

## **Genome-wide association study associated with first lambing age and lambing interval traits 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

---

### ***Abstract***

#### **Objective**

First lambing age and lambing interval are among the most important reproductive traits affecting profitability of sheep breeding systems. The present study aimed to conduct a genome wide association studies (GWAS) for identifying the loci associated with first lambing age and lambing interval in Zandi native sheep using the 50K arrays.

#### **Materials and methods**

For this purpose, phenotypes records and genotypic data related to first lambing age and lambing interval were obtained from 96 Zandi sheep. Different steps of quality control and identification of independent SNP markers were performed by PLINK software. After quality control, 94 animals and 36070 markers were identified for further analysis. Genome wide association study was performed with reproductive traits using GEMMA software. Using the *Genome Data Viewer* software from NCBI database based on last assembly (*ARS-UI\_Ramb\_v2.0*) the SNP were assigned to genes if they were within the genomic sequence of the gene or within a flanking region of 300 kb up- and downstream of the gene. Finally, from online bioinformatics databases for the assignment of the genes to functional categories, DAVID and PANTHER databases were used.

## Results

In this research, seven SNP markers on chromosomes 1, 2, 3, 6, 11 and 23 were identified. Also, we identified different sets of candidate genes related to reproductive traits: *UMPS*, *ITGB*, *SMARCAL1*, *APAF1*, *UGT8* and *ST8SIA5* in Zandi sheep. Some of the found genes, are consistent with some of the previous studies related to reproductive traits. Some of the genes were found are consistent with some previous studies and to be involved biological pathways related to fertilization, ovulation rate, estrogen biosynthesis, conception rate, skeletal muscle development, early development of the fetus and puberty.

## Conclusion

The results of our research can be used to understand the genetic mechanism controlling reproductive traits and considering, this study supported previous results from GWAS of reproductive traits, also revealed additional regions, using these findings could potentially be useful for genetic selection in sheep for age at first lambing.

**Keywords:** Association analysis, Genome region, Reproductive traits, Sheep

**Paper Type:** Research Paper.

**Citation:** Mohammadi H. Moradi Shahrebabak H. (2022) Genome-wide association study associated with first lambing age and lambing interval traits in Zandi sheep. *Agricultural Biotechnology Journal* 16 (1), 195-208.

---

*Agricultural Biotechnology Journal* 16 (1), 195-208. DOI: 10.22103/jab.2024.21926.1498

Received: November 12, 2023.

Received in revised form: January 12, 2024.

Accepted: January 13, 2024.


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 مرتبط با صفات سن میش در اولین بره‌زایی و فاصله بین دو زایش در گوسفندان 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 شهربابک 

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

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۲۲ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۲/۱۰/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۳

### چکیده

**هدف:** سن میش در اولین زایش و فاصله بین دو زایش از مهم‌ترین صفات تولیدمثلی مؤثر بر سودآوری سیستم‌های پرورش گوسفند است. هدف پژوهش حاضر، شناسایی مناطق ژنومی مؤثر بر سن میش در اولین بره‌زایی و فاصله بین دو زایش میش‌های نژاد بومی زندی با استفاده از آرایه‌های ژنومی 50K می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** بدین منظور از اطلاعات ژنوتیپی ۹۶ رأس از میش‌های نژاد زندی و رکوردهای فنوتیپی مرتبط با صفات مورد مطالعه استفاده گردید. مراحل مختلف کنترل کیفی و شناسایی نشانگرهای SNP مستقل بوسیله نرم‌افزار PLINK انجام شد. پس از مراحل مختلف کنترل کیفی، ۹۴ رأس حیوان و ۳۶۰۷۰ نشانگر برای آنالیزهای بعدی شناسایی شدند. آنالیز پویش کل ژنومی بر پایه مدل خطی مختلط برای صفات تولیدمثلی در نرم‌افزار GEMMA انجام شد. سپس با استفاده از نرم‌افزار Genome Data Viewer پایگاه برخط NCBI براساس آخرین اسمبلی (*ARS-UI-Ramb\_v2.0*) ژن‌های معنی‌داری که در داخل و یا ۳۰۰ کیلوباز بالا و پایین دست نشانگرهای معنی‌دار قرار داشتند، شناسایی شدند. در نهایت، برای شناسایی عملکرد بیولوژیکی ژن‌های نزدیک به مناطق انتخابی از طریق پایگاه‌های برخط GeneCards و UniProtKB استفاده شد.

**نتایج:** در این پژوهش تعداد هفت نشانگر تک نوکلئوتیدی واقع روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ۶، ۱۱ و ۲۳ شناسایی شدند. ژن‌های *UMPS*، *ITGB*، *SMARCAL1*، *APAF1*، *UGT8* و *ST8SIA5* که با صفات تولید مثلی در ارتباط هستند، در این مناطق قرار داشتند. برخی از این ژن‌های شناسایی شده در مناطق ژنومی معنی‌دار با مطالعات قبلی هم‌خوانی داشت. با بررسی‌های بیشتر در پایگاه‌های

برخط نشان داد ژن‌های شناسایی شده نقش مهمی در فرآیند تخمک‌اندازی، رشد و توسعه عضلات اسکلتی، رشد ابتدایی جنین و سن بلوغ داشتند.

**نتیجه گیری:** نتایج این تحقیق می‌تواند در درک ساز و کار ژنتیکی کنترل کننده صفات تولیدمثلی مورد استفاده قرار گیرد و با توجه به تأیید مناطق قبلی پویش ژنومی و شناسایی مناطق ژنومی جدید، استفاده از یافته‌های این پژوهش می‌تواند در انتخاب ژنتیکی گوسفند از طریق کاهش سن میش در اولین بهره‌زایی مفید باشد.

**کلید واژه‌ها:** آنالیز پیوستگی، صفات تولیدمثلی، گوسفند، ناحیه ژنومی

**نوع مقاله:** پژوهشی.

**استناد:** محمدی حسین، مرادی شهربابک حسین (۱۴۰۳) پویش ژنومی مرتبط با صفات سن میش در اولین بهره‌زایی و فاصله بین دو زایش در گوسفندان زندی. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی* ۱۶(۱)، ۲۰۸-۱۹۵.

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



© the authors

## مقدمه

امرار معاش بخش بزرگی از جمعیت کشور 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، کیفی و بهبود رشد ژنتیکی گام بردارند (Mohammadabadi et al. 2017). نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که بهبود عملکرد در گله‌های گوسفند معمولاً از طریق بهبود تولید و تولیدمثل حاصل می‌شود (Khaltabadi Farahani et al. 2020). گوسفند زندی یکی از نژادهای پرورشی با هدف تولید گوشت در مناطق مرکزی ایران است. گوسفند زندی کاملاً با شرایط گرم، خشک و نامساعد ایران که دارای پوشش گیاهی و مرتعی ضعیف و ناپایدار است، سازگاری دارد (Bohlouli et al., 2013). بنابراین توجه به پرورش این گوسفند برای توسعه و بهبود صفات فنوتیپی و ژنتیکی آن آثار مثبتی بر نیازهای این نژاد خواهد داشت. در پژوهش‌های گونه‌های اهلی شناسایی ژن‌های موثر بر صفات تولیدمثلی مهم و اقتصادی یکی از حوزه‌های ضروری است. 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. 2022). از سوی دیگر، تولیدمثل یک فرآیند پیچیده زیست‌شناختی بوده که علاوه بر شرایط محیطی تحت تأثیر فاکتورهای ژنتیکی نیز قرار دارد. یکی از مهم‌ترین عواملی که کارایی تولیدمثلی دام را نشان می‌دهد، سن اولین زایش است، که نشان دهنده میزان رشد جنس ماده است. سن اولین زایش شامل مدت زمانی است که یک دام برای رسیدن به بلوغ و تولیدمثل برای اولین بار

نیاز دارد (Xu et al. 2018). سن اولین بره‌زایی یکی از عوامل مؤثر بر عملکرد تولید مثلی است و معمولاً به عنوان یک صفت شاخص برای بلوغ جنسی گوسفند ماده در برنامه‌های اصلاح نژادی مورد استفاده قرار می‌گیرد. ورود دیر هنگام به دوره تولیدمثلی، ارزش اقتصادی حیوانات را کاهش می‌دهد، زیرا تعداد فرزندان بالقوه تولید شده در طول عمر آنها کاهش می‌یابد. این شاخص، به عنوان اولین پارامتر در برنامه‌های مدیریتی گله در نظر گرفته می‌شود که ممکن است تحت تأثیر اندازه بدن و شروع فعالیت‌های هورمونی سیستم تولیدمثل باشد (Salazar-Carranza et al. 2014). از طرفی تعداد نتاج متولد شده در طول عمر مفید از مهمترین صفت اقتصادی در صنعت پرورش گوسفند است. در واقع می‌شود که توان آبستنی بعد از زایش را نداشته باشند، زود حذف می‌شوند و این معیار موفقیت تولیدمثلی و اقتصاد واحدهای تولیدی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. به عبارت دیگر عملکرد تولیدمثلی می‌شود تأثیر بسزایی روی پیشرفت ژنتیکی گله دارد، بطوریکه کاهش میزان آبستنی باعث طولانی شدن نسل و افزایش حذف اجباری می‌شود خواهد شد. در طی سال‌های اخیر، تکنیک‌های بیولوژی مولکولی با سرعت شگرفی توسعه پیدا کرده و موجب گردیده است تا پروژه‌های مختلف توالی‌یابی کل ژنوم، از جمله گوسفند تکمیل شود و متعاقب آن پانل‌های مختلفی از آرایه‌های نانویی با تراکم متفاوت طراحی شده و انجام مطالعات پویس کل ژنومی را امکان پذیر نماید. مطالعه پویس ژنومی می‌تواند به شناسایی دقیق ژن‌های مرتبط با صفات اقتصادی کمک کرده و یافته‌های آن برای انتخاب به کمک نشانگر مفید باشد (Johnston et al. 2011). مطالعات مختلفی برای شناسایی مناطق ژنومی مؤثر بر صفات تولیدمثلی در گوسفند با رویکرد پویس کل ژنومی همچون چندقلوزایی انجام شده است (Abdoli et al. 2018; Xu et al. 2018; Mohammadi et al. 2022; Zhang et al. 2022; Ramos et al. 2023). ولی تحقیقات بسیار کمی در ارتباط با صفات سن اولین بره‌زایی و فاصله بین دو زایش در گوسفند انجام شده است. اخیراً، مطالعه پویس ژنومی مرتبط با صفات مهم تولیدمثلی در گوسفندان نژاد کایاس یونانی انجام شده است. این محققین گزارش کردند ژن‌های *PMS1*، *GULP1*، *PRMD2*، *PDPN* و *LRRC28* با صفت سن اولین زایش مرتبط هستند که نقش موثری در نرخ اوولاسیون، رشد و توسعه عضلات اسکلتی و باروری داشتند (Tsartsianidou et al. 2023). همچنین در پژوهشی با عنوان مطالعه پویس ژنومی در گوسفندان نژاد لری-بختیاری با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با فاصله بین دو زایش انجام شده بود موفق به شناسایی ژن *ADAMTSL1* شدند (Abdoli et al. 2019). با توجه به اینکه تا به امروز، مطالعه پویس کل ژنومی مرتبط با صفات سن اولین بره‌زایی و فاصله بین دو زایش در گوسفندان بومی نژاد زندی گزارش نشده است. بنابراین هدف از پژوهش حاضر انجام آنالیز پویس ژنومی و شناسایی مناطق ژنومی مؤثر بر صفات مورد بررسی در گوسفندان نژاد زندی 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. ایستگاه خجیر در فاصله بین تهران-آبلی در ۳۵ درجه و ۴۵ دقیقه شرقی، ۵۱ درجه ۴۰ دقیقه شمالی در ارتفاع ۱۵۴۷ متری سطح دریا قرار دارد. گله گوسفندان ایستگاه در تمام سال چرا می‌کنند و فقط در مواقع بسیار سرد سال یا در مواقعی که کیفیت مراتع مناسب نباشد و نیز در فصل جفتگیری و اواخر دوره آبستنی تغذیه تکمیلی می‌شوند. بره‌های ماده در سن ۱۸ ماهگی در معرض قوچ‌ها قرار گرفته و تا زمان حذف شدن و یا نابارور بودن در گله باقی می‌مانند. همچنین بره‌ها به طور متوسط در سن سه ماهگی شیرگیری می‌شوند. در این پژوهش از اطلاعات فنوتیپی مرتبط با صفات تولیدمثلی گوسفندان زندی شامل سن میش در اولین بره‌زایی و فاصله بین دو زایش استفاده گردید. جدول ۱ آمار توصیفی صفات مورد بررسی مرتبط با صفات تولیدمثلی در این پژوهش را نشان می‌دهد. 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 50 ng/μl جهت تعیین ژنوتیپ رقیق شد. ژنوتیپ نمونه‌ها در کمپانی Neogen (<http://genomics.neogen.com>) در کشور آمریکا با استفاده از آرایه‌های Illumina OvineSNP50K BeadChip تعیین شدند. برای ویرایش داده‌های تعیین ژنوتیپ شده، 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 پویش کل ژنومی کنار گذاشته شدند. مراحل مختلف فیلتراسیون با استفاده از نرم افزار PLINK (<http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink>; v1.90) انجام شد (Purcell et al. 2007). بعد از کنترل کیفیت، تعداد ۹۴ دام و تعداد ۳۶۰۷۰ SNP برای آنالیزهای بعدی باقی ماندند.

در مرحله بعد برای بررسی وجود یا عدم وجود لایه‌بندی جمعیتی با استفاده از روش کنترل ژنومی از طریق فاکتور تورم کنترل جمعیتی ( $\lambda$ ) در نرم افزار PLINK و ترسیم پلات‌های Q-Q در نرم افزار SNPEVWin\_3.2 استفاده شد. جهت ارتباط فنوتیپ‌ها با ژنوتیپ‌ها از نرم افزار GEMMA نسخه ۰/۹۸ استفاده شد. مدل مورد استفاده بر پایه مدل خطی مختلط به شکل زیر بود:

$$y = Wa + x\beta + Zu + e$$

که  $y$ : بردار مشاهدات فنوتیپی،  $a$  بردار اثر عوامل ثابت،  $x$ : بردار ژنوتیپ‌های نشانگر تحت آزمون،  $u$  بردار آثار پلی‌ژنیک،  $e$  بردار اثر باقی‌مانده‌های تصادفی و  $W$ ،  $\beta$  و  $Z$  ماتریس‌های طرح ارتباط دهنده.

در انتها برای تصحیح آزمون‌های چندگانه و رسیدن به سطح معنی‌داری ژنومی از آزمون بنفرونی براساس تعداد SNP‌های مستقل استفاده شد. برای این منظور با حذف SNP‌هایی که در حالت عدم تعادل پیوستگی بالایی با یکدیگر قرار داشتند، از نرم افزار PLINK استفاده شد. بدین منظور، در پنجره‌هایی شامل ۵۰ SNP و با حرکت ۵ SNP رو به جلو در هر مرحله، SNP‌های

دارای  $r^2$  (معیار عدم تعادل پیوستگی) بیش از ۰/۲ (دستور 50 5 0.2 indep-pairwise --) با یکدیگر از مجموعه داده‌ها حذف شدند. برای ترسیم گراف‌های منهتن مربوطه از نرم‌افزار SNPEVG2 استفاده گردید (Wang et al. 2012). بررسی ژن‌های گزارش شده در مناطق کاندیدا و ۳۰۰ کیلو جفت‌باز اطراف آنها از پایگاه اطلاعاتی برخط NCBI بوسیله Genome Data Viewer (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/gdv?org=ovis-aries&group=bovidae>) براساس آخرین نسخه اسبلمی گوسفند (ARS-UI\_Ramb\_v2.0) مورد بررسی قرار گرفت. همچنین 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.

### جدول ۱. آمار توصیفی صفات تولیدمثلی بررسی شده در گوسفند زندی

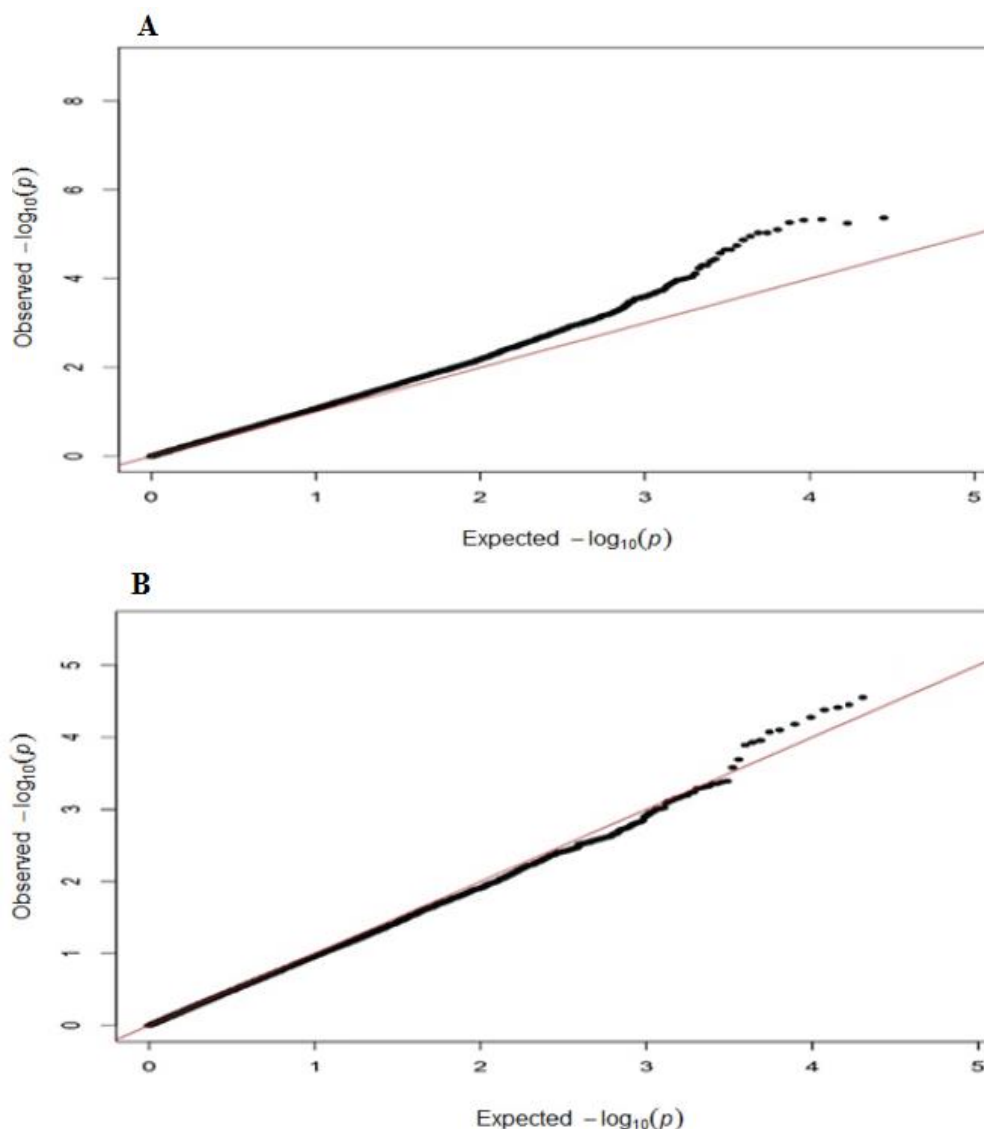
Table 1. Descriptive statistics for reproductive traits in Zandi sheep

Trait	صفت	تعداد رکورد Number of records	میانگین Mean	انحراف معیار SD (%)	CV (%)
سن میش در اولین بره‌زایی	Age at first lambing (days)	96	708.38	125.07	17.66
فاصله بین زایش اول و دوم (روز)	Interval from first to second lambing	96	352.95	81.56	23.01

### نتایج و بحث

در جدول ۱ مقایسه میانگین، انحراف معیار و ضریب تغییرات داده‌ها در بین افراد انتخابی تعیین ژنوتیپ شده برای صفات سن میش در اولین بره‌زایی و فاصله بین زایش اول و دوم نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود میانگین سن میش‌ها و ضریب تغییرات آن به ترتیب برابر با ۱/۹۳ سال و ۱۷/۶۶ درصد است. همچنین برای صفت فاصله بین دو زایش به ترتیب ۳۵۲/۹ روز و ۲۳/۱ درصد بود. در مطالعه مشابه‌ای روی گوسفندان نژاد بلوچی ضریب تغییرات مرتبط با صفات سن اولین بره‌زایی و فاصله بین دو زایش در دام‌های انتخاب شده (۹۶ رأس) برای مطالعه پوشش ژنومی به ترتیب ۱۵/۴۰ و ۲۱/۸۶ درصد گزارش شده است که مشابه نتایج تحقیق حاضر بود (Pasandideh et al., 2020). پلات‌های Q-Q و منهتن مرتبط با صفات سن میش در اولین بره‌زایی و فاصله بین دو زایش در شکل‌های ۱ و ۲ ارائه شده است. چندین روش برای تخمین کنترل تورم ژنومیکی ( $\lambda$ ) وجود دارد که در این تحقیق روش تخمین گر میانه اجرا شد. فاکتور تورم کنترل جمعیتی بزرگتر از ۱ ( $\lambda > 1$ ) وجود لایه‌بندی جمعیتی و یا خطای تعیین ژنوتیپ را نشان می‌دهد. فاکتور لامبدا از طریق تجزیه و تحلیل پیوستگی در PLINK برای صفات مورد مطالعه محاسبه شد که برای صفات سن میش در اولین بره‌زایی و فاصله بین دو زایش به ترتیب ۱/۰۶۲ و ۱/۰۳۸ بود که همان طور که مشاهده می‌شود

تقریباً برابر با ۱ بودند و نشان دهنده عدم وجود لایه بندی جمعیتی برای اجرای تجزیه و تحلیل‌های پویس کل ژنومی بود. در مطالعاتی که لامبدا کوچکتر از ۱/۱ یا مساوی ۱ است نیازی به تصحیح آثار ساختار جمعیتی نیست.



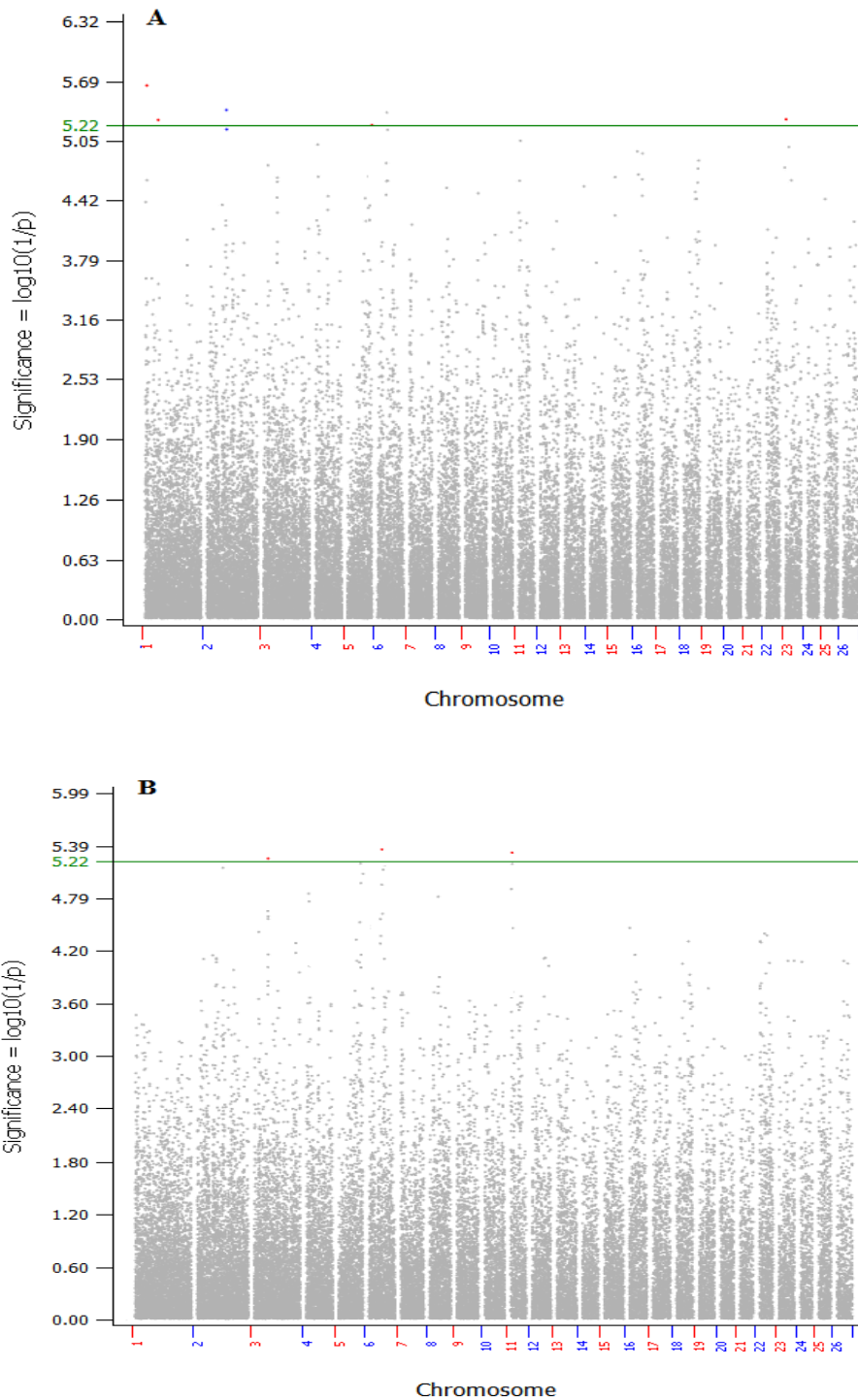
شکل ۱. پلات‌های Q-Q برای صفات سن میش در اولین بهره‌زایی (A) و فاصله بین دو زایش (B) در گوسفند زندی

**Figure 1. Plots Q-Q for (A) age at first lambing and (B) lambing interval traits in Zandi sheep**

نتایج پویس ژنومی هفت عدد نشانگر SNP در سطح ژنومی شناسایی کرد که به طور معنی‌داری در سطح ژنوم با صفات مورد مطالعه در ارتباط بودند (شکل ۲). نشانگرهای معنی‌دار به ترتیب روی کروموزوم‌های شماره ۱ (دو نشانگر)، ۲، ۳، ۶، ۱۱ و ۲۳ قرار داشتند (جدول ۲). بررسی‌های بیشتر در پایگاه‌های داده نشان داد که برخی از ژن‌های موجود در نواحی ژنومی شناسایی شده نقش



مؤثری در عملکرد تولیدمثلی دارند که در این بخش توضیحاتی در ارتباط با نقش‌های فیزیولوژیکی این ژن‌ها ارائه خواهد شد.



شکل ۲. پلات منتهن برای صفات سن اولین بره‌زایی و فاصله بین دو زایش در گوسفند زندی. محور X مکان

آل‌های ژنوتیپی روی کروموزوم‌ها و محور Y منفی لگاریتم بر مبنای ۱۰ ارزش P-value

Figure 2. Manhattan plot for (A) age at first lambing and (B) lambing interval traits in Zandi sheep. X axis, genotypes alleles positions on chromosomes, Y axis,  $-\log_{10} P$ -value

نتایج تحقیق حاضر نشان داد، دو نشانگر در نواحی ژنومی ۲۰۷/۲۱ و ۲۰۷/۳۸ مگابازی روی کروموزوم شماره ۱ به طور معنی‌داری با صفت سن میش در اولین بره‌زایی ارتباط دارند. تجزیه بیشتر در پایگاه‌های داده نشان داد که این نشانگرها با ژن‌های *UMPS* و *ITGB5* در ارتباط هستند. ژن *UMPS* در فرآیند تخم‌اندازی و تبدیل سلول‌های تکا و گرانولوزا به سلول‌های لوتال بزرگ و کوچک در جسم زرد می‌باشد (Cai et al. 2019). در مطالعه پویش ژنومی در گاوهای نژاد Vrindavani با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات تولیدمثلی، ژن *UMPS* ارتباط معنی‌داری با سن اولین زایش گزارش شده است (Gangwar et al., 2023). گزارش شده است این ژن ارتباط معنی‌داری دارد. ژن *ITGB5* یک ژن درگیر در لانه‌گزینی بوده و در اپیتلیوم رحم چسبندگی آغازین را بر عهده دارد. در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی مناطق ژنومی با صفات تولیدمثلی، ژن کاندیدای *ITGB5* در ارتباط با شاخص باروری و صفت اولین آبستنی موفق در گاو گزارش شده است (Galliou et al. 2020).

ژن *SMARCAL1* روی کروموزوم شماره ۲ در ناحیه ژنومی ۲۳۳/۲۲ مگابازی قرار دارد. نشان داده شده است این ژن نقش کلیدی در رشد و توسعه جنین در اوایل دوره باروری دارد (Uzun et al. 2009). همچنین این ژن تنظیم‌کننده کلیدی سیگنال‌دهی فاکتور رشد تغییردهنده بتا می‌باشد. در مطالعه پویش ژنومی در گوسفندان بومی آفریقایی با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با چندقلوایی، ژن *SMARCAL1* گزارش شده است (Dolebo et al. 2019).

ژن *APAF1* روی کروموزوم شماره ۳ در ناحیه ژنومی ۱۸۰/۵۰ مگابازی قرار دارد و به طور معنی‌داری با صفت فاصله بین دو زایش ارتباط دارد. ژن *APAF1* نقش مهمی در بسیاری از فرآیندهای متابولیسم و رشد و توسعه عضلات اسکلتی را بر عهده دارد (Genecards). در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی ژن‌های عملکردی مرتبط با اندازه بدن در گوسفند، ژن *APAF1* گزارش شده است (Kominakis et al. 2017).

ژن *UGT8* روی کروموزوم شماره ۶ در ناحیه ژنومی ۱۱/۰۰ مگابازی به عنوان ژن کاندیدا گزارش شده است. این ژن طی فاز توسعه سریع بلاستوسیت بیان می‌شود که دوره حیاتی برای زنده‌مانی جنین است. نتایج مطالعات نشان داده است که چندشکلی در این ژن با صفات باروری و سن بلوغ در گاوهای پرورش یافته در مناطق گرمسیری در ارتباط است (Fortes et al. 2013). در مطالعه پویش ژنومی در گوسفندان نژاد Katahdin با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با باروری، ژن کاندیدای *UGT8* گزارش شده است (Ramos et al. 2023).

ژن *ST8SIA5* روی کروموزوم شماره ۲۳ در ناحیه ژنومی ۴۷/۴۳ مگابازی به عنوان ژن کاندیدا گزارش شده است. این ژن پروتئینی را کد می‌کند که در رحم و در اوایل آبستنی حضور دارد. این پروتئین‌ها به رتینول متصل می‌شوند، سپس رتینول متصل شده به وسیله سلول‌ها پذیرفته شده و جنین‌زایی آغاز می‌شود (Messer et al. 1996). در مطالعه پویش ژنومی در گوسفندان نژاد Pelibuey با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با دوقلوایی ژن کاندیدای *ST8SIA5* گزارش شده است (Hernández-Montiel et al. 2020).

جدول ۲. نتایج پویش ژنومی با مدل خطی مختلط برای شناسایی نواحی ژنومی و ژن‌های موجود مرتبط با صفات سن اولین بره‌زایی و فاصله بین دو زایش در گوسفند

**Table 2. GWAS results obtained from linear mixed model to identify genomic regions and genes associated with age at first lambing and lambing interval traits in sheep**

شماره	ID نشانگر	آلل ۱	آلل ۲	حداقل فراوانی	موقعیت ژنومی	ژن کاندیدای مرتبط
کروموزوم	SNP ID	A1	A2	آلل نادر	(جفت باز)	با تولیدمثل
Number of chromosomes				MAF	Genomic position (bp)	Candidate gene related to reproductive
1	OAR1_223897759.1	C	T	0.326	207218837	UMPS
1	OAR1_224089918.1	A	G	0.285	207385375	ITGB5
2	s28484.1	C	T	0.291	233226868	SMARCAL1
3	s01490.1	G	A	0.174	180506884	APAF1
6	OAR6_13645063.1	T	C	0.285	11004274	UGT8
23	s07255.1	T	C	0.217	47438785	ST8SIA5

تا کنون تعداد معدودی آنالیز پویش ژنومی با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفت سن اولین زایش و فاصله بین دو زایش در نژادهای مختلف گوسفند بومی در ایران انجام شده است که منجر به شناسایی و معرفی ژن‌های کاندیدای مختلفی شده است. در مطالعه پویش ژنومی مرتبط با صفات سن اولین بره‌زایی و فاصله بین دو زایش در گوسفندان نژاد بلوچی، ژن‌های کاندیدای *FAM155A* و *SYT13* گزارش شده است (Pasandideh et al. 2020). در همین رابطه در گوسفند نژاد لری-بختیاری نشان داده شده است که واریانت‌های متفاوت ژن *ADAMTSL1* در تنوع موجود در صفت فاصله بین دو زایش این نژاد نقش دارد (Abdoli et al. 2019). همچنین در مطالعه پویش ژنومی انجام شده روی گوسفندان نژاد لری-بختیاری، ژن *LHCGR* به عنوان ژن کاندیدا مؤثر بر دو قلوزایی معرفی شده است (Abdoli et al. 2018). تفاوت در نتایج مطالعات مختلف پویش ژنومی می‌تواند به دلیل تفاوت‌های بین نژادی، روش‌های مورد استفاده در تجزیه داده‌ها و اندازه نمونه تعیین ژنوتیپ شده و دارای فنوتیپ باشد. این موضوع نشان می‌دهد که ساز و کارهای زیستی متفاوتی در تنوع موجود در صفات تولیدمثلی در بین نژادهای مختلف وجود دارد و می‌توان با آنالیز پویش ژنومی، ژن‌های کاندیدای مؤثر بر این صفت مهم اقتصادی را شناسایی کرد. با توجه به اینکه وراثت پذیری گزارش شده در مطالعات مختلف گوسفندان بومی برای صفت سن میش در اولین بره‌زایی در بین صفات تولید مثلی مهم از جمله تعداد بره متولد شده بالاتر می‌باشد (۰/۱۴۹ در مقابل ۰/۰۲۹). لذا به نظر می‌رسد توجه به این صفت در برنامه‌های اصلاح نژادی، احتمالاً مناسب‌ترین روش برای بهبود ژنتیکی راندمان تولیدمثلی در گوسفند باشد (Vatankhah et al. 2008; Pezhman and

(Zamani 2012). در مجموع، نتایج این تحقیق می‌تواند منبع اطلاعاتی با ارزشی در جهت شناسایی ژن‌های مرتبط با سن اولین زایش و فاصله بین دو زایش ارائه دهد و آغازی برای بررسی‌های بیشتر در این زمینه و استفاده از اطلاعات به‌دست آمده در شناسایی ویژگی‌های ژنتیکی این صفات 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 مناطق ژنومی استفاده شده است. با توجه به امکان تعیین توالی‌یابی کل ژنوم، از اینرو پیشنهاد می‌شود مطالعات دقیق‌تر با استفاده از 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 مجموع، نتایج حاصل از پویس ژنومی منجر به شناسایی هفت نشانگر SNP در سطح ژنوم گردید که به طور معنی‌داری با صفات مورد مطالعه در گوسفند نژاد زندی در ارتباط بودند. بررسی عملکرد ژن‌های موجود در این مناطق ژنومی نشان داد که ژن‌های *UMPS*، *SMARCA1*، *ITGB*، *APAF1*، *UGT8* و *ST8SIA5* نقش مؤثری در باروری و موفقیت آبستنی دارند و می‌توانند در برنامه‌های اصلاح نژادی مورد استفاده قرار گیرند.

**سپاسگزاری:** از شرکت دانش بنیان ساینما 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

- پژمان لیلیا، زمانی پویا (۱۳۹۱) برآورد اجزای واریانس و پارامترهای ژنتیکی برخی صفات تولیدمثلی در گوسفند نژاد مهربان با کمک مدل‌های تک متغیره. نشریه پژوهش‌های علوم دامی، ۲۲(۳)، ۲۷-۳۵.
- خلت‌آبادی فراهانی، امیرحسین محمدی، حسین، مرادی محمد حسین (۱۳۹۹) تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی با استفاده از مطالعات پویس کل ژنومی جهت شناسایی ژن‌ها و مسیرهای مرتبط با تعداد نتاج در نژادهای مختلف گوسفند. تولیدات دامی، ۲۲(۳)، ۳۲۵-۳۳۵.
- محمدی حسین، مرادی شهربابک حسین، طاهری یگانه امیر (۱۴۰۱) پویس کل ژنوم بر پایه روش آماری غنی‌سازی شبکه ژنی (آنالیز مسیر) مرتبط با تعداد بره متولد شده در هر زایش متعلق به گوسفند زندی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۴(۱)، ۱-۱۰۱.

## References

- Abdoli R, Mirhoseini SZ, Ghavi Hossein-Zadeh N, et al. (2018) Genome-wide association study to identify genomic regions affecting prolificacy in Lori-Bakhtiari sheep. *Anim Genet* 49(5), 488-491.
- Abdoli R, Mirhoseini SZ, Ghavi Hossein-Zadeh N, et al. (2019). Genome-wide association study of first lambing age and lambing interval in sheep. *Small Rum Res* 178, 43-45.
- Amiri Roudbar M, Mohammadabadi MR, Mehrgardi AA, et al. (2017) Estimates of variance components due to parent-of-origin effects for body weight in Iran-Black sheep. *Small Rum Res* 149, 1-5.
- Bohlouli M, Mohammadi H, Alijani S (2013) Genetic evaluation and genetic trend of growth traits of Zandi sheep in semi-arid Iran using random regression models. *Small Rum Res* 114, 195–201.
- Cai Z, Guldbbrandtsen B, Lund MS, et al. (2019) Prioritizing candidate genes for fertility in dairy cows using gene-based analysis, functional annotation and differential gene expression. *BMC Genom* 20, 255.
- Dolebo AT, Khayat-zadeh N, Melesse A, et al. (2019) Genome-wide scans identify known and novel regions associated with prolificacy and reproduction traits in a sub-Saharan African indigenous sheep (*Ovis aries*). *Mamm Genome* (11), 339-352.
- Fortes MRS, Reverter A, Kelly M, et al. (2013) Genome-wide association study for inhibin, luteinizing hormone, insulin-like growth factor 1, testicular size and semen traits in bovine species. *Andrology* 1, 644–650.
- Gangwar M, Kumar S, Ferdous Ahmad A, et al. (2023) Identification of genetic variants affecting reproduction traits in Vrindavani cattle. *Res Sq* 1, 29.
- Galliou JM, Kiser JN, Oliver KF, et al (2020) Identification of Loci and Pathways Associated with Heifer Conception Rate in U.S. Holsteins. *Genes (Basel)* 11, 767.
- Hernández-Montiel W, Martínez-Núñez MA, Ramón-Ugalde JP, et al. (2020) Genome-Wide Association Study Reveals Candidate Genes for Litter Size Traits in Pelibuey Sheep. *Animals (Basel)* 10(3), 434.
- Johnston SE, McEwan JC, Pickering NK, et al. (2011) Genome-wide association mapping identifies the genetic basis of discrete and quantitative variation in sexual weaponry in a wild sheep population. *Mol Ecol* 20, 2555–2566.
- Kominakis A, Hager-Theodorides AL, Zoidis E, et al. (2017) Combined GWAS and 'guilt by association'-based prioritization analysis identifies functional candidate genes for body size in sheep. *Genet Sel Evol* 49(1), e41.

- Messer LA, Wang L, Yelich J, et al. (1996) Linkage mapping of the retinol binding protein 4 (RBP4) gene to porcine chromosome 14. *Mammalian Genome* 7, 396-410.
- 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.
- Mohammadi H, Khaltabadi Farahani HK, Moradi MH, et al. (2022) Weighted Single-Step Genome-Wide Association Study Uncovers Known and Novel Candidate Genomic Regions for Milk Production Traits and Somatic Cell Score in Valle del Belice Dairy Sheep. *Animals (Basel)* 12(9), 11-55.
- Pasandideh M, Gholizadeh M, Rahimi-Mianji G (2020) Identification of two novel SNPs affecting lambing traits in sheep by using a 50K SNP-Chip. *Small Rum Res* 191, e106193.
- Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, et al. (2007) PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet* 81(3), 559-575.
- Ramos Z, Garrick DJ, Blair HT, et al. (2023) Genomic Regions Associated with Wool, Growth and Reproduction Traits in Uruguayan Merino Sheep. *Genes* 14, 167.
- Salazar-Carranza M, Castillo-Badilla G, Murillo-Herrera J, et al. (2014) Effect of age at first calving on first lactation milk yield in Holstein cows from Costa Rican specialized dairy herds. *Open J Vet Med* 4(09), e197.
- Tsartsianidou V, Pavlidis A, Tosiou E, et al. (2023) Novel genomic markers and genes related to reproduction in prolific Chios dairy sheep: a genome-wide association study. *Animal* (3), e100723.
- Xu SS, Gao L, Xie XL, et al. (2018). Genome-Wide Association Analyses Highlight the Potential for Different Genetic Mechanisms for Litter Size Among Sheep Breeds. *Front Genet* 9, e118.
- Uzun A, Rodriguez-Osorio N, Kaya A, et al. (2009) Functional genomics of HMGN3a and SMARCAL1 in early mammalian embryogenesis. *BMC Genom* 10, e183.
- Vatankhah M, Talebi MA, Edriss MA (2008) Estimation of genetic parameters for reproductive traits in Lori-Bakhtiari sheep. *Small Rum Res* 74, 216-220.
- Wang S, Dvorkin D, Da Y (2012) SNPEVG: A graphical tool for GWAS graphing with mouse clicks. *BMC Bioinform* 13, e319.
- Zhang Z, Sui Z, Zhang J, et al. (2022) Identification of Signatures of Selection for Litter Size and Pubertal Initiation in Two Sheep Populations. *Animals* 12, e2520.