

Identification of genomic regions related to lactation persistency and milk production traits in different sheep breeds

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

Amir Hossein Khaltabadi Farahani 

Associate Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran. Email: a-farahani@araku.ac.ir

Abstract

Objective

Lactation persistence and milk production are among the most economically important traits in the dairy sheep industry. Lactation persistency is defined as the ability of a sheep to maintain milk production at a high level after reaching peak production. Identifying selection signatures can provide valuable insights about the genes or genomic regions that have been under selection pressure, which in turn leads to a better understanding of genotype-phenotype relationships. This study aimed to identify genomic regions with positive selection signatures related to lactation persistency and milk production in sheep breeds using the FST method.

Materials and Methods

In this study, data from Zandi (96 samples), Chios (317 samples), and Valle del Belice (481 samples) sheep, genotyped using a 50K BeadChip, were used to identify genomic regions under selection associated with milk traits. After quality control of the initial data using PLINK software, 36,605 SNP markers in 880 sheep were retained for further analysis. To identify the selection signatures, the statistical method of FST was employed using the FST software package. Candidate genes were identified by SNPs located in the top 0.1% of FST values. The GeneCards and UniProtKB databases were also used to interpret the functions of the identified genes.

Results

Using the FST approach, we identified ten genomic regions on chromosomes 1, 2, 4, 6, 8, 9, 11, 13, 17, and 20 that were in the 99.9th percentile of all FST values. The identified candidate genes associated with milk and lactation persistency traits in these genomic regions included *FAIM*, *CEP70*, *TLR4*, *SLC37A3*, *KDM7A*, *HERC6*, *NT5DC1*, *SPIDR*, *SMOX*, and *RNF144B*. Genes located in these identified regions under selection were associated with milk production, milk fat synthesis, lactation persistency, inflammatory response, and immune system functions, which can be directly and indirectly related to milk production traits. Additionally, a review of the extracted QTLs showed that these QTLs are involved in economically important traits in sheep, such as milk yield, milk fat composition, milk fat percentage, and milk yield persistence.

Conclusions

The genes identified within these regions can be considered candidates under selection based on their functions. However, further association and functional studies are necessary to confirm the implications of the genes obtained from this analysis. The results of this research can be used to understand the genetic mechanisms controlling milk production and persistency traits. These findings could potentially support genetic selection in sheep for improved milk yield and lactation persistence following peak lactation.

Keywords: F_{ST} statistics, production peak, candidate gene, milk fat, sheep

Paper Type: Research Paper.

Citation: Mohammadi H. & Khaltabadi Farahani A. M. (2025) Identification of genomic regions related to lactation persistency and milk production traits in different sheep breeds. *Agricultural Biotechnology Journal* 17 (1), 141-160.

Agricultural Biotechnology Journal 17 (1), 141-160.

DOI: 10.22103/jab.2025.23541.1572

Received: December 9, 2024.

Received in revised form: January 29, 2025.

Accepted: January 30, 2025.

Published online: January 30, 2025.


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



© the authors


شناسایی مناطق ژنومی کاندیدای تحت انتخاب مثبت مرتبط با صفات تولید و تداوم

شیردهی در نژادهای مختلف گوسفند

حسین محمدی 

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

H-mohammadi64@araku.ac.ir

امیر حسین خلت‌آبادی  فراهانی

دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران. رایانامه: a-farahani@araku.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۱۸ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۳/۱۱/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۱۱

چکیده

هدف: کل شیر تولیدی و تداوم شیردهی از مهمترین صفات اقتصادی در صنعت پرورش گوسفند می‌باشد. تداوم شیردهی بصورت توانایی حیوان جهت نگهداشتن تولید در سطح بالا بعد از اوج تولید تعریف می‌گردد. از طرف دیگر، شناسایی نشانه‌های انتخاب می‌تواند دیدگاه‌های ارزشمندی در مورد مناطق ژنومی که تحت انتخاب مثبت هستند فراهم کند. هدف از این مطالعه، شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب مثبت و ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفات تولید و تداوم شیردهی در نژادهای گوسفند شیری و غیر شیری از طریق روش‌های شناسایی ردپای انتخاب بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش از اطلاعات ژنوتیپی گوسفندان غیر خویشاوند مربوط به گوسفندان نژادهای زندی (۹۶ رأس)، کایاس (۳۱۷ رأس) و وال دل بیلز (۴۸۱ رأس) تعیین ژنوتیپ شده توسط آرایه‌های 50K شرکت ایلومینا استفاده شد. پس از کنترل کیفیت داده‌های اولیه تعیین ژنوتیپ شده در برنامه PLINK نهایتاً ۳۶۶۰۵ نشانگر SNP و ۸۸۰ رأس دام وارد آنالیزهای بعدی شدند. برای شناسایی نواحی ژنومی تحت انتخاب از آزمون آماری برآوردگر ناریب F_{ST} (تتا) با کد نویسی در برنامه R استفاده شد. ژن‌های کاندیدا با استفاده از SNP‌هایی که در بازه‌ی ۰/۱ درصد ارزش بالای این آزمون واقع شده بودند، شناسایی شدند. همچنین برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های به دست آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی آنلاین GeneCards و UniProtKB استفاده شد.

نتایج: نتایج حاصل از آماره تتا در این پژوهش منجر به شناسایی ده منطقه ژنومی روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۴، ۶، ۸، ۹، ۱۱، ۱۳، ۱۷ و ۲۰ بودند و در صدک ۹۹/۹ کل ارزش‌های تتا قرار داشتند. ژن‌های کاندیدای شناسایی شده مرتبط با صفات تولید و تداوم شیردهی در این مناطق ژنومی شامل ژن‌های *NT5DC1*، *HERC6*، *KDM7A*، *SLC37A3*، *TLR4*، *CEP70*، *FAIM*، *RNF144B* و *SMOX* بودند. آنالیز بیوانفورماتیکی نشان داد که مناطق ژنومی شناسایی شده با ژن‌های مؤثر بر در تولید شیر، سنتز و تولید چربی شیر، تداوم شیردهی، پاسخ التهابی و سیستم ایمنی بدن همپوشانی دارند. همچنین نتایج حاصل از بررسی QTL نشان داد مناطق ژنومی شناسایی شده با صفات عملکرد تولید، درصد چربی شیر، ترکیب اسیدهای چرب شیر و تداوم شیردهی در مطالعات پیشین همپوشانی دارند.

نتیجه‌گیری: ژن‌های متعددی که در نواحی شناسایی شده بر اساس عملکرد می‌توانند بعنوان کاندیداهای تحت انتخاب مطرح باشند. به هر حال بررسی بیشتر ژن‌های مرتبط با مناطق ژنومی بدست آمده از مطالعات جستجوی پویا ژنومی ضروری است. نتایج این تحقیق می‌تواند در درک ساز و کار ژنتیکی کنترل کننده صفات تولید شیر با هدف افزایش تولید شیر سالانه از طریق تداوم شیردهی بعد اوج شیردهی در طی یک دوره مورد استفاده قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: آماره FST، اوج تولید، چربی شیر، ژن کاندیدا، گوسفند

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: محمّدی حسین، خلت‌آبادی فراهانی امیر حسین (۱۴۰۴) شناسایی مناطق ژنومی کاندیدای تحت انتخاب مثبت مرتبط با صفات تولید و تداوم شیردهی در نژادهای مختلف گوسفند. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۷(۱)، ۱۴۱-۱۶۰.*

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant



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

© the authors

مقدمه

به‌طور کلی گوسفند یک دام چندمنظوره است و بخصوص از نظر تولید گوشت، پشم، پوست و شیر مورد توجه است (Shokri et al. 2023). گوسفند موجودی اجتماعی، زیبا، بسیار آرام و مفیدی است که تمایل زیادی به گله خود دارد و بدون داشتن گله نگهداری و پرورش آن خیلی سخت است. آن‌ها گاهی اوقات رفتارهای شگفت‌انگیزی از خود نشان می‌دهند و هوشمندانه با مسائل رفتار می‌کنند. گوسفندان می‌توانند بین خود رابطه دوستانه برقرار کرده و زمانی که گله آن‌ها توسط عامل خارجی تهدید شوند به هم می‌چسبند و سعی می‌کنند از خود دفاع کنند (Safaei et al. 2022; Jafari Ahmadabadi et al. 2023). گوسفند یک حیوان

نسبتاً خوش‌بنیه‌ای است که آب‌وهوای متغییر و خشک را تحمل می‌کند و با فقیرترین علوفه و غذاها به رشد خود ادامه می‌دهد. گوسفند در مقایسه با سایر دام‌ها به جیره نگهداری کمتری احتیاج دارد و بیشتر غذایی را که دریافت می‌کند صرف تولید رشد و نمو خود می‌نماید (Mohammadabadi et al. 2024). به همین سبب در بیشتر کشورهای دنیا از نقطه‌نظر اقتصادی در رتبه اول پرورش قرار دارد (Safaei et al. 2024; Vahabzadeh et al. 2021). گوسفند می‌تواند زمین‌های نامرغوبی را که برای کشت و زرع مناسب نیست با ایجاد مرتع مصنوعی مورد استفاده قرار دهد. گوسفند بهترین دام اهلی هستند که می‌توانند از مراتع و پس‌چرهای زراعی تعلیف نمایند (Shokri 2023; Ghotbaldini et al. 2019). انواع فرآورده‌های گوسفند را در تمام طول سال می‌توان به بازار عرضه کرد، به همین جهت دامدار کمتر با مشکلات مالی مواجه می‌شود. در طول قرن‌ها بشر از این حیوان برای برطرف کردن برخی از نیازهای خود مانند نیاز به غذا (از طریق تولید گوشت و شیر)، نیاز به تأمین پوشش و لباس (از طریق تولید پشم) استفاده می‌کند (Hajalizadeh et al. 2021; Amirteymoori et al. 2021). گوشت مهم‌ترین محصول دامی تولیدشده توسط گوسفندان است به عبارتی تولید گوشت قرمز اولویت اول پرورش‌دهندگان گوسفند است. به طوری که با وجود اینکه مصرف گوشت طیور، گاو و گوساله طی سال‌های اخیر افزایش یافته است، ولی مصرف گوشت گوسفندی از لحاظ کیفی از جمله ذائقه مصرف و تنوع غذایی بر سایر گوشت‌های مصرفی برتری دارد که منبع مغذی بسیاری از ویتامین‌ها، پروتئین‌های حیاتی برای داشتن زندگی سالم می‌باشد (Nejad et al. 2024; Saadatabadi et al. 2023). شیر گوسفندان به‌عنوان یک ماده‌ی غذایی کامل شناخته می‌شود و اغلب در تولید پنیر و ماست استفاده می‌شود. همچنین برخلاف سایر فرآورده‌ها، پشم به‌آسانی و برای مدت طولانی می‌تواند ذخیره شود و در موقع لزوم به بازار عرضه شود (Mohammadipour 2023). از چربی خالص پشم ماده‌ای به نام لانولین تولید می‌شود که به‌عنوان ماده اصلی مخلوط‌کننده کرم‌های طبی و آرایشی استفاده می‌شود (Hajalizadeh et al. 2019). همچنین از فضولات گوسفند به‌عنوان کود کشاورزی استفاده می‌شود (Mohammadinejad et al. 2022). هم‌اکنون مشخصات ۲۷ نژاد گوسفند در ایران شناسایی شده است (Mohammadabadi et al. 2023). تولید شیر به‌عنوان بخش مهمی از اهداف پرورش و برنامه‌های اصلاح نژادی گوسفند می‌باشد. در این خصوص بهبود در عملکرد تولیدی گوسفندان شیری صورت گرفته است (Li et al. 2020). تولید شیر در کل دوره و تداوم شیردهی دو عامل مهم در سودآوری این صنعت هستند. عوامل اصلی تعیین‌کننده مقدار کل شیر تولیدی شامل میزان تولید شیر در اوج شیردهی، تداوم و طول دوره شیردهی می‌باشد. به توانایی حیوان جهت نگهداشتن تولید در سطح بالا بعد از اوج تولید، تداوم شیردهی گفته می‌شود (Stefanon et al. 2002). به دلیل ارتباط تداوم شیردهی با تولید، تولیدمثل، سلامتی و رفاه دام و تغذیه، این صفت از جمله صفات مهم اقتصادی مورد توجه در اصلاح نژاد دام است. به طور کلی انتخاب برای افزایش تولید شیر منجر به عدم کارایی تولید مثل و افزایش حساسیت به بیماری‌ها می‌گردد (Pulina et al. 2007). یکی از راهکارهای افزایش تولید شیر همراه با کاهش بیماری ورم پستان و مشکلات تولیدمثلی، توجه به تداوم شیردهی می‌باشد، بطوریکه با انتخاب براساس تداوم شیردهی، استرس اوج تولید را کم کرده و تولید بالای بعد از اوج را حفظ می‌نماید. در نتیجه این انتخاب منحنی شیردهی با تداوم شیردهی بیشتر خواهد شد (Jonas et al. 2011).

نتایج تحقیقات گسترده در طی چند سال اخیر نشان داده است که اهلی کردن و به دنبال آن شکل‌گیری نژادها و انتخاب طبیعی یا مصنوعی باعث ایجاد نشانه‌های انتخاب مثبت در مناطق ژنومی شده است (Cheruiyot et al. 2018). انتخاب می‌تواند منجر به تغییر فراوانی یک آلل در جمعیت بشود در حالیکه فراوانی آن در جمعیت‌هایی که تحت انتخاب نبوده‌اند بدون تغییر باقی می‌ماند. نتیجه این حالت ایجاد تفرق در بین جمعیت‌ها در این مناطق ژنومی است. بنابراین تفاوت به نسبت زیاد در فراوانی آلی بین جمعیت‌ها نیز می‌تواند به عنوان نشانه‌ای از انتخاب مثبت در جایگاه‌های ژنی مربوط به شمار آید (Chen et al. 2019). شناسایی نشانه‌های انتخاب از دو دیدگاه مهم می‌باشند، اول اینکه این نشانه‌ها حاوی اطلاعات ارزشمندی در خصوص تکامل و عوامل مؤثر بر تکامل را فراهم می‌کنند. دوم اینکه جایگاه‌های ژنی شناخته شده و تنوع ژنتیکی صفات کمی آشکار می‌شود. از طرفی دیگر اهلی‌سازی و انتخاب به شدت در ویژگی‌های ظاهری و رفتاری حیوانات اهلی امروزی تغییر ایجاد کرده است. در این مسیر، انتخاب‌های انجام شده توسط انسان نشانه‌های قابل شناسایی را در ژنوم دام‌های امروزی به جا گذاشته که آشکار نمودن این نشانه‌ها می‌تواند به اصلاح و بهبود ژنتیکی صفات مهم اقتصادی در این دام‌ها کمک کند (Fleming et al. 2019). یکی از مهم‌ترین آزمون‌های آماری شناسایی نشانه‌های انتخاب، آماره تمایز جمعیتی یا شاخص تثبیت (F_{ST}) می‌باشد. یکی از مشکلات اصلی روش این می‌باشد که خطای نمونه‌گیری را در نظر نمی‌گیرد که این مورد با استفاده از روش ناریب تتا (θ , Theta) تصحیح شده است. از روش شناسایی نشانه‌های انتخاب جهت شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات تولید و ترکیبات شیر در نژادهای مختلف گوسفند استفاده شده است. پژوهشی با هدف شناسایی مناطق ژنومی و ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفات تولید شیر با استفاده از آماره F_{ST} انجام شده است. در آن تحقیق با مقایسه گوسفندان نژاد شیری شامل Assaf و Awassi با نژادهای گوشتی Cambridge, British du cher و Romanov، ژن‌های کاندیدای *VPS13B*، *SLC35A3*، *CSN1S1*، *OSBPL8*، *CSN2*، *ST3GAL1* و *CYTH4* مرتبط با تولید شیر و ژن‌های کاندیدای *CCDC152*، *DPY19L1* و *NT5DC1* مرتبط با تداوم شیردهی گزارش شده است (Rezvannejad et al. 2022). در مطالعه پویس ژنومی دیگری با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب در نژادهای مختلف گوسفندان شیری شامل East Friesian، Meade و Awassi با تولید بالا و نژادهای Han، Churra، Hu، Suffolk و Finland با تولید پایین انجام شده بود، ژن‌های کاندیدای *SLC29A4*، *GHR*، *ARNT*، *CTSS*، *CTSK*، *FCGR3A* و *RORI* و *TNRC18* مرتبط با تولید و ترکیبات شیر گزارش شده است (Li et al. 2023).

نژاد کایاس مورد استفاده در پژوهش حاضر، یکی از بهترین نژادهای گوسفند شیری کشور یونان از نظر صفات تولید شیر و تداوم شیردهی می‌باشد. بطوریکه این نژاد دارای تولید شیر بالا و عملکرد تولیدی مطلوبی در سیستم‌های پرورشی صنعتی و نیمه صنعتی است (Argyriadou et al. 2020). بطوریکه میزان شیر تولیدی در این نژاد طی یک دوره شیرواری ۱۷۰ روزه برابر با ۳۰۷ لیتر بوده و درصد چربی و پروتئین شیر به ترتیب برابر با ۶/۲٪ و ۵/۵٪ است (Basdagianni et al. 2019). همچنین نژاد وال دل بیلس مورد استفاده در پژوهش حاضر، یکی از بهترین نژادهای گوسفند متوسط وزن و ممتاز کشور ایتالیا از لحاظ صفات

تولید و ترکیبات شیر گوسفندی می‌باشد. میزان طول شیر در این نژاد طی یک دوره شیرواری ۱۲۰ روزه برابر با 210 ± 62 لیتر می‌باشد و درصد چربی و پروتئین شیر به ترتیب برابر با ۶٪ و ۵/۵٪ است. گوسفند نژاد وال دل بیلس، به نژاد تولید شیر با پروتئین بالا شهرت داشته و شیر تولیدی حاصل از این نژاد برای ساخت پنیر بسیار مناسب است (Di Gerlando et al. 2019). یکی از خصوصیات اصلی در این نژاد تداوم شیردهی بالا بعد از اوج تولید می‌باشد (Sutera et al. 2018). انتخاب برای صفات مهم اقتصادی مرتبط با تولید شیر در گوسفند طی نسل‌های گذشته می‌تواند منجر به ایجاد نشانه‌های انتخاب در سطح ژنوم شده باشد که بررسی و ردیابی این نشانه‌ها می‌تواند در شناسایی این مناطق و ژن‌های کاندیدای مؤثر بر تولید و ترکیبات شیر مفید باشد. بنابراین هدف از پژوهش حاضر شناسایی مناطق ژنومی و ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفات تولید و تداوم شیردهی شیر در مقایسه گوسفندان نژاد شیری (کایاس و وال دل بیلس) با گوسفند بومی زندی با استفاده از آماره F_{ST} برای پویش نشانه‌های انتخاب مثبت است.

مواد و روش‌ها

از ۹۶ گوسفندان نژاد زندی حاضر در گله مرکز اصلاح نژاد خجیر واقع در تهران وابسته به سازمان جهاد کشاورزی استان تهران، مقدار ۷-۵ سی‌سی خون استحصال و همراه با ۰/۵ میلی لیتر EDTA در لوله‌های خلاء با pH ۵-۸/۷ 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، غلظت آنها تا $50 \text{ ng}/\mu\text{L}$ جهت تعیین ژنوتیپ رقیق شد. ژنوتیپ نمونه‌ها در کمپانی Neogen (<http://genomics.neogen.com>) در کشور آمریکا با استفاده از آرایه‌های Illumina OvineSNP50K BeadChip با بکارگیری پروتکل استاندارد شرکت ایلومینا (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) تعیین ژنوتیپ شدند. این آرایه‌ها امکان تعیین ژنوتیپ همزمان ۵۴۲۴۱ جایگاه نشانگری با میانگین فاصله بین نشانگرها ۵۰/۹ کیلوباز را فراهم می‌کنند (Illumina OvineSNP50 BeadChip Datasheet).

در پژوهش حاضر از اطلاعات ژنوتیپی و فنوتیپی مجموع ۳۱۷ رأس گوسفندان غیر خویشاوند مربوط به نژاد شیری کایاس^۱ استفاده گردید. نمونه‌ها با استفاده از آرایه‌های شرکت ایلومینا Ovine SNP50 Bead Chip برای ۵۴۲۴۱ جایگاه نشانگری تعیین ژنوتیپ شده بودند. داده‌های مورد استفاده این پژوهش در پایگاه برخط Zenodo (<https://zenodo.org/deposit>) با شماره دسترسی 8344546 در دسترس می‌باشد. همچنین در این پژوهش از اطلاعات مربوط به تعیین ژنوتیپ و رکوردهای مرتبط با ۴۸۱ رأس از گوسفندان شیری نژاد وال دل بیلس^۲ که با استفاده از آرایه‌های شرکت ایلومینا Ovine SNP50 Bead Chip برای ۵۴۲۴۱ جایگاه نشانگری تعیین ژنوتیپ شده بودند، استفاده گردید. داده‌های مورد استفاده در این نژاد در پایگاه برخط OSF (https://osf.io/ajwcb/?view_only=92ab35dec6564d28bcc259c549509a0b) در دسترس می‌باشند. با توجه به

¹ Chios

² Valle del Belice

اینکه منبع انتشار دو سری داده متفاوت از هم بودند، قبل از ادغام داده‌ها، ابتدا شناسه‌های منحصر بفرد و موقعیت کروموزومی یکسان برای دو سری داده‌ی مورد استفاده با استفاده از نرم افزار SNPchiMp v.3 تعیین شدند (Nicolazzi et al. 2015). سپس داده‌ها با اطلاعات ژنومی مشترک و با کمک دستور merge- نرم افزار PLINK1.9 باهم ادغام شدند (Chang et al. 2015). برای فیلتراسیون داده‌های ژنومی از معیارهای فراوانی نمونه‌های تعیین ژنوتیپ شده، نرخ تعیین ژنوتیپ نشانگرها در هر نمونه و فراوانی آلل نادر (MAF^3) استفاده شد. در ابتدا نمونه‌هایی که فراوانی تعیین ژنوتیپ در آنها کمتر از ۹۰ درصد بود، شناسایی و حذف شدند. در مرحله بعد نشانگرهایی که فراوانی آلل نادر در آنها کمتر از ۵ درصد بود حذف شدند. سپس نشانگرهایی که نرخ تعیین 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، به عنوان معیاری از خطای تعیین ژنوتیپ کنار گذاشته شدند. بدین منظور سطح احتمال 10^{-6} در نظر گرفته شد. مراحل مختلف فیلتراسیون با استفاده از نرم افزار PLINK (نسخه ۱/۹۰) انجام شد (Chang et al., 2015). آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA^4) پس از گذراندن مراحل کنترل کیفیت داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار PLINK V1.9 محاسبه و گراف مربوطه توسط برنامه R نسخه (۴/۲/۲) ترسیم شد تا علاوه بر تفکیک نژادها، دام‌هایی که خارج از توده نژادی خود قرار دارند، برای حذف شناسایی شوند.

آنالیز آماری شناسایی نشانه‌های انتخاب: در این پژوهش برای شناسایی نشانه‌های انتخاب مرتبط با تولید و تداوم

شیردهی به دو گروه نژادی شامل نژاد بومی زندگی (شاهد) و نژادهای شیری کایاس و وال دل بیلز (موردی) دسته‌بندی شدند. سپس 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 تتا (θ) (Weir and Cockerham 1984) محاسبه می‌شود. یکی از مشکلات اصلی روش رایت، عدم نظر گرفتن خطای نمونه‌گیری است که این مشکل توسط ویر و کوکرهام با ارائه روش تتا تصحیح شد که بدون در نظر گرفتن تعداد گروه‌های نمونه‌گیری شده و تعداد افراد داخل هر گروه است. ارزش‌های به‌دست آمده از این روش‌ها بین صفر تا یک متغیر است. محاسبه‌های مربوط به دو روش رایت و تتا در محیط R برنامه‌نویسی شد. 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 پنجره‌های پشت سرهم^۵ (CW) با طول ۵ نشانگر استفاده شد (Kim et al. 2015) و تنها ۰/۱ درصد مناطقی از ژنوم که در آن تمام نشانگرهای مجاور ارزش بالایی داشتند، به عنوان نشانه‌های انتخاب شناسایی و تعیین شدند (Kijas et al. 2012; Saravanan et al. 2021). در این تحقیق برای ترسیم گراف ارزش‌های Win5 در مقابل موقعیت ژنومی از بسته نرم‌افزاری ggplot در برنامه R استفاده گردید.

³ Minor Allele Frequency

⁴ Principal component analysis

⁵ Creeping Window

بررسی ژن‌های گزارش شده در مناطق ژنومی حاوی نشانه‌های انتخاب: پس از مرتب کردن نشانگرها برپایه ارزش محاسبه شده با استفاده از نرم‌افزار Excel صدک ۹۹/۹ محاسبه و مناطقی که برای همه نشانگرهای مجاور ارزش بالایی داشتند به عنوان نشانه انتخاب در نظر گرفته شدند. مناطق دارای ارزش بالای تتا می‌توانند نشان‌دهنده مناطقی از ژنوم باشند که در گروه‌های موردی و شاهد به صورت متمایز هدف انتخاب قرار گرفته باشند. برای بررسی ژن‌های گزارش شده در این مناطق و ۵۰۰ کیلو جفت‌باز اطراف آنها از پایگاه اطلاعاتی برخط *Ensembl Genes 112 Database* 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. در نهایت برای بررسی اینکه آیا مناطق مورد نظر با *QTL*‌های شناسایی شده همپوشانی دارد یا خیر، از مرکز اطلاعاتی آنلاین *QTL* (<http://i.animalgenome.org/jbrowse/>) براساس آخرین نسخه به‌روز شده (Release 52, Dec 27, 2023) مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به مراحل مختلف ویرایش داده‌های تعیین ژنوتیپ در جدول ۱ ارائه شده است. پس از حذف داده‌های حیوانات حذف شده، داده‌های نژاد بومی با نژادهای گوسفند کایاس و وال دل بیلس با هم ترکیب شدند که دارای ۳۷۲۲۸ نشانگر SNP مشترک بودند که پس از مرحله کنترل کیفیت در سطح SNP در نهایت تعداد ۳۶۶۰۵ نشانگر SNP باقی ماندند که شامل اطلاعات ۲۶ جفت کروموزوم گوسفند بودند (جدول ۲). به منظور بررسی نحوه قرار گرفتن حیوانات در گروه‌های نژادی، تجزیه و تحلیل *PCA* با بکارگیری اطلاعات تعیین ژنوتیپی بین نژاد بومی زندی و نژادهای کایاس و وال دل بیلس به عنوان راهی متمایز به منظور توصیف واگرایی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج آنالیز *PCA* نشان داد که با *PC1* نژاد زندی و *PC2* نژادهای کایاس و وال دل بیلس به خوبی از یکدیگر تفکیک و جدا شدند و در هیچ نقطه‌ای با هم همپوشانی ندارند. نژادهای یونانی و ایتالیایی به خوبی توده‌های مترکم و مجزایی را تشکیل دادند (شکل ۱). آنالیز *PCA* در مجموع حدود ۶/۳٪ واریانس (۳/۹٪) برای ویژه بردار ۱ و ۲/۴٪ برای ویژه بردار ۲ را توجیه می‌کنند. در مطالعات مختلف دیگر، حیوانات فقط برپایه ویژه بردارهای یک و دو براساس نژاد و منطقه جغرافیایی دسته‌بندی شده‌اند (Kijas et al. 2012; Waieina et al. 2022). در مطالعه‌ای که توسط Kijas et al. (2012) بر روی جمعیت‌های گوسفند دنیا انجام شده بود، *PC1* و *PC2* به ترتیب ۲/۹۸٪ و ۱/۴۴٪ واریانس را توجیه می‌کردند. در مطالعه پویس ژنومی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب مرتبط با صفات ذخیره بدن در سه نژاد گوسفندان بومی چینی (*Han*، *Altay*، *Tibetan*)، حیوانات برپایه *PC1* و *PC2* کاملاً از یکدیگر تفکیک شده و هر کدام از ویژه بردارهای ۱ و ۲ به ترتیب ۳/۳٪ و ۲/۷٪ از واریانس را توجیه می‌کردند (Zhao et al. 2020). با همین مقادیر می‌توان امیدوار به یافتن

مناطق از ژنوم بود که به صورت معنی‌دار مورد انتخاب قرار گرفته‌اند. البته می‌توان بیان کرد که بخشی از واریانس پایین و متفاوت با مطالعات پیشین می‌تواند به دلیل تنوع در نمونه‌گیری و تعداد نمونه باشد.

جدول ۱. توصیف مراحل کنترل کیفیت داده‌های مربوط به نژادهای مختلف مورد بررسی در سطح افراد

Table 1. Description of the quality control steps in different studied breeds at the level of individuals

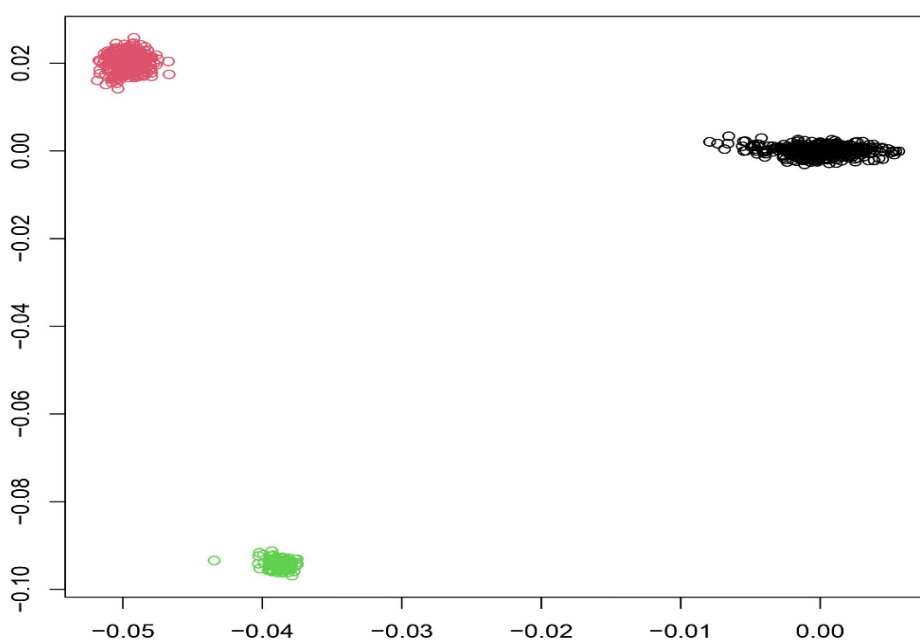
	زندی Zandi	کایاس Chios	وال دل بیلس Valle del Belice
تعداد حیوانات Number of animals	96	317	481
حذف نمونه‌هایی با بیش از ۱۰ درصد ژنوتیپ از دست رفته Excluding animals with call rate < 0.90	0	0	12
حذف نمونه‌هایی با IBS بالاتر از ۰/۹۹ Excluding animals with Identical by State > 0.99	0	0	0
حذف حیواناتی که در آنالیز PCA خارج از توده جمعیتی خود قرار داشتند Excluding animals that were clustered outside of their population mass in PCA analysis	2	0	0
تعداد کل نمونه‌های باقی‌مانده Remaining animals	94	317	469

جدول ۲. خلاصه مراحل مختلف کنترل کیفیت نشانگرهای SNP برای آنالیزهای نشانه‌های انتخاب

Table 2. Summary of quality control steps for SNP markers used for signature of selection analysis

Quality control filters مراحل مختلف کنترل کیفی	SNP number تعداد نشانگر
تعداد کل نشانگرهای مورد بررسی SNP number before QC	37228
حذف نشانگرها با حداقل فراوانی آلی کمتر از پنج درصد Excluding SNPs $\leq 5\%$ MAF over all animals	716
حذف نشانگرهای با نرخ فراوانی کمتر از ۹۵ درصد در هر نمونه Excluding SNPs $\leq 95\%$ Call rate over all animals	69
حذف نشانگرها با انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ (10^{-6}) Excluding SNPs with deviation from HW (< 0.000001)	24
تعداد نشانگرهای باقی‌مانده Remaining SNPs	36605

با توجه به اینکه انتخاب، علاوه بر جهش سودمند جایگاه‌های مجاور آن را هم تحت تأثیر قرار می‌دهد (Akey et al. 2002) در این پژوهش جهت شناسایی بهتر سیگنال‌های انتخاب در سطح ژنوم به جای در نظر گرفتن ارزش عددی هر SNP، میانگین‌گیری ارزش‌های عددی SNP‌های مجاور به روش CW با طول ۵ SNP صورت گرفت 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). آستانه تعیین شده سختگیرانه بوده و فقط مناطقی از ژنوم که بیشترین تمایز جمعیتی را در بین نژادها را نشان می‌دهند، انتخاب شدند این حد آستانه در مطالعات مختلف از ۰/۱ درصد (Zhao et al. 2020) تا ۲/۵ درصد (Qanbari et al. 2012) متغیر بوده است.



شکل ۱. خوشه‌بندی حیوانات براساس آنالیز PCA با استفاده از اطلاعات ژنوتیپی تمام حیوانات. رنگ‌های سیاه، قرمز و سبز به ترتیب نشان‌دهنده نژادهای کایاس، وال دل بلیس و زندی است.

Figure 1. Animals clustered on the basis of principal components analysis (PCA) using genotyping information animals. The colors black, red and green represent the Chios, Valle del Belice and Zandi sheep breeds, respectively

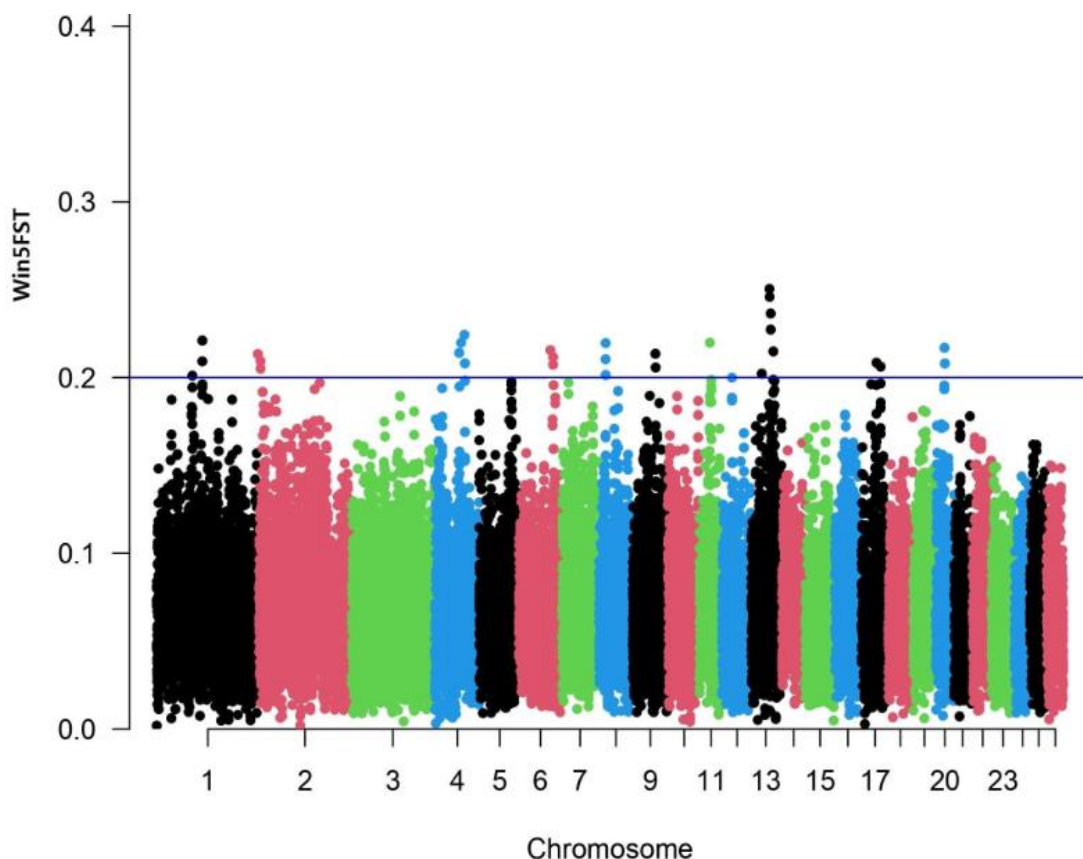
بخش‌هایی از ژنوم که ارزش F_{ST} بالایی دارند، نشان‌دهنده تمایز بین دو گروه نژادی مورد بررسی در آن مناطق ژنومی در اثر انتخاب مثبت هستند که به دنبال انتخاب‌های طبیعی و مصنوعی در طی نسل‌های مختلف برای جایگاه‌های مورد نظر به وجود آمده است. نتایج به دست آمده نشان داد که در چندین منطقه ژنومی SNP‌های مجاور تفرق جمعیتی بالایی داشتند که شامل ده ناحیه

ژنومی بر روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۴، ۶، ۸، ۹، ۱۱، ۱۳، ۱۷ و ۲۰ بودند و در صدک ۹۹/۹ کل ارزش‌های تتا قرار داشتند و معنی‌دار بودند (شکل ۲). از روش نشانه‌های انتخاب و آماره تتا تاکنون جهت شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات مهم اقتصادی مختلف در دام‌های اهلی استفاده شده است. پژوهشی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب با ذخیره چربی بدن در گوسفندان بومی چینی انجام شده است. نتایج این تحقیق نشان داد که ۲۵ ناحیه ژنومی حاوی نشانه‌های انتخاب هستند و ژن‌های کاندیدای *TBX12*، *WDR92*، *WARS2*، *BMP2*، *VEGFA*، *PDGFD*، *HOXA10*، *ALX4* و *ETAA1* گزارش شدند (Zhao et al. 2020). همچنین در پژوهشی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب مرتبط با آدپتاسیون و پاسخ سیستم ایمنی، تولید و تولید مثل در نژادهای مختلف انجام شده بود. نتایج این تحقیق نشان داد، نواحی ژنومی روی کروموزوم‌های ۳، ۴، ۱۰، ۱۵، ۲۲ و ۲۶ دارای نشانه‌های انتخاب هستند. این مناطق ژنومی شامل ژن‌های کاندیدای *MST1*، *PDE4B*، *HYALI* و *PCK* بودند که نقش کلیدی در آدپتاسیون، سیستم ایمنی و تولید شیر داشتند (Waineina et al. 2022).

پس از شناسایی نواحی ژنومی تحت انتخاب، ژن‌های موجود در این مناطق شناسایی و عملکرد هستی‌شناسی آن‌ها بررسی شدند، در مجموع ۹۰ ژن که در ارتباط با منطقه انتخابی بودند از این طریق تعیین شدند (جدول ۳). ژن‌های مشخص شده در جدول ۱ عملکردهای متفاوتی در تولید شیر، سنتز و تولید چربی شیر، تداوم شیردهی و مقاومت به بیماری ورم پستان داشتند که می‌توانند به طور مستقیم و غیر مستقیم با صفات تولید و ترکیبات شیر مرتبط باشند.

اولین منطقه ژنومی شناسایی شده مرتبط با تولید و ترکیبات شیر روی کروموزوم شماره ۱ در ناحیه ۲۵۰/۷۸-۲۵۱/۷۸ مگابازی قرار داشت. از بین ژن‌های موجود در این ناحیه، ژن‌های کاندیدای *FAIM* و *CEP70* بیشترین ارتباط با صفت تداوم شیردهی داشتند. ژن *FAIM* نقش کلیدی در فرآیند آپوپتوزیس داشته و میزان بیان این ژن در پیک تولید افزایش می‌یابد (Capuco et al. 2003). همچنین گزارش شده است که کمترین میزان بیان ژن *CEP70* در غدد پستانی گوسفندان بومی چینی در اوج تولید شیر می‌باشد (Hao et al. 2020). در مطالعه پویس کل ژنومی در گوسفندان نژاد شیرزی *Frizarta* یونانی با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با تداوم شیردهی، این ناحیه ژنومی گزارش شده است (Argyriadou et al. 2023).

دومین منطقه ژنومی شناسایی شده در پژوهش حاضر در ناحیه ۵/۴۷-۶/۴۳ مگابازی کروموزوم شماره ۲ قرار داشت. از بین ژن‌های موجود در این ناحیه، ژن کاندیدای *TLR4* بیشترین ارتباط با تولید و ترکیبات شیر را داشت. از ژن‌های کاندیدای در زمینه مقاومت می‌توان ژن‌های *TLR* (گیرنده‌های پروتئین شبه T) را نام برد که خانواده‌ای از گیرنده‌های سلولی را کد می‌کند. تا کنون ۱۳ نوع ژن *TLR* در پستانداران شناسایی شده است. این گیرنده‌ها توالی مولکولی خاصی از عوامل بیماری‌زا (PAMP) را تشخیص می‌دهند و در آغاز پاسخ‌های ایمنی بدن به پاتوژن‌های میکروبی نقش محوری دارند (Genecards). ژن *TLR4* جزو ژن‌های کاندیدای مؤثر بر صفات مرتبط با ایمنی سلولی و ذاتی در پاسخ‌های دفاعی در پستانداران است (UniProtKB).



شکل ۲. توزیع ارزش‌های win5 تا در سطح ژنوم حیوانات نژادهای مورد بررسی. 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 5 windowed theta values in studied breeds: 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

سومین ناحیه ژنومی شناسایی شده بر روی کروموزوم شماره ۴ در ناحیه ۱۰۵/۵۶-۱۰۴/۵۱ مگابازی قرار داشت. از بین ژن‌های موجود در این منطقه، ژن‌های کاندیدای *SLC37A3* و *KDM7A* بیشترین ارتباط با تولید شیر و ترکیبات آن داشتند. ژن *SLC37A3* جزئی از خانواده ژنی SLC با ۲۳ عضو می‌باشد که دارای نقش انتقالی هستند. خانواده ژنی SLC که بیشتر در جمعیت‌های انسانی مورد تمایز و انتخاب قرار گرفته‌اند، نقش‌های متنوعی در مکانیسم‌های زیستی دارند. این خانواده ژنی، نقش‌های بیولوژیکی بسیار گسترده‌ای از قبیل سیگنال‌دهی پرولاکتین، ترشح انسولین، جذب طیف وسیعی از مواد مغذی، سنتز هورمون تیروئید و مسیرهای متابولیکی مختلف دیگر دارند (UniProtKB). بعلاوه، در مطالعات دیگری ارتباط این خانواده ژنی با صفات تولید و ترکیبات شیر از قبیل چربی و پروتئین گزارش شده است (Chen et al. 2016). همچنین ژن *KDM7A* نقش مهمی در تنظیم

ژن *DGAT2* داشته که جزوی از خانواده ژن *DGAT* بوده که نقش بسیار مهمی در سنتز و تولید درصد چربی شیر دارند (Kim et al. 2021). در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب مثبت در گوسفندان نژاد وال دل بیلز، ژن کاندیدای *KDM7A* گزارش شده است (Ben Jemaa et al. 2023). مناطق ژنومی بعدی روی کروموزوم شماره ۶ در ۳۷/۵۱-۳۶/۵۵ مگابازی شناسایی شد. از بین ژن‌های موجود در این ناحیه، ژن کاندیدای *HERC6* بیشترین ارتباط را داشت. ژن *HERC6* نقش کلیدی در تداوم شیردهی در گاوهای هلستاین کانادایی دارد (Do et al., 2017). در مطالعه ژنومی با هدف شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب مثبت مرتبط با صفات مهم تولیدی در گاوهای شیری آمیخته تانزانیا با گاوهای هلستاین، ژن *HERC6* گزارش شده است (Cheruiyot et al. 2018). منطقه ژنومی دیگر مرتبط با تولید و سنتز ترکیبات شیر در ناحیه ۲۲/۱۹-۲۱/۲۷ مگابازی از کروموزوم شماره ۸ شناسایی شد. ژن *NT5DC1* در این ناحیه قرار داشت. گزارش شده است که میزان بیان ژن *NT5DC1* با تداوم شیردهی در اولین دوره شیرواری گاوهای شیری ارتباط مستقیمی دارد (Yodklaew et al. 2017). در مطالعه ژنومی با رویکرد توالی‌یابی کل ژنوم با هدف شناسایی مناطق ژنومی مؤثر بر تولید شیر در مقایسه گوسفندان نژاد شیری با گوسفندان نژاد گوشتی ژن *NT5DC1* را گزارش کردند (Rezvannejad et al. 2022).

منطقه ژنومی دیگر در ناحیه ۲۱/۲۹-۲۰/۳۶ مگابازی از کروموزوم شماره ۱۱ شناسایی شد. ژن *SSH2* در این ناحیه قرار داشت. مطالعه پویش ژنومی در گاوهای شیری با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با تعداد سلول‌های سوماتیک، ژن کاندیدای *SSH2* گزارش شده است (Strillacci et al. 2014). ورم پستان به واسطه عوامل محیطی، مدیریتی و ضعف مقاومت و ایمنی حیوان نسبت به عوامل ایجاد کننده بیماری، یکی از مهم‌ترین بیماری‌های عفونی بوده که سبب زیان‌های اقتصادی جدی به صنعت گوسفنداری و مشکلات مرتبط با کیفیت لبنیات گوسفندان شیری در سراسر دنیا می‌شود (Sutera et al. 2021). در این خصوص تعداد سلول‌های بدنی در شیر یا تبدیل لگاریتمی آن (SCC) به علت وارپانس ژنتیکی بالاتر، رکوردگیری ساده‌تر و همبستگی بالا و مثبت آن با وقوع ورم پستان، به عنوان یک معیار از ورم پستان استفاده می‌شود (Sutera et al. 2018).

از مناطق ژنومی مهم دیگری که در پژوهش حاضر مرتبط با تولید و ترکیبات شیر شناسایی شد در نواحی ۳۱/۷۳-۳۲/۶۸ و ۵۰/۵۱-۲۵/۲۱ مگابازی به ترتیب روی کروموزوم‌های شماره ۹ و ۱۳ بود که شامل ژن‌های کاندیدای *SPIDR* و *SMOX* بودند. در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با تولید و ترکیبات شیر در گاوهای نژاد هلستاین ژن *SPIDR* مرتبط با تولید شیر گزارش شده است (Pedrosa et al. 2021). ژن کاندیدای *SMOX* نقش کلیدی در رشد و تمایز سلول‌های چربی و متابولیسم لیپید در بدن دارد (Yilmaz et al. 2022). جزو خانواده ژنی پروتئین‌های اتصالاتی اسیدهای چرب است که نقش کلیدی در دریافت، حمل و متابولیسم اسیدهای چرب دارند. در مطالعه ژنومی براساس توالی‌یابی کل ژنوم با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با تولید شیر در گوسفندان نژاد شیری ایست فریزین با استفاده از آماره F_{ST} ژن کاندیدای *SMOX* گزارش شده است (Li et al. 2022).

جدول ۳. نواحی ژنومی تحت انتخاب و ژن‌های شناسایی شده در این مناطق ژنومی مرتبط با تولید و ترکیبات شیر

Table 3. Genomic regions containing selection signatures related to milk and composition traits, and genes (QTL) reported in these genomic regions

شماره کروموزوم Number of chromosomes	موقعیت ژنومی (جفت باز) Genomic position (bp)	ژن‌های موجود در ناحیه ژنومی Reported genes in the region	QTL‌های موجود در ناحیه ژنومی Reported QTLs in the region	شماره دسترسی در پایگاه ID PubMed 20655453
1	250784670:251784670	<i>FOXL2, PIK3CB, FAIM, ESYT3, MIRAS, MRAS, MME9, ARMC8, DBR1, U6, A4GNT, DZIP1L, CLDN18, CEP70</i>	<i>milk linolenic acid content, milk linoleic acid content</i>	20655453
2	5479187:6434187	<i>TLR4, ASNT2</i>	-	-
4	104513029:105468029	<i>HIPK2, TBXAS1, PARP12, KDM7A, RAB19, DENND2A, ADCK2, NDUFB2, SLC37A3, BRAF</i>	-	-
6	36554248:37518248	<i>FAM13A, HERC3, NAPIL5, PYURF, HERC6, U6, PPM1K, ABCG2, PKD2, SPP1, TRAPPC3L, CALHM4, CALHM5, DSE, TSPYL1, TSPLY4, NT5DC1, COL10A1, FRK</i>	<i>Milk fat percentage</i>	21749424
8	21272358:22197358	<i>CEBPD, SPIDR, PRKDC, MCM4</i>	-	-
9	31730281:32685281	<i>ANKRD13B, CORO6, SSH2, EFCAB5, NSRP1, SLC6A4, BLMH, TMIGD1, CPD, GOSR1, TUSC5, BHLHA9, ABR, TIMM22, NXN, RNMTL1, GLOD4</i>	<i>Milk yield persistence</i>	21693024
11	20360852:21299852	<i>HAOI, ADRA1D, SMOX, RNF24, PANK2, MIR130A2, MAVS, AP5S1, CDC25B, CENPB, SPEF1, ADISSP, HSPA12B, SIGLEC1</i>	-	-
13	50259800:51214800	<i>U3, U6</i>	<i>milk yield</i>	23810588
17	25888483:26017483	<i>U3, RNF144B, DEK, KDM1B, TPMT, NHLRC1, U6, KIF13A</i>	<i>milk yield</i>	20394603
20	38045942:39000942			

منطقه ژنومی بعدی مرتبط با تولید و سنتز ترکیبات شیر در ناحیه ۳۹/۰۰-۳۸/۰۴ مگابازی از کروموزوم شماره ۲۰ شناسایی شد. ژن *RNF144B* در این ناحیه قرار داشت. ژن کاندیدای *RNF144B* نقش بسیار مهمی در پاسخ التهابی در بدن داشته، به طوریکه هم در ایمنی ذاتی و هم در ایمنی اکتسابی نقش دارند (UniProtKB). در مطالعه پویش ژنومی مرتبط با بیماری ورم پستان در گاوهای نژاد Sahiwal، ژن کاندیدای *RNF144B* گزارش شده است (Illa et al. 2021). بررسی QTL‌های شناسایی شده در مناطق ژنومی مورد نظر نشان داد که بر روی کروموزوم‌های ۴، ۶، ۱۴، ۱۵، ۱۷ و ۲۳ QTL‌های گزارش شده مرتبط با صفات مهم اقتصادی تولید شیر شامل عملکرد تولید، درصد چربی شیر، ترکیب اسیدهای چرب شیر و تداوم شیردهی بود (جدول ۳). با توجه به عملکرد بیولوژیکی ژن‌های کاندیدا شناسایی شده مرتبط با صفات تولید شیر و تداوم شیردهی در این پژوهش، به نظر می‌رسد این ژن‌ها در بروز فنوتیپی صفت تولید شیر نقش ایفاء می‌کنند، در نتیجه می‌توان کارایی آزمون آماری F_{ST} برای شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب مثبت صفات مهم اقتصادی را نیز مورد تأیید قرار داد. همچنین با بررسی چند شکلی موجود در ژن‌های کاندیدای شناسایی شده مرتبط با صفات تولید و ترکیبات شیر از طریق مطالعات آزمایشگاهی در نژادهای گوسفندان بومی و نتایج به‌دست آمده را برای مطالعات اصلاحی (انتخاب در جهت کاهش یا افزایش بیان و فراوانی ژن‌های مهم) به کار برد. البته به دلیل اطلاعات ناقص مربوط به عملکرد ژن‌ها در گونه گوسفند نسبت به گونه گاو و همچنین کوچک بودن جمعیت مورد استفاده در این مطالعه، مطالعات گسترده‌تر با تعداد نمونه‌های بیشتر و تجزیه و تحلیل چند جمعیت جداگانه، ادغام داده‌های تحقیقات مشابه جدید و استفاده از آنالیزهای آماری جامع‌تر درک بهتری از ژن‌های کاندید برای صفات تولید و ترکیبات شیر در جمعیت گوسفند ایجاد خواهد کرد. با توجه به اهمیت پرورش گوسفند در ایران و جهان افزایش اطلاعات در این زمینه تأثیر مناسبی بر طراحی برنامه‌های اصلاح نژادی و افزایش بهره‌وری جمعیت گوسفندان کشور خواهد داشت. در مجموع، نتایج این تحقیق می‌تواند منابع اطلاعاتی با ارزشی در جهت شناسایی ژن‌های متمایز کننده و شناسایی نواحی ژنومی کاندید برای بسیاری از صفات مهم اقتصادی فراهم آورد. همچنین از اطلاعات این تحقیق می‌توان در تحقیقات مرتبط با انتخاب ژنومی، طراحی سیستم‌های آمیزشی و مطالعات تکمیلی استفاده نمود.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه برای شناسایی نشانه‌های انتخاب مثبت از آماره F_{ST} استفاده شد و نشانه‌های انتخاب در بخش‌هایی از ژنوم شناسایی شد که برخی از این مناطق در بررسی‌های پیشین در گوسفند و دام‌های اهلی دیگر نیز تأیید شده بودند. بررسی ژن‌ها در نواحی تحت انتخاب نشان داد، ژن‌های موجود در این مناطق با تولید شیر، تولید و درصد چربی شیر، متابولیسم چربی و تداوم شیردهی مرتبط هستند. در مجموع نتایج این تحقیق می‌تواند منبع اطلاعاتی با ارزشی در جهت شناسایی ژن‌های مرتبط با تولید و ترکیبات شیر ارائه دهد و آغازی برای بررسی‌های بیشتر در این زمینه و استفاده از اطلاعات به‌دست آمده در شناسایی ویژگی‌های ژنتیکی این صفت مهم اقتصادی در صنعت پرورش گوسفند باشد.

سپاسگزاری: از شرکت دانش بنیان ساین گستر البرز به خاطر حمایت مالی برای تعیین ژنوتیپ نمونه‌های DNA نژاد زندگی

در اجرای پژوهش حاضر سپاسگزاری می‌شود.

منابع

- جعفرى احمدآبادى سيد على اصغر، عسكرى همت حشمت‌اله، محمدآبادى محمدرضا (۱۴۰۲) تاثير شاهدانه بر بيان ژن DLK1 در بافت قلب بره‌هاى كرمانى. مجله بيوتكنولوژى كشاورزى، ۱۵(۱)، ۲۱۷-۲۳۴.
- شكرى سميراء، خضرى امين، محمدآبادى محمدرضا، خيرالدين حميد (۱۴۰۲) بررسى بيان ژن MYH7 در بافته‌هاى ران، دست و راسته بره‌هاى پروارى نژاد كرمانى. مجله بيوتكنولوژى كشاورزى، ۱۵(۲)، ۲۱۷-۲۳۶.
- محمدآبادى محمدرضا، گلكار افروز، عسكرى حصنى مجيد (۱۴۰۲) اثر رازيانه (*Foeniculum vulgare*) بر بيان ژن فاكټور ۱ رشد شبه انسولين در بافت شكّمبه گوسفند كرمانى. مجله بيوتكنولوژى كشاورزى، ۱۵(۴)، ۲۳۹-۲۵۶.
- محمدآبادى محمدرضا، بانكو اولنا، بورشچ الكساندر، كلاشنيك الكساندر، ايوستاڤيوا يوليا، بوچكوفسكا وينا (۱۴۰۳) اندازه‌گيرى الكوى بيان نسبى ژن UCP2 در بافته‌هاى مختلف بز كركى راينى. مجله بيوتكنولوژى كشاورزى، ۱۶(۳)، ۳۱۷-۳۳۲.

References

- Amirteymoori E, Khezri A, Dayani O, et al. (2021) Effects of linseed processing method (ground versus extruded) and dietary crude protein content on performance, digestibility, ruminal fermentation pattern, and rumen protozoa. *Ital J Anim Sci* 20 (1), 1506-1517.
- Argyriadou A, Gelasakis AI, Banos G, Arsenos G. (2020) Genetic improvement of indigenous Greek sheep and goat breeds. *J Hell Vet Med Soc* 71 (1), e2063.
- Argyriadou A, Michailidou S, Vouraki S, et al. (2023) A genome-wide association study reveals novel SNP markers associated with resilience traits in tow Mediterranean dairy sheep breeds. *Front Genet* 14, e1294573.
- Basdagianni Z, Sinapis E, Banos G (2019) Evaluation of reference lactation length in Chios dairy sheep. *Animal* 13(1), 1-7.
- Ben Jemaa S, Tolone M, Sardina MT, et al. (2023) A genome-wide comparison between selected and unselected Valle del Belice sheep reveals differences in population structure and footprints of recent selection. *J Anim Breed Genet* (5), 558-567.
- Capuco AV, Ellis SE, Hale SA, et al. (2003) Lactation persistency: insights from mammary cell proliferation studies. *Anim Sci J* 81, 18-31.
- Chang CC, Chow CC, Tellier LC, et al. (2015) Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *Gigascience* 4, e13742.
- Chen L, Wang X, Cheng D, et al. (2019) Population genetic analyses of seven Chinese indigenous chicken breeds in a context of global breeds. *Anim Genet* 50, 82-86.
- Chen Z, Yao Y, Ma P, et al. (2018) Haplotype-based genome-wide association study identifies loci and candidate genes for milk Yield in Holsteins. *PLoS one* 13(2), e0192695.
- Cheruiyot EK, Bett RC, Amimo JO, et al. (2018) Signatures of Selection in Admixed Dairy Cattle in Tanzania. *Fron Genet*, 9, 607.
- Di Gerlando R, Sutera AM, Mastrangelo S, et al. (2019) Genome-wide association study between CNVs and milk production traits in Valle del Belice sheep. *PLoS one* 14(4), e0215204.

- Do D, Bissonnette N, Lacasse P, et al. (2017) Genome-wide association analysis and pathways enrichment for lactation persistency in Canadian Holstein cattle. *J Dairy Sci* 100, 1955–1970
- Fleming DS, Weigend H, Simianer A, et al. (2017) Genomic comparison of indigenous African and Northern European chickens reveals putative mechanisms of stress tolerance related to environmental selection pressure. *G3: Gen Genom Genet* 7(5), 1525-1537.
- Ghotbaldini H, Mohammadabadi M, Nezamabadi-pour H, et al. (2019) Predicting breeding value of body weight at 6-month age using Artificial Neural Networks in Kermani sheep breed. *Acta Scientiarum. Anim Sci* 41, e45282.
- Hajalizadeh Z, Dayani O, Khezri A, et al. (2019) The effect of adding fennel (*Foeniculum vulgare*) seed powder to the diet of fattening lambs on performance, carcass characteristics and liver enzymes. *Small Rumin Res* 175, 72-77.
- Hajalizadeh Z, Dayani O, Khezri A, et al. (2021) Expression of calpastatin gene in Kermani sheep using real-time PCR. *J Livestock Sci Technol* 9 (2), 51-57.
- Hao Z, Zhou H, Hickford JGH, et al. (2020) Identification and characterization of circular RNA in lactating mammary glands from two breeds of sheep with different milk production profiles using RNA-seq. *Genomics* 112 (3), 2186–2193.
- Illa SK, Mukherjee S, Nath S and Mukherjee A (2021) Genome-Wide Scanning for Signatures of Selection Revealed the Putative Genomic Regions and Candidate Genes Controlling Milk Composition and Coat Color Traits in Sahiwal Cattle. *Front Gene* 12, e699422.
- 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).
- Jonas E, Thomson PC, Hall EJ, et al. (2011) Mapping quantitative trait loci (QTL) in sheep. IV. Analysis of lactation persistency and extended lactation traits in sheep. *Genet Sel Evol* 43 (1), 22.
- Kijas JW, Lenstra JA, Hayes B, et al. (2012) International Sheep Genomics Consortium Members. Genome-wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection. *PLoS Biol* 10(2), e1001258.
- Kim H, Song KD, Kim HJ, et al. (2015) Exploring the Genetic Signature of Body Size in Yucatan Miniature Pig. *PLoS one* 10, e0121732.
- Kim JH, Nagappan A, Jung DY, et al. (2021) Histone demethylase KDM7A contributes to the development of hepatic steatosis by targeting diacylglycerol acyltransferase 2. *J Mol Sci* 22(20), e11085.
- Li H, Wu, XL, Tait, RG, et al. (2020) Genome-wide association study of milk production traits in a crossbred dairy sheep population using three statistical models. *Anim Genet* 51(4), 624-628.

- Li R, Zhao Y, Liang B, et al. (2023) Genome-Wide Signal Selection Analysis Revealing Genes Potentially Related to Sheep-Milk-Production Traits. *Animals* 13, e1654.
- Li X, Yuan L, Wang W, et al. (2022) Whole genome re-sequencing reveals artificial and natural selection for milk traits in East Friesian sheep. *Front Vet Sci* 9, e1034211
- Mohammadabadi M, Babenko O, Borshch OO, Kalashnyk O, Ievstafiiieva Y, Buchkovska V (2024) Measurement of the relative expression pattern of the UCP2 gene in different tissues of the Raini Cashmere goat. *Agric Biotechnol J* 16 (3), 317-332 (In Persian).
- Mohammadabadi M, Golkar A, Askari Hesni M, et al. (2023). The effect of fennel (*Foeniculum vulgare*) on insulin-like growth factor 1 gene expression in the rumen tissue of Kermani sheep. *Agric Biotechnol J* 15 (4), 239-256 (In Persian).
- Mohammadinejad F, Mohammadabadi M, Roudbari Z, Sadkowski T (2022) Identification of Key Genes and Biological Pathways Associated with Skeletal Muscle Maturation and Hypertrophy in *Bos taurus*, *Ovis aries*, and *Sus scrofa*. *Animals* 12 (24), e3471.
- Mohammadipour LS, 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* 225, e107018.
- Nejad FM, Mohammadabadi M, Roudbari Z, et al. (2024) Network visualization of genes involved in skeletal muscle myogenesis in livestock animals. *BMC Genomics* 25 (1), e294.
- Nicolazzi EL, Caprera A, Nazzicari N, et al. (2015) SNPchiMp v. 3: integrating and standardizing single nucleotide polymorphism data for livestock species. *BMC Genomics* 16, e283.
- Pedrosa VB, Schenkel FS, Chen SY, et al. (2021) Genome wide Association Analyses of Lactation Persistency and Milk Production Traits in Holstein Cattle Based on Imputed Whole-Genome Sequence Data. *Genes* 12, 1830
- Pulina G, Nudda A, Macciotta NP, et al. (2007) Non-nutritional factors affecting lactation persistency in dairy ewes: a review. *Ital J Anim Sci* 6 (2), 115–141.
- 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.
- Rezvannejad E, Asadollahpour Nanaei H, Esmailizadeh A (2022) Detection of candidate genes affecting milk production traits in sheep using whole-genome sequencing analysis. *Vet Med Sci* 8(3), 1197-1204.
- Saadatabadi LM, Mohammadabadi M, Ghanatsaman ZA, et al. (2023) Data of whole-genome sequencing of Karakul, Zel, and Kermani sheep breeds. *BMC Research Notes* 16 (1), e353.
- 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.
- Safaei SMH, Mohammadabadi M, Moradi B, et al. (2024) Role of fennel (*foeniculum vulgare*) seed powder in increasing testosterone and IGF1 gene expression in the testis of lamb. *Gene Expression* 23 (2), 98-105.

- Saravanan KA, Panigrahi M, Kumar H, et al. (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.
- Shokri S, Khezri A, Mohammadabadi M, Kheyroodin H (2023). The expression of MYH7 gene in femur, humeral muscle and back muscle tissues of fattening lambs of the Kermani breed. *Agric Biotechnol J* 15 (2), 217-236 (In Persian).
- Stefanon B, Colitti M, Gabai G, et al. (2002) Mammary apoptosis and lactation persistency in dairy animals. *J Dairy Sci* 69 (1), 37–52.
- Strillacci MG, Frigo E, Schiavini F, et al. (2014) Genome-wide association study for somatic cell score in Valdostana Red Pied cattle breed using pooled DNA. *BMC Genet* 1, e1345.
- Sutera AM, Portolano B, Di Gerlando R, et al. (2018) Determination of milk production losses and variations of fat and protein percentages according to different levels of somatic cell count in Valle del Belice Belice dairy sheep. *Small Rum Res* 162, 39–42.
- Vahabzadeh M, Chamani M, Dayani O, et al. (2021) Effects of sweet Marjoram (*Origanum majorana*) powder on growth performance, nutrient digestibility, rumen fermentation, meat quality and humoral immune response in fattening lambs. *Iran J Appl Anim Sci* 11 (3), 567-576.
- Waineina RW, Okeno TO, Ilatsia ED, and Ngeno K (2022). Selection Signature Analyses Revealed Genes Associated With Adaptation, Production, and Reproduction in Selected Goat Breeds in Kenya. *Front Genet* 13, e858923.
- 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.
- Yilmaz O, Kizilaslan M, Arzik Y, et al. (2022) Genome-Wide association studies of preweaning growth and in vivo carcass composition traits in Esme sheep. *J Anim Breed Genet* 139, 26–39.
- Yodklaew P, Koonawootrittriron S, Elzo MA, et al. (2017) Genome-wide association study for lactation characteristics, milk yield and age at first calving in a Thai multibreed dairy cattle population. *Agric Res* 51(3), 223–230.
- Zhao F, Deng T, Shi L, et al. (2020) Genomic Scan for Selection Signature Reveals Fat Deposition in Chinese Indigenous Sheep with Extreme Tail Types. *Animals* 10(5), e773.