Archive of SID

تولیدات دامی
دوره ۲۲ ■ شماره ٤ ■ زمستان ۱۳۹۹
صفحه‌های ۵۱۳-۵۰۱
DOI: 10.22059/jap.2020.295903.623493

مقاله پژوهشی

شناسایی ژنومی تنوع تعداد کپی (CNV) در گوسفند نژاد عربی افغانستان با استفاده از آرایه Ovine 50k SNPChip

رقیه محمودی[۱]، محمد حسین مرادی[۲*]، امیرحسین خلت‌آبادی فراهانی[۲]، محمدعثمان کریمی[۳]
۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک، اراک، ایران.
۲. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک، اراک، ایران.
۳. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه هرات، هرات، افغانستان.
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۱۰/۲۵ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۰۴/۳۰

چکیده
هدف از این پژوهش شناسایی تنوع تعداد کپی (CNV) در سطح ژنوم یکی از نژادهای گوسفند کشور افغانستان به نام نژاد عربی و بررسی ارتباط مناطق ژنومی حامل این نوع تنوع، با مسیرهای بیولوژیکی مختلف بود. برای این منظور ۱۵ نمونه دام با سن‌های مختلف از محیط پرورش این دام‌ها در استان هرات افغانستان جمع‌آوری و سپس با استفاده از آرایه‌های Illumina Ovine 50kSNP تعیین ژنوتیپ شدند. پس از اجرای مراحل مختلف کنترل کیفیت داده‌ها، شناسایی تنوع CNV در سطح ژنوم این حیوانات با استفاده از مدل Hidden Markov نرم‌افزار PennCNV (نسخه ۱/۰/۳) انجام شد. نتایج حاصل نشان داد که تمام حیوانات موردمطالعه دارای تغییر در تعداد کپی در سطح ژنوم بودند. در مجموع، ۳۰٦ تنوع CNV در تمام کروموزوم‌های اتوزومی شناسایی شد. کل طول توالی این مناطق ژنومی معادل ۱۲۸ مگاجفت‌باز و متوسط CNV به‌ازای هر گوسفند ۲۰/٤ مگا جفت‌باز بودند. پس از ادغام مناطق هم‌پوشان در مجموع ۲۸٦ ناحیه CNVR شناسایی شد. این مناطق ژنومی به‌منظور بررسی مسیرهای متابولیکی مرتبط با آن‌ها مورد ارزیابی‌های بیوانفورماتیکی قرار گرفت. نتایج مطالعه هستی‌شناسی، نشان داد که بسیاری از این مناطق با مسیرهای بیولوژیکی مختلفی مانند باروری و عملکرد تولیدمثلی، خصوصیات لاشه و وزن بدن، توسعه سیستم ایمنی و سیستم اسکلتی- ماهیچه‌ای در ارتباط هستند.

کلیدواژه‌ها: آنالیزهای هستی‌شناسی، تغیرات تعداد کپی (CNV)، تنوع ژنتیکی، شناسایی ژنومی، گوسفندان افغانی.

Genomic detection of copy number variations (CNVs) in Arabic sheep breed of Afghanistan using Ovine 50k SNPChip array

Roqiah Mahmodi[1], Mohammad Hossein Moradi[2*], Amir Hossein Khalt-Abadi Farahani[2], Mohammad Osman Karimi[3]
1. Former M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Herat University, Heart, Afghanistan.
Accepted: July 20, 2020 Received: January 15, 2020

Abstract
The aim of this study was to identify the genome-wide copy number variations (CNV) in one of the sheep breeds in Afghanistan named Arabic breed, and to study the associations between these regions containing this kind of diversity with different biological pathways. For this purpose, 15 animal samples from different ages were collected from their natural rearing environment in Herat province of Afghanistan and then were genotyped using Illumina Ovine 50kSNP array. After various steps of the data quality control, the genome-wide detection of CNVs was carried out using Hidden Markov Model in PennCNV (version 1.0.3) software. The results showed that all animals used in this study have CNVs in their genome. In total, 306 CNVs were observed for autosomal chromosomes. The total genomic length of CNVs was 128 Mbp and the average CNV numbers per animal was 20.4. After merging overlapped regions, a total of 286 CNVR regions were identified. These genomic regions were then further evaluated using bioinformatics tools for identifying the metabolic pathways associated with them. The results of gene ontology study indicated that many of these regions are associated with different metabolic pathways such as fertility and reproductive performance, body weight and carcass characteristics, immune system development, and skeletal-muscular system.

Keywords: Afghan sheep, Copy Number Variation (CNV), Gene ontology (GO) analysis, Genetic variation, Genomic detection.

* نویسنده مسئول
Email: H-Moradi@araku.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

اهمیّت ویژه گوسفند در افغانستان تا حد زیادی مربوط به موقعیت جغرافیایی، شرایط اقلیمی و ویژگی‌های توپوگرافیکی این کشور می‌باشد. وجود چراگاه‌های وسیع و پهناور که حداقل نصف کل جغرافیای این کشور را احاطه می‌کند، باعث شده است پرورش این دام در کشور افغانستان به‌صورت عمده متکی بر حیات کوچ‌نشینان باشد، به‌طوری‌که پرورش به این روش حدود ۸۰ درصد گله‌های گوسفند و بز را در بر می‌گیرد [۱٤].

از جمله مزایای پرورش گوسفند و بز در افغانستان این است که چراگاه‌های این کشور بیش‌تر برای پرورش این حیوانات مساعد می‌باشد و به‌خاطر شرایط اقلیمی، پوشش ضعیف علوفه، فقدان منابع آب و صعب‌العبوربودن دسترسی به آن‌ها برای سایر گونه‌ها مانند گاو مشکل است. بنابراین گوسفند، توانایی استفاده از علوفه رایگان چراگاه‌های کشور را داشته و به‌دنبال آن نیازهای این کشور را از دیدگاه گوشت، محصولات لبنی و دیگر محصولات باارزش، به قیمت کم‌تر تأمین می‌نماید. به همین ترتیب توانایی گوسفند در استفاده از بقایای محصولات زراعی مانند پس‌چرهای مزارع، باغ‌ها و تاکستان‌ها در شرایط افغانستان دارای ارزش زیاد می‌باشد [۵]. نژاد عربی جمعیت غالب بخش شمالی کشور افغانستان می‌باشند. این نژاد یکی از مهم‌ترین نژادهای گوسفند پرورش‌یافته در استان هرات است که حدود ۱۳ درصد از کل گوسفندان افغانستان را نیز تشکیل می‌دهد. از ویژگی‌های فنوتیپی این نژاد می‌توان به بزرگی جثه، بی‌شاخ‌بودن، قابلیت پرواری و گوش‌های بلند در هر دو جنس اشاره کرد. رنگ اکثر این گوسفندان سیاه و سفید همراه با نوار سفید مشخصی در پیشانی است. با این حال بیش‌تر گوسفندان نژاد عربی در استان هرات رنگ قهوه‌ای دارند. نژاد عربی از جمله نژادهای دنبه‌دار بوده و وجود چربی در قسمت دنبه، آن را به دو قسمت تقسیم کرده است. این نژاد به‌طور عمده به‌منظور تولید گوشت پرورش داده می‌شود [۵].

با وجود اهمیّت بسیار پرورش گوسفند در افغانستان، رکورد فنوتیپی و شجره دقیقی برای این دام در دسترس نمی‌باشد، که این واقعیت، اجرای برنامه‌های تحقیقاتی و کاربردی در زمینه اصلاح‌نژاد گوسفندان افغانی را با محدودیت‌های زیادی روبه‌رو می‌کند. بنابراین، در شرایط موجود، طراحی و اجرای پژوهش‌هایی که بتوانند با درنظرگرفتن این مشکلات در پیشرفت گوسفندداری کشور مؤثر و در اجرای پژوهش‌های بعدی راه‌گشا باشند، ضروری به‌نظر می‌رسد.

امروزه با ابداع تراشه‌هایی که قادر هستند چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی (SNP) زیادی را در سراسر ژنوم به‌طور هم‌زمان و در مدت زمان کوتاهی شناسایی کنند، افق‌های جدیدی نیز در زمینه ارزیابی‌های ژنومی و شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات مهم اقتصادی در دام‌ها و جایگزینی آن‌ها با روش‌های سنتی ایجاد کرده است. با این وجود اکثر پژوهش‌های انجام‌شده در طی سال‌های اخیر روی شناسایی تنوع چندشکلی تک نوکلئوتیدی در دام‌های مختلف متمرکز شده است. یکی دیگر از تنوع‌های موجود در سطح ژنوم که کم‌تر مورد بررسی قرار گرفته است، تنوع در تعداد کپی (Copy Number Variation: CNV) است که نشان‌دهنده چندشکلی‌های موجود در تعداد کپی قطعه‌ای از ژنوم در بین افراد مختلف است که دارای حداقل یک کیلو جفت‌باز طول و بیش از ۹۰ درصد تشابه می‌باشند [۳]. به‌نظر می‌رسد این نوع تنوع می‌تواند درصد قابل‌توجهی از تنوع موجود در ژنوم را به خود اختصاص دهد. به‌خصوص که در مقایسه با جهش‌تک‌نوکلئوتیدی (SNP) هر واحد از این تنوع حاوی اطلاعات بیش‌تری است [۱۵].

www.SID.ir

Archive of SID

خصوصیّات CNV در ژن‌ها از سال ۲۰۰۶ در مطالعات انسان و حیوان موردتوجه قرار گرفته است. از آن زمان تاکنون مطالعات مختلفی در ارتباط با CNV در انسان و گونه‌های اهلی صورت گرفته که به سبب آنها بسیاری از ژن‌های مرتبط با بیماری‌های پیچیده در انسان و صفات مهم اقتصادی در دام‌ها شناسایی شده است، که اهمیّت مطالعه بیش‌تر این نوع از تنوع ژنتیکی را بیش از پیش آشکار می‌کند. مثلاً برخی پژوهش‌ها نشان می‌دهد حذف ناحیه بین ژنی به طول ۱۱/۷ kb در ژنوم بز منجر به حذف شاخ می‌شود [۱۳]، و هم‌چنین وجود یک CNV واقع در اینترون ژن Sox5 با فنوتیپ تاج نخودی در جوجه‌ها [۲۱] مرتبط است.

باتوجه به این‌که اکثر پژوهش‌های قبلی نشان می‌دهند بسیاری از مناطق حامل CNV، با صفات مهم فنوتیپی در انسان و دام در ارتباط هستند، و از طرفی براساس بررسی منابع انجام شده، این پژوهش اولین گزارش درباره شناسایی CNV با استفاده از آرایه‌های ژنومی درگوسفندان افغانی می‌باشد، هدف از این پژوهش، شناسایی تنوع در تعداد کپی (CNV) در سطح ژنوم گوسفندان افغانی نژاد عربی و ارزیابی بیوانفورماتیکی مناطق ژنومی شناسایی شده بود. نتایج حاصل از این پژوهش می‌تواند نقش مهمی در شناسایی مناطق ژنومی کاندیدای مرتبط با صفات مهم اقتصادی در این نژاد فراهم آورد و درنتیجه افق‌های جدیدی را در انجام مطالعات اصلاح‌نژادی بعدی در گوسفندان افغانی ایجاد نماید.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از ۱۵ رأس گوسفند نژاد عربی کشور افغانستان (هفت ماده و هشت نر) از سنین مختلف استفاده شد، که از گله‌های مردمی استان هرات افغانستان واقع در شهرهای کشک‌کهنه و رباط سنگی جمع‌آوری شدند [۵]. استخراج DNA از نمونه‌های خون حاوی ماده ضد انعقاد EDTA به‌روش استخراج نمکی انجام و سپس تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها با استفاده از آرایه‌های OvineSNP Chip50K Beadchip ایلومینا در کشور ایتالیا انجام شد. این تراشه‌ها امکان تعیین ژنوتیپ ۵۳۸۶۲ جایگاه نشانگری SNP در ۲۶ کروموزوم اتوزومی و کروموزوم X را فراهم آوردند. البته در این پژوهش، نشانگرهای موجود در کروموزوم‌های جنسی به‌دلیل توزیع متفاوت الگوی IBD (Identical by descent) و اندازه مؤثر و در نتیجه اریب در شناسایی CNVهای شناسایی‌شده روی آن‌ها، از آنالیزهای بعدی کنار گذاشته شدند.

در این پژوهش برای شناسایی CNVها از مدل مخفی مارکف (HMM: Hidden Markov Model) برنامه PennCNV (نسخه ۱/۰/۳) استفاده شد [۱۹]. این نرم‌افزار برای تعیین CNVها می‌تواند از داده‌های شدت سیگنال حاصل از آرایه‌های Illumina استفاده کند. مدل مخفی مارکف (HMM) در نرم‌افزار PennCNV (نسخه ۱/۰/۳) از منابع اطلاعاتی مختلفی برای کشف CNVها از جمله، نسبت شدت سیگنال هر جهش تک‌نوکلئوتیدی (LRR: Log R Ratio)، فراوانی آللی چند شکلی‌های تک-نوکلئوتیدی (BAF: B Allele Frequency) و فراوانی جمعیت آلل B (PFB: Population frequency of B allele) استفاده می‌کند.

این نرم‌افزار شدت سیگنال هر آلل را از داده‌های تعیین ژنوتیپ آرایه استخراج می‌کند و سپس اطلاعات مربوط به فراوانی آللی و فاصله چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی را ترکیب کرده و با استفاده از مدل مخفی مارکف CNVها را شناسایی می‌کند. برای این منظور از مقادیر X و Y که همان شدت سیگنال آلل‌های A و B است، استفاده شد. پارامتر R از مجموع شدت سیگنال دو آلل A و B به‌دست می‌آید (R=X+Y). به‌منظور نرمال‌سازی کل شدت سیگنال مقدار

www.SID.ir

Archive of SID

R محاسبه‌شده (مشاهده‌شده) بر مقدار R مورد انتظار تقسیم و لگاریتم نسبت R (LLR) از لگاریتم کسر R مشاهده‌شده تقسیم بر مقدار R مورد انتظار به‌دست آمد. R مورد انتظار از درون‌یابی خطی دسته‌های ژنتیکی متعارف (که از نمونه‌های رفرنس حاصل‌شده) به‌دست می‌آید. پارامتر تتا (θ) که برای محاسبه BAF استفاده می‌شود و نسبت شدت سیگنال آللی نرمال‌شده دو آلل چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی را اندازگیری می‌کند، به‌کمک رابطه (۱) محاسبه شد که مقدار آن بین صفر و یک تغییر می‌کند [۱۸].

رابطه ۱)
$$\theta = arc - \tan \left(\frac{y}{x}\right) \Big/ \left(\frac{\pi}{2}\right)$$

BAF به کسر شدت سیگنال نسبی نرمال شده آلل A و B بر میگردد که مقدار آن بر اساس رابطه ۲ محاسبه می‌شود [۱۳].

رابطه ۲) BAF=
$$\begin{Bmatrix} 0.if\ \theta < \theta_{AA} \\ 0.5\ (\theta - \theta_{AA}) \Big/ (\theta_{AB} - \theta_{AA}).if\ \theta_{AA} \le \theta \le \theta_{AB} \\ 0.5 + 0.5(\theta - \theta_{AB}) \Big/ (\theta_{BB} - \theta_{AB}).if\ \theta_{AB} \le \theta \le \theta_{BB} \\ 1.if\ \theta \ge \theta_{BB} \end{Bmatrix}$$

در این رابطه θ_{AA}، θ_{AB} و θ_{BB} نشان‌دهنده ارزش‌های تتا برای سه خوشه ژنوتیپی ایجادشده توسط مجموعه نمونه‌های رفرنس می‌باشد. ترکیب دو پارامتر LRR و BAF برای شناسایی CNVهای موجود در سطح ژنوم با استفاده از الگوریتم HMM در برنامه PennCNV (نسخه ۱/۰/۳) استفاده شد.

پس از شناسایی CNVهای موجود در سطح ژنوم گوسفند عربی از نوع حذف، اضافه یا هر دو، نواحی CNVR از طریق شناسایی CNVهای مشترک (هم‌پوشان) با حداقل یک جفت‌باز (bp) در افراد مختلف، تعیین شدند [۱۵]. به این منظور در این پژوهش نواحی هم‌پوشان از طریق برنامه Excel 2010 ادغام شدند و CNVRها به‌عنوان حذف، اضافه و هر دو (حذف و اضافه) طبقه‌بندی شدند.

سپس ژن‌های گزارش‌شده در مناطق حاوی CNV شناسایی‌شده در گوسفند عربی و مناطق متناظر ژنومی آن در انسان با استفاده از پایگاه داده Biomart (http://www.ensembl.org/biomart)، مورد بررسی قرار گرفتند. به این منظور ابتدا ژن‌های گزارش‌شده در فاصله ۲۵۰ کیلو جفت‌باز ناحیه بالا و پایین مناطق CNVR استخراج شدند و سپس برای تعیین شبکه‌های ژنی مرتبط و تجزیه و تحلیل‌های هستی‌شناسی (GO) وارد برنامه Cytoscape (http://www.cytoscape.org) (نسخه ۳/۷/۱) شدند. برنامه آنلاین Cytoscape (نسخه ۳/۷/۱)، تعاملات ژنی را شناسایی و پیش‌بینی می‌کند. به این منظور از افزونه cluGO این نرم‌افزار استفاده شد که امکان ترسیم و آنالیز شبکه‌های برهم‌کنش مولکولی و مسیرهای زیستی و هم‌چنین ادغام چندین شبکه با حاشیه‌نویسی‌ها و پروفایل‌های بیانی را فراهم می‌کند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل نشان داد که ۱۰۰ درصد حیوانات موردمطالعه دارای تنوع CNV در سطح ژنوم خود می‌باشند که در مجموع تعداد ۳۰۶ تنوع CNV و پس از ادغام مناطق هم‌پوشان تعداد ۲۸۶ ناحیه CNVR در کل حیوانات شناسایی شدند. متوسط تعداد CNV به‌ازای هر گوسفند ۲۰/٤ بود. کل طول توالی CNVهای شناسایی‌شده در سراسر ژنوم معادل حدود ۱۲۸ مگا جفت‌باز و نسبت طول CNV به کل ژنوم به‌ازای هر حیوان نیز ۳/٤٤ درصد به‌دست آمد (جدول ۱).

بررسی درصد CNV در حالت‌های حذف و اضافه نشان داد که بیش‌ترین درصد حذف در کروموزوم هفت و

www.SID.ir

Archive of SID

بیش‌ترین درصد اضافه در کروموزوم سه مشاهده شد. به‌جز کروموزوم ۲٦ که هیچ CNV در آن‌ها مشاهده نشد، کم‌ترین درصد حذف در کروموزوم‌های یک، نه، ۱۲، ۱٦ و ۲٤ با تعداد یک حذف بود و کم‌ترین درصد اضافه در کروموزوم ۲۲ بود. در این نژاد، تقریباً در همه کروموزوم‌ها CNV ناشی از اضافه، بیش‌تر از حذف بود. در کروموزوم‌های چهار، ۱٤، ۱۷، ۱۸، ۲۲ و ۲۳ میزان حالت اضافه ۱۰۰درصد بود. در مجموع در این نژاد ۱۹/۳۸درصد از تنوع‌ها از نوع حذف دو کپی، ۷۳/٥٤ درصد از نوع اضافه یک کپی، ۷/۰۸ درصد از نوع اضافه دو کپی بود. در پژوهش حاضر هیچ CNV از نوع حذف یک کپی در نژاد عربی مشاهده نشد. توزیع CNVهای مشاهده‌شده با طول توالی مختلف در جدول (۱) ارائه شده است.

جدول ۱. آماره‌های توصیفی تغییرات تعداد کپی (CNV) شناسایی‌شده در نژاد گوسفند عربی افغانستان

آماره توصیفی CNV	ارقام
تعداد CNVها	۳۰٦
تعداد CNV به‌ازای هر حیوان	۲۰/٤
تعداد CNVR	۲۸٦
طول کل CNV (کیلو باز)	۱۲۸۸۹۷
نسبت طول CNV به کل ژنوم به‌ازای هر حیوان[1]	۳/٤٤
میانگین طول CNV (کیلو باز)	٤۲۱
میانه طول CNV (کیلو باز)	۳۰۱
تعداد و درصد بازه طولی ۱۰۰-۲۰ (کیلو باز)	۵۱ (۱۷ درصد)
تعداد و درصد باز طولی ۵۰۰-۱۰۰ (کیلو باز)	۱۷۳ (٥٦ درصد)
تعداد و درصد بازه طولی بیش‌تر از ۵۰۰ (کیلو باز)	۸۲ (۲۷ درصد)

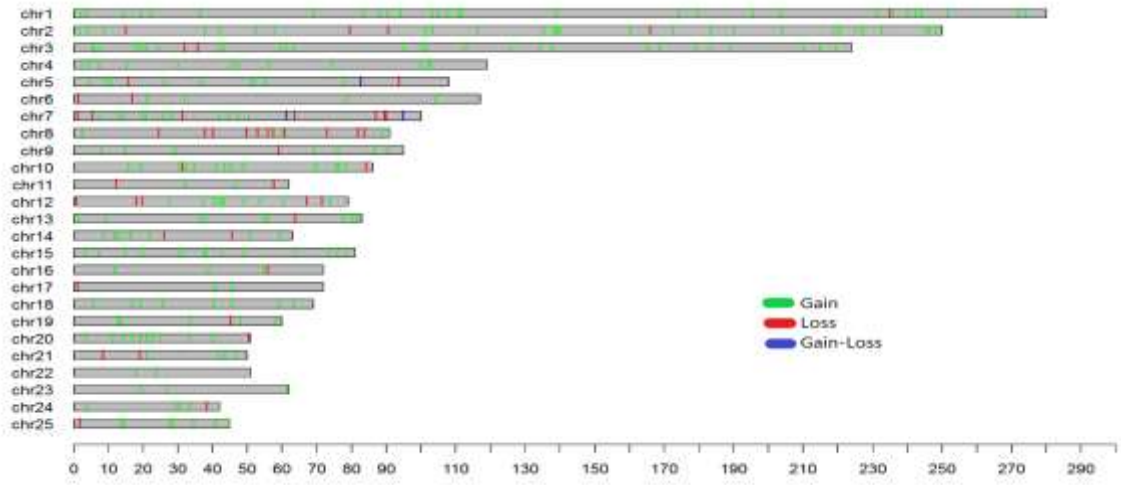
۱. طول ژنوم گوسفند براساس پایگاه ensembl.org در این تحقیق ۲٥۰۰۰۰۰ کیلو باز در نظر گرفته شده است.

در این پژوهش متوسط تعداد CNV به‌ازای هر گوسفند در نژاد عربی افغانستان ۲۰/٤ بود. تعداد تنوع CNV در پژوهش‌های مشابه برای گوسفند شیری و دومنظوره ایتالیایی ۱٦/۹ [۱] و گاو بومی ایران ۱۹/۱٦ [٤] گزارش شده است. تعداد و طول تنوع‌های شناسایی‌شده به تعداد نمونه، روش شناسایی، نرم‌افزار مورد استفاده، گونه دام و تراکم نشانگر مورداستفاده برای شناسایی بستگی دارد [۱۲]. لذا، اختلاف در نتایج مطالعات مختلف می‌تواند دلایل متعددی داشته باشد. به‌عنوان مثال، درحالی‌که در پژوهش حاضر از ۱٥ نمونه مربوط به نژاد عربی استفاده شده است، در پژوهش‌های انجام‌شده دیگر، با هدف شناسایی CNV، از مجموع ۱۱ نمونه مربوط به شش نژاد گوسفند ایتالیایی (یک تا دو نمونه به‌ازای هر نژاد) [۱] و یا حدود ۱۰ نمونه به‌ازای هر نژاد گاو بومی ایران [٤] استفاده شده است، به همین خاطر به‌نظر می‌رسد تعداد بیش‌تر CNV شناسایی‌شده در این پژوهش می‌تواند توسط تعداد نمونه بیش‌تر مورداستفاده در پژوهش حاضر تحت تأثیر قرار گرفته باشد. هم‌چنین مشاهده شد که CNV حالت اضافه بیش‌تر از حذف بود، که این امر می‌تواند به‌دلیل این واقعیت باشد که معمولاً عوارض فنوتیپی ناشی از حذف بسیار شدیدتر از اضافه و غیرقابل تحمل می‌باشد، لذا معمولاً حیواناتی که دچار حذف قطعه‌ای از کروموزوم می‌شوند شایستگی کم‌تری داشته و در طی فرایند تکامل قدرت ماندگاری کم‌تری دارند [۱٥].

در این مطالعه پس از ادغام مناطق هم‌پوشان، در مجموع ۲۸٦ منطقه CNVR به‌دست آمد. CNVRها تحت عنوان «Loss» (CNVR حاوی حذف)، «Gain» (CNVR حاوی اضافه‌شدگی) و «Mixed» (CNVR شامل حذف و اضافه) طبقه‌بندی شدند که به این ترتیب در این پژوهش نقشه توزیع CNVRها برای اولین بار در سطح کروموزوم‌های اتوزومی این نژاد توسعه یافت (شکل ۱).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱. نقشه توزیع تنوع CNVR در سطح کروموزوم‌های اتوزومی در نژاد گوسفند عربی افغانستان. در این شکل طول کروموزوم (Mb) روی محور X نمایش داده شده است و روی کروموزوم‌های مختلف اوتوزومی گوسفند، تنوع‌های CNVR با حالت اضافه (Gain)، حذف (Loss) و ترکیب حذف/اضافه (Gain-Loss) به‌ترتیب با رنگ‌های سبز، قرمز و آبی مشخص شده‌اند. روی کروموزوم ۲۶ تنوع CNVR مشاهده نشد.

بررسی CNVRها نشان داد که بیش‌ترین حالت حذف (۱۱ مورد)، در کروموزوم شماره هشت بود و بیش‌ترین تعداد حالت اضافه (۲۹ مورد) در کروموزوم یک وجود دارد. هم‌چنین تنها کروموزوم‌های پنج و هفت، CNVRها را در حالت حذف/اضافه نشان دادند. کروموزوم ۲۶ در این نژاد به‌دلیل این‌که هیچ CNV در آن دیده نشد، بنابراین فاقد CNVR نیز می‌باشد. در بررسی کلی حالت‌های حذف، اضافه و حذف/اضافه درکروموزوم‌ها مشخص شد که کروموزوم ۲۲ کم‌ترین تعداد حالت حذف (صفر مورد)، اضافه (دو مورد) و حذف/اضافه (صفر مورد) را داشتند. هم‌چنین بررسی CNVR در این نژاد نشان داد که تعداد حالت‌های اضافه بیش‌تر از حذف است.

در پژوهش حاضر نشان داده شد که در نژاد عربی بیش‌ترین CNVRها در کروموزوم شماره ۲ وجود دارد، این در حالی است که در پژوهشی مشابه در گوسفندان نژاد تکسل (*Texel*)، کپورس (*Coopworth*)، پریندل (*Perendale*)، رومانی (*Romney*) و مرینو (*Merino*) گزارش شده است که کروموزوم ۱۹ دارای بیش‌ترین تعداد است [۳]. هم‌چنین در بررسی مناطق ژنومی حاوی CNVR در نژاد گوسفند تیبتانی بیان شد که کروموزوم شماره سه بیش‌ترین تعداد CNVR را دارد [۲۳]، که این نتایج می‌تواند تحت تأثیر تعداد نمونه و آرایه‌های مورد استفاده قرار گرفته باشد، به‌عنوان مثال، درحالی‌که در پژوهش حاضر از اطلاعات تراشه‌های 50k در ۱۵ نمونه نژاد عربی استفاده شده است در مطالعه [۲۳]، اطلاعات حاصل مربوط به تراشه‌های دارای چگالی نشانگری 600k در ۴۰ نمونه حیوان نژاد تیبتانی بود. با این وجود جالب است که همان‌طورکه بیان شد کروموزوم ۲۶ در نژاد عربی فاقد CNVR بود که این نتایج مشابه نتایج به‌دست‌آمده در گوسفند نژاد تیبتانی [۲۳] بود و در این تحقیق نیز CNVR بر روی این کروموزوم وجود نداشت.

www.SID.ir

Archive of SID

پس از شناسایی مناطق حاوی CNV در گوسفندان افغانی، ژن‌های گزارش‌شده در این مناطق مورد کنکاش قرار گرفتند. مجموع کل ژن‌های گزارش‌شده در این مناطق ژنومی در گوسفندان عربی ۲۱۷۱ ژن بودند. از جمله مهم‌ترین ژن‌های شناسایی‌شده می‌توان ژن‌های *IL37* (Interleukin 37)، *DCT* (Tautomerase Dopachrome)، *SMAD6* (SMAD Family Member 6) و *CACNA1A* (Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 A) را نام برد. ژن *IL37* در کروموزوم شماره سه قرار دارد که پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهد این ژن در واکنش‌های پیش‌التهابی و ضدالتهابی نقش داشته و به‌عنوان یکی از ژن‌های کاندیدا در پاسخ ایمنی و مقاومت در برابر ورم‌پستان در گاو محسوب می‌شود [۱۷]. ژن *DCT* در کروموزوم شماره ۱۰ واقع شده است که در تولید رنگدانه ائوملانین (رنگدانه مشکی قهوه‌ای) و فئوملانین (رنگدانه قرمز قهوه‌ای) مشارکت دارد. در پستانداران به‌خصوص دام‌ها رنگ پوست و مو بستگی به نسبت نسبی ائوملانین و فئوملانین دارد [۱۱]. ژن *SMAD6* در کروموزوم شماره هفت قرار دارد که نتایج پژوهش‌های قبلی نشان داده است که این ژن در باروری و میزان دوقلوزایی در گاوها مؤثر می‌باشد [۷]. ژن *CACNA1A*، نیز در کروموزوم شماره پنج قرار داشته که در انقباض ماهیچه‌ها، انتقال‌دهنده‌های عصبی و بیان ژن دخیل هستند. در مطالعات بیوانفورماتیکی انجام‌شده نشان داده شد که این ژن با میزان چربی نیز در ارتباط است [۲٤].

در مرحله بعدی این پژوهش برای دست‌یابی به دید جامع‌تری از مسیرهای بیولوژیکی تأثیرگذار توسط این CNVها در گوسفندان افغانی، مطالعات هستی‌شناسی و شبکه‌های ژنی درگیر توسط مجموع این ژن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. بررسی GO termها در سه بخش عملکرد سلولی (Molecular Function, MF)، فرایندهای بیولوژیکی (Biological Process, BP)، اجزای سلولی (Cellular Component, CC) و هم‌چنین سیستم ایمنی (Immune System) اجرا شدند (نتایج نمایش داده نشده است) و نتایج نشان داد که بیش‌تر این ژن‌ها در مسیرهای ژنتیکی مانند سیستم ایمنی (اینترلوکین‌ها)، رشد و در قسمت فرایندهای بیولوژیکی مسیرهایی مانند توسعه سیستم ایمنی و آنتی‌ژن‌ها (Immune System) و سازگاری با شرایط محیطی (Perception Sensory) و غیره دخالت دارند. مسیرهای مشابه هم‌چون توسعه عضلات اسکلتی و سیستم ایمنی در گوسفندان آلتایی و تبت [۲٤]، فرایندهای آنتی‌ژنی و پاسخ ایمنی در گوسفندان ایتالیایی [۱] و چینی [۲] و هم‌چنین سازگاری با شرایط محیطی [۱۰] در پژوهش‌های مشابه گزارش شده است که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.

در این بخش نمودار دایره‌ای هستی‌شناسی ژن‌های گزارش‌شده در مناطق حاوی CNV، به‌صورت کلی برای مجموع GO termهای تأثیرگذار روی عملکرد سلولی، فرایندهای بیولوژیکی، اجزای سلولی و سیستم ایمنی ارائه شده است (شکل ۲). همان‌طورکه در شکل قابل مشاهده است، نتایج بررسی‌های هستی‌شناسی نشان داد که ۱۲/۵درصد کل ژن‌های شناسایی‌شده روی مسیر غشای اتصالی به اندامک‌ها (Bounding membrane of organelle) تأثیرگذار هستند. مسیر غشای اتصالی به اندامک‌ها، لایه‌ای از جنس چربی است که غشای بیرونی اندامک‌ها را تشکیل می‌دهد. به‌عنوان مثال، می‌توان به غشاهای بیرونی اندامک‌هایی مانند میتوکندری اشاره کرد که دارای غشای دولایه‌ای می‌باشد و یا لیزوزوم با غشای تک‌لایه‌ای جهت اتصال و باند با سایر بخش‌ها، نمونه‌ای دیگر از این موارد است (QuickGO). به همین ترتیب نسبت ۱۰، ۸/۷۵، ۸/۷۵، ۷/۵، ٦/۲۵ و پنج درصد، روی مسیرهای اندامک‌های داخل سلولی (Intracellular

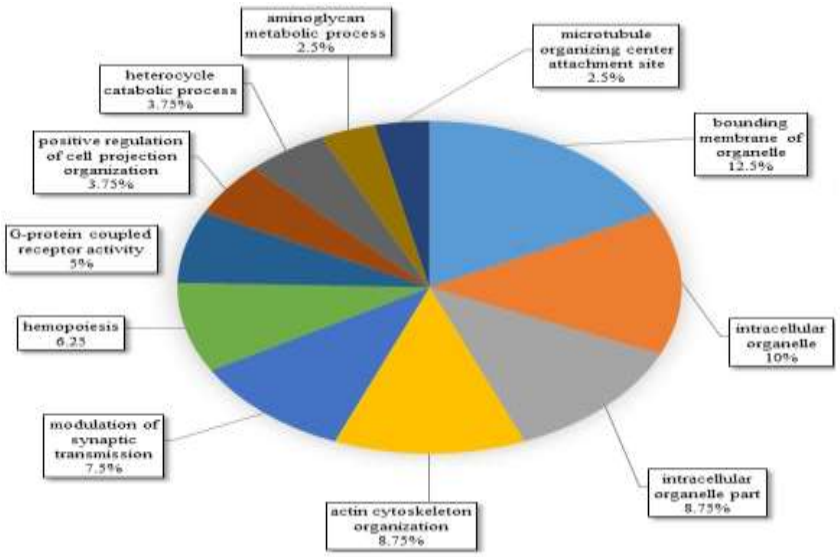
www.SID.ir

Archive of SID

organelle)، بخش اندامک‌های داخل سلولی (Intracellular organelle part)، سازماندهی اسکلت داخل سلولی اکتین (organization Actin cytoskeleton)، تنظیم انتقال سیناپس (Modulation of synaptic transmission)، خون‌ریزی (Hemopoiesis) و فعالیت GPCRها (گیرنده جفت‌شونده با پروتئین) (G-protein coupled receptor activity) تأثیرگذار بودند (شکل ۲).

شبکه‌های ژنی درگیر توسط ژن‌های شناسایی‌شده در مناطق ژنومی حاوی CNV، در شکل (۳) نشان داده شده است. نتایج حاصل نشان داد که منطقه ۱، حاوی ژن‌هایی است که روی تولیدمثل، باروری و وزن تولد نقش دارند و هم‌چنین منطقه ۲ نیز حامل ژن‌هایی می‌باشد که روی اسکلت عضلانی مؤثر هستند. از جمله ژن‌های موجود در منطقه ۱ می‌توان به ژن‌های *SYCP2*، *FNDC3A*، *CCIN* و *HINT2* و در منطقه ۲ می‌توان به ژن *CAPZB* اشاره کرد (شکل ۳).

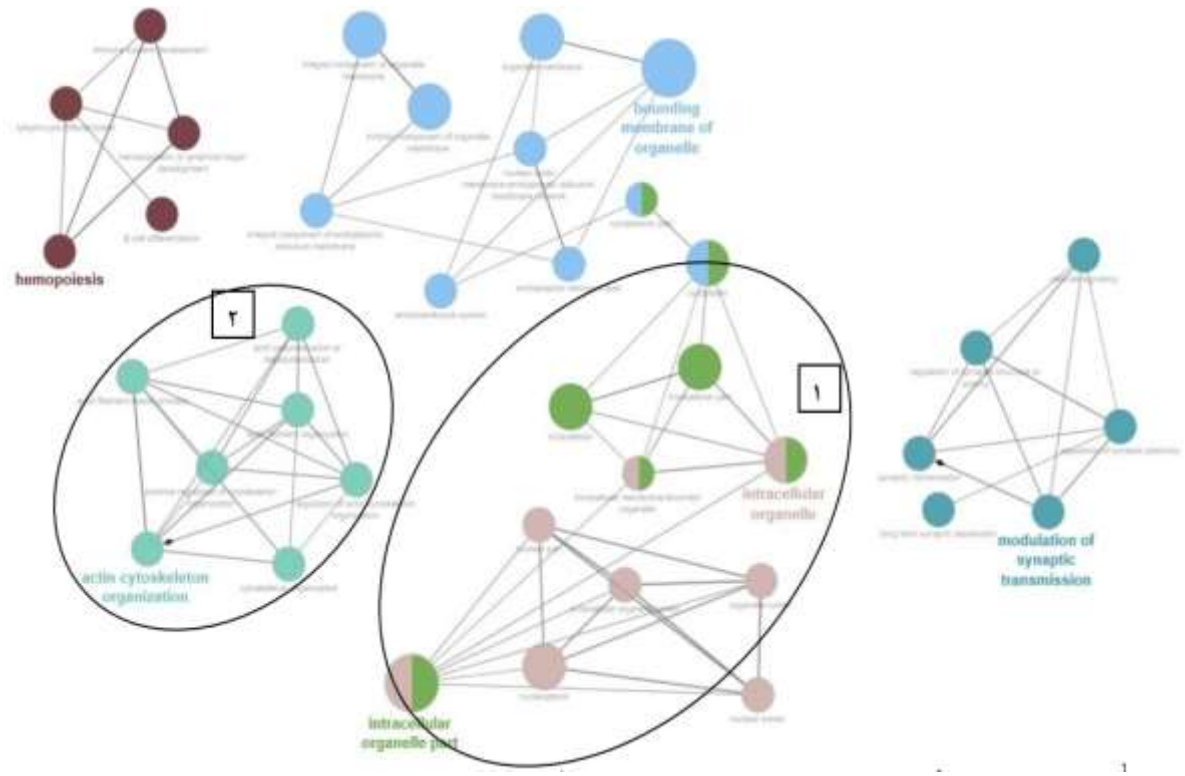
ژن‌های *SYCP2* (Synaptonemal Complex Protein 2)، *CCIN* (Cinnamon)، *FNDC3A* (Fibronectin type-III domain-containing protein 3A) به‌ترتیب روی کروموزوم‌های ۱۳، دو و ۱۰ قرار داشتند که بر باروری و تولیدمثل و توسعه و تکامل جنینی و هم‌چنین روی مورفولوژی اسکلت و اندازه بدن نقش دارند. به‌عنوان مثال، ژن SYCP2 با عنوان پروتئین ۲ کمپلکس سینوپتنمال شناخته می‌شود که با مسیرهای چرخه سلولی، میتوز و متابولیسم مرتبط است. پژوهش‌گران طی پژوهش‌هایی دریافتند که بیان ژن خانواده SYCP در رشد بیضه و تخمدان مرغ مؤثر است [۲۲]. ژن *HINT2* در کروموزوم شماره دو، بر وزن تولد تأثیر دارد. ارتباط این ژن در گوسفند با صفات رشد و وزن تولد گزارش شده است [۲۰]. ژن *CAPZB* نیز بر روی کروموزوم دو قرار دارد که در بررسی‌های قبلی نشان داده است در ساختار ماهیچه‌ای دخیل می‌باشد [۱۶].



شکل ۲. نمودار دایره‌ای بررسی مسیرهای بیولوژیکی درگیر توسط ژن‌های گزارش‌شده در مناطق حاوی CNV در نژاد گوسفند عربی افغانستان. در این شکل نام هر یک از فرایندها و میزان مشارکت ژن‌های گزارش‌شده در این مناطق در فرایندهای بیولوژیکی مختلف به درصد نشان داده شده است و هم‌چنین مسیرهایی که میزان مشارکت آن‌ها کم‌تر از دودرصد بود جهت وضوح بهتر شکل‌ها حذف شدند.

www.SID.ir

Archive of SID

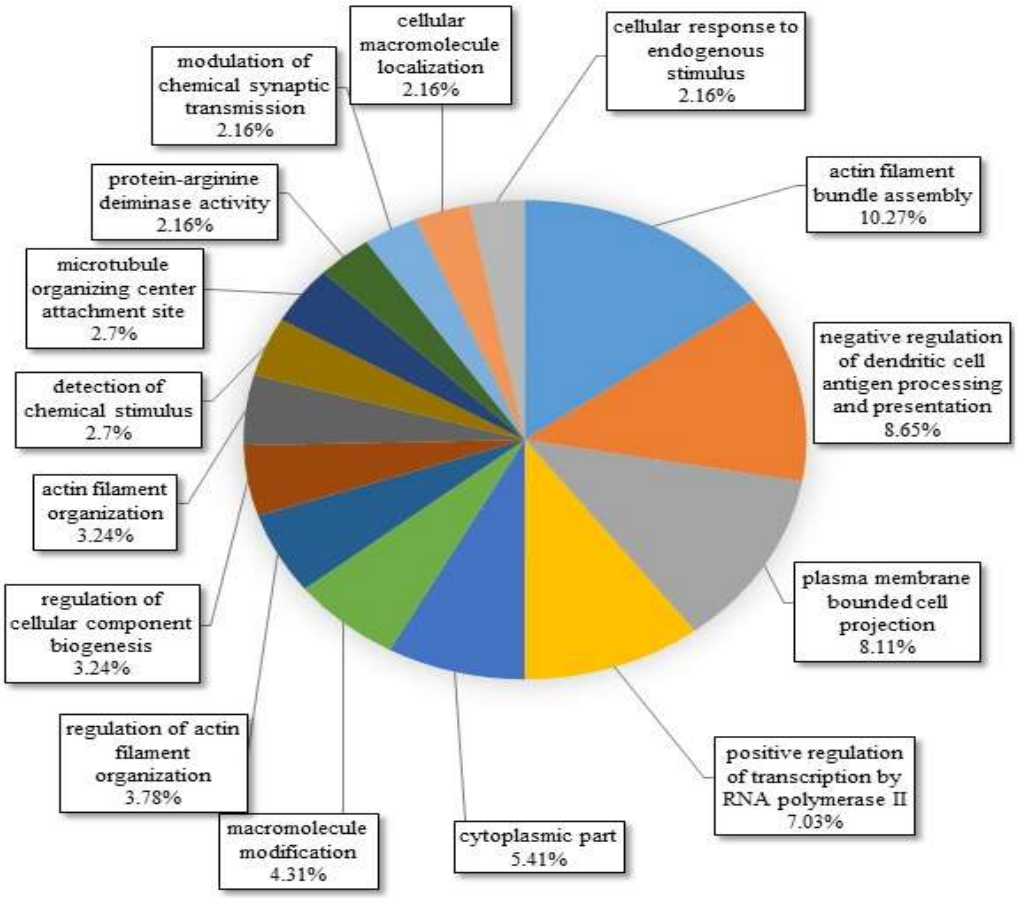


شکل۳. تعاملات شبکه ژنی به‌دست‌آمده برای مناطق حامل CNV در نژاد گوسفند عربی افغانستان. دایره‌های مختلف نشان‌دهنده ژن‌ها و خطوط بین این دایره‌ها، نشان‌دهنده تعاملات بین ژن‌ها با یکدیگر است که شدت این خطوط مقدار اطمینان از یک مشارکت عملکردی می‌باشد. منطقه ۱، حاوی ژن‌هایی است که روی تولیدمثل و باروری و وزن تولد و هم‌چنین منطقه ۲، روی اسکلت عضلانی مؤثر است.

ازآنجاکه پژوهش‌های انجام‌شده در انسان در طی سال‌های اخیر بسیار جامع‌تر از گوسفند بوده است، در این پژوهش برای بررسی عملکرد بیولوژیکی ژن‌های شناسایی‌شده در مناطق ژنومی حاوی CNVها، این مناطق با مناطق ژنومی متناظر خود در روی ژنوم انسان نیز مقایسه شدند (شکل ٤). نتایج مطالعات هستی‌شناسی ژن‌های موجود در مناطق اورتولوگوس انسانی نشان داد که، ۱۰/۲۷ درصد کل ژن‌های شناسایی‌شده روی آماده‌سازی دسته‌های فیلامنت اکتین (Actin filament bundle assembly) تأثیرگذار هستند. مسیر آماده‌سازی دسته‌های فیلامنت اکتین، مجموعه‌ای از دسته‌های رشته اکتین است که در یک محور با قطب‌های یکسان یا متضاد درکنار یکدیگر قرار گرفته‌اند (تقریباً ۳۰-٦۰ نانومتر از هم فاصله دارند) و به‌نظر می‌رسد نقش مهمی در توسعه سیستم عضلانی-ماهیچه‌ای دارند (QuickGO). به همین ترتیب نسبت ۸/٦۵، ۸/۱۱، ۷/۰۳ و ۵/٤۱ درصد، در مسیرهای تنظیم منفی ارائه و آماده‌سازی آنتی‌ژن سلولی دندریتیک (Negative regulation of dendritic cell antigen processing and presentation)، غشای سلولی محدودکننده برنامه‌ریزی سلولی (Plasma membrane bounded cell projection)، تنظم مثبت رونویسی به‌وسیله RNA پلی‌مراز II (Positive regulation of transcription by RNA polymerase II) و بخش سیتوپلاسمی (Cytoplasmic par) تأثیرگذار بوده‌اند (شکل ٤).

www.SID.ir

Archive of SID



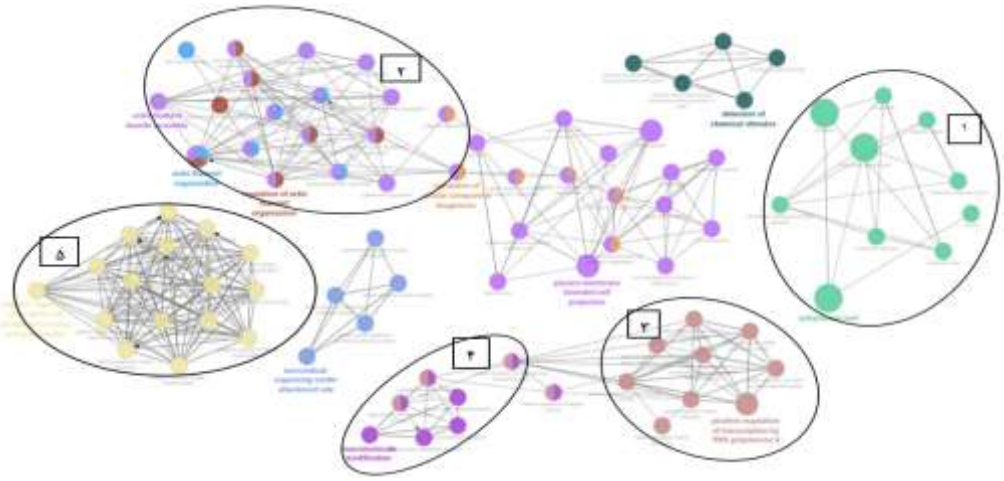
شکل ٤. نمودار دایره‌ای بررسی مسیرهای بیولوژیکی درگیر توسط ژن‌های گزارش‌شده در مناطق متناظر انسانی حاوی CNV در نژاد گوسفند عربی افغانستان. در این شکل نام هر یک از فرایندها و میزان مشارکت ژن‌های گزارش‌شده در این مناطق در فرایندهای بیولوژیکی مختلف به درصد نشان داده شده است و هم‌چنین مسیرهایی که میزان مشارکت آن‌ها کم‌تر از دو درصد بود جهت وضوح بهتر شکل‌ها حذف شدند.

هم‌چنین بررسی شبکه‌های ژنی درگیر توسط ژن‌های شناسایی‌شده در مناطق اورتولوگوس انسانی حاوی CNV، منجر به شناسایی شبکه‌هایی شد که حاوی ژن‌های تأثیرگذار روی باروری و تولیدمثل، سیستم اسکلتی-عضلانی، وزن لاشه، وزن تولد و سیستم ایمنی می‌باشند (شکل ٥).

از جمله ژن‌های موجود در شبکه‌های مختلف می‌توان به *FNDC3A*، *CCIN*، *ROCK2*، *SPAG8* و *PRSS55* به‌ترتیب مرتبط با تولید مثل، وزن لاشه، سیستم اسکلتی-عضلانی، وزن تولد، و پاسخ ایمنی اشاره کرد (شکل ٥). پژوهش‌ها نشان دادند که ژن *ROCK2* (Rho-kinase)، نقش عملکردی در کنترل فیزیولوژیکی انقباض عضلات صاف در گوسفند دارد [٨]. ژن *SPAG8*، علاوه بر تأثیر بر وزن لاشه در لقاح، اسپرماتوژنز و چرخه سلولی نیز بیان می‌شود. هم‌چنین مشخص شد که این ژن نقش مهمی در تقسیم سلولی در طول اسپرماتوژنز دارد [٩]. ارتباط ژن *PRSS55* نیز با باروری و هم‌چنین توسعه بیضه‌ها در موش‌ها گزارش شده است [٦].

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۵. تعاملات شبکه ژنی به‌دست‌آمده مرتبط با مناطق متناظر انسانی درگوسفند نژاد عربی افغانستان. دایره‌های مختلف نشان‌دهنده ژن‌ها و خطوط بینابین دایره‌ها، نشان‌دهنده تعاملات بین ژنها با یکدیگر است که شدت این خطوط مقدار اطمینان از یک مشارکت عملکردی می‌باشد. منطقه ۱، حاوی ژن‌هایی است که روی باروری و تولیدمثل، منطقه ۲ روی اسکلت عضلانی، منطقه ۳ روی وزن لاشه، منطقه ٤ وزن تولد و منطقه ۵، روی پاسخ ایمنی، آنتی‌ژن‌ها و آنتی‌بادی مؤثر است.

قابل ذکر است در این پژوهش، هم‌خوانی زیادی بین نتایج به‌دست‌آمده در ژن‌های گزارش‌شده در مناطق متناظر گوسفند و انسان مشاهده شد. مثلاً یک‌سری از ژن‌ها از جمله *FNDC3A* و *CCIN* که روی تولیدمثل و ویژگی‌های لاشه نقش دارند در هر دو گونه مشترک بودند، با این وجود انتظار می‌رود با توجه به این‌که تعداد ژن‌های گزارش‌شده در مناطق متناظر انسانی بیش‌تر از گوسفند است، نتایج حاصل از ارزیابی‌های انجام‌شده در مناطق متناظر انسانی اطلاعات جامع‌تری به‌همراه داشته باشد.

در مجموع در این پژوهش برای اولین بار CNVهای موجود در سطح ژنوم گوسفندان افغانی با استفاده از اطلاعات تراشه تجاری موردبررسی قرار گرفت. با استفاده از نرم‌افزار PennCNV (نسخه ۱/۰/۳) در این مطالعه مجموع CNV ۳۰٦ و CNVR ۲۸٦ با طول کلی ۱۲٦ مگا جفت‌باز شناسایی شدند. ازآنجایی‌که هر تنوع CNV نسبت به چندشکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) شامل تعداد بیش‌تری از بازهای DNA می‌باشد و از طرفی بسیاری از CNVهای شناسایی‌شده در گونه‌های مختلف با صفات فنوتیپی در ارتباط بوده‌اند، به‌نظر می‌رسد CNVها می‌توانند توجیه بهتری از تغییرات فنوتیپی نسبت به چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی (SNP) در گوسفندان افغانی به‌همراه داشته باشد.

نتایج این پژوهش نشان داد که ژن‌های گزارش‌شده در مناطق ژنومی حاوی CNVR با مسیرهای متابولیکی مختلف از جمله صفات تولیدمثلی و باروری، خصوصیات لاشه و وزن بدن، سیستم ایمنی و اسکلتی- ماهیچه‌ای در ارتباط هستند. نتایج مطالعه حاضر اطلاعات ارزشمندی را برای تجزیه و تحلیل ارتباط CNV با فنوتیپ‌های مهم اقتصادی در گوسفندان افغانی فراهم آورد.

تشکر و قدردانی

از همکاران محترم دانشگاه اراک و دانشگاه هرات افغانستان، به‌خاطر حمایت‌های ارزنده ایشان در

www.SID.ir

Archive of SID

جمع‌آوری داده‌ها و اجرای این تحقیق، تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

منابع مورد استفاده

1. Fontanesi L, Beretti F, Martelli PL, Colombo M, Dall'olio S, Occidente M, Portolano B, Casadio R, Matassino D, and Russo V (2011) A first comparative map of copy number variations in the sheep genome. Genomics, 97(3): 158-65.
2. Hou CL, Meng FH, Wang W, Wang SY, Xing YP, Cao JW, Wu KF, Liu CX, Zhang D, Zhang YR, and Zhou HM (2015) Genome-wide analysis of copy number variations in Chinese sheep using array comparative genomic hybridization. Small Ruminant Research, 128: 19-26.
3. Jenkins GM, Goddard ME, Black MA, Brauning R, Auvray B, Dodds KG, Kijas JW, Cockett N and McEwan JC (2016) Copy number variants in the sheep genome detected using multiple approaches. BMC Genomics, 17(1): 1-14.
4. Karimi K, Esmailizadeh A, Wu DD and Gondro C (2018) Mapping of genome-wide copy number variations in the Iranian indigenous cattle using a dense SNP data set. Animal Production Science, 58(7): 1192-1200.
5. Karimi MO (2016) Investigation of genetic diversity and selection markers of genome level in some Afghani sheep breeds. Ferdowsi University of Mashhad, PhD Dissertation. (In Persian)
6. Khan M, Jabeen N, Khan T, Hussain HJ, Asim A, Khan R, Jiang L, Li T, Tao Q, Zhang X, Yin H, Yu C, Jiang X and Shi Q (2018) The evolutionarily conserved genes: Tex37, Ccdc73, Prss55 and Nxt2 are dispensable for fertility in mice. Scientific Reports, 8(1): 1-8.
7. Kirkpatrick BW and Morris CA (2015) A major gene for bovine ovulation rate. PLoS One, 10(6): 7-11.
8. Levent A and Buyukafsar K (2004) Expression of Rho-kinase (ROCK-1 and ROCK-2) and its substantial role in the contractile activity of the sheep ureter. British Journal of Pharmacology, 143(3): 431-437.
9. Li R, Tang XL, Miao SY, Zong SD, and Wang LF (2009) Regulation of the G2/M phase of the cell cycle by sperm associated antigen 8 (SPAG8) protein. Cell biochemistry and function, 26 (2): 320-328.
10. Liu J, Zhang L, Xu L, Ren H, Lu J, Zhang X, Zhang Sh, Zhou X, Wei C, Zhao F and Du L (2013) Analysis of copy number variations in the sheep genome using 50K SNP BeadChip array. BMC Genomics, 14(1): 229.
11. Mohanty TR, Seo KS, Park KM, Choi TJ, Choe HS, Baik DH and Hwang IH (2008) Molecular variation in pigmentation genes contributing to coat colour in native Korean Hanwoo cattle. Animal Genetics, 39(5): 550-553.
12. Nosrati M and Tahmoursipour M (2016) Identification of variation in genome copy number of 15 Italian sheep breeds using a 50 kb sheep chip. Iranian Journal of Animal Science Research, 8 (3): 489-501. (In Persian)
13. Pailhoux E, Vigier B, Vaiman D, Schibler L, Vaiman A, Cribiu E, Nezer C, Georges M, Sundström J, Pelliniemi LJ, Fellous M and Cotinot C (2001) Contribution of domestic animals to the identification of new genes involved in sex determination. Journal of Experimental Zoology, 290: 700-8.
14. Rashiq MH (1989) Energy metabolism and nutrition economics in animal breeding. Kabul University Journal, 5. (In Persian)
15. Redon R, Ishikawa S, FitchK R, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, Fiegler H, Shapero MH, Carson AR, Chen W, Cho EK, Dallaire S, Freeman JL, González JR, Gratacòs M, Huang J, Kalaitzopoulos D, Komura D, MacDonald JR, Marshall CR, Mei R, Montgomery L, Nishimura K, OkamuraK, Shen F, Somerville MJ, Tchinda J, Valsesia A, Woodwark C, Yang F, Zhang J, Zerjal T, Zhang J, Armengol L, Conrad DF, EstivillX, Tyler-Smith C, Carter NP, Aburatani H, Lee C, Jones KW, Scherer SW and Hurles ME (2006) Global variation in copy number in the human genome. Nature, 444(7118): 444-454.
16. Taye M, Kim J, Yoon S H, Lee W, Hanotte O, Dessie T, Kemp S, Mwai O A, Caetano-Anolles K, Cho S, Oh S J, Lee H K and Kim H (2017) Whole genome scan reveals the genetic signature of African Ankole cattle breed and potential for higher quality beef. BMC Genetics, 18(1): 1-14.
17. Usman T, Wang Y, Liu C, He Y, Wang X, Dong Y, Wu H, Liu A and Yu Y (2017) Novel SNPs in IL-17F and IL-17A genes associated with somatic cell count in Chinese Holstein and Inner-Mongolia Sanhe cattle. Animal Science and Biotechnology, 8(1): 1-9.

www.SID.ir

Archive of SID

18. Wang K and Bucan M (2008) Copy number variation detection via high-density SNP genotyping. Cold Spring Harbor Protocols, 3(6):46.
19. Wang K, Li M, Hadley D, Liu R, Glessner J, Grant S F, Hakonarson H and Bucan M (2007) PennCNV: an integrated hidden Markov model designed for high-resolution copy number variation detection in whole-genome SNP genotyping data. Genome Research, 17(11): 1665-1674.
20. Wei C, Wang H, Liu G, Wu M, Cao J, Liu Z, Liu R, Zhao F, Zhang L, Lu J, Liu C and Du L (2015) Genome-wide analysis reveals population structure and selection in Chinese indigenous sheep breeds. BMC Genomics, 16(1): 1-12.
21. Wright D, Boije H, Meadows JR, Bedhom B, Gourichon D, Vieaud A, Tixier-Boichard M, Rubin CJ, Imsland F, Hallböök F and Andersson L (2009) Copy number variation in intron 1 of SOX5 causes the Pea-comb phenotype in chickens. PLoS Genetics, 5: e1000512.
22. Zheng YH, Rengaraj D, Choi JW, Park K, Lee SI and Han JY (2009) Expression pattern of meiosis associated SYCP family members during germline development in chickens. Reproduction, 138(3): 483-492.
23. Zhu C, Fan H, Yuan Z, Hu S, Ma X, Xuan J, Wang H, Zhang L, Wei C, Zhang Q, Zhao F and Du L (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(2): 1-9.
24. Zhu C, Li M, Qin S, Zhao F and Fang S (2019) Detection of copy number variation and selection signatures on the X chromosome of Chinese indigenous sheep with different tail types. Animal Sciences, 1011-2367.

www.SID.ir