

تجزیه QTL های مرتبط با صفات اسکلت روی کروموزوم شماره پنج بلدرچین ژاپنی

Analysis of QTLs associated with skeletal traits on chromosome 5 in Japanese quail

مرجان احمدی^۱، علی اسمعیلی زاده کشکوئی^۱، احسان نصیری فر^۲، محبوبه ایرانمنش^{۱*}

۱- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد، استاد، دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی،

دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۲- دانشجوی دکتری دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه علوم دامی، تهران، ایران

Ahmadi M¹, Esmailizadeh A¹, Nasirifar E², Iranmanesh M^{*1}

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

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

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

(تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۲۶ - تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۲۶)

چکیده

هدف از این پژوهش بررسی کروموزوم شماره پنج بلدرچین ژاپنی برای یافتن QTL مرتبط با صفات استخوان در یک جمعیت F₂ بود. جمعیت مورد مطالعه شامل ۴۷۲ پرنده بود که صفات فنوتیپی آنها اندازه گیری و با استفاده از سه نشانگر ریزماهواره برای یافتن QTL بررسی شدند. روش مکان یابی درون فاصله ای به کمک نه مدل برای تجزیه QTL به کار برده شد. داده های مربوط به تعیین ژنوتیپ و رکورد برداری فنوتیپی با روش نقشه یابی درون فاصله ای مبتنی بر رگرسیون مورد تجزیه و تحلیل QTL قرار گرفتند. سطوح معنی داری در سطح یک و پنج درصد بود. نتایج حاصل QTL معنی دار برای نه صفت (قطر پای چپ، وزن استخوان ران، طول پای راست، قطر پای راست، قطر استخوان ران، وزن پای راست، وزن درشت نی و وزن پای چپ، وزن لاشه سرد) را شناسایی کرد. نزدیک ترین نشانگر برای بیش تر این QTL ها، GUJ0049 بود. نتایج این پژوهش نقش توارث غیر مندلی (ایمپرینتینگ ژنومی) و آثار پلیوتروپی و تک ژنی را در چندین صفت استخوان که در اصلاح نژاد بلدرچین اهمیت دارند نشان می دهد.

واژه های کلیدی

صفات استخوان
نشانگر ریز ماهواره
نقشه یابی QTL

مقدمه

پرورش ماکیان در ایران و انتشار آن از طریق این کشور تاریخچه ای بسیار کهن دارد. ایران (پرشیا) یک امپراطوری بزرگ از قرن پنج قبل از میلاد تا تقریباً قرن هفت میلادی بود و از هند (دهلی) تا دریاهای سیاه و مدیترانه گسترده بود. در آن زمان و بعد از آن، در قرون وسطی ایران در محل تقاطع راه ها برای حمل و نقل محصولات، از قبیل ماکیان از شرق به غرب، هم از طریق خشکی و هم از طریق دریا قرار داشت. جنگ های زیادی در حوالی ایران و کشورهای همسایه در طی این دوره ها نیز توسعه و گسترش جمعیت های ماکیان را تسهیل کرد. حفاری های باستان شناسی حضور ماکیان را در ایران در زمان های باستان تأیید کرده است (Mohammadabadi et al. 2010). بر اساس تحقیقات West and Zhou استخوان های یافت شده در ایران در سه منطقه وجود داشته اند: دو کشف در تپه یحیی (Tepe Yahya) (جنوب شرقی ایران) به ترتیب متعلق به ۳۸۰۰ تا ۳۹۰۰ قبل از میلاد و ۱۰۰۰ قبل از میلاد و دیگری در تخت سلیمان (شمال غربی ایران) متعلق به ۱۰۰۰ قبل از میلاد (Mohammadabadi et al. 2010). از طرفی در طول دهه گذشته مطالعات متعددی برای درک بیشتر مکانیسم ژنتیکی صفات پیچیده انجام شده و صفات زیادی از بیماری انسان تا صفات تولیدی در حیوانات بررسی شده بود. بیش تر ژن های بزرگ اثر و QTL مربوط به آن ها شناسایی و مکانیسم ملکولی بعضی از ژن ها شناخته شده است (Andersson 2001; Flint and Mott 2001; Korstanje and Paigen 2002). هزاران سال به دلیل انتخاب مصنوعی، فراوانی ال های QTL با اثر مطلوب در بین لاین های اهلی شده افزایش یافته است (Carlborg et al. 2003). بیش تر صفات اقتصادی طیور به وسیله ژن های مربوط به صفات کمی کنترل می شوند (QTGs) و اطلاعات مربوط به ژن و جهش های QTGs می تواند در برنامه های اصلاحی به کمک نشانگر، مفید باشد (Abasht et al. 2006). انجمن بین المللی ژنتیک حیوانی^۱ ریزماهواره ها را به عنوان بهترین نشانگر جهت تعیین تنوع ژنتیکی گونه های حیوانی معرفی کرده است (Mohammadifar and Mohammadabadi 2011). بر اساس بررسی های ثبت شده توسط FAO، ۶۶ درصد کل مطالعات تعیین

فاصله ژنتیکی با استفاده از ریزماهواره ها انجام گرفته است و ۷۰ درصد پژوهشگران ریزماهواره ها را انتخاب کرده اند (Mohammadifar and Mohammadabadi 2011). شناسایی QTL های موثر بر صفات اقتصادی برای اصلاح گران و ژنتیک دانانی که نقش QTL را بررسی می کنند سودمند است. استفاده از تعداد زیادی نشانگر با تراکم بالا در طول ژنوم می تواند توانایی تشخیص QTL را بالا ببرد و همچنین قدرت تشخیص به وسیله تجزیه هم زمان چند صفت یا QTL افزایش می یابد (Korol et al. 1995). عدم تعادل پیوستگی بین نشانگرها و QTL های جستجو شده شرط لازم برای شناسایی و نقشه یابی QTL است (Aerts et al. 2007). روش های مختلفی برای شناسایی QTL و تخمین آثار آن وجود دارد که می توان روش های مبتنی بر رگرسیون (Haley 1992; Knot and Martinez 1992)، حداکثر درست نمایی (Haley and Knot 1992) و مدل بیزی (Sen and Churchill 2001; Sillanpa and Corander 2002) را نام برد. بیش تر روش های نقشه یابی QTL بر اساس جمعیت های تلاقی برگشتی، هاپلوئیدهای دوتایی یا لاین های خالص حاصل از تلاقی دو والد (P_1 , P_2) است که برای جایگاه های هر نشانگر یا QTL، دو ژنوتیپ دارند. جمعیت های F_2 به طور گسترده برای مطالعات ژنتیک حیوانات و گیاهان استفاده می شود. چندین روش نیز بر اساس جمعیت های F_2 که در آن غالبیت نادیده گرفته شده، توسعه یافته است (Wright and Mowers 1994; Whittaker et al. 2007; Jia and Xu 1996). چندین سال است که اصلاح نژاد طیور به عنوان یکی از شاخه های مهم در پرورش حیوانات مطرح شده است (Genchev et al. 2008). طی ۵۰ سال گذشته یکی از عوامل افزایش مقدار گوشت و سرعت رشد در طیور گوشتی انتخاب بر اساس صفات اسکلت بوده است. توانایی و نقش اسکلت در حفاظت از عضلات جوجه های گوشتی ارتباط نزدیکی با قابلیت زنده ماندن آن ها دارد که معمولاً به طور مستقیم اندازه گیری نمی شود. در نبود استخوان سالم، جوجه ها با مشکلات پا از قبیل دیس کندرو پلازیای درشت نی^۲، پای پیچیده^۳، راشیتیزم^۴،

^۲ tibial dyschondroplasia^۳ Twisted leg^۴ Rickets^۱ International society for animal genetics

دامپروری در مقایسه با دیگر گونه‌های پرند نظیر مرغ و بوقلمون بسیار اندک است و دارای نقشه ژنومی بسیار ناقصی می‌باشد که نیاز به مطالعات بیش‌تر دارد (Kayang et al. 2004). هدف از این مطالعه بررسی کروموزوم پنج بلدرچین ژاپنی برای شناسایی QTL های مرتبط با استخوان است.

مواد و روش‌ها

برای تولید یک جمعیت F_2 ، تعداد هشت پرند نر و هشت پرند ماده به‌عنوان نسل والد (P) به تعداد مساوی از دو سویه سفید (S) و وحشی (W) انتخاب و بین آن‌ها (نر سفید $\times$ ماده وحشی (WS) و نر وحشی $\times$ ماده سفید (SW)) تلاقی دوطرفه صورت گرفت که هر نر با یک ماده آمیزش داشت. از بین پرندگان نسل اول (F_1)، ۳۴ پرند برای تولید نسل دوم (F_2) انتخاب شد. از تلاقی نرهای SW با ماده‌های WS تعداد ۱۵۳ (۶۴ ماده و ۸۹ نر) پرند ($SWWS$) F_2 و از تلاقی نرهای WS با ماده‌های SW تعداد ۲۳۰ (۹۶ ماده و ۱۳۴ نر) پرند ($WSSW$) F_2 تولید شدند. تلاقی بین ماده‌های WS و نرهای WS نیز انجام شد، تعداد ۳۹ (۱۶ ماده و ۲۳ نر) پرند ($WSWS$) F_2 (در مجموع ۴۲۲ پرند نسل F_2) تولید شد. در این نسل برای تولید نتاج بیش‌تر، هر نر با سه ماده آمیزش داشت. جمعیت ایجاد شده جهت نقشه‌یابی شامل ۴۷۲ پرند بود که نمونه خون مربوط به تمام آن‌ها در حین کشتار در سن ۳۵ روزگی جمع‌آوری شد. برای این کار، ۲/۵ میلی‌لیتر از خون پرند، به محض کشتار درون لوله‌های آزمایش پلاستیکی درب دار که حاوی EDTA (به‌منظور جلوگیری از لخته شدن خون) بود، ریخته شد.

صفات فنوتیپی مربوط به تعداد ۴۲۲ پرند F_2 شامل وزن سینه، استخوان سینه، وزن گوشت سینه، وزن ران، وزن گوشت ران، وزن استخوان ران، طول استخوان ران، قطر استخوان ران، وزن استخوان درشت نی، وزن استخوان بازو، طول استخوان بازو، قطر استخوان بازو، وزن پای راست، طول پای راست، قطر پای راست، وزن پای چپ، طول پای چپ و قطر پای چپ اندازه‌گیری شد که این صفات با وزن لاشه سرد مرتبط بودند. برای اندازه‌گیری طول و وزن استخوان‌ها، ابتدا تمامی قسمت‌های عضله از استخوان جدا و با استفاده از کولیس طول استخوان (بر حسب میلی‌متر) و به

پیچ‌خوردگی پشت^۱ و نقص استخوان^۲ مواجه می‌شوند (Lilburn 1994). مشکلات مربوط به استخوان در طیور باعث ضرر اقتصادی از قبیل افزایش مرگ و میر و قابل قبول نبودن لاشه می‌شود که در مجموع باعث کاهش وزن لاشه و عملکرد می‌شود. اگر چه بیش‌تر مشکلات اسکلتی به کمک تغذیه و مدیریت صحیح حل می‌شود (Whitehead et al. 2004; Whitehead 2004)، اما واضح است که ژنتیک نیز نقش قابل توجهی در این زمینه دارد (Bishop et al. 2000) و ساختار ژنتیکی نقش قابل توجهی در توسعه سیستم اسکلتی دارد (Cook 2000). تحقیقات متعددی در زمینه صفات مرتبط با استخوان در لاین‌های گوشتی و تخم‌گذار طیور انجام گرفته است. در یک تحقیق از نژادهای تجاری و سنتی، تفاوت معنی‌داری در تراکم و طول استخوان نشان داده شده‌است (Hocking et al. 2003). علاوه بر آن طول استخوان توسط ژنتیک تحت تاثیر قرار می‌گیرد که وراثت‌پذیری آن حدود ۰/۴۴ است (Bishop et al. 2000). ثابت شده‌است که طول استخوان بازو در نتاج یک جمعیت سه نسلی از جوجه‌های گوشتی در اثر انتخاب بر اساس شاخص اندازه‌گیری شده از صفات استخوان، افزایش یافته است. هم‌چنین دو برابر این افزایش را در طول استخوان طیور بعد از هفت نسل انتخاب و اگر بر اساس شاخص استخوان گزارش کردند و ثابت کردند که بی-نقصی استخوان می‌تواند از طریق انتخاب ژنتیکی بهبود یابد (Bishop et al. 2000).

در دهه گذشته، بلدرچین ژاپنی (*Coturnix japonica*) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین حیوانات آزمایشگاهی برای تحقیقات علمی در دانشگاه‌ها و ایستگاه‌های تحقیقاتی مورد استفاده قرار گرفته (Cain 1972 and Cawely 2003)، رفتارشناسی (Balthazart et al. 1991)، ژنتیک (Jones et al. 1991; Sohrabi et al. 2012; Moradian et al. 2014; Jabbari Ori et al. 2014) و بیومدیکال (Ratnamohan 1985) استفاده شده‌است. بلدرچین از لحاظ سیتولوژیکی و مورفولوژیک شباهت زیادی به گونه مرغ دارد. اطلاعات ژنتیکی بلدرچین ژاپنی به‌عنوان حیوانی مهم در صنعت

¹ Twisted back

² Bone defect

آثار افزایشی (اختلاف ژنوتیپ های هموزیگوت qq با QQ)، غلبه (انحراف از میانگین Qq از میانگین دو ژنوتیپ هموزیگوت qq و QQ) و ایمپریتینگ (تفاوت دو ژنوتیپ هتروزیگوت Qq در مقابل qq). P_{ak} احتمال شرطی حیوان k برای حمل آلل سویه وحشی، P_{dk} احتمال شرطی حیوان k که هتروزیگوس باشد و P_{ik} احتمال شرطی حیوان k که هتروزیگوس است و آلل سویه وحشی را از پدرش به ارث برده است، e_{ijk} اثر تصادفی باقیمانده است. علاوه بر مدل های ذکر شده، اثر متقابل هیچ و جنس با اثر افزایشی، غلبه و ایمپریتینگ QTL نیز در دو مدل دیگر و اثر متقابل هیچ و اثر افزایشی QTL نیز در دو متقابل افزایشی و غلبه QTL با جنس و اثر متقابل افزایشی و غلبه QTL با هیچ نیز مورد بررسی قرار گرفت.

روشی که برای تجزیه QTL استفاده شد، روش نقشه یابی درون فاصله ای مبتنی بر رگرسیون بود (Knott et al. 1998) بر اساس این مدل آماری یک QTL در فواصل یک سانتی مورگان در طول کروموزوم ۵، نقطه ای 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 آستانه های معنی دار کروموزومی در سطوح پنج درصد و یک درصد بود که با استفاده از روش تبدیل محاسبه شد (Churchill and Doerge 1994). مقادیر به دست آمده از تجزیه تعداد ده هزار سری داده، برای ایجاد یک توزیع تجربی از آماره آزمون تحت فرض صفر مبنی بر عدم وجود QTL، رتبه بندی شدند. تجزیه ها با استفاده از نرم افزار آنالین GridQTL انجام شد (Seaton et al. 2006).

کمک ترازویی با دقت ۰/۰۱ گرم وزن استخوان اندازه گیری و ثبت شد. کروموزوم شماره پنج برای مکان یابی صفات مربوط به استخوان با استفاده از سه نشانگر ریز ماهواره مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱). برای این کار ابتدا واکنش زنجیره ای پلیمرز شامل ۱۰۰ نانوگرم از DNA بلدرچین، یک واحد آنزیم Taq DNA پلی مراز، ۰/۲۵ میکرومولار از هر یک از پرایمرهای رفت و برگشت، ۲۰۰ میکرومولار از dNTP، بافر PCR، سه میکرومولار از $MgCl_2$ و ۱۶/۵ میکرولیتر آب مقطر (حجم ۲۵ میکرولیتر) با برنامه حرارتی (واسرشته سازی دو رشته DNA، ۹۴ درجه سانتی-گراد به مدت ۳۰ ثانیه - اتصال پرایمرها برای نشانگر GUJ0059، ۵۶/۳ و نشانگر GUJ0049، ۵۸/۷ و برای نشانگر GUJ0100، ۶۱/۴ درجه سانتی-گراد به مدت ۴۵ ثانیه، سنتز رشته، ۷۲ درجه سانتی-گراد به مدت ۹۰ ثانیه) به تعداد ۳۵ سیکل در دستگاه ترموسایکلر انجام شد.

برای آشکارسازی و مشاهده قطعات تکثیر شده از ژل پلی اکریل آمید هشت درصد استفاده شد. بعد از الکتروفورز، تمام افراد برای سه نشانگر ریز ماهواره تعیین ژنوتیپ شدند. از نشانگرهای موجود بر روی کروموزوم شماره پنج، یک نشانگر دارای سه آلل (GUJ0049) و دو نشانگر دیگر دو آللی بودند (GUJ0100 و GUJ0059). آلل ها با اعداد یک تا سه مشخص شدند.

برای محاسبه موقعیت ها و آثار مربوط به QTL های کروموزوم شماره پنج، از مدل های آماری زیر استفاده شد.

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

$$Y_{ijkl} = \mu + H_i + S_j + aP_{ak} + dP_{dk} + iP_{ik} + e_{ijkl}$$

در مدل فوق، Y_{ijkl} فنوتیپ مشاهده شده افراد k ، μ میانگین جمعیت، H_i و S_j به ترتیب اثر ثابت عوامل هیچ و جنس، a و d و i

جدول ۱- توالی آغازگرهای به کار برده شده در واکنش زنجیره ای پلیمرز برای کروموزوم پنج.

نشانگر	موقعیت ^۱ (cM)	توالی آغازگر		دامنه اندازه آللی ^۲ (bp)	دما ^۳
		رفت (5'→3')	برگشت (5'→3')		
GUJ0059	۰	TAGGTGCGAAAATCTCTGAC	GACAAAGTTACAGCTAGGAG	۲۰۷-۲۱۹	۵۶/۳
GUJ0049	۱۲	GAAGCAGTGACAGCAGAATG	CGGTAGCATTTCTGACTCCA	۲۲۹-۲۴۱	۵۸/۷
GUJ0100	۲۱	GCATTTCATCAGTACAACC	CAGAAATATAAGGTCACAGCC	۲۷۸-۲۹۰	۶۱/۴

^۱ موقعیت نشانگرها روی کروموزوم پنج بلدرچین ژاپنی بر اساس نقشه پیوستگی، ^۲ Base pair (جفت باز)، ^۳ دمای بهینه اتصال آغازگر به رشته الگو

جدول ۲- خلاصه آمار توصیفی داده‌های فنوتیپی پرندگان نسل F₂

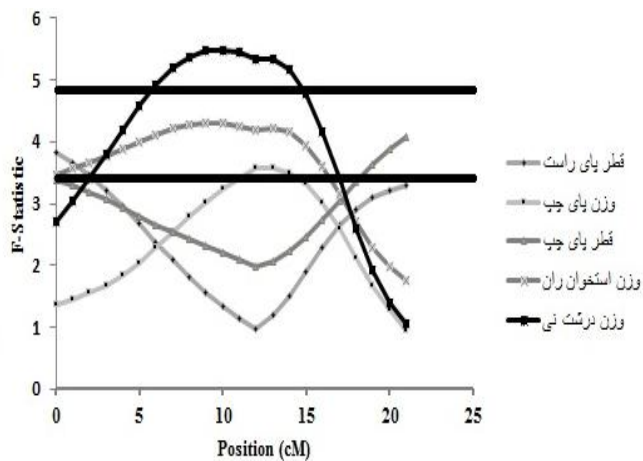
صفت	تعداد ^۱	میانگین ^۲	حداقل (گرم)	حداکثر (گرم)	انحراف معیار باقی مانده	درصد ضریب تغییرات
وزن لاشه سرد	۴۲۱	۱۰۴/۵	۱۴۱	۴۶۰/۳۰	۱۳/۲۲	۱۲/۶۵
وزن سینه	۳۹۹	۳۲/۷۱۰	۱۲/۵۲۰	۴۷/۸۱۰	۵/۶۰۸	۰/۱۷۱
وزن استخوان سینه	۳۹۹	۳/۵۱۸	۱/۷۵۰	۶/۸۷۰	۰/۷۲۴	۰/۲۰۵
وزن گوشت سینه	۳۹۷	۲۹/۰۰۰	۱۲/۳۳۰	۴۳/۲۰۰	۵/۲۱۲	۰/۱۷۹
وزن ران	۳۹۹	۹/۳۳۹	۴/۹۴۰	۱۳/۲۵۰	۱/۵۸۰	۰/۱۶۹
وزن گوشت ران	۳۹۴	۸/۳۳۸	۰/۸۵۰	۹۱/۴۱۰	۴/۴۳۷	۰/۵۳۲
وزن استخوان ران	۳۹۴	۰/۵۵۵	۰/۳۲۰	۰/۹۰۰	۰/۰۷۳	۰/۱۳۱
طول استخوان ران	۳۹۴	۳۹/۰۳۰	۲۹/۶۰۰	۴۲/۵۰۰	۱/۷۰۸	۰/۰۴۳
قطر استخوان ران	۳۹۸	۲/۷۹۵	۱/۹۷۰	۳/۶۱۰	۰/۲۲۸	۰/۰۸۱
وزن استخوان درشت نی	۴۰۰	۰/۵۹۹	۰/۳۳۰	۰/۹۹۰	۰/۰۷۷	۰/۱۲۸
وزن استخوان بازو	۳۹۹	۰/۶۲۰	۰/۳۶۰	۰/۹۹۰	۰/۰۹۸	۰/۱۵۸
طول استخوان بازو	۳۹۸	۳۷/۸۷۰	۲۳/۰۶۰	۴۵/۲۰۰	۱/۹۱۱	۰/۰۵۰
قطر استخوان بازو	۳۹۶	۲/۹۲۰	۱/۵۰۰	۴/۷۰۰	۰/۳۲۲	۰/۱۱۰
وزن پای راست	۴۰۰	۰/۲۹۸	۰/۱۳۰	۰/۶۱۰	۰/۰۴۴	۰/۱۴۷
طول پای راست	۴۰۰	۳۱/۳۹۰	۲۵/۱۳۰	۳۹/۲۱۰	۱/۲۸۰	۰/۰۴۰
قطر پای راست	۴۰۰	۲/۴۷۸	۱/۶۴۰	۳/۰۶۰	۰/۱۸۷	۰/۰۷۵
وزن پای چپ	۳۹۸	۰/۲۹۱	۰/۱۹۰	۰/۵۰۰	۰/۰۳۷	۰/۱۲۷
طول پای چپ	۳۹۸	۳۱/۱۷۰	۲۶/۳۹	۳۴/۰۰۰	۱/۰۹۱	۰/۰۳۵
قطر پای چپ	۴۰۰	۲/۴۷۱	۱/۵۲۰	۲/۹۴۰	۰/۱۸۴	۰/۰۷۴

^۱تعداد مشاهدات برای هر صفت، ^۲میانگین تصحیح شده برای اثر عوامل ثابت جنس و هج

نتایج و بحث

آمار توصیفی مربوط به صفات استخوان، شامل تعداد مشاهدات برای هر صفت، میانگین تصحیح شده هر صفت برای اثر ثابت، مقدار حداقل و حداکثر برای هر صفت، انحراف معیار باقی مانده و ضریب تغییرات صفات می باشد که در جدول ۲ آورده شده است. طی کاوش ژنومی کروموزوم پنج با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره، برای نه صفت QTL معنی دار شناسایی شد. همان طور که ذکر شد، داده ها با استفاده از نه مدل به کمک نرم افزار Grid QTL تجزیه شدند. در مدلی که اثر افزایشی QTL در نظر گرفته شد برای قطر پای چپ در موقعیت پنج سانتی مورگانی و وزن استخوان ران در موقعیت صفر سانتی مورگانی با سطح احتمال پنج درصد، جایگاه معنی دار شناسایی شد. اثر افزایشی برای هر دو QTL مثبت و نزدیک ترین نشانگر به این دو جایگاه GUJ0059 می باشد (جدول ۳). در تجزیه دوم که شامل آثار غلبه و افزایشی QTL بود برای صفات قطر پای راست (صفر سانتی مورگان)، قطر پای چپ (صفر سانتی مورگان) و قطر استخوان ران (۱۷ سانتی-

مورگان) در سطح پنج درصد QTL معنی دار شناسایی شد. برای صفت قطر پای راست اثر غلبه و برای صفات قطر پای چپ و قطر استخوان ران اثر افزایشی معنی دار شد. نزدیک ترین نشانگر برای QTL قطر پای چپ و راست GUJ0059 و برای قطر استخوان ران GUJ0100 است (جدول ۴). در تجزیه اثر افزایشی، غلبه و ایمپریتینگ QTL، نزدیک به نشانگر GUJ0049 برای صفات وزن استخوان ران، وزن درشت نی و وزن پای چپ به ترتیب در موقعیت ۹، ۱۰ و ۱۳ سانتی مورگانی کروموزوم پنج جایگاه معنی دار شناسایی شد. برای صفت وزن درشت نی و وزن پای چپ فقط اثر غلبه مثبت بود و برای وزن استخوان ران فقط ایمپریتینگ دارای اثر منفی بود. برای صفت قطر پای راست در موقعیت صفر سانتی مورگان نزدیک به جایگاه GUJ0059، QTL معنی دار شناسایی شد که این جایگاه نیز برای اثر ایمپریتینگ منفی بود، جایگاه دیگری که با این تجزیه معنی دار شد در موقعیت ۲۱ سانتی مورگانی کروموزوم و نزدیک به نشانگر GUJ0100 بود که مربوط به صفت قطر پای چپ است. این



شکل ۱- پروفیل آماره F حاصل از برازش مدل اثر افزایشی، غلبه و ایمپریتینگ QTL. خط‌های افقی آستانه‌های معنی‌داری در سطح یک و پنج درصد را نشان می‌دهد.

جدول ۳- خلاصه نتایج حاصل از تجزیه اثر افزایشی QTL.

صفت	موقعیت (cM) ^۱	آماره ^۲ F	اثر QTL A (SE) ^۳	V _{QTL} ^۴	نشانهگر ^۵
قطر پای چپ	۵	۶/۸۶*	۰/۰۴(۰/۰۲)	۱/۴۲	GUJ0059
وزن استخوان ران	۰	۶/۵۵*	۰/۰۲(۰/۰۱)	۱/۳۹	GUJ0059

^۱موقعیت QTL بر حسب سانتی‌مورگان، ^۲* اثر معنی‌دار QTL در سطح پنج درصد در سطح کروموزوم، ^۳اثر افزایشی QTL (اشتباه استاندارد)، ^۴واریانس QTL، ^۵نزدیک‌ترین نشانگر به موقعیت QTL.

جدول ۴- خلاصه نتایج حاصل از تجزیه اثر افزایشی و غلبه QTL.

صفت	موقعیت (cM) ^۱	آماره ^۲ F	اثر QTL A (SE) ^۴ D (SE) ^۳	V _{QTL} ^۵	نشانهگر ^۶
قطر پای راست	۰	۵/۵۱*	۰/۰۶(۰/۰۲)	۲/۱۴	GUJ0059
قطر پای چپ	۰	۴/۴۴*	۰/۰۳(۰/۰۲)	۱/۷۰	GUJ0059
قطر استخوان ران	۱۷	۴/۴۰*	۰/۱۲(۰/۰۴)	۱/۶۳	GUJ0100

^۱موقعیت QTL بر حسب سانتی‌مورگان، ^۲* اثر معنی‌دار QTL در سطح پنج درصد در سطح کروموزوم، ^۳اثر غلبه QTL (اشتباه استاندارد)، ^۴اثر افزایشی QTL، ^۵واریانس QTL، ^۶نزدیک‌ترین نشانگر به موقعیت QTL.

جدول ۵- خلاصه نتایج حاصل از تجزیه آثار افزایشی، غلبه و ایمپریتینگ QTL.

صفت	موقعیت (cM) ^۱	آماره ^۲ F	اثر QTL A (SE) ^۵ D (SE) ^۴ I (SE) ^۳	V _{QTL} ^۶	نشانهگر ^۷
قطر پای راست	۰	۳/۸۱*	۰/۰۷(۰/۰۲) -۰/۰۱(۰/۰۲)	۲/۱۴	GUJ0059
وزن پای چپ	۱۳	۳/۵۷*	۰/۰۱(۰/۰۱) -۰/۰۱(۰/۰۰)	۰/۰۱	GUJ0049
قطر پای چپ	۲۱	۴/۰۸*	۰/۰۳(۰/۰۳) ۰/۰۴(۰/۰۲)	۲/۲۷	GUJ0100
وزن استخوان ران	۹	۴/۳۰*	۰/۰۳(۰/۰۱) ۰/۰۱(۰/۰۱)	۲/۷۸	GUJ0049
وزن درشت نی	۱۰	۵/۴۹**	۰/۰۳(۰/۰۱) ۰/۰۴(۰/۰۱)	۲/۸۶	GUJ0049

^۱موقعیت QTL بر حسب سانتی‌مورگان، ^۲* و ^۳** به ترتیب اثر معنی‌دار QTL در سطح پنج و یک درصد در سطح کروموزوم، ^۴اثر ایمپریتینگ QTL (اشتباه استاندارد)، ^۵اثر غلبه QTL، ^۶واریانس QTL، ^۷نزدیک‌ترین نشانگر به موقعیت QTL.

جدول ۶- خلاصه نتایج حاصل از تجزیه اثر متقابل افزایشی QTL با جنس.

صفت	موقعیت ^۱ (cM)	آماره F ^۲	اثر متقابل افزایشی QTL با جنس		V _{QTL} ^۳	نشانگر ^۴
			۱	۲		
طول پای راست	۸	۶/۰۴ ^{***}	-	-۰/۶۲(۰/۱۸)	۲/۴۵	GUJ0049
قطر پای چپ	۵	۴/۶۷ [*]	۰/۰۶(۰/۰۲)	-	۱/۷۴	GUJ0059
وزن استخوان ران	۰	۶/۷۷ ^{***}	۰/۰۳(۰/۰۱)	-	۲/۹۴	GUJ0059
وزن لاشه سرد	۶	۵/۰۸ [*]	۳/۶۴(۱/۵۰)	-	۱/۹۱	GUJ0059

^۱موقعیت QTL بر حسب سانتی مورگان، ^۲* و ^{***} به ترتیب اثر معنی دار QTL در سطح پنج و یک درصد در سطح کروموزوم، ^۳واریانس QTL، ^۴نزدیک ترین نشانگر به موقعیت QTL

جدول ۷- خلاصه نتایج حاصل از تجزیه اثر متقابل افزایشی و غلبه QTL با جنس.

صفت	موقعیت ^۱ (cM)	آماره F ^۲	V _{QTL} ^۳	نشانگر ^۴	جنس	اثر متقابل QTL و جنس	
						A(SE) ^۵	D(SE) ^۶
طول پای راست	۱۶	۳/۲۴ [*]	۲/۱۹	GUJ0049	۲	-۰/۵۹(۰/۱۸)	-
وزن استخوان ران	۰	۳/۴۸ [*]	۲/۹۴	GUJ0059	۱	۰/۰۳(۰/۰۱)	-
وزن درشت نی	۱۲	۳/۱۶ [*]	۱/۹۸	GUJ0049	۲	-	۰/۰۵(۰/۰۲)

^۱موقعیت QTL بر حسب سانتی مورگان، ^۲* اثر معنی دار QTL در سطح پنج درصد در سطح کروموزوم، ^۳واریانس QTL، ^۴نزدیک ترین نشانگر به موقعیت QTL، ^۵اثر افزایشی QTL (اشتباه استاندارد)، ^۶اثر غلبه QTL

جدول ۸- خلاصه نتایج حاصل از تجزیه اثر متقابل افزایشی و غلبه QTL با هج.

صفت	موقعیت ^۱ (cM)	آماره F ^۲	V _{QTL} ^۳	نشانگر ^۴	هج	اثر متقابل QTL و هج	
						A(SE) ^۵	D(SE) ^۶
وزن پای راست	۲۱	۲/۶۵ ^{***}	۴/۵۵	GUJ0100	۱	-	-۰/۰۵(۰/۰۱)
					۴	-	۰/۰۴(۰/۰۱)

^۱موقعیت QTL بر حسب سانتی مورگان، ^۲* اثر معنی دار QTL در سطح یک درصد در سطح کروموزوم، ^۳واریانس QTL، ^۴نزدیک ترین نشانگر به موقعیت QTL، ^۵اثر افزایشی QTL (اشتباه استاندارد)، ^۶اثر غلبه QTL

جدول ۹- خلاصه نتایج حاصل از تجزیه اثر متقابل افزایشی، غلبه و ایمپرینتینگ QTL با جنس.

صفت	موقعیت ^۱ (cM)	آماره F ^۲	V _{QTL} ^۳	نشانگر ^۴	جنس	اثر متقابل QTL و جنس		
						A(SE) ^۵	D(SE) ^۶	I(SE) ^۷
وزن پای راست	۱۲	۲/۷۵ [*]	۳/۴۵	GUJ0049	۲	-	-	-۰/۰۲(۰/۰۱)
وزن پای چپ	۱۲	۳/۲۵ [*]	۴/۵۵	GUJ0049	۲	-	-	-۰/۰۲(۰/۰۱)
وزن استخوان ران	۹	۳/۲۷ [*]	۴/۴۱	GUJ0049	۲	-	-	-۰/۰۳(۰/۰۱)
قطر استخوان ران	۱۶	۲/۵۹ [*]	۲/۳۸	GUJ0049	۱	-	۰/۱۲(۰/۰۵)	-
وزن درشت نی	۱۲	۴/۸۳ ^{***}	۵/۹۴	GUJ0049	۲	-	۰/۰۶(۰/۰۲)	-۰/۰۵(۰/۰۱)

^۱موقعیت QTL بر حسب سانتی مورگان، ^۲* و ^{***} به ترتیب اثر معنی دار QTL در سطح پنج و یک درصد در سطح کروموزوم، ^۳واریانس QTL، ^۴نزدیک ترین نشانگر به موقعیت QTL، ^۵اثر افزایشی QTL (اشتباه استاندارد)، ^۶اثر غلبه QTL، ^۷اثر ایمپرینتینگ QTL

جدول ۱۰- خلاصه نتایج حاصل از تجزیه اثر متقابل افزایشی، غلبه و ایمپریتینگ QTL با هج.

صفت	موقعیت (cM)	آماره F	V _{QTL} ^۳	نشانگر ^۴	هج	اثر متقابل QTL و هج		
						A(SE)	D(SE)	I(SE)
وزن پای راست	۲۱	۲/۲**	۴/۵۵	GUJ0100	۱	-	-۰/۰۴(۰/۰۱)	-
					۴	-	۰/۰۴(۰/۰۱)	-

^۱ موقعیت QTL بر حسب سانتی مورگان، ^۲ اثر معنی دار QTL در سطح یک درصد در سطح کروموزوم، ^۳ واریانس QTL، ^۴ نزدیک ترین نشانگر به موقعیت QTL. ^۵ اثر افزایشی QTL (اشتباه استاندارد)، ^۶ اثر غلبه QTL، ^۷ اثر ایمپریتینگ QTL

سانتی مورگانی)، ۲۷ (۳۸ و ۴۷ سانتی مورگانی)، برای قطر استخوان بازو بر روی کروموزوم هفت (۱۰۰ سانتی مورگانی)، ۱۰ (۴۴ سانتی مورگانی)، ۱۳ (۵۵ سانتی مورگانی)، ۱۸ (۳۶ سانتی-مورگانی)، ۲۷ (۱۸ سانتی مورگانی) جایگاه معنی دار شناسایی شد (Schreiweis et al. 2005). در این بررسی برای وزن استخوان درشت نی در ۱۰ و ۱۲ سانتی مورگانی کروموزوم پنج جایگاه معنی دار شناسایی شد ولی برای صفت استخوان بازو QTL معنی-دار مشاهده نشد. در مطالعه ای دیگر با استفاده از یک جمعیت F₂ حاصل از تلاقی نرهای گوشتی با ماده های خالص لگهورن و فایومی برای وزن پا بر روی کروموزوم های یک و چهار در جوجه های گوشتی حاصل از تلاقی با لگهورن و بر روی کروموزوم ۱، ۸، ۱۴ و Z جوجه های گوشتی حاصل از تلاقی با فایومی، برای صفت طول پا بر روی کروموزوم های ۱، ۴، ۶ و ۱۴ در جوجه های گوشتی حاصل از تلاقی با لگهورن و بر روی کروموزوم یک و هشت جوجه های حاصل از تلاقی با فایومی، برای طول استخوان درشت نی بر روی کروموزوم های چهار، پنج و ۱۴ جوجه های گوشتی حاصل از تلاقی با لگهورن و بر روی کروموزوم یک و هشت جوجه های حاصل از تلاقی با فایومی جایگاه معنی دار شناسایی شد. طی این پژوهش برای وزن پای چپ در ۱۲ و ۱۳ سانتی مورگانی، وزن پای راست ۱۲ و ۲۱ سانتی مورگانی و برای طول پای راست در هشت سانتی مورگانی کروموزوم پنج، QTL معنی دار شناسایی شد. هم چنین بر روی کروموزوم ۱ برای بال جایگاه معنی دار شناسایی شد که در این مطالعه برای استخوان بازو QTL معنی داری یافت نشد (Zhou et al. 2007).

بررسی این QTL ها و مطالعات انجام شده در رابطه با ساختار ژنتیکی اسکلت، می تواند QTL صفات اسکلتی و ژن های کاندیدا

واریانس فنوتیپی ایجاد شده به وسیله QTL محاسبه شد و محدوده ای بین ۵/۹۴-۰/۰۱ داشت. منظور از واریانس فنوتیپی ناشی از QTL، بخشی از واریانس فنوتیپی صفت مورد نظر است که به وسیله QTL ایجاد می شود.

وراثت پذیری مندلی بیان مساوی از آلل های والدی در نتاج است (Andersson 2001)، از طرف دیگر ایمپریتینگ ژنومی بیان تنها یکی از دو کپی ژن در نتاج بر اساس منشا والدی آلل هاست (Barlow 1995). در بررسی اثر منشا والدی برای قطر پای راست (صفر سانتی مورگانی)، وزن پای چپ (۱۳ سانتی مورگانی)، قطر پای چپ (۲۱ سانتی مورگانی)، وزن استخوان ران (نه سانتی-مورگانی) و وزن درشت نی (۱۰ سانتی مورگانی) جایگاه معنی دار شناسایی شد که اثر منشا والدی برای همه صفات منفی است.

تاکنون مطالعات مختلفی به منظور برآورد پارامترهای ژنتیکی و همچنین مطالب متعددی برای بهبود صفات مختلف در بلدرچین ژاپنی گزارش و ارائه شده است (Mohammadabadi et al. 2010; Ayatollahi 2012; Charati and Esmailizadeh 2013; Moradian et al. 2014; Rezvannejad 2014). به دلیل نبودن مطالعات مشابه در بلدرچین، صفات بررسی شده را با پژوهش های انجام شده در جوجه های گوشتی و تخم گذار مقایسه می-کنیم. در مطالعه ای با استفاده از یک جمعیت F₂ حاصل از تلاقی نرهای گوشتی و ماده های لگهورن سفید، برای طول استخوان درشت نی بر روی کروموزوم های سه (۱۶۳ و ۲۹۲ سانتی-مورگانی)، چهار (۲۳۰ سانتی مورگانی)، ۱۳ (۳۲ سانتی مورگانی) و ۲۷ (۳۳ و ۳۹ سانتی مورگانی)، قطر استخوان درشت نی بر روی کروموزوم های چهار (۲۲۰-۲۰۰ سانتی مورگانی)، شش (۱۰۴ سانتی مورگانی)، هشت (۷۶ سانتی مورگانی)، ۱۱ (۱۲ سانتی-مورگانی)، ۱۳ (۳۶ سانتی مورگانی)، برای طول استخوان بازو بر روی کروموزوم های چهار (۲۲۵ سانتی مورگانی)، شش (۶۴

اسکلت تاثیر بگذارند (Rubin et al. 2007). شناسایی QTL مربوط به استخوان در بلدرچین ممکن است به شناسایی ژن‌هایی که در واریانس فنوتیپی اندازه و ترکیب استخوان در دیگر گونه‌ها دخالت دارند، کمک کند.

نتیجه‌گیری کلی

در این تحقیق تعدادی از نواحی ژنومی مرتبط با صفات استخوان روی کروموزوم پنج بلدرچین ژاپنی شناسایی شد. نتایج این پژوهش نقش توارث غیر مندلی (ایمپرینتینگ ژنومی) و آثار پلیوتروپی و تک‌ژنی را در چندین صفت استخوان که در اصلاح نژاد بلدرچین اهمیت دارند نشان می‌دهد.

با اعمال شناخته شده در توسعه، تمایز و بلوغ استخوان را شناسایی کند (Karsenty 1998). فاکتورهای موثر بر رشد و توسعه استخوان که در طیور مورد مطالعه قرار گرفته شامل روش‌های مدیریت، تحرک پرند و افزودنی‌های غذایی خاص است. مکانیسم‌هایی که با جذب مواد مغذی مرتبط هستند می‌توانند کاندیداهای مناسبی برای ژن‌هایی باشند که بر روی صفات اسکلت تاثیر می‌گذارند (Zhou et al. 2007).

ژن‌های کنترل‌کننده وزن و اندازه بدن، در بیش‌تر مواقع آثار پلیوتروپی روی اسکلت دارند. افراد بزرگ‌تر اغلب استخوان‌های بزرگ‌تری دارند و این استخوان‌ها استرس‌های بیومکانیکی بزرگتری را نسبت به افراد کوچک‌تر تحمل می‌کنند. بنابراین ژن‌های مؤثر بر اندازه و وزن بدن، می‌توانند به‌طور غیر مستقیم بر

منابع

- Abasht B, Dekkers JC, Laont SJ (2006) Review of quantitative trait loci identified in the chicken. *Poultry Science* 85: 2079-2096.
- Aerts J, Megens HJ, Veenendaal T, Ovcharenko I, Crooijmans R, Gordon L, Stubbs L, Groenen M (2007) Extent of linkage disequilibrium in chicken cytogenetic. *Genome Research* 17: 338-345.
- Andersson L (2001) Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. *Nature Reviews Genetics* 2: 130-138.
- Ayatollahi A (2012) Divergent selection for four-week body weight in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*): response to selection and realized heritability. *Journal of Livestock Science and Technologies* 1: 61-64.
- Balthazart J, Baillien M, Charlier TD, Cornil CA, Ball GF (2003) The neuroendocrinology of reproductive behavior in Japanese quail. *Domestic Animal Endocrinology* 25: 69-82.
- Barlow DP (1995) Gametic imprinting in mammals. *Science* 270: 1610-1613.
- Bishop SC, Fleming RH, McCormack HA, Flock DK, Whitehead CC (2000) Inheritance of bone characteristics affecting osteoporosis in laying hens. *British Poultry Science*. 41: 33-40.
- Cain JR, Cawley WO (1972) Care Management Propagation: Japanese Quail (*coturnix*). Texas Agricultural Experiment Station, from <http://hdl.handle.net/1969.1/92988>.
- Carlborg Ö, Kerje S, Schütz K, Jacobsson L, Jensen P, Andersson L (2003) A global search reveals epistatic interaction between QTL for early growth in the chicken. *Genome Research* 13: 413-421.
- Charati H, Esmailzadeh AK (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: 59-64.
- Churchill GA, Doerge RW (1994) Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics* 138: 963-971.
- Cook ME (2000) Skeletal deformities and their causes: introduction. *Poultry Science* 79: 982-984.
- Flint J, Mott R (2001) Finding the molecular basis of quantitative traits: Successes and pitfalls. *Nature Reviews Genetics* 6: 437-445.
- Genchev A, Mihaylova G, Ribarski S, Pavlov A, Kabakchiev M (2008) Meat quality and composition in Japanese quails. *Trakia Journal of Sciences* 6: 72-82.
- Haley CS, Knott SA (1992) A simple regression method for mapping quantitative loci in line crosses using flanking markers. *Heredity* 69: 315-324.
- Hocking PM, Bain M, Channing CE, Fleming R, Wilson S (2003) Genetic variation for egg production, egg quality and bone strength in selected and traditional breeds of laying fowl. *British Poultry Science* 44: 365-373.
- Jabbari Ori R, Esmailzadeh AK, Charati H, Mohammadabadi MR, Sohrabi SS (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.
- Jia Z, Xu S (2007) Mapping quantitative trait loci for expression abundance. *Genetics* 176: 611-623.
- Jones RB, Mills AD, Faure JM (1991) Genetic and experiential manipulation of fear-related behavior in Japanese quail chicks (*Coturnix Coturnix Japonica*). *Journal of Comparative Psychology* 105: 15-24.
- Karsenty G (1998) Genetics of skeletogenesis. *Developmental Genetics Journal* 22: 301-313.
- 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 Genetic* 35: 195-200.
- Knott SA, Marklund L, Haley CS, Andersson K, Davies W, Ellegren H, Fredholm M, Hansson I, Hoyheim B, Lundstrom K, Moller M, Andersson L (1998) Multiple marker mapping of quantitative trait loci in a cross between outbred wild boar and large white pigs. *Genetics* 149: 1069-1080.
- Korol AB, Ronin YI, Kirzhner VM (1995) Interval mapping of quantitative trait loci employing correlated trait complexes. *Genetics* 140: 1137-1147.
- Korstanje R, Paigen B (2002) From QTL to gene: the harvest begins. *Nature Genetics* 31: 235-236.
- Lilburn MS (1994) Skeletal growth of commercial poultry species. *Poultry Science* 73: 897-903.
- Martinez O, Curnow RN (1992) Estimating the locations and the sizes of the effects of quantitative trait loci using flanking markers. *Theoretical and Applied Genetics* 85: 480-488.
- Mills AD, Faure JM (1991) Divergent selection for duration of tonic immobility and social reinstatement behavior in Japanese quail (*Coturnix Coturnix Japonica*) chicks. *Journal of Comparative Psychology* 105: 25-38.
- Mohammadabadi MR, Nikbakhti M, Mirzaee HR, Shandi A, Saghi DA, Romanov MN, Moiseyeva IG (2010) Genetic variability in three native Iranian chicken populations of the Khorasan province based on microsatellite markers. *Russian journal of genetics* 46: 505-509.
- Mohammadifar A, Mohammadabadi MR (2011) Application of microsatellite markers for a study of Kermani sheep genome. *Iranian journal of Animal Science* 42: 337-344.
- Moradian H, Esmailizadeh AK, Sohrabi SS, Nasirifar E, Askari N, Mohammadabadi MR, 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: 4455-4462.
- Ratnamohan N (1985) The management of Japanese quail and their use in virological research: a review. *Veterinary Research Communications* 9: 1-14.
- 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: 35-42.
- Rubin CJ, Brändström H, Wright D, Kerje S, Gunnarsson U, Schutz K, Fredriksson R, Jensen P, Andersson L, Ohlsson C, Mallmin H, Larsson S, Kindmark A (2007) Quantitative trait loci for BMD and bone strength in an intercross between domestic and wild type chickens. *Journal of Bone and Mineral Research*. 22: 375-384.
- Schreiweis MA, Orban JI, Ledur MC, Moody DE, Hester PY (2005) Validation of dual-energy x-ray absorptiometry in live white leghorns. *Poultry Science* 84: 91-99.
- Seaton G, Hernandez J, Grunche JA, White I, Allen J, de Koning DJ, Wei W, Berry D, Halley C, Knott SA (2006) GridQTL: a grid portal for QTL mapping of compute intensive datasets. In: *Proceedings of 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production* 13-18.
- Sen S, Churchill GA (2001) A statistical framework for quantitative trait mapping. *Genetics* 159: 371-387.
- Sillanpää MJ, Corander J (2002) Model choice in gene mapping: what and why. *Trends in Genetics* 18: 302-307.
- Sohrabi SS, Esmailizadeh AK, Baghizadeh A, Moradian H, Mohammadabadi MR, Askari N, Nasirifar E (2012) Quantitative trait loci underlying hatching weight and growth traits in an F2 intercross between two strains of Japanese quail. *Animal production science* 52: 1012-1018.
- Whitehead CC (2004) Overview of bone biology in the egg laying hen. *Poultry Science* 83: 193-199.
- Whitehead CC, McCormack HA, McTeir L, Fleming RH (2004) High vitamin D3 requirements in broilers for bone quality and prevention of tibial dyschondroplasia and interactions with dietary calcium, available phosphorus and vitamin A. *British Poultry Science* 45: 425-436.
- Whittaker JC, Thompson R, Visscher PM (1996) The mapping of QTL by regression of phenotype on marker-type. *Heredity* 77: 23-32.
- Wright AJ, Mowers RP (1994) Multiple regression for molecular marker, quantitative trait data from large F2 populations. *Theoretical and Applied Genetics* 89: 305-312.
- Zhou H, Deeb N, Evock-clover CM, Mitchell AD, Ashwell CM, Lamont SJ (2007) Genome-Wide linkage analysis to identify chromosomal regions affecting phenotypic traits in the chicken, III, skeletal integrity. *Poultry Science* 86: 255-266.