

ارزیابی عملی مکان یابی جایگاه صفت کمی مرتبط با صفات لاشه روی کروموزوم ۲ در بلدرچین با استفاده از طرح ناتنی

Empirical evaluation to QTL mapping of carcass traits in quail using a half-sib design on chromosome 2

احسان نصیری فر*^۱، علی اسمعیلی زاده کشکوئیه^۲، حسن مرادیان^۲، سعید سهرابی^۲
۱- دانش‌آموخته دکتری دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
۲- به ترتیب استاد، دانشجویان دکتری، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران

Nasirifar E^{*1}, Esmailizadeh A², Moradian H², Sohrabi S²

1- Graduated PhD Student, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2- Professor, PhD Students, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Ehsan.nasirifar@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۱۵ - تاریخ پذیرش: ۹۴/۷/۱۹)

چکیده

برای شناسایی جایگاه‌های صفات کمی (QTL) موثر بر لاشه و اجزاء آن روی کروموزوم دو در بلدرچین ژاپنی از یک طرح ناتنی پدری استفاده شد. از آمیزش متقابل دو سویه سفید (تخمگذار) و وحشی (گوشتی) بلدرچین ژاپنی تعداد ۳۴ پرند در نسل اول ایجاد شد و از آمیزش پرندگان نسل اول در قالب ۹ خانواده ناتنی پدری تعداد ۴۲۲ نتاج در طی پنج هیچ متوالی تولید شد. رکوردگیری فنوتیپی از صفات مربوط به لاشه پرندگان انجام شد و تمامی پرندگان مربوط به ۹ خانواده ناتنی پدری برای ۴ نشانگر ریزماهواره موجود بر روی کروموزوم دو تعیین ژنوتیپ شدند. تجزیه QTL به روش مکان‌یابی درون فاصله‌ای مبتنی بر رگرسیون به صورت طرح ناتنی پدری توام و انفرادی انجام شد. در طرح ناتنی پدری توام، صفات وزن پیش معده و درصد پیش معده نزدیک نشانگر GUJ0084 و در موقعیت ۴۹ سانتی‌مورگان و درصد پانکراس نزدیک نشانگر GUJ0093 و در موقعیت ۶۰ سانتی‌مورگان دارای QTL معنی‌دار بودند و در طرح ناتنی پدری انفرادی، علاوه بر سه QTL معنی‌دار ذکر شده در طرح توام، ۱۲ QTL معنی‌دار دیگر در موقعیت‌های مختلف و با اثر جایگزینی آلی یافت شد. درصد واریانس QTL در تجزیه انفرادی در محدوده ۶/۶۷ تا ۳۳/۸۷ و در تجزیه توام در محدوده ۲/۳۵ تا ۶/۱۰ قرار داشت. QTL‌های شناسایی شده برای صفات لاشه در این تحقیق می‌توانند در بررسی ژن‌های کاندیدا و نیز انجام انتخاب به کمک نشانگر برای صفات لاشه در بلدرچین ژاپنی مفید باشند.

واژه‌های کلیدی

بلدرچین ژاپنی
جایگاه صفات کمی
صفات لاشه
طرح ناتنی پدری

مقدمه

توسعه نقشه‌های پیوستگی با تعداد زیادی از نشانگرهای مولکولی، نقشه‌یابی ژن‌های مرتبط با صفات کمی را میسر می‌سازد. بررسی QTL در گیاهان و حیوانات آزمایشگاهی به علت در دسترس بودن داده‌های تلاقی برگشتی و نسل F₂، بیش‌ترین موفقیت را در پی دارد و استفاده از این داده‌ها می‌تواند در شناخت دقیق ژنوتیپ والدینی، فازهای پیوستگی جایگاه‌ها و تعداد آلل در QTL مورد نظر موثر باشد و از آنجاکه تمامی افراد ژنوتیپ والدینی یکسانی را به اشتراک می‌گذارند و داده‌ها نیز به عنوان یک خانواده بزرگ محسوب می‌شوند در نتیجه، اثر غلبه و جایگزینی QTL را می‌توان به‌طور مستقیم برآورد کرد. در شرایط عدم تعادل پیوستگی، فاز پیوستگی بین QTL و نشانگرها از یک خانواده به خانواده دیگر متفاوت خواهد بود و بنابراین، تجزیه و تحلیل پیوستگی نشانگر و QTL را درون یک خانواده امکان پذیر می‌سازد (Martinez et al. 1999). روش‌های نقشه‌یابی جایگاه صفات کمی (QTL) بر اساس تجزیه و تحلیل ارتباط بین آلل‌های نشانگر و فنوتیپ استوار است و در این خصوص طرح هیبریداسیون قدرت تشخیص را به حداکثر می‌رساند (Baro et al. 2001).

دو مدل کاربردی که به‌طور گسترده برای بررسی QTL استفاده می‌شوند، نقشه‌یابی درون فاصله‌ای حداقل مربعات تلاقی لاین و طرح ناتنی هستند. روش اول تلاقی نژادی سه نسلی است که برای شناسایی QTL بین نژادهای متفاوت به کار می‌رود. این مدل در حالتی که QTL برای آلل‌های متفاوت در نژاد والدینی تثبیت شده باشد، قدرتمندترین روش محسوب می‌شود و اگر فراوانی آللی در نژاد والدینی مشابه باشد قدرت تشخیص QTL کاهش می‌یابد. همچنین طرح ناتنی پدری زمانی که خانواده‌های پدری F₁ به اندازه کافی موجود باشند می‌تواند برای جمعیت F₂ به کار رود. بر خلاف تجزیه و تحلیل تلاقی لاین، تجزیه و تحلیل ناتنی می‌تواند برای نژادهای والدینی که فراوانی‌های آللی مشابه‌ای دارند نیز QTL شناسایی کند (Lee et al. 2007).

بررسی QTL و روش‌های نقشه‌یابی بر این فرض استوارند که QTL یک اثر ثابت یا تصادفی است. برای نقشه‌یابی درون فاصله‌ای در طرح تلاقی لاین‌ها و همچنین در طرح ناتنی از روش

رگرسیون استفاده می‌شود. روش‌های رگرسیونی بر اساس یک مدل خطی عمومی که QTL را به‌عنوان اثر ثابت تلقی می‌کنند طراحی شده‌اند. در این روش تجزیه و تحلیل گروه‌های پیوستگی فردی در سرتاسر چندین خانواده ناتنی و بر اساس طرح آشیانه‌ای درون خانواده‌ای انجام می‌گیرد (Kolbehdari et al. 2005).

درک چگونگی کنترل جایگاه صفات مهم اقتصادی می‌تواند به بهبود برنامه‌های اصلاح نژادی در خصوص صفاتی که پیشرفت آن‌ها از طریق انتخاب سنتی دشوار است کمک کند (Rao et al. 2007). از جمله این صفات می‌توان به صفات لاشه و اجزاء آن اشاره کرد که بر ارزش اقتصادی تاثیر گذارند. از آنجاکه نمی‌توان این صفات را به‌طور مستقیم بر روی حیوان زنده اندازه‌گیری کرد، افزایش درک واکنش‌های مولکولی برای شناسایی و توزیع واریانس ژن‌ها و استفاده از اطلاعات به دست آمده از آن‌ها می‌تواند در برنامه‌های اصلاح نژادی موثر باشد (Nasser et al. 2012). با توجه به این‌که اطلاعات چندانی در خصوص مطالعات مکان‌یابی QTL بر روی کروموزوم دو بلدرچین وجود ندارد و از آنجاکه دو گونه مرغ و بلدرچین در رده‌بندی جانوری متعلق به خانواده Galliformes با کاریوتیپ یکسان و ۳۹ جفت کروموزوم (2n=78) (۸ جفت کروموزوم متفاوت از لحاظ سیتوژنتیکی ۱-۸ (ماکروکروموزوم‌ها) به اضافه کروموزوم‌های جنسی Z و W و ۳۰ جفت میکروکروموزوم) (Rao et al. 2007) هستند و حدود ۳۵ میلیون سال پیش انشقاق یافته‌اند، بنابراین از اطلاعات به دست آمده در خصوص مرغ احتمالاً بتوان در مطالعه ژنومی روی بلدرچین استفاده کرد (Kayang et al. 2006).

مرغ به‌عنوان یک مدل حیوانی و یک حیوان اقتصادی که مطالعات نقشه‌یابی ژنومی گسترده‌ای بر روی آن انجام گرفته شناخته شده است. امروزه بیش از ۶۰۰ جایگاه صفات کمی با استفاده از اسکن ژنومی در مرغ شناسایی شده است (Rao et al. 2007). در یک تحقیق مناطق ژنومی تاثیرگذار بر اجزاء لاشه از قبیل وزن ماهیچه سینه، بال‌ها و ران‌ها در تلاقی‌های مختلفی بین و درون نژادهای گوناگون مرغ نقشه‌یابی شده‌اند (chicken QTLdb; http://www.animal_genome.org/cgi/QTLdb/CG/index) (Nasser et al. 2012). در تحقیق دیگری مطالعات درون خانواده‌ای و تجزیه ناتنی در یک طرح دو نسلی برای درک تفرق آلل‌ها و

جدول ۱- مشخصات کلی نشانگرهای ریزماهوره مورد مطالعه در این تحقیق					
دما (°C)	دامنه اندازه آلی (bp)	توالی آغازگر		موقعیت (cM)	نشانگر
		رفت (5'-3')	برگشت (5'-3')		
۵۲	۱۴۴-۱۶۰	GCTGCTATTCTGTTGATGTG	CAACTGCAAAGACAACATCC	۰	GUJ0073
۵۴	۲۰۱-۲۱۱	TTCAGGGTAGCAGTCATCTC	CACCAACCACCTTCATCTTC	۱۳	GUJ0073
۵۵	۱۵۹-۱۶۵	ACTCCTCCTCTTCTCCCTC	TCCCGTCTCCCGATGTGTTT	۴۴	GUJ0084
۶۰	۲۱۳-۲۳۱	CTCTTGATTGTAAGTGGGC	AGCCATAGAGGGCTATTAAG	۶۰	GUJ0093

* موقعیت نشانگرها روی کروموزوم ۲ بلدرچین ژاپنی بر اساس نقشه پیوستگی؛ ** Base pair (جفت باز)؛ *** دمای بهینه اتصال آغازگر به رشته الگو.

مواد و روش‌ها

جمعیت نقشه‌یابی و رکوردگیری فنوتیپی

از آمیزش متقابل دو سویه سفید (تخمگذار) و ابلق وحشی (گوشتی) بلدرچین ژاپنی تعداد ۳۴ پرندۀ نسل اول ایجاد شد. از آمیزش پرندگان نسل اول در قالب ۹ خانواده نانتی پدری تعداد ۴۲۲ نتاج در طی پنج هج متوالی تولید شد. برای رکوردگیری فنوتیپی از نتاج، پرندگان ۳۵ روزه که به بلوغ جنسی رسیده و وزن آن‌ها مناسب بود کشتار شدند. خصوصیات مربوط به صفات لاشه با ترازوی با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد.

استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ

به منظور استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ در هنگام کشتار از تمام پرندگان خون‌گیری شد. استخراج DNA از نمونه‌های خون کامل با استفاده از روش استخراج نمکی انجام گرفت (Miller et al. 1988). ژنوتیپ پرندگان نه خانواده نانتی برای چهار نشانگر ریزماهوره روی کروموزوم شماره ۲ تعیین شد (جدول ۱). نشانگرهای ریزماهوره با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) تکثیر یافتند. واکنش PCR در حجم کلی ۲۵ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر DNA، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR، یک میکرولیتر $MgCl_2$ ، ۰/۵ میکرولیتر dNTP، یک میکرولیتر آغازگر رفت (۰/۲۵ میکرومول)، یک میکرولیتر آغازگر برگشت (۰/۲۵ میکرومول)، ۱۶/۵ میکرولیتر آب استریل و ۰/۳ میکرولیتر آنزیم تک پلیمرز (یک واحد) به ازای هر نمونه تحت شرایط زیر انجام شد: واسرشته سازی ابتدایی (۵ دقیقه با دمای ۹۵ درجه سانتی-گراد) و سپس ۳۰ چرخه شامل مراحل واسرشته سازی (۳۰ ثانیه با دمای ۹۵ درجه سانتی-گراد)، اتصال آغازگر به رشته الگو (۳۰ ثانیه با دمای بهینه هر آغازگر، بسط توسط پلیمرز (۴۵ ثانیه با

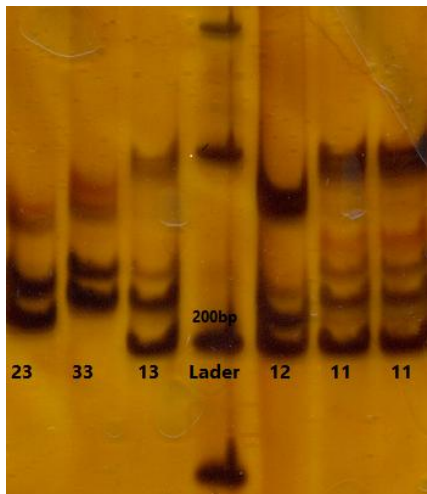
شناسایی QTL روی کروموزوم‌های ۱، ۴ و ۵ مرغ اجرا شده بود (Rowe et al. 2006). همچنین تکثیر ۳۱ نشانگر ریز ماهوره مرغ در ژنوم بلدرچین با ۶۵ درصد چند شکلی در آن‌ها گزارش شد (Inoue-Murayama et al. 2001). محققان دیگر نیز از بین ۴۸ نشانگر ریز ماهوره مرغ، تکثیر ۲۸ نشانگر را در بلدرچین گزارش کردند (Shibusawa et al. 2001). علاوه بر این در یک طرح تحقیقاتی دیگر ۵۰ نشانگر ریز ماهوره را برای تعیین پلی مورفیسیم در بلدرچین ژاپنی آزمایش کردند. در تحقیقی دیگر یکصد نشانگر ریزماهوره در بلدرچین ارزیابی شد و نقشه پیوستگی از ژنوم بلدرچین با استفاده از نشانگرهای ریز ماهوره ایجاد شد (Kayang et al. 2004).

صفات لاشه از لحاظ اقتصادی دارای اهمیت فراوان هستند. علاوه بر این صفات، اجزاء لاشه نیز به‌طور مستقیم یا غیر مستقیم بر صفات اقتصادی مهم در طیور تاثیر گذار می‌باشند. از آنجاکه برتری پرندگان گوشتی در افزایش رشد لاشه با کاهش رشد اجزاء داخلی‌شان در تضاد است، بنابراین انتخاب برای افزایش وزن بدن، بهبود متناسب افزایش وزن اندام‌های داخلی را در پی نداشته که احتمالاً منجر به افزایش اختلالات فیزیولوژیکی در میان نژادهای گوشتی امروزی شده است (Deeb and Lamont 2002). در نتیجه شناسایی جایگاه صفات لاشه و اجزاء داخلی آن و تعادل در جهت بهبود افزایش وزن و عملکرد آن‌ها می‌تواند اصلاح نژاد اصولی و مناسب حیوانات را در پی داشته باشد. هدف از این تحقیق، بررسی و موقعیت‌یابی جایگاه‌های اثر گذار بر روی صفات مهم تجاری مرتبط با لاشه و اجزاء آن با استفاده از طرح نانتی پدری روی کروموزوم دو در بلدرچین ژاپنی است.

عدم وجود QTL، رتبه‌بندی شدند. تجزیه‌ها با استفاده از نرم‌افزار آنالین GridQTL انجام شد.

نتایج و بحث

آمار توصیفی داده‌های فنوتیپی پرندگان برای ۱۵ صفت مورد بحث در این مطالعه شامل تعداد رکوردها، میانگین‌ها، انحراف معیار باقی‌مانده، محدوده و درصد ضریب تغییرات در جدول ۲ آمده‌است. موقعیت‌های احتمالی، مقادیر آماره F ، نسبت درستنمایی، درصد واریانس QTL، نزدیک‌ترین نشانگر به موقعیت مورد نظر و آثار آلی QTL بررسی شده با استفاده از تجزیه انفرادی و توام خانواده برای صفات لاشه و اندام‌های داخلی آورده شده است (جدول ۳ و ۴) (شکل ۱).



شکل ۱ - الگوی باندهای نشانگر ریزماهوره روی ژل پلی‌اکریل آمید. اعداد ۱۱ - ۳۳ نشان دهنده ژنوتیپ‌های هموزیگوت و اعداد ۱۲ - ۱۳ و ۲۳ نشان دهنده ژنوتیپ‌های هتروزیگوت

تجزیه اطلاعات انفرادی در خانواده‌ها QTL معنی‌داری را روی کروموزوم دو برای صفات وزن بورس، درصد بورس و وزن گردن ($p < 0.05$)، (خانواده ۱)، وزن بال ($p < 0.01$)، درصد بال ($p < 0.05$)، (خانواده ۲)، وزن غده یورویپجیال، درصد غده یورویپجیال ($p < 0.05$)، (خانواده ۳)، وزن سر، درصد سر، درصد پیش معده ($p < 0.05$)، (خانواده ۴)، وزن بورس، درصد بورس و درصد پیش معده ($p < 0.05$)، (خانواده ۵)، وزن چربی لاشه ($p < 0.05$)، وزن پیش معده، درصد چربی لاشه، درصد پیش معده

دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد) و در نهایت مرحله بسط نهایی (۵ دقیقه با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد). برای تفکیک باندهای مربوطه و مشخص شدن آل‌ها، محصولات واکنش PCR روی ژل پلی‌اکریل آمید هشت درصد بارگذاری شد. برای نمایان کردن باندها از روش رنگ‌آمیزی نیرتات نقره استفاده شد.

تجزیه آماری داده‌های فنوتیپی و تجزیه QTL به‌منظور تجزیه داده‌های فنوتیپی از مدل آماری (۱) استفاده شد. داده‌ها به وسیله نرم‌افزار ASRMel تجزیه شد.

$$Y_{lkm} = \mu + H_l + S_k + e_{lkm} \quad (1)$$

در مدل فوق، Y_{lkm} مشاهده مربوط به l امین هیچ، k امین جنسیت و m امین پرند، μ میانگین جمعیت، H_l اثر ثابت هیچ l ام دارای 5 سطح، S_k اثر جنس k/m دارای دو سطح (نر و ماده)، و e_{lkm} اثر تصادفی عوامل باقی‌مانده می‌باشد.

اثر QTL در دو مرحله و با استفاده از مدل (۲) برآورد شد. در مرحله اول هر خانواده به صورت انفرادی تجزیه شد و در مرحله دوم همه خانواده‌ها با هم مورد تجزیه قرار گرفتند.

$$Y_{ijklm} = \mu + a_i x_{ij} + S_k + H_l + e_{ijklm} \quad (2)$$

در مدل فوق y_{ijklm} فنوتیپ مشاهده شده افراد m (m امین فرزندان نر i)، μ_i میانگین خانواده نر i اثر جایگزینی آلی QTL درون خانواده i و x_{ij} احتمال این‌که حیوان m اولین آل را از نر i به ارث برده باشد (انتقال به صورت تصادفی)، که با توجه به موقعیت‌های نشانگر - QTL و ژنوتیپ‌های نشانگر مشاهده شده می‌باشد. H_l و S_k در مدل بالا به ترتیب اثر ثابت جنس (نر و ماده) و هیچ (پنج سطح) می‌باشد و e_{ijklm} اثر تصادفی باقیمانده است. برای تجزیه QTL از روش نقشه‌یابی درون فاصله‌ای مبتنی بر رگرسیون استفاده شد (Haley et al. 1994). بر اساس مدل‌های آماری فوق، یک QTL در فواصل یک سانتی‌مورگان در طول کروموزوم ۲ برازش شد. نقطه‌ای که دارای حداکثر آماره F بود به‌عنوان محتمل‌ترین موقعیت QTL در نظر گرفته شد. تعیین آستانه‌های معنی‌دار کروموزومی در سطوح پنج و یک درصد با استفاده از روش تبدیل (Churchill and Doerge 1994) محاسبه شد. مقادیر بدست آمده از تجزیه تعداد ده هزار سری داده برای ایجاد یک توزیع تجربی از آماره آزمون تحت فرض صفر مبنی بر

جدول ۲ - خلاصه آمار توصیفی داده‌های فنوتیپی نتاج

صفت	*تعداد	** میانگین	حداقل	حداکثر	انحراف معیار باقی مانده	درصد ضریب تغییرات
وزن بورس (گرم)	۴۱۰	۰/۱۰	۰/۰۳	۰/۳۳	۰/۰۴	۳۲/۷۰
وزن گردن (گرم)	۴۲۲	۴/۲۰	۲/۱۲	۶/۹۱	۰/۴۶	۱۱/۱۰
وزن بال (گرم)	۴۲۲	۹/۸۰	۴/۶۹	۱۳/۵۲	۱/۰۹	۱۱/۱۵
وزن سر (گرم)	۴۲۲	۵/۹۰	۴/۰۶	۷/۵۳	۰/۲۹	۵/۰۰
وزن پانکراس (گرم)	۴۲۲	۰/۵۰	۰/۰۵	۰/۹۴	۰/۱۰	۲۱/۳۳
وزن پیش معده (گرم)	۴۲۱	۰/۶۰	۰/۰۵	۰/۹۲	۰/۱۰	۱۵/۵۴
وزن غده یورویپجیال (گرم)	۴۰۰	۰/۳۰	۰/۰۳	۰/۶۵	۰/۰۷	۲۵/۹۷
وزن چربی لاشه (گرم)	۴۲۲	۰/۷۰	۰/۰۵	۵/۵۴	۰/۷۰	۱۰۰/۰۰
درصد پیش معده	۴۱۹	۰/۵۶	۰/۶۰	۱/۱۲	۰/۹۶	۱۷۳/۱۳
درصد بال	۴۲۱	۹/۴۳	۵/۶۴	۱۳/۰۶	۱/۰۴	۱۱/۰۷
درصد سر	۴۲۱	۵/۲۲	۳/۶۴	۸/۶۷	۰/۹۳	۱۷/۹۷
درصد غده یورویپجیال	۳۹۹	۰/۲۶	۰/۳۰	۰/۶۰	۰/۷۴	۲۸۵/۲۳
درصد چربی لاشه	۴۲۱	۰/۶۴	۰/۶۰	۴/۱۰	۰/۶۴	۱۰۰/۰۴
درصد بورس	۴۰۹	۰/۱۱	۰/۳۰	۰/۳۷	۰/۳۸	۳۵۲/۰۸
درصد پانکراس	۴۲۱	۰/۴۳	۰/۵۰	۰/۸۸	۰/۹۷	۲۲۵/۵۰

*تعداد مشاهدات برای هر صفت؛ ** میانگین تصحیح شده برای اثرات ثابت جنس و هج.

درون فاصله‌ای از تجزیه توام خانواده‌ها برای صفات نشان داده شده است (جدول ۳ و شکل ۳). صفات وزن پیش معده ($p < 0/05$) و درصد پیش معده ($p < 0/01$) با اثر منفی جایگزینی آللی نزدیک نشانگر GJ0084 و هر دو در موقعیت ۴۹ سانتی-مورگان و درصد پانکراس ($p < 0/05$) با اثر مثبت جایگزینی آللی نزدیک نشانگر GJ0093 و در موقعیت ۶۰ سانتی-مورگان قرار داشتند. درصد واریانس QTL برآورد شده در تجزیه توام در محدوده ۲/۳۵ تا ۶/۱۰ قرار داشت (جدول ۳). در این مطالعه QTLهای بررسی شده برای بیشتر صفات در تجزیه انفرادی خانواده‌ها، روی کروموزوم دو در خانواده‌های ۳، ۵ و ۹ و نزدیک نشانگر GJ0093 و در موقعیت‌های ۶۰، ۵۶، ۵۴، ۵۳ و ۵۰ سانتی-مورگان قرار داشتند. خانواده ۸ دارای بیش‌ترین صفات معنی‌دار در بین خانواده‌ها بود (جدول ۴ و شکل ۲). نزدیک‌ترین نشانگر برای صفات وزن پیش معده و درصد پیش معده برای هر دو تجزیه توام و انفرادی نشانگر GJ0084 بود. همچنین بیش-ترین صفات معنی‌دار در تجزیه‌های انفرادی در نزدیکی نشانگرهای GJ0093 و GJ0084 قرار داشتند و علاوه بر این

($p < 0/01$)، (خانواده ۸)، وزن پانکراس، درصد سر و درصد پانکراس ($p < 0/05$)، نشان داد. صفات وزن و درصد غده یورویپجیال، وزن و درصد بورس و همچنین وزن و درصد پیش معده دارای اثر جایگزینی آللی مثبت و در محدوده ۰/۰۴ تا ۰/۳۰ در واحد انحراف استاندارد باقی‌مانده، بقیه صفات اثر جایگزینی آللی منفی در محدوده ۲/۵۲- تا ۰/۰۵- در واحد انحراف استاندارد باقی‌مانده، قرار داشتند.

QTLهای بررسی شده برای بیشتر صفات در تجزیه انفرادی خانواده‌ها روی کروموزوم دو در خانواده‌های ۳، ۵ و ۹ و نزدیک نشانگر GJ0093 و در موقعیت‌های ۶۰، ۵۶، ۵۴، ۵۳ و ۵۲ سانتی-مورگان قرار داشتند (جدول ۴ و شکل ۲). درصد واریانس QTLهای برآورد شده در پژوهش حاضر در تجزیه انفرادی در محدوده ۶/۶۷ تا ۳۳/۸۷ قرار داشتند. منظور از واریانس فنوتیپی ناشی از QTL، بخشی از واریانس فنوتیپی صفت مورد نظر است که به وسیله QTL ایجاد می‌شود. در هر موقعیت روی کروموزوم، نقشه‌یابی QTL با استفاده از مدل‌های مختلف تعیین می‌کند که آیا میزان واریانس معنی‌دار موجود در آن صفت کمی را می‌توان به یک QTL موجود در آن نقطه ربط داد یا خیر. نتایج نقشه‌یابی

جدول ۳ - نتایج تجزیه توام خانواده‌ها

نشانهگر مجاور	درصد واریانس QTL	نسبت درستمایی	آماره F	اثر QTL	موقعیت (cM)	صفت
GUJ0084	۳/۷۰	۲۵/۰۹	۲/۸۵*	-۰/۱۲(۰/۰۴)	۴۹	وزن پیش معده
GUJ0084	۶/۱۰	۳۴/۱۳	۳/۹۲**	-۰/۱۴(۰/۰۴)	۴۹	درصد پیش معده
GUJ0093	۲/۳۵	۱۹/۹۶	۲/۲۵*	۰/۱۸(۰/۰۸)	۶۰	درصد پانکراس

* و ** به ترتیب تفاوت معنی‌داری در سطوح پنج و یک درصد؛ موقعیت (CM) بیانگر موقعیت نشانگرها روی کروموزوم ۲ بلدرچین ژاپنی بر اساس نقشه پیوستگی

جدول ۴ - نتایج تجزیه انفرادی خانواده‌ها

نشانهگر مجاور	درصد واریانس QTL	نسبت درستمایی	آماره F	اثر QTL	موقعیت (cM)	خانواده	صفت
GUJ0069	۶/۶۷	۷/۹۵	۸/۴۹*	۰/۰۴(۰/۰۱)	۲۱	۱	وزن بورس
GUJ0073	۸/۱۰	۶/۸۲	۷/۲۲*	-۰/۳۰(۰/۱۱)	۰	۱	وزن گردن
GUJ0069	۱۳/۳۳	۸/۲۳	۸/۷۹*	۰/۰۴(۰/۰۱)	۲۰	۱	درصد بورس
GUJ0073	۱۶/۱۴	۸/۶۳	۹/۶۶**	-۱/۳۶(۰/۴۴)	۲	۲	وزن بال
GUJ0069	۱۲/۴۹	۶/۹۱	۷/۵۶*	-۱/۳۷(۰/۵۰)	۸	۲	درصد بال
GUJ0093	۱۲/۵۰	۶/۵۸	۷/۰۹*	۰/۰۶(۰/۰۲)	۵۳	۳	وزن غده یورویپجیال
GUJ0084-93	۱۲/۹۰	۷/۹۷	۸/۶۹*	۰/۰۶(۰/۰۲)	۵۲	۳	درصد غده یورویپجیال
GUJ0069	۱۹/۲۶	۶/۸۴	۷/۹۰*	-۰/۲۲(۰/۰۸)	۱۸	۴	وزن سر
GUJ0069	۱۹/۹۲	۷/۳۰	۸/۴۶*	-۰/۴۶(۰/۱۶)	۱۰	۴	درصد سر
GUJ0073	۱۶/۶۷	۵/۸۶	۶/۶۵*	-۰/۱۴(۰/۰۵)	۳	۴	درصد پیش معده
GUJ0093	۲۱/۴۳	۷/۴۴	۸/۷۵*	-۰/۰۵(۰/۰۲)	۶۰	۵	وزن بورس
GUJ0084	۱۳/۹۰	۵/۲۲	۵/۸۳*	-۰/۱۳(۰/۰۵)	۴۴	۵	درصد پیش معده
GUJ0093	۱۷/۶۴	۶/۶۱	۷/۶۰*	-۰/۰۵(۰/۰۲)	۶۰	۵	درصد بورس
GUJ0084	۲۲/۶۳	۶/۹۹	۸/۳۱*	-۲/۵۰(۰/۸۷)	۳۱	۸	وزن چربی لاشه
GUJ0084	۳۰/۰۰	۹/۵۴	۱۲/۰۱**	۰/۳۰(۰/۰۹)	۴۴	۸	وزن پیش معده
GUJ0084	۳۳/۸۷	۱۰/۶۸	۱۳/۶۶**	۰/۲۸(۰/۰۷)	۴۵	۸	درصد پیش معده
GUJ0084	۲۶/۱۹	۸/۴۰	۱۰/۲۲**	-۲/۵۲(۰/۷۹)	۳۳	۸	درصد چربی لاشه
GUJ0093	۹/۵۲	۶/۰۱	۶/۴۸*	-۰/۰۹(۰/۰۴)	۵۴	۹	وزن پانکراس
GUJ0093	۱۰/۷۱	۶/۶۰	۷/۱۴*	-۰/۰۷(۰/۰۳)	۵۶	۹	درصد پانکراس
GUJ0093	۹/۷۳	۵/۹۴	۶/۳۹*	-۰/۳۹(۰/۱۵)	۵۳	۹	درصد سر

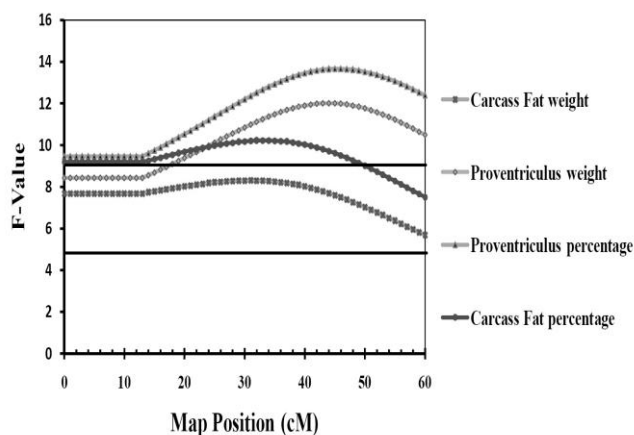
* و ** به ترتیب تفاوت معنی‌داری در سطوح پنج و یک درصد؛ موقعیت (CM) بیانگر موقعیت نشانگرها روی کروموزوم ۲ بلدرچین ژاپنی بر اساس نقشه پیوستگی.

GUJ0073 بود که کم‌ترین تعداد هتروزیگوت نر را داشت. نشانگر GUJ0093 بیش‌ترین تعداد آلل و بیش‌ترین تعداد نر هتروزیگوت را داشت. با توجه به این‌که در این مطالعه از یک طرح ناتنی پدری برای نقشه‌یابی QTL استفاده شد. بنابراین اندازه

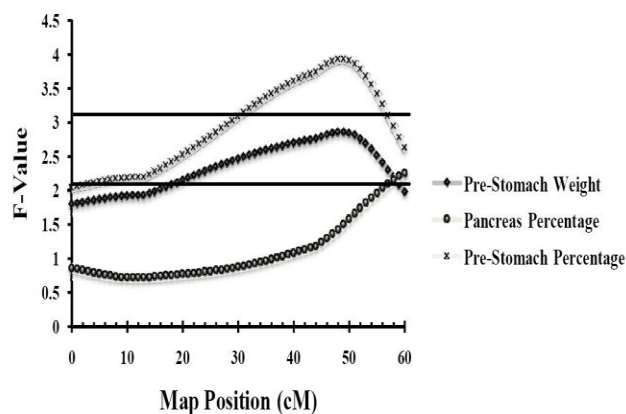
صفات وزن بورس، درصد بورس، درصد پیش معده و درصد سر هر کدام در دو یا سه خانواده معنی‌دار شدند که دلایل آن تعداد بیشتر هتروزیگوت‌های نر، تعداد بیشتر فرزندان در این خانواده‌ها و تعداد آلل‌ها می‌باشد. کم‌ترین تعداد صفات متعلق به نشانگر

طور مستقیم یا غیر مستقیم بر صفات اقتصادی مهم در طیور تاثیر گذار باشند. صفات اجزاء لاشه مجموعه زیادی از صفات تاثیر گذار هستند که؛ اشتها، مصرف خوراک، تخصیص مواد مغذی، ترکیب بدنی، نرخ متابولیسم، فعالیت فیزیکی و فعالیت تولید مثلی و ... را تحت تاثیر قرار می دهند. نتیجه انتخاب شدید برای بهبود سریع رشد و تغییر ژنتیکی وزن بدن، کاهش نسبی وزن اندام های داخلی را در پی دارد که تمام مکانیسم های فیزیولوژیکی مورد نیاز برای حمایت از افزایش وزن بدن را کنترل می کنند. این انحراف از تعادل بیولوژیکی، ممکن است منجر به افزایش قابل توجهی در اختلالات فیزیولوژیکی، مانند آسیت، سندرم مرگ ناگهانی، کاهش رشد مرتبط با گرما، مشکلات پا و همچنین کاهش در تمام فعالیت های ایمنی شود. برتری پرندگان گوشتی در افزایش رشد و ماهیچه ای شدن لاشه با کاهش رشد اجزاء داخلی شان در تضاد است. به عنوان درصدی از حجم بدن، جوجه های گوشتی کم ترین وزن اندام های داخلی را دارند، که نشان می دهد انتخاب برای افزایش وزن بدن، بهبود متناسب افزایش وزن اندام های داخلی را در پی نداشته که احتمالاً منجر به افزایش اختلالات فیزیولوژیکی در میان نژادهای گوشتی امروزی شده است (Deeb and Lamont 2002). بنابراین شناسایی جایگاه صفات لاشه و اجزاء داخلی آن و تعادل در جهت بهبود افزایش وزن و عملکرد آن ها می تواند اصلاح نژاد اصولی و مناسب حیوانات را در پی داشته باشد. در بین این اجزاء به عنوان مثال پانکراس یک اندام غده ای حیاتی در دستگاه گوارش است. ترشح قسمت برون ریز پانکراس شامل بسیاری از آنزیم ها ضروری و بسیاری از الکترولیت ها است. بخش درون ریز آن مسئول کنترل غلظت قند خون است که جزایر لانگرهانس نامیده می شود (Mobini 2011). در نبود ترشحات آنزیمی پانکراس، هضم و جذب دچار مشکل می شود. همچنین عملکرد غده یورویپجیال ارتباط نزدیکی با خواص هیدروفوبیکی دارد که می تواند نقش مهمی در حفاظت پرندگان در برابر محیط و علی الخصوص در حفاظت از پر و بال پرندگان در برابر آب داشته باشد. نقش دیگر آن درخشندگی بال و پر برای جلب کردن جفت جهت جفت گیری است و گزارش شده است که حتی در تولید فرمون در جنس ماده نیز نقش دارد (Salibian and Montalti 2009).

اثر QTL برآورد شده در این طرح عبارت است از اثر جایگزینی یک آلل یعنی تفاوت بین نتایج دریافت کننده آلل های Q و q پدری و فرض بر این است که اثر سایر ژن ها به طور متوسط در بین دو گروه یکسان است.



شکل ۲- پروفیل آماره F حاصل از تجزیه انفرادی یکی از خانواده ها (خانواده ۸). خط های افقی آستانه های معنی داری در سطح ۱ و ۵ درصد را نشان می دهد.



شکل ۳- پروفیل آماره F حاصل از تجزیه توام خانواده ها. خط های افقی آستانه های معنی داری در سطح ۱ و ۵ درصد را نشان می دهد.

باید توجه داشت که در این جا اثر جایگزینی آللی می تواند اثر غلبه را نیز شامل شود چون اثر افزایشی QTL بصورت متوسط از تفاوت دو ژنوتیپ هموزیگوت QTL (qq و QQ) برآورد می شود. صفات لاشه از لحاظ اقتصادی دارای اهمیت فراوان هستند و در این تحقیق برای این صفات QTL یافت شده است. علاوه بر این صفات، برای اجزاء لاشه (وزن پانکراس، وزن پیش معده، درصد پیش معده و...) نیز در هر دو مدل تجزیه توام و انفرادی خانواده ها QTL معنی دار یافت شد که هر یک از این اجزاء می توانند به-

در این پژوهش برای وزن بال در موقعیت دو و درصد بال در موقعیت‌های ۸ و ۳۳ سانتی‌مورگان QTL شناسایی شد که با یافته‌های Lu et al. (2012) در مرغ منطبق و یا نزدیک آن است. این اولین گزارش از شناسایی QTL برای صفت وزن بورس فابریسیوس بر روی کروموزوم دو است. جایگاه صفات کمی شناسایی شده برای وزن سر و درصد آن (محدوده ۱۰ تا ۵۳ سانتی‌مورگان) در این تحقیق با نتایج محققان دیگر بر روی مرغ متفاوت بود. صفات وزن و درصد غده یورویپجیال، پانکراس و پیش‌مده و وزن گردن برای اولین بار در این تحقیق و بر روی کروموزوم ۲ شناسایی شده بودند.

نتیجه‌گیری کلی

در این تحقیق تعدادی از نواحی ژنومی مرتبط با صفات لاشه و اجزاء آن روی کروموزوم دو بلدرچین ژاپنی شناسایی شد. نتایج این پژوهش اثر جایگزینی یک آلل یعنی تفاوت بین نتاج دریافت‌کننده آلل‌های Q و q پدری را در چندین صفت لاشه و اجزاء آن که در اصلاح نژاد بلدرچین اهمیت دارند نشان می‌دهد. QTL‌های شناسایی شده برای صفات لاشه و اجزاء آن در این تحقیق می‌توانند در بررسی ژن‌های کاندیدا و نیز انجام انتخاب به کمک نشانگر برای صفات لاشه در بلدرچین ژاپنی مفید باشند. عواملی که می‌تواند بر معنی‌داری QTL در طرح نانتی پدری تاثیرگذار باشند عبارت از؛ تعداد بیشتر هتروزیگوت‌های نر، تعداد بیشتر فرزندان در خانواده‌ها و تعداد آلل‌ها می‌باشند.

از آنجا که بلدرچین ژاپنی از لحاظ فیلوژنی به گونه مرغ بسیار نزدیک است و همولوژی بسیار زیادی بین ژنوم دو گونه وجود دارد بنابراین با مقایسه موقعیت QTL‌های شناسایی شده روی کروموزوم دو بلدرچین ژاپنی با موقعیت QTL‌های گزارش شده برای صفات مشابه در مرغ، می‌توان این بخش از ژنوم را از لحاظ ساختاری بررسی کرد (Kayang et al. 2006).

در تلاقی جوجه‌های گوشتی و تخم‌گذار، QTL‌های معنی‌داری برای درصد و اجزاء لاشه یافت شد. برای صفات درصد لاشه در موقعیت ۱۶۸ سانتی‌مورگان بر روی کروموزوم دو، QTL معنی‌دار با اثر جایگزینی آللی مثبت یافت شد. در یک جمعیت F2 از تلاقی لاین گوشتی و تخم‌گذار برای درصد سر در یک طرح نانتی و در موقعیت ۱۲۴ سانتی‌مورگان با اثر جایگزینی آللی مثبت و همچنین در موقعیت‌های ۱۷۲-۲۲۶ و ۲۸۲-۳۰۲ سانتی‌مورگان در یک طرح F2 روی کروموزوم دو QTL معنی‌دار یافت شد (Baron et al. 2011). در مطالعه دیگر که بر روی لاین‌های پلیموت راک سفید در یک طرح تلاقی لاین اجرا شده بود، وزن بورس فابریسیوس روی کروموزوم ۱۷ و ۲۶ به ترتیب در موقعیت‌های ۳۲ و ۱۷ سانتی‌مورگان دارای QTL معنی‌دار بود (Park et al. 2006). در تحقیق دیگر که بر روی جمعیت F2 از تلاقی دو جانبه بین کورنیش گوشتی و سیلکی انجام شده بود برای وزن بال روی کروموزوم دو در موقعیت‌های ۷/۸۳ و ۷/۶۰ و درصد بال در موقعیت‌های ۷/۷۳، ۷/۸۳، ۸/۰۷ و ۸/۰۶ سانتی‌مورگان QTL گزارش شده بود (Lu et al. 2012).

منابع

Baro JA, Carleos C, Corral N, Lopez T and Canon J (2001) Power analysis of QTL detection in half-sib families using selective DNA pooling. *Genetics Selection Evolution* 33: 231-247.
Baron EE, Moura AS, Ledur MC, Pinto LF, Boschiero C, Ruy DC, Nones K, Zanella EL, Rosa rio MF, Burt DW, Coutinho LL (2011) QTL for percentage of carcass and carcass parts in a broiler x layer cross. *Animal Genetics* 42: 117-24.
Churchill GA, Doerge RW (1994) Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics* 138: 963-971.
Deeb N, Lamont SJ (2002) genetic architecture of growth and body composition in unique chicken populations. *The American Genetic Association* 93:107-118.

Haley CS, Knott SA, Elsen JM (1994) Mapping quantitative trait loci in crosses between outbred lines using least squares. *Genetics* 136: 1195-1207.
Inoue-Murayama M, Kayang BB, Kimura K, Ide H, Nomura A, Takahashi H, Nagamine Y, Takeda T, Hanada H, Tatsuda K, Tsudzuki M, Matsuda Y, Mizutani M, Murayama Y, Ito S (2001) Chicken microsatellite primers are not efficient markers for Japanese quail. *Animal Genetics* 32: 7- 11.
Kayang BB, Fillon V, Inoue-Murayama M, Miwa M, Leroux S, Fève K, Monvoisin JL, Pitel F, Vignoles M, Mouilhayrat C, Beaumont C, Ito S, Minvielle F and Vignal A (2006) Integrated maps in quail (*Coturnix japonica*) confirm the high degree of synteny conservation with chicken (*Gallus gallus*) despite 35 million years of divergence. *BMC Genomics* 7: 101.

- Kayang BB, Vignal A, Inoue-Murayama M, Miwa M, Monvoisin JL, Ito S, Minvielle F (2004) A first-generation microsatellite linkage map of the Japanese quail. *Animal Genetics* 35:195-200.
- Kolbehdari D, Jansen G B, Lawrence, Schaeffer LR, Allen BO (2005) Power of QTL detection by either fixed or random models in half-sib designs. *Genetics Selection Evolution* 37: 601-614.
- Lee YM, Kim EH, Kim JJ (2007) Evaluation of reciprocal cross design on detection and characterization of Mendelian QTL in F2 outbred populations. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 20:1625-1630.
- Lu Y, Chen SR, Liu WB, Hou ZC, Xu GY, Yang N (2012) Polymorphisms in Wnt signaling pathway genes are significantly associated with chicken carcass traits. *Poultry Science* 1299-307.
- Martinez ML, Vukasinovic N, Freeman GAE (1999) Random model approach in QTL mapping in half-sib families. *Genetics Selection Evolution* 31: 319-340.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research* 16: 1215.
- Mobini B (2011) histological studies on pancreas of goose (*Anser albifrons*). *Veterinary Research Forum* 25-29.
- Nassar MK, Goraga ZS, Brockmann GA (2012) Quantitative trait loci segregating in crosses between New Hampshire and White Leghorn chicken lines: II. Muscle weight and carcass composition. *Animal Genetics* 1365-2052.
- Park HB, Jacobsson L, Wahlberg P, Siegel PB, Andersson L (2006) QTL analysis of body composition and metabolic traits in an intercross between chicken lines divergently selected for growth. *Physiological Genomics* 25: 216-23.
- Rao Y, Shen XU, Xia MX, Luo C, Nie Q, Zhang D, Zhang X (2007) SNP mapping of QTL affecting growth and fatness on chicken GGA1. *Genetics Selection Evolution* 39: 569-582.
- Rowe SJ, Windsor D, Haley CS, Burt DW, Hocking PM, Griffin H, Vincent J, De Koning DJ (2006) QTL analysis of body weight and conformation score in commercial broiler chickens using variance component and half-sib analyses. *Animal Genetics* 37: 269-272.
- Salibian A, Montalti D (2009) Physiological and biochemical aspects of the avian uropygial gland. *Brazilian Journal of Biology* 69: 437-446.
- Shibusawa M, Minai S, Nishida-Umehara C, Suzuki T, Mano T, amada K, Namikawa T, Matsuda Y (2001) A comparative cytogenetic study of chromosome homology between chicken and Japanese quail. *Cytogenetics and Cell Genetics* 95: 103-109.