق در جدول ۴ و همچنین شکل ۲ خلاصه شده است. از آنجا که اغلب مقدار IC در نواحی کروموزومی بین موقعیت نشانگرها، کمتر از مقدار IC در جایگاه نشانگر است (Weller 2001)، بنابراین کاهش میزان IC در نواحی کروموزوی شکل ۲) می‌تواند ناشی از فقدان نشانگرهای دارای اطلاعات مفید در یک یا چند خانواده باشد. در این حالت ژنتیپ احتمالی نشانگر با توجه به ژنتیپ نشانگرهایی که در فاصله دورتری قرار دارند، استنباط شده است. عواملی همچون تعداد افراد فاقد ژنتیپ و عدم تساوی تفرق آلل‌های مختلف نشانگر می‌تواند بر IC تاثیر بگذارد (Esmailizadeh et al. 2008).



شکل ۲- میزان اطلاعات نشانگرها (IC) در نقاط مختلف کروموزوم شماره ۳ بلدرچین ژاپنی برای آثار افزایشی، غلبه و ایمپریتینگ.

درصد بود که با استفاده از روش آزمون تبدیل (Churchill and Doerge 1994) محاسبه شد. مقادیر آماره F بدست آمده از تجزیه تعداد ده هزار سری داده برای ایجاد یک توزیع تجربی از آماره آزمون تحت فرض صفر مبنی بر عدم وجود QTL، رتبه‌بندی شدند. برای به دست آوردن خلاصه آماری و میانگین حداقل مریعات صفات از نرم افزار ASReml (Gilmour et al. 2006) و برای برازش مدل‌های آماری فوق، از نرم افزار GridQTL استفاده شد (Seaton et al. 2006).

نتایج و بحث

داده‌های تجزیه شده شامل TI، لگاریتم TI، تعداد دفعات تحریک پرنده، نسبت TI به تعداد دفعات تحریک پرنده، دمای رکتوم، شمار کل گلbulهای سفید و لگاریتم طبیعی آن، درصد هتروفیل و لگاریتم طبیعی آن، درصد لنفوسیت و لگاریتم طبیعی آن، درصد منوسيت، درصد ائوزینوفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت بود. آمار توصیفی صفات مورد بررسی شامل تعداد مشاهدات برای هر صفت، میانگین صفات، مقدار حداقل و حداکثر برای هر صفت، انحراف معیار باقیمانده و ضریب تغییرات در جدول ۲ آمده است. میانگین حداقل مریعات (S.E.) و اشتباه معیار (LSM) مورد بررسی به تفکیک جنس و هج در جدول ۳ آورده شده است.

اثر هج روی صفات درصد منوسيت و درصد ائوزینوفیل معنی-دار نشد. اثر هج روی صفات شمارش کل گلbulهای سفید، درصد هتروفیل، درصد لنفوسیت، و نسبت هتروفیل به لنفوسیت بسیار معنی‌دار بود ($P < 0.001$). بین دو جنس نر و ماده برای صفات مورد مطالعه تفاوتی معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳).

¹ Information content

جدول ۲- آمار توصیفی صفات مورد بررسی

صفت*	میانگین تصحیح شده	حداقل	حداکثر	انحراف معیار باقیمانده	ضریب تغییرات	۷۹/۰۳
T	۷۵/۲۱	۹/۰۹	۵۳۸/۴۰	۵۹/۴۴	۰/۲۶	۱۴/۷۴
LogT	۱/۷۷	۰/۹۸	۲/۷۳	۶۱/۴۰	۰/۶۴	۸۹/۱۰
TN	۶۸/۹۱	۱/۹۲	۵۳۸/۴۰	۶۱/۴۰	۰/۶۵	۴۷/۵۲
N	۱/۳۵	۱/۰۰	۵/۰۰	۰/۶۴	۰/۶۵	۱/۶۱
Tm	۴۰/۲۹	۳۸/۰۰	۴۲/۲۰	۰/۶۵	۲۶۹۰۳/۶۴	۱۰۱/۳۳
WBC	۲۶۵۵۰	۲۰۰۰/۰۰	۱۸۰۰۰/۰۰	۰/۷۲	۰/۷۲	۷/۴۰
LnWBC	۹/۷۸	۷/۶۰	۱۲/۱۰	۱۱/۲۰	۱۱/۲۰	۳۴/۲۰
HET	۳۲/۷۴	۵/۰۰	۷۸/۰۰	۰/۳۹	۰/۳۹	۱۱/۸۱
LnHET	۳/۳۶	۱/۶۱	۴/۳۶	۱۱/۱۵	۱۱/۱۵	۱۶/۵۸
LYM	۶۷/۲۷	۲۲/۰۰	۹۵/۰۰	۰/۱۹	۰/۱۹	۳/۹۳
LnLYM	۴/۱۷	۳/۰۹	۴/۰۵	۰/۱۷	۰/۱۷	۸۱۴/۲۸
MON	۰/۰۲	۱/۰۰	۲/۰۰	۰/۲۷	۰/۲۷	۱۴۵۵/۰۲
EO	۰/۰۱	۱/۰۰	۵/۰۰	۰/۳۹	۰/۳۹	۶۸/۷۹
HL	۰/۰۸	۰/۰۵	۳/۰۵			

* (T) مدت زمان عدم تحرک ناشی از ترس (ثانیه); (LogT) لگاریتم (T) نسبت مدت زمان عدم تحرک ناشی از ترس به تعداد دفعات تحریک پرنده؛ (N) تعداد دفعات تحریک پرنده؛ (Tm) دمای رکنوم (درجه سانتی گراد)؛ (WBC) شمار کل گلوبول های سفید؛ (LnWBC) لگاریتم طبیعی (WBC) درصد هتروفیل؛ (LnHET) لگاریتم طبیعی (HET) درصد منوسيت؛ (LYM) لگاریتم طبیعی (MON) درصد لنفوسيت؛ (LnLYM) درصد ائوزينوفیل؛ (EO) لگاریتم طبیعی (EO) درصد ائوزينوفیل به لنفوسيت.

مورد مطالعه در نزدیکی نشانگر GUJ0041 قرار داشت که باید در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر در بلدرچین ژاپنی مورد توجه قرار گیرد. بر اساس نتایج این تحقیق، فقط در مدل‌سازی اثر مقابله هج و اثر افزایشی QTL و مدل‌سازی اثر مقابله جنس و اثر افزایشی QTL برای صفات پارامترهای خونی QTL های معنی‌داری شناسایی شد که درصد واریانس و اثر QTL به واحد انحراف معیار مربوط به این صفات در جداول ۷ و ۸ آورده شده است. منظور از واریانس QTL، بخشی از واریانس فتوتیپی صفت مورد نظر است که بوسیله‌ی QTL توجیه می‌شود. واریانس QTL برآورده شده در پژوهش حاضر در محدوده‌ی ۰/۲ تا ۱/۱ درصد بود که در مقایسه با سایر پژوهش‌های نقشه‌یابی QTL انجام شده برای سایر صفات در بلدرچین (Esmailizadeh et al. 2012) این مقادیر بسیار کم به نظر می‌رسد. البته نوع طرح بکار رفته

در مدل‌سازی اثر افزایشی QTL، اثر توام افزایشی و غلبه QTL و همچنین در مدل‌سازی توام اثر افزایشی، غلبه و ایمپریتنینگ QTL برای صفات مورد مطالعه، QTL معنی‌داری شناسایی نشد. در مدل‌سازی اثر مقابله هج و اثر افزایشی QTL برای صفت درصد منوسيت در موقعیت ۳۴ سانتی‌مورگانی و برای درصد ائوزينوفیل در موقعیت ۵ سانتی‌مورگانی روی کروموزوم شماره سه QTL معنی‌دار شناسایی شد (جدول ۴). در مدل‌سازی اثر مقابله جنس و اثر افزایشی QTL برای صفات، لگاریتم طبیعی درصد هتروفیل، لگاریتم طبیعی درصد لنفوسيت و نسبت هتروفیل به لنفوسيت در موقعیت ۳۸ سانتی‌مورگانی، QTL معنی‌داری شناسایی شد. همچنین در این مدل برای درصد ائوزينوفیل در موقعیت ۷ سانتی‌مورگانی روی کروموزوم شماره ۳، QTL معنی‌دار شناسایی شد (جدول ۵). بیشترین تعداد QTL شناسایی شده موثر بر صفات

جدول ۳- میانگین حداقل مربعات (LSM) و اشتباہ معیار (S.E.) صفات مورد بررسی به تفکیک جنس و هج

WBC	Tm	N	TN	T	+صفت
LSM±S.E.	LSM±S.E.	LSM±S.E.	LSM±S.E.	LSM±S.E.	عوامل ثابت
** ۲۳۰۰۴/۴±۳۱۰۹/۰	** ۳۹/۹±۰/۰	۱/۱±۰/۰	* ۱۰۶/۶±۷/۰	* ۱۱۴/۵±۶/۸	هج ۱
۷۴۸۹/۳±۳۲۴۰/۲	۳۹/۶±۰/۰	۱/۴±۰/۰	۵۳/۲±۷/۴	۶۱/۷±۷/۱	۲
۴۱۷۸۹/۰±۳۱۷۴/۲	۴۰/۴±۰/۰	۱/۷±۰/۰	۴/۳±۷/۲	۵۶/۳±۷/۰	۳
۲۴۴۳۹/۱±۲۵۷۷/۶	۴۰/۳±۰/۰	۱/۱±۰/۰	۸۱/۸±۵/۹	۸۴/۵±۵/۷	۴
۳۲۷۰۱/۰±۲۷۷۶/۰	۴۰/۸±۰/۰	۱/۳±۰/۰	۵۵/۴±۶/۳	۶۰/۴±۶/۱	۵
NS ۲۷۳۵۱/۵±۱۷۳۴/۵	NS ۴۰/۱±۰/۰	NS ۱/۴±۰/۰	NS ۶۲/۷±۳/۹	NS ۷۲/۰±۳/۸	جنس نر
HL	EO	MON	LYM	HET	صفت
LSM±S.E.	LSM±S.E.	LSM±S.E.	LSM±S.E.	LSM±S.E.	عوامل ثابت
*** ۰/۹۹±۰/۰۴	NS •/۰۰	NS ۰/۰۰	*** ۵۴/۳۷±۱/۲۸	*** ۴۵/۸۹±۱/۲۹	هج ۱
•/۹۵±۰/۰۴	•/۰۷±۰/۰۳	•/۱±۰/۰۲	۵۲/۹۰±۱/۳۴	۴۶/۹۱±۱/۳۵	۲
•/۵۴±۰/۰۴	•/۰۰	•/۰۰	۶۵/۹۱±۱/۳۱	۳۴/۰۵±۱/۳۲	۳
•/۳۳±۰/۰۳	•/۰۱±۰/۰۲	•/۰۰	۷۶/۵۸±۱/۰۶	۲۲/۳۸±۱/۰۷	۴
•/۳۳±۰/۰۴	•/۰۰	•/۰۱±۰/۰۱	۷۸/۰۴±۱/۱۵	۲۱/۹۴±۱/۱۵	۵
NS ۰/۶۴±۰/۰۲	NS ۰/۰۳±۰/۰۱	NS ۰/۰۲±۰/۰۱	NS ۶۵/۸۷±۰/۷۱	NS ۳۴/۱۷±۰/۷۲	جنس نر
۰/۶۲±۰/۰۳	۰/۰۰±۰/۰۱	۰/۰۳±۰/۰۱	۶۵/۲۵±۰/۸۵	۳۴/۷۰±۰/۸۵	ماده

P < 0.001، P < 0.05 و P < 0.01 به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال ۰.۰۱، ۰.۰۵ و ۰.۰۰۱.

+ علائم اختصاری صفات در جدول ۱ تعریف شده‌اند.

جدول ۴- میزان اطلاعات مفید (IC) (بر مبنای صفر تا ۱) در نقاط مختلف کروموزوم شماره سه بلدرچین ژاپنی برای آثار افزایشی، غلبه و ایمپریتینگ. بیشترین میزان اطلاعات مربوط به نشانگر GUJ0035 می‌باشد که در موقعیت ۲۷ سانتی مورگانی کروموزوم شماره ۳ بلدرچین ژاپنی قرار دارد.

نشانگر	GUJ0041	GUJ0035	GUJ0099	موقعیت (CM)
اطلاعات افزایشی	۳۸	۲۷	.	
اطلاعات غلبه	۳۱/۰	۷۶/۰	۲۲/۰	
اطلاعات ایمپریتینگ	۱۲/۰	۹۹/۰	۱۲/۰	
افراد تعیین ژنتیک شده (%)	۴۰/۰	۹۴/۰	۳۱/۰	P (%)
(۱۰۰ درصد)	۱۶ (۱۰۰ درصد)	۱۶ (۱۰۰ درصد)	۱۶ (۱۰۰ درصد)	
(۱۰۰ درصد)	(۳۴	(۱۰۰) ۳۴	(۱۰۰) ۳۴	F1 (%)
(۱۰۰ درصد)	۴۱۹	(۱۰۰) ۴۱۹	(۱۰۰) ۴۱۹	F2 (%)
تعداد ال	۳	۳	۳	

جدول ۵- نتایج معنی دار حاصل از مدل‌سازی اثر متقابل QTL و هج

LOD	F	اثر متقابل هج و اثر افزایشی QTL					صفت ⁺ موقعیت (سانتی مورگان)
		۵ هج a±S.E.	۴ هج a±S.E.	۳ هج a±S.E.	۲ هج a±S.E.	۱ هج a±S.E.	
۲/۸۷	۲/۶۸*	۰/۰۰۰۲±۰/۰۴	-۰/۰۲۷±۰/۰۳۷	۰/۰۰۰۲±۰/۰۴۱	۰/۱۴۶±۰/۰۴	۰/۰۰۰۷±۰/۰۳۵	۳۴ MON
۳/۸۴	۳/۶۱**	۰/۰۰۰۳±۰/۰۶۶	۰/۰۰۳۰±۰/۰۶	۰/۰۰۳۵±۰/۰۷۲	۰/۰۲۸۵±۰/۰۶۸	-۰/۰۰۰۳±۰/۰۶	۵ EO

* و ** به ترتیب اثر معنی داری QTL در سطح ($P < 0.05$) و ($P < 0.01$)

+ علائم اختصاری صفات در جدول ۱ تعریف شده‌اند.

جدول ۶- نتایج معنی داری حاصل از مدل‌سازی اثر متقابل QTL و جنس

LOD	F	اثر متقابل جنس و اثر افزایشی QTL		صفت ⁺ موقعیت (سانتی مورگان)
		ماده a±S.E.	نر a±S.E.	
۱/۹۹	۴/۶۳*	۰/۰۶۸±۰/۰۶	-۰/۱۳۶±۰/۰۴۸	۳۸ LnHET
۱/۹۹۹	۴/۶۵*	-۰/۰۳۳۱±۰/۰۲۹	۰/۰۶۷۳±۰/۰۲۳	۳۸ LnLYM
۱/۶۹۶	۳/۹۴*	۰/۰۰۱۱±۰/۰۴۶۹	۰/۱۰۳۸±۰/۰۳۶	۷ EO
۱/۸۵۷	۴/۲۲*	۰/۰۵۴۵±۰/۰۶	-۰/۱۳۵۹±۰/۰۴۸	۳۸ HL

* و ** به ترتیب اثر معنی داری QTL در سطح ($P < 0.05$) و ($P < 0.01$)

+ علائم اختصاری صفات در جدول ۱ تعریف شده‌اند

جدول ۷- واریانس ناشی از QTL و اثر QTL به واحد انحراف معیار باقی مانده برای صفات معنی دار حاصل از تجزیه مدل‌سازی اثر متقابل هج و اثر افزایشی QTL

F	اثر QTL به واحد انحراف معیار					QTل	درصد واریانس	(cM)	صفت ⁺ موقعیت
	۵ هج a±S.E.	۴ هج a±S.E.	۳ هج a±S.E.	۲ هج a±S.E.	۱ هج a±S.E.				
۲/۶۸*	۰/۰۱۱±۰/۲۲۳	-۰/۱۵۷±۰/۲۱۶	۰/۰۰۱±۰/۲۲۹	۰/۰۸۵۳±۰/۲۳۳	۰/۰۰۴±۰/۰۲۴	۰/۳۳۹	۳۴	MON	
۳/۶۱**	۰/۰۱۰±۰/۰۲۴	۰/۰۱۰±۰/۰۲۱۸	۰/۱۲۷±۰/۰۲۶۱	۱/۰۳±۰/۰۲۴۷	-۰/۰۱۰±۰/۰۲۱۸	۱/۰۰۵۷	۵	EO	

+ علائم اختصاری صفات در جدول ۱ تعریف شده‌اند

حداکثر میزان نتاج F2 به ازای هر کدام از والدین نر، در طی ۵ جوجه درآوری متوالی این تعداد افراد ایجاد شد. بنابراین اثر هج به عنوان یک اثر ثابت تاثیر قابل توجهی در شناسایی جایگاه‌های موردنظر داشت. جداول ۷ و ۸ نشان می‌دهند که بیشترین واریانس QTL ایجاد شده در بین صفات مربوط به درصد ائوزینوفیل می‌باشد. ائوزینوفیل حدود پنج درصد از گلوبول سفید خون را تشکیل می‌دهد و دارای هسته دلویه است. تعداد ائوزینوفیل‌ها در واکنش به بیماری‌ها در خون افزایش می‌یابد. مونوپویت‌ها بزرگترین سلول در جریان خون محسوب می‌شوند و در مراحل اولیه واکنش اینمی در فاگوسیتوز شرکت دارند (Guyton and

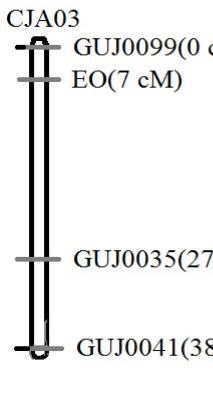
در پژوهش‌های مختلف می‌تواند در برآورد اندازه اثر QTL تاثیرگذار باشد. به طور مثال با توجه به کمتر بودن قدرت آماری طرح ناتنی نسبت به طرح F2 احتمالاً میزان واریانس QTL در طرح‌های ناتنی بیش از میزان واقعی برآورده شود. با توجه به واریانس پایین QTL یافت شده در این تحقیق، احتمالاً QTL‌های واریانس روحی سایر کروموزوم‌ها وجود دارند که این صفات را با اثر عمده روی این تأثیر قرار می‌دهند. با توجه به جدول ۷، اثر افزایشی QTL‌های مربوط به صفات درصد مونوپویت و درصد ائوزینوفیل با هج دارای اثر متقابل معنی دار بود. با توجه به اینکه ایجاد تمام جمعیت F2 به طور یکباره و در طی یک هج امکان‌پذیر نبود، برای تولید

جدول ۸- واریانس ناشی از QTL و اثر QTL به واحد انحراف معیار باقیمانده برای صفات معنی دار حاصل از تجزیه مدل سازی اثر متقابل جنس و اثر افزایشی QTL

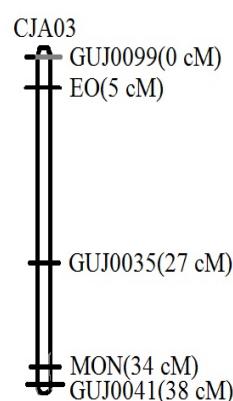
F	اثر QTL به واحد انحراف معیار		درصد واریانس QTL	موقعیت (سانتی مورگان)	صفت ⁺
	نر	ماده			
	a±S.E.	a±S.E.			
۴/۸۱*	۰/۱۹±۰/۱۵	-۰/۳۴±۰/۱۲	۰/۲۲	۳۸	HETER
۴/۶۳*	۰/۱۷±۰/۱۵	-۰/۳۴±۰/۱۲	۰/۲۱	۳۸	LnHETER
۴/۷۰*	-۰/۱۹±۰/۱۵	۰/۳۴±۰/۱۲	۰/۲۱	۳۸	LYM
۴/۶۵*	-۰/۱۷±۰/۱۴	۰/۳۴±۰/۱۱	۰/۲۶	۳۸	LnLYM
۳/۹۴*	۰/۰۰±۰/۱۷	۰/۳۷±۰/۱۳	۱/۰۵	۷	EO
۴/۳۲*	۰/۱۳±۰/۱۵	-۰/۳۴±۰/۱۲	۰/۳۷	۳۸	HL

* و ** به ترتیب اثر معنی داری QTL در سطح ($P < 0.05$) و ($P < 0.01$)

+ عالائم اختصاری صفات در جدول ۱ تعریف شده اند



شکل ۴- موقعیت QTL و نشانگرها روی کروموزوم شماره ۳ در مدل سازی اثر متقابل QTL و جنس



شکل ۳- موقعیت QTL و نشانگرها روی کروموزوم شماره ۳ در مدل سازی اثر متقابل QTL و هج

واقعی از تنش شدید می‌باشد. در تحقیق (Maxwell et al. 1993) مشاهده شد هتروفیل‌ها ممکن است در پاسخ به تنش متوسط اما بازو فیل‌ها در شرایط تنش شدید به وجود می‌آیند. در مدل سازی اثر متقابل هج و اثر افزایشی QTL، موقعیت شناسایی شده برای صفت درصد اثوزینوفیل در موقعیت ۵ سانتی مورگانی و در مدل-سازی اثر متقابل جنس و اثر افزایشی QTL، در موقعیت ۷ سانتی مورگانی بود. بنابراین QTL موثر برای این صفت در ابتدای کروموزوم سه و نزدیک به نشانگر GUJ0099 قرار دارد. برای تمامی صفات درصد هتروفیل، درصد لنفوسيت، نسبت هتروفیل به لنفوسيت در دوره نهم/دوره نهم/شماره ۱ بهار ۱۳۹۳

(Hall 2011). بنابراین یافتن جایگاه‌های کنترل کننده این سلول‌های خونی و در نهایت شناسایی شبکه ژنی کنترل کننده این سلول‌های خونی می‌تواند در کشف دارو و همچنین اصلاح ژنتیکی پرنده‌گان با هدف تولید سویه‌های مقاوم به انواع عوامل تنش‌زا مفید باشد. با توجه به جدول ۸، QTL‌های شناسایی شده برای صفات درصد هتروفیل، درصد لنفوسيت، نسبت هتروفیل به لنفوسيت و درصد اثوزینوفیل با جنس دارای اثر متقابل معنی دار بود. در طی تحقیقی که (Gross and Siegel 1983) انجام دادند، بیان داشتند که نسبت هتروفیل به لنفوسيت در نرها بیشتر از ماده‌ها است. همچنین مشخص شده که نسبت هتروفیل به لنفوسيت یک شاخص

تیموس است که متأثر از کورتیکوستروئیدها می‌باشد. بنابراین، نسبت هتروفیل به لنفوسیت معرف بهتری برای تغییرات فیزیولوژیکی دراز مدت است (Gross and Siegel 1983) که متأثر از فعالیت بورس فابریسیوس و تیموس می‌باشد. از طرف دیگر در برنامه‌های اصلاح ژنتیکی، اندازه‌گیری مقاومت به مجموعه عوامل تشخیز در دراز مدت اهمیت دارد، لذا نسبت هتروفیل به لنفوسیت معیار مناسب‌تری برای انتخاب ژنتیکی برای مقاومت به تشخیز به نظر می‌رسد. در طی تحقیقی که (2005) Minvielle et al. QTL مرتبط با TI را روی کروموزوم شماره‌ی یک شناسایی کردند، اما در تحقیق حاضر برای این خصوصیت روی کروموزوم شماره سه QTL یافت نشد. پیشنهاد می‌شود به منظور شناسایی دقیق تر و تعداد بیشتر QTL دخیل در صفات مورد مطالعه در این تحقیق سایر کروموزوم‌ها نیز مورد بررسی قرار گیرند.

منابع

- Aslam ML, BasTlaansen, JWM, Crooijmans RPMA, Vereijken A, Megens HJ, Groenen MAM (2011) Whole genome QTL mapping for growth, meat quality and breast meat yield traits in turkey. BioMed Central Genetics 12:61.
- Baron EE, Moura AS, Ledur MC, Pinto LF, Boschiero C, Ruy DC, Nones K, Zanella EL, Rosario MF, Burt DW, CouTInho LL (2010) QTL for percentage of carcass and carcass parts in a broiler x layer cross. Journal of Animal Genetics 42:117-124.
- Beaumont C, Roussel O, Feve K, Vignoles F, Leroux S, Pitel F, Faure JM, Mills AD, Guemene D, Sellier N, Mignon-Grasteau S, Le Roy P, Vignal A (2005) A genome scan with AFLP markers to detect fearfulness-related QTLs in Japanese quail. Journal of Animal Genetics 36: 401-407.
- Campo JL, Davila SG (2002) Estimation of heritability for heterophil:lymphocyte ratio in chickens by restricted maximum likelihood: Effects of age, sex, and crossing. Journal of Poultry Science 81:1448-1453.
- Churchill GA, Doerge RW (1994) Empirical threshold values for quantitative trait mapping. Genetics 138: 963-971.
- Esmailizadeh KA, Mohammad Abadi MR, Asadi Foozi M (2008) Mapping quantitative trait loci in livestock using simple linear regression. Iranian Journal of Animal Sciences 39: 83-93. (In Farsi)
- Esmailizadeh AK, Baghizadeh A, Ahmadizadeh M (2012) Genetic mapping of quantitative trait loci affecting bodyweight on chromosome 1 in a commercial strain of Japanese quail. Animal Product Sciences 52: 64-68.

جایگاه معنی‌داری در موقعیت ۳۸ سانتی‌مورگانی شناسایی شد. از میان صفات مورد بررسی در این مطالعه برای صفات درصد اثوزینوفیل، درصد مونوپلیت، درصد هتروفیل، لگاریتم طبیعی درصد هتروفیل، درصد لنفوسیت، نسبت هتروفیل به لنفوسیت در مدل‌سازی اثر متقابل هج و جنس با اثر افزایشی QTL، جایگاه‌هایی روی کروموزوم شماره سه بلدرچین شناسایی شد. استفاده از راهکارهای اصلاح نژادی به منظور توسعه و پرورش پرنده‌گان مقاوم به مجموعه عوامل تشخیز، نیازمند تعیین معیار مناسب برای اندازه‌گیری صفت و انتخاب افراد جمعیت بر اساس این معیار می‌باشد. واکنش نسبت به ترس (TI) و نسبت هتروفیل به لنفوسیت (H/L)، به عنوان دو معیار مناسب از پاسخ پرنده به تشخیز هستند که در این پژوهش برای صفت نسبت هتروفیل به لنفوسیت QTL معنی‌داری در موقعیت ۳۸ سانتی‌مورگانی کروموزوم ۳ شناسایی شد. نسبت هتروفیل به لنفوسیت بیانگر تغییر فیزیولوژیکی در اندام‌هایی همچون غدد بورس فابریسیوس و

- Gallup JG, Gordon G (1979) Tonic immobility as a measure of fear in domestic fowl. Animal Behavior 27:316-317.
- Gallup JG (1977) Tonic immobility; The role of fear and predation. The psychological record 27: 41-61
- Gilmour AR, Gogel BJ, Cullis BR, Thompson R (2006) 'ASReml user guide release 2.0.' (VSN International Ltd: Hemel Hempstead, UK)
- Gross WB, Siegel HS (1983) Evaluation of heterophil/lymphocyte ration as a measure of stress in chickens. Avian Diseases 27:972-977.
- Guyton AC, Hall John E (2011) Textbook of Medical Physiology (12 th ed) 516- 549.
- Harmon BG (1998) Avian heterophils in inflammation and disease resistance. Poultry Science 77:972-977.
- Jones R, Faure J (1981) The effects of regular handling on fear responses in the Domestic chlck. Behavioral processes 6: 135-143.
- Jones RB (1986) The tonic immobility reaction of the domestic fowl: A review. World's Poultry Science Journal 42: 82-97.
- Kayang BB, Murayama M, Hoshi T, Matsuo K, Takahashi H, Minezawa M, Mizutani M, Ito S (2001) Microsatellite loci in Japanese quail and cross-species amplification in chicken and guinea fowl. Genetics Selection Evolution 34: 233-253
- Knott SA, Elsen JM, Haley CS (1996) Methods for multiple-marker mapping of quantitative trait loci in half-sib populations. Theoretical and Applied Genetics 93: 71-80.

Maxwell MH (1993) Avian blood leucocyte responses to stress. *World's Poultry Science* 49:34-43.

Minvielle F, Kayang B, Inoue-Murayama M, Miwa M, Vignal A, Gourichon D, Neau A, Monvoisin J, 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.

Richard JJ (1998) Physiological management and environmental triggers of the ascites syndrome. *Poultry International* 37:28-33.

Ritchie BW, Harrison JG, Harrison RL (1994) Avian medicine. Winger's Publishing Inc., Florida, pp.176-198.

Seaton G, Hernandez J, Grunche JA, White I, Allen J, De Koning DJ, Wei W, Berry D, Haley C, Knott S (2006) Grid QTL: A grid portal for QTL mapping of compute intensive datasets. in: *Proceedings of the 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, August 13-18. Belo Horizonte, Brazil.

Valance D, Després G, Richard S, Constantin P, Mignon-Grasteau S, Leman S, Boissy A, Faure JM, Leterrier C (2008) Changes in Heart rate variability during a tonic immobility test in quail. *Physiology and Behavior* 93: 512-520.

Weller JI (2001) Quantitative trait loci analysis in animals. CABI Publishing London 287.