



## شناسایی جایگاه‌های ژنی مرتبط با وزن و نسبت اندام‌های داخلی بدن روی کروموزوم شماره ۱ بلدرچین ژاپنی

حسن مرادیان<sup>۱\*</sup>، علی اسمعیلی زاده کشکوئی<sup>۲</sup>، محمدرضا محمدآبادی<sup>۲</sup>، سعید سهرابی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>دانش آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح دام دانشگاه شهید باهنر کرمان

<sup>۲</sup>دانشیار بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

<sup>۳</sup>دانشجوی دکتری ژنتیک و اصلاح دام دانشگاه شهید باهنر کرمان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۲/۰۷، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۱/۰۷

### چکیده

هدف از انجام این پژوهش شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با وزن و نسبت اندام‌های داخلی بدن روی کروموزوم شماره ۱ در یک جمعیت  $F_2$  بلدرچین ژاپنی بود. بدین منظور یک جمعیت سه نسلی از تلاقی دوجانبه دو سویه سفید (تخمگذار) و وحشی (گوشتی) بلدرچین ژاپنی ایجاد شد. ۸ جفت بلدرچین سفید و وحشی تلاقی داده شد و تعداد ۳۴ پرنده  $F_1$  تولید شد. از تلاقی پرندگان  $F_1$  تعداد ۴۲۲ پرنده  $F_2$  تولید شد. رکوردهای فنوتیپی مربوط به وزن ارگان‌های مختلف پرندگان نسل  $F_2$  ثبت شدند. تمامی پرندگان مربوط به هر سه نسل (۴۷۲) برای ۸ نشانگر ریزماهواره موجود بر روی کروموزوم ۱ تعیین ژنوتیپ شدند. آنالیز QTL به روش مکان‌یابی درون فاصله‌ای مبتنی بر رگرسیون انجام گردید. پس از آنالیز، QTL های معنی-داری برای وزن پیش معده، وزن غده یورویپجیال، وزن بورس فابریسیوس، وزن سنگدان، درصد پیش‌معده نسبت به وزن لاشه، درصد روده، درصد غده یورویپجیال و درصد بورس فابریسیوس شناسایی گردید. واریانس QTL برآورد شده در پژوهش حاضر برای QTL های با اثر افزایشی در محدوده ۷/۲۹ - ۴/۰۶ درصد، برای QTL های با اثر غلبه در محدوده ۴/۶۵ - ۱/۹۶ درصد و برای QTL های با اثر ایمپرینتینگ در محدوده ۶/۲۵ - ۲/۷ درصد بود. نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که جایگاه‌های ژنی مؤثری بر وزن و درصد ارگان‌های داخلی بدن روی کروموزوم ۱ بلدرچین وجود دارد ولی برای درک بهتر ساختار ژنتیکی این صفات به مطالعات بیشتری نیاز است.

واژه‌های کلیدی: بلدرچین ژاپنی، جایگاه صفات کمی، نشانگرهای ریزماهواره، طرح  $F_2$ .

## مقدمه

ژنتیک و فیزیولوژی مورد استفاده قرار گرفته است. همچنین از آن به عنوان یک مدل حیوانی برای مرغ استفاده می‌شود زیرا این دو گونه شباهت کروموزومی بالایی با هم داشته و تقریباً عمده تفاوت محدود آنها بر اثر جابجایی و بازآرایی کروموزومی است (Kayang et al., 2004; Sasazak et al., 2006).

در طیور مطالعات بسیار زیادی به منظور نقشه‌یابی جایگاه‌های صفات کمی در مرغ صورت گرفته است و QTL های معنی‌دار فراوانی برای صفات مختلف در این پرنده گزارش شده است (Navarro et al., 2005; Nones et al., 2006; Gao et al., 2009; Boschiero et al., 2013). در بلدرچین نیز چندین مطالعه به منظور شناسایی QTL های مرتبط با صفات مختلف انجام شده است (Minvielle et al., 2005; Esmailizadeh et al., 2012). در مطالعه‌ای که اخیراً روی یک جمعیت  $F_2$  حاصل از تلاقی دو سویه بلدرچین ژاپنی به منظور شناسایی جایگاه صفات کمی مؤثر بر صفات رشد انجام شد QTL های معنی‌داری برای وزن بدن در زمان هیچ و چند صفت مرتبط با رشد روی کروموزوم ۱ گزارش شد (Sohrabi et al., 2012).

انتظار می‌رود که رشد ارگان‌های داخلی بدن با رشد کل بدن هماهنگ باشد. رشد ارگان‌های مختلف بدن نشان‌دهنده ساختار طبیعی بدن است که می‌تواند توان تولیدی را تحت تأثیر قرار

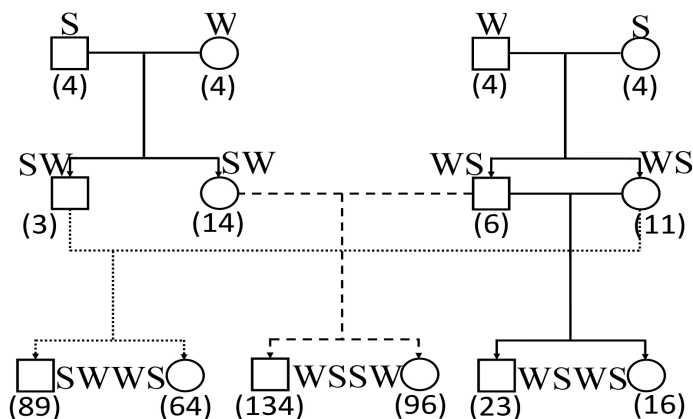
تنوع ژنتیکی صفات کمی معمولاً توسط چندین ژن کنترل می‌شود که تحت تأثیر محیط قرار دارند. برای مکان‌یابی موقعیت این ژن‌ها روی کروموزوم و برآورد سهم آنها در تنوع صفت یک گام کلیدی کلون کردن موضعی و سپس پیدا کردن ژن‌های هدف است. در این روش، جستجو در مورد وجود یا عدم وجود ژن هدف ممکن است زمان زیادی طول کشد. پیشرفت‌های چشمگیری که در سال‌های اخیر در زمینه نشانگرهای مولکولی ایجاد شده است واز طرف دیگر ابداع روش‌های آماری و بیومتریک پیشرفته و تلفیق آن‌ها با اطلاعات حاصل از نشانگرهای مولکولی، امکان بررسی دقیق‌تر و جزئی‌تر صفات کمی را فراهم نموده است. به کمک این روش‌ها می‌توان تعداد و جایگاه ژن‌های کنترل کننده یک صفت کمی (QTL) را شناسایی و پارامترهای ژنتیکی (اثرات افزایشی، غلبه و اپیستازی) و سهم اثرات فنوتیپی آنها را برآورد نمود (Xu et al., 2011).

بلدرچین ژاپنی (*Coturnix japonica*) متعلق به راسته Galliformes و خانواده Phasianidae بوده و همزمان با گونه مرغ (*Gallus gallus*) برای تولید گوشت و تخم اهلی شده است. این پرنده نه تنها برای تولید گوشت و تخم بلکه به دلیل جثه کوچک و فاصله نسل کوتاه به عنوان یک حیوان آزمایشگاهی در تحقیقات زیستی شامل رفتارشناسی، پزشکی،

تعداد ۸ جفت پرنده از سویه سفید (تخمگذار) و ۸ جفت پرنده از سویه وحشی (گوشتی) به عنوان نسل والد (P) انتخاب و تلاقی دوطرفه بین آنها (نر سفید × ماده وحشی و نر وحشی × ماده سفید) انجام شد. تعداد ۳۴ پرنده (۹ پرنده نر و ۲۵ پرنده ماده) از بین پرندگان نسل F<sub>1</sub> برای تولید نسل دوم (F<sub>2</sub>) انتخاب شدند. از تلاقی پرندگان نسل F<sub>1</sub> تعداد ۴۲۲ پرنده نسل F<sub>2</sub> (۲۴۶ پرنده نر و ۱۷۶ پرنده ماده) در طی ۵ هج متوالی تولید شد (شکل ۱). برای تولید نسل اول (F<sub>1</sub>)، هر پرنده نر در نسل P با یک پرنده ماده تلاقی داده شد و در نسل F<sub>1</sub> هر پرنده نر با سه پرنده ماده (به صورت چرخشی و هر سه روز یک بار با یکی از پرندگان ماده) تلاقی داده شد.

دهد. مطالعه در زمینه نقشه‌یابی QTL مؤثر بر وزن ارگان‌های داخلی به درک اساس ژنتیکی رشد ارگان‌های بدن کمک خواهد کرد. با این حال این گونه مطالعات نادر است (Zhang *et al.*, 2007). تاکنون مطالعه‌ای در این زمینه روی بلدرچین ژاپنی صورت نگرفته است. بنابراین این پژوهش به منظور شناسایی جایگاه‌های ژنی مؤثر بر وزن و درصد ارگان‌های مختلف بدن روی کروموزوم ۱ در یک جمعیت F<sub>2</sub> بلدرچین ژاپنی انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

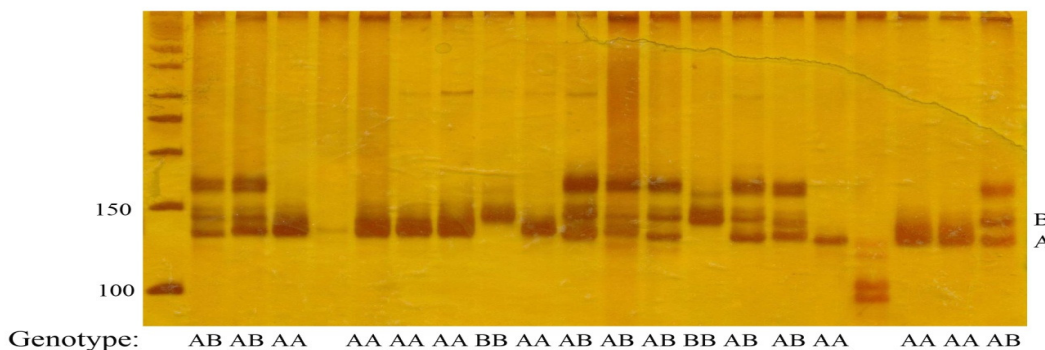


شکل ۱- شمای کلی طرح آزمایشی و ساختار شجره نتاج F<sub>2</sub> حاصل از تلاقی دو سویه سفید (S) و وحشی (W) بلدرچین برای نقشه‌یابی QTL. دایره و مربع به ترتیب بیانگر پرنده ماده و نر هستند. اعداد داخل پرانتز بیانگر تعداد پرنده می باشند.

**Figure 1- Pedigree structure of the F<sub>2</sub> intercross between two strains of Japanese quail. The number of dams and sires as well as the number of F<sub>2</sub> male and female offspring in each cross are indicated.**

فریزر منتقل شد و تا زمان استخراج در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. استخراج DNA با روش نمکی (Miller *et al.*, 1988) انجام گرفت. در این پژوهش، ۸ جایگاه ریزماهواره روی کروموزوم ۱ بلدرچین ژاپنی مورد مطالعه قرار گرفت (جدول ۱) و پرندگان هر سه نسل (تعداد ۴۷۲ پرنده) برای این ۸ نشانگر ریزماهواره تعیین ژنوتیپ شدند (شکل ۲).

به منظور رکوردگیری فنوتیپی از پرندگان نسل F<sub>2</sub>، کشتار در سن ۳۵ روزگی (در این سن پرندگان به بلوغ جنسی رسیده و از وزن نسبتاً خوبی برخوردار بودند) انجام شد و رکوردهای مربوط به وزن ارگان‌های مختلف با ترازویی به دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. در هنگام کشتار از تمام پرندگان خون‌گیری شد نمونه‌های خون وارد لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA شد. سپس نمونه‌ها به



شکل ۲- نمونه‌ای از ژل تعیین ژنوتیپ شده: تعداد آلل (سمت راست) و انواع ژنوتیپ (پایین).

Figure 2- An example of genotyping gel: alleles (right) and types of genotypes (bottom).

جدول ۱- خلاصه مشخصات کلی نشانگرهای ریزماهواره‌های مورد استفاده در این پژوهش.

Table 1- Summary of general characteristics of the microsatellites markers used in this study.

نام نشانگر Marker name	موقعیت Position (cM) 1	توالی آغازگر Primer sequence		T <sub>A</sub> <sup>2</sup>
		برگشت Reverse	رفت Forward	
GUJ0055	0	5'-GCATACTGCAATATACCTGA-3'	5'-TTGACATACTTGGATTAGAGA-3'	55
GUJ0052	19	5'-AAACTACCGATGTAAGTAAG-3'	5'-ATGAGATATATAAGGAACCC-3'	43
GUJ0048	57	5'-AACGCATACAACCTGACTGGG-3'	5'-GGATAGCATTTCAGTCACGG-3'	55
GUJ0013	91	5'-ACCAAACCCGAGATCCGACA-3'	5'-AGCGTTCGCGTTCCTCTTTC-3'	55
GUJ0056	122	5'-GTTACATCCATCCTGCCTCA-3'	5'-CTCTTGAGCCTACCAGTCTG-3'	55
GUJ0098	172	5'-GCATAACTGAACTACCACGC-3'	5'-GCATCAGTTCATCAGCTAG-3'	55
GUJ0068	197	5'-TAGGAGAGGTACGATTTGC-3'	5'-ATCTTAACTCGCCAGCCTT-3'	54
GUJ0090	206	5'-GCCTTCAGAGTGGGAAAT-3'	5'-TCTCACAGAAACAGCTCC-3'	55

<sup>۱</sup> موقعیت نشانگرها روی کروموزوم ۱ بلدرچین ژاپنی بر اساس نقشه پیوستگی (Kayang *et al.*, 2004). <sup>۲</sup> دمای اتصال.

<sup>۱</sup> Marker position on chromosome based on Japanese quail sex averaged linkage map (Kayang *et al.*, 2004). <sup>۲</sup> Annealing temperature (°C).

$$Y_{ijk} = \mu + H_i + S_j + \beta_k (X_k - \bar{X}) + aP_{ak} + dP_{dk} + iP_{ik} + e_{ijk}$$

در مدل‌های فوق،  $Y_{ijk}$  مشاهده مربوط به  $i$

امین هیچ،  $z$  امین جنسیت و  $k$  امین پرند،  $\mu$  میانگین جمعیت،  $H_i$  اثر ثابت هیچ  $i$ ام دارای ۵ سطح،  $S_j$  اثر جنس  $j$ ام دارای ۲ سطح (نر و ماده)،  $\beta_k$  ضریب رگرسیون صفت روی متغیر کمکی پرند  $k$ ام،  $X_k$  متغیر کمکی فرد  $k$ ام،  $\bar{X}$  میانگین متغیر کمکی جمعیت،  $a$  اثر افزایشی QTL،  $P_{ak}$  احتمال شرطی دریافت آلل سویه وحشی توسط پرند  $k$ ام،  $d$  اثر غلبه QTL،  $P_{dk}$  احتمال شرطی هتروزیگوت بودن پرند  $k$ ام،  $i$  اثر ایمپیریتینگ QTL،  $P_{ik}$  احتمال شرطی اینکه پرند  $k$ ام هتروزیگوت باشد و آلل سویه وحشی را از والد پدری دریافت کند و  $e_{ijk}$  اثر تصادفی عوامل باقیمانده می‌باشد.

علاوه بر مدل فوق، اثرات متقابل هیچ و

جنس با اثر افزایشی، غلبه یا ایمپیریتینگ QTL نیز در دو مدل دیگر برآورد شد.

برای آنالیز 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 ۱ برآش گردید. نقطه‌ای که دارای حداکثر آماره  $F$  بود به عنوان محتمل‌ترین موقعیت QTL در نظر گرفته شد. تعیین آستانه‌های معنی‌دار کروموزومی در سطوح ۰.۵٪ و ۰.۱٪ با استفاده از روش تبدیل (Churchill and Doerge)

نشانگرهای ریزماهواره با استفاده از واکنش

زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) و در حجم کلی ۲۵

میکرولیتر شامل: ۲ میکرولیتر DNA، ۲/۵

میکرولیتر بافر PCR، یک میکرولیتر  $MgCl_2$ ، ۰/۵

میکرولیتر dNTP، یک میکرولیتر پرایمر رفت،

یک میکرولیتر پرایمر برگشت، ۱۶/۵ میکرو

آب استریل و ۰/۳ میکرولیتر آنزیم تک پلی‌مراز

به ازای هر نمونه، تکثیر یافتند. واکنش PCR

تحت شرایط زیر انجام شد: واسرشته‌سازی

ابتدایی (۵ دقیقه با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد)،

سپس ۳۰ چرخه شامل مراحل واسرشته‌سازی

(۳۰ ثانیه با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد)، اتصال

آغازگر به رشته الگو (۳۰ ثانیه با دمای بهینه هر

آغازگر)، بسط توسط پلیمرز (۴۵ ثانیه با دمای

۷۲ درجه سانتی‌گراد) و در نهایت مرحله بسط

نهایی (۵ دقیقه با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد)

(Zhan *et al.*, 2007). جهت الکتروفورز

محصولات PCR و تفکیک قطعات حاصله از ژل

پلی آکریل امید واسرشته‌ساز ۸ درصد استفاده

شد. برای رنگ آمیزی ژل از روش رنگ آمیزی

نقره سریع استفاده شد (Bassam *et al.*, 1991).

به منظور آنالیز داده‌های جمع‌آوری شده از مدل

آماري زیر استفاده شد. داده‌ها به وسیله نرم‌افزار

ASRmel آنالیز شد.

$$Y_{ijk} = \mu + H_i + S_j + \beta_k (X_k - \bar{X}) + e_{ijk}$$

به منظور برآورد اثرات افزایشی، غلبه و

ایمپیریتینگ QTL از مدل آماری آورده شده در

ذیل استفاده شد:

1994) محاسبه شد. مقادیر بدست آمده از آنالیز تعداد ده هزار سری داده برای ایجاد یک توزیع تجربی از آماره آزمون تحت فرض صفر مبنی بر عدم وجود QTL، رتبه‌بندی شدند. آنالیزها با استفاده از نرم‌افزار آنالیز GridQTL انجام شد.

### نتایج و بحث

پارامترهای آمار توصیفی ۹ صفت وزن ارگان‌های بدن که شامل تعداد مشاهدات برای هر صفت، میانگین تصحیح شده هر صفت برای اثرات ثابت، مقدار حداقل و حداکثر، انحراف معیار باقی‌مانده و درصد ضریب تغییرات برای هر صفت می‌باشد در جدول ۲ آمده است. نتایج نشان می‌دهد که واریانس مقادیر مشاهده شده از تنوع گسترده‌ای برخوردار است که ممکن است به دلیل تفاوت ژنتیکی میان پرندگان نسل  $F_2$  باشد.

برای آنالیز QTL و شناسایی QTL های معنی‌دار مؤثر بر وزن و درصد ارگان‌های بدن روی کروموزوم ۱ در بلدرچین ژاپنی از سه مدل مختلف استفاده شد. در مدل اول اثر افزایشی، غلبه و ایمپریتیگ QTL برآزش گردید و ۴ صفت معنی‌دار شد. یک QTL بسیار معنی‌دار ( $P < 0/01$ ) برای وزن پیش‌معه در انتهای کروموزوم و در موقعیت ۲۰۶ سانتی‌مورگان و در موقعیت نشانگر GUJ0090 شناسایی شد. برای وزن غده یورویپجیال (پرین) QTL معنی‌داری ( $P < 0/01$ ) در موقعیت ۱۹۷ سانتی‌مورگان مکان-

یابی شد که موقعیت این QTL با موقعیت نشانگر GUJ0068 یکی بود. سومین صفتی که QTL معنی‌دار برای آن شناسایی شد وزن بورس فابریسیوس بود. برای این صفت در موقعیت ۹ سانتی‌مورگان یک QTL ( $P < 0/01$ ) مشخص شد که نزدیکترین نشانگر به موقعیت این QTL نشانگر GUJ0055 بود. آخرین صفت معنی‌دار براساس این مدل درصد پیش‌معه بود که مانند وزن پیش‌معه نیز برای این صفت QTL بسیار معنی‌داری ( $P < 0/01$ ) در موقعیت ۲۰۶ سانتی-مورگان شناسایی شد. نتایج حاصل از این آنالیز در جدول و شکل ۳ خلاصه شده است.

در مدل دوم اثر متقابل هیچ (۵ سطح) با اثر افزایشی، غلبه یا ایمپریتیگ QTL بررسی شد. بر اساس نتایج حاصل از این آنالیز فقط برای صفت درصد روده QTL معنی‌دار شناسایی شد. برای این صفت یک QTL معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) در موقعیت ۱۶۵ سانتی‌مورگان شناسایی شد به طوری که این QTL در هیچ سوم معنی‌دار بود ولی در سایر هیچ‌ها معنی‌دار نبود. نزدیکترین نشانگر به موقعیت این QTL نشانگر GUJ0068 بود. نتایج این آنالیز در جدول و شکل ۴ آورده شده است.

در مدل سوم اثر متقابل جنس با اثر افزایشی، غلبه یا ایمپریتیگ QTL بررسی شد. پس از آنالیز این مدل QTL های مؤثری بر وزن سنگدان ( $P < 0/01$ )، درصد غده یورویپجیال ( $P < 0/01$ ) و درصد بورس فابریسیوس ( $P < 0/05$ )

دار بود. در نهایت برای درصد بورس فابریسیوس در ابتدای کروموزوم و در موقعیت ۱ سانتی-مورگان QTL معنی‌داری مکان‌یابی شد به طوری که این QTL در جنس ماده معنی‌دار بود. نزدیکترین نشانگر به موقعیت این QTL نشانگر GUJ0055 بود. نتایج حاصل از این آنالیز در جدول و شکل ۵ خلاصه شده است.

نقشه‌یابی شد. برای وزن سنگدان در ناحیه سانترومری و در موقعیت ۰ سانتی‌مورگان یک QTL معنی‌دار در جنس نر مکان‌یابی شد. بر اساس نقشه پیوستگی موقعیت این QTL با موقعیت نشانگر GUJ0055 یکی بود. برای درصد غده یورویچیال QTL معنی‌داری در موقعیت ۱۹۷ سانتی‌مورگان و در موقعیت نشانگر GUJ0068 شناسایی شد که در جنس ماده معنی-

جدول ۲- خلاصه آمار توصیفی داده‌های پرندگان نسل F<sub>2</sub> بلدرچین ژاپنی.

Table 2- Summary statistics for the Japanese quail F<sub>2</sub> birds data.

Trait	N	Mean <sup>1</sup>	Minimum	Maximum	R.S.D <sup>2</sup>	%CV <sup>3</sup>
Intestine weight	422	7.0	3.46	15.14	1.14	16.23
Pancreas weight	422	0.5	0.50	0.94	0.10	21.33
Liver weight	422	3.4	1.85	9.64	0.55	15.84
Spleen weight	416	0.1	0.02	0.23	0.03	32.42
Heart weight	422	1.3	0.59	2.01	0.16	13.18
Gizzard weight	422	4.0	1.86	6.05	0.45	11.35
Pre-stomach weight	421	0.6	0.05	0.92	0.10	15.54
Uropygial gland weight	400	0.3	0.03	0.65	0.07	25.97
Bursa of fabricius weight	410	0.1	0.03	0.33	0.04	32.70

<sup>1</sup> میانگین تصحیح شده برای اثرات ثابت جنس و هج، <sup>2</sup> انحراف معیار باقی‌مانده، <sup>3</sup> ضریب تغییرات.

<sup>1</sup> Trait mean adjusted for fixed effects included in the model, <sup>2</sup> Residual standard deviation, <sup>3</sup> Coefficient of variation.

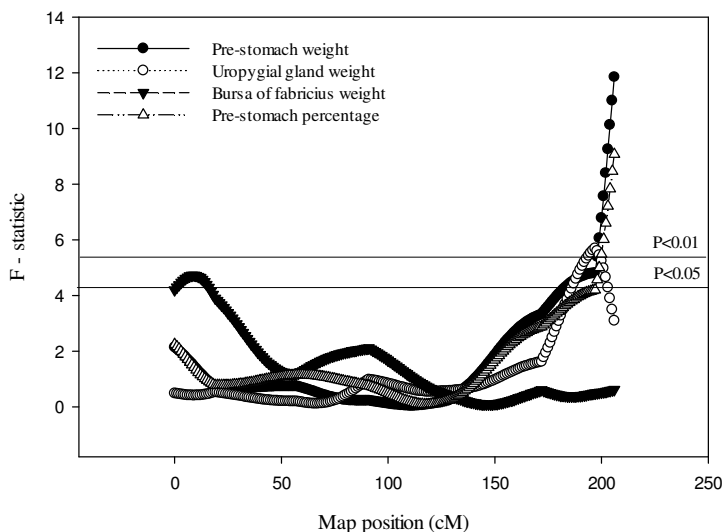
جدول ۳- خلاصه نتایج حاصل از برازش مدل اثر افزایشی، غلبه و ایمپیریتینگ QTL.

Table 3- Summary of QTL results obtained from modeling of additive, dominance and imprinting QTL effects.

Trait <sup>1</sup>	Position (cM)	F-statistic	%V <sub>QTL</sub> <sup>2</sup>	Closest marker	A (SE) <sup>3</sup>	D (SE) <sup>4</sup>	I (SE) <sup>5</sup>
PSW	206	11.84 **	7.29	GUJ0090	0.46 (0.08)	0.05 (0.17)	0.07 (0.11)
UGW	197	5.68 **	1.96	GUJ0068	0.01 (0.10)	-0.78 (0.19)	-0.04 (0.11)
BFW	9	4.72 **	2.70	GUJ0055	-0.28 (0.12)	0.14 (0.21)	-0.25 (0.10)
PSP	206	9.07 **	5.26	GUJ0090	0.38 (0.08)	0.17 (0.17)	0.09 (0.11)

<sup>1</sup> PSW: وزن پیش معده، UGW: وزن غده یورویچیال، BFW: وزن بورس فابریسیوس، PSP: درصد پیش معده. <sup>2</sup> درصد واریانس فنوتیپی ناشی از QTL. <sup>3</sup> اثر افزایشی QTL (اشتباه استاندارد) به واحد انحراف معیار باقی‌مانده. <sup>4</sup> اثر غلبه QTL (اشتباه استاندارد) به واحد انحراف معیار باقی‌مانده. <sup>5</sup> اثر ایمپیریتینگ QTL (اشتباه استاندارد) به واحد انحراف معیار باقی‌مانده. \*\* اثر معنی‌دار QTL در سطح ۱ درصد در سطح کروموزوم.

<sup>1</sup> PSW: Pre-stomach weight, UGW: Uropygial gland weight, BFW: Bursa of fabricius weight, PSP: Pre-stomach percentage. <sup>2</sup> proportion of phenotypic variance of the F<sub>2</sub> population explained by QTL. <sup>3</sup> The additive QTL effect. <sup>4</sup> The dominance QTL effect. <sup>5</sup> The imprinting QTL effect. \*\* P < 0.01 chromosome-wide significant of QTL.



شکل ۳- پروفیل آماره F حاصل از برازش مدل اثر افزایشی، غلبه و ایمپیریتینگ QTL. خطوط افقی آستانه‌های معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد را نشان می‌دهد.

Figure 3- F statistic curve resulted from modeling of additive, dominance and imprinting QTL effects. The horizontal lines represent 5 and 1% chromosome-wide significant levels of linkage.

جدول ۴- خلاصه نتایج حاصل از برازش مدل اثر متقابل QTL و هیچ.

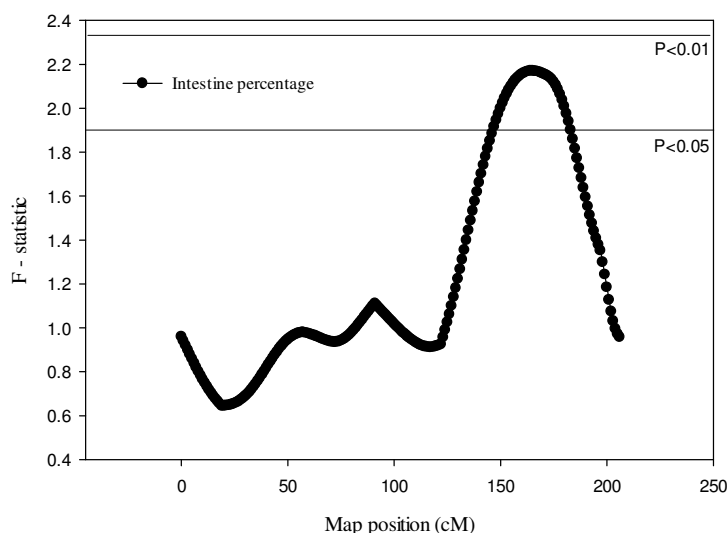
Table 4- Summary of QTL results obtained from modeling QTL by hatch interaction.

Trait	Position (cM)	F-statistic	%V <sub>QTL</sub> <sup>2</sup>	Closest marker	QTL × Hatch <sup>3</sup>	A (SE) <sup>4</sup>	D (SE) <sup>5</sup>	I (SE) <sup>6</sup>
IP <sup>1</sup>	165	2.17 *	4.06	GUJ0068	H <sub>1</sub>	0.05 (0.33)	0.24 (0.49)	-0.20 (0.33)
					H <sub>2</sub>	0.10 (0.36)	0.40 (0.51)	0.38 (0.22)
					H <sub>3</sub>	0.57 (0.19)	0.21 (0.40)	0.46 (0.30)
					H <sub>4</sub>	0.32 (0.15)	0.33 (0.31)	0.14 (0.20)
					H <sub>5</sub>	0.37 (0.16)	0.06 (0.35)	0.23 (0.23)

<sup>1</sup> IP: درصد روده. <sup>2</sup> درصد واریانس فنوتیپی ناشی از QTL. <sup>3</sup> اثر متقابل QTL و هیچ. <sup>4</sup> اثر افزایشی QTL (اشتباه استاندارد) به واحد انحراف معیار باقی‌مانده. <sup>5</sup> اثر غلبه QTL (اشتباه استاندارد) به واحد انحراف معیار باقی‌مانده. <sup>6</sup> اثر ایمپیریتینگ QTL (اشتباه استاندارد) به واحد انحراف معیار باقی‌مانده. \* اثر معنی‌دار QTL در سطح ۵ درصد در سطح کروموزوم.

<sup>1</sup> Intestine percentage. <sup>2</sup> proportion of phenotypic variance of the F<sub>2</sub> population explained by QTL. <sup>3</sup> QTL by hatch interaction effect. <sup>4</sup> The additive QTL effect. <sup>5</sup> The dominance QTL effect. <sup>6</sup> The imprinting QTL effect. \* P < 0.05 chromosome-wide significant of QTL.





شکل ۴- پروفیل آماره F حاصل از برآزش مدل اثر متقابل هیچ با اثر افزایشی، غلبه یا ایمپرینتینگ QTL. خطوط افقی آستانه‌های معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد را نشان می‌دهد.

**Figure 4- F statistic curve resulted from modeling of additive, dominance and imprinting QTL effects by hatch interaction. The horizontal lines represent 5 and 1% chromosome-wide significant levels of linkage.**

به عنوان مثال اثر غلبه برای صفت وزن سنگدان ۰/۷۹ برآورد شد که نشان می‌دهد ژنوتیپ هتروزیگوت اثر غلبه مثبتی بر افزایش وزن سنگدان به مقدار ۰/۷۹ گرم دارد. ۲ QTL مرتبط با وزن و درصد بورس‌فابریسیوس دارای اثر ایمپرینتینگ (اثر منشأ والدی) معنی‌دار بود. ایمپرینتینگ معمولاً هنگام گامتوزن که ژنوم والدین دستخوش تغییر و تبدیل می‌شود رخ می‌دهد. نتیجه این است که ژن‌های مشابهی که از والدین پدری یا مادری به ارث برده می‌شوند به طور متفاوتی بیان شوند. یک مکانیسم مولکولی کلیدی که منجر به ایمپرینتینگ می‌شود متیلاسیون DNA است که در آن ژن‌ها در تخم و اسپرم به

با برآزش ۳ مدل مختلف به طور کلی ۸ QTL معنی‌دار برای صفات مورد مطالعه در این پژوهش روی کروموزوم ۱ بلدرچین ژاپنی نقشه‌یابی شد. ۳ QTL مؤثر بر وزن پیش‌معه، درصد پیش‌معه و درصد روده دارای اثر افزایشی بود. منظور از اثر افزایشی QTL متوسط تفاوت دو ژنوتیپ هموزیگوت (QQ و qq) می‌باشد. برآورد های اثر افزایشی QTL برای این صفات همگی مثبت بود. ۳ QTL مؤثر بر وزن غده یورویپجیال، وزن سنگدان و درصد غده یورویپجیال دارای اثر غلبه ژنی بود. منظور از اثر غلبه QTL یعنی انحراف میانگین دو ژنوتیپ هموزیگوت (Qq) از ژنوتیپ هتروزیگوت (Qq).

که احتمالاً جایگاه‌های ژنی متفاوتی در هیچ‌های مختلف بر صفات مورد نظر اثر معنی‌دار دارند. در مورد اثر متقابل معنی‌دار QTL با جنسیت نیز می‌توان گفت احتمالاً ژن‌های متفاوتی در دو جنس بر بروز صفات ذکر شده تأثیر می‌گذارند.

طور متفاوت متیله می‌شود و توارث این علائم اپی‌ژنتیک سبب بیان متفاوت این ژن‌ها می‌شود (Reik and Walter 2001).

از معنی‌دار بودن اثرات متقابل QTL و هیچ برای صفات ذکر شده می‌توان چنین نتیجه گرفت

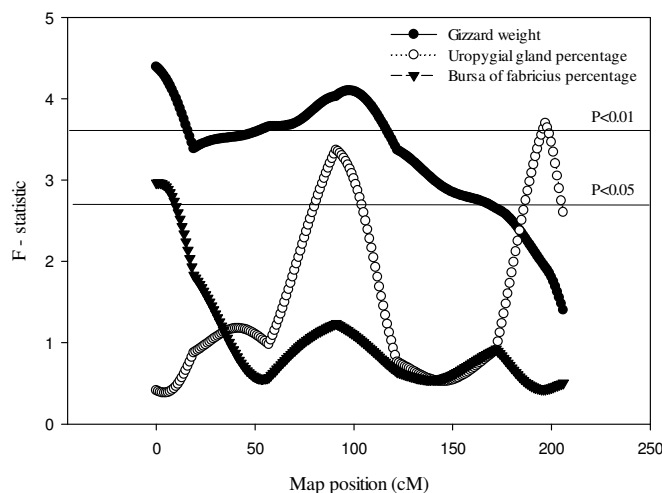
جدول ۵- خلاصه نتایج حاصل از برازش مدل اثر متقابل QTL و جنس.

Table 5- Summary of QTL results obtained from modeling QTL by sex interaction.

Trait <sup>1</sup>	Position (cM)	F-statistic	%V <sub>QTL</sub> <sup>2</sup>	Closest marker	QTL × Sex <sup>3</sup>	A (SE) <sup>4</sup>	D (SE) <sup>5</sup>	I (SE) <sup>6</sup>
GW	0	4.39 **	4.65	GUJ0055	Male	0.03 (0.14)	0.79 (0.18)	0.22 (0.12)
					Female	0.08 (0.14)	0.16 (0.18)	0.03 (0.11)
UGP	197	3.70 **	3.17	GUJ0068	Male	-0.19 (0.17)	-0.20 (0.33)	0.37 (0.18)
					Female	0.17 (0.15)	-1.06 (0.27)	-0.21 (0.15)
BFP	1	2.97 *	6.25	GUJ0055	Male	-0.14 (0.16)	-0.12 (0.25)	-0.02 (0.13)
					Female	-0.21 (0.14)	0.23 (0.24)	-0.37 (0.11)

<sup>1</sup> GW: وزن سنگدان، UPG: درصد غده یورویجیال، BFP: درصد بورس فابریسیوس. <sup>2</sup> درصد واریانس فنوتیپی ناشی از QTL. <sup>3</sup> اثر متقابل QTL و جنس. <sup>4</sup> اثر افزایشی QTL (اشتباه استاندارد) به واحد انحراف معیار باقی‌مانده. <sup>5</sup> اثر غلبه QTL (اشتباه استاندارد) به واحد انحراف معیار باقی‌مانده. <sup>6</sup> اثر ایمپرینتینگ QTL (اشتباه استاندارد) به واحد انحراف معیار باقی‌مانده. \* و \*\* اثر معنی‌دار QTL در سطح ۰.۰۵ و ۰.۰۱ درصد در سطح کروموزوم.

<sup>1</sup> GW: Gizzard weight, UGP: Uropygial gland percentage, BFP: Bursa of fabricius percentage. <sup>2</sup> proportion of phenotypic variance of the F2 population explained by QTL. <sup>3</sup> QTL by sex interaction effect. <sup>4</sup> The additive QTL effect. <sup>5</sup> The dominance QTL effect. <sup>6</sup> The imprinting QTL effect. \* and \*\* P < 0.05 and P < 0.01 chromosome-wide significant of QTL.



شکل ۵- پروفیل آماره F حاصل از برازش مدل اثر متقابل جنس با اثر افزایشی، غلبه یا ایمپیریتینگ QTL. خطوط افقی آستانه‌های معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد را نشان می‌دهد.

**Figure 5- F statistic curve resulted from modeling of additive, dominance and imprinting QTL effects by sex interaction. The horizontal lines represent 5 and 1% chromosome-wide significant levels of linkage.**

یا خیر. واریانس QTL برآورد شده در پژوهش حاضر برای QTL های با اثر افزایشی در محدوده ۴/۰۶-۷/۲۹٪، برای QTL های با اثر غلبه در محدوده ۱/۹۶-۴/۶۵٪ و برای QTL های با اثر ایمپیریتینگ در محدوده ۶/۲۵-۲/۷۰٪ بود.

بلدرچین ژاپنی از لحاظ فیلوژنی به گونه مرغ بسیار نزدیک است و همولوژی بسیار زیادی بین ژنوم دو گونه وجود دارد. هر دو گونه دارای کاریوتیپی متشکل از  $2n = 78$  کروموزوم می- باشند. با مقایسه موقعیت QTL های شناسایی شده روی کروموزوم ۱ بلدرچین ژاپنی با موقعیت QTL های گزارش شده برای صفات مشابه در مرغ، می‌توان این این بخش از ژنوم را از لحاظ ساختاری بررسی کرد (Kayang et al., 2006).

با توجه به اینکه ایجاد تمام جمعیت  $F_2$  به طور یکباره و در طی یک هیچ امکان پذیر نبود، برای تولید حداکثر میزان نتاج  $F_2$  به ازای هر کدام از والدین نر، در طی ۵ هیچ متوالی این جمعیت ایجاد شد. بنابراین اثر هیچ به عنوان یک اثر ثابت تاثیر قابل توجهی در شناسایی جایگاه های موردنظر داشت.

منظور از واریانس فنوتیپی ناشی از QTL، بخشی از واریانس فنوتیپی صفت مورد نظر است که به وسیله QTL ایجاد می شود. در هر موقعیت روی کروموزوم، نقشه یابی QTL با استفاده از مدل های مختلف تعیین می کند که آیا میزان واریانس معنی دار موجود در آن صفت کمی را می توان به یک QTL موجود در آن نقطه ربط داد

نشده است و این اولین گزارش در زمینه نقشه-یابی جایگاه‌های ژنی موثر بر این صفات روی کروموزوم ۱ در بلدرچین ژاپنی می‌باشد و اطلاعات جدید و مهمی را در این زمینه ارائه می‌دهد. نتایج این پژوهش نقش توارث غیر مندلی (ایمپیرینتینگ ژنومی) را در وزن و درصد بورس-فابریسیوس که نخستین ارگان درگیر در گسترش سیستم ایمنی طیور است را نشان می‌دهد. از نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که جایگاه‌های ژنی مؤثری بر وزن و درصد ارگان-های بدن روی کروموزوم ۱ بلدرچین وجود دارد ولی برای درک بهتر ساختار ژنتیکی این صفات به مطالعات بیشتری نیاز می‌باشد. البته می‌توان از نتایج حاصل از این پژوهش در مراحل بعدی نقشه‌یابی QTL مثل نقشه‌یابی دقیق و مطالعات ژن کاندیدا استفاده نمود.

### سپاسگزاری

هزینه انجام این تحقیق از محل گرانت پژوهشی دانشگاه شهید باهنر کرمان به نگارنده دوم مقاله و همچنین از محل بودجه پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی کرمان (قرارداد شماره ۱/۱۱۴۲) تامین گردیده است. نگارندگان مقاله از کارکنان و دانشجویان دو مرکز یاد شده کمال تشکر و سپاسگزاری را دارند.

از بین ۸ صفت معنی‌دار در این پژوهش برای صفات وزن و درصد پیش‌معده، وزن و درصد غده یورویجیال و درصد روده تاکنون QTL معنی‌دار گزارش نشده است. برای وزن و درصد بورس‌فابریسیوس که به ترتیب در موقعیت‌های ۹ و ۱ سانتی‌مورگان QTL های معنی‌دار روی کروموزوم ۱ بلدرچین ژاپنی شناسایی شد، در مرغ روی کروموزوم ۱ برای این صفت QTL معنی‌دار گزارش نشده است ولی روی کروموزوم‌های ۱۷ و ۲۶ به ترتیب در موقعیت‌های ۳۲ و ۳۱ سانتی‌مورگان QTL های معنی‌داری گزارش شده است (Park *et al* 2006). برای وزن سنگدان در پژوهش حاضر در ناحیه سانترومری و در موقعیت ۰ سانتی‌مورگان یک QTL معنی‌دار شناسایی شد. برای این صفت در مرغ تاکنون ۴ QTL معنی‌دار روی کروموزوم ۱ به ترتیب در موقعیت‌های ۱۶۲ و ۱۸۷ و در فاصله‌های ۴۵۵-۴۴۳ و ۴۷۵-۴۴۲ گزارش شده است (Navarro *et al* 2005; Nones *et al* 2006; Gao *et al* 2009; Boschiero *et al* 2013). علت اینکه برای این صفت در مرغ نسبت به بلدرچین تعداد QTL بیشتری گزارش شده است می‌تواند به دلیل تراکم بیشتر نشانگرهای ریزماهواره روی کروموزوم ۱ مرغ نسبت به بلدرچین باشد.

در سال‌های اخیر چندین پژوهش به منظور نقشه‌یابی صفات اقتصادی در بلدرچین ژاپنی انجام شده است که در هیچ یک از این پژوهش‌ها وزن و درصد ارگان‌های مختلف بدن بررسی

- Aslam ML, Bastiaansen JW, Crooijmans RP, Vereijken A, Groenen MA (2011). Whole genome QTL mapping for growth, meat quality and breast meat yield traits in turkey. *BMC Genetics* 12: 61.
- Bassam BJ, Caetano-Anollés G, Gresshoff PM (1991). Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Analytical Biochemistry* 196: 80-83.
- Boschiero C, Jorge EC, Ninov K, Nones K, do Rosário MF, Coutinho LL, Ledur MC, Burt DW, Moura AS (2013). Association of IGF1 and KDM5A polymorphisms with performance, fatness and carcass traits in chickens. *Journal of applied genetics* 54: 103-112.
- Churchill GA, Doerge RW (1994). Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics* 138: 963-971.
- 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 Production Science* 52: 64-68.
- Gao Y, Du ZQ, Wei WH, Yu XJ, Deng XM, Feng CG, Fei J, Feng JD, Li N, Hu XX (2009). Mapping quantitative trait loci regulating chicken body composition traits. *Animal genetics* 40: 952-954.
- Haley CS, Knott SA, Elsen JM (1994). Mapping quantitative trait loci in crosses between outbred lines using least squares. *Genetics* 136: 1195-1207.
- 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:
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research* 16: 1215.
- 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.
- Navarro P, Visscher PM, Knott SA, Burt DW, Hocking PM, Haley CS (2005). Mapping of quantitative trait loci affecting organ weights and blood variables in a broiler layer cross. *British Poultry Science* 46: 430-442.
- Nones K, Ledur MC, Ruy DC, Baron EE, Melo CM, Moura AS, Zanella EL, Burt DW, Coutinho LL (2006). Mapping QTLs on chicken chromosome 1 for performance and carcass traits in a broiler x layer cross. *Animal Genetics* 35: 95-100.
- 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: 216-223.
- Reik W, Walter J (2001). Genomic imprinting: parental influence on the genome. *Nature Reviews Genetics* 2: 21-32.
- Sasazaki S, Hinenoya T, Lin B, Fujiwara A, Mannen H (2006). A comparative map of macrochromosomes between chicken and Japanese quail based on orthologous genes. *Animal Genetics* 37: 316-320.
- 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.

- Xu HM, Wei CS, Tang YT, Zhu ZH, Sima YF, Lou XY (2011). A new mapping method for quantitative trait loci of silkworm. *BMC Genetics* 12: 19.
- Zhan A, Bao Z, Lu W, Hu X, Peng W, Wang M, Hu J (2007). Development and characterization of 45 novel microsatellite markers for sea cucumber (*Apostichopus japonicus*). *Molecular Ecology Notes* 7: 1345–1348.
- Zhang J, Xiong Y, Zuo B, Lei M, Jiang S, Li F, Zheng R, Li J, Xu D (2007). Detection of quantitative trait loci associated with several internal organ traits and teat number trait in a pig population. *Journal of Genetics & Genomics* 34: 307-314.

## Identification of quantitative trait loci associated with weight and percentage of internal organs on chromosome 1 in Japanese quail

Moradian H.\*<sup>1</sup>, Esmailizadeh A.K.<sup>1</sup>, Sohrabi S.<sup>1</sup>, Mohammadabadi M.R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

### Abstract

The purpose of this study was to identify genomic regions affecting weight and percentage of internal organs on chromosome 1 in an F<sub>2</sub> population of Japanese quail. A three-generation resource population was developed by using two distinct Japanese quail strains, wild (meat type) and white (layer type). Eight pairs of white and wild birds were crossed reciprocally and 34 F<sub>1</sub> birds were produced. The F<sub>1</sub> birds were intercrossed to generate 422 F<sub>2</sub> offspring. Phenotypic data including weight of organs were collected on F<sub>2</sub> birds. All of the animals from three generations (472 birds) were genotyped for eight microsatellite markers on chromosome 1. QTL analysis was performed with least square regression interval mapping method fitting three various statistical models. Significant QTL were identified for pre-stomach weight, uropygial gland weight, bursa of fabricius weight, gizzard weight, percentage of pre-stomach, percentage of intestine, percentage of uropygial gland and percentage of bursa of fabricius. The proportion of the F<sub>2</sub> phenotypic variation explained by the significant additive, dominance and imprinted QTL effects ranged from 4.06 to 7.29%, 1.96 to 4.65% and 2.7 to 6.25%, respectively. The results of this study show that there are quantitative trait loci associated with weight and percentage of internal organs on chromosome 1 in Japanese quail, but more studies are needed to better understand genetic structure of these traits.

**Keywords:** *Japanese quail, Quantitative Trait Loci, Microsatellite markers, F2 design.*

---

\* Corresponding Author: Moradian H.

Tel: 09173321984

Email: hasan.moradian@yahoo.com

