

پویش ژنگان کل برای تعیین جایگاه‌های تحت انتخاب مثبت در گوسفندان نژاد زندی

حسین محمدی^۱، سید عباس رأفت^۲، حسین مرادی شهر بابک^{۳*}، جلیل شجاع^۲ و محمد حسین مرادی^۴

۱ و ۲. دانشجوی دکتری و استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۳. استادیار گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

۴. استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۴/۲۶)

چکیده

شناسایی مناطق ژنگانی (ژنوم) که هدف انتخاب بوده‌اند، یکی از راهکارهای اصلی تحقیقات زیستی است. هدف این پژوهش، پویش کل ژنگان برای شناسایی مناطقی از ژنگان گوسفندان نژاد زندی که در طی سال‌های مختلف هدف انتخاب‌های طبیعی یا مصنوعی قرار گرفته‌اند، بود. بدین منظور ۹۶ رأس گوسفند نژاد زندی با استفاده از آرایه‌های ژنگانی Illumina ovine SNP50K BeadChip تعیین ژنوتیپ شدند. برای شناسایی نشانه‌های انتخاب بر پایه روش‌های نداشتن تعادل پیوستگی (لینکازی) از آزمون integrated haplotype score (iHS) استفاده شد. نتایج یازده منطقه ژنگانی روی کروموزوم‌های ۱ (۲ منطقه)، ۳، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۷، ۲۲ و ۲۶ را شناسایی کرد. تجزیه و تحلیل داده‌های زیستی (بیوانفورماتیکی) نشان داد، برخی از این مناطق ژنگانی به‌طور مستقیم و غیرمستقیم با ژن‌های مؤثر بر سازگاری (آداپتاسیون) به آب‌وهوای گرم و خشک (DNAJB4، HSPA4L، MSRB3)، پاسخ ایمنی (IL23A، STAT6، LY96)، توسعه و اندازه بدن (LAP3، STAC3)، توسعه نظام ساختار بدنی یا اسکلتی (IBSP، MEPE، SPP1) و سوخت‌وساز (متابولیسم) انرژی (ATP5B، GLS2، CS) همپوشانی دارند. در نهایت بررسی‌های QTL‌های گزارش شده در ژنگان گوسفند نشان داد، این مناطق با QTL‌های صفات مهم اقتصادی از جمله صفات مرتبط با رشد، لاشه و پشم در ارتباط است. به‌رحال، برای شناسایی دقیق این ژن‌ها و QTL‌ها لازم است بررسی‌های پیوستگی و عملکردی بیشتری انجام شود.

واژه‌های کلیدی: آزمون iHS، پویش ژنگانی، سازگاری، شناسایی نشانه‌های انتخاب.

Genome-wide analysis for detection of loci under positive selection in Zandi sheep breed

Hossein Mohammadi¹, Seyed Abbas Rafat², Hossein Moradi Shahrehabak^{3*}, Jalil Shodja² and Mohammad Hossein Moradi⁴

1, 2. Ph.D student and Professors, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Tabriz, Iran

3. Assistant Professor, Department of Animal Sciences, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

4. Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Arak, Iran

(Received: Mar. 15, 2017 - Accepted: Jul. 17, 2017)

ABSTRACT

Identification of selection targeted genomic regions is one of the main aims of biological research. The objective of this study was a genome-wide scan to identify the genomic regions that have been under artificial and natural selection in Zandi sheep breed. For this purpose, 96 animal of Zandi breed have been genotyped using the Illumina ovine SNP50 BeadChip. The integrated haplotype score (iHS) test was used to detect the selection sweep, due to linkage disequilibrium, associated with these signatures. The results revealed eleven genomic regions on 1 (two areas), 3, 6, 7, 8, 9, 10, 17, 22 and 26 chromosomes. Bioinformatics analysis demonstrated that some of these genomic regions overlapped with reported genes that directly and indirectly influenced traits for adaptation to hot arid environments (DNAJB4, HSPA4L, MSRB3), immune response (IL23A, STAT6, LY96), body size and development (STAC3, LAP3), development of the skeletal system (SPP1, MEPE, IBSP) and energy and digestive metabolism (ATP5B, GLS2, CS). Finally, study of the reported QTL in these regions of the sheep genome showed that they overlapped with QTL of economically important traits such as carcass yield, growth and wool traits. However, it will be necessary to carry out more association and functional studies to demonstrate the implication of these genes.

Keywords: Adaptation, genome scan, iHS test, selection signature detection.

* Corresponding author E-mail: hmoradis@ut.ac.ir

مقدمه

به دلیل اهمیت شناسایی ژن‌های مؤثر بر صفات مهم اقتصادی، جستجو برای ژن‌های مسئول در تنوع صفات کمی در دو مسیر فنوتیپ به ژنگان (ژنوم) و ژنگان به فنوتیپ صورت می‌گیرد. در مسیر اول یعنی شناسایی ژن‌ها با بررسی‌های پویش کل ژنگان و ارتباط آن با فنوتیپ، نقشه‌یابی بر پایه نبود تعادل پیوستگی یا لینکاژی (LD)، QTL یا ژن‌های نامزد (کاندیدا) انجام می‌گیرد. اما در مسیر دوم ارزیابی آماری داده ژنگانی برای شناسایی نواحی که در طول زمان هدف انتخاب قرار گرفته‌اند، استفاده می‌شود. پایه این روش بر مبنای شناسایی LD درون و بین جمعیت‌ها که با فرضیه نظری جهش خنثی (جهش‌های بدون تأثیر) سازگار نیست است (Qanbari et al., 2010). به علت نداشتن شجره مناسب، رکوردهای دقیق برای دیگر صفات و جمعیت‌های اصلاح نژادی با ساختار مشخص، شناسایی ژن‌های مؤثر بر صفات کمی از مسیر فنوتیپ به ژنگان بسیار دشوار بوده و آریبی بالایی دارد. بنابراین شناخت ژن‌های مؤثر بر صفات کمی، از مسیر دوم با دقت بالاتر و در زمان کوتاه‌تری صورت می‌گیرد. چنانچه یک جهش جدید باعث افزایش شایستگی افراد حامل آن نسبت به دیگر افراد جامعه شود، انتخاب باعث می‌شود افرادی که شایستگی بیشتری دارند در تشکیل نسل بعد مشارکت بیشتری داشته باشند. بدین ترتیب فراوانی آلل (واریانت) جهش‌یافته، بسته به سهم آن در افزایش شایستگی به سرعت آغاز به افزایش خواهد کرد (Sabeti et al., 2006). به عبارت دیگر هنگامی که انتخاب مثبت به سمت افزایش فراوانی آلل مطلوب پیش می‌رود، جایگاه‌های نزدیک به این جایگاه اگر هم اثرشان خنثی باشد به علت پیوسته بودن با آلل مطلوب، تحت تأثیر قرار می‌گیرد که در نتیجه این پدیده، الگوی تنوع ژنتیکی و نبود تعادل پیوستگی (LD) در جایگاه‌های اطراف این جهش انتخابی تغییر خواهد کرد، به طوری که هر چه به این آلل جدید نزدیک می‌شویم میزان تنوع ژنتیکی کاهش و LD افزایش پیدا می‌کند. به این

الگوها نشانه‌های انتخاب^۱ یا ردپای انتخاب^۲ گفته می‌شود (Oleksyk et al., 2010).

بر پایه سازوکار عملکرد شناسایی نشانه‌های انتخاب، دسته‌بندی‌های مختلفی برای روش شناسایی وجود دارد. در حالت کلی می‌توان این روش‌ها را در پنج دسته جداگانه شامل آزمون‌های آماری بر پایه تمایز ژنگانی جمعیت‌ها مانند F_{ST} ، FLK و hapFLK (Fariello et al., 2013)، آزمون‌های آماری مبتنی بر نبود تعادل پیوستگی و طول هاپلوتیپی مانند LRH، XP-EHH، iHS و Rsb (Tang et al., 2007)، آزمون‌های آماری مبتنی بر توزیع فراوانی آللی، مانند آزمون‌های Fay and Wu's و Tajima's D (Fay and Wu, 2000)، آزمون‌های آماری مبتنی بر کاهش مکانی تنوع ژنتیکی مانند آزمون ZHp (Rubin et al., 2010) و آزمون‌های آماری مبتنی بر جهش‌های تغییردهنده عملکرد مانند $\omega = Dn/Ds$ (Nielsen & Yang, 1998) قرار داد. همچنین آزمون‌هایی ارائه شده‌اند که ترکیبی از روش‌های جستجوی نشانه‌های انتخاب هستند. افزون بر روش‌های ترکیبی، روش‌های دیگری نیز برای افزایش دقت جستجوی نشانه‌های انتخاب در یک‌چند از بررسی‌ها استفاده شده است که از این دسته می‌توان به ترکیب داده‌های جستجوی نشانه‌های انتخاب با بررسی‌های پیوستگی کل ژنگانی^۳ و تجزیه عملکردی^۴ اشاره کرد (Oleksyk et al., 2010).

آزمون خالصی (هموزیگوسیتی) هاپلوتیپی بسط یافته (EHH) بر پایه ارتباط بین فراوانی یک آلل و LD اطراف آن استوار است. انتخاب در یک جایگاه ژنگانی از راه آلل‌هایی با فراوانی بالا و EHH بالا قابل تمایز هستند. EHH عبارت است از احتمال اینکه دو کروموزوم که به صورت تصادفی انتخاب شده‌اند و حامل یک هاپلوتیپ مرکزی مورد نظر ما هستند برای همه فاصله بین این هاپلوتیپ مرکزی تا نقطه X به صورت IBD باشند، محاسبه می‌شود. این روش توسط Sabeti et al. (2002) ارائه شد و به صورت زیر محاسبه می‌شود:

1. Selection Signatures
2. Selection footprints
3. Genome Wide Association Studies
4. Functional analysis

اصلی پرورش این نژاد گوشت است. چربی زیرپوستی در این نژاد در مقایسه به بسیاری از نژادهای گوسفند دیگر ایرانی کمتر است. مقاومت در برابر سرما و گرما (از ۲۰- درجه سلسیوس در زمستان تا ۴۰ درجه سلسیوس در تابستان)، شرایط سخت تغذیه‌ای و مراتع ضعیف و هوای بارانی و برفی در این گوسفند بسیار شایان توجه و منحصربه‌فرد است. محل اصلی پرورش آن استان تهران در شهرستان‌های ورامین، شهریار، شمیرانات و ری است ولی به سبب ویژگی‌های ممتاز آن در استان‌های همجوار مانند استان مرکزی در شهرستان‌های ساوه و آشتیان و استان قم پرورش می‌یابد. بنابراین با توجه به اینکه در طی سال‌های گذشته گوسفند نژاد زندی تحت انتخاب‌های طبیعی و مصنوعی قرار گرفته است. احتمال می‌رود بتوان مناطقی از ژنگان این نژاد را شناسایی کرد که تحت انتخاب مثبت قرار گرفته بوده باشند. افزون بر این، تا به امروز هیچ پژوهشی در زمینه شناسایی نشانه‌های انتخاب روی ژنگان گوسفند نژاد زندی انجام نشده است. لذا هدف از این تحقیق، شناسایی مناطقی از ژنگان در گوسفند نژاد زندی بود که طی سالیان متمادی به صورت طبیعی و مصنوعی هدف انتخاب‌های مختلف قرار گرفته‌اند. این بررسی می‌تواند مبنای انجام تحقیقات تکمیلی پویا کل ژنگان گله یادشده به منظور شناسایی نواحی تحت انتخاب برای بهبود راندمان برنامه‌های انتخاب و راهبردهای اصلاح نژادی آن باشد.

مواد و روش‌ها

از این دو بیست رأس گوسفند نژاد زندی در دو گله مرکز اصلاح نژاد خجیر واقع در تهران وابسته به سازمان جهاد کشاورزی استان تهران، میزان ۷-۵ سی‌سی خون استحصال و همراه با ۰/۵ میلی‌لیتر EDTA در لوله‌های خلأ با pH ۸-۷ نگهداری شد. نمونه‌های گرفته‌شده بی‌درنگ پس از شماره‌گذاری و با حفظ شرایط سرد به آزمایشگاه منتقل و تا زمان استخراج DNA در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد. از میان نمونه‌های برداشت‌شده پس از تجزیه شجره، حیوان‌هایی که کمترین رابطه خویشاوندی را با هم داشته باشند به شمار ۹۶ رأس انتخاب شدند.

$$EHH = \frac{\sum_{i=1}^G \binom{n_i}{2}}{\binom{N}{2}}$$

که در این رابطه، G شمار گروه‌های حامل یک هاپلوتیپ مرکزی بسط داده شده منحصربه‌فرد، n_i شمار افراد درون هر زیرگروه و n شمار کل نمونه‌های حامل هاپلوتیپ مرکزی خاص هستند. روش iHS نیز بر پایه روش EHH توسعه یافته است. روش iHS در شناسایی نشانه‌هایی از انتخاب که هنوز تثبیت نشده‌اند مناسب هستند (Voight et al., 2006).

پس‌ازاینکه در سال ۲۰۰۹ نخستین تراشه SNP در گوسفند در قالب پروژه Sheep HapMap طراحی شد، تحقیقات موفقیت‌آمیز مختلفی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب با استفاده از روش iHS در گوسفند و برخی از حیوان‌های اهلی دیگر صورت گرفته است (Qanbari et al., 2011; Gautier & Naves, 2011;) (Kim et al., 2015; Zhu et al., 2015).

شناسایی مناطق ژنگانی در گوسفند و بز بارکی بومی مصر با حدود ۴۹۰۰۰ نشانگر SNP با هدف شناسایی نواحی ژنگانی تحت انتخاب مثبت به آب‌وهوای گرم و خشک با استفاده از روش iHS نشان داد که چندین منطقه ژنگانی بز روی کروموزوم‌های ۳، ۶، ۷، ۱۱، ۱۲، ۱۴ و ۱۷ و چندین منطقه ژنگانی در گوسفند روی کروموزوم‌های ۱، ۳، ۷، ۱۰، ۱۲، ۱۳، ۱۷، ۱۹ و ۲۱ شواهدی از انتخاب دارند. بررسی ژن‌های گزارش‌شده در مناطق راست نسخه (اورتولوگوس) در گاو نیز گویای آن بود که این مناطق با ژن‌های مرتبط به تنش گرمایی، اندازه بدن و سوخت‌وساز (متابولیسم) و انرژی همپوشانی دارند (Kim et al., 2015). به‌طورکلی مناطقی از ژنگان که تحت انتخاب هستند بایستی اهمیت شایستگی و عملکردی داشته باشند، در غیر این صورت انتخاب آن‌ها را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد. با توجه به مطالب بیان شده، این مناطق ژنگانی به‌طور عمده با ژن‌های عمده اثر و صفات مهم اقتصادی همراه هستند و اهمیت زیادی دارند.

گوسفند زندی یکی از نژادهای متوسط وزن و ممتاز کشور از نظر صفات تولیدی است. فرآورده‌ای گوسفند نژاد زندی در آغاز تولید پوست در درجه اول قرار داشت ولی با توجه به کاهش تقاضا امروزه هدف

روش iHS برای همه SNP‌های با داده‌های اجدادی و MAF بالاتر از ۰/۰۲ محاسبه شد. این روش مناطقی از ژنگان را شناسایی می‌کند که در مقایسه با کل ژنگان به صورت غیرطبیعی تعادل پیوستگی بالاتری نداشت. در این روش انتگرال زیر منحنی EHH در همه جایگاه‌های پیرامون SNP مرکزی تا هنگامی که EHH به ۰/۰۵ می‌رسد محاسبه و ارزش‌های به دست آمده برای آل‌های اجدادی و مشتق شده (غیر اجدادی) با هم مقایسه می‌شوند. این EHH انتگرال گیری شده در دو طرف آل مرکزی با هم جمع شده و بسته به اینکه مربوط به آل اجدادی یا مشتق شده باشند به ترتیب با عنوان iHH_A و iHH_D نامیده می‌شوند. آنگاه ارزش‌های iHS با استفاده از رابطه زیر استاندارد می‌شوند (Voight *et al.*, 2006).

$$iHS = \frac{\ln\left(\frac{iHH_A}{iHH_D}\right) - E_{ps}\left[\ln\left(\frac{iHH_A}{iHH_D}\right)\right]}{SD_{ps}\left[\ln\left(\frac{iHH_A}{iHH_D}\right)\right]}$$

در این رابطه iHH_A = خالصی هاپلوتیپ یکپارچه اجدادی، iHH_D = خالصی هاپلوتیپ یکپارچه مشتق شده، ps = فراوانی SNP مرکزی، SD = انحراف استاندارد، E = امید ریاضی است.

برای تعیین حالت (فاز)‌های هاپلوتیپی برای کل ژنگان هر یک از جمعیت‌های مورد بررسی، از نرم‌افزار fastPHASE V.1.2.3 استفاده شد. در این برنامه از روش پیشینه درستمایی برای برآورد ژنوتیپ‌های گمشده (امپوت) و بازسازی هاپلوتیپ‌ها استفاده می‌شود (Scheet & Stephens, 2006). از برنامه iHS موجود در وبسایت آزمایشگاه Pritchard (<http://hgdp.uchicago.edu/Software/>) استفاده شد. فایل‌های ورودی برای نرم‌افزار iHS شامل دو فایل داده برای حالت‌های هاپلوتیپی که برای هر رأس دام تعیین شده و فایل نقشه‌های SNP‌های مورد استفاده است. فایل نقشه ورودی حاوی ۵ ستون شامل نام SNP، موقعیت فیزیکی و موقعیت ژنتیکی و آل‌هایی که بیانگر عدد یک و صفر در فایل هاپلوتیپ هستند، است. موقعیت فیزیکی هر SNP با توجه به OAR true chromosomes v3.1 مرکز CSIRO استرالیا به دست آمد (Dalrymple *et al.*, 2007). اما از آنجاکه فاصله

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 ۵۰ ng/μl برای تعیین ژنوتیپ رقیق شد. ژنوتیپ نمونه‌ها در کمپانی Neogen (<http://genomics.neogen.com>) در کشور آمریکا با استفاده از آرایه‌های Illumina OvineSNP50K BeadChip با به کارگیری شیوه کار (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 کیلو باز را فراهم می‌کنند (Illumina OvineSNP50 BeadChip Datasheet).

برای پالایش (فیلتراسیون) داده‌های ژنگانی از معیارهای فراوانی نمونه‌های تعیین ژنوتیپ شده، نرخ تعیین ژنوتیپ نشانگرها در هر نمونه و فراوانی آل نادر (MAF) استفاده شد. در آغاز نمونه‌هایی که فراوانی تعیین ژنوتیپ در آن‌ها کمتر از ۹۰ درصد بود، شناسایی و حذف شدند. این نمونه‌ها به احتمال بیشتری با داده‌های گمشده همراه بوده و خطای تعیین ژنوتیپ در آن‌ها بالا است. در مرحله بعد نشانگرهایی که فراوانی آل نادر در آن‌ها کمتر از ۲ 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 (Teo *et al.*, 2007) کنار گذاشته شدند. بدین منظور سطح احتمال 10^{-6} در نظر گرفته شد که با استفاده از تصحیح بنفرونی به دست آمد. مراحل مختلف پالایش با استفاده از نرم‌افزار PLINK (v1.90; <http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink>) انجام شد (Purcell *et al.*, 2007).

برای بررسی الگوی انتخاب مثبت در سطح ژنگان از روش iHS استفاده شد. برای محاسبه آماره iHS بایستی وضعیت اجدادی آل‌های مختلف SNP‌های مورد استفاده مشخص شود. بدین منظور وضعیت اجدادی SNP‌ها از پروژه Sheep HapMap (<http://www.sheepmap.org>) تهیه شد.

هستند، به طور عمده از تجزیه GO استفاده می‌شود (Lammers *et al.*, 2010). به منظور انجام تجزیه GO نرم‌افزارهای مختلفی ارائه شده است که کارایی مختلفی دارند. یکی از نرم‌افزارهای سودمند و پرکاربرد در این زمینه نرم‌افزار تحت وب DAVID (<https://david.ncicrf.gov>) است. این نرم‌افزار حاوی یک پایگاه اطلاعاتی گسترده مربوط به مراحل مختلف زیستی و همچنین کاربردهای متنوع به منظور درک سازوکارهای درگیر در یک مجموعه ژنی است (Huang *et al.*, 2009). و لذا در این بررسی به منظور بررسی گروه‌های کارکردی مختلف که مجموعه ژن‌های شناسایی شده در آماره iHS، از نرم‌افزار DAVID نسخه ۶/۸ استفاده شد. تنها عبارت‌های معنی‌دار (P-value) با روش اطمینان، مربوط به مراحل زیستی تصحیح شده در نظر گرفته شد. در مرحله انتهایی ژن‌های مناطق راست نسخه گاو که به دست آمده از تجزیه آماره iHS برای ترسیم شبکه ژنی به پایگاه اطلاعاتی STRING v10.0 انتقال داده شدند. در نهایت برای بررسی اینکه آیا مناطق ژن‌گانی شناسایی شده در ناحیه‌ای از ژنگان که پیشتر QTL‌هایی گزارش شده‌اند قرار دارند یا خیر، از مرکز اطلاعاتی آنلاین QTL (animalgenome.org) با استفاده از ابزار Alignments with genome features in GBrowse بررسی شد.

نتایج و بحث

پس از اجرای مراحل کنترل کیفیت داده‌ها، در نهایت ۴۵۱۷۱ نشانگر و ۹۴ فرد توانستند مراحل مختلف پالایش داده‌ها را بگذرانند و برای تجزیه و تحلیل‌های بعدی انتخاب شوند.

آماره iHS که مبتنی بر نبود تعادل پیوستگی و طول هاپلوتیپی است، برای شناسایی نواحی ژن‌گانی تحت انتخاب مثبت استفاده شد. این روش مناطق ژن‌گانی تحت انتخاب را با آل‌های اجدادی و حالت‌های هاپلوتیپی تشخیص می‌دهد. پس از مرحله فراخوانی SNP‌های دارای داده‌های اجدادی از مجموع کل SNP‌هایی که ویرایش داده‌ها انجام شده بود، در نهایت ۳۰۲۰۱ نشانگر SNP برای تجزیه و تحلیل‌های بعدی

ژنتیکی بین SNP‌ها به سانتی‌مورگان در دسترس نیست برای تعیین موقعیت ژنتیکی نشانگرها از تبدیل ساده $1cM=1Mbp$ استفاده شد (Kijas *et al.*, 2012). آماره iHS برای هر SNP و جداگانه برای کروموزوم‌های اتوزومی و کروموزوم X محاسبه شد. برای شناسایی بهتر نشانه‌های انتخاب در سطح ژنگان به جای در نظر گرفتن ارزش عددی هر SNP از میانگین‌گیری ارزش‌های عددی SNP‌های مجاور به روش Creeping Window (CW) با طول ۵۰۰ کیلو جفت باز استفاده شد (Kim *et al.*, 2015) و تنها ۰/۱ درصد مناطقی از ژنگان که در آن همه نشانگرهای مجاور ارزش بالایی داشتند، به عنوان نشانه‌های انتخاب شناسایی و تعیین شدند. در این تحقیق برای ترسیم نگاره (گراف) ارزش‌های Win10 در مقابل موقعیت ژنگانی از نرم‌افزار Haploview v.4.2 استفاده شد (Barrett *et al.*, 2005).

برای تعیین موقعیت ژنگانی SNP‌ها در سطح ژنگان گوسفند از OAR true chromosomes v3.1 مرکز CSIRO استرالیا استفاده شد. به منظور شناسایی ژن‌های مرتبط با بخش‌های انتخاب ژنگان، ۵۰۰ کیلو جفت باز پیش و پس از نقاط آغاز و پایان توالی مرتبط بررسی بیشتری شد. با توجه به اینکه تفسیر عملکردی (Annotation) ژنگان گوسفند هنوز تکمیل نشده است، پایگاه‌هایی که برای توصیف سازوکارهای بیوشیمیایی و شبکه ژنی مانند برنامه STRING V.10.5 موجود هستند، گونه گوسفند را نمی‌پذیرند به همین علت از ژنگان گاو برای بررسی اینکه مناطق ژنگانی شناسایی شده حاوی ژن خاصی هستند استفاده شد، بدین منظور ژنگان گوسفند با استفاده از ابزار Biomart در پایگاه داده‌های Ensembl (www.ensembl.org/biomart) برای شناسایی مناطق راست نسخه (اورتوکولوس) ژنگان گاو استفاده شده و ژن‌ها شناسایی شدند. 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. به منظور شناسایی اینکه ژن‌های شناسایی شده در مرحله پیش در چه مراحل زیستی (بیولوژیکی) درگیر

مختلف از $|iHS > 1/96|$ (Zhao *et al.*, 2015) تا $|4|$ $iHS >$ (Gouveia *et al.*, 2017) متغیر بوده است و همسان با بررسی *Zhu et al.* (2015) روی گوسفندان نژاد مختلف بود. در نهایت یازده ناحیه روی ژنگان برای بررسی‌های بعدی انتخاب شدند که حد آستانه را رد کرده بودند. یازده منطقه ژنگانی که iHS ارزش عددی بالاتر از ۲ را داشتند به ترتیب روی کروموزوم‌های ۱ (۲ منطقه)، ۳، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۷، ۲۲ و ۲۶ قرار دارند (شکل ۱). برای شناسایی ژن‌های مرتبط با بخش‌های انتخابی ژنگان، مناطق راست نسخه با مناطق انتخابی و ۵۰۰ کیلو جفت باز پیش و پس از نقاط آغاز و پایان توالی مرتبط با مناطق ژنگانی به وسیله *Biomart*، بررسی شد. از یازده منطقه مورد بررسی ده منطقه حاوی منطقه کدکننده ژن‌ها بودند. در مجموع ۶۲ ژن که در ارتباط با منطقه انتخابی بودند از این طریق تعیین شدند. داده‌های مربوطه به این ژن‌ها در جدول ۲ آورده شده است.

در این بخش برخی از ژن‌ها که به احتمال تحت انتخاب بوده‌اند بحث و تحلیل می‌شوند. شماری از ژن‌ها که در این بررسی به عنوان نشانه‌های انتخاب گزارش شده‌اند، با بررسی‌های پیشین همخوانی داشت (Kijas *et al.*, 2012; Fariello *et al.*, 2014; Porto-Neto *et al.*, 2014; Bahbahani, 2015; Kim *et al.*, 2015).

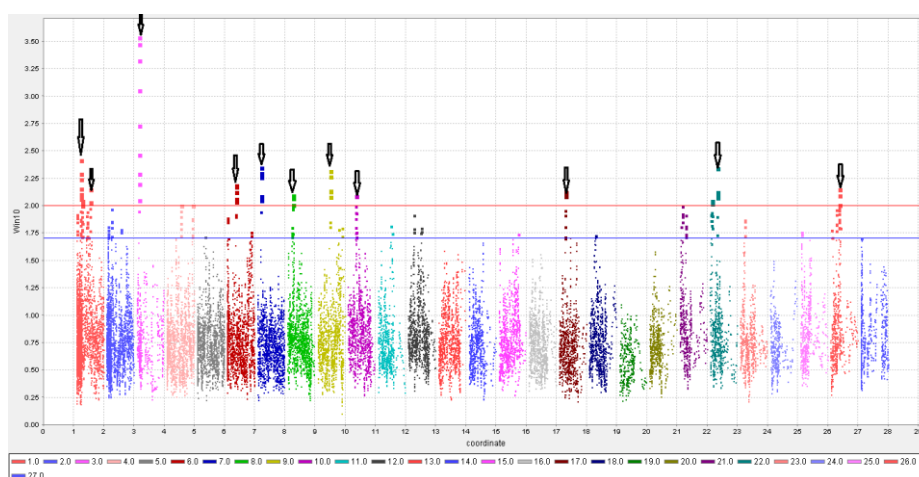
انتخاب شدند. مراحل مختلف ویرایش داده‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱. توصیف مراحل کنترل کیفیت داده‌های حاصل از گوسفندان نژاد زندی

Table 1. Description of the quality control steps in Zandi sheep breed

Number of Animals	96
Excluding Animals with 90% Call rate	2
Remaining Animals	94
Number of SNPs	49395
Excluding SNPs $\leq 2\%$ MAF over all animals	3037
Excluding SNPs $\leq 95\%$ Call rate over all animals	1070
Excluding SNPs with deviation from HW (< 0.000001)	117
Remaining SNPs	45171
Number of SNPs with information Ancestral Alleles	30201

برای شناسایی بهتر نشانه‌های انتخاب در سطح ژنگان به‌جای 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 ژنگان که در آن همه نشانه‌های مجاور ارزش بالایی دارند، به‌عنوان نشانه‌های انتخاب شناسایی و تعیین شدند (شکل ۱). حد آستانه در نظر گرفته شده سخت‌گیرانه بود (۰/۱ درصد نشانه‌ها با بالاترین ارزش iHS) و تنها مناطقی که بیشترین تمایز جمعیتی را در این نژاد نشان می‌دهند. این حد آستانه در بررسی‌های



شکل ۱. توزیع ارزش‌های آماره iHS در سطح ژنگانی جمعیت گوسفندان نژاد زندی با موقعیت کروموزومی SNP‌ها روی محور X و ارزش‌های iHS استاندارد شده آن‌ها روی محور Y نمایش داده شده است. خط ترسیم‌شده نشان‌دهنده ۹۹/۹ و ۹۹/۵ صدک کروموزوم‌های اوتوزوم و X است.

Figure 1. Distribution genomes of iHS values in Zandi sheep breed population by chromosome: SNP position in the genome is shown on the X-axis, and win10 iHS standard values are plotted on the Y-axis. The values above the lines are in the 99.5 and 99.9 percentile of autosomal and chromosome X SNPs.

جدول ۲. ژن‌های شناسایی شده و QTL‌های گزارش شده مرتبط با مناطق تحت انتخاب در گوسفند نژاد زندی

Table 2. The identified genes and QTLs published under selection in Zandi sheep breed

Location on Ovine genome	Location on Bovine genome	Gene(s)	Reported QTLs	PubMed-ID
OAR1:223011882-224011882	Chr7:92340124-94340154	OTOL1	Carcass fat percentage; Fleece yield	20846385; 22444653
OAR1:53732979-54732979	Chr3:65827307-67246156	DNAJB4, GIPC2, PTGFR, ADGRL4	Body weight (8 weeks); muscle weight in carcass	ISU0053; 20846385
OAR3:162044552-163044552	Chr5:56371953-57515552	STAC3, STAT2; STAT6, IL23A, PAN2, CS, LEMD3, TIMELESS, MIP, SPRYD4, GLS2, RBMS2, ATP5B, PTGES3, PRIM1, SHMT2, WIF1	Birth weight; internal fat amount; Staple Length	22444653; 20846385; 11420622
OAR6:36250972-37250972	Chr6:37969902-39383201	PPM1K, SPP1, MEPE, IBSP	Hot carcass weight; Body weight (slaughter)	20846385
OAR7:18734468-19734468	Chr10:18899391-20301890	GRAMD2, PKM, ARIH1, BBS4, ADPGK, NEO1	Longissimus muscle area; Staple Length	20846385; 11420622
OAR8:25928955-26928955	Chr9:38049383-39142582	TRAF3IP2, REV3L, MFSD4B, AMD1, SLC16A10, SLC22A16, DDO	internal fat amount	20846385
OAR9:49093308-50093308	Chr14:37411655-38465754	TERF1, SBSPON, TMEM70, LY96, KCNB2	Hot carcass weight; muscle weight in carcass	20846385;
OAR9:48152754-49152754	Chr14:37789157-38805056	MSC, TRPA1	Longissimus muscle area	20846385
OAR10:34806379-35806379	Chr12:34517107-35690406	SACS, SGCG, FGF9, MICU2, ZDHHC20, MRPL57, SKA3	fat weight in carcass; Carcass fat percentage	20846385
OAR17:28920825-29920825	Chr17:29161660-30512109	LARP1B, MFSD8, HSPA4L, SLC25A31,	-	-
OAR22:31238373-32238373	Chr26:33120277-34290076	GPAM, ACSL5, VTI1A	-	-
OAR26:36117019-37117019	Chr27:36221802-39300801	HOOK3, FNTA,	-	-

* Candidate genes with known physiological function are bold.

شرکت دارند. کلاژن شامل ۳۵ درصد گلیسین، ۱۱ درصد آلانین، ۲۱ درصد پرولین و هیدروکسی پرولین و یک G غیراستاندارد بنام هیدروکسی آرژنین است. دست‌کم سیزده نوع کلاژن در انسان شناسایی شده‌اند که هرکدام در بافت خاصی وجود دارند. تنوع این کلاژن‌ها به دلیل تفاوت در ماهیت پلی پپتیدهای تشکیل‌دهنده آن‌هاست. کلاژن نوع چهارم در پوست بیشتر یافت می‌شود (Sylvie, 2011). از سوی دیگر پوست حیوان و انسان از رشته‌های متصل به هم تشکیل یافته است و سه لایه اصلی دارد. لایه بیرونی که از رگ‌های خونی و پیاز موئی پوشیده شده است. لایه‌های میانی که از پیه و ماهیچه‌ها پوشانده شده است و در مجاورت گوشت قرار دارد. لایه زیرپوستی یا درونی که دربرگیرنده غده‌های چربی است. بخش بزرگی از لایه درونی پوست از کلاژن است

ژن OTOL1 که روی کروموزوم ۱ در ناحیه ژنگانی ۲۲/۳۰ تا ۲۲/۴۰ مگابازی قرار دارد در تولید کلاژن در بدن نقش دارد. به طوری که ژن OTOL1 در تشکیل کلاژن تریمر یا ماریچ سه رشته‌ای کلاژن نقش اساسی دارد. کلاژن پروتئینی است که در ماتریکس بیرون یاخته‌ای وجود داشته و فراوان‌ترین پروتئین بدن به شمار می‌آید که شامل ۳۰ درصد پروتئین در کل بدن و ۷۰ درصد از پروتئین پوست را تشکیل می‌دهد. یک مولکول کلاژن از سه زنجیره پروتئینی تشکیل شده که به دور یکدیگر پیچیده‌اند (تریمر کلاژن). مولکول‌های کلاژن به گونه‌ای ویژه کنار یکدیگر آرایش می‌یابند و یکریز رشته را می‌سازند. شمار زیادی از این ریزرشته‌ها به دور یکدیگر می‌پیچند تا یک رشته کلاژن ساخته شود. سه پلی پپتید جداگانه به نام زنجیره‌های آلفا که تروپوکلاژن نامیده می‌شوند در ساختار کلاژن

چاپرونی خانواده HSP40 داشته که می‌تواند آثار ترکیبی روی عملکردهای زیستی داشته باشد (UniProtKB). هنگامی که موجود با تنش گرمایی روبه‌رو می‌شود، یاخته‌های آسیب‌دیده پروتئین‌هایی تولید می‌کنند که از آن‌ها در مقابل آسیب محافظت می‌کند. یکی از پاسخ‌های حمایتی تولید پروتئین‌های تکانه گرمایی (HSP) است این خانواده ژنی از شش زیرگروه به نام‌های HSP40، HSP60، HSP70، HSP90، HSP100 و HSPB تشکیل شده‌اند. یک ژن از همین خانواده DNAJA1 به‌طور مستقیم از آپوپتوسیز (مرگ‌ومیر یاخته‌ای برنامه‌ریزی‌شده) جلوگیری می‌کند و به دلیل نقش آپوپتوسیزی این ترکیب می‌تواند نقش مهمی در تردی گوشت در گاوهای گوشتی داشته باشد (Isabelle and Picard, 2016). همچنین ژن Heat Shock Protein Family A Member 4 Like (HSPA4L)(Hsp70)، نقش چاپرونی دارد و در مسیرهای زیستی پاسخ یاخته‌ای به تنش گرمایی نقش دارد (GeneCards). ژن PTGES3، سنتتاز نوع ۳ پروستاگلاندین E، که روی عضلات صاف اثر می‌کند، نقش ساختن آنزیم تبدیل پروستاگلاندین E از پروستاگلاندین اندوپروکسیداز H2 دارد. این پروتئین نقش کو-چاپرون با HSP90 در پاسخ یاخته‌ای به گرما را دارد. ژن MSRB3 در سوخت‌وساز اسیدآمینه متیونین نقش داشته و در فرآیندهای زیستی در پاسخ به تنش‌های اکسایشی (اکسیداتیو) است (GeneCards). ارتباط چندشکلی و بیان ژن MSRB3 با سازگاری گاوهای گوشتی برآهمن گرمسیری به تنش‌های دمایی معنی‌دار گزارش شده است (Porto-Neto *et al.*, 2014).

اینترلوکین‌ها جزوی از خانواده سایتوکین‌ها هستند. سایتوکین‌ها (Cytokines) خانواده بزرگی از مولکول‌های قابل‌حل در آب بوده و نقش تنظیمی در پاسخ به التهاب دارند. سایتوکین‌ها پروتئین‌های محلولی‌اند که در تنظیم ایمنی مؤثر هستند. به‌طوری‌که هم در ایمنی ذاتی و هم در ایمنی اکتسابی مؤثرند. ژن IL23A هم جزو گروه سایتوکین‌ها (IL1a, IL1b, IL4R, IL5, IL7, IL15, IL23A, IFN-c و نقش کلیدی در پاسخ‌های ایمنی دارد (GeneCards).

و الیافی داشته که مقاومت بسیار زیادی دارد. اهمیت اصلی کلاژن در حفظ خاصیت ارتجاعی پوست است و از آنجایی که نژاد زندی یک نژاد پوستی به شمار می‌آید ولی با توجه به کاهش تقاضا برای پوست و افزایش نیاز به گوشت هدف عمده پرورش‌دهندگان این نژاد تولید گوشت است. اما با توجه به اهمیت این صفت در این نژاد، جایگاه ژنی OTOL1 می‌تواند، به‌عنوان جایگاه نامزدی مؤثر بر کیفیت پوست در این نژاد تحت انتخاب مثبت بوده باشد. در بررسی پویس کل ژنگانی در ارتباط با پیری، Walter *et al.* (2011) گزارش کردند ژن OTOL1 به‌طور معنی‌داری با پیری و کهنسالی ارتباط دارد.

همان‌طور که در بخش مقدمه بیان شد، گوسفند نژاد زندی یکی از نژادهای بومی ایران است که در مناطق مرکزی ایران از جمله استان‌های تهران، قم و مرکزی پرورش داده می‌شود. از ویژگی‌های بارز این نژاد می‌توان سازگاری به شرایط سخت تغذیه‌ای، مراتع ضعیف و عامل‌های نامساعد محیطی اشاره کرد. لذا با توجه به ویژگی‌های نژادی گوسفند زندی انتظار می‌رود، ژن‌هایی که در مسیر سوخت‌وسازی مرتبط با سازگاری به شرایط محیطی و ایمنی باشند، تحت تأثیر انتخاب مثبت قرار گرفته باشند. از جمله جایگاه‌های ژنی مرتبط با سازگاری شرایط محیطی شناسایی شده در این بررسی می‌توان به ژن‌های DNAJB4، HSPA4L، PTGES3 و MSRB3 اشاره کرد. همچنین در ارتباط با ایمنی، ژن‌های شناسایی شده در این بررسی می‌توان به جایگاه‌های ژنی IL23A، STAT2، STAT6، TRAF3IP2 و LY96 اشاره کرد.

ژن DNAJB4 (DnaJ Heat Shock Protein Family (Hsp40) Member B4) در ناحیه بین ۵۳/۸۲ و ۵۳/۸۳ مگا جفت باز روی کروموزوم ۱ گوسفندی قرار گرفته است و ژن پروتئین بایندینگ تنش گرمایی را کد می‌کند. این ژن جزو خانواده پروتئین‌های تکانه (شوگ) گرمایی است به‌طوری‌که ژن DNAJB4 همسان یا هومولوگ HSP40 زیرگروه B است که نقش کلیدی در پاسخ به تنش‌های دمایی دارند (GeneCards). پروتئین کدکننده این ژن نقش

مرتبط با ایمنی یاخته‌ای و ذاتی در پاسخ‌های دفاعی در پستانداران است (GeneCards).

TLRها، خانواده‌ای از گیرنده‌های شناسایی الگو هستند که در سیر تکامل، بدون تغییر مانده و حفظ شده‌اند، و در بسیاری از انواع یاخته‌ها بیان می‌شوند و نقش اساسی را در پاسخ‌های ایمنی ذاتی بر ضد میکروب‌ها ایفا می‌کنند. ژن TRAF3IP2، نقش مرکزی در پاسخ ایمنی ذاتی به بیمارگر (پاتوژن)ها و همچنین در فرآیندهای مسیره‌های تولید سایتوکین‌ها نقش دارد. همچنین ژن TRAF3IP2 در بررسی Fariello *et al.* (2014) روی ۷۴ نژاد گوسفند جهان را به‌عنوان نشانه انتخاب گزارش کردند.

ژن‌های ATP5B، GLS2 و CS روی کروموزوم ۳ و در ناحیه ژنگانی ۱۶/۲۰ تا ۱۶/۳۰ مگابازی و ژن ADPGK روی کروموزوم ۷ در ناحیه ژنگانی ۱۸/۷۳ تا ۱۸/۸۹ مگابازی و ژن GPAM روی کروموزوم ۲۲ در ناحیه ژنگانی ۳۱/۲۳ تا ۳۲/۲۳ مگابازی همگی در سوخت‌وساز کربوهیدرات‌ها و تولید انرژی در بدن نقش دارند. ژن ATP5B، نقش کلیدی در فسفرزایی اکسایشی (اکسیداتیو فسفریلاسیون) و میزان چربی در ماهیچه‌های ساختار بدنی دارد. ژن ATP5B در اصل نقش مؤثر در نگهداری ATP تولیدی در میتوکندری را دارد (GeneCards). در فرآیندهای زیستی نقش کلیدی در تولید ATP از راه فعال کردن رونویسی در بیوژنز میتوکندری دارد (UniProtKB). Xu *et al.* (2013) ارتباط معنی‌داری بین صفات کیفی گوشت خوک (نسبت چربی و گوشت لخم در لاشه، درصد چربی لاشه و میزان چربی درون ماهیچه‌ای) با چندشکلی در اگزون شماره ۸ ژن ATP5B گزارش کردند. ژن GLS2، کدکننده پروتئین آنزیم گلوتامیناز که نقش کلیدی در تولید ATP دارد، به‌طوری‌که نقش تنظیمی در سوخت‌وساز انرژی از راه افزایش تولید گلوتامات از راه آبکافت (هیدرولیز) گلوتامین که در نهایت موجب افزایش تولید ATP در میتوکندری می‌شود. در بررسی Bahbahani (2015) روی گاوهای زبوی آفریقا نشانه‌های انتخاب روی ژن GLS2 را گزارش کردند. ژن CS، در چرخه تری کربوکسیلیک اسید یا چرخه کربس در تولید سیترات نقش داشته و

در بررسی Khare *et al.* (2012)، ژن IL23A ارتباط با ایمنی ذاتی با بیماری مایوباکتریوم آویوم (*Mycobacterium avium*) زیرگروه پاراتوبرکلوزیس و نماتود انگلی *Teladorsagia circumcincta* (تلادورساژیا سیرکیومسینتا) را گزارش کردند. همچنین *a et al. Gossner* در سال ۲۰۱۲ ارتباط بیان ژن IL23A را با مقاومت ایمنی به بیماری‌های معده‌ای گزارش کردند.

ژن نامزد STAT6، هم نقش عملکرد مولکولی در پیام‌رسانی و عامل رونویسی را دارد. بیش از ۳۵ نوع عملکرد مولکولی دارد. از مهم‌ترین این عملکردهای پیام‌رسانی یا سیگنالینگ اینترلوکین ۱۳ (IL-13) و اینترلوکین ۴ (IL-4) است و نقش کلیدی در T_H2 polarization در سامانه ایمنی دارد. همچنین نقش فعال‌کننده گیرنده‌های لپتین را بر عهده دارد. در بررسی Rincon *et al.* (2009) ارتباط معنی‌داری بین ژن STAT6 و صفات لاشه مانند ضخامت چربی پشت، وزن لاشه گرم، میانگین افزایش وزن روزانه و میزان خوراک مصرفی در هشت نژاد گاوهای گوشتی آنگوس، هرфорд، شاروله، سیمنتال، لیموزین، فلخویه، براهمن، برانگوس و واگیو گزارش شد. همچنین در بررسی *DeAtley et al.* (2011) ارتباط بین چندشکلی در این ژن که روی کروموزوم ۵ گاو واقع شده است با صفات مرتبط با رشد را معنی‌دار گزارش کردند. ژن STAT2، که ۰/۳ مگابازی پایین‌تر از ژن STAT6 قرار گرفته است، کدکننده پروتئین‌هایی است که در پاسخ به عامل‌های رشد و اینترفرون آلفا و بتا در مسیر پیام‌رسانی پاسخ‌های ایمنی ترشح می‌شوند (GeneCards). نقش ژن LY96 در ارتباط با بیماری‌های رحمی به اثبات رسیده شده است. در بررسی Luna-Nevarez *et al.* (2011) رابطه معنی‌داری بین چندشکلی در ژن LY96 و روزهای باز و فاصله بین دو گوساله‌زایی در دو نژاد گاوهای گوشتی براهمن و آنگوس گزارش کردند. ژن‌های LY96 و TRAF3IP2 به ترتیب کدکننده پروتئین مرتبط با گیرنده‌های پروتئین شبه T فرم ۴ (TLR4) و گیرنده‌های پروتئین شبه T فرم ۳ (TLR3) در سطح یاخته هستند. جزو ژن‌های نامزد مؤثر بر صفات

کردند. ژن DDO روی کروموزوم ۸ واقع شده است و در فرآیند زیستی سوخت‌وساز هورمون‌ها نقش دارد. در بررسی روی خوک‌های گوشتی با هدف مقایسه بررسی ژن‌های بیان‌شده در چربی زیرپوست و چربی درون ماهیچه بررسی شد، ژن DDO دارای بیان بالاتری در قسمت چربی ذخیره‌شده در زیرپوست نسبت به درون ماهیچه داشت. ژن MSC، روی کروموزوم ۹ در موقعیت ژنگانی در ناحیه بین ۴۸/۱۵ تا ۴۹/۱۵ مگابازی بوده و در توسعه ماهیچه‌های ساختار بدنی نقش کلیدی در گوسفند گزارش شده است (Guðmundsdóttir, 2015). همچنین ژن MSC نقش کلیدی در توسعه و رشد جنین دارد (Binelli et al., 2015). ژن AMD1 در موقعیت ژنگانی ۲۵/۹ تا ۲۶/۹ روی کروموزوم ۸ واقع شده است. نقش کلیدی در زیست‌ساخت پلی آمین دارد. پلی آمین‌ها نقش مؤثر در رشد و توسعه بافت چربی دارند و همچنین افزایش سطح پلی آمین‌ها علت چاقی در کودکان گزارش شده است (Codoñer-Franch et al., 2011). ژن نامزد AMD1، در بررسی تفرق بیان ژن در ضخامت چربی پشتی خوک به‌عنوان یک ژن هاب گزارش شد. ژن FGF9 روی کروموزوم ۱۰ واقع شده است و جزو خانواده ژنی FGF است که در توسعه جنین، رشد یاخته، شکل‌گیری (مورفوژنز) و بازیابی بافت‌های جراحت‌دیده نقش دارد (GeneCards). ژن FGF9 در فرآیندهای زیستی توسعه نظام عضله‌های ساختار بدنی جنین و تفرق استئوبلاست نقش دارد. در بررسی توسط Wang et al. (2016) در بررسی نشانه‌های انتخاب هشت نژاد بز، ژن FGF9 را در ارتباط با تولید کشمیر گزارش کرده‌اند. ژن WIF1 روی کروموزوم ۳ در موقعیت ۱۶/۲ تا ۱۶/۳ مگابازی ژنگانی گوسفند واقع شده است. نقش کلیدی نشانه‌های خارج یاخته‌ای در توسعه جنین دارد، به‌طوری‌که در تفرق لایه میانی جنین یا مزودرم نقش دارد (GeneCards). ژن WIIF1 به‌عنوان جایگاه تحت انتخاب مثبت در نژادهای آنگوس و براهمن گزارش شده است (Xu et al., 2014). ژن WIF1 در گوسفند در بررسی Fariello et al. (2014) در بررسی نشانه‌های انتخاب نیز گزارش شده است.

در فرآیندهای سوخت‌وسازی در فرآیند سوخت‌وساز کربوهیدرات‌ها نقش دارد (GeneCards). در تحقیقی با بررسی رخ‌نمای رونوشت (پروفایل ترانسکریپتوم) به‌دست‌آمده از بافت پوششی (اپیتلیوم) شکمبه گاوهای گوشتی آنگوس و هرفورد، ژن CS، به‌طور معنی‌داری دارای بیان بالاتری در گروه دام‌های با باقیمانده خوراک مصرفی کمتر داشت (Kong et al., 2016).

ژن GPAM، کدکننده آنزیم میتوکندریایی است که به‌طور ترجیحی اسیدهای چرب اشباع را به‌عنوان بستره (سوپسترا) در ساخت (سنتز) گلیسرولیپید استفاده می‌کند (GeneCards). ژن GPAM در مسیرهای بیوشیمیایی در تنظیم زیست‌ساخت (بیوسنتز) کلسترول به‌وسیله پروتئین متصل‌شونده به عنصرهای کنترلی استرول (SREBP) و زیست‌ساخت تری آسید گلیسرول نقش دارد (UniProtKB). در بررسی روی بیان ژن‌های مؤثر بر چربی شیر در گوسفند ارتباط بین ژن GPAM و میزان چربی شیر گزارش شده است (Suarez-Vega et al., 2017).

ژن ADPGK، نقش کلیدی در سوخت‌وساز گلوکز در فرآیند گلیکولیز دارد به‌طوری‌که در تولید گلوکز ۶-فسفات آنزیم کلیدی است. و همچنین نقش تنظیمی فعال‌کننده T-cell است. گیرنده‌های لنفوسیت‌های یاخته‌های T است که در پاسخ ایمنی نقش دارند. وجود یاخته‌های T برای واکنش ایمنی ضروری است و بدون آن‌ها، بدن نمی‌تواند با عفونت‌ها مقابله کند. ژن‌های مهم دیگری که در این بررسی به‌عنوان نشانه‌های انتخاب شناسایی شدند عبارت‌اند از ژن‌های STAC3، DDO، FGF9، MSC، AMD1 و WIF1 همگی در صفات مرتبط با وزن بدن و لاشه ارتباط دارند. ژن STAC3 روی کروموزوم ۳ واقع شده است و جزوی از خانواده ژنی STAC بوده و در فرآیندهای زیستی انقباض ماهیچه‌های ساختار بدنی و توسعه فیبرهای ماهیچه‌های ساختار بدنی نقش دارد. همچنین در تشکیل میوژنز که فرآیندی است که در آن تارماهیچه (میوفیبریل)ها از میوبلاست‌ها تشکیل می‌شوند نقش کلیدی دارد. Sun et al. (2016) نقش کلیدی ژن STAC3 در رشد و توسعه فرآیندهای تولید گوشت در گوسفندان مرینوس و هان گزارش

است (Olsen *et al.*, 2010). این خوشه ژنی در ۷۴ نژاد گوسفند در سراسر جهان (Kijas *et al.*, 2012) و نیز گوسفندان جنوب غربی آسیا و آفریقا (Fariello *et al.*, 2014) تحت انتخاب بوده است. ژن SPP1 که نام دیگر آن استئوپتین (OPN) است و در فسفریله کردن گلیکوپروتئین‌ها و تشکیل استخوان در انسان و موش از راه تفرق یاخته‌های استئوبلاست نقش کلیدی دارد (Denninger *et al.*, 2015). ژن SPP1 ارتباط معنی‌داری با صفات رشد و وزن بدن شامل وزن یک‌سالگی، وزن زنده در هنگام کشتار، وزن لاشه گرم و افزایش وزن روزانه در ۷ نژاد گاو گوشتی (هرفورد، آنگوس، شاروله، ردآنگوس، سمینتال، فلخویه و لیموزین) دارد (White *et al.*, 2007). ژن MEPE، نقش کلیدی در صفات مرتبط با استخوان در گونه‌های مختلف شامل انسان، موش و گاو دارد (Zelenchuk *et al.*, 2015). ژن IBSP، در ساخت پروتئین‌های ساختاری در ترکیب ماتریکس خارج یاخته‌ای استخوان نقش داشته که در توسعه استخوان نقش کلیدی دارند (Bouleftour *et al.*, 2014).

نتایج تجزیه ژن آنتولوژی در جدول ۳ برای برخی از مسیرهای مهم و معنی‌دار نشان داده شده است. برای درک بهتر عملکردهای مولکولی ژن‌های تحت انتخاب، ژن آنتولوژی آن‌ها بررسی شد. بخش‌هایی از تجزیه ژن آنتولوژی در این مقایسه با بررسی‌های پیشین روی گوسفند و گاو نیز همخوانی داشت (Zhao *et al.*, 2015; Zhao *et al.*, 2016; Zhu *et al.*, 2016).

انتخاب قوی برای عملکرد سامانه ایمنی ممکن است پس از قرار گرفتن حیوان‌ها در معرض عامل‌های بیماری‌زای جدید هنگام تغییر در مدیریت پرورشی برای اهلی شدن و شکل‌گیری نژاد رخ دهد (Ramey *et al.*, 2013). تکامل تطبیقی سامانه ایمنی در بسیاری از گونه‌ها مانند انسان (Nielsen *et al.*, 2005) دیده می‌شود. شواهد قابل توجهی از انتخاب مثبت یا متعادل‌کننده روی برخی از ژن‌های مؤثر بر سامانه ایمنی توسط تجزیه ژن آنتولوژی گزارش شده است (Ramey *et al.*, 2013).

انتخاب مثبت از دیرباز، حیوان‌هایی که توان تولیدمثلی یا نرخ بقای بالایی نسبت به هموعان خود دارند را در تولید نسل آینده شرکت می‌دهد. فشارهای

ژن‌های SLC22A16 و SLC25A31 به ترتیب روی کروموزوم‌های ۸ و ۱۷ واقع شده‌اند، جزئی از خانواده ژنی SLC با ۲۳ عضو است که نقش انتقالی دارند. خانواده ژنی SLC که بیشتر در جمعیت‌های انسانی تمایز و انتخاب شده‌اند، نقش‌های متنوعی در سازوکارهای زیستی دارند. در بررسی‌های مختلفی ارتباط این خانواده ژنی با رنگدانه‌های پوست گزارش شده است (Voight *et al.*, 2006). فرآیندهای مانند بالا بردن (SLC27A4) و اکسایشی (SLC25A20) اسیدهای چرب نشان داده شده است (Voight *et al.*, 2006). این خانواده ژنی نقش‌های زیستی بسیار گسترده‌ای مانند سیگنال‌دهی پرولاکتین، ترشح انسولین، جذب طیف گسترده‌ای از مواد مغذی، ساخت هورمون تیروئید و مسیرهای سوخت‌وسازی مختلف دیگر دارند (GeneCards). افزون بر این در بررسی‌های دیگری ارتباط این خانواده ژنی با صفات تولید و ترکیب‌های شیر مانند چربی و پروتئین گزارش شده است. از این میان می‌توان به ارتباط ژن‌های SLC30A4، SLC1A4، SLC34A2، SLC39A8، SLC7A5، SLC6A2، SLCA3 و SLC35B1 با صفات مربوط به تولید و کیفیت شیر اشاره کرد (Ogorevc *et al.*, 2009). ولی با توجه به طیف فعالیت گسترده ژن‌های انتخابی این خانواده ژنی، اختصاص دقیق ژن‌های انتخابی این خانواده ژنی به مسیر زیستی خاصی امکان‌پذیر نیست. همچنین ژن نامزد SLC16A7 ارتباط آن با فراسنجه کیفیت گوشت شامل مساحت ناحیه عضله چشمی بین دنده ۱۲ و ۱۳ و چربی درون ماهیچه‌ای در جمعیت گاو گوشتی لیموزین به‌عنوان نشانه‌های انتخاب گزارش کردند (Gurgul *et al.*, 2015).

ژن‌های SPP1، IBSP و MEPE که روی کروموزوم ۶ واقع شده‌اند، یک خوشه (کلاستر) ژنی موجود در استخوان و غضروف هستند که جزو فسفولیپوپروتئین‌های ماتریکس خارج یاخته‌ای (ECM) هستند و نقش اساسی در تشکیل شکل طبیعی استخوان در جنین در سن ۱۸۰ روزگی دارند که به مؤثری بر اندازه گوساله نقش دارند و به‌طور غیرمستقیم روی سخت‌زایی و یا مرده‌زایی معنی‌دار گزارش شده

ساختار بدنی آن‌ها نمایان می‌کند. دو سامانه ساختار بدنی اصلی، شامل استخوان‌بندی درون و بیرون بدن جاندار اهمیت بالایی در زیست‌شناسی تکامل دارد به طوری که در گونه‌های مختلف پرندگان محققان با چالش‌های تکامل پرواز به شناسایی ژن‌های درگیر در این صفت می‌پردازند (Machado, 2014). Zhao *et al.* (2016) در نتایج تحقیقی روی گوسفندان بومی چینی با انواع مختلف اندازه دنبه توسط آرایه‌های با تراکم بالا، در ارزیابی ژن آنتولوژی آن‌ها نیز توسعه سامانه ساختار بدنی و فعالیت‌های سوخت‌وسازی را گزارش کردند.

در مرحله بعد برای پیش‌بینی ارتباط متقابل پروتئین‌های شناسایی شده در مناطق راست نسخه گاو از پایگاه داده STRING برای ترسیم شبکه ژنی استفاده شد. شبکه پروتئینی (ژنی) یکی از پیشرفته‌ترین روش‌های تجزیه مورد استفاده در ارزیابی توالی‌های ژنگانی و پروتئینی است. با استفاده از این شبکه می‌توان ارتباط متقابل پروتئین‌های شناسایی شده در مقایسه مربوطه را با یکدیگر پیش‌بینی کرد که هر یک از این ژن‌ها (پروتئین‌ها) با کدام صفات مرتبط هستند. نتایج به دست آمده از شبکه پروتئینی نشان داد که ژن‌های به دست آمده از آماره iHS به طور مستقیم و غیرمستقیم با صفات توسعه سامانه ساختار بدنی، سامانه ایمنی، تنش گرمایی و سوخت‌وساز قند و انرژی (شکل ۲) در ارتباط هستند. به عنوان مثال منطقه ۱، روی تنش گرمایی و منطقه ۲، روی صفات سیستم ایمنی و منطقه ۳، روی صفات سوخت‌وساز قند و انرژی و منطقه ۴، روی صفت توسعه سامانه ساختار بدنی مؤثر هستند.

انتخاب روی ژن‌های مؤثر بر صفات تولیدمثلی بسیار متفاوت است و در واقع آن‌ها برای ظهور و تکامل گونه‌های جدید ضروری هستند (Morgan *et al.*, 2010). تحقیقات نشان داده است که پرورش در شرایط جغرافیایی متفاوت، انتخاب بر پایه صفات مؤثر بر رشد و تولیدمثل سازگاری بیشتر حیوان را با شرایط متفاوت محیطی به دنبال داشته و سودمندی گله را نیز افزایش می‌دهد (Olivier *et al.*, 2001). شبکه ژن آنتولوژی صفات تولیدمثلی در گاوهای گوشتی و شیری نیز تحت انتخاب بوده است (Zhao *et al.*, 2015).

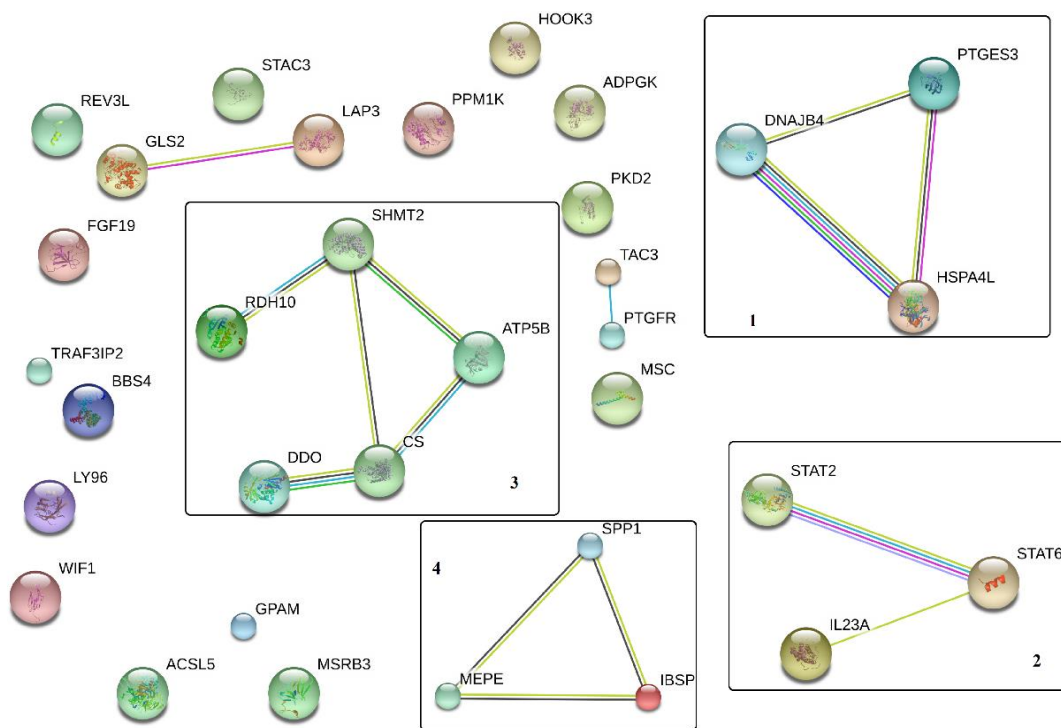
سوخت‌وساز انرژی یک نقش اساسی در انطباق گونه‌ها در محیط‌های خارج از حد آستانه از نظر دمایی و رطوبت بازی می‌کند. شواهد پیشین نشان داد که SNP‌های درگیر در سوخت‌وساز متابولیت‌های اولیه با تغییرپذیری آب و هوایی در ارتباط هستند (Hancock *et al.*, 2011). گاو نژاد لیموزین از نژادهای برتر گوشتی به دلیل افزایش وزن روزانه و نرخ تبدیل غذایی با میانگین بالا و همچنین از نظر تحمل بسیار زیاد نسبت به شرایط نامناسب محیطی اهمیت خاصی دارد. Gurgul *et al.* (2013) در نتایج پژوهشی با عنوان بررسی ژن آنتولوژی مناطق ژنگانی تحت انتخاب در این نژاد دریافتند که گروهی از ژن‌ها در فرآیند سوخت‌وسازی یاخته‌ها مؤثر هستند.

ساختار بدنی، یک بافت سوخت‌وسازی فعال بوده که در طول حیات همواره در حال بازسازی است. فسیل‌های به جامانده از گونه‌های جانوری، الگوهای روشنی از تکامل و سازگاری با محیط‌زیست در جانوران منقرض شده را از راه بررسی روی سامانه

جدول ۳. تجزیه آنتولوژی ژن و غنی‌سازی مسیر در مناطق منتخب تحت انتخاب مثبت

Table 3. Analysis of Gene Ontology and Enriched pathway terms in regions under positive selection

نام ژن	P-value	فرآیند زیستی	Go Term
STAT2, STAT6, ATP5B, NAB2, IL23A, RNF41, SCL39A5, TIMELES, SMARCC2, NACA	4.2E-2	heterocycle biosynthetic process	GO:0018130
STAT6, IL23A	4.2E-2	T-helper 1 type immune response	GO:0019752
CS, GLS2, PTGES3, SHMT2	2.4E-2	carboxylic acid metabolic process	GO:0019752
IBSP, MEPE, SPP1	2.1E-3	biomineral tissue development	GO:0031214
IBSP, MEPE, PKD2, SPP1	1.0E-2	tissue development	GO:0009888
IBSP, MEPE, PKD2, SPP1, MED28	3.5E-2	anatomical structure development	GO:0048856
STAT2, STAT6, IL23A	3.5E-2	Jak-STAT signaling pathway	bta04630
CS, SHMT2	5.3E-2	Glyoxylate and dicarboxylate metabolism	bta00630



شکل ۲. شبکه ژنی و پروتئینی ژن‌های تحت انتخاب مثبت. دایره‌های با رنگ‌های مختلف نشان‌دهنده ژن یا پروتئین‌ها است و خطوط بین آن‌ها تعاملات بین آن‌هاست.

Figure 2. Gene and Protein network of genes under positive selection. Nodes are genes or proteins; lines indicate interactions between proteins.

گرمایی و سوخت‌وساز قند و انرژی در ارتباط هستند اما بررسی‌های پیوستگی و عملکردی بیشتری برای شناسایی عملکرد ژن‌ها و QTL‌های مرتبط نیاز است. در مجموع، نتایج این تحقیق می‌تواند منابع داده‌هایی با ارزشی در جهت شناسایی ژن‌های متمایزکننده و شناسایی نواحی ژنگانی کاندید برای بسیاری از صفات مهم اقتصادی موجود در گله گوسفند نژاد زندی مورد بررسی فراهم آورد. همچنین از داده‌های این تحقیق می‌توان در تحقیقات مرتبط با انتخاب ژنگانی، طراحی نظام‌های آمیزشی و بررسی و ارزیابی‌های تکمیلی استفاده کرد.

سپاسگزاری

از مسئولان و محققان مرکز اصلاح نژاد و بهبود تولیدات دامی کشور به خاطر حمایت مالی پروژه و ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد گوسفند زندی استان تهران (ایستگاه خجیر) برای در اختیار گذاشتن حیوانات در اجرای این پروژه، تشکر و قدردانی می‌گردد.

بررسی QTL‌های احتمالی که بیشتر در این مناطق ژنگانی گوسفند شناسایی شده بودند نشان داد، پنج جایگاه ژنی مختلف مؤثر بر صفات مهم اقتصادی شامل صفات مرتبط با لاشه (وزن کشتار و وزن لاشه گرم)، رشد (وزن بدن و افزایش وزن روزانه)، کیفیت لاشه (چربی درون ماهیچه‌ای)، تولید پشم (طول استاپل و ضریب تغییرپذیری قطر پشم) و تولیدمثل (بیشترین میزان پروژسترون پیش از آغاز فصل تولیدمثلی و شمار برة متولدشده) همپوشانی دارد.

نتیجه‌گیری کلی

در این بررسی برای شناسایی نشانه‌های انتخاب از آماره iHS استفاده شد و نشانه‌های انتخاب در بخش‌هایی از ژنگان شناسایی شد که در بررسی‌های پیشین در انسان، گاو و دام‌های اهلی دیگر نیز تأیید شده بودند. بررسی ژن‌ها و QTL‌های موجود در نواحی تحت انتخاب نشان داد که این ژن‌ها با صفات مرتبط توسعه سامانه ساختار بدنی، سامانه ایمنی، تنش

REFERENCES

- Bahbahani, H. (2015). *Genome-wide identification of signatures of positive selection in African admixed zebu cattle*. Ph.D. thesis, University of Nottingham.
- Barrett, J. C., Fry, B., Maller, J. & Daly, M. J. (2005). Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*, 21(2), 263-265.
- Binelli, M., Scolari, S. C., Pugliesi, G., Van Hoeck, V., Gonella-Diaza, A. M. & Andrade, S. C. S. (2015). The Transcriptome Signature of the Receptive Bovine Uterus Determined at Early Gestation. *PLoS ONE* 10(4): e0122874. doi:10.1371/journal.pone.0122874.
- Bouleftour, W., Boudiffa, M., Wade-Gueye, N. M., Bouet, G., Cardelli, M., Laroche, N., et al. (2014). Skeletal development of mice lacking bone sialoprotein (BSP) Impairment of long bone growth and progressive establishment of high trabecular bone mass. *PLoS ONE*, 9:e95144.
- Codoner-Franch, P., Tavarez-Alonso, S., Murria-Estal, R., Herrera-Martin, G. & Alonso-Iglesias, E. (2011). Polyamines Are Increased in Obese Children and Are Related to Markers of Oxidative/Nitrosative Stress and Angiogenesis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 96, 2821-2825.
- Dalrymple, B. P., Kirkness, E. F., Nefedov, M., McWilliam, S., Ratnakumar, A., Barris, W., Zhao, S., Shetty, J., Maddox, J. F., O'Grady, M., et al. (2007). Using comparative genomics to reorder the human genome sequence into a virtual sheep genome. *Genome Biology*, 8(7), R152.
- DeAtley, K. L., Rincon, G., Farber, C. R., Medrano, J. F., Luna-Nevarez, P., Enns, R. M., VanLeeuwen, D. M., Silver, G. A. & Thomas, M. G. (2011). Genetic analyses involving microsatellite ETH10 genotypes on bovine chromosome 5 and performance trait measures in Angus- and Brahman-influenced cattle. *Journal of Animal Science*, 89, 2031-2041.
- Denninger, K. C., Litman, T., Marstrand, T., Moller, K., Svensson, L., Labuda, T., et al. (2015). Kinetics of gene expression and bone remodelling in the clinical phase of collagen induced arthritis. *Arthritis Research & Therapy*, 17, 43.
- Ensembl BioMart: Ensembl online genome data base BioMart Tool. <http://www.ensembl.org/biomart/martview/>.
- Fariello, M. I., Servin, B., Tosser-Klopp, G., Rupp, R., Moreno, C., International Sheep Genomics Consortium. & et al. (2014). Selection Signatures in Worldwide Sheep Populations. *PLoS ONE*, 9(8), e103813.
- Fay, J. C. & Wu, C. I. (2000). Hitchhiking under positive Darwinian selection. *Genetics*, 155, 1405-1413.
- Gautier, M. & Naves, M. (2011). Footprints of selection in the ancestral admixture of a New World Creole cattle breed. *Molecular Ecology*, 20, 3128-3143.
- GeneCards. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=STAT>
- Gossner, A. G., Venturina, V. M., Peers, A., Watkins, C. A. & Hopkins, J. (2012). Expression of sheep interleukin 23 (IL23A, alpha subunit p19) in two distinct gastrointestinal diseases. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 150, 118-122.
- Gouveia, J. J. D. S., Paiva, S. R., McManus, C. M., Caetano, A. R., Kijas, J. W., Facó, O., Azevedo, H. C., Araujo, A. M. D., Souza, C. J. H., Yamagishi, M. E. B., Carneiro, P. L. S., Lôbo, R. N. B., Oliveira, S. M. P. & da Silva, M. V. G. B. (2017). Genome-wide search for signatures of selection in three major Brazilian locally adapted sheep breeds. *Livestock Science*, 197, 36-45.
- Guðmundsdóttir, O. O. (2015). *Genome-wide association study of muscle traits in Icelandic sheep*. M.Sc. thesis. Agricultural University of Iceland.
- Gurgul, A., Szmatoła, T., Ropka-Molik, K., Jasielczuk, I., Pawlina, K., Semik, E. & Bugno-Poniewierska, M. (2015). Identification of genome-wide selection signatures in the Limousin beef cattle breed. *Journal of Animal & Breeding Genetics*, 1-13.
- Hancock, A. M., Brachi, B., Faure, N., Horton, M. W., Jarymowycz, L. B., Sperone, F. G. & et al. (2011). Adaptation to climate across the Arabidopsis thaliana genome. *Science*, 334, 83-86.
- Huang, D. W., Sherman, B. T. & Lempicki, R. A. (2009). Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID Bioinformatics Resources. *Nature Protocol*, 4(1), 44-57.
- Isabelle, C. M. & Picard, B. (2016). Expression Marker-Based Strategy to Improve Beef Quality. *The Scientific World Journal*, 1-11. Doi: 2185323.
- Khare, S., Lawhon, S. D., Drake, K. L., Nunes, J. E. S., Figueiredo, J. F., Rossetti, C. A., Gull, T., Everts, R. E., Lewin, H. A., Galindo, C. L., Garner, H. R. & Adams, L. G. (2012). Systems Biology Analysis of Gene Expression during In Vivo Mycobacterium avium paratuberculosis Enteric Colonization Reveals Role for Immune Tolerance. *PLoS ONE*, 7(8): e42127. doi:10.1371/journal.pone.0042127.
- Kim, E-S., Elbeltagy, A. R., Aboul-Naga, A. M., Rischkowsky, B., Sayre, B., Mwacharo, J. M. & Rothschild, M. F. (2015). Multiple genomic signatures of selection in goats and sheep indigenous to a hot arid environment. *Heredity*, 1-10.

23. Kijas, J. W., Johannes, A., Ben Hayes, L., Boitard, S., PortoNeto, L. R., Cristobal, M. S., Servin, B., McCulloch, R., Whan, V., Gietzen, K., Paiva, S., Barendse, W., Ciani, E., Raadsma, H., McEwan, J. & Dalrymple, B. (2012). Genome-wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection. *PLoS Biology*, 10, 1-14.
24. Kong, R. S. G., Liang, G., Chen, Y., Stothard, P. & Guan, L. L. (2016). Transcriptome profiling of the rumen epithelium of beef cattle differing in residual feed intake. *BMC Genomics*, 17, 592.
25. Lammers, G., Gilissen, C., Nillesen, S. T., Uijtdewilligen, P. J., Wismans, R. G., Veltman, J. A., Daamen, W. F. & van Kuppevelt, T. H. (2010). High density gene expression microarrays and gene ontology analysis for identifying processes in implanted tissue engineering constructs. *Biomaterials*, 31(32), 8299-8312.
26. Luna-Nevarez, P., Rincon, G., Medrano, J. F., Riley, D. G., Chase Jr., C. C., Coleman, S. W., VanLeeuwen, D. M., DeAtley, K. L., Islas-Trejo, A., Silver, G. A. & Thomas, M. G. (2011). Single nucleotide polymorphisms in the growth hormone–insulin-like growth factor axis in straightbred and crossbred Angus, Brahman, and Romosinuano heifers: Population genetic analyses and association of genotypes with reproductive phenotypes. *Journal of Animal Science*, 89, 926-934.
27. Machado, J. P. (2014). *Evolutionary characterization of genes involved in development and adaptation in vertebrates under differential environmental conditions of selective pressure*. Universidade do Porto, Rua dos Bragas, Portugal. 193pp.
28. Morgan, C. C., Loughran, N. B., Walsh, T. A., Harrison, A. J. & O'Connell, M. J. (2010). Positive selection neighboring functionally essential sites and disease-implicated regions of mammalian reproductive proteins. *BMC Evolutionary*, 10, 39.
29. Nielsen, R. & Yang, Z. (1998). Likelihood models for detecting positively selected amino acid sites and applications to the HIV-1 envelope gene. *Genetics*, 148, 929-36.
30. Nielsen, R., Williamson, S., Kim, Y., Hubisz, M. J., Clark, A. G. & Bustament C. (2005). Genomic scans for selective sweeps using SNP data. *Genome Research*, 15, 1566-1575.
31. Oleksyk, T. K., Smith, M. W. & O'Brien, S. J. (2010). Genome-wide scans for footprints of natural selection. *Philosophical Transactions of the Royal Society B. Biological Sciences*, 365, 185-205.
32. Olivier, W. J., Olivier, M. A., Van Wyk, J. J. & Erasmus, G. J. (2001). Direct and correlated responses to selection for total weight of lamb weaned in Merino sheep. *South African Journal of Animal Science*, 31(2), 115-121.
33. Olsen, H. G., Hayes, B. J., Kent, M. P., Nome, T., Svendsen, M. & Lien, S. (2010). A genome wide association study for QTL affecting direct and maternal effects of stillbirth and dystocia in cattle. *Animal Genetics*, 41, 273-280.
34. Porto-Neto, L. R., Lee, S. H., Sonstegard, T., van Tassel, C., Lee, H. K., Gibson, J. P., *et al.* (2014). Genome-wide detection of signatures of selection in Korean Hanwoo cattle. *Animal Genetics*, 45, 180-90.
35. Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A. R., Bender, D. & *et al.* (2007). PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *The American Journal of Human Genetics*, 81, 559-575.
36. Qanbari, S., Pimentel, E.C.G., Tetens, J., Thaller, G., Lichtner, P., Sharifi, A. R., Simianer, H., (2010). A genome-wide scan for signatures of recent selection in Holstein cattle. *Animal Genetics*, 41, 377-389.
37. Qanbari, S., Gianola, D., Hayes, B., Schenkel, F., Miller, S., Moore, S., Thaller, G., Simianer, H., (2011). Application of site and haplotype-frequency based approaches for detecting selection signatures in cattle. *BMC Genomics*, 12, 318.
38. Ramey, H., Decker, J., McKay, S., Rolf, M., Schnabel, R. & Taylor, J. (2013). Detection of selective sweeps in cattle using genome-wide SNP data. *BMC Genomics*, 14, 382.
39. Rincon, G., Farber, E. A., Farber, C. R., Nkrumah, J. D. & Medrano, J. F. (2009). Polymorphisms in the STAT6 gene and their association with carcass traits in feedlot cattle. *Animal Genetics*, 40, 878-882.
40. Rubin, C.-J., Zody, M. C., Eriksson, J., Meadows, J. R. S., Sherwood, E., *et al.*, (2010). Whole-genome resequencing reveals loci under selection during chicken domestication. *Nature*, 464, 587-591.
41. Sabeti, P. C., Reich, D. E., Higgins, J. M., Levine, H. Z. P., Richter, D. J., Schaffner, S. F., *et al.* (2002). Detecting recent positive selection in the human genome from haplotype structure. *Nature*, 419, 832-837.
42. Sabeti, P. C., Scheffner, S. F., Fry, B., Lohmueller, J., Vailly, P., Shamovsky, O., Palma, A., Mikkelsen, T. S., Altshuler, D. & Lander, E. S. (2006). Positive natural selection in the human lineage. *Science*, 312, 1614-1620.
43. Scheet, P. & Stephens, M. (2006). A fast and flexible statistical model for large-scale population genotype data: applications to inferring missing genotypes and haplotypic phase. *The American Journal of Human Genetics*, 78(4), 629-644.
44. Suárez-Vega, A., Gutiérrez-Gil, B., Klopp, C., Tosser-Klopp, G. & José Arranz, J. (2017). Variant discovery in the sheep milk transcriptome using RNA sequencing. *BMC Genomics*, 18:170. DOI 10.1186/s12864-017-3581-1

45. Sun, L., Bai, M., Xiang, L., Zhang, G., Ma, W. & Jiang, H. (2016). Comparative transcriptome profiling of longissimus muscle tissues from Qianhua Mutton Merino and Small Tail Han sheep. *Scientific Reports* 6:33586, DOI: 10.1038/srep33586.
46. Sylvie, R. B. (2011). The Collagen Family. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3:a004978.
47. Tang, K., Thornton, K.R., Stoneking, M., (2007). A new approach for using genome scans to detect recent positive selection in the human genome. *PLoS Biology*, 5, e171.
48. UniProtKB Gene. http://www.uniprot.org/help/gene_name.
49. Voight, B. F., Kudravalli, S., Wen, X. & Pritchard, J. K. (2006). A map of recent positive selection in the human genome. *PLoS Biology*, 4, e72.
50. Walter, S., Atzmon, G., Demerath, E. W., Garcia, M. E., Kaplan, R. C., Kumari, M., Lunetta, K. L., Milaneschi, Y., Tanaka, T., *et al.* (2011). A genome-wide association study of aging. *Neurobiology of Aging*. 32(11):2109.e15-28. doi: 10.1016/j.
51. Wang, X., Liu, J., Zhou, G., Guo, J., Yan, H., Niu, Y., Li, Y., Yuan, C., Geng, R., Lan, X., An, X., Tian, X., Zhou, H., Song, J., Jiang, Y. & Chen, Y. (2016). Whole-genome sequencing of eight goat populations for the detection of selection signatures underlying production and adaptive traits. *Scientific Reports*, 6:38932. DOI: 10.1038/srep38932
52. White, S. N., Casas, E., Allan, M. F., Keele, J. W., Snelling, W. M., Wheeler, T. L., Shackelford, S. D., Koohmaraie, M. & Smith, T. P. L. (2007). Evaluation in beef cattle of six deoxyribonucleic acid markers developed for dairy traits reveals an osteopontin polymorphism associated with postweaning growth. *Journal of Animal Science*, 85, 1-10.
53. Xu, L., Bickhart, D. M., Cole, J. B., Schroeder, S. G., Song, J., Van Tassell, C. P., Sonstegard, T. S. & George, E. L. (2014). Genomic Signatures Reveal New Evidences for Selection of Important Traits in Domestic Cattle. *Molecular Biology and Evolution*, 32(3), 711-725.
54. Xu, H., Xu, Y., Liang, X., Wang, Y., Jin, F., Liu, D., Ma, Y., Yuan, H., Song, X. & Zeng, W. (2013). Porcine skeletal muscle differentially expressed gene ATP5B: molecular characterization, expression patterns, and association analysis with meat quality traits. *Mammalian Genome*, 24, 142-150.
55. Zelenchuk, L. V., Hedge, A. M. & Rowe, P. S. N. (2015). Age dependent regulation of bone-mass and renal function by the MEPE ASARM- motif. *Bone*, 79, 131-42.
56. Zhao, F., McParland, S., Kearney, F., Du L. & Berry, D. P. (2015). Detection of selection signatures in dairy and beef cattle using high-density genomic information. *Genetics Selection Evolution*, 47, 49.
57. Zhao, F. P., Wei, C. H., Zhang, L., Wang, G. K., Zeng, T. & Du, L. X. (2016). A genome scan of recent positive selection signatures in three sheep populations. *Journal of Integrative Agriculture*, 15(1), 162-174.
58. Zhu, C., Fan, H., Yuan, Z., Hu, S., Zhang, L., Wei, C., Zhang, Q., Zhao, F. & Du, L. (2015). Detection of Selection Signatures on the X chromosome in Three Sheep Breeds. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 20360-20374.
59. Zhu, C., Fan, H., Yuan, Z., Hu, S., Ma, X. & *et al.* (2016). Genome-wide detection of CNVs in Chinese indigenous sheep with different types of tails using ovine high-density 600K SNP arrays. *Scientific Reports*, 6, 27822.