

برآورد پارامترهای ژنتیکی صفات وزن بدن در دوره پایانی رشد و ایمنی همورال در بلدرچین ژاپنی

ایوب محمدی تیخ سیاه^۱، علی مقصودی^{۲*}، فرزاد باقرزاده کاسمانی^۳، محمد رکوعی^۳ و هادی فرجی آروق^۴
۱، ۲ و ۳. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۴. استادیار پژوهشی، پژوهشکده دام‌های خاص، دانشگاه زابل، زابل، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۸/۱۲ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۲/۲)

چکیده

هدف مطالعه حاضر برآورد پارامترهای ژنتیکی صفات رشد در سنین پایانی (۲۵ تا ۴۵ روزگی) و پاسخ‌های سیستم ایمنی همورال در بلدرچین ژاپنی بود. داده‌های رشد (اوزان بدن (BW) در سنین ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰ و ۴۵ روزگی و همچنین متوسط افزایش وزن بدن (ADG) در دوره‌های ۵ روزه) و پاسخ سیستم ایمنی (عبار آنتی‌بادی علیه SRBC (IgT) و واکنش نیوکاسل (IgN)) مورد بررسی قرار گرفت. از تجزیه و تحلیل چند صفتی با استفاده از روش نمونه‌گیری گیبس به کمک نرم‌افزار Gibbsf90 برای برآورد پارامترهای ژنتیکی استفاده شد. دامنه وراثت‌پذیری‌های برای صفات BW و ADG به ترتیب ۰/۳۰۳-۰/۴۳۷ و ۰/۳۳۸-۰/۵۳ بود. وراثت‌پذیری برای صفات IgT و IgN نیز به ترتیب ۰/۲۵۲ و ۰/۰۱۵ برآورد شد. همبستگی ژنتیکی صفات رشد با پاسخ‌های ایمنی منفی و از کم تا متوسط برآورد شد (۰/۲۱۸ تا -۰/۴۸۳). با توجه به نتایج، انتخاب ژنتیکی برای صفات وزن بدن نسبت به صفات افزایش وزن و ایمنی می‌تواند پاسخ ژنتیکی بالاتری را در پی داشته باشد. در بین صفات وزن بدن، وزن ۳۰ روزگی با توجه به همبستگی ژنتیکی بالا با BW45 (۰/۸۰۹)، وراثت‌پذیری متوسط (۰/۴۰۶) و همبستگی ژنتیکی منفی و نسبتاً پایین با IgT (-۰/۲۲۶) و IgN (-۰/۲۳۵) می‌تواند به عنوان معیار مناسبی جهت ارائه برنامه اصلاح نژادی به منظور بهبود صفات رشد و کاهش کم عملکرد سیستم ایمنی باشد.

واژه‌های کلیدی: نمونه‌گیری گیبس، وزن بدن، وراثت‌پذیری، همبستگی ژنتیکی، SRBC.

Estimates of genetic parameters for body weights at late growth period and humoral immunity in Japanese quail

Ayoub Mohammadi-Tighsiah¹, Ali Maghsoudi^{2*}, Farzad Bagherzadeh-Kasmani³, Mohammad Rokouei³ and Hadi Faraji-Arough⁴

1, 2, 3. Former M.Sc. Student, Assistant Professor and Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran

4. Assistant Professor, Research Center of Special Domestic Animals, University of Zabol, Zabol, Iran

(Received: Nov. 3, 2019 - Accepted: Apr. 21, 2020)

ABSTRACT

The aim of the current study was to estimate the genetic parameters of growth traits at the late ages (25-45 days of old) as well as humoral immune responses in Japanese quail. Therefore, the studied traits were growth traits (body weights (BW) at 25, 30, 35, 40 and 45 days of age, average daily gain (ADG) in 5 day periods as well as the immune system responses against SRBC (IgT) and Newcastle vaccine (IgN)). To estimate genetic parameters, a multivariate analysis was utilized using Gibbs sampling through Gibbsf90 software. The heritability for BW and ADG were varied between 0.303-0.437 and 0.053-0.338, respectively. Moreover, heritability estimates for IgT and IgN were 0.252 and 0.015, respectively. Genetic correlation between growth traits with immune responses were negative and ranged from low to moderate (-0.218 to -0.483). According to the results, genetic selection based on BWs might to result in higher genetic response than ADG and immune system performances. Among body weight traits, the BW30 based on its higher genetic correlation with BW45 (0.809), moderate heritability (0.406) and negative and relatively low genetic correlation with IgT (-0.226) and IgN (-0.235) would be consider as an appropriate criterion introduce applicable breeding program to improve growth traits with lower decreasing in the immune system performance.

Keywords: Body weight, genetic correlation, Gibbs sampling, heritability, SRBC.

* Corresponding author E-mail: Alimaghsoudi@uoz.ac.ir

مقدمه

پرورش ماکیان در ایران همواره یکی از مشاغل پر رونق محسوب می‌شده است. امپراطوری بزرگ ایران، که از قرن ۵ قبل از میلاد تا تقریباً قرن ۷ میلادی از هند تا دریاهای سیاه و مدیترانه گسترده شده بود، در محل تقاطع راه‌ها برای حمل و نقل محصولات از قبیل ماکیان از شرق به غرب قرار داشت. حفاری‌های باستان‌شناسی حضور ماکیان را در ایران در زمان‌های باستان تأیید کرده است (Mohammadabadi et al., 2010). علاوه بر یافته‌های باستان‌شناسی، امروزه نیز پرورش ماکیان رونق قابل‌توجهی در کشور دارد و پرورش‌دهندگان اغلب با در نظر گرفتن روش‌های نوین و با در اختیار گرفتن یافته‌های علمی در صدد افزایش بهره‌وری واحدهای پرورشی می‌باشند. به این منظور صفات متعددی در مزارع پرورشی مورد توجه است و معمولاً ثبت و رکوردبرداری از آنها انجام می‌گیرد.

صفات رشد از جمله مهمترین صفات مورد مطالعه در پرندگان اهلی، از جمله بلدرچین می‌باشد (Mohammadi-Tighsiah et al., 2018; Iranmanesh et al., 2016). با توجه به سهولت ثبت این صفات و اهمیت اقتصادی آنها در ارتباط با وزن پرندگان به‌ویژه در پرندگان گوشتی، اغلب در برنامه‌های اصلاح نژادی جایگاه ویژه‌ای دارند (Ghorbani et al., 2013). الگوی رشد در پرندگان به‌صورت یک تابع غیر خطی و به شکل سیگموئیدی است (Faraji-Arough et al., 2019). در این الگو، رشد پرنده در روزهای نخست پس از هج با یک شتاب آهسته آغاز شده و پیرامون نقطه عطف (inflection point) به حداکثر می‌رسد و سپس در دوره انتهایی دوباره روند کاهشی به‌خود می‌گیرد. نقطه عطف در بلدرچین ژاپنی اغلب در حدود روز ۲۵ اتفاق می‌افتد (Faraji-Arough et al., 2018). به‌عبارت دیگر پس از روز ۲۵، پرندگان از فاز افزایشی رشد به فاز کاهشی وارد می‌شوند و از شتاب رشد آنها کاسته می‌گردد. هرچند ارتباط ژنتیکی بین وزن بدن در سنین ابتدایی و سنین بالاتر وجود دارد (Sohrabi et al., 2012)، اما از نظر اقتصادی بنا به دلایل متعدد، وزن بدن در روزهای پس از نقطه عطف اهمیت ویژه‌ای دارد؛ زیرا مصرف دان در دوره پایانی

رشد افزایش می‌یابد (Gous & Cherry, 2004). بین وزن بدن در سنین پایانی با وزن لاشه (در حیوانات گوشتی) ارتباط ژنتیکی وجود دارد (Khaldari et al., 2016; Nasirifar et al., 2010). در صورت تلف شدن پرنده خسارت بیشتری به پرورش‌دهنده وارد می‌شود (Dunnington et al., 2013). به دلیل تحلیل رفتن بقایای کیسه زرده تا این سن، حمایت مادری از سیستم ایمنی پرنده تضعیف شده (Labaque et al., 2013). کیفیت لاشه در سنین پایانی کاهش می‌یابد (Narinc et al., 2014) و در صورت بروز بیماری‌های همه‌گیر در سنین پایانی خسارت اقتصادی بیشتری به‌وجود می‌آید (Yunis et al., 2002).

هرچند ثبت و پایش عملکرد سیستم ایمنی پرندگان در گله‌های پرورشی ضروری است، اما برخلاف صفات وزن بدن، ثبت سیستم ایمنی به سادگی مقدور نبوده و هزینه بیشتری نیز در بر دارد (Mohammadi-Tighsiah et al., 2018). در اغلب مطالعات در پرندگان سنجش پاسخ سیستم ایمنی به آنتی ژن گلبول قرمز گوسفند (SRBC) و تولید آنتی-بادی علیه واکنش‌ها مرسوم است (Lwelamira, 2012; Lwelamira et al., 2009; Wijga et al., 2009). وجود این در برخی مطالعات نیز عملکرد ذاتی سیستم ایمنی همورال مورد مطالعه قرار گرفته است (Bao et al., 2009; Sun et al., 2013; Wijga et al., 2016).

به منظور ایجاد بهبود در صفات اقتصادی، ارزیابی ژنتیکی آنها مورد توجه می‌باشد. از جمله متداول‌ترین روش‌های ارزیابی ژنتیکی در برنامه‌های اصلاح نژادی برآورد پارامترهای ژنتیکی (وراثت‌پذیری و همبستگی ژنتیکی) می‌باشد (Mohammadi-Tighsiah et al., 2009; Wijga et al., 2018). مطالعات متعددی بر روی پرندگان به منظور برآورد پارامترهای ژنتیکی صفات رشد در سنین مختلف انجام شده است (Ghorbani et al., 2013; Lwelamira, 2012; Lwelamira et al., 2009). با وجود این مطالعات در خصوص برآورد پارامترهای ژنتیکی پاسخ سیستم ایمنی علیه آنتی‌ژن‌ها در پرندگان و به‌ویژه بلدرچین اندک است (Mohammadi-Tighsiah et al., 2018). برای ارزیابی ژنتیکی عملکرد سیستم ایمنی همورال

پروتئین خام و انرژی متابولیسمی جیره به ترتیب به 201 g/kg و $11/7 \text{ MJ/kg}$ کاهش یافت. تمام پرنده‌ها در طی دوره پرورش به خوراک و آب به صورت آزادانه دسترسی داشتند. برنامه نوری به صورت ۲۰ ساعت روشنایی و ۴ ساعت تاریکی در کل دوره پرورش بود.

وزن بدن پرندگان در زمان خروج جوجه از تخم (وزن هج) و در فواصل ۵ روزه از هج تا ۴۵ روزگی ثبت شد. در مطالعه حاضر صفات وزن بدن در روزهای ۲۵ (BW25)، ۳۰ (BW30)، ۳۵ (BW35)، ۴۰ (BW40) و ۴۵ (BW45) مورد استفاده قرار گرفت. همچنین صفات متوسط افزایش وزن روزانه در فواصل ۵ روزه به صورت ADG25-30، ADG30-35، ADG35-40 و ADG40-45 محاسبه شده و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در مجموع ۷۹۰۹ رکورد مربوط به صفات رشد مورد بررسی قرار گرفت.

در هر نسل، تمام پرندگان علیه ویروس نیوکاسل سویه B1 NDV) با استفاده از قطره چشمی واکسینه شدند. همچنین، در روزهای ۳۱ و ۳۸، تمام پرندگان مقدار 0.2 mL از سوسپانسیون گلبول قرمز گوسفندی (SRBC) ۵٪ در بافر فسفات به صورت عضلانی (تزریق در سینه چپ) دریافت کردند. در روز ۴۵، نمونه خون از تمام پرندگان در تیوب‌های آغشته به EDTA گرفته شد. نمونه‌های خون بلافاصله بعد از خون‌گیری روی یخ نگهداری شدند و جهت جداسازی پلاسما به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌ها در دمای 8°C به مدت ۱۰ دقیقه با دور 2500 g سانتریفیوژ شدند. پلاسمای استخراج شده تا زمان سنجش عیار آنتی‌بادی‌ها در دمای 80°C - نگهداری شد. عیار آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل (IgN) با استفاده از روش ممانعت از هم‌آگلوتیناسیون (HI) سنجیده شد (Cunningham, 1971). همچنین با استفاده از روش هم‌آگلوتیناسیون میکروتیتر عیار آنتی‌بادی علیه SRBC (IgT) نیز تعیین گردید (Wegmann & Smithies, 1966). تمامی پاسخ‌های ایمنی در دو تکرار و در پالت‌های جداگانه سنجیده شدند. آمار توصیفی صفات وزن در دوره پایانی رشد و پاسخ‌های ایمنی همورال بلدرچین ژاپنی در جدول ۱ نشان داده شده است.

در پرندگان نیاز به خون‌گیری از حیوان زنده می‌باشد. در بلدرچین به دلیل جثه بسیار کوچکی که دارد، گرفتن نمونه خون کار ساده‌ای نیست و اغلب در هنگام کشتار از پرنده خون‌گیری به عمل می‌آید. از آنجایی که برای انجام تجزیه و تحلیل ژنتیکی پاسخ‌های سیستم ایمنی نیاز به تشکیل شجره می‌باشد، لذا نمونه‌گیری باید بر روی حیوان زنده انجام شود. از طرفی با توجه به محدودیت مطالعه ژنتیکی پاسخ سیستم ایمنی، گزارش‌های برآورد همبستگی ژنتیکی صفات ایمنی با سایر صفات (از جمله صفات رشد) نیز محدود می‌باشد. بر همین اساس هدف مطالعه حاضر برآورد پارامترهای ژنتیکی (وراثت‌پذیری و همبستگی ژنتیکی) صفات وزن بدن در سنین پایانی و پاسخ سیستم ایمنی همورال در بلدرچین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

داده‌های مورد استفاده در مطالعه حاضر از یک جمعیت بلدرچین ژاپنی در پژوهشکده دام‌های خاص دانشگاه زابل پرورش به دست آمد. در نسل اول، تعداد ۸۰۰ بلدرچین یک روزه با شماره بال تعیین هویت شدند. تمام بلدرچین‌ها در قفس‌های گروهی ۴۰ قطعه‌ای تا سن ۴۵ روزگی پرورش داده شدند. در سن ۲۰ روزگی، جنسیت پرنده‌ها مشخص شده و جنس‌ها از یکدیگر جدا شدند. در سن ۴۵ روزگی، تعداد ۴۰۰ پرنده (۲۰۰ پرنده نر و ۲۰۰ پرنده ماده) به صورت یک به یک برای جفت‌گیری در قفس‌های آمیزش (در مجموع ۲۰۰ قفس) در نظر گرفته شدند. تخم‌های نطفه‌دار شماره‌گذاری و ثبت شدند و از سن ۷۰ تا ۸۰ روزگی جهت تجدید نسل جمع‌آوری گردیدند. تخم‌ها پس از جمع‌آوری ضدعفونی شده و در اتاق نگهداری تخم قرار داده شدند. برای ایجاد نسل بعد، ۵ روز بعد از آغاز جمع‌آوری تخم در دو نوبت تخم‌ها درون دستگاه جوجه‌کشی قرار داده شدند. جوجه‌های یک روزه بلافاصله پس از خروج از تخم شماره‌بالی دریافت کردند. فرایند فوق برای سه نسل تکرار شد. پرنده‌ها در طی دوره رشد (تا سن ۴۵ روزگی) جیره‌ای شامل 255 g/kg پروتئین خام و $12/3 \text{ MJ/kg}$ انرژی متابولیسمی دریافت نمودند. در دوره تخم‌گذاری،

با ۲۰۰۰۰۰۰۰ تکرار تولیدشده و ۵۰۰۰۰ نمونه اول به‌عنوان دور سوخته کنار گذاشته شد. همگرایی رسیدن نمونه با استفاده از نرم‌افزار Msztal, 2012; Geweke,) POSTGIBBSF90 (1992) انجام گرفت.

نتایج و بحث

برآورد وراثت‌پذیری، همبستگی‌های ژنتیکی و همبستگی‌های فنوتیپی صفات وزن بدن در دوره پایانی رشد در جدول ۲ نشان داده شده است. دامنه برآورد وراثت‌پذیری‌ها در حد متوسط بود و بیشترین و کمترین برآورد به ترتیب مربوط به صفت BW35 (۰/۴۰۶) و BW40 (۰/۳۰۳) بود. به‌طور کلی همه همبستگی‌های ژنتیکی برآورد شده بین اوزان بدن در دوره پایانی رشد بالا برآورد شد (دامنه ۰/۷۵۳ تا ۰/۹۲۹). همچنین با افزایش فاصله سنی حیوانات، یک روند نزولی بین همبستگی‌های ژنتیکی و فنوتیپی مشاهده شد. چنانچه مشاهده می‌شود مقدار برآوردهای همبستگی فنوتیپی از برآورد ژنتیکی متناظر کمتر بودند.

جدول ۲. برآورد وراثت‌پذیری \pm انحراف استاندارد (اعداد برجسته روی قطر)، همبستگی‌های ژنتیکی (بالای قطر) و همبستگی فنوتیپی (پایین قطر) صفات اوزان بدن در دوره پایانی رشد (۲۵ تا ۴۵ روزگی) در بلدرچین ژاپنی

Table 2. Estimates of heritabilities \pm SD (bold on diagonal), genetic correlations \pm SD (above diagonal) and phenotypic correlations \pm SD (below diagonal) for body weight traits at late growth period in Japanese quail

Traits	BW25	BW30	BW35	BW40	BW45
BW25	0.390 \pm 0.106	0.909 \pm 0.251	0.896 \pm 0.229	0.839 \pm 0.235	0.753 \pm 0.212
BW30	0.748 \pm 0.211	0.406 \pm 0.128	0.911 \pm 0.288	0.881 \pm 0.209	0.809 \pm 0.249
BW35	0.704 \pm 0.201	0.867 \pm 0.228	0.437 \pm 0.107	0.921 \pm 0.241	0.883 \pm 0.237
BW40	0.621 \pm 0.168	0.714 \pm 0.213	0.845 \pm 0.225	0.303 \pm 0.099	0.929 \pm 0.228
BW45	0.547 \pm 0.121	0.643 \pm 0.185	0.786 \pm 0.204	0.887 \pm 0.212	0.310 \pm 0.101

* BW25, BW30, BW35, BW40 and BW45 were the body weights of the birds at days 25, 30, 35, 40 and 45 of age, respectively. در سنین ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰ و ۴۵ روزگی هستند.

در یک مطالعه، وراثت‌پذیری وزن ۲۸ روزگی در سه سویه بلدرچین ژاپنی شامل سفید، وحشی کانادایی و قهوه‌ای به ترتیب ۰/۳۳، ۰/۴۳ و ۰/۴۶

جدول ۱. آمار توصیفی صفات وزن بدن و متوسط افزایش وزن بدن در دوره پایانی رشد و پاسخ‌های سیستم ایمنی همورال در بلدرچین ژاپنی

Table 1. Descriptive statistics growth traits at late ages and humoral immune responses of Japanese quail

Traits	N	Mean \pm SD	Minimum	Maximum
BW25	963	74.91 \pm 56.32	21.17	227.11
BW30	915	93.86 \pm 76.77	28.12	267.22
BW35	886	196.66 \pm 104.67	40.34	304.35
BW40	858	227.42 \pm 119.39	48.43	345.64
BW45	814	251.92 \pm 130.98	62.96	367.14
BWG25-30	915	7.49 \pm 4.60	0.14	42.99
BWG30-35	886	6.96 \pm 4.20	0.22	40.92
BWG35-40	858	5.74 \pm 3.88	0.04	37.92
BWG40-45	814	4.67 \pm 3.35	0.22	24.40
IgT	591	3.61 \pm 1.62	0.50	11.00
IgN	541	8.24 \pm 2.15	1.50	12.00

BW نشان‌دهنده وزن بدن (گرم)؛ BWG نشان دهنده افزایش وزن بدن (گرم)؛ IgT و IgN عبار آنتی‌بادی علیه به ترتیب SRBC و واکسن نیوکاسل می‌باشند.

BW is body weight (g); BWG is body weight gain (g); IgT and IgN are total antibody titer against SRBC and NDV, respectively.

برای برآورد پارامترهای ژنتیکی صفات وزن بدن و پاسخ سیستم ایمنی همورال و افزایش وزن بدن و پاسخ سیستم ایمنی همورال در دو مرحله از تجزیه و تحلیل چند صفته به کمک روش نمونه‌گیری گیبس توسط نرم‌افزار GIBBS2f90 (Misztal, 2012) استفاده شد. مدل حیوانی چند صفته مورد استفاده به صورت زیر بود (رابطه ۱):

$$y_i = X_i b_i + Z_i a_i + e_i \quad (1)$$

در این مدل، بردار مشاهدات برای آمین مشاهده صفات رشد و ایمنی است؛ b_i بردار اثرات ثابت (جنس، نسل و هج) برای آمین صفت؛ a_i بردار اثر تصادفی ژنتیک افزایشی برای آمین صفت؛ X_i و Z_i ماتریس‌های طرح هستند که مشاهدات را به ترتیب به اثرات ثابت و تصادفی مرتبط می‌کنند؛ و e_i بردار اثرات تصادفی باقیمانده هستند. ساختار کوواریانس اثرات تصادفی به شکل رابطه ۲ می‌باشد:

$$\text{var} \begin{bmatrix} \mathbf{a} \\ \mathbf{e} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{G} \otimes \mathbf{A} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{R} \otimes \mathbf{I}_N \end{bmatrix}, \quad (2)$$

در این رابطه، \mathbf{G} ، \mathbf{A} ، \mathbf{R} و \mathbf{I} به ترتیب عبارت از (کو)واریانس مربوط به اثرات ژنتیکی افزایشی مستقیم، ماتریس طرح، ماتریس (کو)واریانس باقیمانده و ماتریس واحد می‌باشند. همچنین، \otimes ضرب کرونگر و \mathbf{N} تعداد حیوانات دارای رکورد می‌باشد. زنجیره گیبس

رشد در بلدرچین ژاپنی صرفاً با در نظر گرفتن صفات رشد به نظر می‌رسد وزن بدن در سن ۳۰ روزگی به عنوان معیار انتخاب در نظر گرفته شود (همبستگی $ADG_{30-45} = 0.809$). در یک مطالعه بر روی بلدرچین تیپ گوشتی در برزیل نیز وزن ۲۸ روزگی به دلیل همبستگی بالا با وزن ۴۲ روزگی عنوان معیار انتخاب در نظر گرفته شد (Barbieri et al., 2015).

جدول ۳ مقادیر وراثت‌پذیری، همبستگی‌های ژنتیکی و همبستگی‌های فنوتیپی صفات متوسط افزایش وزن بدن در دوره پایانی رشد را نشان می‌دهد. مقادیر وراثت‌پذیری برای صفات متوسط افزایش وزن نسبت به صفات وزن بدن کمتر بوده و در دامنه 0.053 (ADG40-45) تا 0.338 (ADG30-35) بود. برخلاف وزن بدن در دوره پایانی رشد، برای صفات متوسط افزایش وزن بدن در دوره پایانی رشد با افزایش دوره سنی (از ۲۵-۳۰ روزگی تا ۴۰-۴۵ روزگی) روندی مشاهده نشد. کمترین مقدار همبستگی ژنتیکی معادل 0.729 (بین ADG30-35 و ADG35-40) و بیشترین همبستگی ژنتیکی معادل 0.896 (بین ADG30-35 و ADG40-45) برآورد شد. همبستگی‌های فنوتیپی بسیار کمتر از همبستگی ژنتیکی برآورد شدند.

در بسیاری از مطالعات صفت متوسط افزایش وزن روزانه (ADG) به‌عنوان یک پیش‌نیاز برای محاسبه صفات بازده مصرف خوراک مورد بررسی قرار می‌گیرد و کمتر برآوردهای ژنتیکی برای آن گزارش شده است (Mohammadi-Tighsiah et al., 2018). در مطالعه حاضر با افزایش دوره سنی بین برآوردهای صفات ADG مختلف روندی مشاهده نشد.

برآورد شد (Shokoohmand et al., 2007). برآورد وراثت‌پذیری برای BW30 (0/406) در مطالعه حاضر در دامنه برآورد شده در سه سویه مورد مطالعه مذکور بود. برآوردهای وراثت‌پذیری وزن ۴۲ روزگی برای سویه سفید (0/72)، وحشی کانادایی (0/48) و قهوه‌ای (0/50) بالاتر از برآورد وراثت‌پذیری صفات BW40 (0/303) و BW45 (0/310) در مطالعه حاضر بود. همچنین آنها برای همبستگی ژنتیکی بین BW28 و BW42 برآوردهای بالایی گزارش نمودند (0/97 تا 0/99) (Shokoohmand et al., 2007)، که بالاتر از برآوردهای مطالعه حاضر بود. در مطالعه دیگری بر روی بلدرچین ژاپنی وراثت‌پذیری مستقیم برای صفات اوزان بدن در سنین ۲۸، ۳۵ و ۴۲ روزگی به ترتیب 0/19، 0/13 و 0/15 برآورد شد که کمتر از برآوردهای متناظر در مطالعه حاضر بود (Saatci et al., 2006)؛ که می‌تواند به دلیل منظورکردن اثر ژنتیکی مادری در آن مطالعه باشد. آنها همبستگی ژنتیکی افزایشی بین صفات وزن بدن در دوره پایانی رشد را در دامنه 0/79 تا 0/94 برآورد کردند (Saatci et al., 2006)، که مشابه مطالعه حاضر بود.

در برنامه‌های اصلاح نژادی رکوردبرداری همواره توأم با افزایش هزینه به سیستم پرورش است. از طرفی، با توجه به این‌که در جمعیت‌های بلدرچین که به منظور تولید گوشت پرورش داده می‌شوند، هدف نهایی افزایش وزن بدن در سن کشتار (BW45) می‌باشد، لذا هرچه انتخاب پرندگان در سنین پایین‌تری امکان‌پذیر باشد، از نظر اقتصادی مقرون به صرفه‌تر خواهد بود. در مطالعه حاضر با توجه به همبستگی بالای بین صفات وزن بدن در دوره پایانی

جدول ۳. برآورد وراثت‌پذیری \pm انحراف استاندارد (اعداد برجسته روی قطر)، همبستگی‌های ژنتیکی \pm انحراف استاندارد (بالای قطر) و همبستگی فنوتیپی \pm انحراف استاندارد (پایین قطر) صفات متوسط افزایش وزن روزانه در دوره پایانی رشد (۲۵ تا ۴۵ روزگی) در بلدرچین ژاپنی

Trait	ADG25-30	ADG30-35	ADG35-40	ADG40-45
ADG25-30 [*]	0.102 \pm 0.031	0.829 \pm 0.242	0.893 \pm 0.260	0.818 \pm 0.242
ADG30-35	0.410 \pm 0.133	0.338 \pm 0.105	0.729 \pm 0.206	0.896 \pm 0.237
ADG35-40	0.267 \pm 0.056	0.157 \pm 0.036	0.128 \pm 0.042	0.791 \pm 0.204
ADG40-45	0.156 \pm 0.038	0.121 \pm 0.033	0.092 \pm 0.028	0.053 \pm 0.015

* ADG25-30، ADG30-35، ADG35-40، ADG40-45 به ترتیب متوسط افزایش وزن بدن پرندگان در سنین ۲۵-۳۰، ۳۰-۳۵، ۳۵-۴۰ و ۴۰-۴۵ روزگی است.
* ADG25-30، ADG30-35، ADG35-40، ADG40-45 were average daily gain of the birds at 25-30, 30-35, 35-40 and 40-45 days of old, respectively.

لاین H (۱۸ نسل انتخاب برای پاسخ بالا به SRBC) و لاین کنترل به ترتیب ۰/۲۷۶، ۰/۱۵۱ و ۰/۲۰۳ برآورد شد (Bovenhuis *et al.*, 2002). در یک مطالعه بر روی مرغان بومی آفریقایی برآورد وراثت‌پذیری عیار آنتی‌بادی علیه SRBC معادل ۰/۲۲ گزارش شد (Lwelamira, 2012). در مطالعه دیگری بر روی مرغان بومی آفریقا نیز برآوردها در حد کمتر از متوسط (۰/۲۷ تا ۰/۲۹) گزارش گردید.

در مطالعات اندکی در بلدرچین همبستگی ژنتیکی پاسخ‌های ایمنی همورال علیه آنتی‌ژن‌های مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است (Mohammadi-*Tighsiah et al.*, 2018). با وجود این برخی گزارشات برای لاین‌های آزمایشی مرغ (Bovenhuis *et al.*, 2002; Sarker *et al.*, 1999; Wijga *et al.*, 2009) تخمگذار (Bao *et al.*, 2016; Buitenhuis *et al.*, 2004; Sun *et al.*, 2013; van der Klein *et al.*, 2015) می‌باشد. علی‌رغم ارتباط ژنتیکی، به‌طور کلی می‌توان عملکرد سیستم ایمنی همورال را به دو بخش ذاتی (Bao *et al.*, 2016) و اکتسابی (Mohammadi-*Tighsiah et al.*, 2018) تفکیک نمود. عوامل متعددی در تعیین عیار آنتی‌بادی‌ها به‌طور طبیعی یا در پاسخ به آنتی‌ژن‌ها/پاتوژن‌ها موثرند. به همین دلیل تنوع قابل ملاحظه‌ای در برآورد پارامترهای ژنتیکی مربوط به صفات ایمنی مشاهده می‌گردد. به عنوان نمونه در یک مطالعه بر روی مرغان تخم‌گذار، برآورد همبستگی ژنتیکی عیار ایمونوگلوبولین‌های M و G از ۰/۰۰ تا ۰/۹۴ متغیر بود (Bao *et al.*, 2016). در این مطالعه، دلیل تفاوت‌های مشاهده شده به تفاوت در روش‌های تعیین عیار آنتی‌بادی‌ها نسبت داده شده است.

برآورد همبستگی ژنتیکی و فنوتیپی پاسخ‌های ایمنی همورال و صفات اوزان بدن در دوره پایانی رشد در بلدرچین ژاپنی در جدول ۴ نشان داده شده است. تمامی همبستگی‌های ژنتیکی در دامنه کم تا متوسط و با علامت منفی برآورد شدند. بیشترین همبستگی ژنتیکی بین IgN و BW35 (۰/۴۴۲-) و کمترین برآورد بین IgT و BW25 (۰/۲۱۳-) بود. تمامی همبستگی‌های فنوتیپی کم و منفی برآورد شدند و به‌طور کلی کمتر از همبستگی‌های ژنتیکی بودند.

در یک مطالعه، برآورد وراثت‌پذیری مستقیم برای ADG22-28 معادل ۰/۴۵ برآورد شد که بالاتر از برآورد صفات متناظر در مطالعه حاضر بود (Aggrey & Cheng, 1994). همچنین در مطالعه اخیر همبستگی ژنتیکی بین صفات ADG15-21 و ADG22-28 کمتر از ۱۵ درصد برآورد شد. به‌طور کلی وراثت‌پذیری صفات متوسط افزایش وزن بدن (ADG) در دوره پایانی رشد در بلدرچین ژاپنی در مطالعه حاضر کمتر از وراثت‌پذیری وزن بدن (BW) در دوره پایانی برآورد گردید. وراثت‌پذیری پایین (۰/۰۵۳) برای متوسط افزایش وزن بدن در روزهای انتهایی (بین سنین ۴۰ تا ۴۵ روزگی: ADG40-45) نشان می‌دهد که در پایان دوره پرورش، عوامل محیطی نقش بسزایی در تعیین سرعت رشد پرنده دارند. وراثت‌پذیری صفات وزن بدن در سنین ۴۰ (BW40) و ۴۵ (BW45) روزگی به ترتیب ۰/۳۰۳ و ۰/۳۱۰ برآورد شد (تقریباً ۶ برابر بزرگ‌تر از ADG40-45)، که نشان می‌دهد صفات وزن بدن و متوسط افزایش وزن بدن از نظر ژنتیکی صفات مستقلی هستند. با توجه به تنوع الگوی منحنی رشد در افراد مختلف، همان‌طور که انتظار می‌رفت، در مطالعه حاضر میزان وراثت‌پذیری صفت افزایش وزن نسبت به صفت وزن پایین‌تر بود. به این ترتیب، تفاوت‌های موجود در الگوی رشد در افراد مختلف می‌تواند منجر به ایجاد تنوع در وزن‌های اولیه و در نتیجه در محاسبه افزایش وزن بدن شود. بنابراین، توجه به تفاوت‌های الگوی رشد و وزن اولیه در هر دوره در مدل‌های برازش پارامترهای ژنتیکی افزایش وزن بدن توصیه می‌شود.

وراثت‌پذیری پاسخ ایمنی همورال \pm انحراف استاندارد علیه SRBC و NDV به ترتیب ۰/۱۱۷ \pm ۰/۲۵۲ و ۰/۰۱۴ \pm ۰/۰۱۵ برآورد شد. همچنین همبستگی‌های ژنتیکی و فنوتیپی بین این دو پاسخ ایمنی ۰/۴۵۱ \pm ۰/۵۷۴ و ۰/۰۴۳ \pm ۰/۱۱۸ برآورد گردید. در تشابه با برآورد وراثت‌پذیری IgT در مطالعه حاضر (۰/۲۵۲)، در یک مطالعه بر مبنای انتخاب بر مبنای پاسخ به چالش با SRBC، وراثت‌پذیری عیار آنتی‌بادی علیه SRBC در سه لاین L (۱۸ نسل انتخاب برای پاسخ پایین به SRBC)،

سیستم ایمنی پرندگان می‌شود (Siegel & Honaker, 2009). تاکنون همبستگی ژنتیکی صفات وزن در مراحل پایانی رشد بلدرچین با پاسخ‌های ایمنی همورال گزارش نشده است. از مقادیر منفی برای همبستگی‌های ژنتیکی بین صفات اوزان بدن در دوره پایانی رشد و پاسخ‌های ایمنی همورال، چنین برمی‌آید که انتخاب برای وزن بدن در سنین پایانی منجر به افت عملکرد سیستم ایمنی گردد.

برآورد همبستگی ژنتیکی و فنوتیپی پاسخ‌های ایمنی همورال و صفات متوسط افزایش اوزان بدن در دوره پایانی رشد در بلدرچین ژاپنی در جدول ۵ نشان داده شده است. برآورد همبستگی‌های ژنتیکی در دامنه کم تا متوسط قرار داشت و بیشترین همبستگی ژنتیکی $-0/483$ (بین IgT و ADG35-40) و کمترین همبستگی ژنتیکی $-0/276$ (بین IgN و ADG25-30) برآورد شد.

جدول ۵. همبستگی ژنتیکی و فنوتیپی (\pm انحراف استاندارد) بین پاسخ‌های ایمنی همورال و متوسط صفات افزایش وزن

روزانه در دوره پایانی رشد در بلدرچین ژاپنی

Table 5. Genetic and phenotypic correlations (\pm SD) between humoral immune responses and average daily gain at late growth period in Japanese quail

Trait 1	Trait 2	$r_p \pm SD$	$r_a \pm SD$
IgT	ADG25-30	-0.261 ± 0.048	-0.316 ± 0.160
	ADG30-35	-0.224 ± 0.042	-0.436 ± 0.227
	ADG35-40	-0.148 ± 0.039	-0.483 ± 0.208
	ADG40-45	-0.170 ± 0.043	-0.406 ± 0.209
	ADG25-30	-0.129 ± 0.045	-0.276 ± 0.117
IgN	ADG30-35	-0.030 ± 0.049	-0.329 ± 0.176
	ADG35-40	-0.044 ± 0.039	-0.319 ± 0.152
	ADG40-45	-0.048 ± 0.051	-0.387 ± 0.118

* IgT و IgN عبار آنتی‌بادی علیه به ترتیب SRBC و واکسن نیوکاسل می‌باشند. ADG25-30، ADG30-35، ADG35-40 و ADG40-45 به ترتیب متوسط افزایش وزن بدن پرندگان در سنین ۲۵-۳۰، ۳۰-۳۵، ۳۵-۴۰ و ۴۰-۴۵ روزگی است.

* IgT and IgN are total antibody titer against SRBC and NDV, respectively. ADG25-30, ADG30-35, ADG35-40, ADG40-45 were average daily gain of the birds at 25-30, 30-35, 35-40 and 40-45 days of old, respectively.

مطالعات کمی بر روی برآورد همبستگی ژنتیکی صفات ایمنی و صفات رشد در پرندگان انجام شده است (Mohammadi-Tighsiah *et al.*, 2018; Ori *et al.*, 2014). با وجود این که در مطالعه Mohammadi-Tighsiah *et al.* (2018) صفات وزن در سنین اولیه مورد بررسی قرار گرفته بود، همبستگی ژنتیکی

به‌طور کلی با افزایش سن همبستگی‌های ژنتیکی و فنوتیپی از روند مشخصی تبعیت نداشتند. با توجه به این که میزان پاسخ به دو آنتی‌ژن SRBC و NDV در سن ۴۵ روزگی اندازه‌گیری شده است، لذا انتظار می‌رود چنانچه رابطه‌ای بین وزن بدن در سنین پایانی و پاسخ سیستم ایمنی وجود داشته باشد، بیشترین همبستگی با وزن ۴۵ روزگی باشد. البته بنا بر نتایج تحقیق پاسخ ایمنی اندازه‌گیری شده در روز ۴۵ با وزن روزهای قبل از اندازه‌گیری نیز همبستگی دارد اما میزان همبستگی پاسخ سیستم ایمنی در هر روز با وزن همان روز مشخص نیست. بنابراین دلیل این که همبستگی کمتری بین وزن در روزهای ۲۵ و ۳۰ با میزان پاسخ سیستم ایمنی در روز ۴۵ دیده می‌شود، ممکن است به همبستگی پایین‌تر وزن این روزها با وزن ۴۵ روزگی مرتبط باشد.

جدول ۴. همبستگی ژنتیکی و فنوتیپی (\pm انحراف استاندارد) پاسخ‌های ایمنی همورال و صفات اوزان بدن در دوره پایانی رشد در بلدرچین ژاپنی

Table 4. Genetic and phenotypic correlations (\pm SD) between humoral immune responses and body weight traits at late growth period in Japanese quail

Trait 1	Trait 2	$r_p \pm SD$	$r_a \pm SD$
IgT*	BW25	-0.140 ± 0.062	-0.213 ± 0.187
	BW30	-0.206 ± 0.068	-0.226 ± 0.174
	BW35	-0.245 ± 0.081	-0.297 ± 0.199
	BW40	-0.236 ± 0.088	-0.252 ± 0.187
	BW45	-0.228 ± 0.071	-0.280 ± 0.183
IgN	BW25	-0.118 ± 0.042	-0.267 ± 0.194
	BW30	-0.107 ± 0.038	-0.235 ± 0.188
	BW35	-0.101 ± 0.046	-0.442 ± 0.229
	BW40	-0.136 ± 0.049	-0.275 ± 0.152
	BW45	-0.119 ± 0.055	-0.415 ± 0.240

* IgT و IgN عبار آنتی‌بادی علیه به ترتیب SRBC و واکسن نیوکاسل می‌باشند. BW25، BW30، BW35، BW40 و BW45 به ترتیب اوزان بدن پرنده‌ها در سنین ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰ و ۴۵ روزگی هستند.

* IgT and IgN are total antibody titer against SRBC and NDV, respectively. BW25, BW30, BW35, BW40 and BW45 were the body weights of the birds at days 25, 30, 35, 40 and 45 of age, respectively.

در یک مطالعه بر روی دو اکوتیپ مرغ بومی کشور تانزانیا، همبستگی اوزان بدن با IgN در سنین پایانی رشد (BW112 و BW140) بسیار کم و منفی (دامنه $-0/02$ تا $-0/10$) برآورد شد (Lwelamira, 2012; Lwelamira *et al.*, 2009) که کمتر از برآوردهای مطالعه حاضر بود. با توجه به تئوری تخصیص منبع، توجه و تمرکز بر صفات رشد موجب تضعیف عملکرد

همبستگی منفی بین پاسخ ایمنی و وزن، برای جلوگیری از کاهش مقاومت به بیماری‌ها با انتخاب صرفاً برای وزن بیشتر بدن، پیشنهاد می‌شود به هر دو صفت وزن و ایمنی توجه شده و شاخص انتخاب مناسبی تعیین شود. با توجه به همبستگی نسبتاً پایین صفت BW30 با پاسخ‌های ایمنی همورال ($IgN-BW30 = -0/235$ و $IgT-BW30 = -0/226$)، وراثت‌پذیری متوسط این صفت ($0/406$) و همچنین همبستگی بالای آن با BW45 ($0/809$)، صفت BW30 به عنوان معیار انتخاب برای افزایش عملکرد رشد در بلدرچین ژاپنی پیشنهاد می‌گردد.

افزایشی بین صفات ADG و IgN مثبت و از $0/23$ تا $0/31$ برآورد گردید. هرچند همبستگی صفات ADG در دوره پایانی رشد در مطالعه حاضر با IgN منفی برآورد شد، اما بجز همبستگی بین $IgN-ADG25-30$ سایر برآوردها بسیار کم بودند ($5\% >$).

نتیجه‌گیری

از نتایج مطالعه حاضر چنین برمی‌آید که انتخاب بر مبنای وزن بدن در سنین پایین‌تر (نزدیک به نقطه عطف) می‌تواند موجب بهبود ژنتیکی وزن بدن در زمان کشتار (BW45) شود. همچنین با توجه به

REFERENCES

1. Aggrey, S. E. & Cheng, K. M. (1994). Animal model analysis of genetic (co)variances for growth traits in Japanese quail. *Poultry Science*, 73, 1822-1828.
2. Bao, M., Bovenhuis, H., Nieuwland, M. G., Parmentier, H. K. & van der Poel, J. J. (2016). Genetic parameters of IgM and IgG antibodies binding autoantigens in healthy chickens. *Poultry Science*, 95, 458-465.
3. Barbieri, A., Ono, R. K., Cursino, L. L., Farah, M. M., Pires, M. P., Bertipaglia, T. S., Pires, A. V., Cavani, L., Carreno, L. O. & Fonseca, R. (2015). Genetic parameters for body weight in meat quail. *Poultry Science*, 94, 169-171.
4. Bovenhuis, H., Bralten, H., Nieuwland, M. G. & Parmentier, H. K. (2002). Genetic parameters for antibody response of chickens to sheep red blood cells based on a selection experiment. *Poultry Science*, 81, 309-315.
5. Buitenhuis, A. J., Rodenburg, T. B., Wissink, P. H., Visscher, J., Koene, P., Bovenhuis, H., Ducro, B. J. & van der Poel, J. J. (2004). Genetic and phenotypic correlations between feather pecking behavior, stress response, immune response, and egg quality traits in laying hens. *Poultry Science*, 83, 1077-1082.
6. Cunningham, C. H. (1971). *Virologia Practica*, 6th edn. Acricbia, Zaragoza, pp. 260.
7. Dunnington, E. A., Honaker, C. F., McGilliard, M. L. & Siegel, P. B. (2013). Phenotypic responses of chickens to long-term, bidirectional selection for juvenile body weight-historical perspective. *Poultry Science*, 92, 1724-1734.
8. Faraji-Arough, H., Rokouei, M., Maghsoudi, A. & Ghazaghi, M. (2018). Comparative study of growth patterns in seven strains of Japanese quail using nonlinear regression modeling. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 42, 441-451.
9. Faraji-Arough, H., Rokouei, M., Maghsoudi, A. & Mehri, M. (2019). Evaluation of Non-linear Growth Curves Models for Native Slow-growing Khazak Chickens. *Poultry Science Journal*, 7, 25-32.
10. Geweke, J. (1992). *Evaluating the accuracy of sampling-based approaches to the calculation of posterior moments*. In: J. M. Bernardo, J. O. Berger, A. P. Dawid & A. F. M. Smith (eds.) *Bayesian statistics* No. 4. p 169-193. Oxford Univ. Press, Oxford, UK.
11. Ghorbani, S., Tahmoorespur, M., Maghsoudi, A. & Abdollahi-Arpanahi, R. (2013). Estimates of (co)variance components for production and reproduction traits with different models in Fars native fowls. *Livestock Science*, 151, 115-123.
12. Gous, R. M. & Cherry, P. (2004). Effects of body weight at, and lighting regimen and growth curve to, 20 weeks on laying performance in broiler breeders. *British Poultry Science*, 45, 445-452.
13. Iranmanesh, M., Esmailzadeh, A., Mohammad Abadi, M. R., Zand, E., Mokhtari, M. S. & Wu, D. D. (2016). A molecular genome scan to identify DNA segments associated with live weight in Japanese quail. *Molecular Biology Reports*, 43, 1267-1272.
14. Khaldari, M., Pakdel, A., Mehrabani Yeganeh, H., Nejati Javaremi, A. & Berg, P. (2010). Response to selection and genetic parameters of body and carcass weights in Japanese quail selected for 4-week body weight. *Poultry Science*, 89, 1834-1841.
15. Labaque, M. C., Martella, M. B., Maestri, D. M. & Navarro, J. L. (2013). The influence of diet composition on egg and chick traits in captive Greater Rhea females. *British Poultry Science*, 54, 374-380.

16. Lwelamira, J. (2012). Phenotypic and genetic parameters for body weights and antibody response against Newcastle disease virus (NDV) vaccine for Kuchi chicken ecotype of Tanzania under extensive management. *Tropical Animal Health and Production*, 44, 1529-1534.
17. Lwelamira, J., Kifaro, G. C. & Gwakisa, P. S. (2009). Genetic parameters for body weights, egg traits and antibody response against Newcastle Disease Virus (NDV) vaccine among two Tanzania chicken ecotypes. *Tropical Animal Health and Production*, 41, 51-59.
18. Misztal, I. (2012). BLUPF90 - a flexible mixed model program in Fortran 90.
19. Mohammadabadi, M. R., Nikbakhti, M., Mirzaee, H. R., Shandi, A., Saghi, D. A., Romanov, M. N. & Moiseyeva, I. G. (2010). Genetic variability in three native Iranian chicken populations of the Khorasan province based on microsatellite markers. *Russian Journal of Genetics*, 46, 505-509.
20. Mohammadi-Tighsiah, A., Maghsoudi, A., Bagherzadeh-Kasmani, F., Rokouei, M. & Faraji-Arough, H. (2018). Bayesian analysis of genetic parameters for early growth traits and humoral immune responses in Japanese quail. *Livestock Science*, 216, 197-202.
21. Narinc, D., Karaman, E. & Aksoy, T. (2014). Effects of slaughter age and mass selection on slaughter and carcass characteristics in 2 lines of Japanese quail. *Poultry Science*, 93, 762-769.
22. Nasirifar, E., Talebi, M., Esmailzadeh, A. K., Moradian, H., Sohrabi, S. S. & Askari, N. (2016). A chromosome-wide QTL mapping on chromosome 2 to identify loci affecting live weight and carcass traits in F2 population of Japanese quail. *Czech Journal of Animal Science*, 61, 290-297.
23. Ori, R. J., Esmailzadeh, A. K., Charati, H., Mohammadabadi, M. R. & Sohrabi, S. S. (2014). Identification of QTL for live weight and growth rate using DNA markers on chromosome 3 in an F2 population of Japanese quail. *Molecular Biology Reports*, 41, 1049-1057.
24. Saatci, M., Omed, H. & Ap Dewi, I. (2006). Genetic parameters from univariate and bivariate analyses of egg and weight traits in Japanese quail. *Poultry Science*, 85, 185-190.
25. Sarker, N., Tsudzuki, M., Nishibori, M. & Yamamoto, Y. (1999). Direct and correlated response to divergent selection for serum immunoglobulin M and G levels in chickens. *Poultry Science*, 78, 1-7.
26. Shokoohmand, M., Emam Jomeh Kashan, N. & Emami Maybody, M. A. (2007). Estimation of heritability and genetic correlations of body weight in different age for three strains of Japanese quail. *International Journal of Agricultural Biology*, 9(6), 945-947.
27. Siegel, P. B. & Honaker, C. F. (2009). Impact of genetic selection for growth and immunity on resource allocations. *The Journal of Applied Poultry Research*, 18, 125-130.
28. Sohrabi, S. S., Esmailzadeh, A. K., Baghizadeh, A., Moradian, H., Mohammadabadi, M. R., 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.
29. Sun, Y., Ellen, E. D., Parmentier, H. K. & van der Poel, J. J. (2013). Genetic parameters of natural antibody isotypes and survival analysis in beak-trimmed and non-beak-trimmed crossbred laying hens. *Poultry Science*, 92, 2024-2033.
30. van der Klein, S. A., Berghof, T. V., Arts, J. A., Parmentier, H. K., van der Poel, J. J. & Bovenhuis, H. (2015). Genetic relations between natural antibodies binding keyhole limpet hemocyanin and production traits in a purebred layer chicken line. *Poultry Science*, 94, 875-882.
31. Wegmann, T. G. & Smithies, O. (1966). A Simple hemagglutination system requiring small amounts of red cells and antibodies. *Transfusion*, 6, 67-73.
32. Wijga, S., Parmentier, H. K., Nieuwland, M. G. & Bovenhuis, H. (2009). Genetic parameters for levels of natural antibodies in chicken lines divergently selected for specific antibody response. *Poultry Science*, 88, 1805-1810.
33. Yunis, R., Ben-David, A., Heller, E. D. & Cahaner, A. (2002). Antibody responses and morbidity following infection with infectious bronchitis virus and challenge with *Escherichia coli*, in lines divergently selected on antibody response. *Poultry Science*, 81, 149-159.