

Identification of selective signatures, detection of ROH islands and related genes associated with litter size in Zandi sheep

Hossein Mohammadi 

*Corresponding author. Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Environmental Sciences, Arak University, Arak, Iran. Email address: H-mohammadi64@araku.ac.ir

Hossein Moradi Shahrebabak 

Assistant Professor, Department of Animal Sciences, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email address: hmoradis@ut.ac.ir

Amir Hossein Khaltabadi Farahani 

Associate Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran. Email address: amfarahanikh@gmail.com

Abstract

Objective

The number of lambs per lambing is one of the key reproductive traits in sheep, and the polymorphisms located in the whole genome can partially explain the architecture and phenotypic variance of this trait with low heritability. In this regard, the locations of ROHs that are subject to positive selection or give rise to favorable alleles in the population tend to become fixed in the genome and form ROH islands over long periods of time. Furthermore, selection not only increases the frequency of new, beneficial mutations, but also preserves some signals throughout the genome. Because these regions are often economically important traits, identifying and tracking these regions is the most important issue in animal genetics.

Materials and methods

To identify selection and ROH island signatures, 81 native Zandi sheep, including productive ewes (42 animals) and others with only singleton records (39 animals), were genotyped using the Illumina Ovine SNP50 medium-density array. The unbiased statistical theta method in the R software was used to identify selection signatures. Candidate genes were identified in Ensemble 109 using BioMart software based on SNPs that were in the upper 0.1% range of theta. LD was calculated between all pairs with r^2 by PLINK software. In addition, the Rs DetectRUNS package was useful to determine the proportions of the homozygous genome and considered one percent of the highest frequency SNPs in ROH to be ROH islands.

Results

Based on the results of the obtained theta values, the genomic regions on chromosomes 1 (3 regions), 2 (2 regions), 5, 6 (2 regions), 8 (2 regions), 10 and 25 were identified. In this study, the extent of LD in this study was 40 kb with $r^2=0.2$. A total of 17 ROH islands ranging in length from 270.46 Kb to 8.25 MB associated with the trait under study and covering less than 1% of the sheep genome were identified. The ROH islands were not evenly distributed across the genome. The highest number of ROH islands was observed on chromosome 1, the lowest on chromosome 24. The candidate genes PER2, KCNH7, CLCN3, UTG8 and EPHA5 conserved these regions. Further investigation using bioinformatic tools revealed that these genome regions overlapped with genes associated with ovarian granulosa cell development, ovulation rate, lipid transport in Sertoli cells, and early fetal growth.

Conclusions

The results of this study showed that the multi-year selection processes of different sheep breeds based on economic traits led to the formation of many ROH islands in the sheep genome. Therefore, scanning these regions at the genome level could be an alternative strategy to identify genes and associated loci with economic traits. However, further association and function studies are needed to substantiate the importance of these genes.

Keywords: Native sheep, ROH Islands, Signal selection, Theta statistic.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Mohammadi H, Moradi Shahrehabak H, Khaltabadi Farahani AH (2023) Identification of selective signatures, detection of ROH islands and related genes associated with litter size in Zandi sheep. *Agricultural Biotechnology Journal* 15 (3), 277-294.

Agricultural Biotechnology Journal 15 (3), 277-294. DOI: 10.22103/jab.2023.21450.1481

Received: July 06, 2023.

Received in revised form: August 31, 2023.

Accepted: September 01, 2023.

Published online: September 30, 2023.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant




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

© the authors


ردیابی نشانه‌های انتخاب، شناسایی جزایر ژنومی همخون و ژن‌های کاندیدای

مرتبط با تعداد نتاج متعلق به یک زایش در گوسفندان بومی نژاد زندی


حسین محمدی 

*نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک، اراک، ایران. رایانامه: H-

mohammadi64@araku.ac.ir

حسین مرادی شهرابک 

استادیار گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: hmoradis@ut.ac.ir

امیرحسین خلت‌آبادی  فراهانی

دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک. رایانامه: amfarahanikh@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۱۵ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۲/۰۶/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۱۰

چکیده

هدف: صفت تعداد نتاج در یک زایش از جمله صفات کلیدی تولیدمثلی در گوسفند می‌باشد که چندشکلی‌های مستقر در کل ژنوم می‌تواند معماری و واریانس فنوتیپی این صفت با وراثت پذیری پایین را تا حدودی تبیین کند. در این راستا، قطعات هموزیگوت در کل ژنوم گوسفند که بطور مستمر تحت انتخاب هستند یا حاوی جهش‌های مطلوب‌اند، تمایل به تثبیت شدن در ژنوم دارند و در طی سال‌ها جزایر تحت عنوان، ROH را تشکیل می‌دهند. بطوریکه انتخاب در جهت افزایش فراوانی جهش‌های جدید، باعث به جا گذاشتن نشانه‌هایی در سطح ژنوم می‌شود. از آنجاییکه، این مناطق غالباً صفات مهم اقتصادی را کنترل می‌کنند، در نتیجه شناسایی این مناطق از موضوعات اساسی در مباحث ژنتیک دامی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: بدین منظور، برای شناسایی نشانه‌های انتخاب و شناسایی جزایر ژنومی ROH، در مجموع تعداد ۸۱ رأس گوسفند بومی زندی شامل میش‌های دوقلوزا (۴۲ رأس)، میش‌های تک قلوزا (۳۹ رأس) مبتنی بر آرایه‌های 50K گوسفندی تعیین ژنوتیپ شدند. جهت، شناسایی نشانه‌های انتخاب از آماره نأریب تتا بوسیله نرم‌افزار R استفاده شد. متعاقباً، ژن‌های کاندیدا با استفاده از SNP‌هایی که در بازه‌ی ۰/۱ درصد بالای ارزش تتا، واقع شده بودند با استفاده از برنامه BioMart در محیط Ensemble Genome Browser 109 شناسایی شدند. عدم تعادل پیوستگی بین تمام جفت نشانگرها با استفاده از آماره r^2 اندازه‌گیری شد.

همچنین قطعات هموزیگوت ژنومی با برنامه نرم افزاری *detectRUNS* محاسبه شد. ۱ درصد از نشانگرهای SNP با بالاترین فراوانی در قطعات هموزیگوت ژنومی بعنوان جزایر ROH در نظر گرفته شد.

نتایج: با استفاده از آماره تتا مناطق ژنومی که تفرق جمعیتی بالایی داشتند، روی کروموزوم‌های شماره ۱ (سه ناحیه)، ۲ (دو ناحیه)، ۵، ۶ (دو ناحیه)، ۸ (دو ناحیه)، ۱۰ و ۲۵ شناسایی شدند. در این مطالعه گستره مفید عدم تعادل پیوستگی در ۴۰ کیلوباز برابر با ۰/۲ = r^2 برآورد شد. در پژوهش حاضر، تعداد ۱۶ جزیره ROH با طول ۲۷۰/۴۶ کیلوبازی تا ۸/۲۵ مگا بازی مرتبط با صفت شناسایی شد. توزیع جزایر ROH در ژنوم یکنواخت نبود، بطوریکه، بیشترین و کمترین تعداد جزایر ROH به ترتیب بر روی کروموزوم‌های شماره‌های ۱ و ۲۴ مشاهده شد. بررسی ژن‌های گزارش شده در این مناطق نشان داد که در داخل یا مجاورت این نواحی، ژن‌های *EPHA5* و *UTG8*، *CLCN3*، *KCNH7*، *PER2* قرار داشتند. بررسی بیوانفورماتیکی این مناطق نشان داد، ژن‌های کاندیدای موجود در این مناطق با رشد و توسعه سلول‌های گرانولوزا، نرخ تخمک‌اندازی، انتقال لیپید به سلول‌های استروئیدی و رشد ابتدایی جنین مرتبط هستند.

نتیجه‌گیری: نتایج پژوهش حاضر به روشنی نشان داد که فرآیند انتخاب برای صفات مهم اقتصادی در طی سال‌های متوالی، منجر به شکل‌گیری قطعات هموزیگوت ژنومی به نام جزایر ROH در ژنوم گوسفندان شده است که پویای ژنومی این جزایر در سطح ژنوم می‌تواند بعنوان راهبرد جایگزین برای شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات مهم اقتصادی باشد. بهر حال، جهت شناسایی دقیق این ژن‌ها و QTL‌ها لازم است مطالعات پیوستگی ژنتیکی و عملکردی بیشتری انجام شود.

کلید واژه‌ها: آماره تتا، جزایر ROH، سیگنال انتخاب، گوسفند بومی

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: محمدی حسین، مرادی شهریابک حسین، خلت‌آبادی فراهانی امیر حسین (۱۴۰۲) ردیابی نشانه‌های انتخاب، شناسایی جزایر ژنومی همخون و ژن‌های کاندیدای مرتبط با تعداد تاج متعلق به یک زایش در گوسفندان بومی نژاد زندی. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۵(۳)، ۲۷۷-۲۹۴.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.



© the authors

مقدمه

در تئوری علم اصلاح نژاد، هنگامیکه انتخاب طبیعی یا مصنوعی برای صفتی خاص به نفع ناحیه‌ای از ژنوم صورت گیرد، این امکان وجود دارد که، در طول زمان فراوانی سایر چندشکلی‌های مجاور کاهش یافته یا ناپدید شده باشند. به عبارت دیگر انتخاب

باعث تغییر در فراوانی آلی بین جمعیت‌ها شده که موجب ایجاد الگوهای تنوع قابل شناسایی در سطح ژنوم می‌شوند. در نتیجه، یک هاپلوטיפ خاص تشکیل شده که ممکن است حاوی چندین ژن باشد، می‌تواند، تنها هاپلوטיפ یا مهم‌ترین هاپلوטיפ موجود در جمعیت باشد که به آن نشانه انتخاب یا رانش ناشی از انتخاب گفته می‌شود (Akey et al. 2002).

شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب یکی از اهداف اساسی ژنتیک مولکولی است. حیوان‌های اهلی به دلیل اینکه افزون بر انتخاب طبیعی، هدف انتخاب‌های مصنوعی شدیدی قرار گرفته‌اند، نمونه‌های مناسب‌تری برای شناسایی نشانه‌های انتخاب در سطح ژنوم و شناسایی ژن‌های کاندیدای عملکردی به شمار می‌آیند (Lin et al. 2022). بطور کلی، مناطقی از ژنوم که تحت انتخاب هستند باید اهمیت شایستگی و عملکردی داشته باشند، در غیر این صورت، انتخاب آنها را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد. این مناطق ژنومی عمدتاً، با ژن‌های عمده اثر و صفات مهم اقتصادی همراه بوده و دارای اهمیت زیادی می‌باشند.

یکی از مهم‌ترین آزمون‌های آماری شناسایی نشانه‌های انتخاب، آماره تمایز جمعیتی یا شاخص تثبیت (F_{ST}) می‌باشد. یکی از معایب این روش این است که خطای نمونه‌گیری در نظر گرفته نمی‌شود که با استفاده از روش تتا (θ) تصحیح شده است. در پژوهشی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب مرتبط با سن بلوغ و تعداد نتاج متولد شده متعلق به یک زایش، گوسفندان چینی نژاد Hetian و Cele Black با استفاده از آماره F_{ST} انجام شده بود. نتایج این تحقیق نشان داد، نواحی ژنومی روی کروموزوم‌های شماره‌های ۱، ۳، ۵، ۷، ۸، ۱۰ و ۱۳ دارای نشانه‌های انتخاب هستند. این مناطق ژنومی شامل، ژن‌های کاندیدای *ADCY1* و *POU1F1*، *BMP2*، *LHCGR*، *DNMT3B*، *GHR*، *LIF*، *PAK1* و *GNAQ* بودند که نقش کلیدی در سیستم تولیدمثلی و تخمک‌گذاری دارند (Zhang et al. 2022). همچنین، مطالعه پویس ژنومی با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با چندقلوزایی با استفاده از آماره F_{ST} در گوسفندان مکزیکی نژاد Katahdin انجام شده بود. نتایج این تحقیق مناطق ژنومی روی کروموزوم‌های شماره ۳، ۵، ۶، ۹ و ۲۵ شناسایی کردند که حاوی ژن‌های کاندیدای *STK32B*، *CAMK2D*، *ANK2*، *ATGT*، *CNOT11* و *UGT8* مرتبط با چندقلوزایی بودند (Sánchez-Ramos et al. 2023).

شاخص قطعات هموزیگوت ژنومی (Run of Homozygosity (ROH) یکی از روش‌های نوین مورد استفاده برای ارزیابی همخونی براساس داده‌های پُر بُرون داد در سراسر ژنوم در یک جمعیت است. ROHها قطعاتی در ژنوم که از اجداد مشترک به ارث رسیده و در طول زمان با دور شدن از جد مشترک در اثر واقعه‌هایی همچون حادثه نوترکیبی شکسته می‌شوند (Gomez-Raya et al. 2015). شاخص ROHها بطور یکنواخت، در سطح ژنوم توزیع نشده‌اند و در برخی از مکان‌ها بیشتر دیده می‌شوند که با آنها جزایر ROH یا نقاط داغ ROH گفته می‌شود. این مناطق، در طول زمان تحت اثر انتخاب مداوم شکل گرفته‌اند که منجر به تثبیت برخی از آلل‌ها در جمعیت در اثر فرآیند، انتقال همراه می‌شوند (Addo et al. 2021).

امروزه، در حیوانات اهلی به طور گسترده‌ای از شاخص ROH برای تعیین همخونی ژنومی استفاده شده است. این مطالعات، تأکید می‌کند بین مناطق ژنومی که در معرض انتخاب مداوم می‌باشند و شاخص ROH شناسایی شده ارتباط نزدیکی وجود دارد (Eydivandi et al. 2021). در حقیقت در مناطق معرض انتخاب، تنوع ژنتیکی کاهش یافته و به مرور، جزایر همخونی تشکیل

می‌شود که هموزایگوسیتی بالاتری در مقایسه با سایر مناطق ژنوم دارند. مطالعات نشان می‌دهد که این مناطق بطور یکنواخت در سطح ژنوم توزیع نشده‌اند و در بین افراد یک نژاد شبیه هستند (Yurchenko et al. 2018).

در سال‌های اخیر، برآورد ضریب همخونی ژنومی براساس قطعات هموزیگوت ژنومی و شناسایی جزایر ROH و ارتباط آن با صفات اقتصادی در نژادهای مختلف گوسفند انجام شده است. با بررسی، ضریب همخونی ژنومی و شناسایی جزایر ROH در نژادهای مختلف گوسفند چینی، میزان ضریب همخونی ژنومی براساس شاخص ROH در نژادهای *Hulun Buir sheep*, *Han*, *Altay*، *Tibetan* و *grassland* به ترتیب ۰/۰۱۸۴، ۰/۰۸۰۸، ۰/۰۱۴۸، ۰/۰۱۸۷ و ۰/۰۲۰۶ گزارش شده است. همچنین، جزایر ROH مشترک در بین پنج نژاد روی کروموزوم‌های شماره‌های ۲، ۱۲ و ۱۳ قرار داشتند که بررسی بیولوژیکی ژن‌های موجود در این مناطق با ذخیره چربی، آدپتاسیون، رشد، اندازه بدن و تولیدمثل مرتبط بودند (Liu et al. 2021). اخیراً، مطالعه‌ای با هدف برآورد ضریب همخونی ژنومی و شناسایی جزایر ROH روی نژادهای گوسفند *Wallachian* و *Sumava* جمهوری چک انجام شده است. این محققین، گزارش کردند میزان ضریب همخونی برابر با ۰/۰۵۳ و ۰/۰۵۳ به ترتیب در نژادهای *Wallachian* و *Sumava* بود و بیشترین تعداد جزایر ROH روی کروموزوم‌های شماره ۱، ۲، ۶، ۱۴، ۱۶ و ۱۷ قرار داشتند (Machová et al. 2023). از طرفی، امرار معاش بخش بزرگی از جمعیت توسط نژادهای بومی نشخوارکنندگان کوچک به ویژه گوسفند تأمین می‌شود (Amiri Roudbar et al. 2017). لذا، پژوهشگران و دامداران سعی می‌کنند برای بهبود تولید این حیوانات از طریق بهبود کمی و کیفی و بهبود رشد ژنتیکی گام بردارند (Mohammadifar and Mohammadabadi 2011; Amiri Roudbar et al. 2018).

نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که بهبود عملکرد در گله‌های گوسفند معمولاً از طریق بهبود تولید و تولید مثل حاصل می‌شود (Arabpour et al., 2021). حدود بیست و هفت نژاد و اکوتیپ گوسفند در ایران وجود دارد که در مجموع بیش از ۵۰ میلیون رأس دارند (Mohammadabadi 2016; Mohammadipoor Saadatabadi et al. 2021). گوسفند کاملاً با شرایط گرم، خشک و نامساعد ایران که دارای پوشش گیاهی و مرتعی ضعیف و ناپایدار است، سازگاری دارد (Mahmoodi et al. 2018; Masoudzadeh et al. 2020). این دام بیشتر برای تولید گوشت و پشم پرورش داده می‌شود و بیشترین نیازهای زندگی عشایر و دامداران را تأمین می‌کند (Bahrapour et al. 2008; Shahsavari et al. 2022). بنابراین توجه به پرورش این گوسفند برای توسعه و بهبود صفات فنوتیپی و ژنتیکی آن اثرات مثبتی بر نیازهای این نژاد خواهد داشت (Shahsavari et al. 2021). پژوهش‌های گونه‌های اهلی شناسایی ژن‌های موثر بر صفات تولیدی مهم یکی از حوزه‌های ضروری است (Safaei et al. 2022). بنابراین، به روز رسانی نیازهای این نژاد از طریق اصلاح ژنتیکی و غیر ژنتیکی نقش مهمی در توسعه پرورش این گوسفند و حفظ آن دارد (Mohammadi et al. 2020; Mohammadabadi et al. 2017). در تحقیقات گونه‌های داخلی، شناسایی ژن‌های موثر بر صفات مهم تولیدی یکی از زمینه‌های ضروری است (Jafari Ahmadabadi et al. 2023). لذا، هدف پژوهش حاضر، کاوش ژنومی نشانه‌های انتخاب و شناسایی توزیع جزایر ROH در سطح ژنوم گوسفندان نژاد بومی زندگی با استفاده از اطلاعات

نشانه‌های SNP موجود در سراسر ژنوم بود. همچنین، شناسایی مناطق ژنومی و ژن‌های قرار گرفته در جزایر ROH که بطور بالقوه اثر این مناطق نوکلئوتیدی هموزیگوت را بر صفات اقتصادی نشان می‌دهد، از اهداف دیگر پژوهش حاضر بود.

مواد و روش‌ها

در مجموع از تعداد ۲۰۰ گوسفند ماده نژاد زندی حاضر در دو گله مرکز اصلاح نژاد خجیر واقع در تهران وابسته به سازمان جهاد کشاورزی استان تهران، مقدار ۷-۵ سی‌سی خون از سیاهرگ گردن (وداج) استحصال و همراه با ۰/۵ میلی لیتر EDTA-K2 در لوله‌های خلاء با pH ۷/۸-۵ نگهداری شد. استخراج DNA با استفاده از روش بهینه یافته استخراج نمکی از خون کامل انجام شد. پس از اطمینان از کمیت و کیفیت بالای نمونه‌ها با استفاده از ژل الکتروفورز و نانودراپ، غلظت آنها تا ۵۰ ng/μl جهت تعیین ژنوتیپ رقیق شد. ژنوتیپ نمونه‌ها در کمپانی Neogen (<http://genomics.neogen.com>) در کشور آمریکا با استفاده از آرایه های Illumina OvineSNP50K BeadChip تعیین ژنوتیپ شدند. از میان نمونه‌های اخذ شده پس از بررسی همگنی ساختار ژنتیکی جمعیت با استفاده از آزمون‌های PCA و DAPC (Kim et al. 2015) در نهایت، تعداد ۸۱ رأس حیوان انتخاب شدند (Kourosnia et al. 2019). تعداد ۴۲ رأس، براساس صفت تعداد بره متولد شده به ازای هر زایش بیشتر از یک (دارای حداقل یک رکورد دوقلوژیایی) و تعداد ۳۹ رأس براساس صفت تعداد بره متولد شده در هر زایش برابر با یک (دارای رکورد تک قلوژیایی) انتخاب شدند.

برای فیلتراسیون داده‌های ژنومی، در ابتدا، نمونه‌هایی که فراوانی تعیین ژنوتیپ در آنها کمتر از ۹۵ درصد بود، شناسایی و حذف شدند. در مرحله بعد نشانگرهایی که فراوانی آلل نادر در آنها کمتر از ۱ درصد بود حذف شدند. سپس، نشانگرهایی که نرخ تعیین و قرائت ژنوتیپ آنها در نمونه‌ها کمتر از ۹۵ درصد بود شناسایی و حذف شدند. در نهایت، برای SNP‌های باقیمانده آنهایی که در تعادل هاردی-واینبرگ قرار نداشتند، کنار گذاشته شدند و در انتها، نشانگرهایی که موقعیت ژنتیکی آنها نامعلوم بود از آنالیز پوش کل ژنومی کنار گذاشته شدند. مراحل مختلف فیلتراسیون با استفاده از نرم افزار PLINK (v1.90;) (<http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink>) انجام شد (Purcell et al. 2007). با توجه به اینکه میزان عدم تعادل پیوستگی بالا بین جفت نشانگرها بر صحت و قدرت تشخیص شاخص ROH شناسایی شده می‌تواند تأثیر گذار باشد، جهت حذف SNP‌هایی که در حالت عدم تعادل پیوستگی بالایی با یکدیگر قرار داشتند، از نرم افزار PLINK استفاده شد. بدین منظور، در پنجره‌هایی شامل SNP ۵۰ و با حرکت SNP ۵ رو به جلو در هر مرحله، SNP‌های دارای r^2 (معیار عدم تعادل پیوستگی) بیش از ۰/۲ (دستور `--indep-pairwise 50 5 0.5`) با یکدیگر از مجموعه داده‌ها حذف شدند. بعد از کنترل کیفیت، تعداد ۸۱ رأس دام و تعداد ۳۶۰۷۰ SNP برای آنالیزهای بعدی باقی ماندند.

آنالیز آماری شناسایی نشانه‌های انتخاب: برای شناسایی نواحی تحت انتخاب از آزمون تمایز جمعیتی F_{ST} استفاده

شد. آزمون تمایز جمعیتی F_{ST} به دو روش رایت (Wright 1965) و روش برآوردگر ناریب تا (θ) (Weir & Cockerham 1984) محاسبه می‌شود. یکی از مشکلات اصلی روش محاسبه همخونی رایت، عدم در نظر گرفتن خطای نمونه‌گیری است که این مشکل توسط ویر و کوکرهام با ارائه روش تتا تصحیح شد که مستقل از شمار گروه‌های نمونه‌گیری شده و تعداد افراد داخل هر گروه است. ارزش‌های عددی بدست آمده از این روش‌ها بین صفر تا یک متغیر است. محاسبه‌های مربوط به دو روش رایت و تتا در محیط برنامه‌نویسی R 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 (CW) Creeping Window با طول ۵۰۰ کیلو جفت باز استفاده شد (Kim et al. 2015a). تنها ۰/۱ درصد مناطقی از ژنوم که در آن تمام نشانگرهای مجاور ارزش بالایی داشتند، بعنوان نشانه‌های انتخاب شناسایی و تعیین شدند (Saravanan et al. 2021). در این پژوهش، برای ترسیم گراف ارزش‌های Win10 در مقابل موقعیت ژنومی از بسته نرم‌افزاری ggplot2 در برنامه R (نسخه ۴/۲/۰) استفاده گردید.

برای بررسی، ژن‌های گزارش شده در این مناطق و ۲۵۰ کیلو جفت‌باز اطراف آنها از پایگاه اطلاعاتی برخط Genes 109 Database Ensembl بوسیله BioMart (www.ensembl.org/biomart) استفاده گردید. برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های بدست آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی آنلاین GeneCards (<http://www.genecards.org>) و UniProtKB (<http://www.uniprot.org>) استفاده شد.

تخمین میزان همخونی ژنومی: با استفاده از بسته نرم‌افزاری *detectRUNS* (نسخه ۰/۹/۶) در نرم افزار R (نسخه ۴/۲/۰) Run Of Homozygosity (ROH) تعریف شد (Biscarini et al. 2019). سپس، با استفاده از خروجی نرم افزار، برای هر فرد با استفاده از فرمول زیر در فواصل مشخص ROH مطابق روش پیشنهادی Al-Mamun et al. (2015) (رابطه ۱) محاسبه گردید.

$$l = \frac{\log_e\left(\frac{\alpha}{n_s \cdot n_i}\right)}{\log_e(1 - het)} \quad \text{رابطه ۱}$$

l ، برابر با حداقل تعداد SNP‌ها در ROH، n_s تعداد SNP‌های ژنوتیپ شده برای هر فرد، n_i تعداد افراد، het میانگین هتروزیگوسیتی تمام SNP‌ها، α درصد اشتباه مثبت ROH (α در این مطالعه ۰/۰۵) می‌باشد. در نهایت، با استفاده از فرمول زیر ضریب همخونی برای هر یک از نژادها بر اساس FROH (رابطه ۲) برآورد شد.

$$F_{ROH} = \sum \frac{L_{ROH}}{L_{AUTO}} \quad \text{رابطه ۲}$$

LROH مجموع طول‌های ROH در ژنوم هر حیوان و LAUTO طول کل پوشش کروموزوم‌های اوتوزوم‌ها می‌باشد. طول کل پوشش کروموزوم‌های اوتوزوم در این مطالعه ۲۶۴۵/۲ مگاجفت‌باز می‌باشد. میانگین تعداد پوشش ROH در فواصل و گروه-بندی‌های ۱-۵، ۵-۱۰، ۱۰-۱۵ و >15 مگاباز برای هر فرد محاسبه شد.

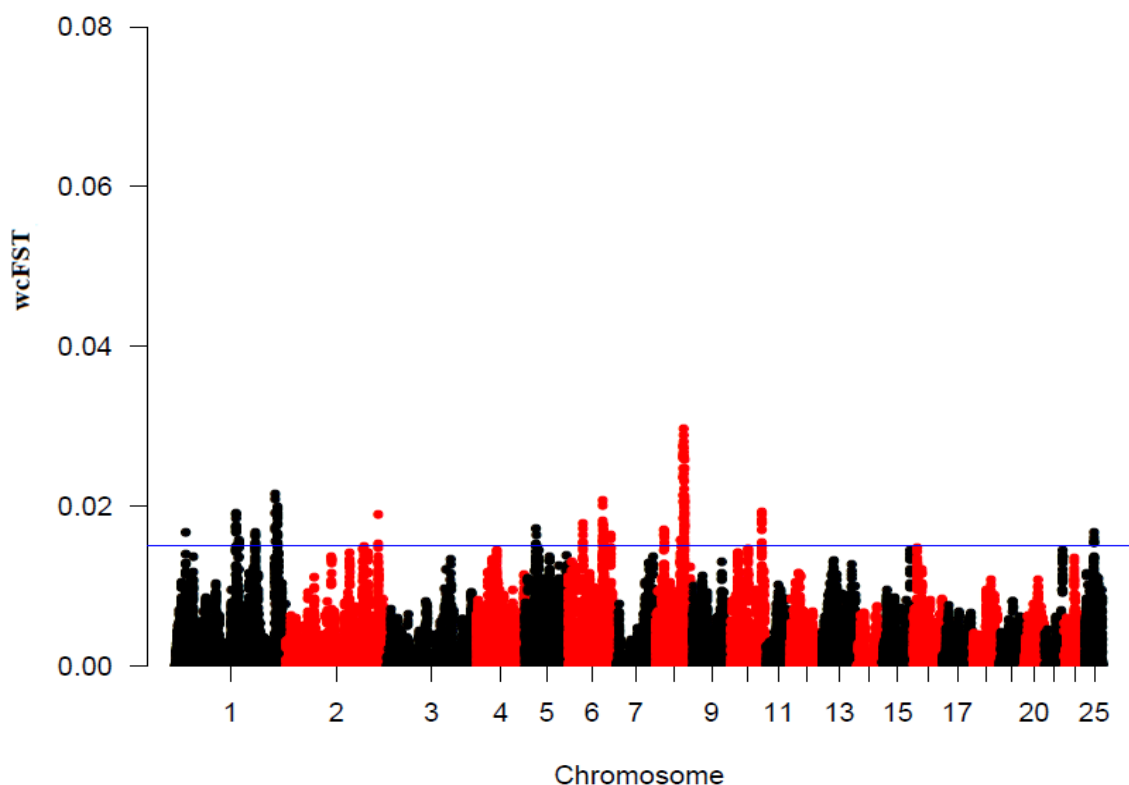
شناسایی جزایر ROH: مناطق ژنومی مرتبط با ROH با بیشترین فراوانی در ژنوم به عنوان نقاط داغ ROH یا جزایر ROH در نظر گرفته می‌شوند. بدین منظور، جزایر ROH با استفاده از نرم‌افزار PLINK (نسخه ۱/۹) با معیارهای زیر شناسایی شدند. حداقل تعداد SNP در ROH ۲۰، حداقل و حداکثر فاصله بین SNP به ترتیب ۷۰ و ۲۵۰ کیلو جفت‌باز و حداقل SNP موجود در ROH یک SNP به ازای هر ۱۰۰ کیلو جفت باز و حداقل طول هر ROH یک مگا جفت باز در نظر گرفته شد. حداکثر یک هتروزایگوت در هر پنجره و دو ژنوتیپ گمشده در محاسبه جزایر ROH منظور شد. برای شناسایی جزایر ROH از فایل‌های خروجی PLINK استفاده شد، بطوریکه، تعداد دفعات ظهور SNP در ROH محاسبه و بر تعداد حیوانات مورد بررسی تقسیم شد. ۱ درصد از SNP که بالاترین ظهور را در ROH داشتند و براساس فایل MAP بر روی کروموزوم پشت سر هم قرار گرفته بودند بعنوان، جزایر ROH در نظر گرفته شد (Machová et al. 2023).

حدود هر کدام از جزایر ROH در هر کروموزوم براساس جدیدترین نسخه اسمبلی رفرنس ژنوم گوسفند (OAR_Rambouillet_V 1.0) مشخص شد و اطلاعات استخراج شده در طول کروموزوم‌ها، با بسته نرم‌افزاری qqman برنامه R (نسخه ۴/۲/۰) ترسیم شدند. جهت شناسایی ژن‌های موجود در محدوده جزایر ROH از پایگاه اطلاعاتی برخط Genes 109 Database Ensembl بوسیله BioMart (www.ensembl.org/biomart) مورد بررسی قرار گرفت. برای تفسیر بهتر، عملکرد ژن‌های به دست آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی آنلاین GeneCards (<http://www.genecards.org>) و UniProtKB (<http://www.uniprot.org>) استفاده شد.

نتایج و بحث

انتخاب، علاوه بر جهش سودمند جایگاه‌های مجاور آن را هم تحت تأثیر قرار می‌دهد (Akey et al. 2002) در پژوهش حاضر، جهت شناسایی بهتر سیگنال‌های انتخاب در سطح ژنوم بجای در نظر گرفتن ارزش عددی هر SNP، میانگین‌گیری ارزش‌های عددی SNP‌های مجاور به روش CW با طول ۱۰ SNP صورت گرفت و تنها ۰/۱ درصد مناطقی از ژنوم که در آن تمام نشانگرهای مجاور دارای ارزش بالایی باشند، بعنوان، نشانه‌های انتخاب شناسایی و تعیین شدند (شکل ۱). حد آستانه در نظر گرفته شده سخت‌گیرانه بود و مشابه با مطالعه Zhu et al. (2015) بر روی گوسفندان نژاد مختلف بود. بخش‌هایی از ژنوم که ارزش F_{ST} بالایی دارند، نشان‌دهنده تمایز بین دو گروه جمعیتی در آن مناطق ژنومی در اثر انتخاب مثبت هستند که به دنبال انتخاب‌های طبیعی و مصنوعی در طی نسل‌های مختلف برای جایگاه‌های مورد نظر به وجود آمده است.

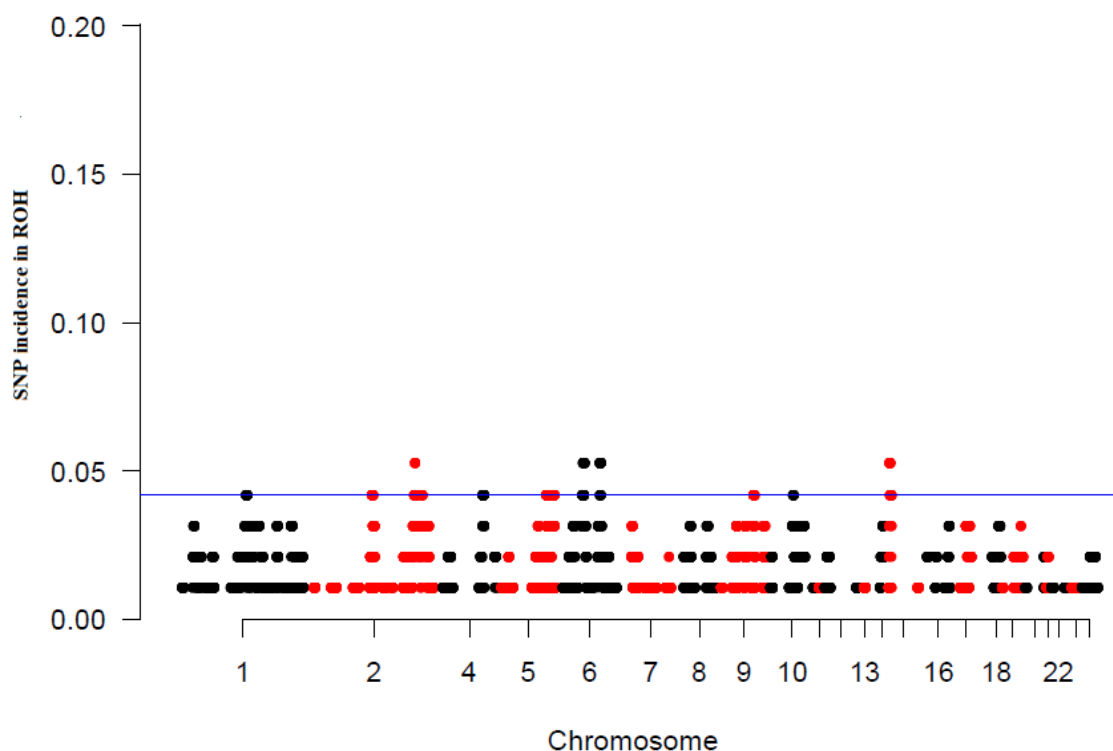
نتایج بدست آمده، در گوسفندان نژاد زندی نشان داد ۱۲ ناحیه ژنومی بر روی کروموزوم‌های ۱ (سه ناحیه)، ۲ (دو منطقه)، ۵، ۶ (دو ناحیه)، ۸ (دو ناحیه)، ۱۰ و ۲۵ تفرق جمعیتی بالایی داشته و دارای ارزش تنای بالاتر ۰/۱ درصد می‌باشند (شکل ۱). از روش نشانه‌های انتخاب و آماره تنای تاکنون جهت شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات تولیدمثلی شامل تعداد بره متولد شده در هر زایش و چندقلوایی در نژادهای مختلف گوسفند استفاده شده است. در مطالعه پویس ژنومی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب با استفاده از آماره تنای در دو نژاد گوسفندان Hetian و Cele Black انجام شده بود، ژن‌های کاندیدی *LHCGR*، *GNAQ*، *PAK1* و *BMP2* گزارش شده است (Zhang et al. 2022).



شکل ۱. توزیع ارزش‌های w_{10} تنای در سطح ژنوم حیوانات با باروری بالا و پایین در گوسفندان نژاد زندی. موقعیت ژنومی SNPها بر روی محور X و ارزش‌های تنای آنها بر روی محور Y نشان داده شده است. خط ترسیم شده نشان دهنده ۹۹/۹ صدک کروموزوم‌ها است

Figure 1. Distribution of 10 windowed theta values for high (a) and low (b) fecundity in Zandi sheep breed: the SNP position on different chromosomes shown on the X-axis, and theta values are plotted on the Y-axis. The values above the line are in the 99.9 percentile of all Theta values

در بیشتر حیوانات این مطالعه طول ROH کمتر از ۳۰۰ مگا جفت باز مشاهده شد. مناطق هموزیگوت طولانی و توزیع ROH ناشی از جفتگیری افراد خویشاوند به فهم تاریخچه جمعیت کمک می‌نماید (Curik et al. 2014). قطعات ROH طولانی نشانه‌ای از همخونی اخیر در یک جمعیت است در حالیکه قطعات ROH کوتاه‌تر نشان دهنده از بین رفتن تنوع ژنتیکی است. همچنین قطعات ROH‌های طولانی به احتمال زیاد در مناطق با نوترکیبی پایین و مکان‌های تحت انتخاب در ژنوم یافت می‌شوند. برای بررسی‌های بیشتر، ۱ درصد از نشانگرهای SNP با بیشترین ظهور در قطعات نوکلئوتیدی هموزیگوت ژنومی، بعنوان جزایر ROH در نظر گرفته شد. آستانه‌ی مشابه‌ای در مطالعات مختلف گونه گوسفند و گاو در نظر گرفته شده است (Purfield et al. 2018; Mastrangelo et al. 2017). در این مطالعه، حد آستانه سختگیرانه‌تری برای انتخاب جزایر ROH منظور شد. بطور کلی، تعداد ۱۶ جزیره ROH با طول ۲۷۰/۴۶ کیلوبازی تا ۸/۲۵ مگابازی مرتبط با صفت مورد بررسی شناسایی شد که کمتر از ۱ درصد از ژنوم گوسفند بود. توزیع جزایر ROH در ژنوم یکنواخت نبود (شکل ۲). بیشترین تعداد جزایر ROH بر روی کروموزوم‌های شماره ۱ و کمترین آن روی کروموزوم شماره ۲۴ مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۲. پلات منهنن توزیع جزایر ROH بر روی کروموزوم‌های مختلف گوسفندان نژاد زندی. خط ترسیم شده نشان دهنده ۱٪ از SNP‌هایی که بالاترین ظهور را در کل ROH داشتند

Figure 2. Manhattan plot of the distribution ROH Island on different chromosomes in Zandi sheep breed. The values above the line are in the 1% threshold of SNPs incidence in the total number of ROH

در مطالعه‌ای با هدف شناسایی جزایر ROH در سه نژاد گوسفند ایرانی قزل، مغانی و افشاری در مجموع ۱۲ جزیره ROH با طول ۲/۵-۳/۵ مگا جفت باز شناسایی شد که ۱۷ ژن در محدوده این جزایر قرار داشتند که بیشتر در ارتباط با صفات رشد و لاشه بودند (Nosrati & Mohammad Abadi 2022). از نکات قابل توجه در این پژوهش این بود که روی کروموزوم‌های ۳، ۲۳ و ۲۴ هیچ جزیره ROH فراوانی یافت نشدند. بیشتر جزایر ROH فراوان بر روی کروموزوم‌های شماره ۱ و ۲ قرار گرفته‌اند که می‌تواند مرتبط با طول بلندتر آنها در مقایسه با سایر کروموزوم‌ها باشد. پس از شناسایی نواحی ژنومی تحت انتخاب، ژن‌های موجود در این مناطق شناسایی و عملکرد بیولوژیکی آن‌ها بررسی شدند. (جدول ۱). نتایج تحقیق حاضر نشان داد، ژن‌های کاندیدای *GULP1* و *ANK2* حاصل از روش آماره تتا مرتبط با صفت تعداد نتاج متولد شده در هر زایش هستند. ژن کاندیدای *GULP1* در ناحیه بین ۱۳۰/۶۷ و ۱۳۱/۰۰ مگا جفت باز روی کروموزوم شماره ۲ گوسفندی قرار گرفته است. نشان داده شده است که این ژن با طول دوره لوتال در گاو در ارتباط است (Tenghe et al. 2016). همچنین، این ژن تنظیم کننده کلیدی سیگنال دهی فاکتور رشد تغییر دهنده بتا (TGF-B) با میانجی‌گری *LRP1* به شمار می‌رود و نقش مؤثری در تنظیم سیگنال‌های TGF-B در سلول‌های تخمدان دارد (<https://www.genecards.org>). همچنین، ژن *ANK2* روی کروموزوم شماره ۶ در ناحیه ۱۲/۳ مگا جفت‌بازی قرار داشته که نقش کلیدی در رشد و توسعه سلول‌های گرانولوزای تخمدان دارد (<https://www.genecards.org>). در مطالعه پویس کل ژنومی با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با چندقلوزایی، ژن کاندیدای *ANK2* گزارش شده است (Kulus et al. 2014). در دسته ژن‌های مرتبط با تعداد نتاج متولد شده در هر زایش، ژن‌های کاندیدای *UTG8* و *EPHA5* بر روی کروموزوم شماره ۶ در محدوده فراوان‌ترین جزایر ROH قرار داشتند که قبلاً، ارتباط معنی‌دار این ژن‌های کاندیدا با صفات تولیدمثلی گزارش شده است. ژن کاندیدای *EPHA5* مرتبط با محرک تقسیم میتوز سلول‌های گرانولوزا بوده و تولید پروژسترون تخمدانی می‌شود و یک ژن درگیر در لانه‌گزینی بوده و در اپیتلیوم رحم چسبندگی آغازین را بر عهده دارد (<https://www.genecards.org>). همچنین، ژن *UTG8* در سنتز اسید آراشیدونیک نقش کلیدی داشته که برای زنده ماندن جنین لازم است (<https://www.genecards.org>). از نتایج قابل توجه در این پژوهش، شناسایی نواحی ژنومی مشترک حاصل از دو روش آماره تتا و جزایر ROH روی کروموزوم‌های شماره ۱ و ۲ بودند (جدول ۱). ژن کاندیدای *PER2* روی کروموزوم شماره ۱ در ناحیه ژنومی ۲/۸۹ مگا جفت‌بازی گونه گوسفند قرار دارد. ژن *PER2*، نقش کلیدی در حمایت از سوخت و ساز تخمک در حال رشد، یون‌ها برای تنظیم pH تخمک و cGMP مورد نیاز برای نگهداری و حفظ تخمک در حالت میوزی دارد (<https://www.genecards.org>). در مطالعه پویس ژنومی با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با دوقلوزایی در گوسفندان نژاد Xinjiang چینی، ژن کاندیدای *PER2* گزارش شده است (Liu et al. 2022). ژن‌های کاندیدای *KCNH7* و *CLCN3* به ترتیب، روی کروموزوم شماره ۲ در نواحی ژنومی ۱۲۰/۰۴ و ۱۵۸/۰۷ مگا جفت‌بازی گونه گوسفند قرار دارند. ژن *CLCN3* به عنوان یک فاکتور التهابی، نقش واسطه‌ای بین بافت چربی و بافت هدف دارد. از اینرو می‌تواند موجب افزایش رهاسازی تخمک در

اویداکت گردد (<https://www.genecards.org>). در مطالعات پوشش ژنومی مختلفی ارتباط معنی‌داری بین ژن کاندیدای *CLCN3* با چندقلوزایی در بزهای نژاد Jabal Akhdar گزارش شده است (Al-Abri et al. 2023). همچنین، در مطالعه پوشش ژنومی با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفات تولیدمثلی در بزهای نژاد Jining Gray، ژن کاندیدای *KCNH7* مرتبط با نرخ آبستنی گزارش شده است (Wang et al. 2020).

جدول ۱. نواحی ژنومی تحت انتخاب و ژن‌های شناسایی شده در این مناطق ژنومی مرتبط با صفت تعداد بچه متولد شده در هر زایش

Table 1. Genomic regions containing selection signatures and genes reported in these genomic regions related to litter size

روش	شماره	موقعیت ژنومی (جفت باز)	ژن کاندیدای مرتبط	عملکرد ژن	منبع
Method	کروموزوم	Genomic position (bp)	با تولیدمثل	Function Gene	Reference
	Number of chromosomes		Candidate gene related to reproductive		
F _{ST}	2	130423399:131723399	<i>GULP1</i>	Follicular development and maturation	Tenghe et al. 2016
F _{ST}	6	12244476:12714476	<i>ANK2</i>	Structure of ovarian granulosa cells	Kim et al. 2015b
ROH	6	10949274:11431274	<i>UTG8</i>	Development and function of the nervous and endocrine systems	Li et al. 2022
ROH	6	88688416:89108416	<i>EPHA5</i>	lipid transport in Sertoli cells	Zhao et al. 2020
F _{ST}	1	2803396:3323396	<i>PER2</i>	cellular response to hormone stimulus	Liu et al. 2022
ROH	2	158481581:158901581	<i>KCNH7</i>	steroid metabolic process and cellular hormone response	Wang et al. 2020
F _{ST}	2	120407864:120967864	<i>CLCN3</i>	Pregnancy rate	Al-Abri et al. 2023

در مجموع، نتایج این تحقیق می‌تواند منبع اطلاعاتی با ارزشی در جهت شناسایی ژن‌های مرتبط با باروری و چندقلوایی ارائه دهد و آغازی برای بررسی‌های بیشتر در این زمینه و استفاده از اطلاعات به‌دست آمده در شناسایی ویژگی‌های ژنتیکی این صفت اقتصادی مهم در صنعت پرورش گوسفند باشد. با توجه به تعداد کم نمونه مورد استفاده در پژوهش حاضر نیز باید در استفاده از ژن‌های کاندیدای شناسایی شده در برنامه‌های اصلاحی با احتیاط عمل کرد. البته، می‌توان با ادغام داده‌های تحقیقات مشابه جدید و استفاده از آنالیزهای آماری جامع‌تر برای تأیید نتایج پژوهش حاضر استفاده کرد. همچنین، در این پژوهش از داده‌های تراشه 50K برای شناسایی جزایر ROH استفاده شده است. تراشه 50K بدلیل توزیع غیر یکنواخت و تراکم پایین نشانگرهای SNP در ژنوم، تعداد ROH کوتاه را بیشتر از مقدار واقعی برآورد می‌کند. از اینرو، پیشنهاد می‌شود مطالعات دقیق‌تر با استفاده از تراشه‌های متراکم‌تر و یا روش‌های توالی‌یابی کل ژنوم انجام شود. استفاده از نتایج این تحقیق در جمعیت‌های گوسفندان بومی کشور نیاز به مطالعات بیشتر دارد تا در این جمعیت‌ها نیز تأیید شوند. همچنین، با بررسی چند شکلی موجود در ژن‌های کاندیدای شناسایی شده از طریق مطالعات آزمایشگاهی در نژادهای گوسفند بومی و نتایج به‌دست آمده را برای مطالعات اصلاحی به کار برد.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه، برای شناسایی نشانه‌های انتخاب از آماره ناریب تا استفاده شد و نشانه‌های انتخاب در بخش-هایی از ژنوم شناسایی شد که برخی از این مناطق در بررسی‌های پیشین در دام‌های اهلی دیگر نیز تأیید شده بودند. بررسی ژن‌ها در نواحی تحت انتخاب نشان داد، ژن‌های موجود در این مناطق با تعداد نتاج متولد شده و رشد اولیه جنین مرتبط هستند. همچنین، نتایج این پژوهش نشان داد که پوشش جزایر ROH در ژنوم گوسفندان زندی کمتر از سایر نژادهاست و توزیع آنها در ژنوم یکسان نیست. عدم وجود برنامه اصلاحی نژادی مدون در طول زمان باعث شده کمترین و کوتاه‌ترین جزایر ROH را داشته باشند. جزایر کمتر نشان دهنده تنوع ژنتیکی بیشتری در این نژاد است که امکان اعمال فشار انتخاب بیشتر در برنامه‌های اصلاح نژادی فراهم می‌کند. بخشی از این جزایر در داخل یا نزدیکی مناطق ژنومی مرتبط با صفات تولیدمثلی شامل نرخ باروری و نرخ تخمک‌اندازی قرار داشت. به نظر می‌رسد انتخاب برای صفات اقتصادی مهم منجر به تشکیل جزایر ROH در اطراف نواحی هدف انتخاب می‌گردد، از اینرو پویای ژنومی این جزایر می‌تواند به عنوان استراتژی جایگزین برای شناسایی ژن‌ها و جایگاه‌های مرتبط با صفات مهم اقتصادی مورد توجه قرار گیرد. در مجموع نتایج این تحقیق می‌تواند منبع اطلاعاتی با ارزشی در جهت شناسایی ژن‌های کنترل‌کننده صفت چندقلوایی ارائه دهد.

سپاسگزاری: از شرکت دانش بنیان سایننا گستر البرز به خاطر حمایت مالی تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها و ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد گوسفند زندی استان تهران (ایستگاه خجیر) برای در اختیار گذاشتن حیوانات در اجرای این پروژه کمال تشکر را داریم.

منابع

- جعفری احمدآبادی سید علی اصغر، عسکری همت حشمت‌اله، محمدآبادی محمدرضا (۱۴۰۲) تاثیر شاهدانه بر بیان ژن DLK1 در بافت قلب بره‌های کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۵(۱)، ۲۱۷-۲۳۴.
- عرب پور رق‌آبادی 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.
- کوروش‌نیا حمیدرضا، مرادی شهربابک حسین، صادقی مصطفی (۱۳۹۷) بررسی همگنی ساختار ژنتیکی در جمعیت گوسفند نژاد زندی با استفاده از داده‌های ژنومی. نشریه علوم دامی (پژوهش و سازندگی) ۳۱ (۱۲۱)، ۶۷-۷۶.
- محمدی فرآمنه، محمدآبادی محمدرضا (۱۳۹۰) کاربرد نشانگرهای ریزماهواره برای مطالعه ژنوم گوسفند کرمانی. مجله علوم دامی ایران ۴۲(۴)، ۳۳۷-۳۴۴.
- محمودی مریم، آیت‌اللهی مهرجردی احمد، محمدآبادی محمدرضا (۱۳۹۶) بررسی اگزون چهارم ژن کاپاکازین گوسفند کرمانی با تکنیک PCR-RFLP. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۹(۳)، ۱۱۹-۱۲۸.
- نصرتی مریم، محمدآبادی محمد رضا (۱۴۰۱) پویای ژنومی جزایر همخونی و ژن‌های مرتبط با آن در جمعیت گوسفندان دنیا. مجله پژوهش‌های تولیدات دامی، ۱۳ (۳۶)، ۱۳۷-۱۴۶.

References

- Addo S, Klingel S, Thaller G, Hinrichs D (2021) Genetic diversity and the application of runs of homozygosity-based methods for inbreeding estimation in German White-headed Mutton sheep. PLoS One 16, e0250608.
- Akey JM, Zhang G, Zhang K, Jin L, Shriver MD (2002) Interrogating a high-density SNP map for signatures of natural selection. Genome Res 12(12), 1805-1814.
- Al-Abri M, Kharousi KA, Toobi AGA, Salem MM (2023) Genome wide association analysis for twinning ability in Jabal Akhdar Omani goats. Small Rum Res (221), 106951.
- Almamun HA, Clark SA, Kwan P, Gondro C (2015) Genome-wide linkage disequilibrium and genetic diversity in five populations of Australian domestic sheep. Genet Sel Evol 47, 90.
- 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).

- Bahrampour V, Mohammadabadi MR, Mirzaei HR, et al. (2008) Molecular analysis of Calpastatin gene in Kermani sheep herds. *J Agric Sci Nat Resource* 15 (4), 124-131.
- Biscarini F, Cozzi P, Gaspa G, Marras G, (2019) detectRUNS: Detect Runs of Homozygosity and Runs of Heterozygosity in Diploid Genomes. R Package Version 0.9.6.
- Curik I, Ferenčaković M, Sölkner J, (2014) Inbreeding and runs of homozygosity: a possible solution to an old problem. *Livest Sci* 166, 26-34.
- Eydivandi S, Roudbar MA, Karimi MO, Sahana G (2021) Genomic scans for selective sweeps through haplotype homozygosity and allelic fixation in 14 indigenous sheep breeds from Middle East and South Asia. *Sci Rep* 11(1), 2834.
- Gomez-Raya L, Rodríguez C, Barragán C, Silió L (2015) Genomic inbreeding coefficients based on the distribution of the length of runs of homozygosity in a closed line of Iberian pigs. *Genet Sel Evol* 47, 81.
- 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).
- Kim E, Elbeltagy A, Aboul-Naga A, Rischkowsky B, Sayre B, Mwacharo J, Rothschild M. (2015b). Multiple genomic signatures of selection in goats and sheep indigenous to a hot arid environment. *Heredity* 116, 255–264.
- Kim H, Song KD, Kim HJ, Park W, Kim J, Lee T, (2015a) Exploring the Genetic Signature of Body Size in Yucatan Miniature Pig. *PLoS one* 10, 4e0121732.
- Kulus J, Kulus M, Kranc W, Jopek K, Zdun M, Józkwiaik M, Jaśkowski JM, Piotrowska Kampisty H, Bukowska D, Antosok P. (2021) Transcriptomic profile of new gene markers encoding proteins responsible for structure of porcine ovarian granulosa cells. *Biology* 10, 1214.
- Li Y, Chen Z, Fang Y, Cao C, Zhang Z, Pan Y, Wang Q. (2022) Runs of Homozygosity Revealed Reproductive Traits of Hu Sheep. *Genes* 13, 1848.
- Lin J, Zhang W, Zhang X, Wang C (2022) Signatures of selection in recently domesticated macadamia. *Nat Commun* 13(24), 224.
- Liu J, Shi L, Li Y, Chen L, Garrick D, Wang L Zhao F (2021) Estimates of genomic inbreeding and identification of candidate regions that differ between Chinese indigenous sheep breeds. *J Anim Sci* 12(1), 95.
- Machová K, Marina H, Arranz JJ, Pelayo R, Rychtářová J, Milerski M, Vostrý L, Suárez-Vega A, (2023) Genetic diversity of two native sheep breeds by genome-wide analysis of single nucleotide polymorphisms. *Animal* 17(1), 100690.

- Mahmoodi M, Ayatollahi A, Mohammadabadi MR (2018) Studying exon 4 of kappa-casein gene in Kermani sheep using PCR-RFLP. *Agric Biotechnol J* 9 (3), 119-128 (In Persian).
- Masoudzadeh SH, Mohammadabadi MR, Khezri A, et al. (2020) *Dlk1* Gene Expression in Different Tissues of Lamb. *Iran J Appl Anim Sci* 10 (4), 669-677.
- Mastrangelo SE, Ciani MT, Sardina G, Sottile F, Portolano B (2018) Runs of homozygosity reveal genome-wide autozygosity in Italian sheep breeds. *Anim Genet* 49, 71-81.
- Mohamadipoor Saadatabadi L, Mohammadabadi M, Amiri 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.
- Mohammadabadi MR (2016) Role of *clostridium perfringens* in pathogenicity of some domestic animals. *J Adv Agric* 7 (3), 1117-1121.
- Mohammadabadi MR, Esfandyarpoor E, Mousapour A (2017) Using Inter Simple Sequence Repeat Multi-Loci Markers for Studying Genetic Diversity in Kermani Sheep. *J Res Dev* 5 (2), e154.
- 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).
- Mohammadi H, Rafat SA, Moradi Shahrabak H, Shodja J, Moradi MH (2020) Genome-wide association study and gene ontology for growth and wool characteristics in Zandi sheep. *J Livest Sci Technol* 8(2), 45-55.
- Nosrati M, Mohammad Abadi MR (2022) Genome-Wide Scans of ROH Islands and Related Genes in the World's Sheep Populations. *Research on Animal Production* 13 (36), 137-146. (In Persian)
- Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MAR, Bender D, (2007) PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *Am J Hum Genet* 81, 559-575.
- Purfield DC, McParland S, Wall E, Berry DP, (2017) The distribution of runs of homozygosity and selection signatures in six commercial meat sheep breeds. *PLoS One*, 12, e176780.
- Safaei SMH, Dadpasand M, Mohammadabadi M, et al. (2023) An *Origanum majorana* Leaf Diet Influences Myogenin Gene Expression, Performance, and Carcass Characteristics in Lambs. *Animals* 13 (1), 14
- Sánchez-Ramos R, Trujano-Chavez MZ, Gallegos-Sánchez J, Becerril-Pérez CM, Cadena-Villegas S, Cortez-Romero C, (2023) Detection of Candidate Genes Associated with Fecundity through Genome-Wide Selection Signatures of Katahdin Ewes. *Animals (Basel)* 13(2), 272.

- Saravanan KA, Panigrahi M, Kumar H, Parida S, Bhushan B, Gaur GK, Dutt T, Mishra BP, Singh RK, (2021) Genomic scans for selection signatures revealed candidate genes for adaptation and production traits in a variety of cattle breeds. *Genomics* 113(3), 955-963.
- Shahsavari M, Mohammadabadi M, Khezri A, et al. (2021) Correlation between insulin-like growth factor 1 gene expression and fennel (*Foeniculum vulgare*) seed powder consumption in muscle of sheep. *Anim Biotechnol* 1-11.
- 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 Expr* 21(2), 21-26.
- Tenghe AMM, Bouwman AC, Berglund B, Strandberg E, de Koning DJ, Veerkamp RF (2016) Genome-wide association study for endocrine fertility traits using single nucleotide polymorphism arrays and sequence variants in dairy cattle. *J Dairy Sci* 99(7), 5470-5485.
- Wang JJ, Zhang T, Chen QM, Zhang RQ, Li L, Cheng SF, Shen W, Lei CZ (2020) Genomic Signatures of Selection Associated With Litter Size Trait in Jining Gray Goat. *Front Genet* 11, 286.
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38(6), 1358-1370.
- Wright S (1965) The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 1, 395-420.
- Yurchenko AA, Daetwyler HD, Yudin N, (2018) Scans for signatures of selection in Russian cattle breed genomes reveal new candidate genes for environmental adaptation and acclimation. *Sci Rep* 8, 12984.
- Zhang Z, Sui Z, Zhang J, Li Q, Zhang Y, Wang C, Li X, Xing F (2022) Identification of Signatures of Selection for Litter Size and Pubertal Initiation in Two Sheep Populations. *Animals (Basel)* (19), 2520.
- Zhu C, Fan H, Yuan Z, Hu S, Zhang L, Wei C, Zhang Q, Zhao F, Du L (2015) Detection of Selection Signatures on the X chromosome in Three Sheep Breeds. *Int J Mol Sci.* 16, 20360-20374.