نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۱۶، پاییز ۱۳۹۶
ص‌ص: ۲۳۱~۲۴۶

مطالعه پویش کل ژنومی صفات ترکیبات لاشه در جمعیت F_2 حاصل از تلاقی مرغ بومی آذربایجان غربی وسویه گوشتی آرین

- **علی جوانروح علی آباد**
دانش‌آموخته دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
- **رسول واعظ ترشیزی** (نویسنده مسئول)
دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
- **علی‌اکبر مسعودی**
استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
- **علیرضا احسانی**
استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

تاریخ دریافت : بهمن ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش : فروردین ۱۳۹۶

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۲۳۲۱۱۶۵۳
Email: rasoult@modares.ac.ir

چکیده

ترکیبات لاشه جزء صفات مهم اقتصادی در جوجه‌های گوشتی محسوب می شود. به منظور شناسایی جایگاهها و ژنهای مرتبط با صفات ترکیبات لاشه، مطالعه پویش کل ژنوم (GWAS) با استفاده از یک تراشه SNP ژنوم مرغ (SNP Illumina 60k Chicken Beadchip) در یک جمعیت F2 حاصل از تلاقی دوطرفه مرغ بومی آذربایجان غربی و خط B سویه گوشتی آرین انجام شد. برای هر پرنده، شش صفت شامل وزن لاشه، وزن سینه و وزن ران و درصدهای مربوطه (درصد لاشه، سینه و ران) مورد اندازه‌گیری قرارگرفت. با استفاده از دو مدل GLM و CMLM ارتباط هر یک SNP ها با این صفات مورد بررسی قرارگرفت. در مجموع تعداد ۲۲ نشانگر SNP مرتبط با صفات ترکیبات لاشه شناسایی شد. این نشانگرها در داخل، ناحیه بالادست و یا در ناحیه پایین‌دست ژنهای کاندیدا قرار داشتند. برای صفت وزن لاشه ژنهای FNDC3B وSALL1 و برای صفت درصد وزن لاشه ژنهای FGF4، PEL12، TMTC2، MAT1A، RET و DHX15 شناسایی شدند. برای صفت وزن سینه ژنهای ZC3H12A، SLC4A1 وFNDC3B و برای صفت درصد وزن سینه ژنهای UCHL3، PGGT1B ، GLMN و SLC4A1 شناسایی شدند. همچنین برای صفت وزن ران ژنهای ASB9، DENND5B وREEP3 و برای صفت درصد وزن ران ژنهای STX8، TBC1D5، ZBTB49 و ST3GAL3 شناسایی شدند. به طور کلی ژنهای کاندیدای شناسایی‌شده، عملکرد مولکولی مرتبط با هر یک از صفات مورد مطالعه را داشتند. لذا، با بررسی این ژنها می توان از پتانسیل ژنتیکی آنها در برنامه‌های اصلاحی طیور استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: مرغ، جمعیت **F2**، صفات ترکیبات لاشه، مطالعه پویش کل ژنومی، ژنهای کاندیدا

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 116 pp: 231-246

Title: Genome wide association study (GWAS) for body composition traits in a F2 population crosses of Arian broiler line and Azerbaijan native chicken

By: Ali Javanrouh Aliabad[1], Rasoul Vaez Torshizi[2]*, Ali Akbar Masoudi[3], Ali Reza Ehsani[3]

1: Ph.D. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares university, Tehran, Iran

2: Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares university, Tehran, Iran

3: Associated Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares university, Tehran, Iran

Received: February 2017 **Accepted: March 2017**

Body compositions are of significant economic importance to the broiler. In order to identify the loci associated with body composition traits, genome-wide association study (GWAS) was carried out in a chicken F2 population. The population derived from a reciprocal cross between Azerbaijan indigenous chickens and Aryan broiler line using Illumina 60K Chicken SNP Bead chip. For each bird, a total of six traits including carcass weight, breast weight, drumstick and thigh weight, and the percentage of these three traits were recorded. In the present study, the association of identified SNPs with body composition traits was estimated by general linear model (GLM) and compressed mixed linear model (CMLM). Totally, 22 SNPs were found to be associated with body composition traits. All these SNPs were located in internal, upstream and/or downstream of candidate genes related to under study traits. Two candidate genes (*FNDC3B* and *SALL1*) were found to be associated with carcass weight trait and six ones (*FGF4*, *PEL12*, *TMTC2*, *MAT1A*, *RET* and *DHX15*) were detected to be related to percentage of carcass weight trait. We identified three genes (*ZC3H12A*, *SLC4A1* and *FNDC3B*) for breast weight trait and four genes (*UCHL3*, *PGGT1B*, *GLMN* and *SLC4A1*) to the percentage of breast weight trait. In addition, three genes (*ASB9*, *DENND5B* and *REEP3*) were related to the drumstick and thigh weight trait, and four genes (*STX8*, *TBC1D5*, *ZBTB49* and *ST3GAL3*) were identified for the percentage of drumstick and thigh weight trait. As a conclusion, it may be inferred that the identified candidate genes have molecular functions related to body composition traits. So, investigation on these candidate genes can provide a genetic potential in the future chicken breeding programs.

Key words: Chicken, F2 population, body composition traits, GWAS, Candidate genes

مقدمه

در چند سال اخیر، پرورش طیور گوشتی با توجه به نقش و اهمیت خاصی که در تامین پروتئین حیوانی مورد نیاز جامعه انسانی دارد، رشد زیادی یافته است. در دهه‌های گذشته، اصلاح نژاد طیور پیشرفت‌های قابل توجهی داشته‌است. عمده پیشرفت ژنتیکی برای صفات رشد و ترکیبات لاشه در جوجه‌های گوشتی با استفاده از روش مرسوم انتخاب و بر اساس اطلاعات فنوتیپی و شجره بدست آمده‌است (Madeja و همکاران، ۲۰۰۴). در مورد صفات وزن بدن که وراثت پذیری متوسطی دارند (حدود ۰/۳۵)، روش مرسوم انتخاب خیلی موثر بوده‌است؛ زیرا اندازه‌گیری این صفت آسان و کم هزینه بوده و برای گله‌های خیلی بزرگ قابل انجام است. در مورد صفات مربوط به ترکیبات لاشه از قبیل وزن عضله سینه و وزن ران با وجود داشتن وراثت پذیری بالاتر، پیشرفت ژنتیکی به دلایلی همچون مشکل اندازه گیری این نوع صفات و پایین بودن صحت ارزیابی ژنتیکی به خاطر استفاده از اطلاعات خویشاوندان،

کندتر می‌باشد(Demeure و همکاران، ۲۰۱۳). در سال‌های اخیر با توسعه تکنیک‌های مولکولی، امکان نقشه‌یابی ژن‌های موثر بر صفات اقتصادی فراهم شده و با کمک این روش‌ها می‌توان جایگاه‌های صفات کمّی(QTL) موثر بر صفات را مشخص کرد و پیشرفت ژنتیکی را سرعت بخشید. در حال حاضر با دسترس بودن مجموعه بزرگی از چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) در طیور و کاهش هزینه تعیین ژنوتیپ، انتخاب ژنومی در حال عملی شدن می‌باشد. پیش بینی می‌شود با پوشش وسیع نشانگرها در سطح ژنوم مرغ، نشانگرهای SNP در اهداف اصلاحی طیور بکار گرفته شوند. مطالعه پویش کل ژنومی یا GWAS[1] برای نقشه‌یابی و شناسایی ژنها در بسیاری از صفات جهت انتخاب بکار برده می‌شود. این فرایند منجر به کشف ژنها و شناسایی جهش‌های مرتبط با صفات مورد مطالعه شده است. این روش باعث پیشرفت ژنتیکی در بسیاری از صفات مهم اقتصادی از جمله صفات ترکیبات لاشه و کیفیت گوشت خواهد شد. اساس طراحی یک مطالعه پویش کل ژنومی این است که تعدادی از افراد برای یک صفت مورد مطالعه رکوردگیری می‌شوند و سپس تعیین ژنوتیپ افراد با استفاده از یک تراشه نشانگری با پوشش کل ژنوم صورت می‌گیرد و ارتباط آماری هر یک از صفات با هر یک از نشانگرها مورد آزمون قرار می‌گیرد. در تحقیقی مطالعه پویش ژنومی یا GWAS روی صفت وزن چربی محوطه بطنی مرغ انجام شد. بر اساس این نتایج، تعداد ۱۲ ناحیه ژنومی جدید مرتبط با این صفت شناسایی‌شد (Abasht و Lamont، ۲۰۰۷). در تحقیقی دیگر با استفاده از مطالعه پویش کل ژنومی، جایگاه‌ها و ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفات ترکیبات بدن و کیفیت گوشت در مرغ نژاد Beijing-you چین، شناسایی‌شد (Liu و همکاران، ۲۰۱۳). همچنین بر اساس تحقیق جدیدتر با این روش، چند نشانگر SNP مهم برای صفات ترکیبات بدن در مرغ شناسایی گردید (Wang و همکاران، ۲۰۱۵). با توجه با اینکه والدین انتخابی در مطالعه پویش کل ژنومی باید از نظر بسیاری از صفات مورد نظر اختلاف فنوتیپی داشته باشند، خط B سویه گوشتی آرین و مرغ بومی آذربایجان غربی انتخاب شدند. خط B سویه گوشتی آرین دارای سرعت رشد بالا بوده و انتخاب برای صفات رشد، ضریب تبدیل غذایی و ترکیبات لاشه انجام می‌شود. از طرفی در مرغ بومی آذربایجان غربی با سرعت رشد پایین، انتخاب برای صفات تولیدمثلی و صفات وزن بدن انجام می‌گیرد. به این ترتیب بیشترین چندشکلی از نظر نشانگرهای بکار رفته در جمعیت F2 قابل شناسایی خواهد بود. لذا هدف از این تحقیق، شناسایی جایگاهها و ژن‌های مرتبط با صفات ترکیبات لاشه در جمعیت F2 حاصل از مرغ بومی آذربایجان غربی وسویه گوشتی آرین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از تلاقی خط B سویه گوشتی آرین و مرغ بومی آذربایجان غربی برای ایجاد نسل F1 استفاده شد. با انتخاب والدین مناسب از نظر اختلاف فنوتیپی، حداکثر هتروزیگوسیتی در نسل F1 و متعاقب آن حداکثر تنوع ژنتیکی در جمعیتF2 بوجود خواهد آمد. از آمیزش دو خروس با هشت مرغ به صورت دوطرفه (یک خروس به ازای چهار مرغ) طی دو نوبت جوجه کشی جمعیت F1 ایجادگردید. تعداد جوجه به ازای هر مرغ متغییر بوده و بین ۹ تا ۱۴ جوجه بود. تعداد ۳۲ مرغ با رعایت کمترین رابطه خویشاوندی به همراه ۷ خروس انتخابی جهت ایجاد نسل دوم انتخاب شد. به این ترتیب ۷ خانواده ناتنی تشکیل گردید. تا حد امکان مرغها و خروس هر خانواده مربوط به والدین متفاوت بودند. برای ایجاد جمعیت نسل دوم دو نوبت جوجه‌کشی انجام گرفت (دو هچ) و به این ترتیب تعداد ۹۶ پرنده نسل F2 ایجاد شد. این پرنده‌ها به مدت ۱۲ هفته پرورش و سپس کشتار شدند. رکوردهای مربوط به ترکیبات لاشه شامل: وزن لاشه، وزن سینه، وزن ران، درصد لاشه، درصد سینه و درصد ران ثبت گردید. قبل از کشتار از تمام پرندگان نسل دوم به مقدار یک میلی‌لیترخون از سیاهرگ ناحیه مثلثی زیربال، در تیوب‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA گرفته شد و استخراج DNA ژنومی با استفاده از روش بهینه‌یافته نمکی انجام گرفت (Javanrouh و همکاران، ۲۰۰۶). بعد از تعیین کمیت و کیفیت DNA با استفاده از روش اسپکتوفتومتری، همه نمونه‌های DNA با غلظت ۳۰۰ نانوگرم به

[1]- Genome wide association study (GWAS)

ازای هر نمونه رقیق‌سازی شد و سپس لئوفیلیزه گردید. نمونه‌ها به دانشگاه Aarhus کشور دانمارک انتقال داده شد و با استفاده از تراشه SNP تجاری ژنوم مرغ بنام (SNP Beadchip Illumina 60k Chicken) تعیین ژنوتیپ شدند. برای هر نمونه ۵۴۳۴۰ مارکر SNP تعیین ژنوتیپ شد. کنترل کیفی داده‌های ژنومی با استفاده از نرم افزار PLINK 1.07 انجام شد (Purcell و همکاران، ۲۰۰۷). پس از کنترل کیفی داده‌های اولیه ، تعداد سه پرنده به دلیل اینکه بیش از ۱۰ درصد ژنوتیپ از دست رفته داشتند، حذف شدند. سپس با در نظر گرفتن SNPهای با حداقل فراوانی آللی کمتر از سه درصد، SNPهایی که در کمتر از ۹۵ درصد افراد تعیین ژنوتیپ شده بودند و SNPهایی که در جمعیت مورد مطالعه درسطح احتمال کمتر از 10^{-6} در تعادل هاردی-واینبرگ نبودند، تعداد ۷۸۷۱ نشانگر SNP حذف شدند. در نهایت تعداد ۴۶۴۶۹ نشانگر SNP مربوط به ۲۹ جفت کروموزوم (۲۸ جفت کروموزوم غیرجنسی و یک جفت کروموزوم جنسی) و دو گروه لینکاژی (LGE22 و LGE64) برای آنالیزهای نهایی مورد استفاده قرارگرفت. در این تحقیق ساختار جمعیتی با استفاده از آنالیز MDS[۲] مورد بررسی قرار گرفت. تعداد SNP مستقل بر اساس همه کروموزوم‌های غیرجنسی با استفاده از اندازه پنجره ۳۰ نشانگر SNP با گامهای پنج تایی و r^2 با سطح آستانه۰/۲ انجام شد. با استفاده از تعداد SNP مستقل، ماتریس IBS محاسبه شد و براساس این ماتریس اجزاء MDS برآورد گردید. در نتایج حاصل از آنالیز MDS اولین ستون، مربوط به زیر جمعیت منتسب به هر یک از افراد جمعیت می‌باشد که به عنوان اولین جزء یا سطح اول آزمون MDS می‌باشد که در مدل‌های خطی به عنوان یک عامل کواریت (اثر کمکی)، جهت تصحیح اثر ساختار جمعیتی در مطالعه پویش کل ژنومی مورد استفاده قرارمی‌گیرد. همچنین ماتریس خویشاوندی ژنومی با استفاده ازنشانگرهای SNP مستقل تشکیل شد و در مدل آماری جهت تصحیح اثرات تصادفی پلی ژنیک منظورگردید (Van Raden ، ۲۰۰۸).

آنالیز GWAS بر اساس دو مدل GLM[۳] و Compressed MLM[۴] و با استفاده از نرم افزار TASSEL 5.0 انجام شد- (Bradbury و همکاران، ۲۰۰۷). در روش Compressed MLMبا استفاده از الگوریتم خوشه بندی افراد جمعیت گروه- بندی می‌شوند. به این ترتیب در این مدل، روابط خویشاوندی بین گروه‌ها بجای روابط خویشاوندی هر جفت از افراد برای اثرات تصادفی در نظر گرفته می‌شود و ابعاد ماتریس خویشاوندی کاهش می‌یابد. در نتیجه سرعت محاسبات و قدرت آماری برای آنالیز مطالعه پویش کل ژنومی بهبود می‌یابد (Zhang و همکاران، ۲۰۱۰). در هر دو مدل جنس و نوبت جوجه‌کشی به عنوان اثرات ثابت در نظر گرفته شد. در مدل Compressed MLM، اثرات پلی ژنیک به عنوان اثر تصادفی در نظر گرفته شد. مدلهای آماری GLM (مدل ۱) و Compressed MLM (مدل ۲) به صورت زیر می‌باشد:

$$Y_{ijkl}=\mu+C1_i+S_j+H_k+G_l+e_{ijkl} \quad (۱)$$

$$Y_{ijklm}=\mu+C1_i+S_j+H_k+G_l+U_m+e_{ijklm} \quad (۲)$$

در مدل‌های بالا: Y_{ijkl} و Y_{ijklm} ارزش فنوتیپی صفات، μ میانگین صفات، $C1_i$ اثر اولین جزء MDS، S_j اثر جنس، H_k اثر نوبت جوجه‌کشی، G_l اثر SNP، U_m مربوط به اثرات تصادفی پلی‌ژنیک و e_{ijkl} و e_{ijklm} اثر تصادفی باقیمانده می‌باشد. ساختار واریانس_کوواریانس اثرات پلی‌ژنیک به صورت $U_m \sim N(0, G\delta^2 a)$ بوده که G ماتریس خویشاوندی ژنومی و $\delta^2 a$ واریانس ژنتیکی افزایشی می‌باشد. مقدار P-value با روش تصحیح بنفرونی با سطح معنی‌داری پنج درصد که برای عدم تعادل پیوستگی در سطح ژنوم تصحیح شده بود، محاسبه گردید. به منظور تعیین سطح آستانه P-value تعداد SNP مستقل و بلوک‌های LD بر روی کروموزوم‌های غیرجنسی محاسبه شد. برای اینکار ازمجموعه SNPهای مجاور با مقادیر r2 بالاتر از ۰/۴ استفاده شد. تعداد ۱۱۲۹۷ نشانگر SNP مستقل و بلوک‌های LD برای صفات ترکیبات لاشه بدست آمد. دو سطح آستانه

1 - Multi Dimensional Scaling (MDS)

2- General Linear Model (GLM)

3- Compressed MLM (CMLM)

احتمال شامل سطح احتمال معنی‌داری[5] ($۴/۴۲۶ \times ۱۰^{-۶}$) و سطح احتمال پیشنهادی[6] ($۸/۸۵۱ \times ۱۰^{-۵}$) برای P-value در سطح ژنوم برای این صفات مشخص گردید. بر اساس نتایج P-value، پلات منهتن[7] و پلات Q-Q برای هر یک از صفات با استفاده از بسته qqman نرم افزار R 3.2.2 ترسیم شد (Turner، ۲۰۱۴). همچنین آماره λ یا فاکتور تورم ژنومی[8] برای هر یک از صفات با استفاده از بسته gap نرم افزار R محاسبه گردید(Zhao، ۲۰۰۷) موقعیت SNPهای معنی‌دار در سطح ژنوم مرجع گونه مرغ با استفاده از پایگاه اطلاعاتی NCBI مشخص گردید (NCBI Resource coordinators. ، ۲۰۱۳). سپس از پایگاه اطلاعاتی Ensembl برای شناسایی ژنهای بالادست و پایین دست در هر یک از نواحی ژنومی مورد نظر استفاده شد (Yates و همکاران، ۲۰۱۶)). عملکرد مولکولی و بیولوژیکی هر یک از ژن‌ها، با استفاده از پایگاه اطلاعاتی Uniprot مورد بررسی قرار گرفت (Pundir و همکاران، ۲۰۱۵) و در نهایت به منظور بررسی وجود QTL از پایگاه اطلاعاتی Animal qtldb استفاده شد (Hu و همکاران، ۲۰۱۶).

نتایج و بحث

آماره‌های توصیفی رکوردهای فنوتیپی مربوط به صفات وزن و درصد ترکیبات لاشه در پرنده‌های جمعیت F2 در جدول ۱ نشان داده شده است.

برای آنالیز MDS از تعداد ۴۴۰۹ نشانگر SNP مستقل با r^2 بالاتر از ۰/۲ برای صفات ترکیبات لاشه استفاده شد. نتایج آنالیز MDS برای صفات ترکیبات لاشه و کیفیت گوشت، وجود ۵ زیرجمعیت را در جمعیت مورد مطالعه نشان داد (شکل ۱). به دلیل وجود روابط خویشاوندی در بین خانواده‌ها به دلیل محدود بودن تعداد پرنده های F1 و نسل والدین، کاهش قدرت باروری و جوجه‌درآوری برخی از مرغ‌ها و خروس‌ها، احتمالاً باعث کاهش تعداد زیرجمعیت‌ها نسبت به تعداد خانواده‌های موجود در جمعیت مورد مطالعه شده بود. دو روش آماری CMLM و GLM برای آنالیز وجود ارتباط بین SNP ها و فنوتیپ های مورد نظر بکار گرفته شد. تفاوت این دو مدل به توانایی آن‌ها در تصحیح اریب-های ناشی از لایه‌بندی جمعیت، روابط خویشاوندی ناشناخته و خطای ناشی از تکنیک تعیین ژنوتیپ می‌باشد (Wang و همکاران، ۲۰۱۵). برای صفات مورد مطالعه در این تحقیق میانگین فاکتور تورم ژنومی یا λ برای مدل CMLM عدد ۱/۰۰۳ و برای مدل GLM عدد ۱/۱۳۱ بدست آمد. لذا، روش CMLM با در نظر گرفتن روابط خویشاوندی بین افراد و کنترل اثرات مربوط به ساختار جمعیتی، خطای مثبت را نسبت به مدل ثابت GLM، بیشترکاهش داده است(شکل ۲). از طرفی نتایج تحقیقات نشان داده‌است که روش CMLM باعث افزایش خطای منفی در مطالعه پویش کل ژنومی می‌گردد و ممکن است برخی از SNP-های مهم وجود داشته باشد، ولی با این مدل معنی‌دار نشود - (Hang و همکاران، ۲۰۱۰). لذا برای کاهش خطای منفی در اغلب مطالعات از مدل GLM نیز استفاده می‌شود (Liu و همکاران، ۲۰۱۵؛ Sun و همکاران، ۲۰۱۳).

1 - Significance

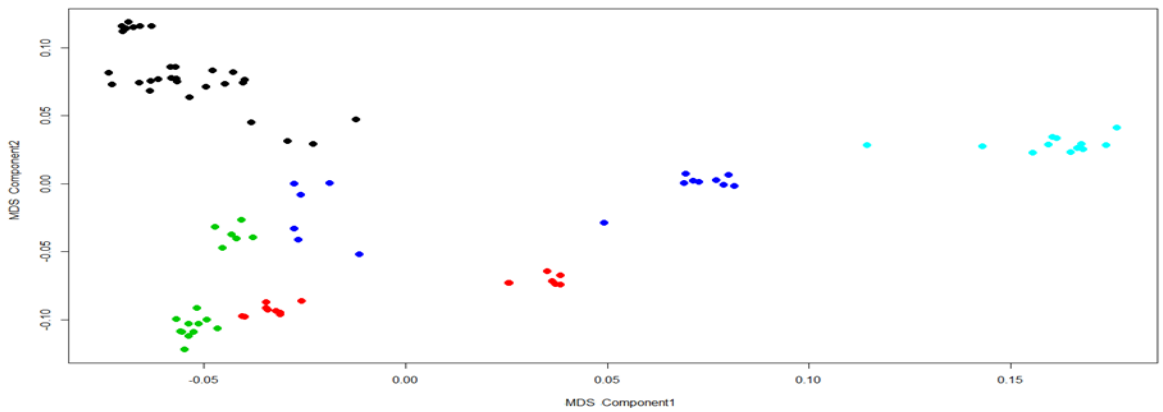
2 - Suggestive

3- Manhattan plot

4- Genomic inflation factor

جدول ۱ – آماره‌های توصیفی صفات وزن و درصد ترکیبات لاشه در جمعیت F2

صفت	تعداد رکورد	میانگین ± خطای استاندارد	انحراف معیار	ضریب تغییرات	حداقل	حداکثر
وزن لاشه (گرم)	۹۶	۱۹۸۰/۳۰±۴۳/۹۰	۴۲۳/۴۰	۲۱/۳۸	۷۹۰	۲۹۳۰
وزن سینه (گرم)	۹۶	۵۱۷/۲۰±۱۲/۷۰	۱۲۲/۷۰	۲۳/۷۳	۱۹۰	۷۹۸
وزن ران (گرم)	۹۶	۵۲۸/۴۰±۱۴/۱۰	۱۳۵/۸۰	۲۵/۷۱	۱۹۵	۸۸۴
درصد لاشه	۹۶	۷۰/۷۱±۰/۳۵	۳/۴۱	۴/۸۳	۵۶/۷۵	۷۵/۶۵
درصد سینه	۹۶	۲۶/۰۷±۰/۲۱	۲/۴۳	۹/۳۴	۱۶/۷۴	۳۲/۱۵
درصد ران	۹۶	۲۶/۵۴±۰/۲۱	۲/۵۹	۹/۷۶	۱۱/۵۷	۳۳/۷۱



شکل ۱– ساختار جمعیتی برای صفات ترکیبات لاشه با استفاده از آنالیز MDS

آنالیز GWAS برای صفت وزن و درصد لاشه

با آنالیز GWAS برای صفت وزن لاشه با استفاده از روش GLM، تعداد دو SNP پیشنهادی روی کروموزوم‌های شماره ۹ و ۱۱ شناسایی گردید. نشانگر Gga_rs14679097 در موقعیت ۱۸/۸۹ Mb روی کروموزوم ۹ و در داخل ژن FNDC3B قراردارد. این ژن نقش تنظیمی مثبت در تکثیر فیبروبلاست‌ها و تشکیل بافت چربی داشته و در تمایز سلول‌های استخوانی نقش تنظیمی منفی ایفا می‌کند. در ناحیه بالادست این ژن با فاصله ۳/۴۸Kb، ژن GHSR قرارگرفته است که دارای چندین عملکرد بیولوژیکی شامل: پلیمریزه کردن اکتین، پاسخ سلولی به ترشح انسولین، نقش تنظیمی مثبت به اشتها، نقش تنظیمی مثبت در رشد اندام‌های بدن و نقش تنظیمی مثبت برای گیرنده هورمون IGF می‌باشد (Obholz و همکاران، ۲۰۰۶). نشانگر Gga_rs13711265 در موقعیت ۵/۴۹ Mb بر روی کروموزوم شماره ۱۱ و در پایین‌دست ژن SALL1 قرارگرفته است. این ژن در رشد و نمو اندام‌های گوارشی جنین، مورفولوژی اندام‌های بدن و رشد و نمو قلب نقش ایفا می‌کند (UniProt Consortium، ۲۰۱۵). برای صفت وزن لاشه با استفاده از روش CMLM ، هیچ نشانگر SNP در سطح احتمال پیشنهادی و معنی‌داری شناسایی

نشد. نتایج آنالیز GWAS برای صفت درصد لاشه با استفاده از روش CMLM، وجود تعداد ۷ نشانگر SNP پیشنهادی را روی کروموزوم‌های شماره ۱، ۴، ۵ و ۶ نشان داد (جدول ۲). نشانگر Gga_rs16473444 در موقعیت ۱۶/۹۰ Mb روی کروموزوم شماره ۵ و در داخل ژن LOC107053430 قرار-گرفته است. برای این ژن نقش خاصی در طیور شناسایی نشده است. ژنFGF4 در ناحیه بالادست این ژن و در فاصله ۶/۵۷ Kb از این نشانگر قرارگرفته است. این ژن نقش مهمی در رشد اندام-های بدن، تکثیر و تمایز سلول‌ها و رشد و نمو جنین دارد. همچنین این ژن در مسیر بیوشیمیایی فاکتور رشد فیبروبلاست به عنوان گیرنده پیام مشارکت دارد. ژن دیگری بنام FGF3 با عملکرد بیولوژیکی مشابه ژن FGF4 در ناحیه پایین‌دست و در فاصله Kb ۱۵/۲۴ از نشانگر قرارگرفته است (Mahmood و همکاران، ۱۹۹۵). یک QTL در موقعیت Mb ۵۹/۹- ۱۱/۶ روی کروموزوم شماره ۵ وجود دارد که با صفت وزن لاشه مرغ ارتباط دارد (Nassar و همکاران، ۲۰۱۲). نشانگر شناسایی شده در این تحقیق، در محدوده ژنومی این QTL قرارگرفته است. همچنین یک QTL دیگر در موقعیت Mb ۱۵/۶- ۱۵/۵ روی کروموزوم شماره ۵ وجود دارد که با صفت وزن لاشه مرغ ارتباط دارد که فاصله آن با نشانگر شناسایی شده، Mb ۱/۳ می‌باشد (McElroy و همکاران، ۲۰۰۶). نشانگر GGaluGA291087 در موقعیت Mb۵۵/۹۱ بر روی کروموزوم شماره ۵ و در بالادست ژن PELI2 قرارگرفته است. این ژن در فسفوریلاسیون پروتئین‌ها و ایجاد تغییرات پس از ترجمه در پروتئین‌ها نقش ایفا می-کند(UniProt Consortium، ۲۰۱۵). همچنین در ناحیه پایین‌دست این ژن با فاصله Kb ۱۵۱/۲، ژن TBPL2 قرار دارد که به عنوان یک فاکتور رونویسی در تمایز سلول‌های عضلانی و رشد و نمو اندام‌های بدن مشارکت دارد (Di Pietro و همکاران، ۲۰۰۷). با توجه به اینکه دو نشانگر شناسایی شده بر روی کروموزوم ۵ در محدوده و مجاورت دو QTL مرتبط با این صفت قراردارد، می‌توان به اهمیت این ناحیه ژنومی در ارتباط با صفت لاشه در مرغ تاکید نمود. نشانگر Gga_rs13856806 روی کروموزوم شماره ۱ و در موقعیت Mb ۴۱/۰۵، در بالادست ژن TMTC2 قرارگرفته است. این ژن در توازن یون کلسیم نقش دارد (Broer و همکاران، ۲۰۰۶). یک QTL در محدوده Mb ۱۳۹/۸-۲۵/۷ بر روی کروموزوم شماره ۱ وجود دارد که با صفت وزن لاشه مرغ ارتباط دارد(Nassar و همکاران، ۲۰۱۲). نشانگر GGaluGA062313 در موقعیت Mb ۱۸۸/۶۳ روی کروموزوم شماره ۱ و در داخل ژن DLG2 قرارگرفته است. عملکرد بیولوژیکی این ژن در فرایند متابولیکی گوانوزین دی فسفات می‌باشد. نشانگرهایGaluGA294855 و Gga_rs16531852 روی کروموزوم شماره ۶، محدوده‌ی ژنومی Mb۰/۳۹ را تشکیل می‌دهند. نشانگر-GGaluGA294855 در داخل ژن LOC101752261 قرارگرفته است که برای این ژن نقش خاصی در طیور شناسایی نشده است. در ناحیه بالادست این نشانگر در فاصله Kb ۲۸/۶۸، ژن MAT1A قرار دارد که در بیوسنتز اسیدهای آمینه مشارکت دارد. نشانگر Gga_rs16531852 در داخل ژنRET قرارگرفته و پروتئین حاصل از این ژن به عنوان گیرنده در تشکیل آناتومی بدن، تشکیل اندام‌های گوارشی، فسفوریلاسیون پپتیدها و در پیوند سلول‌ها به همدیگر و تعیین اندازه سلول‌ها در بافت‌ها مشارکت دارد (Hillier و همکاران، ۲۰۰۴). نشانگر Gga_rs14490249 در موقعیت Mb۷۳/۴۰ روی کروموزوم شماره ۴ و در بالادست ژن DHX15 قرارگرفته است که به عنوان کاتالیزور در تبدیل مولکول ATPبه مولکول ADP و فسفات نقش دارد (Huttlin و همکاران، ۲۰۱۰).

جدول ۲- موقعیت SNP و ژن‌های مرتبط بر اساس سطح معنی‌داری برای صفت درصد لاشه با روش CMLM

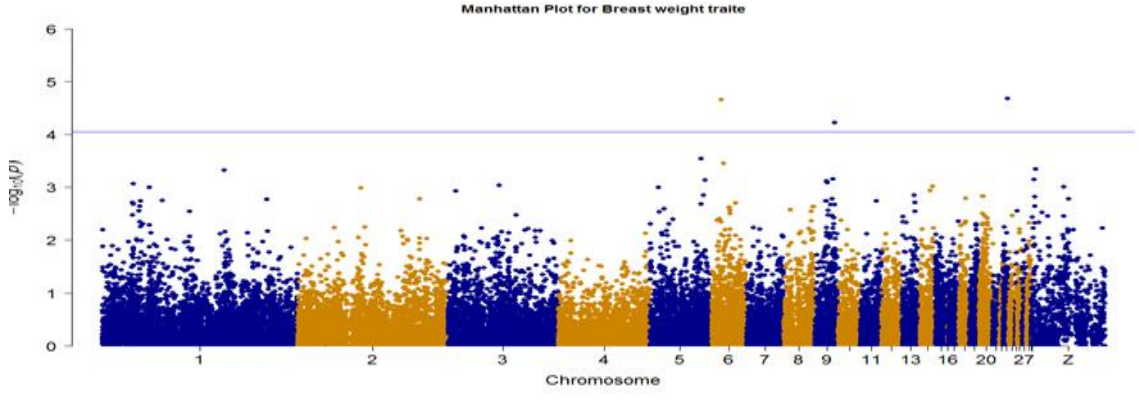
نام SNP	شماره کروموزوم	موقعیت ژنومی SNP (جفت باز)	نوع آلل	موقعیت و فاصله SNP نسبت به ژن	نام ژن	P-value	-log10 (P)
Gga_rs16473444	۵	۱۶۹۰۱۶۱۸	C/T	داخل ژن	LOC107053430	$۳/۶۴ \times ۱۰^{-۵}$	۴/۴۶
GGaluGA291087	۵	۵۵۹۱۵۵۲۸	A/G	بالادست-۶/۱۶ Kb	PELI2	$۷/۸۷ \times ۱۰^{-۵}$	۴/۱۰
Gga_rs13856806	۱	۴۱۰۵۷۶۱۴	A/G	بالادست-۷۵/۲۵ Kb	TMTC2	$۴/۶۱ \times ۱۰^{-۵}$	۴/۳۴
GGaluGA062313	۱	۱۸۸۶۳۶۰۰۶	C/T	داخل ژن	DLG2	$۵/۱۰ \times ۱۰^{-۵}$	۴/۲۹
GGaluGA294855	۶	۳۹۶۰۷۰۸	C/T	داخل ژن	LOC101752261	$۷/۱۹ \times ۱۰^{-۵}$	۴/۱۴
Gga_rs16531852	۶	۴۳۵۷۲۸۶	C/T	داخل ژن	RET	$۷/۵۲ \times ۱۰^{-۵}$	۴/۱۲
Gga_rs14490249	۴	۷۳۴۰۰۴۸۴	A/G	بالادست-۳۹/۲۶ Kb	DHX15	$۸/۸۱ \times ۱۰^{-۵}$	۴/۰۶

آنالیز GWAS برای صفت وزن و درصد سینه

با آنالیز GWAS برای صفت وزن سینه با استفاده از روش GLM، تعداد سه SNP پیشنهادی روی کروموزوم‌های ۶، ۹ و ۲۳ شناسایی شد (شکل ۲). نشانگر GGaluGA189151 روی کروموزوم شماره ۲۳ و در موقعیت Mb ۳/۷۴، در پایین‌دست ژن ZC3H12A قرارگرفته است (جدول ۳). این ژن در تمایز سلولی و پلیمریزه کردن پروتئین نقش دارد (UniProt Consortium، ۲۰۱۵). نشانگر Gga_rs15776357 در موقعیت Mb ۹/۲ روی کروموزوم شماره ۶ و در بالادست ژن SLC4A1 قرار-گرفته است. این ژن در ساختار پروتئین‌ها از جمله سلول‌های عضلانی و هموگلوبین نقش ایفا می‌کند (Hillier و همکاران، ۲۰۰۴). یک QTL در محدوده Mb ۸/۹-۸/۸ بر روی کروموزوم شماره ۶ وجود دارد که با صفت درصد عضله سینه مرغ ارتباط دارد(McElroy و همکاران، ۲۰۰۶). نشانگر Gga_rs15776357 در مطالعه حاضر با فاصله نزدیک (۰/۳ Mb) از این QTL قرارگرفته است که، نشاندهنده اهمیت این ناحیه ژنومی در ارتباط با صفت وزن و درصد عضله سینه می-باشد. نشانگر Gga_rs14679097 روی کروموزوم شماره ۹ یک نشانگر مشترک در صفات وزن لاشه و وزن سینه می‌باشد. با توجه به همبستگی فنوتیپی و ژنتیکی بالا در بین این صفات، وجود نشانگرهای مشترک برای این دو صفت قابل توجیه است.

با مطالعه پویش کل ژنومی برای صفت درصد سینه با استفاده از مدل GLM، وجود تعداد چهار SNP پیشنهادی روی کروموزوم‌های ۱، ۶، ۸ و Z مشخص گردید. نشانگر GGaluGA051504 روی کروموزوم شماره ۱ و در داخل ژن LOC101747840 قرارگرفته است. برای این ژن عملکرد مشخصی شناسایی نشده است. در بالادست این ژن، ژن UCHL3 قرارگرفته است که در مراحل کاتابولیکی پروتئین‌ها و پاسخ سلولی به ترشح انسولین نقش ایفا می‌کند(Setsuie و

همکاران، ۲۰۱۰). یک QTL در محدوده ۱۵۵/۱-۱۵۵ Mb بر روی کروموزوم شماره ۱ وجود دارد که با صفت وزن عضله سینه مرغ ارتباط دارد (Atzmon و همکاران، ۲۰۰۶). نشانگر GGaluGA051504 در این مطالعه با فاصله ۰/۳ Mb از این QTL قرارگرفته است. لذا می‌توان نتیجه گرفت که این ناحیه ژنومی در بروز فنوتیپی عضله سینه نقش دارد. نشانگر Gga_rs15992576 در موقعیت ۷۸/۶ Mb روی کروموزوم Z و در داخل ژن CCDC112 قرارگرفته است. برای این ژن عملکرد مشخصی در طیور و سایر گونه‌ها گزارش نشده است. در فاصله ۴۳/۳ Kb از این ژن در ناحیه بالادست، ژن PGGT1B قرارگرفته است که نقش تنظیمی مثبت در فرایند چرخه سلولی وتکثیر سلول‌ها داشته و در اتصال پپتیدها و تغییرات پس از ترجمه پروتئین‌ها مشارکت دارد (Carninci و همکاران، ۲۰۰۵). نشانگر Gga_rs15992576 در موقعیت ۱۳/۱۹ Mb روی کروموزوم شماره ۸ و در داخل ژن KIAA1107 قرارگرفته است. برای این ژن نیز عملکرد مشخصی در طیور و سایر گونه‌ها گزارش نشده است. در ناحیه بالادست این ژن و با فاصله اندک ۱۶/۰۷ Kb، ژن GLMN قرار دارد که این ژن در رشد و نمو سلول‌های عضلانی و فسفوریلاسیون پروتئین‌ها نقش دارد (UniProtConsortium، ۲۰۱۵). دو QTL به ترتیب در محدوده‌های ۲۱/۳-۱۲/۶ Mb و ۲۸/۸-۸/۴ Mb بر روی کروموزوم شماره ۸ وجود دارند که با صفت وزن عضله سینه مرغ ارتباط دارد(Gao و همکاران، ۲۰۰۹ ؛ Ikeobi و همکاران، ۲۰۰۴). نشانگر Gga_rs15992576 در تحقیق حاضر در محدوده این دو QTL قرارگرفته و نشان می‌دهد که این ناحیه ژنومی در ارتباط با صفت وزن و درصد سینه می‌باشد. نشانگر Gga_rs15776357 یک نشانگر مشترک برای دو صفت وزن و درصد سینه می‌باشد که بر روی کروموزوم شماره ۶ قراردارد و عملکرد مولکولی ژن مربوطه تشریح گردید. برای صفت درصد سینه با استفاده از مدل CMLM، هیچ نشانگر SNP در سطح احتمال پیشنهادی و معنی‌داری شناسایی نشد.



شکل ۲- پلات منهتن ترسیم شده برای صفت وزن سینه با استفاده از روش GLM

جدول ۳- موقعیت SNP و ژن‌های مرتبط بر اساس سطح معنی‌داری برای صفت وزن و درصد سینه با روش GLM

صفت	نام SNP	شماره کروموزوم	موقعیت ژنومی SNP (جفت باز)	نوع آلل	موقعیت و فاصله SNP نسبت به ژن	نام ژن	P-value	-log10 (P)
وزن سینه	GGaluGA189151	۲۳	۳۷۴۷۴۲۵	A/G	پایین‌دست- ۱۵/۱۰ Kb	ZC3H12A	$۲/۰۸ \times ۱۰^{-۵}$	۴/۶۸
	Gga_rs15776357	۶	۹۲۰۲۷۷۱	A/G	بالادست- ۱/۰۲ Kb	SLC4A1	$۲/۱۷ \times ۱۰^{-۵}$	۴/۶۶
	Gga_rs14679097	۹	۱۸۸۹۷۳۱۵	C/T	داخل ژن	FNDC3B	$۵/۹۰ \times ۱۰^{-۵}$	۴/۲۳
درصد سینه	GGaluGA051504	۱	۱۵۴۴۰۷۸۴۳	C/T	داخل ژن	LOC101747840	$۶/۴۳ \times ۱۰^{-۶}$	۵/۱۹
	Gga_rs15776357	۶	۹۲۰۲۷۷۱	A/G	بالادست- ۱/۰۲ Kb	SLC4A1	$۱/۳۲ \times ۱۰^{-۵}$	۴/۸۸
	Gga_rs15992576	۳۹	۷۸۶۵۱۴۷۷	A/G	داخل ژن	CCDC112	$۱/۳۴ \times ۱۰^{-۵}$	۴/۸۷
	Gga_rs14643031	۸	۱۳۱۹۹۲۲۵	A/G	داخل ژن	KIAA1107	$۲/۸۹ \times ۱۰^{-۵}$	۴/۵۴

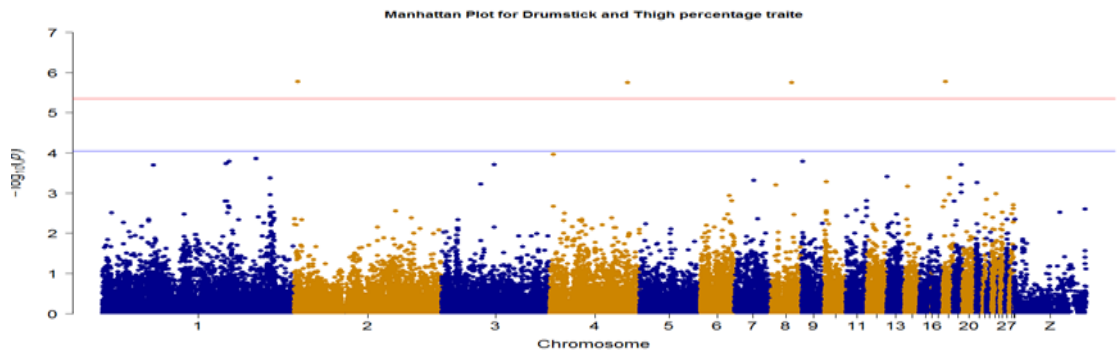
آنالیز GWAS برای صفت وزن و درصد ران

نتایج مطالعه پویش کل ژنومی برای صفت وزن ران با استفاده از مدل GLM تعداد سه SNP پیشنهادی روی کروموزوم‌های ۱و ۶ شناسایی شد (جدول۴). نشانگر Gga_rs13933348 در موقعیت۱۲۱/۷Mb روی کروموزوم شماره ۱ و در داخل ژن MOSPD2 قراردارد. این ژن نقش مشخصی در طیور ندارد. در ناحیه بالادست این ژن و در فاصله ۱۶۹/۵ Kb، ژن ASB9 قرار-دارد که در مراحل کاتابولیسم و تغییرات پس از ترجمه پروتئین‌ها نقش دارد (Kile و همکاران، ۲۰۰۱). یک QTL در محدوده ۱۳۰/۲-۱۱/۳ Mb روی کروموزوم شماره ۱ وجود دارد که با صفت وزن استخوان ران مرغ ارتباط دارد(Zhang و همکاران، ۲۰۱۰). نشانگر Gga_rs13933348 شناسایی شده در تحقیق حاضر، در محدوده این QTL قرار دارد که تاییدی بر ارتباط این ناحیه ژنومی با صفت وزن ران می‌باشد. نشانگر GGaluGA020594 روی کروموزوم شماره ۱ و در موقعیت ۵۹/۶۰ Mb، در داخل ژن DENND5B قراردارد. این ژن در تشخیص محرک‌های مکانیکی، انتقال یون کلسیم در غشای سلول و فعالیت آنزیم GTPase مشارکت دارد. آنزیم GTPase در بیوسنتز پروتئین‌ها، انتقال پروتئین‌ها از طریق غشای سلول و تمایز سلول‌ها در مراحل تقسیم سلولی نقش ایفا می‌کند (UniProtConsortium، ۲۰۱۵). سه QTL در محدوده

Mb ۶۳-۵۵/۳ بر روی کروموزوم شماره ۱ وجود دارد که با صفت وزن ران مرغ ارتباط دارد (De Koning و همکاران، ۲۰۰۴؛ Ikeobi و همکاران، ۲۰۰۴؛ Nones و همکاران، ۲۰۰۵). یک QTL دیگردر محدوده Mb ۹۹/۱-۳۸/۷ روی کروموزوم شماره ۱ وجود دارد که با صفت وزن ران مرغ ارتباط دارد(Nassar و همکاران، ۲۰۱۲). نشانگر GGaluGA020594 در مطالعه حاضر در محدوده این چهار QTL قرار دارد و نشان می‌دهد این ناحیه ژنومی با صفت وزن ران ارتباط دارد. نشانگر GGaluGA296508 در موقعیت Mb ۷/۲۵ روی کروموزوم شماره ۶ و در داخل ژن REEP3 قراردارد. این ژن در تقسیم سلولی نقش دارد (Hillier و همکاران، ۲۰۰۴). یک QTL در محدوده Mb ۸/۴-۸/۳ بر روی کروموزوم شماره ۶ وجود دارد که با صفت درصد ران مرغ ارتباط دارد(Zhou و همکاران، ۲۰۰۶).

برای صفت وزن ران تنها نشانگر Gga_rs13933348 روی کروموزوم شماره ۱با مدل CMLM در سطح احتمال پیشنهادی شناسایی شد ($P\text{-value} = ۸/۴۳ \times ۱۰^{-۵}$).

با آنالیز GWAS برای صفت درصد ران با استفاده از مدل CMLM، تعداد چهار SNP معنی‌دار روی کروموزوم‌های ۲، ۴، ۸ و ۱۸ شناسایی شد (شکل ۳). نشانگر Gga_rs15037034 در موقعیت ۲/۱۳Mb روی کروموزوم ۱۸ و در داخل ژن STX8 قراردارد. این ژن در استقرار پروتئین در سطح غشای سلول و انتقال پروتئین در داخل سلول مشارکت دارد (Church و همکاران، ۲۰۰۹). نشانگر Gga_rs14129709 روی کروموزوم شماره ۲ و در موقعیت Mb ۳/۵۳، در داخل ژن TBC1D5 قراردارد. این ژن در فعال کردن آنزیم GTPase و انتقال پروتئین‌ها مشارکت دارد (Hillier و همکاران، ۲۰۰۴). یک QTL در موقعیت Mb ۳/۸ روی کروموزوم شماره ۲ وجود دارد که با صفت درصد ران مرغ ارتباط دارد (Fornari و همکاران، ۲۰۱۴). همچنین یک QTL دیگر در محدوده ژنومی Mb ۳۷/۱-۲/۵ روی کروموزوم شماره ۲ وجود دارد که با صفت وزن ران مرغ ارتباط دارد (Ikeobi و همکاران، ۲۰۰۴). نشانگر شناسایی‌شده در این تحقیق در محدوده سه QTL مرتبط با وزن و درصد ران مرغ قرار دارد. نشانگر GGaluGA266807 در داخل ژن ZBTB49 و در موقعیت ژنومی ۷۸/۱۲Mb روی کروموزوم شماره ۴ قراردارد.



شکل ۳- پلات منهتن ترسیم شده برای صفت درصد ران با استفاده از روش CMLM

جدول ٤- موقعیت SNP و ژن‌های مرتبط بر اساس سطح معنی‌داری برای صفت وزن (روشGLM) و درصد ران (روش CMLM)

صفت	نام SNP	شماره کروموزوم	موقعیت ژنومی SNP (جفت باز)	نوع آلل	موقعیت و فاصله SNP نسبت به ژن	نام ژن	P-value	-log10 (P)
وزن	Gga_rs13933348	۱	۱۲۱۷۰۱۴۹۵	G/T	داخل ژن	MOSPD2	۳/۸۵×۱۰ $^{-۵}$	۴/۴۱
ران	GGaluGA020594	۱	۵۹۶۰۷۸۱۴	A/G	داخل ژن	DENND5B	۷/۸۰×۱۰ $^{-۵}$	۴/۱۰
	GGaluGA296508	۶	۷۲۵۱۲۹۵	A/G	داخل ژن	REEP3	۵/۲۰×۱۰ $^{-۵}$	۴/۲۸
درصد ران	Gga_rs15037034	۱۸	۲۱۳۴۳۳۳	A/G	داخل ژن	STX8	۱/۶۵×۱۰ $^{-۶}$	۵/۷۸
	Gga_rs14129709	۲	۳۵۳۰۴۶۴	C/T	داخل ژن	TBC1D5	۱/۶۵×۱۰ $^{-۶}$	۵/۷۸
	GGaluGA266807	۴	۷۸۱۲۱۵۸۴	A/G	داخل ژن	ZBTB49	۱/۷۴×۱۰ $^{-۶}$	۵/۷۶
	Gga_rs16637759	۸	۱۹۱۳۶۱۴۳	G/T	داخل ژن	ST3GAL3	۱/۷۷×۱۰ $^{-۶}$	۵/۷۵

این ژن به عنوان یک فاکتور رونویسی، نقش تنظیمی منفی در تکثیر سلولها در مراحل تقسیم سلولی دارد. در ناحیه بالادست این ژن و در فاصله ۰/۲ Mb، ژن WDR1 قرارگرفته است که در سازماندهی سلول‌های عضلانی اکتین و سارکومر(واحد عضلانی) و همچنین در غیرپلاریزه کردن فیلامنت‌های عضلانی مشارکت دارد (Adler و همکاران، ۱۹۹۹). یک QTL در موقعیت ژنومیMb ۸۸/۴-۴۶/۷ روی کروموزوم شماره ۴ وجود دارد که با صفت وزن ران مرغ ارتباط دارد(Ikeobi و همکاران، ۲۰۰۴). نشانگر GGaluGA266807 در مطالعه حاضر در محدوده این QTL بوده و نشان می‌دهد که این ناحیه ژنومی در بروز فنوتیپی عضله ران اهمیت دارد. نشانگرGga_rs16637759 روی کروموزوم شماره ۸ و در موقعیتMb ۱۹/۱۳، در داخل ژن ST3GAL3 قراردارد. پروتئین حاصل از این ژن در فرایند اضافه کردن کربوهیدرات‌ها به مولکول پروتئینی مشارکت دارد. دو QTL در محدوده ژنومیMb ۲۸/۸-۸/۴ روی کروموزوم شماره ۸ وجود دارد که به ترتیب با صفت وزن ران و وزن استخوان درشت نی مرغ ارتباط دارد (Ikeobi و همکاران، ۲۰۰۴؛ Sharman و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین یک QTL در محدوده ژنومیMb ۲۸/۸-۷ روی کروموزوم ۸ وجود دارد که با صفت وزن ران مرغ ارتباط دارد (Nassar و همکاران، ۲۰۱۲). قرار گرفتن نشانگر شناسایی شده در مطالعه حاضر در محدوده سه QTL گزارش شده، می‌تواند تاییدی بر اهمیت این ناحیه ژنومی در ارتباط با صفت وزن و درصد وزن ران باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به عملکرد بیولوژیکی ژن‌های کاندیدای شناسایی شده، به نظر می‌رسد این ژنها در بروز فنوتیپی صفات ترکیبات لاشه نقش ایفا می‌کنند. لذا می‌توان از این اطلاعات جدید در تشریح مکانسیم مولکولی هر یک ازصفات مورد مطالعه بهره برد. همچنین با توجه به قرارگرفتن این نشانگرها و ژنهای کاندیدای شناسایی شده در محدوده چند QTL مهم و توجیه بخشی از واریانس فنوتیپی صفات مورد نظر، امکان استفاده از این اطلاعات در برنامه‌های انتخاب طیور بر اساس انتخاب به کمک نشانگر و پیشرفت ژنتیکی سریعتر وجود دارد.

منابع

Abasht, B. and Lamont, S. J. (2007). Genome-Wide Association Study of Fatness in Chickens. *Animal Industry Report*: AS 653, ASL R2218.Available at: http://lib.dr.iastate.edu/ans_air/vol653/iss1/44.

Adler, H.J., Winnicki, R.S., Gong, T.W.L. and Lomax, M.I. (1999). A gene upregulated in the acoustically damaged chick basilar papilla encodes a novel WD40 repeat protein. *Genomics*, 56:59-69.

Atzmon, G., Ronin, Y.I., Korol, A., Yonash, N., Cheng, H. Hillel, J. (2006). QTLs associated with growth traits and abdominal fat weight and their interactions with gender and hatch in commercial meat-type chickens. *Animal genetics*, 37(4): 352-8.

Bradbury, P.J., Zhang, Z., Kroon, D.E., Casstevens, T.M., Ramdoss, Y. and Buckler, E.S. (2007). TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*, 23(19):2633-2635.

Broer, A., Tietze, N., Kowalczuk, S., Chubb, S., Munzinger, M., Bak, L.K. and Broer, S. (2006). The orphan transporter v7-3 (slc6a15) is a Na+-dependent neutral amino acid transporter. *Biochemistry Journal, 393*:421-430.

Carninci, P., Kasukawa, T., Katayama, S., Gough, J., Frith, M.C., Maeda, N., Oyama, R., Ravasi, T., Lenhard, B., Wells, C., Kodzius, R., Shimokawa, K., Bajic, V.B., Brenner, S.E., Batalov, S., Forrest, A.R., Zavolan, M., Davis, M.J. and Hayashizaki Y. (2005). The transcriptional landscape of the mammalian genome. *Science*, 309:1559-1563.

Church, D.M., Goodstadt, L., Hillier, L.W., Zody, M.C., Goldstein, S., She, X., Bult, C.J., Agarwala, R., Cherry, J.L., DiCuccio, M., Hlavina, W., Kapustin, Y., Meric, P., Maglott, D.,Birtle, Z., Marques, A.C., Graves, T., Zhou, S. and Ponting, C.P. (2009). Lineage-specific biology revealed by a finished genome assembly of the mouse. *PLoS Biology*, 7:E1000112.

De Koning, D J., Haley, C .S., Windsor, D., Hocking, P.M., Griffin, H., Morris, A., Vincent, J. and Burt, D.W. (2004). Segregation of QTL for production traits in commercial meat-type chickens. *Genetical Research*, 83(3): 211-20.

Demeure, O., Duclos, M. J., Bacciu, N., Mignon, G. L., Filangi, O., Pitel, F., Boland, A., Lagarrigue, S.,Cogburn, L. A., Simon, J., Roy, P. L. and Bihan-Duval, E.L. (2013). Genome wide interval mapping using SNPs identifies new QTL for growth, body composition and several physiological variables in an F2 intercross between fat and lean chicken lines. *Genetic Selection Evolution*, 45: 36.

Di Pietro, C., Ragusa, M., Duro, L., Guglielmino, M.R., Barbagallo, D., Carnemolla, A., Lagana, A., Buffa, P., Angelica, R., Rinaldi, A., Calafato, M.S., Milicia, I., Caserta, C., Giugno, R., Pulvirenti, A., Giunta, V., Rapisarda, A.

and Purrello, M. (2007). Genomics, evolution, and expression of TBPL2, a member of the TBP family. *DNA Cell Biology*, 26:369-385.

Fornari, M.B., Zanella, R., Ibelli, A.M., Fernandes, L.T., Cantão, M.E., Thomaz-Soccol, V., Ledur, M.C., Peixoto, J.O. (2014). Unraveling the associations of osteoprotegerin gene with production traits in a paternal broiler line. *Springer Plus*, 3: 682.

Gao, Y., Du, Z.Q., Wei, W.H.,Yu, X.J., Deng, X.M., Feng, C.G., Fei, J., Feng, J.D., Li, N. and Hu, X.X. (2009). Mapping quantitative trait loci regulating chicken body composition traits. *Animal genetics*, 40(6):952-4.

Hang, X.H., Wei, X.H., Sang, T., Zhao, Q.A., Feng, Q., Zhao, Y., Li, C., Zhu, C., Lu, T. and Zhang, Z. (2010). Genome-wide association studies of 14 agronomic traits in rice *Iandraces. Natutal genetics*, 42:961-976.

Hillier, L.W., Miller W., Birney, E., Warren, W., Hardison, R.C., Ponting, C.P., Bork, P., Burt, D.W., Groenen, M.A.M., Delany, M.E., Dodgson, J.B., Chinwalla, A.T., Cliften, P.F., Clifton, S.W., Delehaunty, K.D., Fronick, C., Fulton, R.S., Graves, T.A. and Wilson, R.K. (2004). Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. International Chicken Genome Sequencing Consortium. *Nature*, 432:695-716.

Hu, Z.L., Park, C.A. and Reecy, J.M. (2016). Developmental progress and current status of the Animal QTLdb. *Nucleic Acids Research*, 44 (D1): D827-D833.

Huttlin, E.L., Jedrychowski, M.P., Elias, J.E., Goswami, T., Rad, R., Beausoleil, S.A., Villen, J., Haas, W., Sowa, M.E. and Gygi, S.P. (2010). A tissue-specific atlas of mouse protein phosphorylation and expression. *Cell*, 143:1174-1189.

Ikeobi, C.O.N., Woolliams, J. A., Morrice, D. R., Law, A., windsor, D., Burt, D. W. and Hocking, P. M. (2004). Quantitative trait loci for meat yield and muscle distribution in a broiler layer cross. *Livestock Production Science*, 87: 143-151.

Javanrouh, A., Banabazi., M.H., Esmaeilkhanian, S., Amirinia, C., Seyedabadi, H.R. and Emrani, H. (2006). Optimization on salting out method for DNA extraction from animal and poultry blood cells. *The 57th Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Antalya, Turkey.

Kile, B.T., Metcalf, D., Mifsud, S., DiRago, L., Nicola, N.A., Hilton, D.J. and Alexander, W.S. (2001). Functional analysis of Asb-1 using genetic modification in mice. *Molecular Cell Biology*, 21:6189-6197.

Liu, R., Sun, Y., Zhao, G., Wang, F., Wu, D., Zheng, M., Chen, J., Zheng, L., Hu, Y. and Wen, J. (2013). Genome-Wide Association Study Identifies Loci and Candidate Genes for Body Composition and Meat Quality Traits in Beijing-You Chickens. *PLoS ONE*, 8(4): e61172.

Liu, R., Sun, Y., Zhao, G., Wang, H., Zheng, M., Li, P. Liu, L. and Wen, J. (2015). Identification of loci and genes for growth related traits from a genome-wide association study in a slow × fast-growing broiler chicken cross. *Genes & Genomics*, 37: 829-836.

Madeja, Z., Adamowicz, T., Chamurzynska, A., Jan Kowski, T., Melonek, J.M., Switonski, M. and Strable, T. (2004). Short Communication: Effect of Leptin gene polymorphisms on breeding value for milk production traits. *Journal of Dairy Science*. 87: 3925-3927.

Mahmood, R., Kiefer, P., Guthrie, S., Dickson, C. and Mason, I. (1995). Multiple roles for FGF-3 during cranial neural development in the chicken. *Development*, 121:1399-1410.

McElroy, J.P., Kim, J.J., Harry, D.E., Brown, S.R., Dekkers, J.C. and Lamont, S.J. (2006). Identification of trait loci affecting white meat percentage and other growth and carcass traits in commercial broiler chickens. *Poultry Science*, 85(4):593-605.

Nassar, M.K., Goraga, Z.S. and Brockmann, G.A. (2012). Quantitative trait loci segregating in crosses between New Hampshire and White Leghorn chicken lines: II. Muscle weight and carcass composition. *Animal genetics*, 43(6):739-45.

NCBI Resource Coordinators (2013). "Database resources of the National Center for Biotechnology Information". *Nucleic Acids Research*, 41 (Database issue): D8–D20. Available at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/UniGene/.

Nones, K., Ledur, M.C., Ruy, D.C., Baron, E.E., Melo, C.M.R., Moura, A.S.A.M.T., Zanella, E.L., Burt, D.W. and Coutinho, L.L. (2005). Mapping QTLs on chicken chromosome 1 for performance and carcass traits in a broiler x layer cross. *Animal Genetics*, 37: 95-100.

Obholz, K.L., Akopyan, A., Waymire, K.G. and MacGregor G.R. (2006). FNDC3A is required for adhesion between spermatids and Sertoli cells. *Development Biology*, 298:498-513.

Pundir, S., Magrane, M., Martin, M.J. and O'Donovan, C. (2015). UniProt Consortium: Searching and Navigating UniProt Databases. Current. *Proteomics Bioinformatics*, 50:1.27.1-1.27.10.

Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M.A., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P.I., Daly, M.J. and Sham, P.C. (2007). PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses.*The American Journal of Human Genetics*, 81(3):559-75.

Setsuie, R., Suzuki, M., Tsuchiya, Y. and Wada, K. (2010). Skeletal muscles of Uchl3 knockout mice show polyubiquitinated protein accumulation and stress responses. *Neurochemistry International Journal*, 56:911-918.

Sharman, P.W.A., Morrice, D.R., Law, A.S., Burt, D.W. and Hocking, P.M. (2007). Quantitative trait loci for bone traits segregating independently of those for growth in an F2 broiler x layer cross. *Cytogenetic and Genome Research*, 117: 296-304.

Sun, Y., Zhao, G., Liu, R., Zheng, M., Hu, Y., Wu, D. and Wen, J. (2013). The identification of 14 new genes for meat quality traits in chicken using a genome wide association study. *BMC Genomics*, 14: 458.

The UniProt Consortium. (2015). UniProt: a hub for protein information. *Nucleic Acids Research*, 43: D204-D212.

Turner, S. (2014). R Package: qqman ver. 0.1.2. Q-Q and manhattan plots for GWAS data.

Van Raden, P.M. (2008). Efficient Methods to Compute Genomic Predictions. *Journal of Dairy Science*, 91: 4414–4423.

Wang, W., Zhang, T., Wang, J., Zhang, G., Wang,Y., Zhang, Y., Zhang, J., Li, G., Xue, Q., Han, K., Zhao, X. and Zheng, H. (2015). Genome-wide association study of 8 carcass traits in Jinghai Yellow chickens using specific-locus amplified fragment sequencing technology. *Poultry Science*, 60:1–7.

Zhang, Z., Ersoz, E., Lai, C.Q., Todhunter, R.J., Tiwari, H.K., Gore, M.A., Bradbury, P.J., Yu, J., Arnett, D.K., Ordovas, J.M. and Buckler, E.S. (2010). Mixed linear model approach adapted for genome-wide association studies. *Nature Genetics*, 42(4):355-60.

Genome-wide Linkage Analysis to Identify Chromosomal Regions Affecting Phenotypic Traits in the Chicken II. Body Composition. *Poultry Science*, 85(10):1712.

Zhao, J.H. (2007). gap: A genetic analysis package. *Journal of statistical software*, 23(8):1-18.