

Scanning genomic signatures of selection Turkoman and Thoroughbred horse breeds

Milad Hosseini 

Ph.D. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail address: milad.hosseiny88@gmail.com

Hossein Moradi Shahrabak 

*Corresponding author. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail address: hmoradis@ut.ac.ir

Abstract

Objective

When continuous selection is carried out over years, it creates effects on the genome level, which can be detected by using some strategies. This study was carried out with the aim of scanning the whole genome to identify regions of the genome in Thoroughbred and Turkoman horses that have been targeted by natural or artificial selection.

Materials and methods

DNA was extracted from blood samples using the optimal salt method. The quality and quantity of extracted DNA of all samples was determined by nanodrop device with absorption ratio on DNA solution. For this purpose, 44 Thoroughbred horses and 67 Turkoman horses were genotyped by genomic arrays of 60k SNP chips. By two general methods of population differentiation and linkage disequilibrium methods, the selection signatures at the genome level were looked into. In order to identify the population genetic structure of the studied animals, principal component analysis was done in R program.

Results

The study of population differentiation using the fixation index method (F_{st}) corrected for the sample size (θ) showed that there are evidences of selection in several loci in these two breeds. A number of five genomic regions were identified in which there were signatures of selection. These areas are located on chromosomes 4, 5, 10, 13 and 15. In order to evaluate the signatures of

selection based on linkage disequilibrium methods, the extended haplotype homozygosity test (EHH) was used. The results confirmed the existence of population segregation in these genomic regions. Finally, the investigation of QTLs in the bovine orthologous regions showed that these regions are related to the traits of body length, body weight, chest depth and other important economic traits in horses.

Conclusions

The present research was effective in identifying regions of the genome of the two breeds of Turkoman and Thoroughbred horses being divergently selected, and identifying the genes that exist in these regions. Also, useful information was obtained on the existence of genetic diversity and signatures of selection between these two horse breeds.

Keywords: Genomic scanning, Selection signature, Thoroughbred horse, Turkoman horse, Segregating population

Paper Type: Research Paper.

Citation Hosseini M, Moradi-Shahrbabak H (2024) Scanning genomic signatures of selection Turkoman and thoroughbred horse breeds. *Agricultural Biotechnology Journal* 16 (1), 69-86.

Agricultural Biotechnology Journal 16 (1), 69-86.

DOI: 10.22103/jab.2023.21201.1469

Received: September 23, 2023.

Received in revised form: December 10, 2023.

Accepted: December 11, 2023.

Published online: February 20, 2024.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant



Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian
Biotechnology Society.

© the authors

پویش ژنومی نشانه‌های انتخاب واگرا بین نژادهای اسب ترکمن و ترورد

سیدمیلاد حسینی ^{ID}

دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: milad.hosseiny88@gmail.com

حسین مرادی شهراباک ^{ID}

*نویسنده مسئول: دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: hmoradis@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۰۱ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۲/۰۹/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۲۰

چکیده

هدف: انتخاب طی سالیان متمادی موجب بروز تغییراتی در سطح ژنوم می‌شود که این ردپاها با بکارگیری روش‌های مولکولی نسل جدید قابل شناسایی می‌باشند. این مطالعه با هدف پویش کل ژنوم برای شناسایی مناطقی از ژنوم در اسب‌های ترورد و ترکمن که هدف انتخاب‌های طبیعی یا مصنوعی قرار گرفته‌اند، انجام شد.

مواد و روش‌ها: استخراج DNA از نمونه‌های خون با استفاده از روش بهینه نمکی انجام شد. کیفیت و کمیت DNA استخراج شده ی تمام نمونه‌ها توسط دستگاه نانودراپ با نسبت جذبی روی محلول DNA تعیین شد. تعداد ۴۴ راس اسب نژاد ترورد و تعداد ۶۷ راس اسب نژاد ترکمن بوسیله آرایه‌های ژنومی 60k SNP Chips تعیین ژنوتایپ و با استفاده از دو روش کلی تمایز جمعیتی و روش‌های عدم تعادل پیوستگی، نشانه‌های انتخاب در سطح ژنوم پیگیری شدند. جهت شناسایی ساختار ژنتیکی جمعیتی حیوانات و نژادهای مورد مطالعه و شناسایی نمونه‌هایی که خارج از گروه نژادی خود قرار گرفتند، آنالیز مولفه‌های اصلی در محیط برنامه R صورت گرفت.

نتایج: بررسی تمایز جمعیتی با استفاده از روش شاخص تثبیت (Fst) تصحیح شده برای اندازه نمونه (θ) نشان داد که در چندین مکان ژنی شواهدی از انتخاب در این دو نژاد وجود دارد. نشانه‌های انتخاب در پنج ناحیه ژنومی شناسایی شد. این نواحی بر روی کروموزوم‌های شماره‌ی ۴، ۵، ۱۰، ۱۳ و ۱۵ قرار داشتند. به منظور ارزیابی نشانه‌های انتخاب بر پایه روش‌های عدم تعادل پیوستگی از آزمون هموزیگوسیتی هاپلوتایپی بسط داده شده، استفاده شد. نتایج این آزمون، وجود تفرق جمعیتی در این مناطق ژنومی را تایید کرد. در نهایت بررسی QTLها در مناطق اورتولوگوس گاوی نشان داد که این مناطق با صفات طول بدن، وزن بدن، عمق سینه و دیگر صفات مهم اقتصادی در اسب ارتباط دارند.

نتیجه‌گیری: تحقیق حاضر در شناسایی مناطقی از ژنوم دو نژاد اسب ترکمن و ترابرد که به صورت واگرا تحت انتخاب قرار گرفته‌اند و شناسایی ژن‌هایی که در این مناطق وجود دارند مؤثر بود. همچنین، اطلاعات مفیدی از وجود تنوع ژنتیکی و نشانه‌های انتخاب بین این دو نژاد اسب حاصل شد.

کلیدواژه‌ها: پویش ژنومی، نشانه‌های انتخاب، اسب ترکمن، اسب ترابرد، تفرق جمعیتی.

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: حسینی میلاد، مرادی‌شهربابک حسین (۱۴۰۲) پویش ژنومی نشانه‌های انتخاب واگرا بین نژادهای اسب ترکمن و ترابرد. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۶(۱)، ۶۹-۸۶.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant



Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian
Biotechnology Society.

© the authors

مقدمه

اسب حیوانی است که همواره نقش مهمی در زندگی انسان داشته است و بسیاری از موفقیت‌ها در امورات نظامی، کشاورزی، حمل و نقل و ورزشی مرهون این حیوان نجیب بوده است. بررسی تاریخی تمدن‌ها بدون در نظر گرفتن نقش اسب امری ناممکن است. اسب ترکمن و ترابرد همواره از شناخته شده‌ترین نژادها می‌باشند. از این نژادها به دلیل سرعت و چابکی‌شان در مسابقات سوارکاری و پرش استفاده می‌شود. منطقه زیست اسب ترکمن، تابع پراکنندگی ایل ترکمن و در نواحی شرق دریای خزر و گرگان بوده و سرزمین ترکمن صحرا در ایران و ترکمنستان زادگاه امروزی آن است. اسب ترکمن بنا به مقتضای شرایط اقلیمی و کوچ‌گری ترکمنان دارای سه تیره اصلی برای دو استفاده مختلف به نام‌های آخال تکه (به منظور تهاجم و شرکت در نبرد) و یموت (به منظور جابه‌جایی و کوچ‌گری) و چناران می‌باشد. از تیره‌های دیگر اسب ترکمن، یتیمچه، حبیب‌ایشان، ساریچه‌کور، آرتق‌قلیچ و غیره را نیز می‌توان نام برد که همگی با تغییرات جزئی و اقلیمی در یکی از دو تیره نامبرده جای گرفته‌اند. اسب ترکمن آسیبی است که دارای ویژگی‌های منحصر به فردی از جمله قد ۱۴۸ تا ۱۵۵ سانتیمتر، گوش‌های بلند و متحرک، سینه فراخ و متناسب، کپل کم شیب با عرض خوب، مفاصل قوی، سم‌های محکم با زاویه مناسب و تحمل حرکات سنگین ورزشی می‌باشد (Ghorbani 2014). ترابرد نژادی از اسب است که بیشتر به خاطر استفاده از آن در مسابقات سوارکاری شناخته شده است. ترابرد نژادی خونگرم می‌باشد و به جسارت، سرعت و چابکی مشهور می‌باشد.

(Ghorbani 2014). پیشرفت‌های اخیر در زمینه‌ی ژنتیک مولکولی، بخصوص در ایجاد تراشه‌های اسنپ^۱ جهت تعیین ژنوتایپ هم‌زمان تعداد زیادی از نشانگرهای چند شکلی تک نوکلئوتیدی^۲ (SNP) بستر مناسبی برای افزایش درک بشر از معماری ژنتیکی صفات پیچیده، انتخاب ژنومی، مطالعات پیوستگی در سطح ژنوم و همچنین برر سی نشانه‌های انتخاب در حیوانات مزرعه فراهم کرده است (Masoudzadeh et al. 2020; Asadollahpour et al. 2021). استفاده از نشانگرهای ژنتیکی در انتخاب و اصلاح نژاد به طور گسترده پی‌شرفت ژنتیکی را تسریع می‌کند (Mohamadipoor Saadatabadi et al. 2021; Jafari et al. 2021; Ahmadabadi et al. 2023; Mohamadipoor Saadatabadi et al. 2021). از طرفی مطالعه ساختار ژنتیکی نژادهای بومی برای حفاظت از منابع ژنتیکی لازم و ضروری است (Shokri et al. 2023; Safaei et al. 2022). به طور کلی در بیشتر کشورهای جهان هدف از اصلاح نژاد سودآوری از طریق بهبود یک یا چند صفت اقتصادی در جامعه است (Mohammadifar and Mohammadabadi 2011; Shahsavari et al. 2022). این بهبود می‌تواند از طریق انتخاب حیوانات برتر به عنوان والدین نسل آینده بر اساس شایستگی ژنتیکی آنها برای صفات مورد نظر صورت گیرد (Amiri et al. 2021; Roudbar et al. 2018; Arabpour et al. 2021). همگام با افزایش پیشرفت‌های ژنتیکی، حفظ تنوع ژنتیکی یک جمعیت برای اطمینان از پاسخ به انتخاب بلند مدت، یک وظیفه مهم برنامه‌های اصلاح نژادی است (Amiri Roudbar et al. 2017; Mohammadabadi et al. 2021). برنامه‌های اصلاح نژادی بیشتر در جهت بهبود وضعیت تولیدی حیوانات اهلی عمل می‌کنند که توفیق این برنامه‌ها به مقدار تنوع ژنتیکی موجود در گله‌ها بستگی دارد (Mohammadabadi 2016). انتخاب در جهت افزایش فراوانی جهش‌های جدیدی که در برخی زیر جمعیت‌ها مفید هستند باعث باقی ماندن نشانه‌هایی در سطح ژنوم می‌شود. این نشانه‌ها از طریق برر سی طیف فراوانی آلی و عدم تعادل پیوستگی^۳ (LD) قابل شناسایی هستند (Biswas & Akey 2006). استفاده از این روش‌ها در طی چند سال اخیر به یکی از رایج‌ترین و کارآمدترین تکنیک‌ها در شناسایی مناطق ژنومی موثر بر صفات کمی در حوزه‌های مختلف ژنتیک از جمله ژنتیک دامی تبدیل شده است. زیرا این مناطق اغلب با QTL^۴های مرتبط با صفات مهم اقتصادی در ارتباط هستند. هنگامی که یک الل هدف انتخاب مثبت قرار می‌گیرد، باعث ایجاد نشانه‌هایی در سطح ژنوم می‌گردد. این نشانه‌ها شامل کاهش تنوع ژنتیکی، انحراف از توزیع فراوانی آلی^۵ و افزایش عدم تعادل لینکاژی و توسعه ساختار هاپلوتایپی^۶ می‌باشد (Qanbari et al. 2014). با وجود اینکه روش‌های موجود برای شناسایی نشانه‌های انتخاب بر روی داده‌های ژنومی در فرض‌ها و اجرا متفاوت است و همبستگی‌های ضعیفی بین آنها مورد انتظار است،

1 SNP Chip

2 Single nucleotide polymorphisms

3 Linkage Disequilibrium

4 Quantitative Trait Loci

6 Site Frequency Spectrum

7 Haplotype Structure

8 Selective sweep

ولی مناطقی که با روش‌های مختلف تحت عنوان نشانه‌های انتخاب شناسایی می‌شوند، شواهد قوی دال بر وجود انتخاب در این نواحی هستند (Utsunomiya et al. 2013). به تغییر الگوی تنوع ژنتیکی و LD در جایگاه‌های مرتبط با یک جهش سودمند در طی انتخاب مثبت روبش کاملاً گزینشی^۸ می‌گویند. شناسایی این مناطق ژنومی با توجه به این‌که عمدتاً با ژن‌های عمده اثر و صفات مهم اقتصادی همراه هستند دارای اهمیت زیادی می‌باشد و می‌توانند منابع اطلاعاتی مناسبی را برای اجرای تحقیقات بعدی فراهم آورند (Hayes 2008; MacEachern 2009). از مزایای اصلی روش‌های مولکولی شناسایی نشانه‌های انتخاب این است که اجرای آن‌ها تنها با استفاده از اطلاعات حاصل از داده‌های ژنومی و در غیاب رکوردهای فنوتیپی نیز وجود دارد. وقتی یک جهش مطلوب در یک جمعیت رخ می‌دهد فراوانی این آلل در آن جمعیت در طی نسل‌های بعدی افزایش پیدا می‌کند. به این دلیل که DNA ترکیب خطی از مولکول‌ها است و نیز احتمال نوترکیبی نسبت معکوس با فاصله ژنی بین دو نقطه دارد. بنابراین فراوانی نوکلئوتیدهای مجاور جهش مطلوب نیز افزایش پیدا می‌کند. این اتفاق باعث باقی ماندن نشانه‌هایی در سطح ژنوم می‌شود که به‌وسیله‌ی توزیع معنی‌دار آماری نوکلئوتیدها در مجاورت جهش مطلوب مشخص می‌شود (Sabeti 2006). هدف از انجام این تحقیق شناسایی مناطقی از ژنوم دو نژاد اسب ترکمن و تروربرد که به صورت واگرا تحت انتخاب قرار گرفته‌اند و همچنین شناسایی ژن‌هایی که در این مناطق ژنومی وجود دارند، بود.

مواد و روش‌ها

این طرح بر اساس اطلاعات دام‌های تعیین ژنوتایپ شده با تراشه‌های چند شکلی تک نوکلئوتیدی (SNP chips, 60k) روی دو نژاد تروربرد و ترکمن بترتیب با تعداد ۴۴ و ۶۷ راس توسط شرکت دانش بنیان سایننا گستر البرز و نظارت مرکز اصلاح نژاد و بهبود تولیدات دامی کشور انجام شد. در این تحقیق برای شناسایی و تهیه نمونه‌های نژاد اسب ترکمن با هماهنگی کارشناسان جهاد کشاورزی استان گلستان و اسبداران این استان و تحت نظارت مرکز اصلاح دام و بهبود تولیدات دامی کشور اسب‌هایی که بر اساس شجره‌ی ثبت شده‌ی آن‌ها دارای بیشترین خلوص نژادی بودند انتخاب شدند و مراحل انجام نمونه‌گیری از دام‌های تعیین شده ثبت گردید. لازم به ذکر است که داده‌های مورد نیاز جمعیت اسب تروربرد حاصل از داده‌های تعیین ژنوتایپ شده توسط دانشگاه کنتاکی می‌باشد. نمونه‌های خون از ورید زیر دمی اسب تهیه گردید. استخراج DNA از خون با استفاده از روش بهینه نمکی (Grimberg et al. 1989) توسط شرکت دانش بنیان سایننا گستر البرز انجام گرفت. تعیین کمیت و کیفیت DNA به وسیله‌ی دستگاه نانودراپ و ژل آگارز ۱/۲ درصد صورت گرفت. و سپس نمونه‌ها برای تعیین ژنوتایپ به شرکت افیمتریکس ارسال شد. در این آزمایشگاه قبل از تعیین ژنوتایپ، دوباره کمیت نمونه‌ها بررسی شد. تعیین ژنوتایپ نمونه‌ها با استفاده از آرایه‌های 60k مربوط به شرکت افیمتریکس (Affymetrix) صورت گرفت. برای اطمینان از بالابودن کیفیت داده‌های مورد استفاده در آنالیزهای بعدی، با اعمال فیلترها داده‌های با کیفیت پایین و داده‌های دارای اطلاعات کم حذف شدند. این بخش با نرم افزار

Plink انجام گرفت (Purcell 2007). به همین منظور فاکتور SNP-CR (درصدی از نمونه‌ها که برای آن مارکر ژنوتایپ شده‌اند) برای هر SNP محاسبه شد. SNPهایی که دارای نرخ فراخوانی کمتر از ۹۵٪ بودند، حذف شدند (Barendes 2009). همچنین برای حیواناتی که در مجموع بیش از ۹ درصد ژنوتایپ از دست رفته داشتند نیز حذف شدند. سپس SNPهایی که سطح معنی‌داری تعادل هاردی-واینبرگ برای آن‌ها کمتر از مقدار مشخص شده بود ($10^{-6} \times 1$)، کنار گذاشته شدند. سطح معنی‌داری به عنوان معیاری از احتمال خطای تعیین ژنوتایپ در نظر گرفته می‌شود (Teo 2007). جهت شناسایی بهتر سیگنال‌های انتخاب در سطح ژنوم به جای در نظر گرفتن ارزش عددی هر SNP از میانگین‌گیری ارزش‌های عددی SNPهای مجاور به روش Creeping Window (CW) با طول ۳۰۰ کیلو جفت باز استفاده شد (Qanbari 2012). جهت مطالعه در خصوص ساختار جمعیتی حیوانات و نژادهای مورد مطالعه و شناسایی حیوانات خارج از نژاد مورد نظر، آنالیز مؤلفه‌های اصلی Principal Component Analysis در محیط R صورت گرفت (شکل ۱).

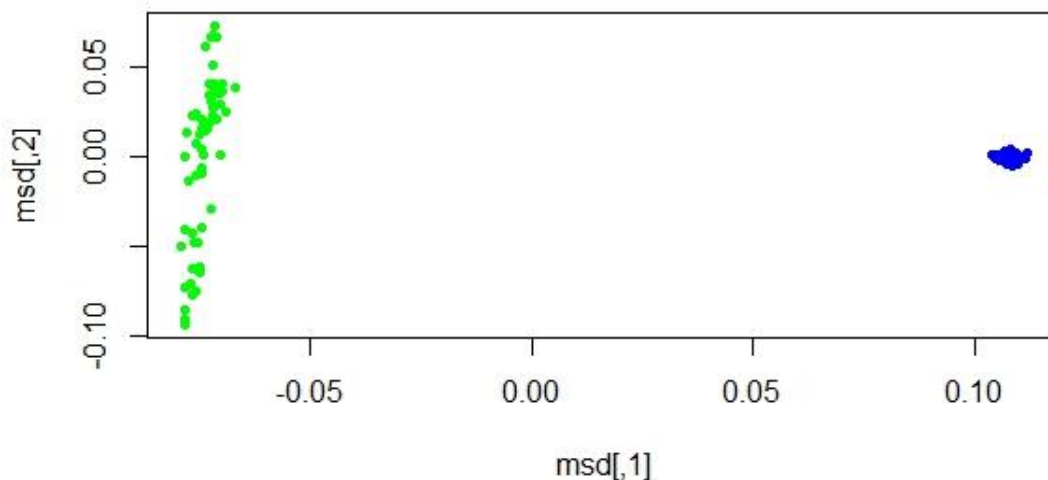
جهت بررسی الگوی ژنومیکی انتخاب مثبت در دو جمعیت اسب‌های تروبرد و ترکمن، ارزش‌های FST برای هر SNP به روش ناریب تتا و در محیط R محاسبه گردید (Weir & Cockerham 1984). مزیت این روش به روش پایه‌ای FST که توسط رایب ارائه شده، این است که در روش تتا اندازه نمونه‌ها در فرمول لحاظ گردیده و در واقع خطای نمونه‌گیری در نظر گرفته شد (Weir & Cockerham 1984). با توجه به اینکه این روش ناریب است، احتمال به دست آمدن ارزش‌های منفی نیز وجود دارد (Akey 2002). تنها ۰/۱ درصد مناطقی ژنوم که در آن تمام نشانگرهای مجاور ارزش بالایی داشتند، به عنوان نشانه‌های انتخاب شناسایی و تعیین شدند. حد آستانه در نظر گرفته شده سخت‌گیرانه بود و فقط مناطقی که بیشترین تمایز جمعیتی را بین دو نژاد نشان دادند، انتخاب شدند. این حد آستانه در مطالعات مختلف از ۰/۰۱ درصد (Moradi 2012) تا ۲/۵ درصد (Ghanbari 2014) متغیر بود.

جهت مشاهده نشانه‌های انتخاب، گراف منهتن پلات به وسیله نرم افزار Haploview رسم شد (شکل ۲). در این تحقیق برای تعیین فازهای هاپلوتیپی در جایگاه‌های ژنومی حامل سیگنال‌های انتخاب از برنامه PHASE v.2.1 (Stephens 2001) استفاده شد، که بر پایه روش‌های آماری بیزین استوار است. پس هاپلوتیپ‌های حاصل به عنوان فایل ورودی در برنامه Sweep v1.1 (Sabeti 2002) به کار برده شدند. از این برنامه جهت محاسبه EHH⁵ استفاده شد. این برنامه پس از محاسبه آماره EHH، از این آماره جهت رسم بلوک‌های شاخه‌بندی هاپلوتیپی استفاده می‌کند. جهت بررسی QTLهای احتمالی گزارش شده در گاو در مناطق ژنومی مورد نظر، ابتدا توالی ژنومی اسب در این ناحیه در فاصله‌ای که SNPها در صدک ۹۹/۹۹ بالای ارزش تتا واقع شده بودند به دست آمد. سپس توالی‌های اورتولوگوس بر روی ژنوم گاو با استفاده از جستجوی BLAT در پایگاه اطلاعاتی UCSC Genome Browser شناسایی شد. BLAT یک روش سریع برای یافتن توالی‌هایی با مشابهت ۹۵٪ یا

بیشتر در سطح ژنوم گونه‌های مختلف می‌باشد. در مرحله بعد برای بررسی این که آیا مناطق مورد نظر با QTL‌های شناسایی شده در مناطق اورتولوگوس گاوهای شیری و گوشتی همپوشانی دارد یا خیر، در مرکز اطلاعاتی آنلاین QTL شامل <http://www.animalgenome.org/QTLdb/cattle> مورد بررسی قرار گرفتند.

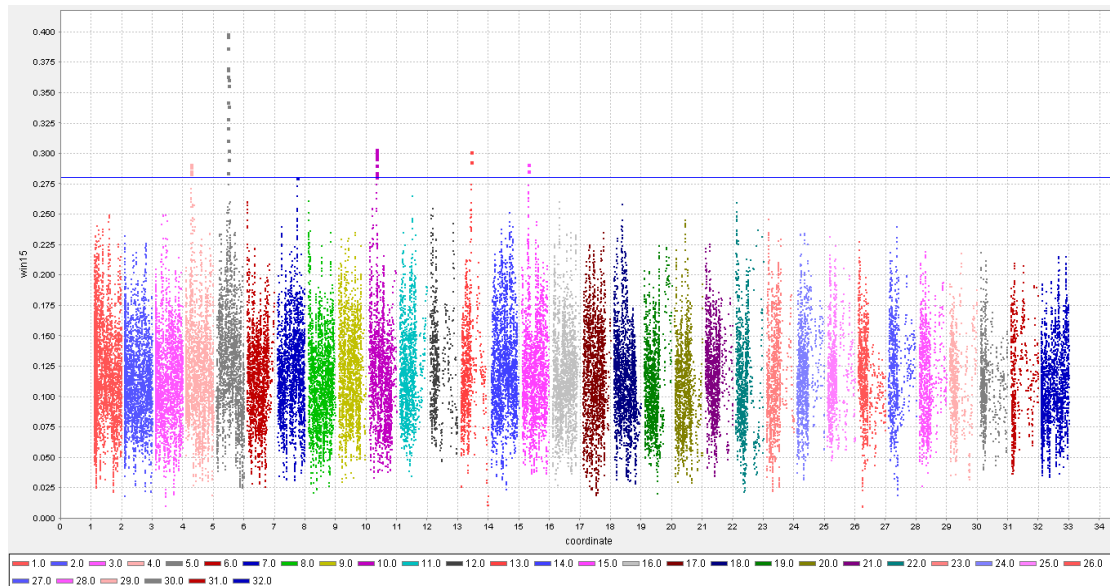
نتایج و بحث

پس از مراحل مختلف فیلتراسیون بر روی داده‌ها در مجموع ۱۱۱ حیوان از ۲ جمعیت (تعداد ۷۶ حیوان نژاد ترکمن و ۴۴ حیوان نژاد تروبرد) مورد مطالعه این مرحله از فیلتراسیون را گذراندند (جدول ۱). ساختار جمعیتی ۲ نژاد اسب تروبرد و ترکمن در محیط R بررسی شد. نتایج این بررسی نشان دهنده این نکته بود که این دو نژاد به صورت کاملاً مجزا از یکدیگر قرار گرفتند و هیچ نقطه همپوشانی بین آن‌ها وجود نداشت (شکل ۱). جهت شناسایی بهتر نشانه‌های انتخاب در سطح ژنوم به جای در نظر گرفتن ارزش عددی هر SNP از میانگین‌گیری ارزش‌های عددی SNP‌های مجاور به روش CW استفاده گردید و تنها ۰/۱ درصد مناطقی از ژنوم که در آن تمام نشانگرهای مجاور دارای ارزش بالایی باشند، به عنوان نشانه‌های انتخاب شناسایی و تعیین شدند (شکل ۲). حد آستانه در نظر گرفته شده سخت‌گیرانه بود و فقط مناطقی که بیشترین تمایز جمعیتی را در بین ۲ نژاد نشان می‌دهند، انتخاب شدند. در نهایت ۵ جایگاه بر روی ژنوم جهت بررسی‌های بعدی انتخاب شدند که بالاتر از حد آستانه بودند.



شکل ۱. آنالیز PCA مربوط به نژادهای اسب تروبرد (آبی) و ترکمن (سبز) با استفاده از اطلاعات نشانگری SNP از سطح ژنوم

Figure 1. PCA analysis of Thoroughbred horse breeds (blue) and Turkoman (green) using SNP marker information from the genome



شکل ۲. تصویر منتهن پلات مربوط به ارزش های میانگین گیری شده FST مقایسه بین نژادهای اسب تروبرد و ترکمن را نشان می‌دهد. خط آبی نشان دهنده حد آستانه است و نقاط بالای خط نشان دهنده نقاطی از ژنوم که به صورت واگرا بین دو نژاد تحت انتخاب قرار گرفته‌اند

Figure 2. The image of the Manhattan plot related to the averaged values of FST shows the comparison between Thoroughbred and Turkoman horse breeds. The blue line indicates the threshold limit and the points above the line indicate the points of the genome being divergently selected between the two breeds

بر اساس تئوری Hitchhiking انتخاب در جهت افزایش فراوانی جهش‌های سودمند در نژادهای مختلف باعث می‌شود در برخی از مناطق ژنوم یک آلل نه تنها دارای فراوانی بالا باشد بلکه دارای LD در یک دامنه طولانی هم باشد در حالی که، بر اساس تئوری خنثی انتظار می‌رود که نوترکیبی در طی مدت افزایش فراوانی در مناطق مجاور آلل جدید باعث شکستن LD شود (Sabeti 2006). بر اساس تئوری خنثی که توسط کیمورا (Kimura 1985) ارائه شد اکثر جهش‌های ایجاد شده در سطح ژنوم از دیدگاه انتخابی خنثی هستند. جهش‌های خنثی به جهش‌هایی گفته می‌شود که تاثیری روی شایستگی ژنتیکی افراد ندارند. در این حالت واریانت‌های جدید یا از بین می‌روند و یا به مدت زمان طولانی برای افزایش فراوانی در جمعیت نیاز دارند که در طی این زمان به دلیل وجود نوترکیبی، LD موجود در اطراف این واریانت‌ها به صورت عمده کاهش می‌یابد که از غالب شدن یک هاپلوتیپ خاص در جامعه جلوگیری می‌کند. در نتیجه در این حالت آلل‌های رایج مشاهده شده در سطح ژنوم عموماً قدیمی و دارای عدم تعادل پیوستگی در یک دامنه‌ی کوتاه هستند در حالی که آلل‌هایی با فراوانی کم می‌توانند جدید یا قدیمی بوده و با عدم تعادل لینکاژی در یک دامنه‌ی کوتاه یا طولانی مدت همراه باشند (Sabeti 2002). در این تحقیق جهت بررسی LD در مناطق

ژنومی مورد نظر از آماره EHH استفاده شد. این آماره ابزار قدرتمندی است که فرسایش LD در اطراف منطقه ژنومی کاندیدای انتخاب را با ارزیابی خصوصیات هاپلوئیدی در داخل یک جمعیت مورد بررسی قرار می‌دهد (Sabeti 2002).

جدول ۱. کنترل کیفیت داده‌های ژنومی مربوط به اسب‌های نژاد تروبرد و ترکمن

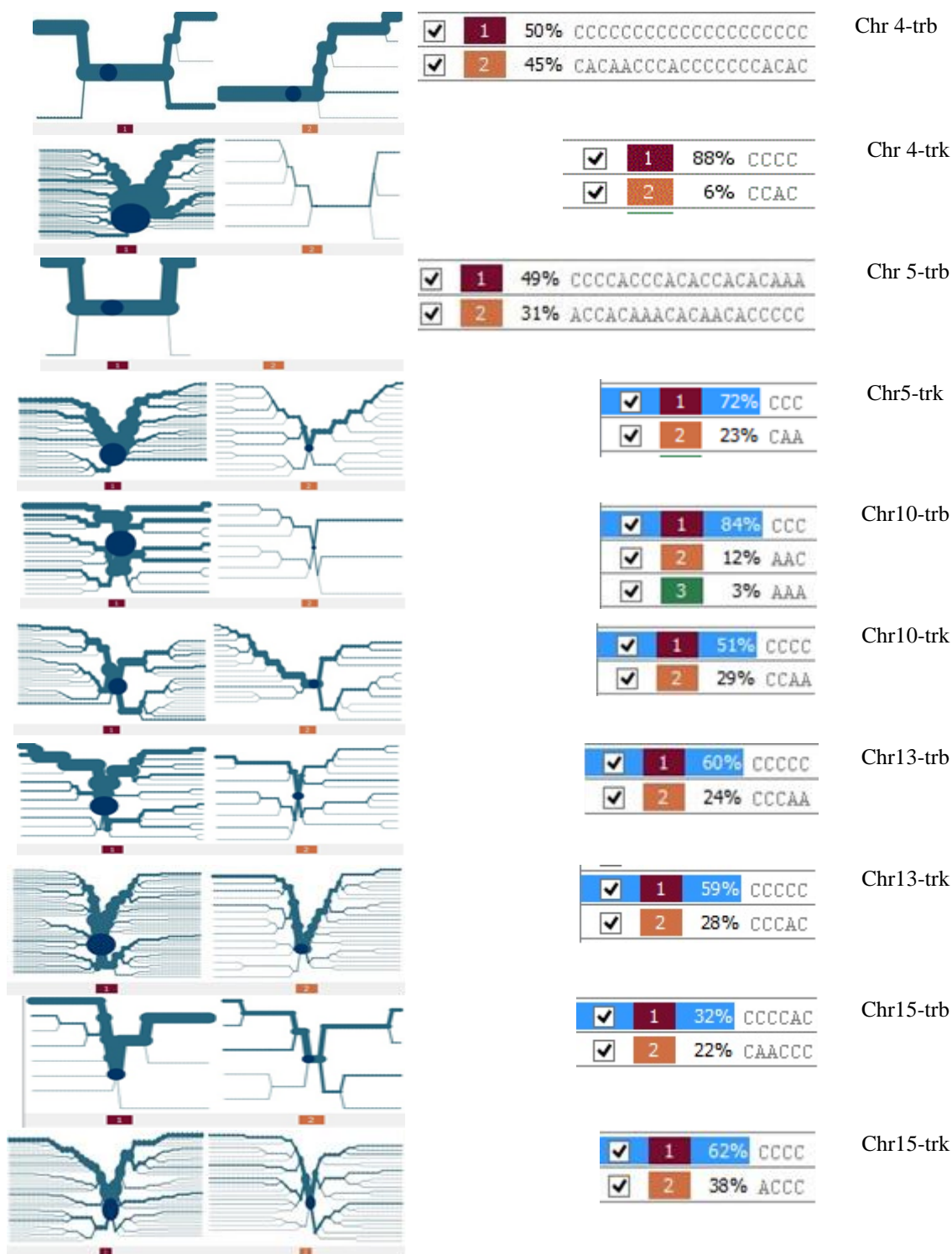
Table 1. Quality control of genomic data related to Thoroughbred and Turkoman breed horses

تروبرد	ترکمن	جمعیت population
Thoroughbred	Turkoman	
44	67	تعداد حیوانات هر جمعیت (Number of animal in populations)
59349	59349	تعداد کل نشانگرها قبل از کنترل کیفیت (Number of markers before quality control)
118	118	تعداد SNPها با فراوانی آلل نادر کمتر از ۰/۰۱ (The number of SNPs with rare allele frequency less than 0.01)
704	704	تعداد SNPهای خارج از تعادل هاردی-وینبرگ (The number of SNPs discharge the Hardy Weinberg equilibrium)
6493	6493	تعداد SNPها با نرخ ژنوتیپ گم شده بیشتر از ۰/۰۵ The number of SNPs with a missing genotype rate greater than 0.05
0	3	تعداد SNPها با نرخ ژنوتیپ گم شده ۰/۰۹ The number of animals with a missing genotype rate of 0.09
0.954566	0.954566	نرخ ژنوتایپینگ در افراد باقیمانده (Genotyping rate in the remaining sample)
52036	52036	تعداد کل SNPها بعد از کنترل کیفیت (Number of SNPs after quality control)

نتایج بررسی پارامتر EHH به وسیله برنامه SWEEP نشان داد که هاپلوتایپ (cccc) و (ccc) به ترتیب در منطقه ژنومی کروموزوم ۴ و ۵ در نژاد ترکمن دارای فراوانی بالا (۸۸٪ و ۷۲٪) می‌باشند همچنین در این مناطق شاهد فرسایش LD بالا می‌باشیم. جایگاه‌هایی که دارای فراوانی بالا و همچنین EHH بالایی در مجاور آلل انتخابی باشند هدف انتخاب‌های مثبت بوده و به خصوص در دام‌ها، که علاوه بر انتخاب طبیعی تحت انتخاب مصنوعی نیز قرار دارند می‌توانند جزء جایگاه‌های کاندیدا برای ژن‌های عمده‌اثر باشند (Hayes 2008). در حالی که در منطقه ژنومی کروموزوم ۱۰ در نژاد تروبرد پدیده مشابهی صورت گرفته است (هاپلوتایپ CCC با فراوانی ۸۴٪). بررسی مناطق ژنومی ۴ و ۵ در نژاد تروبرد نشان داد که آلل‌های مجاور در فاصله

طولانی‌تری نسبت به نژاد ترکمن قرار دارد. در کروموزوم ۴، ۵ و ۱۵ نژاد ترابورد میزان فرسایش LD بسیار کم و طول هاپلوتایپ بسط داده شده زیاد می‌باشد. در این مناطق میزان هموزایگوسیتی بالا است. در مناطق ژنومی ۱۰ و ۱۳ نژاد ترابورد فراوانی هاپلوتایپی بسط داده شده بالا و میزان فرسایش LD کمی بیشتر از ۳ جایگاه دیگر بود. اما در نژاد ترکمن شکست LD در تمامی مناطق ژنومی بسیار زیاد و طول هاپلوتایپ‌های بسط داده شده کم بود که نشانه‌ای است از تنوع و هتروزیگوسیتی بالا در این نژاد می‌باشد. به طور کلی می‌توان گفت نتایج حاصل به خوبی تفرق جمعیتی در این مناطق ژنومی در این نژادها را نشان می‌دهد و بیانگر این است که انتخاب در این مناطق ژنومی منجر به تمایز این دو نژاد در صفات منحصر به فرد آن‌ها شده است. با توجه به اینکه تراکم SNPها برای بررسی‌های EHH کم است، نتایج بررسی این آماره برای کل ژنوم قدرت بالایی نداشته و نمی‌تواند به عنوان آنالیز مبنا باشد ولی جهت تایید آنالیز تتا برای جایگاه‌های محدودی از ژنوم از این آماره استفاده شد. البته به دلیل اینکه اساس این روش‌ها از هم‌دیگر متفاوت است (آماره تتا بر اساس تفاوت فراوانی آلل‌ها در یک لوکوس مشابه بین دو جمعیت و روش‌های بر پایه LD بر اساس طول هاپلوتایپ‌ها و میزان شکست LD، مناطق انتخابی با استفاده از روش تتا لزوماً مشابه روش‌های مبتنی بر LD نخواهد بود ولی در صورت تایید نتایج با استفاده از این آماره، نتایج از اطمینان بیشتری برخوردار خواهند بود. بررسی‌ها بر روی مناطق ژنومی انتخابی که در آن‌ها پیک مشاهده شده بود، صورت گرفت و نتایج آن ارائه شد (شکل ۳). این شکل شکستن عدم تعادل لینکاژی و افزایش فاصله از آلل‌های انتخابی به عنوان هسته مرکزی را نشان می‌دهد. قطر هر شاخه بیانگر تعداد نمونه‌هایی است که دارای هاپلوتایپ‌های مشابهی هستند.

در این مطالعه به منظور بدست آوردن QTL‌های شناسایی شده در مناطق ژنومی مورد نظر در اسب، به دلیل اینکه تحقیقات انجام شده در گاو بسیار کامل‌تر از اسب بوده است، این بررسی به وسیله مناطق ارتولوگوس در گاو انجام شد. بدین منظور مناطقی از ژنوم اسب که تحت انتخاب قرار گرفته بود بر روی ژنوم گاو BLAT شد و QTL‌های احتمالی مورد نظر به دست آمد (جدول ۲). بررسی مناطق ارتولوگوس در گاو شیری و گوشتی نشان داد که این مناطق دارای QTL‌های مرتبط با صفات اقتصادی از جمله صفات مربوط به آبستنی، وزن و طول بدن و اندازه ماهیچه‌ها و همچنین عرض سینه که در اسب یک معیار بسیار مهم برای بررسی تیپ و قدرت می‌باشند. در نهایت این تحقیق، که جزء اولین کاوش‌های ژنومیک در سطح ژنوم اسب محسوب می‌شود می‌تواند منبع اطلاعاتی با ارزشی در جهت شناسایی مناطق ژنومی کاندیدا برای بسیاری از صفات مهم اقتصادی، که یکی از مسائل چالش برانگیز در بسیاری از کشورهای پرورش دهنده این نژادها محسوب می‌شود فراهم آورد.



شکل ۳. فراوانی آللی SNPها، سیگنال انتخاب و گرافهای شاخه‌بندی هموزیگوسیتی هاپلوتایپی بسط داده شده در اطراف آنها

Figure 3. The SNP allele frequency, selection signals and the Extended Haplotype Homozygosity branching graphs around them

جدول ۲. QTL های گزارش شده در ناحیه اورتولوکوس گاوی در مناطق ژنومی

Table 2. The reported QTLs in the orthologs bovine genomic regions

شماره QTL QTL-ID	صفت مرتبط با QTL Traits associated with QTL	ژن های شناسایی شده Identified genes	انتها (جفت باز) End(bp)	شروع (جفت باز) Start(bp)	کروموزوم Chromosome
10276 10277 58767 60974	Milking speed سرعت شیردهی Milk protein پروتئین شیر فاصله بین اولین و آخرین ایستنی Interval from first to last calving	SEMA3E	28278698	27431291	4
25227 25228	Body length طول بدن Average daily weight gain میانگین افزایش وزن روزانه				
1728 12160	Muscle periphery محیط دور ماهیچه Spleen weight وزن طحال	PCLO			
25188 10713	Body weight وزن بدن Calving ease آسان زایی				
5055 25224	Milk fat چربی شیر Height ارتفاع				
20338 2442 2437 24711	Muscle periphery محیط دور ماهیچه	HIST2H2BF PEX11B ANKRD34A	48590467	47415896	5
10683 1325 20278 20442 20367	Milk fat percentage درصد چربی شیر	GJA8 BCL9 ITGA10 RNF115			
20443	Milk protein percentage درصد پروتئین شیر	CD160 PDZK1 ANKRD35 PIAS3 LIX1L RBM8A GJA5 ACP6			
20444	Body weight وزن بدن				
20263	ضخامت چربی در دنده ۱۲ Fat thickness in the 12th rib				
20382	Height ارتفاع	NUDT17 POLR3C U1			
20342 20438 31185	Muscle periphery محیط دور تار ماهیچه Cold tolerance تحمل سرما Calving ease آسان زایی	PRSS35 DOPEY1 SNAP91	37512220	36438600	10

3753	Scrotal circumference محیط اسکروتال	SNAP91 UBE3D			
10854	Milk fat چربی شیر	PGM3			
10649					
3747	Milk protein پروتئین شیر	RWDD2A			
11469	Feed intake میزان خوراک مصرفی	ME1			
1689					
66184	سطح ایمونوگلوبین جی Immunoglobulin G level				
66227	سطح ایمونوگلوبین جی Immunoglobulin G level	KNOP1	27832450	2739554	13
11205	Body weight وزن بدن	C16orf62			
66229					
11204	Calving ease آسان زایی	GDE1			
1648	Body frame ساختار بدن	TMC5			
66231	Calf muscle size اندازه ماهیچه ساق پا	TMC7			
15217		GPRC5B			
15218		CCP110 CCP110 U1			
3447	croups angle زاویه کپل		6195165	6185498	15
66186	سطح ایمونوگلوبین جی Immunoglobulin G level				
9922	Sperm motility جنبندگی اسپرم				
7095	Subcutaneous fat چربی زیر پوستی				
1302	Body weight وزن بدن				
1748	حساسیت به بیماری های عمومی Susceptibility to common diseases				
3494	Chest depth عمق سینه				
3498	croups length طول کپل				
10893	محیط تار ماهیچه environment of muscle fibers				

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که ژن‌ها و QTL‌های شناسایی شده با هم در یک راس قرار دارند. در هر صورت با توجه به اینکه این دو نژاد به شرایط محیطی مختلف آداپته شده‌اند وجود برخی از تفاوت‌ها منطقی به نظر می‌رسد. با وجود اینکه ژن‌هایی در مجاورت مناطق و SNP‌های انتخابی شناخته شدند ولی نقش بیولوژیکی برخی از این ژن‌ها شناخته شده نیست

و برای یکسری از این ژن‌ها احتمالا اثرات متقابلی نیز وجود دارد. از اطلاعات بدست آمده از این تحقیق و شناسایی نشانه‌های انتخاب می‌توان در تحقیقات بعدی در خصوص آنالیز لینکاژ مرتبط با صفات مختلف، مطالعات ریزآرایه‌ها، انتخاب ژنومیک، مطالعات تکاملی و طراحی سیستم‌های آمیزشی برای حفظ تنوع زیستی استفاده کرد. علی‌رغم اهمیت و مفید بودن این بررسی در پیشبرد کارهای اصلاحی کشور، با توجه به اینکه این بررسی جزء اولین بررسی‌ها در زمینه ترسیم نقشه ژنومی اسب است، نتایج این بررسی از دیدگاه علمی در سطح کشور و حتی دنیا دارای اهمیت زیادی است.

سپا سگزاری: در پایان لازم است از آقای دکتر محمد باقر زندگی جهت یاری در تهیه نمونه‌های اسب تروبرد از دانشگاه کنتاکی آمریکا، معاونت بهبود تولیدات دامی استان گلستان و مرکز اصلاح نژاد و بهبود تولیدات دامی کشور کمال تقدیر و تشکر به عمل آید.

منابع

- اسدالله پور نعنایی حجت، نصرتی مریم، محمدآبادی محمدرضا (۱۴۰۰) بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت اسب آخال-تکه و مقایسه آن با نژادهای دیگر با استفاده از داده‌های تعیین توالی کل ژنوم. فصلنامه ژنتیک نوین ۱۶(۴)، ۳۰۷-۲۹۹.
- عرب پور رق آبادی زهرا، محمدآبادی محمدرضا، خضری امین (۱۴۰۰) الگوی بیانی ژن p32 در بافت‌های ران، دست، راسته و چربی پشت بره کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۳(۴)، ۱۸۳-۲۰۰.
- محمدی فر آمنه، محمدآبادی محمدرضا (۱۳۹۰) کاربرد نشانگرهای ریزماهواره برای مطالعه ژنوم گوسفند کرمانی. مجله علوم دامی ایران ۴۲(۴)، ۳۳۷-۳۴۴.
- جعفری احمدآبادی سید علی اصغر، عسکری‌همت حشمت‌اله، محمدآبادی محمدرضا (۱۴۰۲) تاثیر شاهدانه بر بیان ژن DLK1 در بافت قلب بره‌های کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۵(۱)، ۲۱۷-۲۳۴.
- شکری سمیرا، خضری امین، محمدآبادی محمدرضا، خیرالدین حمید (۱۴۰۲) بررسی بیان ژن MYH7 در بافت‌های ران، دست و راسته بره‌های پرواری نژاد کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۵(۲)، ۲۱۷-۲۳۶.

References

- Akey JM, Zhang G, Zhang K, et al. (2002) Interrogating a high-density SNP map for signatures of natural selection. *Genome Res* 12, 1805-1814.
- Amiri Roudbar M, Mohammadabadi MR, Mehrgardi AA, Abdollahi-Arpanahi A (2017) Estimates of variance components due to parent-of-origin effects for body weight in Iran-Black sheep. *Small Rum Res* 149, 1-5.

- Amiri Roudbar M, Abdollahi-Arpanahi R, Ayatollahi Mehrgardi A, et al. (2018) Estimation of the variance due to parent-of-origin effects for productive and reproductive traits in Lori-Bakhtiari sheep. *Small Rumin Res* 160, 95-102.
- Arabpour Z, Mohammadabadi M, Khezri A. (2021) The expression pattern of p32 gene in femur, humeral muscle, back muscle and back fat tissues of Kermani lambs. *Agric Biotechnol J* 13 (4), 183-200 (In Persian).
- Asadollahpour HN, Nosrati M, Mohammadabadi MR. (2021) Genetic structure analysis of Akhal-Teke horse population and comparison with other horse breeds by using whole genome sequencing data. *Modern Genet J* 16(4), 299-307 (In Persian).
- Biswas S, Akey JM. (2006) Genomic insights into positive selection. *Trends Genet* 22, 437-446.
- Grimberg J, Nawoscihik S, Belluscio L, et al. (1989) A simple and efficient non-organic procedure for the isolation of genomic DNA from blood. *Nucleic Acids Res* 17, 83-90.
- Hayes BJ, Chamberlain AJ, Maceachern S, et al. (2009) A genome map of divergent artificial selection between *Bos taurus* dairy cattle and *Bos taurus* beef cattle. *Anim Genet* 40, 176-184.
- Hayes B, Lien S, Nilsen H, et al. (2008) The origin of selection signatures on bovine chromosome 6. *Anim Genet* 39, 105-111.
- Jafari Ahmadabadi SAA, Askari-Hemmat H, Mohammadabadi M, et al. (2023) The effect of Cannabis seed on DLK1 gene expression in heart tissue of Kermani lambs. *Agric Biotechnol J* 15 (1), 217-234 (In Persian).
- Kimura M (1984) The neutral theory of molecular evolution. Cambridge University Press.
- Masoudzadeh, SH, Mohammadabadi, MR, Khezri A, et al. (2020) Dlk1 gene expression in different Tissues of lamb. *Iran J Appl Anim Sci* 10, 669-677.
- Mohamadipoor Saadatabadi L, Mohammadabadi M, Amiri Ghanatsaman Z, et al. (2021) Signature selection analysis reveals candidate genes associated with production traits in Iranian sheep breeds. *BMC Vet Res* 17(1), 1-9.
- Mohamadipoor Saadatabadi L, Mohammadabadi M, Nanaei HA, et al. (2023) Unraveling candidate genes related to heat tolerance and immune response traits in some native sheep using whole genome sequencing data. *Small Rumin Res* 10, 70-18.
- Mohammadabadi M, Masoudzadeh SH, Khezri A, et al. (2021) Fennel (*Foeniculum vulgare*) seed powder increases Delta-Like Non-Canonical Notch Ligand 1 gene expression in testis, liver, and humeral muscle tissues of growing lambs. *Heliyon* 7 (12), e08542.

- Mohammadabadi MR. (2016). Inter-Simple Sequence Repeat Loci associations with predicted breeding values of body weight in Kermani sheep. *Genet 3rd Millennium* 14, 4383-4390.
- Mohammadifar A, Mohammadabadi MR. (2011) Application of Microsatellite Markers for a Study of Kermani Sheep Genome. *Iran J Anim Sci* 42 (4), 337-344 (In Persian).
- Qanbari S, Gianola D, Hayes B. (2011) Application of site and haplotype-frequency based approaches for detecting selection signatures in cattle. *BMC Genom* 12, 309-318.
- Moradi MH, Nejati-Javaremi A, Moradi-Shahrabak M, et al. (2012) Genomic scan of selective sweeps in thin and fat tail sheep breeds for identifying of candidate regions associated with fat deposition. *BMC Genet* 13, 10-19.
- MacEachern S, Hayes B, McEwan J, Goddard M. (2009) An examination of positive selection and changing effective population size in Angus and Holstein cattle populations (*Bos taurus*) using a high density SNP genotyping platform and the contribution of ancient polymorphism to genomic diversity in Domestic cattle. *BMC Genom* 10, 181-192.
- Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, et al. (2007) PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *Am J Hum Genet* 81, 559-575.
- Qanbari S, Pausch H, Jansen S, et al. (2014) Classic Selective Sweeps Revealed by Massive Sequencing in Cattle. *Plos Genet* 10, e1004148.
- Qanbari S, Strom TM, Haberer G, et al. (2012) A High Resolution Genome-Wide Scan for Significant Selective Sweeps: An Application to Pooled Sequence Data in Laying Chickens. *Plos One* 7(11), e49525.
- Safaei SMH, Dadpasand M, Mohammadabadi M, et al. (2022) An *Origanum majorana* Leaf Diet Influences Myogenin Gene Expression, Performance, and Carcass Characteristics in Lambs. *Animals* 13 (1), e14.
- Sabeti P, Reich DE, Higgins JM, et al. (2002) Detecting recent positive selection in the human genome from haplotype structure. *Nature* 419, 832-837.
- Sabeti P, Schaffner SF, Fry B, et al. (2006) Positive natural selection in the human lineage. *Science* 312, 1614-1620.
- Sabeti P, Varilly P, Fry B, et al. (2007) Genome-wide detection and characterization of positive selection in human populations. *Nature* 449, 913-918.
- Shahsavari M, Mohammadabadi M, Khezri A, et al. (2022) Effect of Fennel (*Foeniculum Vulgare*) Seed Powder Consumption on Insulin-like Growth Factor 1 Gene Expression in the Liver Tissue of Growing Lambs. *Gene Express* 21 (2), 21-26.
- The R Project for Statistical Computing: Free software environment for statistical computing and graphics. [http:// www.r-project.org/](http://www.r-project.org/).

- Teo YY, Fry AE, Clark T G, et al. (2007) On the usage of HWE for identifying genotyping errors. *Ann Hum Genet* 71, 701-703.
- Utsunomiya YT, Pe´rez O’Brien AM, Sonstegard TS, et al. (2013) Detecting Loci under Recent Positive Selection in Dairy and Beef Cattle by Combining Different Genome-Wide Scan Methods. *Plos One* 8(5), e64280.
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-Statistics for the analysis of population structure. *Evol Biol* 38, 1358-1370.