

Identification of genomic regions related to wool quality traits in coarse and fine wool sheep breeds based on selection signature

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

Over the last decade, interest in detection of genes or genomic regions that are targeted by selection has been growing. Identifying signatures of selection can provide valuable insights about the genes or genomic regions that are or have been under selection pressure, which in turn leads to a better understanding of genotype-phenotype relationships. The aim of this study was to identify genomic region with a positive signature of selection related to wool quality in sheep breeds using selection signature F_{ST} and hapFLK methods.

Materials and methods

In this study, data from 146 Zandi and Merino animals genotyped using 50 K BeadChip were used to identify genomic regions under selection associated with wool quality traits. After quality control of the initial data using plink software, 46,793 SNP markers in 144 animals of sheep were finally entered for further analysis. To identify the signatures of selection, two statistical methods of F_{ST} and hapFLK were used under F_{ST} and hapFLK software packages, respectively. Candidate genes were identified by SNPs located at 0.1% upper range of F_{ST} and hapFLK values. GeneCards and UniProtKB databases were also used to interpret the function of the obtained genes.

Results

Using F_{ST} approach, we identified eight genomic regions on chromosomes 1 (two region), 1, 3 (two region), 10, 13, and 19 chromosomes, which were in the 99.9 percentile of all F_{ST} values. The identified candidate genes associated with wool trait in these genomic regions included

POUIF1, FGF12, GNAS, LHX2, TMTC3, NBEA, MITF. Genes located in identified regions under selection were associated with the crimp of wool, growth and development of skin, fiber diameter, hair follicle development, growth and development of fiber, stimulation of collagen, regulation of epithelial cell and skin pigments, which can be directly and indirectly related to the trait of the wool quality. Also, the results of hapFLK statistics in this research led to the identification of four genomic regions on chromosomes 7, 10, 14, and 19. The identified candidate genes associated with the wool trait in these genomic regions included *DUOX1, RHPN2* and *LOC106991379*. It was determined that they had different functions in collagen differentiation and gene expression of keratinocytes.

Conclusions

Various genes that were founded within these regions can be considered as candidates for selection based on function. However, it will be necessary to carry out more association and functional studies to demonstrate the implication of genes obtained from association analyses. The results of our research can be used to understand the genetic mechanism controlling wool traits and using these findings could potentially be useful for genetic selection in sheep for better clean fleece yield and mean fiber diameters.

Keywords: hapFLK statistics, F_{ST} statistics, crimp, candidate gene, fiber diameter

Paper Type: Research Paper.

Citation: Mohammadi H, Khaltabadi Farahani AM (2024) Identification of genomic regions related to wool quality traits in coarse and fine wool sheep breeds based on selection signature. *Agricultural Biotechnology Journal* 16 (3), 133-154.

Agricultural Biotechnology Journal 16 (3), 133-154. DOI: 10.22103/jab.2024.23446.1569

Received: July 28, 2024.

Received in revised form: September 19, 2024.

Accepted: September 20, 2024.


Published online: September 30, 2024.

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




© the authors

شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات کیفی پشم در گوسفندان نژاد پشم ضخیم و ظریف بر پایه آماره‌های نشانه‌های انتخاب

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: ۱۴۰۳/۰۵/۰۷ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۳/۰۶/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۳۰

چکیده

هدف: طی دهه‌های اخیر تمایل به شناسایی مناطق ژنومی که هدف انتخاب برنامه‌های اصلاحی در دام‌های اهلی مانند گوسفند بوده‌اند رو به افزایش بوده است. شناسایی نشانه‌های انتخاب می‌تواند دیدگاه‌های ارزشمندی در مورد مناطق ژنومی که تحت انتخاب مثبت هستند فراهم کند که به نوبه خود منجر به درک بهتر ارتباط ژنوتیپ با فنوتیپ می‌شود. هدف از این مطالعه، شناسایی ژن‌های کاندیدای و مناطق ژنومی تحت انتخاب مثبت مرتبط با صفات کیفی پشم در گوسفند از طریق روش‌های شناسایی ردپای انتخاب شامل F_{ST} و hapFLK می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش اطلاعات ژنوتیپی مربوط به ۱۴۶ رأس گوسفندان با حداقل روابط خویشاوندی مربوط به گوسفندان نژادهای زندی و مریوس تعیین ژنوتیپ شده توسط آرایه‌های 50K شرکت ایلومینا استفاده شد. پس از کنترل کیفیت داده‌های اولیه تعیین ژنوتیپ شده در برنامه PLINK نهایتاً ۴۶۷۹۳ نشانگر SNP و ۱۴۴ رأس دام وارد آنالیزهای بعدی شدند. برای شناسایی نواحی ژنومی تحت انتخاب از دو آزمون آماری برآوردگر ناریب F_{ST} (تتا) با کد نویسی در برنامه R و روش hapFLK بوسیله نرم‌افزار hapFLK نسخه ۱/۴ استفاده شد. ژن‌های کاندیدا با استفاده از SNP‌هایی که در بازه‌ی ۰/۱ درصد ارزش بالای این دو آزمون واقع شده بودند، شناسایی شدند. همچنین برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های به دست آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی آنالین GeneCards و UniProtKB استفاده شد.

نتایج: نتایج حاصل از آماره تتا در این پژوهش منجر به شناسایی هشت منطقه ژنومی روی کروموزوم‌های ۱ (دو منطقه)، ۲، ۳ (دو منطقه)، ۱۰، ۱۳ و ۱۹ بودند و در صدک ۹۹/۹ کل ارزش‌های تتا قرار داشتند. ژن‌های کاندیدای شناسایی شده مرتبط با صفات کیفی

پشم در این مناطق ژنومی شامل ژن‌های *POUIF1*، *GNAS*، *FGF12*، *LHX2*، *TMTC3*، *NBEA* و *MITF* بودند. آنالیز بیوانفورماتیکی نشان داد که مناطق ژنومی شناسایی شده با ژن‌های مؤثر بر رشد و توسعه فولیکول‌های مو، رشد و توسعه پوست، جعد، تفرق سلول‌های اپیتلیال، رنگدانه‌های پوست و تحریک کلاژن همپوشانی دارند. همچنین نتایج حاصل از آماره hapFLK در این پژوهش منجر به شناسایی چهار منطقه ژنومی روی کروموزوم‌های ۷، ۱۰، ۱۴ و ۱۹ گردید. ژن‌های کاندیدای شناسایی شده شامل *RHPN2*، *DUOX1* و *LOC106991379* بودند که عملکردهای متفاوتی در بیان ژن کراتینوسیت‌ها و تمایز کلاژن‌ها داشتند.

نتیجه‌گیری: ژن‌های گزارش شده در مناطق ژنومی شناسایی شده، براساس عملکرد می‌توانند به‌عنوان کاندیداهای تحت انتخاب مثبت مطرح باشند. به هر حال بررسی بیشتر ژن‌های بدست آمده از طریق مطالعات تکمیلی ضروری است. نتایج این تحقیق می‌تواند در درک ساز و کار ژنتیکی کنترل کننده صفات کمی و کیفی مرتبط با پشم با هدف افزایش مقدار پشم شسته‌شده سالانه و کاهش میانگین قطر الیاف و ضریب تغییرات آن مورد استفاده قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: آماره F_{ST} ، آزمون hapFLK، جعد، ژن کاندیدا، قطر الیاف

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: محمدی حسین، خلت‌آبادی فراهانی امیر حسین (۱۴۰۳) شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات کیفی پشم در گوسفندان نژاد پشم ضخیم و ظریف برپایه آماره‌های نشانه‌های انتخاب. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۶(۳)، ۱۵۴-۱۳۳.

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



© the authors

مقدمه

نسخوارکنندگان کوچک، به ویژه گونه‌های نژاد بومی، نقش مهمی در معیشت بخش قابل توجهی از جمعیت انسان در مناطق گرمسیری از جنبه‌های اجتماعی-اقتصادی ایفا می‌کنند (Jafari et al. 2019; Hajalizadeh et al. 2019; Shamsavari et al. 2023; Ahmadabadi et al., 2023). بنابراین، کارآزمایی‌های ترکیبی با تأکید بر تجویز و پیشرفت ژنتیکی برای بهبود برون‌داد حیوانی از اهمیت تعیین‌کننده‌ای برخوردار هستند (Barazandeh et al. 2016; Mohammadabadi and Tohidinejad 2017). کارایی اقتصادی و بیولوژیکی بنگاه‌های تولید گوسفند به طور کلی با افزایش بهره‌وری و عملکرد تولیدمثلی نرها بهبود می‌یابد (Mohammadi et al. 2022; Mohammadabadi et al. 2023; Shokri et al. 2023). در برنامه‌های اصلاح نژادی

گوسفند جهت بهبود تولید پشم و کیفیت آن صفاتی مانند وزن پشم، میانگین قطر الیاف، طول دسته الیاف، نسبت کمپ و ضریب تنوع آنها مهمترین ملاک‌های انتخاب هستند (Zhao et al. 2021). نرخ پیشرفت در صفات پشم نسبت به سایر صفات از جمله رشد سرعت کندی داشته است. اکثر صفات مرتبط با خصوصیات کمی و کیفی پشم دارای وراثت پذیری متوسط و بالا هستند، از این رو اگر در برنامه‌های اصلاح نژادی ملاک انتخاب قرار گیرند، می‌توان شاهد تغییرات قابل ملاحظه‌ای در این صفات در طی نسل‌های آینده بود (Wang et al. 2014). شاخص‌های اصلاح نژادی برای صفات مرتبط با کمیت و کیفیت پشم به ترتیب روی دو صفت وزن پشم شسته شده^۱ و قطر الیاف پشم گوسفندان نژاد مرینوس در کشور استرالیا انجام شده است، بطوریکه انتخاب باعث کاهش قطر الیاف پشم این نژاد از ۱۹/۷ به ۱۸/۳ میکرومتر شده بود (Taylor et al. 2017). ولی انتخاب و بهبود صفات بر پایه داده‌های فنوتیپی میزان پیشرفت ژنتیکی را کند نماید. اندازه‌گیری صفات پشم مانند استحکام الیاف یا اندازه‌گیری آنها مشکل بوده و یا پرهزینه است. از طرف دیگر همبستگی ژنتیکی منفی و متوسط بین وزن پشم شسته شده و میانگین قطر الیاف با صفات تولید مثلی (تعداد بچه از شرگیری شده و تعداد کل بچه متولد شده در طول عمر) به ترتیب برابر با ۰/۳۹- و ۰/۳۳- گزارش شده است (Ramos et al. 2023). همچنین همبستگی ژنتیکی منفی و کم بین این صفات با صفات رشد (وزن بدن در یکسالگی) به ترتیب برابر ۰/۰۹ و ۰/۰۸- گزارش شده است (Dominik and Swan 2018). در نتیجه این عوامل موجب شده است تا تمایل به مطالعه ژن‌های کاندیدا و مکان‌های ژنومی کنترل کننده صفات کمی (QTL²) در بین محققین برای صفات پشم افزایش پیدا کند و از این طریق تولید پشم و صفات کیفی پشم تولیدی بهبود پیدا نمایند (Ren et al. 2016). از طرف دیگر طی دهه‌های اخیر، تمایل به شناسایی ژن‌ها و نواحی ژنومی که هدف انتخاب در برنامه‌های اصلاحی هستند رو به افزایش بوده است. شناسایی نشانه‌های انتخاب می‌تواند دیدگاه‌های ارزشمندی در مورد ژن‌ها و یا مناطق ژنومی که تحت فشار انتخاب بوده و یا هستند فراهم کند که به نوبه خود منجر به درک بهتر ارتباط ژنوتیپ و فنوتیپ می‌شود. چنانچه یک جهش جدید باعث افزایش شایستگی افراد حامل آن نسبت به سایر افراد جامعه شود، انتخاب باعث می‌شود افرادی که دارای شایستگی بیشتری هستند، در تشکیل نسل بعد مشارکت بیشتری داشته باشند. بنابراین تفاوت نسبتاً بالا در فراوانی آلی بین جمعیت‌ها نیز می‌تواند به عنوان نشانه‌ای از انتخاب مثبت در جایگاه‌های ژنی مربوط به شمار آید (Asadollahpour Nanaei et al. 2022). به عبارت دیگر هنگامی که انتخاب مثبت به سمت افزایش فراوانی آلل مطلوب پیش می‌رود، جایگاه‌های نزدیک به این جایگاه اگر دارای تأثیر خنثی نیز باشد به علت پیوسته بودن با آلل مطلوب، تحت تأثیر قرار می‌گیرد که در نتیجه این پدیده، الگوی تنوع ژنتیکی و عدم تعادل پیوستگی^۳ (LD) در جایگاه‌های اطراف این جهش انتخابی تغییر خواهد کرد، به طوریکه هر چه به این ناحیه ژنومی نزدیک می‌شویم میزان تنوع ژنتیکی کاهش و LD افزایش پیدا می‌کند. به این الگوها نشانه‌های انتخاب^۴ یا ردپای انتخاب^۵ گفته می‌شود (Rostamzadeh Mahdabi et al. 2021).

¹Clean fleece weight

²Quantitative trait loci

³Linkage disequilibrium

⁴Selection Signatures

⁵ Selection footprints

پس از طراحی اولین تراشه SNP در گوسفند در قالب پروژه Sheep HapMap در سال ۲۰۰۹، تحقیقات موفقیت آمیز مختلفی با هدف شناسایی مناطق ژنومی و ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفات پشم در گوسفند انجام شده است. اولین مطالعه روی گوسفندان مریوس با شناسایی ژن‌های کاندیدای مؤثر بر صفات کیفی به طور موفقیت آمیزی انجام و ژن‌های *YWHAZ*، *EPHA5*، *TPTE2*، *TCF9*، *DDX47*، *GPRC5A*، *PTPN3*، *KIF16B*، *PIK3R4*، *TSPEAR*، *KRTCAP3*، *NBEA* به عنوان کاندیدا گزارش شدند (Wang et al. 2014). در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب مرتبط با صفات تولیدی پشم در گوسفندان نژاد Liangshan چینی به عنوان نژاد پشم ضخیم در مقایسه با نژاد گوسفند مریوس چینی به عنوان پشم ظریف، منجر به شناسایی ژن‌های *ALOX5* و *BVES*، *TCF25*، *HOXA7*، *MAPK7*، *JRF2BP2* شده است (Sun et al. 2024). همچنین در مطالعه‌ی ژنومی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب در گوسفندان با پشم ظریف شامل نژادهای مریوس استرالیایی، مریوس آلمانی در مقایسه با گوسفندان نژاد پشم ضخیم شامل Small tailed Han، Hu، Lop و Ujimqin انجام شده است، ژن‌های کاندیدای *PTGS2*، *SMAD2*، *OPHN1*، *NFIB*، *SEMA3C*، *PIK3CA*، *LGR4* و *THADA* مرتبط با صفات کمی و کیفی الیاف شناسایی شده است (Zhang et al. 2023). گوسفند زندی یکی از نژادهای متوسط وزن و ممتاز کشور از نظر صفات تولیدی می‌باشد. کیفیت پشم تولیدی در این نژاد از نوع پشم ضخیم یا پشم قالی می‌باشد. مقاومت در برابر سرما و گرما (از ۲۰- درجه سانتیگراد در زمستان تا ۴۰+ درجه سانتیگراد در تابستان)، شرایط سخت تغذیه‌ای و مراتع ضعیف و هوای بارانی و برفی در این گوسفند بسیار شایان توجه است (Ghafouri Kesbi et al. 2008). وزن پشم ناشور و میانگین قطر الیاف در گوسفندان نژاد زندی به ترتیب $2/13 \pm 0/45$ و $29/85 \pm 3/2$ گزارش شده است (Mohammadi et al. 2018). همچنین گوسفندان نژاد مریوس یک نژاد غالب پرورشی در کشور استرالیا و سازگار یافته در سیستم‌های مرتعی است. این نژاد بزرگترین نژاد خالص با اهداف تولید پشم با قطر الیاف کمتر از ۲۵ میکرون می‌باشد (Megdiche et al. 2019). میانگین قطر الیاف در گوسفندان مریوس خالص استرالیایی برابر با $18/26 \pm 0/52$ میکرومتر و میانگین وزن پشم شسته شده $4/31 \pm 0/35$ کیلوگرم گزارش شده است (Theron et al. 2024). هدف از انجام پژوهش حاضر، پویش کل ژنومی و تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی مرتبط با صفات پشم در مقایسه بین نژادهای گوسفند بومی زندی با نژاد مریوس استرالیایی براساس شناسایی نشانه‌های انتخاب بود.

مواد و روش‌ها

از ۲۰۰ گوسفند نژاد زندی حاضر در دو گله مرکز اصلاح نژاد خجیر واقع در تهران وابسته به سازمان جهاد کشاورزی استان تهران، مقدار ۵-۷ سی‌سی خون استحصال و همراه با ۰/۵ میلی لیتر EDTA در لوله‌های خلاء با pH ۷/۸-۵ نگهداری شد. از میان نمونه‌های اخذ شده پس از آنالیز شجره، حیواناتی که کمترین رابطه خویشاوندی را با هم به علت عدم تعادل پیوستگی داشتند به تعداد ۹۶ رأس انتخاب شدند. استخراج DNA با استفاده از روش بهینه یافته استخراج نمکی از خون کامل انجام 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. از تمام دام‌های انتخاب شده قبل از پشم چینی سالیانه نمونه برداری پشم انجام گرفت. ابتدا از هر نمونه ۳ استاپل به طور تصادفی جدا شده و طول هر یک به کمک خط کش و بر حسب سانتی‌متر مطابق با روش استاندارد شماره ۱۹۴۱ ایران اندازه‌گیری شد. سپس میانگین طول ۳ استاپل محاسبه و با تقریب ۲ میلی‌متر برای هر نمونه گزارش شد. نمونه‌های پشم گرفته شده در آزمایشگاه با مواد شوینده شسته شده و صفات کیفی الیاف طبق پروتکل استاندارد A.S.T.M شماره D2130-90 اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری میانگین قطر (MFD)، به طور تصادفی ۲ تا ۳ دسته الیاف از داخل نمونه بیرون کشیده و از قسمت میانی آنها به طول حدود ۱۵۰ تا ۲۰۰ میکرومتر برش‌هایی زده و آنها را با استفاده از گلیسرین بر روی لام تثبیت نمودیم و با استفاده از میکروسکوپ پروژکتینا قطر تارهای پشم بر حسب میکرومتر اندازه‌گیری شد. میانگین قطر الیاف هر نمونه برحسب ۴۰۰ تار پشم محاسبه گردید. همچنین در پژوهش حاضر از اطلاعات ژنوتیپی مرتبط با ۵۰ رأس گوسفندان غیر خویشاوند مربوط به نژاد مرینوس با پشم ظریف کشور استرالیا استفاده گردید. داده‌های مورد استفاده در این پژوهش در پایگاه برخط WIDDE (<http://widde.toulouse.inra.fr/widde>) به شماره‌های دسترسی [#B5FB69078?module=sheep](http://widde.toulouse.inra.fr/widde/widde/main.do;jsessionid=88568940B36A7DD2FBEE9E5) در دسترس می‌باشد.

با توجه به 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. برای فیلتراسیون داده‌های ژنومی از معیارهای فراوانی نمونه‌های تعیین ژنوتیپ شده، نرخ تعیین ژنوتیپ نشانگرها در هر نمونه و فراوانی آلل نادر (MAF) 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 ۱ درصد بود حذف شدند. سپس نشانگرهایی که نرخ تعیین ژنوتیپ آنها در نمونه‌ها کمتر از ۹۰ درصد بود شناسایی و حذف شدند. در نهایت برای SNP‌های باقیمانده‌آنها که در تعادل هاردی-واینبرگ قرار نداشتند 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 (Purcell et al., 2007).

آنالیزهای آماری ساختار جمعیتی و روش‌های شناسایی نشانه‌های انتخاب: یکی از شیوه‌های آماری برای آزمون ارتباط بین جوامع و اختصاص افراد به آنها با استفاده از ماتریس فاصله، استفاده از آنالیز مؤلفه‌های اصلی^۶ (PCA) است. در این تحقیق به

⁶ Principal Component Analysis

منظور بررسی ساختار جمعیتی نژادهای مورد مطالعه و شناسایی نحوه قرار گرفتن حیوانات در گروه‌های نژادی خود و تقسیم‌بندی گروه‌ها از آنالیز PCA استفاده شد. این آنالیز با استفاده از تابع prcomp در محیط نرم‌افزار R (نسخه ۴/۲/۰) انجام شد.

برای شناسایی نواحی ژنومی تحت انتخاب از دو آزمون تمایز جمعیتی F_{ST} و hapFLK استفاده شد. آزمون تمایز جمعیتی F_{ST} به دو روش رایب (Wright 1965) و روش برآوردگر ناریب تتا (θ) (Weir and Cockerham 1984) محاسبه می‌شود. یکی از مشکلات اصلی روش محاسبه همخونی رایب، عدم در 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 عددی بدست آمده از این روش‌ها بین صفر تا یک متغیر است. محاسبه‌های مربوط به دو روش رایب 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 میانگین-گیری ارزش‌های عددی SNPهای مجاور به روش Creeping Window (CW) استفاده شد، بطوریکه با میانگین ارزش عددی F_{ST} هر ده SNP مجاور به عنوان ارزش Win10 انجام شد. 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.

علاوه بر این جهت بررسی الگوی انتخاب مثبت در سطح ژنوم از روش hapFLK نرم‌افزار hapFLK V1.4 (Fariello et al. 2013) استفاده شد. جهت تعیین فازهای هاپلوپتیپی برای کل ژنوم هر یک از جمعیت‌های مورد مطالعه، از نرم‌افزار fastPHASE V.1.2.3 استفاده شد. در این برنامه از روش حداکثر درستنمایی برای تخمین ژنوتیپ‌های گمشده (امپیوت) و بازسازی هاپلوپتیپ‌ها استفاده می‌شود (Scheet and Stephens 2006). فایل‌های ورودی برای نرم‌افزار hapFLK شامل دو فایل داده برای فازهای هاپلوپتیپی که برای هر رأس دام تعیین شده و فایل نقشه‌های SNPهای مورد استفاده است. تنها ۰/۱ درصد حد بالای ارزش hapFLK به عنوان نشانه انتخاب در نظر گرفته شد (Waineina et al. 2022). سپس توسط بسته نرم‌افزاری ggplot2 در برنامه R (نسخه ۴/۲/۰) گراف منتهن پلات ارزش‌های hapFLK به دست آمد.

برای بررسی ژن‌های گزارش شده در این مناطق و ۵۰۰ کیلو جفت‌باز اطراف آنها از پایگاه اطلاعاتی برخط Genes 112 Database Ensembl بوسیله BioMart (www.ensembl.org/biomart) مورد ارزیابی 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 وجود همپوشانی مناطق مورد نظر با QTLهای شناسایی شده از مرکز اطلاعاتی آنالیز QTL (<http://i.animalgenome.org/jbrowse/>) استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به مراحل مختلف ویرایش داده‌های تعیین ژنوتیپ در جدول ۱ ارائه شده است. تعداد دو حیوان از نژاد زندی خارج از توده نژادی خود در آنالیز PCA قرار داشتند که به منظور جلوگیری از ایجاد اربیبی در محاسبات حذف شد. پس از حذف داده‌های حیوانات حذف شده، داده‌های نژاد زندی با نژاد گوسفند مرینوس استرالیایی با هم ترکیب شدند که دارای ۴۸۰۵۱ نشانگر SNP مشترک بودند که پس از مرحله کنترل کیفیت در سطح SNP در نهایت، تعداد ۴۶۷۹۳ نشانگر SNP باقی ماندند که شامل اطلاعات ۲۷ جفت کروموزوم گوسفند بودند (جدول ۲).

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

نژاد	زندی	مرینوس
Breed	Zandi	Merino
تعداد حیوانات	96	50
Number of animals		
حذف نمونه‌هایی با بیش از ۱۰ درصد ژنوتیپ از دست رفته	0	0
Excluding animals with call rate<0.90		
حذف نمونه‌هایی با بیش از IBS بالاتر از ۰/۹۹	0	0
Excluding animals with IBS>0.99		
حذف حیواناتی که در آنالیز PCA خارج از توده جمعیتی خود قرار داشتند	2	0
Excluding animals that were clustered outside of their population mass in PCA analysis		
تعداد کل نمونه‌های باقی‌مانده	94	50
Remaining animals		

به منظور بررسی نحوه قرار گرفتن حیوانات در گروه‌های نژادی، تجزیه و تحلیل PCA با بکارگیری اطلاعات تعیین ژنوتیپی بین نژاد بومی زندی و نژاد مرینوس استرالیایی 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 نژاد مرینوس به خوبی از یکدیگر تفکیک و جدا شدند و در هیچ نقطه‌ای با هم همپوشانی ندارند (شکل ۱). این PCA در مجموع حدود ۵/۷٪ واریانس برای ویژه بردار ۱ و ۳/۸٪ برای ویژه بردار ۲ را توجیه می‌کنند. در نژادهای مختلف دیگر گوسفند، حیوانات فقط برپایه ویژه بردارهای یک و دو براساس نژاد و منطقه جغرافیایی دسته‌بندی شده‌اند (Kijas et al. 2012; Waiveina et al. 2022).

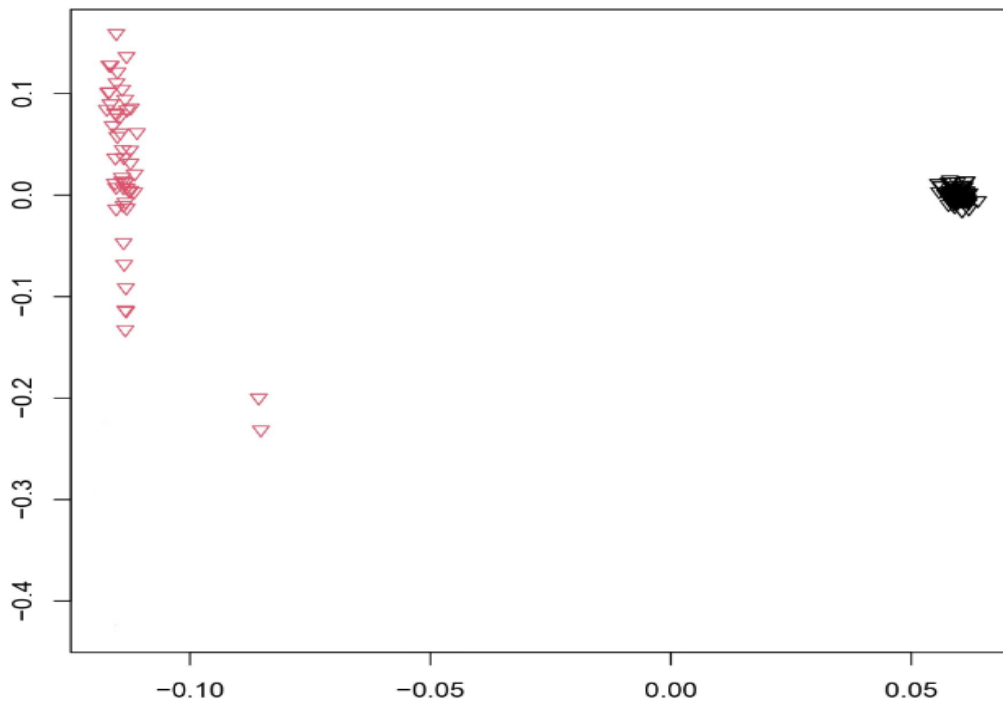
جدول ۲. خلاصه مراحل مختلف کنترل کیفیت نشانگرهای SNP برای آنالیزهای نشانه‌های انتخاب

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 نشانگرها قبل از کنترل کیفی	48051
SNP number before QC	
حذف نشانگرها با حداقل فراوانی آلی کمتر از یک درصد	42
Excluding SNPs $\leq 1\%$ MAF over all animals	
حذف نشانگرهای با نرخ فراخوانی کمتر از ۹۰ درصد در هر نمونه	853
Excluding SNPs $\leq 90\%$ Call rate over all animals	
حذف نشانگرها با انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ (10^{-6})	363
Excluding SNPs with deviation from HW (< 0.000001)	
تعداد نشانگرهای باقی‌مانده	46793
Remaining SNPs	

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 و 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 مناطقی 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.

نشانه‌های انتخاب شناسایی شده با استفاده از روش ناریب F_{ST} (تا): از آنجائیکه انتخاب، علاوه بر جهش سودمند جایگاه‌های مجاور آن را هم تحت تأثیر قرار می‌دهد، 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 ۱۰ 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 دو گروه موردی-شاهد 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.

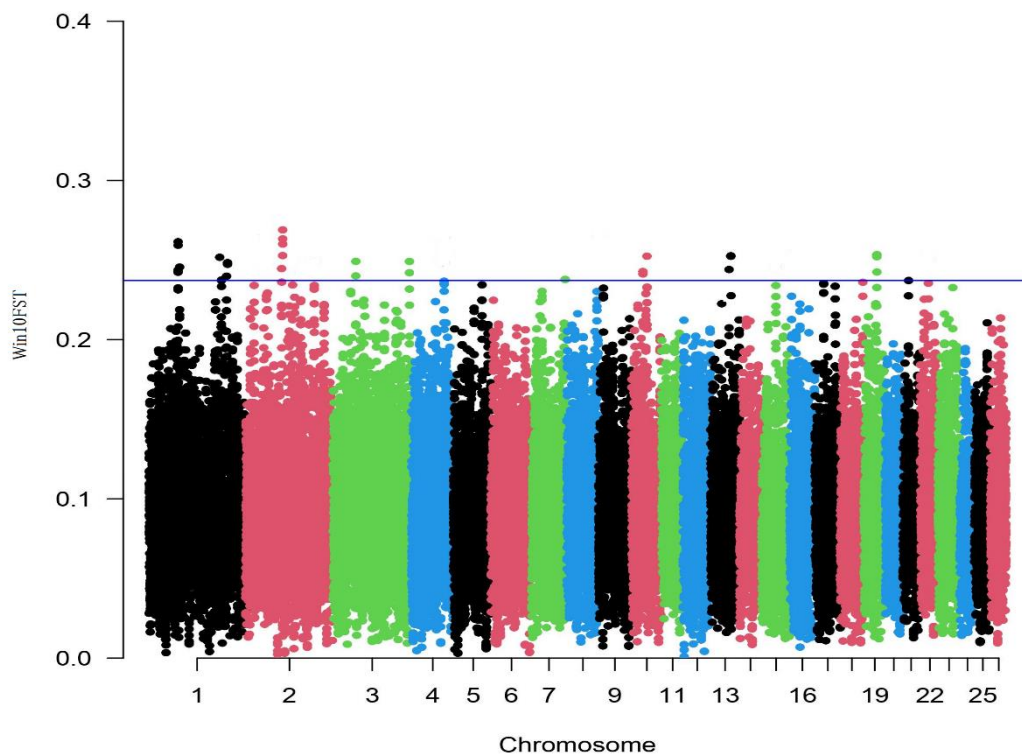


شکل ۱. خوشه‌بندی حیوانات براساس آنالیز PCA با استفاده از اطلاعات ژنوتیپی تمام حیوانات

Figure 1. Animals clustered on the basis of principal components analysis (PCA) using genotyping information animals

بخش‌هایی از ژنوم که ارزش F_{ST} بالایی دارند، نشان‌دهنده تمایز بین دو نژاد 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 هشت ناحیه ژنومی بر روی کروموزوم‌های ۱ (دو منطقه)، ۲، ۳ (دو منطقه)، ۱۰، ۱۳ و ۱۹ بودند و در صدک ۹۹/۹ کل ارزش‌های تنا قرار داشتند و معنی‌دار بودند (شکل ۲). از روش نشانه‌های انتخاب و آماره ناریب تنا تاکنون جهت شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات مهم اقتصادی مختلف در دام‌های اهلی استفاده شده است. در پژوهشی با هدف شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب مثبت مرتبط با آدپتاسیون و تولیدی در نژادهای مختلف با استفاده از آماره F_{ST} انجام شده بود، منجر به شناسایی ژن‌های کاندیدا *DENNDIA*، *ITPR2* و *CDC25C*، *RXFP2*، *GJA10*، *RORA*، *SOX2*، *PLCB1* شده است (Peng et al. 2024). در مطالعه پویس ژنومی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب در گوسفندان نژاد پوستی و پشمی ایرانی شامل قره‌گل، سیاه کبود، کبوده شیراز، سنجابی، کرمانی و بلوچی با استفاده از آماره F_{ST} انجام شده است. نتایج این تحقیق نشان داد ۲۶ منطقه ژنومی روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۶، ۱۹ و ۲۴ حاوی نشانه‌های انتخاب بودند و ژن‌های کاندیدی *MIR339*، *P2RY*، *PDGFRA*، *IGSF10*، *MITF*، *KIT*، *MAD1L1* و *ELFN1* گزارش شدند (Patiabadi et al. 2023). همچنین 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 *ETAA1* و *ALX4*, *HOXA10*, *PDGFD*, *VEGFA*, *BMP2*, *WARS2*, *TBX12*, *WDR92* گزارش شدند (Zhao et al. 2020). پس از شناسایی نواحی ژنومی تحت انتخاب، ژن‌های موجود در این مناطق شناسایی و عملکرد بیوشیمیایی آن‌ها بررسی شدند، در مجموع ۵۰ ژن که در ارتباط با منطقه انتخابی بودند از این طریق تعیین شدند (جدول ۱). ژن‌های مشخص شده در جدول ۱ عملکردهای متفاوتی بر رشد و توسعه فولیکول‌های مو، رشد و توسعه پوست، تولید کمپ، تنظیم تفرق سلول‌های اپیتلیال، رنگدانه‌های پوست و تحریک کلاژن داشتند که می‌توانند به طور مستقیم و غیر مستقیم با صفات تولیدی پشم مرتبط باشند. اولین منطقه ژنومی شناسایی شده مرتبط با صفات پشم روی کروموزوم شماره ۱ در دو ناحیه ۱۵۴/۵۵-۱۵۳/۵۷ و ۶۸/۶۷-۱۹۲/۱۹۳ مگابازی قرار داشتند. از بین ژن‌های موجود در این نواحی، ژن‌های کاندیدای *POU1F1* و *FGF12* بیشترین ارتباط با صفت مورد مطالعه داشتند. ژن کاندیدای *POU1F1* نقش تنظیمی در بیان ژن کراتینوسیت‌ها (تولیدکننده کراتین) در بدن دارند (Choi et al. 2014). ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی‌های موجود در ژن *POU1F1* با صفات مرتبط با پشم شامل تولید پشم در گوسفند (Sun et al. 2013) و طول دسته الیاف در بزهای کشمیری گزارش شده است (Lan et al. 2009). ارتباط معنی‌داری بین ژن کاندیدای *FGF12* با صفت طول استاپل گزارش شده است که نقش کلیدی در رشد و توسعه فولیکول‌های مو دارد (Wang et al. 2021). همچنین ژن کاندیدای *FGF12* در مطالعات قبلی ارتباط معنی‌داری با تولید پشم در گوسفند گزارش شده است (Lv et al. 2020). دومین منطقه ژنومی شناسایی شده در پژوهش حاضر در ناحیه ۵۸/۷۲-۵۹/۷۱ مگابازی کروموزوم شماره ۲ قرار داشت. از بین ژن‌های موجود در این ناحیه، ژن کاندیدای *GNAS* بیشترین ارتباط با صفات پشم را داشت. ژن کاندیدای *GNAS* ژن پروتئین اتصال- نوکلئوتیدی گوانین زیر واحد آلفا دارای نقش سیگنالینگ از طریق فعال نمودن آدنیلات سیکلازها (آنزیم کلیدی تبدیل آدنوزین تری فسفات به آدنوزین مونو فسفات حلقوی) می‌باشد و از این طریق در نتیجه باعث افزایش فعالیت مولکول‌های آدنوزین مونو فسفات حلقوی cAMP می‌شود. cAMP یک پیام رسان ثانویه در بسیاری از واکنش‌های سلولی می‌باشد (Genecards). ژن *GNAS* همچنین در فرآیندهای بیولوژیکی مهمی مانند پاسخ سلولی به لیپولیز، گلیکونئوزنریس، تحریک کلاژن و تشکیل فولیکول‌ها مو در جنین نقش دارند (UniProtKB). همچنین ارتباط ژن *GNAS* در انسان با رشد و توسعه پوست به اثبات رسیده است (UniProtKB). در حیوانات، ارتباط معنی‌داری بین چند شکلی در ژن کاندیدای *GNAS* با صفات میانگین خوراک مصرفی و وزن زنده، در ۱۳۸ رأس گاو گوشتی لیموزین گزارش شده است (Magee et al. 2010). سومین منطقه ژنومی شناسایی شده روی کروموزوم شماره ۳ در دو ناحیه ۱۱/۲۹-۱۲/۲۸ و ۱۲۴/۹۶-۱۲۳/۹۸ مگابازی قرار داشتند. از بین ژن‌های موجود در این نواحی، ژن‌های کاندیدای *LHX2* و *TMTC3* بیشترین ارتباط با صفت مورد مطالعه داشتند. ژن کاندیدای *TMTC3* که در مسیر هستی‌شناسی گلیکوزیلاسیون پروتئین بر روی کروموزوم ۳ در ناحیه ۱۳۳/۸ مگابازی گوسفند قرار دارد.



شکل ۲. توزیع ارزش‌های Win10 آماره F_{ST} در سطح ژنومی جمعیت‌های مورد مطالعه: با موقعیت کروموزومی SNP‌ها بر روی محور X و ارزش‌های F_{ST} آنها بر روی محور Y نمایش داده شده است. خط ترسیم شده نشان دهنده صدک ۹۹/۹ کل ارزش‌های تتا می‌باشد

Figure 2. Distribution of win10 F_{ST} statistic values in study population: the SNP position on different chromosomes shown on the X-axis, and F_{ST} values are plotted on the Y-axis. The values above the line are in the 99.9 percentile of values

این ژن از خانواده ژنی $TMTC^7$ می‌باشد و در مطالعات مختلفی ارتباط آن با صفات کیفی پشم گزارش شده است (Morgan et al. 2018). در مطالعه پویس کل ژنومی در گوسفندان نژاد Akkraman ترکیه، ارتباط معنی‌داری بین ژن $TMTC3$ با طول استاپل گزارش شده است (Arzik et al., 2023). ژن $LHX2$ تنظیم‌کننده فعالیت فاکتور Ras guanine-exchange می‌باشد که نقش مهمی در رشد و توسعه فولیکول‌های مو دارد. در مطالعه پویس ژنومی با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات تولیدی در نژادهای مختلف گوسفندان ایرانی شامل قزل، مغانی و افشاری در مقایسه با گوسفندان نژاد ایست فریزین سفید، ایست فریزین قهوه‌ای، لاکن، دورست و دورپر، ژن $LHX2$ گزارش شده است (Mohamadipoor Saadatabadi et al. 2021).

⁷ Transmembrane and Tetratricopeptide repeat containing

مناطق ژنومی بعدی روی کروموزوم شماره ۱۰ در نواحی ۲۶/۵۹-۲۵/۶۰ مگابازی شناسایی شد. ژن کاندیدای *NBEA* در این ناحیه قرار داشت. این ژن نقش اساسی در تنظیم تفرق سلول‌های اپیتلیال از مسیر سیگنال‌دهی Rho در رشد و توسعه پوست دارد (McMullan et al. 2003). در مطالعه پویس ژنومی مرتبط با صفات پشم در گوسفندان نژاد مریوس چینی، ژن کاندیدای *NBEA* مرتبط با صفت کمپ گزارش شده است (Wang et al. 2014). منطقه ژنومی بعدی روی کروموزوم شماره ۱۳ در نواحی ۱۶/۱۷-۹۵/۹۴ مگابازی شناسایی شد. از بین ژن‌های موجود در این ناحیه، ژن‌های کاندیدای *CCNY* بیشترین ارتباط را با صفت مورد مطالعه داشت. ژن *CCNY* جزء خانواده ژنی پروتئین‌های اتصالی وابسته به کینازها است که نقش کلیدی در دریافت، حمل و متابولیسم اسیدهای آمینه دارند. در مطالعه پویس ژنومی مرتبط با صفات مهم اقتصادی در گوسفندان مریوس چینی، ژن کاندیدای *CCNY* مرتبط با صفات کیفی الیاف گزارش شده است (Wang et al. 2014). از مناطق ژنومی مهم دیگری که در پژوهش حاضر مرتبط با صفات کیفی پشم شناسایی شد در ناحیه ۳۲/۲۰-۳۱/۲۱ مگابازی از کروموزوم شماره ۱۹ بود که شامل ژن کاندیدای *MITF* بود. ژن *MITF* یک فاکتور رونویسی است که در تنظیم مسیر انواع سلول‌ها از جمله ملانوسیت، استئوکلاست‌ها و ماست سل‌ها نقش دارد (Gencards). همچنین این ژن در رنگدانه‌های پوست از طریق ساخت طبیعی ملانین در ملانوسیت ضروری هستند در رنگ پوشش بدن نقش دارد (Koseniuk et al. 2018). در مطالعه پویس ژنومی با هدف شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب در گوسفندان نژاد قره‌گل، سیاه کبود، کبوده شیراز، سنجابی، کرمانی و بلوچی، ژن کاندیدای *MITF* گزارش شده است (Patiabadi et al. 2023).

شناسایی نشانه‌های انتخاب با استفاده از روش hapFLK: در شکل ۲ نمودار منهن براساس ضرایب hapFLK در

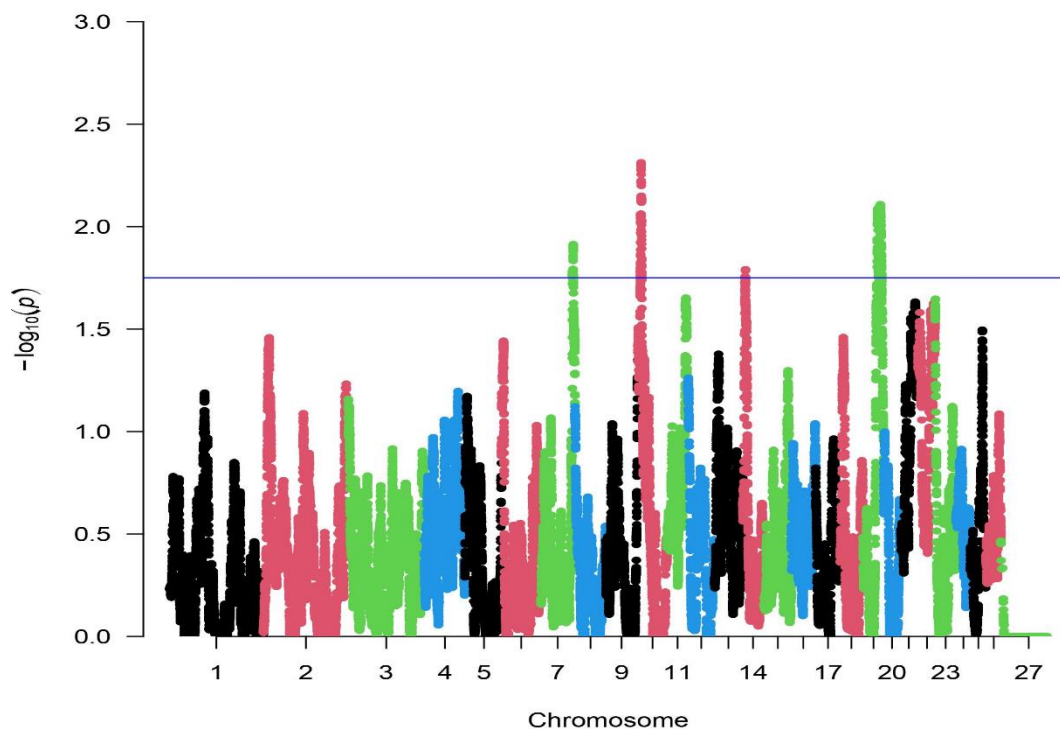
هر جایگاه نشانگری نشان داده شده است. نتایج به دست آمده نشان داد که در چندین منطقه ژنومی SNP‌های مجاور تفرق جمعیتی بالایی داشتند که شامل چهار ناحیه ژنومی بر روی کروموزوم‌های ۷، ۱۰، ۱۴ و ۱۹ بودند و در صدک ۹۹/۹ کل ارزش‌های hapFLK قرار داشتند و معنی‌دار بودند (شکل ۳). از روش نشانه‌های انتخاب و روش hapFLK تاکنون جهت شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات مهم اقتصادی مختلف در دام‌های اهلی استفاده شده است. در پژوهشی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب مرتبط با آدپتاسیون و پاسخ سیستم ایمنی، تولید و تولید مثل در نژادهای مختلف با استفاده از آماره hapFLK 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 *HYAL1*، *PDE4B*، *MST1* 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 بیوشیمیایی آن‌ها بررسی شدند، در مجموع ۴۲ ژن که در ارتباط با منطقه انتخابی بودند از این طریق تعیین شدند (جدول ۲).

جدول ۱. نواحی ژنومی تحت انتخاب و ژن‌های شناسایی شده در این مناطق ژنومی مرتبط با صفات کیفی پشم با استفاده از آماره F_{ST}

Table 1. Genomic regions containing selection signatures related to wool trait, and genes (QTL) reported in these genomic regions using F_{ST} Method

شماره کروموزوم	موقعیت ژنومی Genomic region	ژن‌های موجود در منطقه ژنومی Genes including in these region	QTL‌های گزارش شده در منطقه ژنومی QTL reported in these region	کد دسترسی به مقاله (PubMed ID)
1	153571768:154559968	<i>RAPSN, CHRNBI, NPNT, GSTCD, INTS12, POU1F1, TET2, CENPE, BDH2, SLC9B2, SLC9B1, CISD2, MANBA</i>	-	-
1	192686736:193674936	<i>BDHI, APOD, ACAP2, XXYL1, FGF12</i>	-	-
2	58728841:59717041	<i>GNAQ, GNA14, GNAS, VPS13A, CASD1, SPHKAP, BTF3L4, TXNDC12</i>	-	-
3	11293157:12281357	<i>NR6A1, ADGRD2, PSMB7, NEK6, LHX2, DENND1A</i>	Body weight	26272623
3	123980658:124968858	<i>RLIG1, CEP290, TMTC3, KITLG</i>	-	-
10	25606132:26594332	<i>DCLK1, NBEA, NBEA</i>	Wool crimp	25268383
13	16956089:17944289	<i>YMEILI, MASTL, ABII, PDSSI, APBB1IP, CCNY, CREM, CUL2, PARD3</i>	Wool fiber diameter	25268383
19	31217597:32205797	<i>MDFIC2, MITF</i>	-	-

اولین منطقه ژنومی شناسایی شده مرتبط با صفات کیفی پشم روی کروموزوم شماره ۷ در ناحیه ۶۳/۹۱-۶۲/۹۲ مگابازی قرار داشت. از بین ژن‌های موجود در این ناحیه، ژن کاندیدای *DUOX1* بیشترین ارتباط با صفت مورد مطالعه داشت. در مطالعه پویش ژنومی مرتبط با صفات تولیدی در بزهای نژاد مرخز، ژن کاندیدای *DUOX1* مرتبط با صفت وزن بیده در یکسالگی گزارش شده است (Nazari-Ghadikolaei et al. 2018). ژن کاندیدای *DUOX1* نقش تنظیمی در بیان ژن کراتینوسیت‌ها (تولیدکننده کراتین) در بدن دارند (Choi et al. 2014).



شکل ۳. توزیع ارزش‌های hapFLK در سطح ژنومی جمعیت‌های مورد مطالعه: با موقعیت کروموزومی SNP‌ها بر روی محور X و ارزش‌های hapFLK آنها بر روی محور Y نمایش داده شده است. خط ترسیم شده نشان دهنده صدک ۹۹/۹ کل ارزش‌های hapFLK می‌باشد

Figure 3. Distribution of hapFLK statistic values in study population: the SNP position on different chromosomes shown on the X-axis, and hapFLK values are plotted on the Y-axis. The values above the line are in the 99.9 percentiles of values

دومین منطقه ژنومی شناسایی شده در پژوهش حاضر در ناحیه ۴۴/۱۳-۴۵/۱۲ مگابازی کروموزوم شماره ۱۰ قرار داشت. از بین ژن‌های موجود در این ناحیه، ژن کاندیدای *LOC106991379* بیشترین ارتباط با صفات کیفی پشم را داشت. ژن کاندیدای *LOC106991379* جزئی از خانواده ابر ژنی *LOC* می‌باشد که دارای نقش انتقالی هستند. خانواده ژنی *LOC* 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). در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی مناطق ژنومی و ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفات کیفی الیاف پشم در گوسفندان نژاد مرینوس، ژن‌های *LOC101110773* و *LOC106991357*

مرتبط با صفات کیفی پشم گزارش شده‌اند (Megdiche et al. 2019). سومین ناحیه ژنومی شناسایی شده بر روی کروموزوم شماره ۱۴ در ناحیه ۴۳/۴۳-۴۲/۴۴ مگابازی قرار داشت. از بین ژن‌های موجود در این منطقه، ژن کاندیدای *RHPN2* بیشترین ارتباط با صفات کیفی پشم داشت. ژن *RHPN2* نقش میانجیگری در تعدادی از فرآیندهای سلولی تمایز و تکثیر دارد و بطور معمول موجب تحریک رشد و تکثیر سلولی می‌شود و همچنین این مسیر در ساخت سلولی و تمایز کلاژن‌ها نیز دخالت می‌کند (UniProtKB). ژن *RHPN2* جزء خانواده ژنی پروتئین‌های اتصالی وابسته به کینازها است. در مطالعه پویس ژنومی مرتبط با صفات پشم در گوسفندان نژاد چینی، ژن کاندیدای *RHPN2* مرتبط با صفت میانگین قطر الیاف گزارش شده است (Zhao et al. 2021).

جدول ۲. نواحی ژنومی تحت انتخاب و ژن‌های شناسایی شده در این مناطق ژنومی مرتبط با صفات کیفی پشم با

استفاده از آماره hapFLK

Table 2. Genomic regions containing selection signatures related to wool trait, and genes (QTL) reported in these genomic regions using hapFLK method

شماره کروموزوم	موقعیت ژنومی	ژن‌های موجود در منطقه ژنومی	ژن‌های QTL	کد دسترسی به مقاله (PubMed ID)
Number of chromosomes	Genomic region	Genes including in these region	گزارش شده در منطقه ژنومی	QTL reported in these region
7	62927370:63915570	<i>SQOR, BLOC1S6, SLC30A4, MIR147B, AFG2B, GATM, SLC28A2 SHF, DUOX1, DUOX1, DUOX2, SORD, FERMT2, DDHD1</i>	-	-
10	44139903:45128103	<i>KLHL1, PRKCA, SPHK1, MTOR, NEK6, LOC106991379, DAPK1, RBM47</i>	-	-
14	42446936:43435136	<i>DPY19L3, PDCD5, ANKRD27, RGS9BP, NUDT19, TDRD12, SLC7A9, CEP89, FAAP24, RHPN2 GPATCH1, WDR88, LRP3, SLC7A10 CEBPA, CEBPG, PEPD</i>	Average daily gain	23825544
19	36191293:37179493	<i>ADAMTS9, PRICKLE2</i>	-	-

روش‌های آماری مختلف برای شناسایی نشانه‌های انتخاب از جمله آماره تتا و hapFLK که در تحقیق حاضر استفاده شدند، دارای پیش فرض‌های آماری متفاوتی هستند که هر آماره و روش ممکن است مناطق ژنومی متفاوتی را به عنوان نشانه‌های انتخاب شناسایی کنند (Pavlidis and Alachiotis 2017). نتایج تحقیقات پیشین نشان داده است هنگامی که با استفاده از روش‌های آماری مختلف برای شناسایی نشانه‌های انتخاب مثبت مورد آنالیز قرار گیرند، مناطق ژنومی متفاوتی گزارش شده است (Megdiche et al. 2019; Kim et al. 2015; Huang et al. 2024). با توجه به عملکرد بیولوژیکی ژن‌های کاندیدای شناسایی شده در این پژوهش که منطبق با گزارشات پویش ژنومی پیشین در نژادها و گونه‌های دیگر می‌باشد، می‌توان بروز فنوتیپی صفت مورد مطالعه را توجیه کرد. می‌توان با ادغام داده‌های تحقیقات مشابه جدید و استفاده از آنالیزهای آماری جامع‌تر برای تأیید نتایج پژوهش حاضر استفاده کرد. همچنین با بررسی تنوع در تعداد کپی و ادغام نتایج مطالعات پویش ژنومی با آنالیزهای داده‌های ترانسکریپتومی می‌توان علی‌رغم کسب اطمینان بیشتر، اطلاعات ارزشمندی در این زمینه فراهم کرد. همچنین با بررسی چند شکلی موجود در ژن‌های کاندیدای شناسایی شده مرتبط با صفات تولید و کیفیت پشم (میانگین قطر الیاف و ضریب تغییرات مرتبط با آن) از طریق مطالعات آزمایشگاهی مانند PCR-RFLP و PCR-SSCP در نژادهای گوسفندان بومی و در صورت تأیید نتایج به‌دست آمده را برای مطالعات اصلاحی به کار برد.

نتیجه‌گیری: در انتها بیان می‌گردد با توجه به عملکرد بیولوژیکی ژن‌های کاندیدا و مسیرهای شناسایی شده در این پژوهش، به نظر می‌رسد این ژن‌ها در بروز فنوتیپی صفات مرتبط با کیفیت پشم نقش مؤثری داشته باشند، با توجه به این موضوع، می‌توان کارایی روش‌های شناسایی انتخاب برای پویش ژنومی صفات مهم اقتصادی را مورد تأیید قرار داد. 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 پشمی کشور با هدف افزایش عملکرد شامل تولید پشم شسته‌شده سالانه و کاهش قطر الیاف پشم خواهد شد. در مجموع، نتایج این تحقیق می‌تواند منابع اطلاعاتی با ارزشی برای انتخاب ژنومی، طراحی سیستم‌های آمیزشی و مطالعات تکمیلی استفاده کرد.

سپاسگزاری: از شرکت دانش بنیان ساینما گستر البرز به خاطر حمایت مالی برای تعیین ژنوتیپ نمونه‌های DNA نژاد زندی در اجرای پژوهش حاضر سپاسگزاری می‌شود.

منابع

جعفری احمدآبادی سید علی اصغر، عسکری‌همت حشمت‌اله، محمدآبادی محمدرضا (۱۴۰۲) تاثیر شاهدانه بر بیان ژن DLK1 در بافت قلب بره‌های کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۵(۱)، ۲۱۷-۲۳۴.

شکری سمیرا، خضری امین، محمدآبادی محمدرضا، خیرالدین حمید (۱۴۰۲) بررسی بیان ژن MYH7 در بافت‌های ران، دست و راسته بره‌های پرواری نژاد کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۵(۲)، ۲۱۷-۲۳۶.

محمدآبادی محمدرضا، گلکار افروز، عسکری حسنی مجید (۱۴۰۲) اثر رازیانه (*Foeniculum vulgare*) بر بیان ژن فاکتور ۱ رشد شبه انسولین در بافت شکمبه گوسفند کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۵(۴)، ۲۳۹-۲۵۶.

محمدی حسین، رأفت سید عباس، مرادی شهر بابک حسین، شجاع جلیل، مرادی محمد حسین (۱۳۹۷) مطالعه ساختار و لایه‌بندی جمعیتی و ارتباط ژنومی هاپلوتیپی صفات کیفی پشم در گوسفندان نژاد زندگی. پژوهش‌های علوم دامی (دانش کشاورزی)، ۲۸(۲)، ۱۹۳-۲۰۴.

References

- Arzik Y, Kizilaslan M, Behrem S, et al. (2023) Genome-Wide Scan of Wool Production Traits in Akkaraman Sheep. *Genes* 14, e713.
- Asadollahpour Nanaei H, Kharrati-Koopae H, Esmailizadeh A (2022) Genetic diversity and signatures of selection for heat tolerance and immune response in Iranian native chickens. *BMC Genom* 23(1), e224.
- Barazandeh A, Mohammadabadi MR, Ghaderi-Zefrehei M, Nezamabadi-Pour H (2016) Genome-wide analysis of CpG islands in some livestock genomes and their relationship with genomic features. *Czech J Anim Sci* 61(11), 487-495.
- Choi H, Park JY, Kim HJ, et al. (2014) Hydrogen peroxide generated by DUOX1 regulates the expression levels of specific differentiation markers in normal human keratinocytes. *J Dermatol Sci* 74, 56-63.
- Dominik S, Swan AA, (2018) Genetic and phenotypic parameters for reproduction, production and bodyweight traits in Australian fine-wool Merino sheep. *Anim Prod Sci* 58, 207-212.
- Fariello MI, Boitard S, Naya H, et al. (2013) Detecting signatures of selection through haplotype differentiation among hierarchically structured populations. *Genetics* 193(3), 929-941.
- Ghafouri Kesbi F, Eskandarinasab MP, Shahir MH (2008) Estimation of direct and maternal effects on body weight in Zandi sheep using random regression models. *Arch Anim Breed* 51 (3), 235-246.
- 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.
- Huang C, Zhao Q, Chen Q, et al. (2024). Runs of Homozygosity Detection and Selection Signature Analysis for Local Goat Breeds in Yunnan, China. *Genes* 15, e313.

- Jafari Ahmadabadi SAA, Askari-Hemmat H, Mohammadabadi M, Asadi M, Mansouri M (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).
- 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 ES, Elbeltagy AR, Aboul-Naga AM, et al. (2016) Multiple genomic signatures of selection in goats and sheep indigenous to a hot arid environment. *Heredity* 116(3), 255-64.
- Koseniuk A, Ropka-Molik K, Rubiś D, et al. (2018) Genetic background of coat colour in sheep. *Arch Anim Breed* 61(2), 173-178.
- Lan XY, Shu JH, Chen H, et al. (2009) A PstI polymorphism at 30UTR of goat POU1F1 gene and its effect on cashmere production. *Mol Biol Rep* 36, 1371–1374.
- Lv XL, Chen WH, Sun W, et al. (2020) Analysis of lncRNAs expression profiles in hair follicle of Hu sheep lambskin. *Animals* 10, e1035.
- Magee DA, Berkowicz EW, Sikora KM, et al. (2010) A catalogue of validated single nucleotide polymorphisms in bovine orthologs of mammalian imprinted genes and associations with beef production traits. *Animal* 4, 1958–1970.
- Megdiche S, Mastrangelo S, Ben Hamouda M, et al. (2019) A Combined MultiCohort Approach Reveals Novel and Known Genome-Wide Selection Signatures for Wool Traits in Merino and Merino-Derived Sheep Breeds. *Front Genet* 10, e1025.
- Mohamadipoor Saadatabadi L, Mohammadabadi M, Amiri Ghanatsaman Z. (2021) Signature selection analysis reveals candidate genes associated with production traits in Iranian sheep breeds. *BMC Vet Res* 17, e369.
- Mohammadabadi M, Golkar A, Askari Hesni M (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).
- Mohammadabadi MR, Tohidinejad F (2017) Characteristics determination of Rheb gene and protein in Raini Cashmere goat. *Iran J Appl Anim Sci* 7(2), 289–295.
- 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.
- Mohammadi, H., rafat, S., Moradi, H., et al. (2019) Study of haplotype blocks structure and haplotype-based genome scan in autosomal chromosomes to body weight gain trait in

- Zandi sheep breed. *Anim Sci Res* 28(4), 69-82.
- Morgan MD, Pairo-Castineira E, Rawlik K, et al. (2018) Genome-Wide Study of Hair Colour in UK Biobank Explains Most of the SNP Heritability. *Nat Commun* 9, e5271.
- Megdiche S, Mastrangelo S, Ben Hamouda M, et al. (2019) A Combined MultiCohort Approach Reveals Novel and Known Genome-Wide Selection Signatures for Wool Traits in Merino and Merino-Derived Sheep Breeds. *Front Genet* 10, e1025.
- Nazari-Ghadikolaei A, Mehrabani-Yeganeh H, Miarei-Aashtiani SR, et al. (2018) Genome-Wide Association Studies Identify Candidate Genes for Coat Color and Mohair Traits in the Iranian Markhoz Goat. *Fron Genet* 9, e105.
- Nicolazzi EL, Caprera A, Nazzicari N, et al. (2015) SNPchiMp v. 3: integrating and standardizing single nucleotide polymorphism data for livestock species. *BMC Genom* 16, e283.
- Patiabadi Z, Razmkabir M, Esmailizadeh Koshkoiyeh A, et al. (2023) Genomic scanning of selection signature in Iranian skin and wool sheep using FST unbiased estimator and hapFLK methods. *Anim Prod Res* 12(2), 85-103 (In Persian).
- Pavlidis P, Alachiotis N. (2017) A survey of methods and tools to detect recent and strong positive selection. *J Biol Res* 24, 1-17.
- Peng W, Zhang Y, Gao L (2024) Selection signatures and landscape genomics analysis to reveal climate adaptation of goat breeds. *BMC Genom* 25, e420.
- 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* 3, 559-575.
- 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.
- Ren X, Yang GL, Peng WF, et al. (2016) A genome-wide association study identifies a genomic region for the polycerate phenotype in sheep (*Ovis aries*). *Sci Rep* 6, e21111.
- Rostamzadeh Mahdabi E, Esmailizadeh A, Ayatollahi Mehrgardi A, et al. (2021) A genome-wide scan to identify signatures of selection in two Iranian indigenous chicken ecotypes. *Genet Sel Evol* 53(1), e72.
- Ramos Z, Garrick DJ, Blair HT, et al. (2023) Genetic and phenotypic relationships between ewe reproductive performance and wool and growth traits in Uruguayan Ultrafine Merino sheep. *J Anim Sci* 101, e071.
- 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.
- Shahsavari M, Mohammadabadi M, Khezri A, et al. (2023) Correlation between insulin-like

- growth factor 1 gene expression and fennel (*Foeniculum vulgare*) seed powder consumption in muscle of sheep. *Anim Biotechnol J* 34 (4), 882-892 (In Persian).
- 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).
- Sun W, Ni R, Yin JF, et al. (2013) Genome array of hair follicle genes in lambskin with different patterns. *PLoS One* 8, e68840.
- Sun X, Guo J, Li R, et al. (2024) Whole-Genome Resequencing Reveals Genetic Diversity and Wool Trait-Related Genes in Liangshan Semi-Fine-Wool Sheep. *Animals* 14, e444.
- Taylor P, Mortimer S, Bird-Gardiner T, Atkins K (2017) Merino breeding objectives & selection indexes to increase wool profit. (Ed. BJ McGuirk) pp. 579–592. (Australian Wool Corporation: Melbourne).
- Theron PG, Brand TS, Cloete SWP, et al (2024) Wool production and quality traits of pure- and crossbred Merino-type sheep. *Trop Anim Health Prod* 56(2), e47.
- Waineina RW, Okeno TO, Ilatsia ED, et al. (2022) Selection Signature Analyses Revealed Genes Associated With Adaptation, Production, and Reproduction in Selected Goat Breeds in Kenya. *Front Genet* 13, e858923.
- Wang Z, Zhang H, Yang H, et al. (2014) Genome-wide association study for wool production traits in a Chinese Merino sheep population. *PLoS One* 9, e107101.
- Wang FH, Zhang L, Gong G, et al. (2021) Genome-wide association study of fleece traits in Inner Mongolia Cashmere goats. *Anim Genet* 52(3), 375-379.
- 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.
- Zhang W, Jin M, Li T, et al. (2023) Whole-Genome Resequencing Reveals Selection Signal Related to Sheep Wool Fineness. *Animals* 13, e2944.
- 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.
- Zhao H, Guo T, Lu Z, et al. (2021) Genome-wide association studies detect candidate genes for wool traits by re-sequencing in Chinese fine-wool sheep. *BMC Genom* 1, e127.