ژنتیک نوین
دوره یازدهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۵
صفحه ۲۷۰ - ۲۶۱

بررسی ارتباط نشانگرهای مولکولی متراکم با صفات وزن لاشه و وزن سینه در بلدرچین ژاپنی

Study of molecular dense markers associated with carcass and breast weight traits in Japanese quail

حسین مهربان*[۱]، نرگس مداحی[۱]، احمد احمدی[۲]، الهام رضوان‌نژاد[۳]

۱- به‌ترتیب استادیار، دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه شهرکرد
۲- استادیار، دانشگاه بوعلی سینا، همدان
۳- استادیار، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان

Mehrban H*[1], Madahi N[1], Ahmadi A[2], Rezvannejad E[3]

1- Assistant Professor, Graduate MSc Student, University of Shahrekord
2- Assistant Professor, Bu Ali Sina University, Hamedan
3- Associate Professor, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: HosseinMehrban@agr.sku.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۳/۵/۵ - تاریخ پذیرش: ۹۴/۷/۱۹)

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی ارتباط نشانگرهای متراکم با صفات مرتبط با وزن سینه و لاشه در بلدرچین ژاپنی بود. برای این منظور از داده‌های فنوتیپی وزن سینه ۱۰۵ قطعه و وزن لاشه ۷۱ قطعه بلدرچین که برای وزن چهار هفتگی انتخاب شده بودند به‌همراه داده‌های ۱۲۷۹۸ نشانگر استفاده شد. پس از ویرایش داده‌ها، تجزیه و تحلیل داده‌ها در سه مرحله انجام گرفت. در مرحله اول اثر نشانگرها ثابت فرض شد و نشانگرهای غیر معنی‌دار خارج شد. در مرحله دوم اثر نشانگرهای معنی‌دار به صورت توأم در سطوح معنی دار (۰/۵ تا ۵ درصد) با استفاده از روش BayesCπ برآورد شد. در مرحله سوم نیز سطح بهینه مشخص و از روش bootstrap جهت بررسی سطح معنی‌داری اثر نشانگرها استفاده شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که در فاصله باور ۹۵ درصد، چهار نشانگر بر صفت وزن لاشه به‌صورت معنی‌داری تأثیرگذارند، بطوری‌که ۱۲/۷۷ درصد از واریانس فنوتیپی وزن لاشه توسط این چهار نشانگر قابل توجیه است. همچنین برای صفت وزن سینه ۱۰ عدد نشانگر در فاصله باور ۹۵ درصد معنی‌دار شدند که ۶/۷۸ درصد از واریانس فنوتیپی این صفت را توجیه کردند. از بین چهار نشانگر معنی‌دار برای وزن لاشه و ۱۰ نشانگر معنی‌دار برای وزن سینه تنها یک عدد نشانگر به‌صورت مشترک بر روی هر دو صفت تأثیرگذار بود.

واژه‌های کلیدی

بلدرچین ژاپنی
مدل بیزی
نشانگر های متراکم
وراثت‌پذیری ژنومی
وزن لاشه

مقدمه

بلدرچین جانوری از خانواده پرندگان و مرغان با نام علمی *Coturnix Coturnix* از راسته ماکیان سانان است. این پرنده دارای رشد سریعی است بطوری‌که در هفته دوم زندگی جثه‌ای سه برابر هفته اول دارد. از طرفی این پرنده به‌دلیل تولید تخم زیاد نیز دارای اهمیت است. از جمله خصوصیات مهم این پرنده بازار پسندی گوشت آن و نیز هزینه پایین خوراک‌دهی آن می‌باشد که منجر به افزایش سودآوری در امر پروش این پرنده خواهد شد (Mahroghy 2009). دوره پرورش این پرنده جهت تولید گوشت بسیار کوتاه بوده و حدود چهار الی پنج هفته است به‌همین دلیل مطالعات در جهت تولید گوشت بیش‌تر به‌صورت بهبود ژنتیکی که قابل انتقال به نسل بعد باشد در این مدت زمان کوتاه می‌تواند اهمیت زیادی داشته باشد.

برای بهبود ژنتیکی صفات در حیوانات اهلی، باید نسبت به جمع-آوری داده‌ها و ثبت شجره اقدام نمود (Mrode 2005). امروزه با پیشرفت‌های ایجاد شده در زمینه علوم ژنتیک مولکولی و توالی یابی DNA، روش‌های جدیدی پیش روی اصلاح‌گران قرار گرفته است که تغییرات زیادی را در توانایی روش‌های شناسایی تنوع DNA ایجاد نموده و استفاده از همین داده‌ها جهت ارزیابی حیوانات به‌طور قابل ملاحظه‌ای هزینه‌های اصلاح دام را کاهش داده است (Schaeffer 2006). از جمله این روش‌ها استفاده از نشانگرها به همراه داده‌های فنوتیپی و شجره جهت بهبود ژنتیکی صفات مختلف در حیوانات است (Legarra et al. 2009). از مهم‌ترین نشانگرهایی که در حال حاضر در مطالعات ژنومی به طور فراوان یافت می‌شوند می‌توان به چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی یا SNP[1] اشاره نمود. نشانگرهای SNP به‌دلیل فراوانی در سطح ژنوم و راحتی نمره‌دهی و کاربرد در تعیین ارتباط ژنوتیپی نقش مهمی در پیشبرد مطالعات ژنومی دارند (Naghavi et al. 2007). بنابراین اگر تعداد زیادی نشانگر به نحوی وجود داشته باشند که بتوانند کل ژنوم را پوشش دهند، می‌توان حیوانات را براساس ارزش‌های اصلاحی ژنومی آن‌ها انتخاب نمود که این نوع انتخاب به انتخاب ژنومی مشهور است (Meuwissen et al. 2001). امروزه تراشه‌های SNP برای بسیاری از حیوانات اهلی تولید شده‌است، به‌طور مثال، شرکت ایلومینا تراشه‌های ۵۰ هزارتاییSNP برای گاو، ۲٤ هزارتایی برای سگ، ٥٦ هزارتایی برای گوسفند، ٦۰ هزارتایی برای خوک، ٥٤ هزارتایی برای اسب و ٦۰ هزارتایی برای طیور را تولید کرده است (Zhang et al. 2012). در طیور، انتخاب ژنومی در اولین مرحله با استفاده از تراشه‌های ۱۰ و ٤۰ هزارتایی توانست توسعه لاین‌های خالص را به همراه داشته باشد (Tierzucht and Seedeich 2012).

در سال‌های اخیر تراشه‌های SNP نسبت به سال‌های گذشته توسعه بیش‌تری پیدا کرده که این عامل باعث توسعه نقشه‌های ژنتیکی برای صفات کمی شده‌است (Goddard and Hayes 2009). توسعه روش‌های جدید و الگوریتم‌های مؤثر کامپیوتری با کاربرد عملی در پیش‌بینی ژنتیکی و پیشرفت در دانش مولکولی امکان مطالعه پیوستگی در سطح ژنوم[2] را فراهم نموده است (Gondro 2013). در همین خصوص GWAS روشی مناسب در کشف ژن‌های اصلی و یک راه جدید در مطالعه مکانیزم‌های ژنتیکی در صفات پیچیده است، بنابراین این روش می‌تواند ما را در درک بهتر معماری ژنتیکی صفات پیچیده کمک نماید. هدف از انجام مطالعات GWAS تعیین روابط بین فنوتیپ و ژنوتیپ می‌باشد (Gondro 2013). در واقع، توانایی GWAS در تشخیص صحیح همبستگی بین یک SNP و صفت وابسته به آن است (Korte and Farbw 2013). از دیگر مزایای GWAS می‌توان به بررسی کل ژنوم و همچنین نااریب بودن آن نسبت به سایر روش-ها اشاره کرد (Gondro 2013). تکنیک GWAS برای اولین بار در تجزیه و تحلیل بیماری‌های انسانی مورد استفاده قرار گرفت (Naghi et al. 2001). اما امروزه کاربرد GWAS در زمینه‌های مختلف علوم کشاورزی و کشف ژن‌های مؤثر بر صفات مختلف در برنج و جو گسترش یافته‌است (Zho et al. 2011; Visoni et al. 2013). در حیوانات اهلی نیز GWAS برای تعیین نقشه ژنتیکی کاربرد فراوانی داشته است (Zhang et al. 2012). از جمله این مطالعات می‌توان به مطالعه بر روی صفات گوسفند (Johnston et al. 2011)، اسب (Orr et al. 2010)، گاو شیری (Mai et al. 2010; Pryce et al. 2010; Schope et al. 2011;

[1] Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

[2] Genome Wide Association Study (GWAS)

(Sahana et al. 2011) و گاو گوشتی (Lee et al. 2013) اشاره کرد. هم‌راستا با پیشرفت علم ژنتیک برای ترسیم نقشه ژنتیکی با کمک گرفتن از GWAS مطالعات زیادی نیز به‌طور گسترده در طیور صورت گرفته است (Gu et al. 2011). در مرغ ۲۵۷ عدد SNP معنی‌دار برای ۱۸ صفت با کمک GWAS شناسایی شده است (Liu et al. 2011). از روش یاد شده برای بررسی مقاومت طیور به بیماری نیوکاسل نیز استفاده شده‌است (Luo et al. 2013). صفات وزن بدن و کیفیت لاشه (مانند وزن سینه و وزن لاشه) از جمله صفات اقتصادی در طیور به‌شمار می‌روند. پیش از این، با استفاده از روش انتخاب سنتی (براساس شجره و فنوتیپ) پیشرفت‌های زیادی در این صفات حاصل شده بود (Berri et al. 2001). با گسترش GWAS در پژوهش‌های مختلف SNPهای معنی‌داری برای خصوصیت وزن لاشه (Liu et al. 2011)، صفت وزن سینه مرغ (Sun et al. 2013) مشاهده شد. در مطالعات انجام گرفته بر روی بلدرچین در سنین ۳ تا ٦ هفتگی (Esmailizade et al. 2012) و نیز در سن ٤ هفتگی QTL[1]های معنی‌داری برای وزن بدن گزارش شده‌است (Rezvannejad et al. 2012). توسعه تکنیک‌های مولکولی منجر به شناسایی تعداد زیادی از نشانگرها در بلدرچین ژاپنی شده‌است (Ahmadi 2012). هدف از مطالعه حاضر، بررسی ارتباط این نشانگرها با صفات مرتبط با وزن لاشه و وزن سینه در بلدرچین ژاپنی بوده است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق جهت بررسی ارتباط نشانگرهای SNP با صفات وزن سینه و وزن لاشه به‌ترتیب از ۱۰۵ و ۷۱ قطعه بلدرچین ژاپنی نسل F2 حاصل از تلاقی دو لاین سبک وزن و سنگین وزن که به مدت ۷ نسل برای وزن ۲۸ روزگی انتخاب شده بودند استفاده شد (Rezvannejad et al. 2012). پس از استخراج DNA ژنومی از نمونه خون بلدرچین‌ها، آماده‌سازی و توالی‌یابی DNA ژنومی آن‌ها با استفاده از دستگاه Hiseq2000 در آزمایشگاه گروه بیوتکنولوژی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه آرهوس دانمارک صورت گرفت (Ahmadi et al. 2012). پس از ویرایش توالی‌های DNA، در مجموع ۱۲۷۹۸ عدد SNP در نمونه‌ها مشخص شد. به دلیل بالا بودن تعداد زیاد نشانگرها در مقابل داده‌های فنوتیپی، تعیین ارتباط بین جایگاه‌های نشانگری و صفات مورد نظر طی دو مرحله صورت گرفت (Neves et al. 2012). در مرحله اول اثر SNPها ثابت در نظر گرفته شد و توسط مدل (۱) در محیط نرم‌افزار R برآورد شدند.

$$y_{ijk} = b_0 + b_1 x_{ij} + Sex_i + hatch_j + e_{ijk}$$ مدل ۱)

در معادله فوق، y_{ijk} صفت مورد نظر، b_0 و b_1 به‌ترتیب عرض از مبدأ و اثر نشانگر، x_{ij} کد نشانگر (۱ برای هتروزیگوت‌ها و اعداد ۰ و ۲ برای هموزیگوت‌ها)، Sex نشان دهنده اثر جنس، $hatch$ اثر هچ و در نهایت e_{ijk} میزان باقی‌مانده است.

SNPهای مؤثر در سطوح معنی‌داری ۰/۵ الی ۵ درصد با آزمون t-student انتخاب و وارد مرحله دوم شدند. در مرحله دوم اثر SNPهای معنی‌دار، تصادفی فرض شد و با استفاده از روش BayesCπ (Habier et al. 2011) توسط مدل (۲) به‌صورت توأم تجزیه و تحلیل شدند.

$$\boldsymbol{y} = \boldsymbol{Xb} + \boldsymbol{Zg} + \boldsymbol{e}$$ مدل۲)

در معادله فوق، $\boldsymbol{y}$ بردار فنوتیپی صفت مورد نظر، $\boldsymbol{b}$ بردار اثرات ثابت (میانگین، جنس و هچ)، $\boldsymbol{g}$بردار اثر نشانگرها، $\boldsymbol{e}$ بردار باقیمانده، $\boldsymbol{X}$ ماتریس طرح برای اثرات ثابت و $\boldsymbol{Z}$ ماتریس طرح (ماتریس ژنوتیپ‌ها) برای اثر نشانگرها است.

در مرحله بعد با استفاده از آزمون معنی‌داری واریانس خطا، مناسب‌ترین سطح معنی‌داری (بین ۰/۵ الی ۵ درصد) به‌عنوان سطح بهینه جهت تجزیه و تحلیل نهایی تشخیص داده شد و از ده هزار bootstrap جهت تعیین ارتباط معنی‌دار بین نشانگرها و صفات در سطح معنی‌دار بهینه استفاده شد. بدلیل اینکه آزمون bootstrap بسیار زمان بر است باید تعداد نشانگرها در سطوح ۰/۵ الی پنج درصد به نحوی انتخاب می‌شدند که کم‌ترین تعداد نشانگر انتخاب می‌شد، مشروط به این‌که بین واریانس خطای مورد نظر و واریانس خطا در سطح پنج درصد تفاوت معنی‌داری وجود نداشته باشد. روش‌های بیزی[2] این قابلیت را فراهم می‌کنند که بتوان واریانس خطای دو مدل را با هم از نظر آماری مورد مقایسه قرار دارد. بدین‌منظور اختلاف توزیع پسین واریانس

[1] Quantitative Trait Loci (QTL)

[2] Bayesian Methods

خطای مدل‌ها با واریانس خطای سطح پنج درصد مقایسه شده و در صورتی‌که در فاصله باور[1] ۹۵ درصد این اختلافات عدد صفر را شامل شود بین این واریانس خطاها اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. برای تجزیه و تحلیل از یک زنجیره مارکوف با ۱۱۰۰۰۰۰ نمونه‌گیری گیبس[2] به گونه‌ای استفاده شد که ۱۰۰۰۰۰ نمونه اول بعنوان دور سوخته[3] و فاصله بین نمونه[4] ۱۰۰ در نظر گرفته شد و به‌صورت چشمی[5] از هم‌گرایی واریانس خطا اطمینان حاصل شد. میزان میانگین توزیع پسین[6] هر پارامتر به‌عنوان برآورد آن پارامتر در نظر گرفته شد.

کدهای برنامه در محیط برنامه‌نویسی C++ نوشته شد و با کامپایلر Visual Studio 2012 ترجمه شدند. برای برآورد واریانس ژنتیکی افزایشی SNPها ($\sigma^2_{A_{SNP}}$) از رابطه (۳) استفاده شد (Falconer and Mackay 1996).

رابطه ۳) $\sigma^2_{A_{SNP}} = 2pq\alpha^2$, $\alpha = a + (q-p)d = 0$, $\alpha = a$

در رابطه فوق p و q فراوانی اللی، a و d به ترتیب اثرات افزایشی و غالبیت و α اثر جایگزینی اللی جایگاه مورد نظر است.

واریانس فنوتیپی (σ^2_P) از طریق معادله (۱) برآورد و میزان واریانس فنوتیپی توجیه شده توسط نشانگرها (h^2_{SNP}) براساس رابطه (٤) محاسبه شد:

$$h^2_{SNP} = \frac{\sigma^2_{A_{SNP}}}{\sigma^2_P}$$

رابطه ٤)

نتایج و بحث

میانگین وزن سینه ۱۰۵ قطعه بلدرچین پرورش یافته برای وزن سینه به میزان ۲۸/۸۳ گرم و میانگین وزن لاشه ۷۱ قطعه بلدرچین پرورش یافته برای وزن لاشه در نسل F_2 به میزان ۱۱۵/۸۹ گرم بدست آمد (جدول ۱). تعیین ژنوتیپ حیوانات براساس داده‌های وزن چهار هفتگی بود (Ahmadi 2012). اما در طی انجام آزمایش مشخص شد که برای تمام حیواناتی که تعیین ژنوتیپ شده‌اند داده‌های فنوتیپی برای وزن لاشه وجود ندارد، چرا که برخی از این داده‌ها به‌دلیل خطای انسانی گم‌شده و قابل بازیابی نبودند (Rezvannejad et al. 2012).

در پژوهشی میانگین وزن سینه و وزن لاشه در بلدرچین ژاپنی (کشتار شده در ۲۸ روزگی) به‌ترتیب ٤۷ و ۱۲۵ گرم برآورد شد (Khaldari et al. 2013). در تحقیق حاضر از آنجایی‌که بلدرچین‌های مورد بررسی حاصل از آمیزش دو لاین سبک وزن و سنگین وزن بودند میانگین وزن سینه و وزن لاشه به میزان کمتری مشاهده شد.

جدول ۱- آمار توصیفی وزن سینه و وزن لاشه (کشتار شده در سن ۲۸ روزگی)

خصوصیت آماری	وزن سینه	وزن لاشه
تعداد داده	۱۰۵	۷۱
میانگین (گرم)	۲۸/۸۳ (۰/٦۱۵)*	۱۱۵/۸۹ (۲/۱۹)*
کمینه (گرم)	۱۱/۰۰	٦۳/۰۰
بیشینه (گرم)	٤۱/۸۰	۱٦٦/۰۰
انحراف معیار (گرم)	٦/۳۰	۱۸/٤٤

* اعداد داخل پرانتز خطای استاندارد (Standard Error) هستند.

از میان ۱۲۷۹۸ عدد SNP مورد بررسی در این تحقیق، تعداد SNPهای مؤثر در سطوح مختلف معنی‌داری (بین ۰/۵ تا ۵ درصد) مشخص شد و واریانس خطا نیز در همین سطوح برآورد شد (جدول ۲).

مشاهده می‌شود که با کاهش سطح معنی‌داری، تعداد نشانگرهای کمتری انتخاب می‌شوند (جدول ۲). دلیل این عامل را این‌گونه می‌توان بیان نمود که قابلیت اطمینان از قضاوت آماری درباره این نشانگرها افزایش و خطای نوع اول کاهش می‌یابد. به‌طورکلی روند واریانس خطا با کاهش تعداد نشانگرها در هر دو صفت صعودی است و این امر به دلیل از دست دادن مقداری از واریانس توسط نشانگرها و اضافه شدن آن به واریانس خطا می‌باشد. مقایسه توزیع پسین واریانس خطاها نشان داد که میزان واریانس خطا در سطح معنی‌داری ۰/۵ و دو درصد به‌ترتیب برای وزن لاشه و وزن سینه با کم‌ترین واریانس خطا (سطح معنی‌داری پنج درصد) اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل‌های ۱ و ۲)، پس

[1] Credible Interval
[2] Gibbs Sampling
[3] Burn in
[4] Thinning Interval
[5] Visual Inspection
[6] Mean of Posterior Distribution

این سطوح برای آزمون bootstrap در هر دو صفت سطح بهینه معنی‌داری تشخیص داده شد.

از ۷۱ قطعه بلدرچین مورد بررسی در صفت وزن لاشه، ۳۲ قطعه بلدرچین نر با میانگین وزن (۳/۳۶±) ۱۱۲/۳۷ گرم و ۳۹ قطعه بلدرچین ماده با میانگین وزن (۲/۸۳±) ۱۱۸/۷۷ گرم بودند. براساس معادله ۲ در این صفت بلدرچین‌های ماده وزن بیش‌تری (۶/۲۷ گرم) نسبت به بلدرچین‌های نر داشتند و آزمون bootstrap نشان داد که این تفاوت، اختلاف معنی‌داری با صفر دارد (pValue=0.014). همچنین در خصوص صفت وزن سینه از ۱۰۵ قطعه بلدرچین مورد بررسی ۵۳ قطعه بلدرچین نر با میانگین وزن (۰/۸۹±) ۲۸/۷۹ گرم و ۵۲ قطعه بلدرچین ماده با میانگین وزن (۰/۸۵±) ۲۸/۸۷ گرم بوده که براساس معادله ۲ وزن سینه بلدرچین‌های ماده ۱/۰۳ گرم بیش‌تر بود که از نظر آماری این تفاوت معنی‌دار بود (pValue=0.013). علت این امر در بلدرچین و برخی از پرندگان دیگر به پدیده‌ای به نام تفاوت جنسی[1] مربوط است (Aggrey and Cheng 1994). بلدرچین‌ها در حدود سن پنج هفتگی به بلوغ جنسی رسیده و به‌دلیل رشد اندام‌های جنسی در جنس ماده، تفاوت مشهودی در وزن بلدرچین‌های ماده در مقایسه با بلدرچین‌های نر قابل مشاهده است.

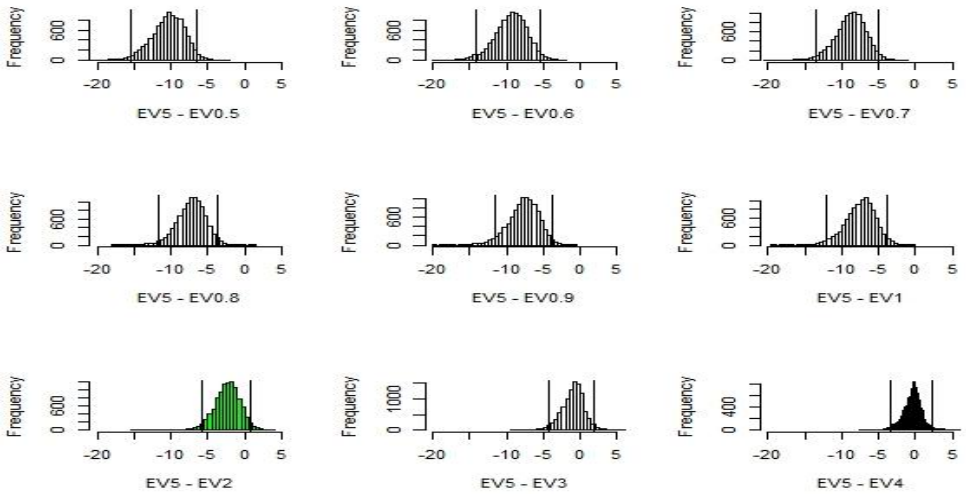
برای صفت وزن لاشه در سطح معنی‌داری ۰/۵ درصد (به‌عنوان سطح بهینه) ۹۹ عدد SNP و در صفت وزن سینه در سطح معنی‌داری دو درصد (به‌عنوان سطح بهینه) ۲۴۸ عدد SNP (جدول ۱) به‌صورت توأم با روش BayesCπ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که در صفت وزن لاشه و وزن سینه در فاصله باور ۹۵ درصد به‌ترتیب ٤ و ۱۰ عدد SNP معنی‌دار با روش bootstrap وجود دارد (شکل ۳). براساس bootstrap میزان pValue هر نشانگر در مقدار بحرانی log- محاسبه شد. در صورت بیش‌تر بودن میزان (log(pValue– هر نشانگر از مقدار بحرانی ((-log(0.05) آن نشانگر به‌عنوان یک نشانگر مؤثر در نظر گرفته شد (شکل ۳). بیش‌ترین میزان واریانس فنوتیپی توجیه شده در صفت وزن لاشه توسط یکی از SNPهای معنی‌دار (وراثت‌پذیری نشانگر) برابر با ٤/۷۷ درصد و در کل نشانگرهای معنی‌دار شده (٤ نشانگر) برابر با ۱۲/۷۷ درصد بود (شکل ٤).

[1] Sexual Dimorphism

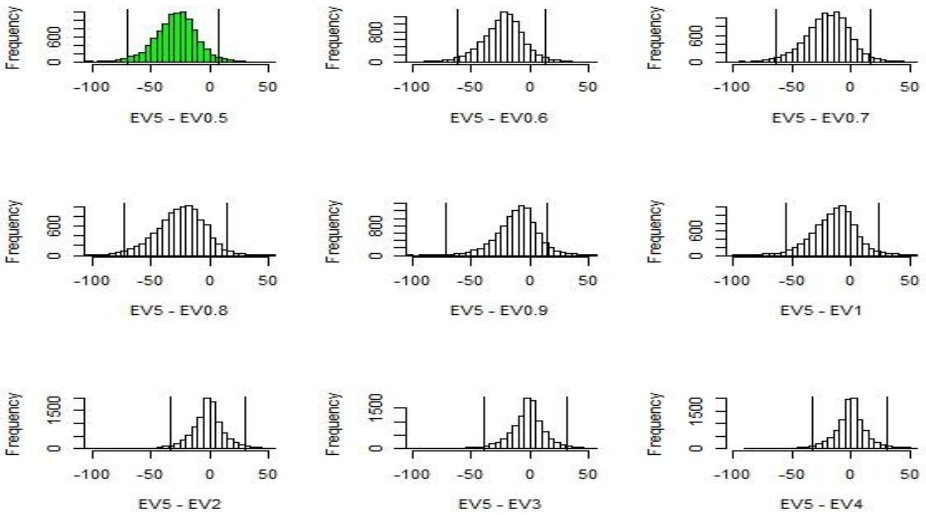
جدول۲- تعداد (درصد) SNP مؤثر و میزان واریانس خطا در سطوح مختلف معنی‌داری

	وزن سینه		وزن لاشه	
سطح معنی‌داری(٪)	تعداد SNPمؤثر (٪)	واریانس خطا	تعداد SNP مؤثر (٪)	واریانس خطا
۰/۵	٦۰ (۰/٤٦)	۱۱/۲٤	۹۹ (۰/۷۷)	۳۸/۹٤
۰/٦	۷۱ (۰/۵۵)	۱۰/۱۸	۱۱۰ (۰/۸۵)	۳۳/۱۵
۰/۷	۸۲ (۰/٦٤)	۹/٦۳	۱۲۱ (۰/۹)	۲۹/۹۵
۰/۸	۹۸ (۰/۷٦)	۸/۰۸	۱٤۰ (۱/۰۹)	۳۵/۱۸
۰/۹	۱۰۵ (۰/۸۲)	۸/۵۰	۱٦۰ (۱/۲۵)	۲۱/٤۰
۱	۱۱۵ (۰/۸۹)	۸/۳۲	۱۷۱ (۱/۳۳)	۲٤/۱۳
۲	۲٤۸ (۱/۹۳)	۳/۱۷	۳٤۸ (۲/۷۱)	۱۱/۱۸
۳	۳۹۳ (۳/۰۷)	۱/۷٦	۵۰۸ (۳/۹٦)	۱۲/٤۵
٤	۵۲۲ (٤/۰۷)	۱/۲۳	٦۸۰ (۵/۳۱)	۱۰/۳٦
۵	٦٤٤ (۵/۰۳)	۰/۸۲	۸۷٦ (٦/۸٤)	۹/۹٦

* اعداد داخل پرانتز درصد نشانگرهای مؤثر از کل است.



شکل ۱- اختلاف توزیع پسین واریانس خطا (EV) سطح معنی‌داری پنج درصد با دیگر سطوح معنی‌داری برای وزن سینه (خطوط عمودی فاصله باور ۹۵ درصد است)



شکل ۲- اختلاف توزیع پسین واریانس خطا (EV) سطح معنی‌داری پنج درصد با دیگر سطوح معنی‌داری برای وزن لاشه (خطوط عمودی فاصله باور ۹۵ درصد است)

برای صفت وزن سینه مهمترین نشانگر معنی‌دار ۱/۲۲ درصد و مجموع نشانگرهای معنی‌دار (۱۰ نشانگر) ٦/٧٨ درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه نمودند (شکل ٤). براساس نتایج حاصل از این تحقیق فرضیات مدل بی‌نهایت[1] در صفات وزن سینه و لاشه به طور کامل برقرار نمی‌باشد. در این مدل فرض بر این است که ژن‌های مؤثر بر صفت بسیار زیاد و دارای اثرات مساوی و بسیار ناچیزی هستند (Mrode 2005).

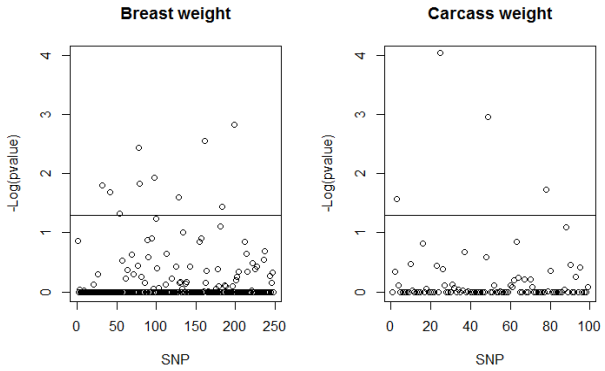
Daetwyler et al. (2010) نشان دادند زمانی‌که از مدل‌های انتخاب متغیر[2] (مانند BayesB، BayesC و BayesCπ) استفاده می‌شود صحت[3] ارزش‌های اصلاحی (همبستگی بین ارزش‌های

[1] Infinitesimal model

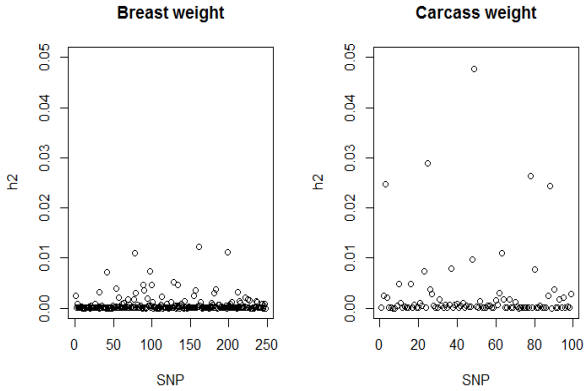
[2] Variable Selection Model

[3] Accuracy

اصلاحی ژنومی[1] و ارزش اصلاحی واقعی[2]) تابعی از وراثت-پذیری صفت، تعداد افراد جمعیت مورد استفاده برای برآورد اثر نشانگرها و تعداد QTLهای کنترل کننده صفت می‌باشد.



شکل۳- نشانگرهای موثر در فاصله باور ۹۵ درصد برای وزن لاشه (Carcass weight) و وزن سینه (Breast weight) (خطوط افقی نشان دهنده مرز معنی داری (-Log(0.05)=1.3) است.



شکل٤- میزان واریانس فنوتیپی توجیه شده توسط نشانگرها برای وزن لاشه (Carcass weight) و وزن سینه (Breast weight)

این محققان نشان دادند که هرچه وراثت‌پذیری صفت و تعداد افراد جمعیت بیش‌تر بوده و تعداد QTLهای کنترل‌کننده صفت کم‌تر باشد صحت ارزش‌های اصلاحی بیشتر است. بالا بودن صحت ارزش‌های اصلاحی به معنی برآورد صحیح‌تر اثر نشانگرها است که خود منجر به اظهارنظر درست‌تر در مورد ارتباط بخش-هایی از ژنوم با صفت مورد نظر خواهد شد. با توجه به این‌که صفات وزن لاشه و وزن سینه کمی بوده و توسط تعداد زیادی ژن کنترل می‌شوند انتظار این است که با افزایش تعداد داده‌ها و یا افزایش وراثت‌پذیری صفت (به‌دلیل افزایش اثر جایگزینی اللی طبق رابطه ۳ تعداد نشانگرهای معنی‌دار بیش‌تر شود. از آن جایی-که تعداد بلدرچین‌ها برای وزن سینه (۱۰۵ قطعه) بیش‌تر از وزن لاشه (۷۱ قطعه) بوده و وراثت‌پذیری وزن لاشه (۰/۳۳) کمتر از وزن سینه (۰/۳۹) برآورد شد (Rezvannejad et al. 2014)، تعداد SNPهای معنی‌دار برای وزن سینه بیش‌تر از لاشه بدست آمد. همچنین دلایل دیگر را می‌توان خصوصیات صفت، تعداد ژن‌های اثرگذار بر آن و بزرگ اثر بودن نشانگرها در صفت وزن لاشه عنوان کرد که باعث می‌شوند نشانگرهای دیگر معنی‌دار نشوند. در صفت وزن لاشه از میان ٤ عدد SNP شناسایی شده یکی از SNPها با اثری (اثر جایگزینی اللی) برابر با ۵/۸۳ گرم، بیش‌ترین تاثیر را بر افزایش وزن لاشه داشت. در صفت وزن سینه یکی از SNPها با تأثیری برابر با ۰/۹٤گرم بیش‌ترین اثر را بر افزایش وزن سینه و یکی از SNPها با اثری برابر با ۰/۷۳- گرم بیش‌ترین اثر را بر کاهش وزن سینه داشت. به دلیل همبستگی ژنتیکی بالا (۰/۹٤) بین این دوصفت (Rezvannejad et al. 2014)، مورد انتظار است که بسیاری از نشانگرهای معنی‌دار در دو صفت مشترک باشند اما در این مطالعه از بین چهار عدد SNP معنی‌دار در صفت وزن لاشه و ۱۰ عدد SNP معنی‌دار در صفت وزن سینه فقط یک SNP به‌صورت مشترک بر هر دو صفت تأثیرگذار بود که علت این عدم اشتراک زیاد در نشانگرهای معنی‌دار دو صفت قابل توجیه نبود. این SNP مشترک اثر جایگزینی اللی معادل ۵/۸۳ گرم بر وزن لاشه و ۰/۵۷ گرم بر وزن سینه داشت.

براساس میزان واریانس توجیه‌شده فنوتیپی توسط نشانگرها و اثر آن‌ها می‌توان گفت که صفت وزن لاشه نسبت به وزن سینه بیش-تر تحت تأثیر ژن‌هایی است که با اثر بزرگ‌تر ظاهر می‌شوند. شاید به‌همین علت باشد که تعداد SNPهای مؤثر در مرحله اول در صفت وزن لاشه در یک سطح معنی‌داری خاص بیش‌تر از وزن سینه است (جدول ۲). اما زمانی‌که این SNPها به‌صورت توأم تجزیه و تحلیل شوند فقط نشانگرهایی معنی‌دار می‌شوند که اثر زیادی بر صفت گذاشته و اثر بقیه SNPها در حضور چنین SNP بزرگ‌اثری معنی‌دار نخواهد شد و در نتیجه تعداد

[1] Genomic Estimated Breeding Value (GEBV)
[2] True Breeding Value (TBV)

نشانگرهایی که به‌صورت توأم معنی‌دار هستند در صفت وزن لاشه کاهش می‌یابد. در پژوهشی نشان داده شد که ۱۶/۱ درصد از واریانس فنوتیپی وزن لاشه فقط توسط دو عدد QTL توجیه شد، اما در صفت وزن سینه میزان توجیه شدن واریانس فنوتیپی ٤/٥ درصد بیش‌تر نبود (Uemoto et al. 2009). نتایج پژوهش مذکور با نتایج حاصل از مطالعه حاضر انطباق زیادی دارد. در مطالعه‌ای دیگر تعداد ۳ و ۸۵ عدد SNP مؤثر در سطوح معنی‌دار یک تا پنج درصد بترتیب برای صفت وزن لاشه و وزن سینه مشاهده شد (Ahmadi 2012).

مطالعه‌ای که با استفاده از فن‌آوری GWAS بر روی صفات اقتصادی بلدرچین (وزن سینه، وزن لاشه و وزن بدن) انجام شده باشد توسط نویسنگان این مقاله مشاهده نشد، اما از آن جایی‌که دو گونه مرغ و بلدرچین در رده‌بندی جانوری متعلق به خانواده گالیفرم هستند، این دو گونه شباهت کروموزومی بالایی با یکدیگر دارند (Nasiri et al. 2005). در مطالعه‌ای ۱۰ عدد SNP معنی‌دار برای وزن لاشه در مرغ مشاهده شد، که در این میان چند SNP بر روی کروموزم شماره چهار (GGA4) و همچنین دو عدد SNP بر روی کروموزم شماره سه (GGA3) قرار داشتند (Liu et al. 2013). در مطالعه مشابهی که بر روی مرغ انجام گرفت پنج عدد SNP معنی‌دار برای صفت وزن سینه مشاهده شد که دو عدد از این SNPها بر روی کروموزم شماره چهار (GGA٤) و سه عدد بر روی کروموزم‌های یک (GGA1)، سه (GGA3) و پنج (GGA5) قرار داشتند (Sun et al. 2013).

مطالعات زیادی بر روی صفت وزن بدن در طیور انجام گرفته‌است، به طوری‌که چندین مطالعه گزارش کردند که QTLهای معنی‌داری برای وزن بدن طیور وجود دارند. دراین پژوهش‌ها QTLهای معنی‌داری بر روی کروموزم دو (GGA2) و کروموزم ٢٤ (GGA24) یافت شده‌است (Tsudzuki et al. 2007 ; 2001 Tatsuda and Fujinaka). در یک مطالعه با استفاده از تراشه SNP60K در یک جمعیت F_2 حاصل از تلاقی مرغ Silky Fowl و Plymouth Rock سفید، به‌طور کلی نه عدد SNP معنی‌دار در سطح پنج درصد برای وزن بدن مشاهده شد که این SNPها بر روی کروموزم شماره چهار (GGA4) قرار داشتند. در همین ناحیه یک SNP دیگر نمایان شد که دارای پیوستگی شدید با وزن بدن در هفته‌های هفت تا ۱۲ و همچنین افزایش وزن روزانه آن‌ها در شش هفتگی بود. این ناحیه (GGA4) پیش از این به‌عنوان QTL وزن بدن با سه عدد SNP معنی‌دار مؤثر بر وزن بدن گزارش شده بود (Xiaorony et al. 2011). در مطالعه‌ی دیگری برای وزن زنده در سنین سه الی شش هفتگی بلدرچین در یک طرح ناتنی پدری یک عدد QTL معنی‌دار (Esmailizadeh et al. 2012) و برای صفت وزن بدن در سنین یک تا چهار هفتگی، QTLهای معنی‌داری بر روی کروموزم شماره سه مشاهده شد (Ori et al. 2014). به‌علاوه برای وزن تولد و وزن در سن یک هفتگی QTLهای تأثیرگذاری (در سطح احتمال یک درصد) بر روی کروموزم یک و برای وزن بدن در سنین سه و چهار هفتگی نیز QTLهای موثری بر روی کروموزم یک و علاوه بر این، برای وزن بدن در سن چهار هفتگی دو عدد QTL معنی‌دار بر روی کروموزم‌های دو و سه نیز گزارش شده‌است (Rezvannejad et al. 2012).

براساس نتایج این تحقیق، صفات وزن لاشه و سینه در بلدرچین ژاپنی به‌صورت کامل از الگوی مدل بی‌نهایت پیروی نمی‌کند و برخی از جایگاه‌های ژنی تأثیر بیش‌تری به‌ویژه در صفت وزن لاشه دارند. براساس یافته‌های حاصل از این پژوهش پیشنهاد می‌شود جهت تأیید نتایج بدست آمده تحقیقات مشابهی با تعداد بیش‌تری حیوان و نشانگر صورت پذیرد.

سپاسگزاری

از پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، دکتر عباس پاکدل و دکتر حسن مهربانی‌یگانه برای در اختیار قرار دادن داده‌های این مطالعه تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع

Aggrey SE, and Cheng KM (1994) Animal model analysis of genetic (co) variances for growth traits in Japanese quail. Poultry Science 73: 1822-1828.

Ahmadi A (2012) Mapping of loci affecting on some performance traits in Japanese quail. Ph.D dissertation, livestock genetics reform. College of Agriculture and Natural Resources Tehran University. (In Farsi)

Berri C, Wacrenier N, Millet N, Le Bihan-Duval E (2001) Effect of selection for improved body composition on muscle and meat characteristics of broilers from experimental and commercial lines. Poultry Science 80:833-838.

Daetwyler HD, Pong-Wong R, Villanueva B, Woolliams JA (2010) The impact of genetic architecture on genome-wide evaluation methods. Genetics 185: 1021-1031.

Esmailizadeh AK, Baghizadeh A, Ahmadizadeh M (2012) Genetic Mapping of Quantitative trait loci affecting body weight on chromosome 1 in a commercial strain of Japanese quail. Animal Product Science 52: 64-68.

Falconer DS, Mackay TFC (1996) Introduction to quantitative genetics. Third edition. Longman Group, Essex, UK.

Goddard ME, Hayes BJ (2009) Mapping genes for complex traits in domestic animal and traits in domestic animals and their use in breeding programmes. Nature Review Genetics 10: 381-391.

Gondro C (2013). Genome-wide Association studies Genomic prediction method in molecular Biology. Springer science Business media. ISSN: 1064-3745

Gu X, Feng C, Me L, Song C, Wang Y, Da Y, Li H, Ge Ch, Hu X, Li N (2011) Genome-wide association study of Body weight in chicken F2 resource population. Journal of PLOS ONE 6:E21872.

Habier D, Fernando R, Kizilkaya K, Garrick DJ (2011) Extension of the Bayesian alphabet for genomic selection. BMC Bioinformatics 12:186-196.

Johnston SE, MCEwan JC, Pickering NK, Kijas JW, Baraldi D, Pikington JG, Pemberton JM, Slste J (2011) Genome wide association mapping identifies the genetic basis of discrete and quantitative variation in sexual weaponry in wild sheep population. Molecular Ecology 20: 2555-2566.

Khaldari M, Pakdel A, Moradi-shahreBabak M, Nejati-Javaremi A (2013). A study of the effect of individual and family selection on the increase body and breast weights in Japanese quail. Iranian Journal of Animal Science 43: 531-537. (In Farsi)

Korte A, Farbw A (2013) The advantage and limitations of trait analysis with GWAS: a review. Plant Methods 9:29-38.

Lee SH, Choi BH, Lim D, Gondro C, Cho YM, Dany Ch G, Sharama A, Jang GW, Lee K, Yoon D, Lee HK, Yeon SH, Yang BS, Kang HS, Hong. SK (2013) Genome wide association study identifies major loci for carcass weight on BTA14 in Hanwoo (Korean cattle). Journal of PLOS ONE 10: 74677.

Legarra A, Aguilar I, Mizztal I (2009) A relationship matrix including full pedigree and genomic information. Journal of Dairy science 92: 4656-4663.

Liu W, li D, Liu J, Chen S, Qu L, Zheng J, Xu G, Yang N (2011) A genome Wide SNP scan reveals novel loci for egg production and quality traits in white leghorn and brown-egg dwarf layers. Journal of PLOS ONE 6: 61172.

Luo CH, Ou H, Ma J, Wang J, Li Ch, Yang Ch, Hu X, Lu N, Shu D (2013) Genome wide association study of antibody response to Newcastle disease virus chicken. Biomedcentral Genetics 14: 42-52.

Mahroghy AA (2009) Practical breeding quail from beginning to end,1th. Shamim Mashhad press 57-60 (In Farsi)

Mai DM, Sahana G, Christiansen FB, Guldbrandtsen B (2010) A genome wide association study in dairy cattle breeds for milk production and fertility traits using variable length haplotypes. Journal of Dairy science 93:3331-3345.

Meuwissen THE, Hayes BJ, Goddard ME (2001) Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. Journal of Genetics 157: 1819-1829.

Mrode RA, Thompson R (2005) Linear Methods for the Prediction of Animal Breeding Values. CABI Publishing.

Naghi M, Aoki M, Miyoshi I, Kasai N, Brown RHJ, Itoyama Y (2001) Rats expressing human cytosolic copper-Zinc superoxide dismutase transgenes with amyotrophic lateral sclerosis: associated mutations develop motor neuron disease. Journal of Neuroscience 21: 9246-9254.

Nasiri H, Forouzandeh M, Rasaee MJ, Rahbarizade F (2005) Modified salting out method: High-yield, high-quality genomic DNA extraction Frame whole blood using laundry detergent. Journal of clinical laboratory Analysis 19:229-232.

Naghavi MR, Ghareyazie B, Hosiny Salkade GH (2007) Molecular marker, 2nd. Tehran University press 123-125. (In Farsi)

Neves HH, Carvalheiro R, Queiroz SA (2012) A comparison of statistical methods for genomic selection in a mice population. BMC Genetics. 13: 100- 117.

Ori RJ, Esmailizadeh AK, Charati H, Mohammadabadi MR, Sohrabi SS (2014) Identification of QTL for live wight and growth rate using DNA markers on chromosome 3 in an F2 population of Japanese quail. Molecular Biology Reporter 4:1049-1057.

Orr N, Back W, Cu J, Lee Water P, Govindarajan P, Conroy J (2010) Genome wide SNP association based localization of a dwarf ism gene in Frisian dwarf horses. Animal Genetic 2: 2-7.

Pryce JE, Bolormaa S, Chamberlain AJ, Bowman PJ, Savin K, Goddard ME, Hayes BJ (2010) A validated genome-wide association study in 2 dairy cattle breeds for milk production and fertility traits using variable length haplotypes. Journal of Dairy science 94: 3148-3158.

Rezvannejad E, Pakdel E, Miraee Ashtiany R, Mehrabani Yeghane H, Yaghoby MM (2012) Check QTL associated with the qualities of the candidate regions of the genome

in the body up to 28 days of age in Japanese quail. Iranian Journal of animal science 34: 423-430. (In Farsi)
Rezvannejad E, Yaghoobi M, Rashki M (2014) Quantitative trait loci for body weight and carcass traits in Japanese quail. Journal of Livestock Science and Technologies 2: 49-55.
Sahana G, Galdbrandtsen B, Lund MS (2011) Genome-wide association study for calving traits in Danish and Swedish Holstein cattle. Journal of Dairy science 94:479-486.
Schaeffer LR (2006) Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle. Journal of Animal Breed Genetic 123: 218-223.
Schope GC, Visker MH, Koks PP, Mullaart E, Arendonk JA, Bovenhuis H (2011) whole- genome association study for milk protein composition in dairy Cattle. Journal of Dairy science 94:3148-3158.
Sun Y, Zhao G, Lio R, Zheng M, Hu Y, Wu D, Zhang L, Li P, Wen J (2013) The identification of 14 new genes for meat quality traits in chicken using a genome wide association study. Journal of BMC Genomics 14: 458-964.
Tatsuda K, Fujinaka K (2001) Genetic mapping of the QTL affecting bodyweight in chickens using a F2 family. Poultry Science 42: 333-337.
Tierzucht GH, Seedeich AM (2012) Genome-wide selection in poultry. Animal production sciences 52: 121-125.
Tsudzuki M, Onitsuka S, Akiyama R, Iwamizu M, Goto N, Nishibori M, Takahashi H, Ishikawa A (2007) Identification of quantitative trait loci affecting shank length, body weight and carcass weight from the Japanese cock fighting chicken breed, Oh-Shamo (Japanese Large Game). Cytogenetic Genome Research 117: 288-295.
Uemoto Y, Sato S, Odawara S, Nokata H, Oyamada Y, Taguchi Y, Yanai S, Sasaki O, Takahashi H, Nirasawak and Kobayashi (2009) genetic mapping of quantitative trait loci affecting growth and carcass traits in F2 intercross Chickens. Poultry Science 88:477-482.
Visoni A, Tondelli A, Francia E, Pswarayi A, Malosetti M, Russell J, Thomas W, Waugh R, Peccioni N, Romagosa I, Comadran J (2013) Genome-wide association mapping of frost tolerance in barley (Hordeum Vulgare). BiomedCentra Genomics 14: 424-437.
Xiaorony GU, Chungany F, Li MA, Chi S, Yanqiang W, Yang D, Huifang L, Juanwei C, Shaohui Y, Chungrong G, Xiuoxiang H, Ning L (2011). Genome Wide Association study of body weight in chicken F2 Resource population. Journal of PLOS ONE 6: 21872.
Zhang H, Zhipeng W, Shouzi W, Hai L (2012) Progress of genome wide association study in domestic animal. Journal of Animal science and Biotechnology 3: 26-36.
Zho K, Tung CW, Eizenga GC, Wright MH, Ali ML, Price AH, Norton GJ, Isiam MR, Reynolds A, Mezey J, McClung AM, Bustamante CD, McCouch SR (2011) Genome-wide association mapping reveals a rich genetic architecture of complex triat in oryza sativa. Nature communication 2: 467-477.

Modern Genetics Journal
Vol 11, Number 2, Summer 2016, Quaternary

Study of molecular dense markers associated with carcass and breast weight traits in Japanese quail

Mehrban H[*1], Madahi N[1], Ahmadi A[2], Rezvannejad E[3]

1. Assistant Professor and Graduate Student of Master Science, University of Shahrekord
2. Assistant Professor, Bu Ali Sina University, Hamedan
3. Associate Professor Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman

* Corresponding Author, Email: HosseinMehrban@agr.sku.ac.ir

A B S T R A C T

The objective of this study was to investigate the association of dense markers with breast and carcass weights in Japanese quail. Phenotypic data of breast (105 birds) and carcass weights (71 birds) that were selected for 4 week body weight were used as well as 12798 markers. Analyses of the data were done in three stages after editing the data. At first, the effect of markers was considered as fixed effects and removed non-significant markers. In second stage, the effect of significant markers were estimated in significant levels (1 to 5%) by using BayesCπ method, simultaneously. In third stage, the best significant levels were known, so bootstrap method was used to obtain markers with significant effect. Result showed that there are four markers affecting carcass weight significantly ($P<0.05$). Four significant markers for carcass and 10 significant markers for breast weight described 12.77% and 6.78% of phenotypic variance respectively. Only one of these significant markers was effective on both traits.

Key Words

Bayesian model, Carcass weight, Dense marker, Genomic heritability, Japanese quail