



پوشش کل ژنوم هشت نژاد گاو بومی ایران برای شناسایی نشانه‌های انتخاب

نادر فروغ عامری^{۱*}، مسعود اسدی فوزی^۲، علی اسمعیلی‌زاده کشکوئیه^۳

۱. دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۲. دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۳. استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۸/۰۶

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۴/۰۲/۲۹

چکیده

در تحقیق حاضر، قسمت‌هایی از ژنوم گاوهای بومی ایران که شواهدی از انتخاب برای جهش‌های مختلف را نشان می‌دهند، شناسایی شد. بدین منظور از داده‌های ۷۷۷۹۶۲ نشانگر چندشکلی تک‌نوکلئوتید پراکنده در سرتاسر ژنوم و ۹۰ حیوان از هشت نژاد گاو بومی ایران (سرابی، کرمانی، سیستانی، نجدی، کردی، تالشی، پارس و مازندرانی) برای شناسایی نشانه‌های انتخاب استفاده شد. بررسی تمایز جمعیتی با استفاده از روش شاخص تثبیت (F_{st}) تصحیح شده برای اندازه نمونه (θ) نشان داد که در چندین مکان ژنی شواهدی از انتخاب در این هشت نژاد وجود دارد. در طول ۳۰ کروموزوم گاو، تعداد هفت ناحیه ژنومی شناسایی شد که نشانه‌های انتخاب در آن‌ها وجود داشت. این نواحی بر روی کروموزوم‌های یک، دو، هفت، هشت، ۱۲، ۱۳ و X واقع بودند. بررسی ژن‌ها و QTL های پیشین گزارش شده در مکان‌هایی از ژنوم گاو که تحت تأثیر انتخاب بوده‌اند، نشان داد که این مکان‌ها با ژن‌ها و QTL های صفات مهم اقتصادی نظیر صفات مرتبط با تولید و اجزای شیر، وزن بدن، مقاومت به سرما و صفات تولیدمثل مرتبط هستند. نتایج تحقیق حاضر، اطلاعات مفیدی از وجود تنوع ژنتیکی و نشانه‌های انتخاب در گاوهای بومی ایران فراهم کرد.

کلیدواژه‌ها: تفرق جمعیت، شاخص تثبیت، کاوش ژنومیک، گاو بومی ایران، نشانه انتخاب.

مقدمه

به دلیل تغییرات وسیع آب و هوایی در سرتاسر کشور ایران، نژادهای گاو در طول زمان با این شرایط آب و هوایی خود را سازگار کرده اند. لذا نژادهای بومی مختلفی از شمال تا جنوب و از شرق تا غرب کشور برای سازگاری با محیط تکامل یافته اند. بدون شک مکان‌هایی از ژنوم که با صفات ایمنی و سازگاری مرتبط بوده‌اند، با استفاده از انتخاب طبیعی و تا حدی به وسیله انتخاب مصنوعی تحت تأثیر انتخاب قرار گرفته اند. با بررسی ظاهری گاوهای نواحی مختلف کشور هم می‌توان ویژگی‌هایی را یافت که نشان از سازگاری این دام با محیط طبیعی دارد. به عنوان مثال، در نژاد سیستمی به دلیل کمبود منابع خوراک دام، کوهان گاو به عنوان محلی برای ذخیره انرژی دیده می‌شود. همچنین نژادهایی نظیر نجدی که در مناطق گرم دیده می‌شوند، دارای اندامی کشیده و پوستی با غدد عرق فراوان بوده، لذا تبخیر از سطح پوست آن‌ها نسبت به نژادهایی نظیر سرابی بیشتر است.

با تولید و توسعه فن آوری‌های توالی‌یابی DNA، این امکان به وجود آمده است که با دقت و صحت بالاتری پژوهشگران بتوانند اطلاعات ارزشمندی در ارتباط با منشأ و ساختار ژنوم گونه‌های مختلف به دست بیاورند. در صورتی که انتخاب طبیعی یا مصنوعی برای صفاتی خاص به نفع ناحیه‌ای از ژنوم صورت گیرد، این امکان نیز وجود دارد که در طول زمان سایر چندشکلی‌ها فراوانی‌شان کاهش یافته یا ناپدید شده باشند. در نتیجه یک هاپلوتایپ خاص که حاوی چندین ژن است ممکن است تنها هاپلوتایپ یا مهم ترین هاپلوتایپ موجود در جمعیت باشد که به آن نشانه انتخاب (Selection signatures) یا رانش ناشی از انتخاب (Selective sweep) می‌گویند [۱ و ۲]. برای بررسی سطح تمایز بین زیرجمعیت‌ها و بالتبع شناسایی نشانه‌های انتخاب، اولین بار استفاده از شاخص

تثبیت (F_{st}) پیشنهاد شد [۳]. یک راه تفسیر افزایش شاخص تثبیت، کاهش هتروزیگوسیتی در میان جمعیت‌ها نسبت به آنچه که در حالت طبیعی مورد انتظار است، می‌باشد. تحت شرایط خنثی، میزان شاخص تثبیت به وسیله رانش ژنتیکی و مهاجرت تعیین می‌شود، اما سازگاری منطقه‌ای می‌تواند میزان تمایز جمعیت‌ها را در لوکوس‌های خاص شتاب دهد و منجر به مقادیر بالاتری از شاخص تثبیت شود. همچنین استفاده از آزمون هاپلوتایپ با دامنه گسترده (Long-Range Haplotype) برای شناسایی نشانه‌های انتخاب پیشنهاد شده است [۴].

در زمینه شناسایی نشانه‌های انتخاب در گاوهای شیری در سطح دنیا پژوهش‌های متعددی صورت گرفته است. از جمله با استفاده از ۳۷۰ و ۱۸۶ چندشکلی تک نوکلئوتید، مطالعه الگوی عدم تعادل فاز پیوستگی (LD) به ترتیب بر روی کروموزوم‌های ۱۹ و ۲۹ گاوهای هلشتاین (شیری) و آنگوس (گوشتی) به منظور شناسایی نشانه‌های انتخاب انجام شد [۵]. نتایج حاصل نشان دهنده وجود انتخاب در پنج ناحیه کروموزومی نژاد هلشتاین و سه ناحیه کروموزومی نژاد آنگوس در کروموزوم شماره ۲۹ بود. بررسی پایگاه‌های داده‌ای QTL های شناسایی شده گاو نشان داد که در این نواحی کروموزومی در گاو هلشتاین عمدتاً QTL های مرتبط با شیر و اجزای شیر و در گاوهای آنگوس ژن‌های صفات لاشه (نظیر وزن کشتار، چربی بین‌ماهیچه‌ای، عمق چربی پشت و غیره) شناسایی شده‌اند. تحقیقات متعددی در سرتاسر جهان به منظور شناسایی نشانه‌های انتخاب انجام شده و در حال انجام است، اما تاکنون هیچ پژوهشی در زمینه شناسایی نشانه‌های انتخاب بر روی ژنوم گاوهای بومی ایران انجام نشده است. لذا هدف از انجام پژوهش حاضر، شناسایی نشانه‌های انتخاب با استفاده از تراشه نشانگری 700K بر روی ژنوم هشت نژاد گاو بومی ایران بود.

تولیدات دامی

مواد و روشها

نمونه‌های مو از ناحیه دم گاوها جدا شدند و در بسته‌های جداگانه به آزمایشگاه منتقل گردیدند. استخراج DNA از ریشه‌های مو انجام شد. منشاء و اندازه نمونه تعیین ژنوتیپ شده از هر نژاد در جدول ۱ نشان داده شده است. یک نمونه، مربوط به نژاد نجدی، به دلیل عدم کیفیت کافی برای تعیین ژنوتیپ از مجموعه داده‌ها حذف شد. لذا، در مجموع تعداد ۸۹ نمونه از گاوهای بومی ایران در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت.

به منظور کاوش نشانه‌های انتخاب بر روی ژنوم گاوهای بومی کشور، تعداد ۹۰ راس گاو از نژادهای سرابی، کردی، مازندرانی، تالشی، سیستانی، کرمانی، نجدی و نژاد بومی فارس (پارس) مورد نمونه‌برداری قرار گرفتند. براساس داده‌های شجره‌ای و یا با پرسش از صاحبان دام‌ها، نمونه‌هایی مورد انتخاب قرار گرفتند که دارای رابطه خویشاوندی نبوده و یا روابط خویشاوندی آن‌ها کم باشد.

جدول ۱. مکان و اندازه نمونه نژادهای گاو استفاده شده در این مطالعه

نژاد	منطقه نمونه‌گیری	مخفف	تعداد نمونه
سرابی	آذربایجان شرقی	SRB	۲۰
کرمانی	کرمان	KRM	۱۰
سیستانی	سیستان بلوچستان	SST	۱۰
نجدی	خوزستان	NJD	۹
کردی	کردستان	KRD	۱۰
تالشی	گیلان	TLS	۱۰
پارس	فارس	PRS	۱۰
مازندرانی	مازندران	MZR	۱۰

CA, USA شامل ۷۷۷۹۶۲ جایگاه چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی تعیین ژنوتیپ شدند. به منظور انجام کنترل کیفیت بر روی داده‌ها، از نرم‌افزار Plink (نسخه ۱/۰۴) استفاده شد [۶]. کلیه جایگاه‌های چند شکل تک‌نوکلئوتیدی با نرخ فراخوانی تعیین ژنوتیپ کمتر از ۰/۹ و چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی دارای فراوانی آلل نادر کمتر از ۰/۰۵ از مجموعه داده‌ها حذف شدند. تعادل هاردی-وینبرگ در کلیه جایگاه‌ها مورد بررسی قرار گرفت و جایگاه‌های با P-value کمتر از 10^{-6} از مجموعه داده‌ها کنار گذاشته شدند. خصوصیات پنل نشانگری استفاده شده در جدول ۲ ارائه شده است.

به منظور بررسی الگوی انتخاب مثبت در سطح ژنوم این هشت نژاد، شاخص تثبیت در هر جایگاه با استفاده از روش ناریب تا (۳) در محیط R محاسبه شد. شاخص تثبیت (Fst) با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد:

$$Fst = \frac{\sigma_s^2}{\sigma_T^2} = \frac{\sigma_s^2}{\bar{P}(1-\bar{P})} \quad \text{رابطه (۱)}$$

در این رابطه، σ_s^2 ، σ_T^2 و \bar{P} به ترتیب واریانس فراوانی آللی بین جمعیت‌های مختلف (در شاخص ناریب تا) برای اندازه جمعیت تصحیح می‌شود، واریانس فراوانی آللی در کل جمعیت و میانگین فراوانی آللی در کل جمعیت می‌باشند.

نمونه‌های DNA با استفاده از چیپ Illumina High-density Bovine BeadChip (Illumina, Inc, San Diego,

تولیدات دامی

جدول ۲. خصوصیات پنل نشانگری استفاده شده

۷۷۷۹۶۲	تعداد کل نشانگرها قبل از کنترل کیفیت
۱۷۳۵	تعداد چندشکلی های تک نوکلئوتید با موقعیت ناشناخته بر روی ژنوم
۳۹۳۶۷	تعداد چندشکلی های تک نوکلئوتید واقع شده بر روی کروموزوم X
۱۲۲۴	تعداد چندشکلی های تک نوکلئوتید واقع شده بر روی کروموزوم Y
۳۴۴	تعداد چندشکلی های تک نوکلئوتید واقع شده بر روی ژنوم میتوکندری
۸۵۰۰۸	تعداد چندشکلی های تک نوکلئوتید با فراوانی آلل نادر کمتر از ۰/۰۵
۴۶۷۳	تعداد چندشکلی تک نوکلئوتید خارج از تعادل هاردی-واینبرگ ($P < 10^{-6}$)
۱۷۱۲۳	تعداد چندشکلی تک نوکلئوتید با نرخ ژنوتیپ گم شده بیشتر از ۰/۱۰
۶۸۴۷۳۰	تعداد کل چندشکلی های تک نوکلئوتید بعد از کنترل کیفیت

بین وضعیت ژنوتیپی افراد مختلف محاسبه شد. سپس این ماتریس فاصله به عنوان ورودی به برنامه R داده شد و با استفاده از تابع "hclust" عمل خوشه بندی انجام گرفت [۸]. بنابراین نژادهای مختلف به طبقات سلسله مراتبی که تشابه ژنتیکی دارند، دسته بندی شدند. در هر تکرار از الگوریتم خوشه بندی، دو کلاستر که بیشترین تشابه را با هم داشتند، در یک گروه قرار گرفتند و فواصل بین این خوشه های دوتایی جدید و خوشه های قدیمی به وسیله "معیار وارد" (Ward's criterion) محاسبه شد [۹]. برای محاسبه "معیار وارد" فاصله اقلیدسی بین وضعیت ژنوتیپی افراد با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد:

$$\text{Euc. Dist} = \sqrt{\sum_{i=1}^n (a_i - b_i)^2} \quad \text{رابطه (۲)}$$

در این رابطه، a و b عناصر متناظر ماتریس خویشاوندی ژنومیک بین افراد می باشند.

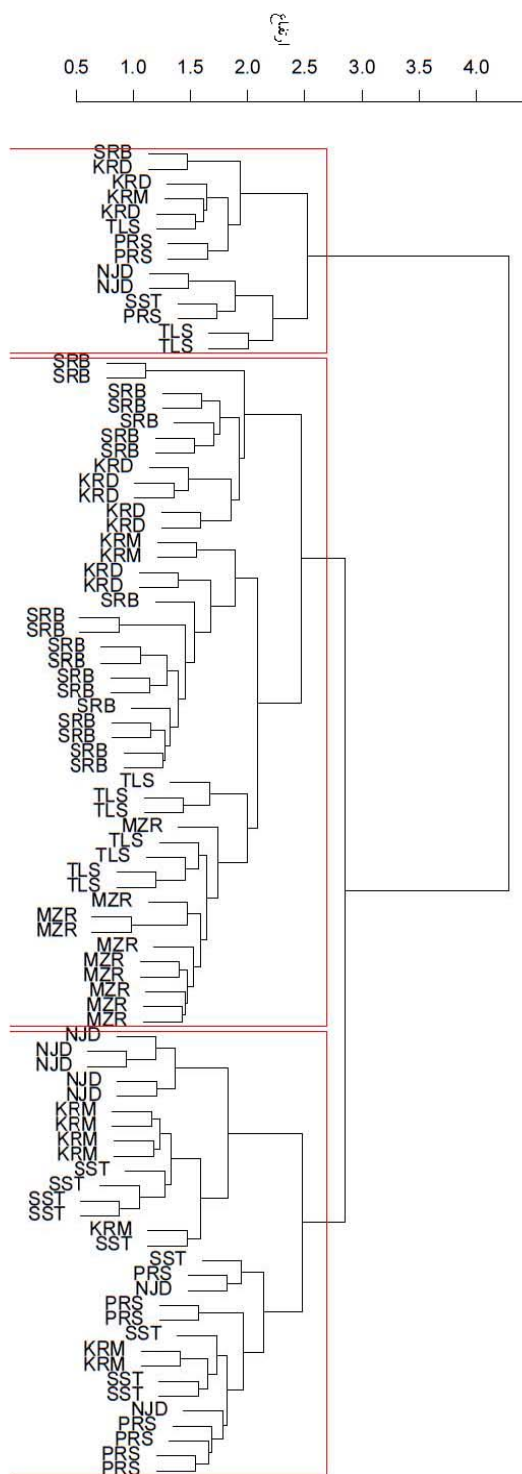
نتایج و بحث

نتایج خوشه بندی هشت نژاد گاو بومی به کمک دندروگرام تشکیل شده براساس فاصله اقلیدسی در شکل ۱ نمایش داده شده است.

آزمون شاخص تثبیت، یک روش ارزیابی تفرق جمعیتی بر پایه داده های چندشکلی ژنتیکی می باشد. ارزش های حاصل می توانند بین صفر (بدون تفاوت) تا یک (تفاوت کامل که هر جمعیت برای آللی متفاوت تثبیت شده است) متغیر باشد. به هر حال، با توجه به اینکه این روش یک برآوردگر ناریب است، احتمال به دست آوردن ارزش های منفی نیز وجود دارد [۷].

به منظور شناسایی ژن های مرتبط با بخش های مظنون به نواحی انتخاب، ناحیه ای به طول ۳۰۰-۴۰۰ کیلو جفت باز اطراف چند شکلی های تک نوکلئوتیدی که در صدک بالای ۹۹/۹ ارزش تنا واقع شده بودند، به وسیله پایگاه داده ای بیومارت (www.ensembl.org/biomart/martview) مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت به منظور شناسایی QTL های پیشین شناسایی شده در این نواحی از پایگاه داده ای QTL های ژنوم حیوانات اهلی (<http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/BT/index>) استفاده شد.

به منظور کمک به تفسیر نتایج نواحی تحت تأثیر انتخاب در گاوهای نژادهای مختلف، نمودار خوشه بندی سلسله مراتبی برای تشابه ژنومی افراد مختلف رسم شد. به این صورت که ماتریس متشکل از فاصله جفتی اقلیدسی



شکل ۱. خوشه‌بندی براساس فاصله اقلیدسی. سرایی (SRB)، کردی (KRD)، کرمانی (KRM)، سیستانی (SST)، نجدی (NJD)، تالش (TLS)، پارس (PRS) و مازندرانی (MZR)

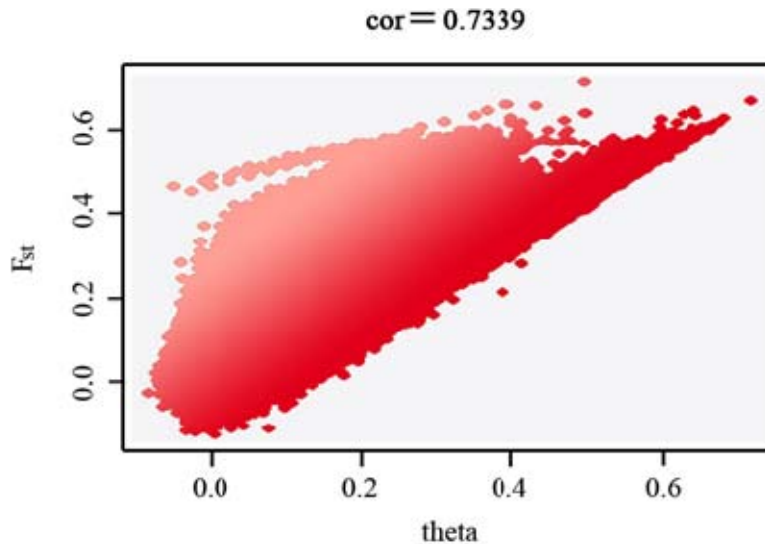
تولیدات دامی

جغرافیایی این نژادها که با واقعیات عینی نیز سازگار است، بسنده کرد. براساس اطلاعات موجود، پژوهش های اندکی در زمینه میزان تنوع ژنتیکی و خوشه بندی جمعیتی گاوهای بومی در کشور انجام شده است. در پژوهشی میزان تنوع ژنتیکی با استفاده از ۷۱ رأس گاو بومی مازندرانی و ۱۰۴ رأس گاو از نژاد هلشتاین با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره مورد بررسی قرار گرفت [۱۰]. این محققان براساس آماره های تعداد آلل مشاهده شده، شاخص شانون و شاخص تنوع ژنی نئی (Nei) دریافتند تنوع ژنتیکی در گاوهای بومی مازندران بیشتر از گاوهای نژاد هلشتاین بود. دلیل این امر، را اجرای برنامه های انتخاب شدید و تلقیح مصنوعی در گاوهای نژاد هلشتاین ذکر کردند. براساس نشانگرهای ISSR و RFLP، میانگین شاخص شانون، تعداد آلل موثر و شاخص نئی در گاوهای بومی کرمان بیشتر از نژاد هلشتاین بوده است [۱۱].

نتایج، همبستگی بین ارزش های شاخص تثبیت (F_{st}) و روش ناریبب شاخص تثبیت (θ) را نشان می دهد (شکل ۲). به دلیل تعداد متفاوت نمونه و کم بودن تعداد نمونه برای هر کدام از نژادها، همبستگی بین این دو آماره، انحراف معنی داری از یک دارد ($p < 0/05$). لذا در ادامه متن، نتایج آزمون تتا که همان شاخص تثبیت تصحیح شده برای اندازه نمونه است، گزارش می شود. میانگین شاخص تثبیت و تتا در بین هشت نژاد گاو بومی به ترتیب ۰/۱۱ و ۰/۰۷ برآورد شد که این مقادیر بیشتر از مقدار برآورد شده (۰/۰۲۴) در مطالعه ایی دیگر در مورد گوسفند بود [۱۲]. دلیل این تغییرات می تواند اریبی های ناشی از نمونه گیری و همچنین تفاوت های ساختار ژنومی و همچنین اهداف متفاوت انتخاب در گاو و گوسفند باشد.

به طور کلی، این هشت نژاد در سه خوشه اصلی قرار گرفته اند. خوشه اول، در سمت چپ، تنها ۱۴ حیوان را دربر گرفته و مخلوطی از همه نژادها، به جز نژاد مازندرانی، با الگوی پراکنشی نامنظم است، اما خوشه دوم متشکل از تمام جمعیت های مورد مطالعه و دارای دسته بندی مشخصی است. لذا نژادهای سرابی و کردی در یک زیر خوشه و مازندرانی و تالشی در زیر خوشه ای دیگر مجموعاً یک خوشه اصلی را تشکیل داده و در مقابل در خوشه سوم نژادهای سیستانی، کرمانی، پارس و نجدی اگرچه به ظاهر در دو زیرخوشه اما به لحاظ محتوا مجموعاً در یک خوشه اصلی قرار گرفته اند. براساس مشاهدات ظاهری، نژادهای سیستانی، مازندرانی، تالشی و نجدی به دلیل داشتن کوهان، به یکدیگر شبیه بوده و گمان بر این بود که در گروه بوس ایندیکوس (کوهان دار) قابل طبقه بندی هستند، درحالی که نژادهای کردی، سرابی، کرمانی و پارس، فاقد کوهان بوده و شباهت بیشتری به گروه بوس تاروس (فاقد کوهان) داشتند. خوشه بندی، نژادهای سیستانی، کرمانی و پارس که محل پرورش آن ها مناطق گرم و خشک جنوبی است و نژاد نجدی که در منطقه گرم و مرطوب جنوبی قرار دارد را در یک گروه و گاوهای تالشی و مازندرانی را که در نواحی معتدل و مرطوب شمالی زیست می نمایند، همراه با گاوهای کردی و سرابی که نواحی غربی کشور پراکنده اند را در خوشه مشترک دیگری قرار داد. به عبارت دیگر، گاوهای کرمانی و پارس علی رغم نداشتن کوهان به لحاظ ژنتیکی در مجموعه نژادهای بوس ایندیکوس قلمداد شدند و نژادهای مازندرانی و تالشی با وجود کوهان در زمره نژادهای بوس تاروس قرار گرفتند.

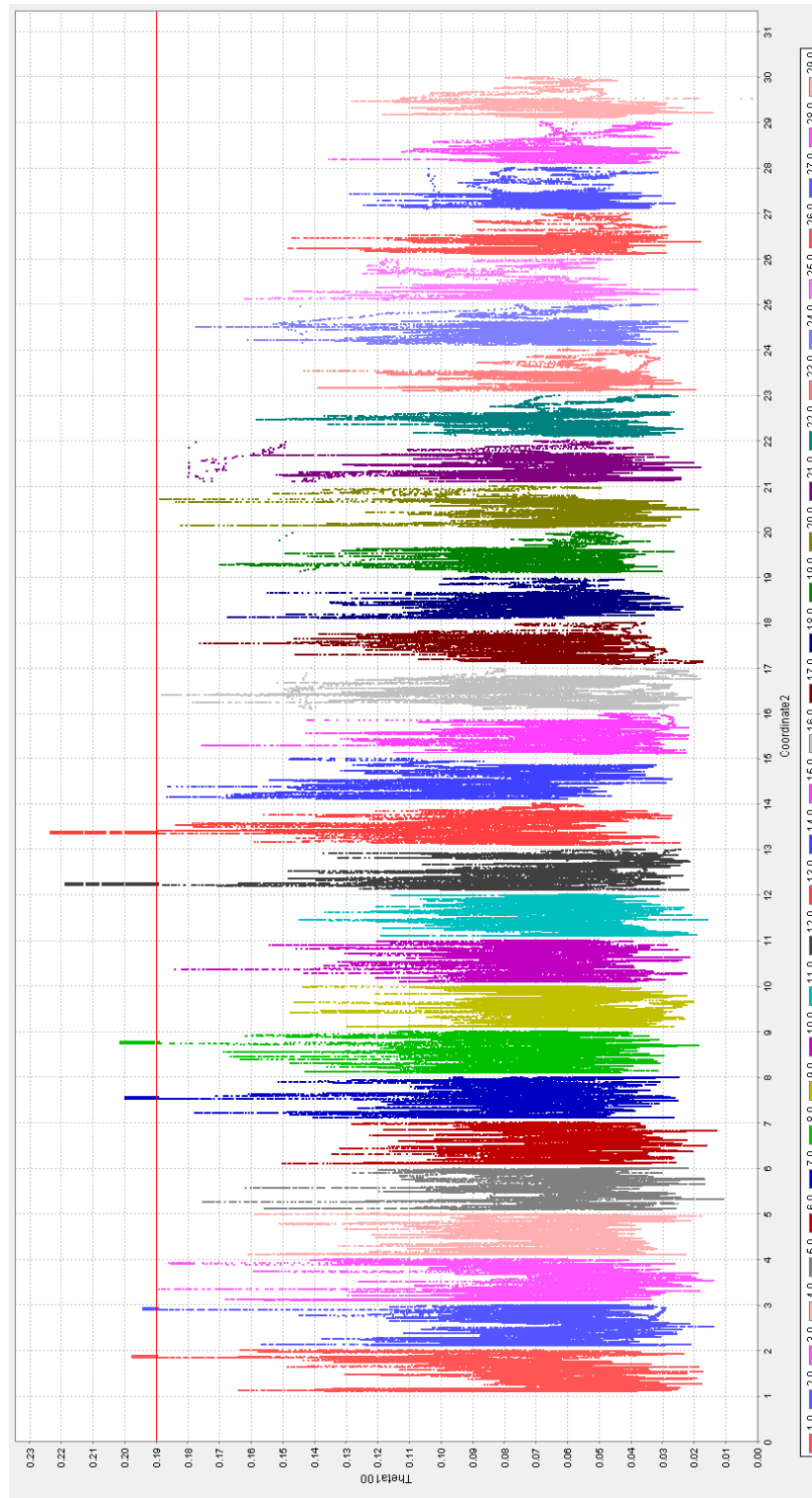
به نظر می رسد اندازه نمونه کم در این مطالعه برای چنین استنباطی کافی نبوده و تنها باید به استنباط تمایز



شکل ۲. همبستگی بین ارزش‌های F_{st} و θ (تصحيح شده برای اندازه نمونه)

رد کرده بودند. شش ناحیه بر روی کروموزوم‌های اتوزومی و یک ناحیه بر روی کروموزوم X قرار داشت. این ۶ منطقه اتوزومی که در آن‌ها شاخص تثبیت ارزش عددی بالاتر از ۰/۱۹ را داشت، به ترتیب بر روی کروموزوم‌های یک، دو، هفت، هشت، ۱۲ و ۱۳ قرار داشتند (شکل ۳). ژن‌هایی مانند DGAT1 که در کنترل صفات تولیدی نقش مؤثری دارند، بر روی کروموزوم ۱۴ واقع شده‌اند، اما در این پژوهش نشانه‌ای از انتخاب که حد آستانه را رد کند بر روی این کروموزوم مشاهده نشد. یک دلیل احتمالی می‌تواند این باشد که در نژادهای بومی ایران همانند نژادهای اصیل انتخاب شدید برای صفات تولیدی نظیر شیر و چربی انجام نشده است و لذا فراوانی آلل‌های این ژن در حد متوسط باقی مانده است. پویش نشانه‌های انتخاب بر روی ژنوم ۱۲۱ رأس گاو میش خوزستانی و ۲۷ رأس گاو میش مازندرانی به وسیله آرایه ژنومیک 90K انجام شد.

به منظور شناسایی بهتر سیگنال‌های انتخاب در سطح ژنوم به جای در نظر گرفتن ارزش عددی هر شاخص تثبیت از میانگین مقادیر تنای ۱۰۰ چندشکلی تک‌نوکلئوتید مجاور استفاده شد. تنها ۰/۱ درصد مناطقی از ژنوم که در آن تمام نشانگرهای مجاور دارای ارزش بالایی بودند، به عنوان نشانه‌های انتخاب شناسایی و تعیین شدند (شکل ۳). به علت هموزیگوت بودن چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتید حیوانات نر در کروموزوم X و تحت تأثیر قرار گرفتن مقیاس گراف منتهن پلات کروموزوم‌های اتوزومی، نمودار این کروموزوم به صورت مجزا در شکل ۴ ارائه شده است. حد آستانه در نظر گرفته شده در شکل‌های ۳ و ۴ سخت گیرانه بود و فقط مناطقی که بیشترین تمایز جمعیتی را در بین دو نژاد نشان می‌دهند، انتخاب شدند. این حد آستانه در پژوهش‌های مختلف از ۰/۰۱ [۱۲] تا ۲/۵ درصد [۱۳] متغیر بوده است. در نهایت هفت ناحیه بر روی ژنوم به منظور بررسی‌های بعدی انتخاب شدند که حد آستانه را

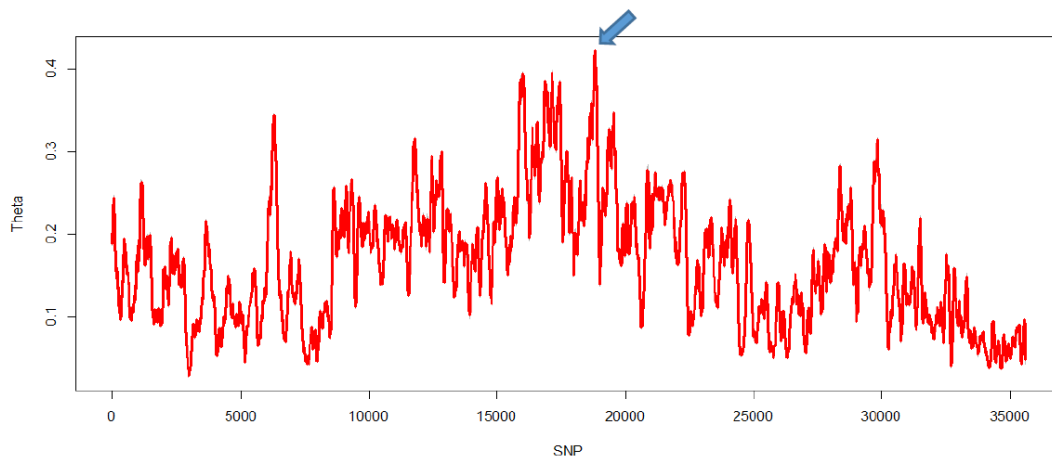


شکل ۳. توزیع ارزش‌های win100 تا در سطح ژنوم هشت نژاد گاو بومی ایران: موقعیت ژنومی SNPها بر روی محور X و ارزش تئای آن‌ها بر روی محور

Y نشان داده شده است. خط ترسیم شده نشان‌دهنده ۹۹/۹۹ صدک کروموزوم‌های اتوزومی است.

تولیدات دامی

دوره ۱۸ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۵



شکل ۴. توزیع مقادیر θ بر روی کروموزوم X، هشت نژاد گاو بومی ایران

گزارش شده‌اند [۲۰]. نشانه‌هایی از انتخاب بر روی کروموزوم شماره ۱۳ و در مکان ژنی شناسایی شده در این مطالعه نیز گزارش شده است [۲۱]. کروموزوم‌های ۱۴، ۱۶، ۱۹ و ۲۰ از جمله کروموزوم‌هایی هستند که در مطالعات زیادی، ژن‌های مرتبط با صفات شیر، وزن بدن، لاشه و صفات تولیدمثل بر روی آن‌ها شناسایی شده است [۲۲]. در این مطالعه نیز نواحی پیشنهادی بر روی آن‌ها مشاهده شد، اما به دلیل اینکه حد آستانه را رد نکرده بودند، مورد بررسی بیشتر قرار نگرفتند. تعداد کم نمونه و همچنین شدت کم انتخاب مصنوعی در این نژادها در مقایسه با نژادهایی که پژوهش‌های پیوستگی و کاوش ژنومی قبلاً بر روی آن‌ها انجام شده بود می‌تواند دلایلی برای این مغایرت‌ها باشد.

نتایج حاصل از بررسی پایگاه‌های داده‌های Ensemble Animal Genome QTL (<http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/BT/index>) در جدول ۳ نشان داده شده‌اند. با وجودی که تمام نواحی ژنومی، چه مناطق کدکننده و چه غیرکدکننده، می‌توانند نقش بیوشیمیایی داشته باشند [۲۳] و لذا تحت تأثیر انتخاب قرار می‌گیرند، در بیشتر مطالعات کاوش نشانه‌های انتخاب بر روی نواحی

در مجموع ۲۳ مکان ژنومی که مقدار برآوردگر ناریب FST آن‌ها بالاتر از ۰/۱ درصد حد بالای توزیع تجربی FST بودند، به عنوان نشانه‌های انتخاب شناسایی شدند. بعد از انطباق ژنومی این نواحی، با نواحی متناظر در ژنوم گاو، ۶۴ ژن و ۲۷ QTL پیدا شد که عموماً در مسیرهای بیولوژیکی مرتبط با اهلی شدن حیوانات و تولید شیر بودند [۱۴].

ژن مرتبط با شاخداری یا بی‌شاخی، در ناحیه ۱/۷۱ مگاجفت‌بازی کروموزوم یک گزارش شده است [۱۵]. با استفاده از روش شاخص تثبیت، نشانه‌هایی از انتخاب در نواحی میانی کروموزوم دو پیدا شده است [۱۶، ۱۷]. این نواحی با بازدهی خوراک و چربی بین ماهیچه‌ای در گاوهای گوشتی مرتبط بوده‌اند [۱۶]. ژن میوستاتین نیز بر روی کروموزوم شماره دو، در ناحیه ۶/۲۲ مگاجفت‌بازی یافت شده است و مرتبط با کمیت و کیفیت گوشت می‌باشد [۱۸]. بر روی کروموزوم شماره هفت در فاصله ۳/۳ تا ۴۸/۴۵ مگاجفت‌بازی، ژن *KIT* یافت شده است که با رنگ پوشش بدن ارتباط دارد [۱۵]. بر روی کروموزوم شماره هفت و در مجاورت ناحیه شناسایی شده در این مقاله، ژن *SARIB* که با صفات تولید شیر مرتبط می‌باشد [۱۹] و ژن *NPR2* که با استخوان بندی و اندازه بدن در ارتباط است

هشت واقع شده و در بیوسنتر کلاسترول و تولید چربی شیر نقش ایفا می کند [۲۴]. ژن *DHRS12* در مکانسیم های حمل و نقل مولکولی و فرایند ویرایش RNA دخالت دارد. ژن های *FDFT1* و *CTSB* در عادات و رفتار دام نقش دارند. ژن *CCDC70* در تولید شیر نقش ایفا می کند. ژن های *IGF2BP2* و *ARHGAP12* بر روی باروری تأثیر دارند و نقش آن ها نیز اخیراً ثابت شده است [۲۵].

ژنی تمرکز شده [۱۲، ۲۱] و تقریباً در اکثریت نواحی شناسایی شده، قبلاً ژن هایی شناسایی شده بود. به استثنای کروموزوم یک که در این ناحیه ۲۱ ژن قبلاً شناسایی شده بود، بر روی کروموزوم های دیگر از یک تا هفت ژن شناسایی شده است (جدول ۳). از بین ژن های شناسایی شده گروهی از آن ها نظیر *ZEB1*، *IGF2BP2* در فرآیند رشد و نمو نقش داشتند. ژن *FDFT1* بر روی کروموزوم

جدول ۳. نواحی تحت انتخاب مثبت و ژن ها یا QTL های شناسایی شده در این نواحی براساس پایگاه های داده ای مختلف

منبع گزارش	QTL	ژن	موقعیت بر روی ژنوم	کروموزوم
Harder et al. (26); McClure et al. (27)	تولید شیر، وزن بدن در زمان بلوغ	<i>SPATS2L</i>	89008935 - 89265177	۲
Gasparin et al. (28); Howard et al. (29)	مقاومت به کنه، مقاومت به سرما، تولید شیر و چربی، عمق بدن	<i>SPATS2L</i>	51300958 - 51699764	۷
McClure et al. (27)	ارتفاع بدن	<i>CTSB, FDFT1, NEIL2, GATA4</i>	7290101 - 7532272	۸
Viitala et al. (30)	تولید شیر و تولید چربی	<i>WDFY2, DHRS12, CCDC70</i>	2106099 - 21413413	۱۲
Ashwell et al. (31); Lund et al. (32); Imumorin et al. (33)	زاویه پا و طول پستان، امتیاز سلول های بدنی، وزن بدن، شدت فحلی	<i>ARHGAP12, ZEB1, snoU109</i>	33801779 - 34378313	۱۳
Howard et al. (29)	مقاومت به سرما	<i>MIDI, CLCN4, TEX11, GPPD2, SNORA11</i>	85103286 - 85499685	X

مقاومت به سرما و همچنین در مواردی با صفات تولیدمثل مرتبط بوده اند (جدول ۳). از آنجاکه اکثر مطالعات نقشه یابی QTL و پویش ژنومی (GWAS)، بر روی صفات تولید (نظیر شیر، اجزای شیر و تولیدمثل) و صفات بیومتری در گاوهای شیری و گوشتی متمرکز بوده اند، QTL های شناسایی و گزارش شده نیز، بیشتر در نواحی مرتبط با همین صفات می باشند. از این رو باید توجه شود که این یافته ها به این معنی نیستند که این نواحی بر روی صفات دیگر اثر ندارند.

به علت تنوع آب و هوایی در ایران انتظار این بود، ژن هایی که در مسیرهای متابولیکی مرتبط با سازگاری به شرایط محیطی و ایمنی باشند، تحت تأثیر انتخاب قرار گرفته باشند ولی برای مکان ها و ژن های شناسایی شده، مسیر بیولوژیکی مشخصی در پایگاه های داده ای یافت نشد. لذا پیشنهاد می شود با انجام مطالعات کاوش ژنومی (GWAS) و نقشه یابی، این نواحی بیشتر بررسی شوند. QTL های شناسایی شده در این نواحی عمدتاً با صفات شیر و اجزای شیر، وزن بدن، صفات بیومتری بدن،

بودند غربال شدند و ملاحظه شد که QTL های مرتبط با تولید شیر و اجزای شیر، رشد و نمو، تولیدمثل و سازگاری با محیط، قبلاً در این نواحی شناسایی و گزارش شده بود. در مطالعات آینده با اندازه نمونه بیشتر برای هر نژاد، کارهای بررسی ساختار جمعیتی و ردیابی نشانه های انتخاب با دقت بیشتری می‌تواند انجام گیرد.

منابع

1. Fan B, Du Z-Q, Gorbach DM and Rothschild MF (2010) Development and application of high-density SNP arrays in genomic studies of domestic animals. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 23(7): 833-847.
2. Smith JM and Haigh J (1974) The hitch-hiking effect of a favourable gene. *Genetical Research*. 23(01): 23-35.
3. Weir BS and Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*. 1358-1370.
4. Sabeti PC, Reich DE, Higgins JM, Levine HZ, Richter DJ, Schaffner SF, Gabriel SB, Platko JV, Patterson NJ and McDonald GJ (2002) Detecting recent positive selection in the human genome from haplotype structure. *Nature*. 419(6909): 832-837.
5. Prasad A, Schnabel RD, McKay SD, Murdoch B, Stothard P, Kolbehdari D, Wang Z, Taylor JF and Moore SS (2008) Linkage disequilibrium and signatures of selection on chromosomes 19 and 29 in beef and dairy cattle. *Animal Genetics*. 39: 597-605.
6. Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MAR, Bender D, Maller J, Sklar P, de Bakker PIW, Daly MJ and Sham, PC (2007) PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *The American Journal of Human Genetics*. 81(3): 559-575.

باتوجه به تنوع شرایط آب و هوایی ایران و سازگار شدن نژادهایی نظیر کرمانی و سیستانی و نجدی به آب و هوای گرم و خشک و نژادهای کردی، تالشی، مازندرانی و سرابی به آب و هوای معتدل و مرطوب پیش‌بینی می‌شد که نشانه‌هایی از انتخاب مرتبط با سازگاری در این نژادها دیده شود. دو QTL مرتبط با مقاومت به سرما در این نژادها شناسایی شد. اگرچه بر روی این هشت نژاد، انتخاب شدید مصنوعی برای صفات تولید انجام نشده است، اما از زمان‌های دور صفات مرتبط با ظاهر حیوان که با رشد و اندام گاوها ارتباط دارند و صفات شیر، برای پرورش دهندگان گاوهای شیری ایران اهمیت داشته‌اند. لذا می‌توان وجود چنین نشانه‌هایی را ناشی از انتخاب بر اساس ظاهر دانست. همچنین این امکان نیز وجود دارد که در مناطق جنوبی که زراعت بیشتر رونق داشته، از گاوها بیشتر برای شخم زدن و حمل بار استفاده می‌شده ولی در مناطق سردتر و نواحی معتدل شمالی کشور، تولید شیر گاو بیشتر اهمیت داشته است. لذا نشانه‌هایی از انتخاب برای صفات تولید، نظیر شیر و ترکیبات شیر دیده می‌شود.

در تحقیق حاضر، با استفاده از تراشه ۷۰۰K و روش خوشه‌بندی زنجیره‌ای، هشت نژاد گاو بومی کشور ایران در سه خوشه اصلی قرار گرفتند. نتایج خوشه‌بندی نشان داد جمعیت‌های سرابی و کردی در یک زیر خوشه مشترک و نژادهای تالشی و مازندرانی در زیرخوشه دیگری قرار گرفتند. همچنین نژادهای سیستانی، کرمانی، نجدی و پارس به صورت آمیخته‌هایی از دو خوشه دیگر بودند. با پویش ژنوم هشت نژاد گاو بومی، هفت جایگاه شناسایی شد که نشانه‌های انتخاب می‌باشند. این جایگاه‌ها بر روی کروموزم‌های ۱، ۲، ۷، ۸، ۱۲، ۱۳ و X قرار دارند. در مطالعات قبلی ژن‌هایی در این نواحی شناسایی شده است که با تولید شیر، باروری و صفات رفتاری مرتبط می‌باشند. با استفاده از پایگاه‌های داده موجود، QTL های که در فاصله ۳۰۰ تا ۴۰۰ کیلو جفت باز منطقه تحت انتخاب واقع

7. Carter MD, Shah CR, Muller CL, Crawley JN, Carneiro AM and Veenstra-VanderWeele J (2011) Absence of preference for social novelty and increased grooming in integrin beta3 knockout mice: initial studies and future directions. *Autism Research*. 4(1): 57-67.
8. R Core Team (2012) R: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; Open access available at: <http://cran.r-project.org>.
9. Ward Jr JH (1963) Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of the American Statistical Association*. 58(301): 236-244.
10. Pashaei S, Ahani Azari M, Hasani S, Khanahmadi AR and Soltanloo H (2013) Study on genetic diversity of Mazandarni native and Holstein cattle using ISSR-PCR marker. *Journal of Animal Sciences (Pajouhesh & Sazandegi)*. 101: 22-28.
11. Mohammad Abadi M, Esmailizadeh A, Pholadi M, Soflaei M, Mohammadi A, Ghasemi M and Baghizadeh A (2007) Molecular comparative analysis of native and Holstein cows genome of Kerman province using ISSR and RFLP markers. in *The 5th National Biotechnology Congress of Iran*. 2007. Tehran - Iran.
12. Moradi MH, Nejati-Javaremi A, Moradi-Shahrabak M, Dodds KG and McEwan JC (2012) Genomic scan of selective sweeps in thin and fat tail sheep breeds for identifying of candidate regions associated with fat deposition. *BMC Genetics*. 13(1): 1-10.
13. Qanbari S, Strom TM, Haberer G, Weigend S, Gheyas AA, Turner F, Burt DW, Preisinger R, Gianola D and Simianer H (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.
14. Mokhber M, Sadeghi M, Moradi Shahr Babak M and Moradi Shahr Babak H (2015) Genome-Wide Survey of signature of positive selection in Khuzestani and Mazandrani buffalo breeds. *Iranian Journal of animal Science*, Accepted.
15. Kemper KE, Saxton SJ, Bolormaa S, Hayes BJ and Goddard ME (2014) Selection for complex traits leaves little or no classic signatures of selection. *BMC Genomics*. 15(1): 246.
16. Barendse W, Harrison BE, Bunch RJ, Thomas MB and Turner LB (2009) Genome wide signatures of positive selection: the comparison of independent samples and the identification of regions associated to traits. *BMC Genomics*. 10(1): 178.
17. Qanbari S, Gianola D, Hayes B, Schenkel F, Miller S, Moore S, Thaller G and Simianer H (2012) Application of site and haplotype-frequency based approaches for detecting selection signatures in cattle. *BMC genomics*. 12(1): 318.
18. Esmailizadeh A, Bottema C, Sellick G, Verbyla A, Morris C, Cullen N and Pitchford W (2008) Effects of the myostatin F94L substitution on beef traits. *Journal of Animal Science*. 86(5): 1038-1046.
19. Larkin DM, Daetwyler HD, Hernandez AG, Wright CL, Hetrick LA, Boucek L, Bachman SL, Band MR, Akraiko TV and Cohen-Zinder M (2012) Whole-genome resequencing of two elite sires for the detection of haplotypes under selection in dairy cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 109(20): 7693-7698.
20. Kijas JW, Lenstra JA, Hayes B, Boitard S, Neto LRP, San Cristobal M, Servin B, McCulloch R,

- Whan V and Gietzen K (2012) Genome-wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection. *PLoS Biology*. 10(2): e1001258.
21. Stella A, Ajmone-Marsan P, Lazzari B and Boettcher P (2010) Identification of selection signatures in cattle breeds selected for dairy production. *Genetics*. 185(4): 1451-1461.
 22. Rothhammer S, Seichter D, Förster M and Medugorac I (2013) A genome-wide scan for signatures of differential artificial selection in ten cattle breeds. *BMC Genomics*. 14(1): 908.
 23. Morota G, Abdollahi-Arpanahi R, Kranis A and Gianola D (2014) Genome-enabled prediction of quantitative traits in chickens using genomic annotation. *BMC Genomics*. 15(1): 109.
 24. Verma S and Agastian P (2013) Expression profile of important milk producing genes in cattle breeds from India. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*. 14(1): 976-980.
 25. Höglund JK, Sahana G, Brøndum RF, Guldbandsen B, Buitenhuis B and Lund MS (2014) Fine mapping QTL for female fertility on BTA04 and BTA13 in dairy cattle using HD SNP and sequence data. *BMC Genomics*. 15(1): 790.
 26. Harder B, Bennewitz J, Reinsch N, Thaller G, Thomsen H, Kühn C, Schwerin M, Erhardt G, Förster M, Reinhardt F and Kalm E (2006) Mapping of quantitative trait loci for lactation persistency traits in German Holstein dairy cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 123(2): 89-96.
 27. McClure M, Morci NS, Schnabel RD, Kim JW, Yao P, Rolf MM, McKay SD, Gregg SJ, Chapple RH, Northcutt SL and Taylor JF (2010) A genome scan for quantitative trait loci influencing carcass, post-natal growth and reproductive traits in commercial Angus cattle. *Animal Genetics*. 41(6): 597-607.
 28. Gasparin G, Miyata M, Coutinho LL, Martinez ML, Teodoro RL, Furlong J, Machado MA, Silva MV, Sonstegard TS and Regitano LC (2007) Mapping of quantitative trait loci controlling tick [*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*] resistance on bovine chromosomes 5, 7 and 14. *Animal Genetics*. 38(5): 453-459.
 29. Howard JT, Kachman SD, Snelling WM, Pollak EJ, Ciobanu DC, Kuehn LA and Spangler ML (2014) Beef cattle body temperature during climatic stress: a genome-wide association study. *International Journal of Biometeorology*. 58(7): 1665-1672.
 30. Viitala SM, Schulman NF, De Koning DJ, Elo K, Kinos R, Virta A, Virta J, Mäki-Tanila A and Vilkki JH (2003) Quantitative trait loci affecting milk production traits in Finnish Ayrshire dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 86(5): 1828-1836.
 31. Ashwell M, Heyen DW, Weller JI, Ron M, Sonstegard TS, Van Tassell CP and Lewin HA. (2005) Detection of quantitative trait loci influencing conformation traits and calving ease in Holstein-Friesian cattle. *Journal of Dairy Science*. 88(11): 4111-4119.
 32. Lund M, Guldbandsen B, Buitenhuis AJ, Thomsen B and Bendixen C (2008) Detection of quantitative trait loci in Danish Holstein cattle affecting clinical mastitis, somatic cell score, udder conformation traits, and assessment of associated effects on milk yield. *Journal of Dairy Science*. 91(10): 4028-4036.
 33. Imumorin IG, Kim EH, Lee YM, De Koning DJ, Van Arendonk JA, De Donato M, Taylor JF and Kim JJ (2011) Genome scan for parent-of-origin QTL effects on bovine growth and carcass traits. *Frontiers in Genetics*. 2(44): 1-13.