

## Study of signatures of positive selection and gene ontology in some domestic and wild sheep breeds in Iran

**Majid Bigham<sup>1</sup>, Mohammadreza Nassiri<sup>2\*</sup>, Mahyar Heydarpour<sup>3</sup>, Ali Javadmanesh<sup>4</sup>**

1- Ph.D. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

3- Department of Medicine, Massachusetts General Brigham, Harvard, Medical School, Boston, USA.

4- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

**Introduction** Over the years, animals have been exposed to various factors such as natural selection, genetic drift, and multiple mutations, so such factors have caused changes between and within species. The genetic mutations that occur in the populations of domestic animals, will be added to the merits of animals who contain these genetic mutations and they will have more breeds. These mutations are also repeated in their breeds. If a new SNP in a population increases the competence of its carriers compared to other members of society, this choice will make the more deserving individual more involved in shaping the next generation. The most important statistical tests based on demographic differentiation are the  $F_{ST}$  statistics, which identify distinct positions under positive selection, which are of particular importance for economic characteristics. One of the best ways to understand physiological processes is to analyze gene regulation networks. Identification of genes involved in economic traits as molecular markers in breeding is of special importance. Gene regulation networks enable the researcher to study all of the genes together. The aim of this study was to identify selection signature regions and candidate genes related to economic traits.

**Materials and Methods** downloaded the needed data of this research from two sites of NEXTGEN and HAPMAP. These breeds included Afshari (41 heads), Ghezel (35 heads), Moghani (35 heads) breeds and eight wild sheep in order to check the quality and filtration of raw data Finally, for the remaining SNPs, those that are not in Hardy-Weinberg equilibrium is considered as a measure of genotyping error. The probability level is equal to  $10^6$ , which will be obtained using the Bonferroni correction. Different stages of quality control were performed using the PLINK v1.9. study and identify the animals outside their group to have a general perspective on population structure of the two groups. Principal component analysis (PCA) were done in R software. The  $F_{ST}$  index was proposed to study the distinction between subpopulations and identification of selection signature. the population structure of wild and domestic sheep breeds was analyzed. PCA analysis was performed using genotype information of the samples to investigate how the animals were grouped Investigation of identified genes using SNPs in the upper 1% range of  $F_{ST}$  were identified by Plink v1.9 software. In addition, the DAVID database (<http://david.abcc.ncifcrf.gov>) was used to determine biological routes. At this stage, it is assumed that genes that belong to a functional class can be considered as a group of genes that have some specific and common characteristics. GeneCards (<http://www.genecards.org>) and UniProtKB (<http://www.uniprot.org>) databases were also used to interpret the function of the obtained genes.

**Results and Discussion** The results showed that adjacent SNPs are highly dispersed in several genomic regions. From 34556 SNPs after filtration above 1%, SNPs with higher FST stabilization index (340 SNP) with FST range from 0.304 to 0.472 were selected. Selected SNPs consisted of 95 genomic regions on 23 chromosomes between domestic and wild sheep. Most regions were located on chromosomes 13 and 7 had 14 and 9 gene regions, respectively. Examination of the relationship between QTLs and important genes in selected areas showed that 95 genes related to economic traits were identified. QTLs with important economic characteristics including quality and quantity of meat, milk, fat, bone, immune system and parasite resistance were reported. Most QTLs were located on chromosomes 2, 3, 5, 6, and 7, indicating that the most positive mutations occurred on these chromosomes. Most of the identified biological pathways related to ion channels through cell membranes are neuromuscular processes, Brain and cerebellum growth, metencephalon growth, membrane ion membrane transport, and pathways involved in regulating ion transport in cell membranes. Genes identified in different genomic regions can be considered as selective candidates. A number of genes studied as selection signatures reported were consistent with previous studies. Important genes were included: GABRB1, GRM3, HERC1, HERC3 and KCND2.

**Conclusion** The study of genomic regions showed that these regions are directly and indirectly related to the quality and quantity of meat, milk, fat, bone, immune system and parasite resistance. Identifying important economic traits and locating parts of the genome that have changed as a result of selection could be used in sheep breeding programs. However, in this research we had limitations such as the incompleteness of information related to functional annotation of genes in sheep species and also the small sample size of this study. Therefore, in subsequent studies with more samples and more breeds of domestic and wild sheep in Iran, a better understanding of candidate genes for important economic traits in domestic and wild species would be achieved.

**Key words:** Domestic sheep, Economic traits, Ontology, Selection signature, Wild sheep

## بررسی ردپای انتخاب و هستی شناسی ژن در برخی نژاد های گوسفند اهلی و وحشی ایران

مجید بی غم<sup>۱</sup>، محمد رضا نصیری<sup>۲\*</sup>، مهیار حیدری پور<sup>۳</sup>، علی جوادمش<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی دکتری ژنتیک و اصلاح نژاد دام و طیور، گروه علوم دامی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.

۲- استاد گروه علوم دامی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.

۳- محقق دانشگاه علوم پزشکی هاروارد، دپارتمان پزشکی، شهر بوستون، ایالت ماساچوست، آمریکا.

۴- استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.

### چکیده

در طی سالیان طولانی حیوانات در معرض عوامل مختلفی مانند انتخاب طبیعی، رانش ژنتیکی و جهش های متعدد قرار گرفته اند، بنابراین چنین عواملی سبب تغییرات در بین و داخل گونه ها شده است. نیاز به افزایش تولید از دیگر سو کاهش تنوع ژنتیکی گونه ها شده که نگرانی های شدیدی را برای سیستم تولیدی حیوانات در سراسر جهان به وجود آورده است. هدف از انجام این تحقیق شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب در گوسفندان اهلی در مقایسه با گوسفندان وحشی ایران و بررسی هستی شناسی ژن های کاندید مرتبط با صفات اقتصادی می باشد. در این تحقیق داده های دو گروه گوسفند اهلی (۱۰۶ راس) و وحشی (۸ راس) بومی ایران بعد از ویرایش و کنترل کیفیت با نرم افزارهای R و Plink مورد آنالیز قرار گرفتند و نتایج حاصل با استفاده از سرورهای آنلاین DAVID، GeneCards و UniProtKB تفسیر شدند. نتایج نهایی نشان دادند، ۹۵ منطقه ژنومی روی ۲۳ کروموزوم در گوسفند وحشی و اهلی با هم اختلاف داشتند که بیشترین روی کروموزوم های ۱۳ و ۷ به ترتیب با ۱۴ و ۹ ژن قرار داشتند. بررسی مناطق ژنومی دارای اختلاف در دو نژاد نشان دادند که این مناطق با صفات کیفیت و کمیت گوشت، شیر، چربی، استخوان (با فراوانی بالاتر در گونه اهلی) و سیستم ایمنی و مقاومت به انگل (با فراوانی بالاتر در گونه اهلی) مرتبط می باشند. برخی از ژن های مهم شناسایی شده شامل GABRB1، GRM3، HERC1، HERC3 و KCND2 بودند. در بررسی هستی شناسی ژن ها، مسیرهای زیستی شناسایی شده مربوط به کانال های عبور یون ها از غشا سلولی، فرآیندهای تحریک عصبی عضلات، رشد مغز و مخچه، انتقال غشایی یون های غیر آلی بود. مشخص نمودن صفات مهم اقتصادی و مکان یابی بخش هایی از ژنوم که در اثر انتخاب تغییر پیدا کرده اند، می تواند در برنامه های اصلاح نژادی گوسفند در کشور مورد استفاده قرار گیرد.

**کلمات کلیدی:** صفات اقتصادی، گوسفند اهلی، گوسفند وحشی، نشانه انتخاب، هستی شناسی

### مقدمه

جهش های ژنتیکی که در جمعیت های حیوانات اهلی رخ می دهند، باعث ایجاد شایستگی هایی در حیوانات حامل آنها شده و در نتیجه این حیوانات نتاج بیشتری خواهند داشت. این جهش ها در نتاج آنها نیز تکرار می شود. این نوع از جهش ها به احتمال زیاد در بین جمعیت در طی نسل های متمادی پراکنده شده و امروزه در ژنوم حیوانات دیده می شود. در نتیجه پیدا کردن مواردی که در آنها آلل خاص و مفیدی از یک جایگاه ژنی که به طور سریع و وسیع در جمعیت (ها) پراکنده شده و باعث کاهش تنوع در جایگاه ژنی مورد نظر شده است، موضوع مورد علاقه متخصصان اصلاح دام است (Qarawaisi et al., 2007).

در صورتی که انتخاب طبیعی یا مصنوعی برای صفتی خاص به نفع ناحیه‌ای از ژنوم صورت گیرد، این امکان وجود دارد که در طول زمان فراوانی سایر چندشکلی‌ها کاهش یافته یا ناپدید شده باشند. در نتیجه، یک هاپلوتایپ خاص که ممکن است حاوی چندین ژن باشد، می‌تواند تنها هاپلوتایپ یا مهم‌ترین هاپلوتایپ موجود در جمعیت باشد که به آن نشانه انتخاب<sup>1</sup> یا رانش ناشی از انتخاب<sup>2</sup> می‌گویند (Forough Ameri et al., 2015). به عبارت دیگر، چنانچه یک جهش جدید باعث افزایش شایستگی افراد حامل آن نسبت به سایر افراد جامعه شود، انتخاب باعث می‌شود افرادی که دارای شایستگی بیشتری هستند در تشکیل نسل بعد شانس مشارکت بیشتری داشته باشند. بدین ترتیب فراوانی واریانت جهش یافته، بسته به سهم آن در افزایش شایستگی به سرعت شروع به افزایش خواهد کرد (Sabeti et al., 2007). هنگامی که انتخاب مثبت به سمت افزایش فراوانی آلل مطلوب پیش می‌رود، جایگاه‌های خنثی نزدیک به این جایگاه به علت پیوسته بودن با آلل مطلوب، تحت تاثیر قرار می‌گیرد که در نتیجه، الگوی تنوع ژنتیکی و عدم تعادل فاز گامتی در جایگاه‌های اطراف این جهش انتخابی تغییر خواهد کرد.

افزایش فراوانی جهش‌های به وجود آمده به علت پدیده انتخاب که فقط در برخی از جوامع مفید هستند، سبب به وجود آمدن نشانه‌هایی در سطح ژنوم موجودات می‌شود. شناسایی این نشانه‌ها به وسیله بررسی فراوانی آللی، توسعه ساختار هاپلوتیپی، کاهش تنوع ژنتیکی در آن منطقه و افزایش الگوی عدم تعادل پیوستگی ژنی امکان‌پذیر است (Qanbari et al., 2014). نشانه‌های انتخاب یکی از مؤثرترین تکنیک‌ها جهت شناسایی مناطق ژنومی مؤثر بر صفات کمی در حوزه‌های مختلف ژنتیک از جمله ژنتیک حیوانی شده است زیرا این مناطق اغلب با جایگاه‌های کنترل کننده صفات مهم اقتصادی، در ارتباط هستند.

به تغییر الگوی تنوع ژنتیکی و LD در جایگاه‌های مرتبط با یک جهش سودمند در طی انتخاب مثبت، رانش ناشی از انتخاب می‌گویند. شناسایی این مناطق ژنومی با توجه به اینکه عمدتاً با ژن‌های عمده اثر و صفات مهم اقتصادی همراه هستند دارای اهمیت زیادی می‌باشد و می‌توانند منابع اطلاعاتی مناسبی برای اجرای تحقیقات بعدی فراهم آورند. یکی از مزایای اصلی این روش‌ها امکان اجرای آنها با استفاده از اطلاعات مولکولی در غیاب رکوردهای فنوتیپی می‌باشد (Akey, 2009).

شناسایی نشانه‌های انتخاب از دو جهت مهم می‌باشند. اول اینکه این نشانه‌ها اطلاعات ارزشمندی در خصوص تکامل و مکانیسم‌های مؤثر بر تکامل را فراهم می‌کنند. دوم اینکه جایگاه‌های ژنی مرتبط شناخته شده و تنوع ژنتیکی صفات کمی آشکار می‌شود. از طرفی دیگر اهلی‌سازی و انتخاب به شدت در ویژگی‌های ظاهری و رفتاری حیوانات اهلی امروزی تغییر ایجاد کرده است. در این مسیر، انتخاب‌های انجام شده توسط انسان نشانه‌های قابل شناسایی را در ژنوم گوسفندان امروزی به جا گذاشته که آشکارسازی این نشانه‌ها می‌تواند به اصلاح و بهبود ژنتیکی صفات مهم اقتصادی در این دام کمک کند (Moradi et al., 2012).

یکی از روش‌های درک بهتر فرآیندهای فیزیولوژیکی، بررسی شبکه‌های تنظیم ژنی و مسیرهای زیستی می‌باشد. شناسایی ژن‌های دخیل در صفات اقتصادی به عنوان مارکرهای مولکولی در اصلاح نژاد اهمیت ویژه‌ای دارد. شبکه‌های تنظیم ژنی و مسیرهای زیستی به محقق این امکان را می‌دهد تا مطالعه همه ژن‌ها در کنار یکدیگر انجام گردد (Zeraatpisheh et al., 2022). با استفاده از این شبکه می‌توان اثرات متقابل بین ژن‌ها و اثرات متقابل احتمالی که بین پروتئین‌ها وجود دارد را مورد بحث قرار داد (Mohammadi et al., 2020). علاوه بر این، از شبکه‌های تنظیم ژنی و مسیرهای زیستی می‌توان جهت یافتن بیومارکرهایی برای شناسایی، تشخیص و تخمین اهداف بیولوژیکی نیز

<sup>1</sup> Selection signatures

<sup>2</sup> Selective sweep

بهره برد ([Roshandel Ghalezo et al., 2022](#)). این شبکه‌ها ساختار اثرات متقابل مارکرها را نیز در نظر می‌گیرند که موجب می‌شود بررسی مارکرها در شبکه نسبت به بررسی مارکرها به صورت منفرد، بسیار کارآمدتر باشد. نتایج این مرحله، مسیرهای ژنی و فرآیندهای بیولوژیکی را که ژن‌های شبکه می‌تواند تحت تأثیر قرار دهد و در کنترل آنها مؤثر باشد، نشان می‌دهد ([Bakhshalizadeh et al., 2021](#)).

اولین بار شاخص  $F_{ST}$  برای بررسی سطح تمایز بین زیرجمعیت‌ها و شناسایی نشانه‌های انتخاب پیشنهاد شد. یک راه تفسیر افزایش شاخص تثبیت، کاهش هتروزیگوسیتی در میان جمعیت‌ها نسبت به حالت طبیعی مورد انتظار 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 ([Sabeti et al., 2002](#) و [Forough Ameri et al., 2015](#)).  $F_{ST}$  یک روش ارزیابی تفرق جمعیتی بر پایه داده‌های چندشکلی ژنتیکی می‌باشد. ارزش  $F_{ST}$  از لحاظ تئوری می‌تواند بین ۰ (بدون تفاوت) تا ۱ (تفاوت کامل)، که هر جمعیت برای آلل متفاوتی تثبیت شده‌اند) متغیر باشد. در تئوری خنثی  $F_{ST}$  توسط رانش ژنتیکی مشخص می‌شود و تمام جایگاه‌ها به صورت مشابهی تحت تأثیر قرار می‌گیرند درحالی‌که انتخاب منجر به انحراف در ارزش‌های  $F_{ST}$  ژن‌های انتخابی و جایگاه‌های اطراف آن می‌شود.

مهم‌ترین آزمون‌های آماری مبتنی بر تمایز جمعیتی، آماره  $F_{ST}$  است که به شناسایی جایگاه‌های متمایز تحت انتخاب مثبت که برای صفات اقتصادی اهمیت ویژه‌ای دارند، می‌پردازد ([Akey, 2009](#)).

تا کنون پژوهش‌های اندکی در رابطه با خصوصیات ژنتیکی گوسفندان وحشی ایران و همچنین تفاوت‌های ژنتیکی آنها با گوسفند اهلی صورت گرفته است در تحقیقات قبلی تا مرحله شناسایی SNP‌های داری تفاوت کار شده است ولی در این مطالعه سعی شد این نقاط دارای اختلاف را تا مرحله ژن‌ها و صفات مرتبط با SNP و هستی‌شناسی ژن ادامه دهیم. هدف از انجام این تحقیق شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب و ژن‌های کاندید مرتبط با صفات اقتصادی گوسفند اهلی و وحشی ایران می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

داده‌های SNPchip50k مورد نیاز این تحقیق از دو پایگاه داده (<https://www.sheephapmap.org/>) HAPMAP و (<https://projects.ensembl.org/nextgen>) Nextgen با فرمت‌های PED و MAP دانلود شد. نژادها شامل نژادهای افشاری (۴۱ راس)، قزل (۳۵ راس)، مغانی (۳۵ راس) و نیز ۸ راس گوسفند وحشی بودند. در ایران دو گونه گوسفند وحشی وجود دارد. گوسفندهای وحشی اورپال و ارمنی، که در مطالعات قبلی به عنوان زیرگونه در نظر گرفته شده بودند در رده‌بندی جدید در دو گونه متفاوت گوسفند وحشی اورپال و ارمنی قرار گرفتند ([Kaveh Pishghadam et al., 2017](#)). گوسفندان وحشی مورد استفاده در این تحقیق از گونه ارمنی منطقه شمال غرب ایران نمونه‌گیری شده‌اند.

جهت کنترل کیفیت و ویرایش داده‌های خام، نمونه‌هایی که فراوانی نرخ تعیین ژنوتیپ آنها کمتر از ۹۰٪ بود، به دلیل خطای بالا در تعیین ژنوتیپ، شناسایی و حذف شدند. در مرحله بعد نشانگرهایی که حداقل فراوانی آلی در آنها کمتر از ۵٪ بود، حذف شدند. سپس نشانگرهایی که نرخ ژنوتیپ شده آنها در نمونه‌ها کمتر از ۹۹٪ بود شناسایی و حذف شدند. در نهایت برای SNP‌های باقیمانده، آنهایی که در تعادل هاردی-واینبرگ نبود به عنوان معیاری از خطای تعیین ژنوتیپ کنار گذاشته شدند. سطح احتمال برای تعادل هاردی-واینبرگ برابر با  $10^{-6}$  نظر گرفته شد که با استفاده از تصحیح بنفرونی به دست آمد ([Moradi et al., 2012](#) و [Wang et al., 2015](#)). مراحل مختلف کنترل کیفیت با استفاده از نرم افزار (PLINK v1.9) انجام شد. برای شناسایی مناطقی از ژنوم گوسفندان اهلی و وحشی که هدف انتخاب‌های

مختلف قرار گرفتند، توزیع ژنومیک  $F_{ST}$  برای تمام SNP ها بر روی ژنوم به صورت گراف منهن رسم شد (Moradi *et al.*, 2012).

یکی از مشکلات اصلی  $F_{ST}$  به روش رایت، صرف نظر کردن از خطای نمونه‌گیری می‌باشد. این مشکل توسط ویر و کوکرهام (۱۹۸۴) تصحیح شد. این افراد روش تخمین گر ناریب  $F_{ST}$  با نام  $\theta$  را ارائه کردند که به طور مستقل از تعداد گروه‌های نمونه‌گیری شده و تعداد افراد داخل هر گروه عمل می‌کند.

$$F_{ST} = HT - HS / HT$$

در رابطه فوق  $HT$  و  $HS$  به ترتیب میزان کل هتروزیگوسیتی و میانگین هتروزیگوسیتی در زیر جمعیت‌ها می‌باشد. برای شناسایی بهتر نشانه‌های انتخاب در سطح ژنوم به جای در نظر گرفتن ارزش عددی هر SNP از میانگین ارزش‌های عددی SNP های مجاور با طول 5 SNP تحت عنوان ارزش Win5 استفاده می‌شود یک درصد از مناطقی از ژنوم که در این تحقیق تنها در آن همه نشانگرهای مجاور ارزش بالایی داشتند به عنوان نشانه‌های انتخاب شناسایی و تعیین شدند.

در این تحقیق به دلیل استفاده از دو دسته داده، مراحل کنترل کیفیت برای هر دسته جداگانه انجام شد و سپس داده‌ها با هم ادغام شدند و مجدد کنترل کیفیت شدند، تا نشانگرهایی که همخوانی ندارند، حذف شوند. دلیل دیگر ادغام، این است که هر جمعیت ممکن است تعدادی نشانگر اختصاصی داشته باشد و عدم همخوانی نشانگرها در دو جمعیت باعث از دست رفتن افراد شود. در مرحله ادغام، گروه اهلی بر اساس گروه وحشی که دارای تراشه قدیمی تر بود به روز رسانی شدند (جدول شماره ۱).

برای داشتن دیدگاهی کلی در زمینه ساختار جمعیتی دو گروه مورد بررسی و شناسایی حیواناتی که خارج از گروه خود قرار گرفته‌اند، تجزیه مولفه‌های اصلی در محیط R i386 3.6.2 انجام شد. همچنین بررسی شبکه‌های ژنی توسط نرم افزار Cytoscape، نسخه 3.8.2 انجام شد.

### مطالعه QTLs ها و ژن‌های مورد نظر

در این مطالعه، برای شناسایی مناطق متأثر از انتخاب مثبت در کل ژنوم برای گونه‌های گوسفند اهلی و وحشی آماره  $F_{ST}$  در محیط نرم افزار R x64 4.0.4 محاسبه شد (Taheri *et al.*, 2020). توزیع ژنومیک  $F_{ST}$  به روش win5 برای تمام SNP ها بر روی ژنوم انجام شد (Moradi *et al.*, 2012). بررسی ژن‌های شناسایی شده با استفاده از SNP هایی که در بازه ۱٪ بالایی  $F_{ST}$  قرار داشتند، توسط نرم افزار Plink v1.9 شناسایی شدند.

جدول ۱- مراحل کنترل کیفیت داده‌های تعیین ژنوتیپ شده گوسفندان اهلی و وحشی ایران

Table 1- Steps of quality control of genotyped data of Iranian domestic and wild sheep

	حیوانات اهلی Domestic animals	حیوانات وحشی Wild animals	حیوانات ادغام شده Merged animals
تعداد حیوانات Number of animals	106	8	114
تعداد نشانگرها قبل از کنترل کیفیت Number of markers before quality control	44320	53074	38924
تعداد SNP ها با فراوانی آلل نادر $> 0.05$ The number of SNPs with rare allele frequency $< 0.05$	84	10413	0
تعداد SNP های با $P < 6.8 \times 10^{-6}$ تعداد SNP های با $P < 6.8 \times 10^{-6}$	392	0	62

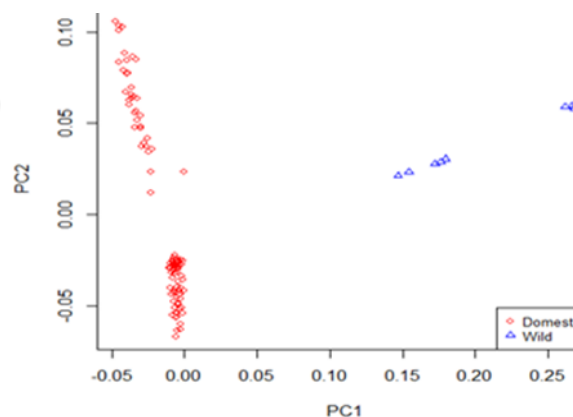
Number of SNPs with $6-10 \times P < 6.8$			
تعداد SNPها با نرخ ژنوتیپ گم شده $< 0.1$	4356	3737	12583
Number of SNPs with missing genotype rate $> 0.01$			
تعداد SNPها بعد از کنترل کیفیت	39488	38924	26279
Number of SNPs after quality control			
نرخ ژنوتیپ	0.945316	0.05734	0.902869
Genotyping rate			

جهت انتساب SNPها به ژن‌ها، SNPهایی که در بازه ۱٪ بالایی  $F_{ST}$  قرار داشتند با استفاده از بسته نرم افزاری [biomaRt \(Durinck et al., 2009\)](#) در محیط R و با استفاده از نسخه ژنوم گوسفند Oar\_v4.0 به ژن‌هایی که SNP مورد نظر در داخل آن ژن یا در فاصله ۳۰۰ Kb بالادست یا پایین دست آن ژن قرار داشت، نسبت داده شدند ([Qanbari et al., 2012](#)). ژن‌هایی که حداقل حاوی یک SNP باشند، ژن معنی‌دار به حساب می‌آیند. بخش‌هایی از ژنوم که دارای  $F_{ST}$  بالایی هستند نشان دهنده تمایز بین دو گونه اهلی و وحشی می‌باشند که بر اثر انتخاب‌های طبیعی و مصنوعی در طی نسل‌های قبل به وجود آمده است.

در این مرحله ابتدا به کمک مختصات نشانگرها، نقشه‌یابی QTL انجام گردید. سپس به کمک نشانگرها، نقشه‌یابی ژنی انجام شد که هر دو مرحله فوق توسط نرم افزار plink صورت گرفت. علاوه بر این از پایگاه DAVID برای تعیین مسیرهای زیستی استفاده گردید. در این مرحله فرض بر این است که ژن‌هایی که در یک طبقه عملکردی قرار می‌گیرند می‌توانند به عنوان یک گروه از ژن‌هایی که برخی از ویژگی‌های خاص و مشترک دارند در نظر گرفته شوند. همچنین برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های به دست آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی [UniProtKB](http://www.uniprot.org) و [GeneCards](http://www.genecards.org) استفاده شد.

## نتایج و بحث

پس از مراحل ویرایش داده‌ها، در نهایت ۳۴۵۵۶ نشانگر SNP مربوط به ۱۱۴ حیوان (۱۰۶ نمونه اهلی، ۸ نمونه وحشی) برای تجزیه و تحلیل‌های بعدی انتخاب شدند. مراحل مختلف ویرایش داده‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. در این تحقیق، ساختار جمعیتی نژادهای گوسفند وحشی و اهلی بررسی و مقایسه شد. برای بررسی نحوه قرار گرفتن حیوانات در گروه‌های نژادی، تجزیه و تحلیل PCA با استفاده از اطلاعات ژنوتیپی نمونه‌ها انجام شد. نتایج نشان داد که حیوانات با استفاده از این دو مؤلفه در دو گروه جداگانه قرار گرفتند و در هیچ نقطه‌ای همپوشانی نداشتند (شکل ۱).

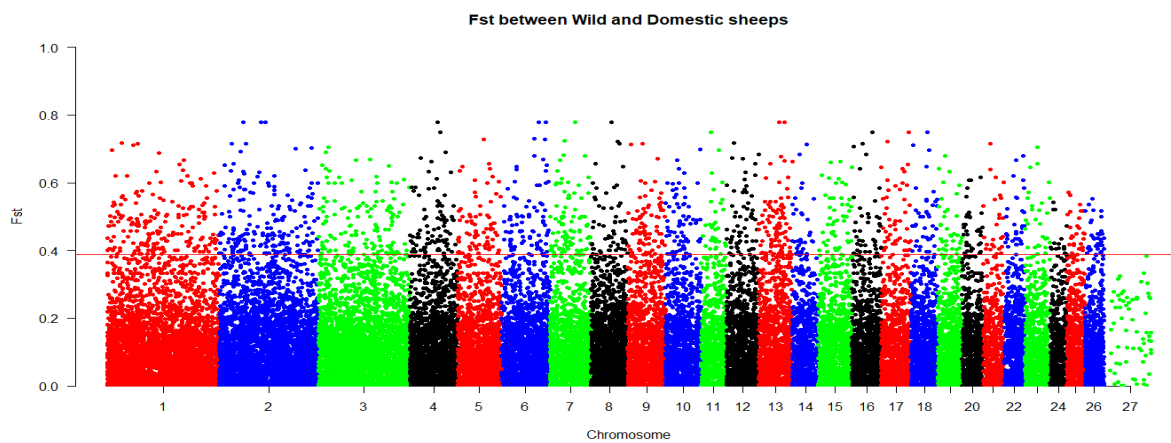


**شکل ۱-** خوشه‌بندی حیوانات بر پایه تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) با استفاده از داده‌های SNP کل ژنگان. گوسفندان وحشی با رنگ آبی و گوسفندان اهلی با رنگ قرمز مشخص شدند.



**Figure 1-** Animal clustering based on principal component analysis (PCA) using whole genome SNP data. Wild and domestic sheep individuals were shown in blue and red, respectively.

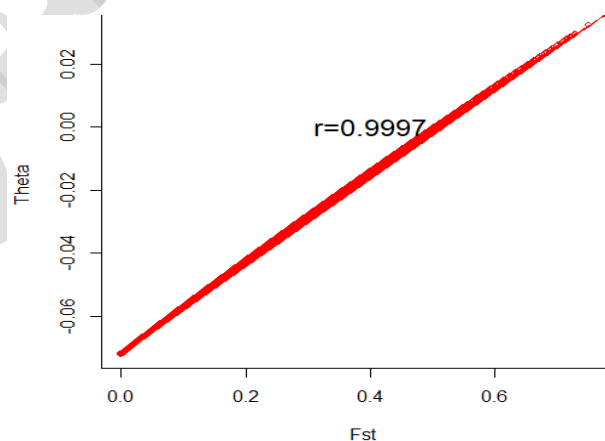
در این پژوهش، برای شناسایی بهتر مناطق ژنگانی تحت انتخاب در کل ژنگان، نگاره منهن ترسیم شد. در این نگاره، بخش‌های با ارزش  $F_{ST}$ ، نشان دهنده تمایز نژادهای اهلی و وحشی در اثر انتخاب مثبت در آن مناطق ژنگانی بودند که به دنبال انتخاب‌های طبیعی و مصنوعی در طی نسل‌های مختلف برای جایگاه‌های مورد نظر به وجود آمده است. نتایج به دست آمده نشان داد که در چندین منطقه ژنگانی SNPهای مجاور تفرق جمعیتی بالایی داشتند. در شکل ۲ توزیع ارزش‌های Win5 تا در سطح ژنگان نژاد اهلی و وحشی آورده شده است که در آن موقعیت ژنگانی SNPها روی محور X و ارزش تنا آنها روی محور Y نمایش داده شده است.



**شکل ۲-** توزیع ارزش‌های Win5 تا در کروموزوم‌های گوسفندان اهلی و وحشی

**Figure 2-** Distribution of Win5theta values at the chromosomes of domestic and wild breeds

همچنین برای بررسی تفرق جمعیتی نژادهای اهلی و وحشی ایرانی از برآوردگر ناریب  $F_{ST}$  به روش ویر و کوکرهام با نام ضریب تنا نیز استفاده شد که نتایج حاصل دارای همبستگی بالایی ( $r^2 = 0.9997$ ) با نتایج روش  $F_{ST}$  رایت بودند (شکل ۳). از همبستگی بالای این دو آماره در این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که جمعیت‌های مورد مقایسه از نظر اندازه جمعیت تفاوتی با هم ندارند و  $F_{ST}$  محاسبه شده از دقت قابل قبولی برخوردار بود.



**شکل ۳-** مقایسه ضرایب  $F_{ST}$  به روش رایت و ضرایب ناریب تنا به روش ویر و کوکرهام در تمام SNPهای ژنوتیپ شده در حیوانات اهلی و وحشی



**Figure 3-** Comparison of  $F_{ST}$  coefficients by Wright's method and unbiased theta coefficients by Weir and Cockerham's method in all genotyped SNPs in domestic and wild animals.

از تعداد ۲۶۲۷۹ SNP باقی‌مانده یک در صد بالایی SNP ها (۲۶۰ SNP) که شاخص تثبیت  $F_{ST}$  آنها بالاتر بودند، انتخاب شدند. میزان  $F_{ST}$  در SNP های منتخب بین ۰/۳۰۴ تا ۰/۴۷۲ بود.

SNP های انتخابی بعد از انتساب به ژن‌های مربوطه، شامل ۹۵ منطقه ژنومی بودند که روی ۲۳ کروموزوم در ۲ گونه اهلی و وحشی گوسفند قرار داشتند. بیشترین مناطق روی کروموزوم‌های ۱۳ و ۷ به ترتیب با ۱۴ و ۹ ژن قرار داشتند. به طور کلی به دلیل مدت طولانی اهلی شدن و مشتق شدن دو نژاد اهلی و وحشی گوسفند ایران که بیش از ۱۱۰۰۰ سال می‌باشد (Alvarez et al., 2020) جهش‌های مثبت صورت گرفته در ژنوم فرصت به وقوع پیوستن در کل ژنوم تقریباً به صورت یکنواخت را داشته‌اند. این عامل اصلی اختلاف فنوتیپی و ژنوتیپی بین دو نژاد شده است. تعداد ۲۱۹ SNP با اختلاف فراوانی بالا بین دو جمعیت هم‌شناسایی شد که با QTL مشخصی مرتبط نبودند که ممکن است مهم باشند و در تحقیقات آینده QTL‌هایی برای آنها شناسایی شود.

در بررسی QTL‌های شناسایی شده به کمک مختصات نشانگرها با  $F_{ST}$  بالا، ۹۵ ژن مرتبط با صفات اقتصادی شناسایی شد. QTL های شناسایی شده در مناطق ژنومی مورد نظر در گوسفند بر روی ۱۹ کروموزوم با صفات مهم اقتصادی از جمله کیفیت و کمیت گوشت، شیر، چربی، استخوان، سیستم ایمنی و مقاومت به انگل مرتبط بودند که در جدول شماره ۲ بر اساس صفات مربوطه و تعداد تکرار دسته‌بندی شده‌اند. بیشترین QTL‌ها بر روی کروموزوم‌های ۲، ۳، ۵، ۶ و ۷ قرار داشتند که نشان می‌دهد بیشترین جهش‌های مثبت بر روی این کروموزوم‌ها صورت گرفته است. همچنین بیشترین تکرار QTL‌ها مربوط به صفات چربی شیر با ۹۰ بار، میزان تولید شیر ۵۸ بار، تعداد تخم انگل در مدفوع ۲۶ بار، پروتئین شیر ۲۴ بار و صفت مجموع پره‌های متولد شده برای هر میش با ۱۶ بار تکرار بود که نشان دهنده اهمیت اقتصادی این صفات و اختلاف بالای این صفات بین دو نژاد اهلی و وحشی می‌باشد. دلیل دیگر تکرار زیاد این صفات، مطالعه و شناسایی بیشتر QTL‌ها در رابطه با این صفات با توجه به اهمیت اقتصادی آنها می‌باشد.

جدول ۲- دسته‌بندی QTL‌ها ی شناسایی شده در این مطالعه و تعداد تکرار آنها

**Table 2-** Classification of QTLs identified in this study and their number of repetitions

QTL	نام کامل Full name	تعداد تکرار The number of repetitions	QTL	نام کامل Full name	تعداد تکرار The number of repetitions
Bone (استخوان)	Bone density QTL (تراکم استخوانی)	4	Milk (شیر)	Milk protein yield {180d} QTL (عملکرد پروتئین شیر)	24
	Bone area QTL (ناحیه استخوانی)	2		Milk protein percentage QTL (درصد پروتئین شیر)	11
	Total bone QTL (95786) (مجموع استخوان)	1		Milk fat percentage QTL (درصد چربی شیر)	9
	Muscle density QTL (95863) (تراکم ماهیچه)	1		Milk Yield {180d} QTL (عملکرد شیر)	58
	Fat density QTL (95832) (تراکم چربی)	1		Milk fat yield (میزان چربی شیر)	90
	Fat weight in carcass QTL (95821) (وزن چربی در لاشه)	1		Milk bacterial count QTL (138645) (بار میکروبی شیر)	5
Breech (کپل)	Vocalization during arena test QTL (146906) (صفات مربوط به صدای هنگام مبارزه)	1		Milk lactose percentage QTL (181706) (درصد لاکتوز شیر)	1
	Vocalization behavior QTL (146868) (صفات مربوط به صدا)	1		somatic cell count (تعداد سلولهای سوماتیک شیر)	3
	Breech Traits QTL (146980) (صفات مرتبط با شکل زایش)	1		Body weight (20 weeks) QTL (193069) (وزن بدن در ۲۰ هفتگی)	1
Carcass (لاشه)	Muscle-to-bone ratio QTL (95867) (نسبت ماهیچه به استخوان)	1		Rennet coagulation time QTL (213379) (زمان انعقاد مایه پنیر)	1

Fat (چربی)	Fat density QTL (تراکم چربی)	3		Curd firming time QTL (213380) (زمان سفت شدن کشک)	2
	Total bone QTL (مجموع استخوان)	2	Muscle	Total bone QTL (مجموع استخوان)	7
	Bone area QTL (ناحیه استخوانی)	2		Muscle density QTL (تراکم ماهیچه)	6
	Fat weight in carcass QTL (95819) (وزن چربی در لاشه)	1		Carcass bone percentage QTL (درصد استخوانهای لاشه)	2
	Total fat area QTL (95837) (مجموع ناحیه چربی)	2		muscle-to-bone ratio QTL (95867) (نسبت ماهیچه به استخوان)	1
	Muscle density QTL (95862) (تراکم ماهیچه)	1		fat weight in carcass QTL (95820) (وزن چربی در لاشه)	1
Fecal (مدفوع)	Fecal egg count QTL (213234) (تعداد تخم در مدفوع)	26		Bone area QTL (95797) (ناحیه استخوانی)	1
Immunoglobulin : (ایمونوگلوبین)	Immunoglobulin A level QTL (95629) سطح (ایمونوگلوبین آ)	3		Total fat area QTL (مجموع ناحیه چربی)	3
Locomotion (حرکت)	Locomotion during arena test QTL (تحرک در هنگام مبارزه) (146941)	2		Fat density QTL (95850) (تراکم چربی)	1
Meat (گوشت)	Shear force QTL (212019) (شاخص تردی گوشت)	1	Tail	Tail fat deposition QTL (126989) (میزان تجمع چربی در دم)	1
	Meat color <sup>a</sup> * QTL (212020) (رنگ گوشت)	1	Total	Total fat area QTL (مجموع ناحیه چربی)	9
	Meat conjugated linoleic acid content QTL (محتوای اسید لینولئیک مزدوج گوشت) (160570)	1		Total lambs born QTL (مجموع (بره های متولد شده)	16
	Meat omega-3 fatty acid content QTL (213275) (محتوای اسید چرب امگا-۳ گوشت)	3		Total bone QTL (مجموع استخوان)	7
	Meat saturated fatty acid content QTL (160552) (محتوای اسید چرب اشباع گوشت)	1		Total fat area QTL (مجموع ناحیه چربی)	9
	Meat palmitoleic acid content QTL (محتوای اسید پالمیتولئیک گوشت) (160560)	2		Bone area QTL (ناحیه استخوانی)	7

Meat monounsaturated fatty acid content QTL (160562) (محتوای اسید چرب غیراشباع یگانه گوشت)	2	Milk fat yield {180d} QTL (169319) (درصد چربی شیر)	1
Meat omega-6 to omega-3 fatty acid ratio QTL (160579) (نسبت اسید چرب امگا ۳ به امگا ۶ در گوشت)	2	Vocalization during arena test QTL (صفات مربوط به صدا در هنگام مبارزه)	4
Meat myristic acid content QTL (160545) (محتوای اسید میریستیک در گوشت)	2	Breech Traits QTL (صفات مرتبط با شکل زایش)	2
		Vocalization during corridor test QTL (140523) (صفات مربوط به صدای (هنگام مبارزه)	2
		Vocalization behavior QTL (146868) (صفات مربوط به صدا)	1

ژن‌های شناسایی شده در نواحی مختلف ژنومی می‌توانند به عنوان کاندیداهای تحت انتخاب مطرح شوند. شماری از ژن‌های مورد بررسی به عنوان نشانه‌های انتخاب، با بررسی‌های پیشین همخوانی داشت. محمدی و همکاران ژن AKAP6 را در گوسفند نژاد زندی مرتبط با صفت وزن ۹ ماهگی شناسایی کرده بودند. همچنین ارتباط این ژن در توسعه بافت ماهیچه‌های اسکلتی و نقل و انتقالات یون کلسیم تشخیص داده شده است ([Mohammadi et al., 2020](#)).

گوموندسدوتیر در بررسی صفات مرتبط با عضله در گوسفند ایسلندی دو ژن AKAP6 و GRID2 را مرتبط دانست ([Guomundsdottir, 2015](#)). پروتئین کدگذاری شده توسط GRID2 عضوی از خانواده گیرنده‌های گلوتامات یونوتروپیک است که گیرنده‌های انتقال دهنده عصبی تحریکی غالب در مغز پستانداران هستند ([Deng et al., 2018](#)). ژن CHD2 را مرتبط با کیفیت باروری اسپرم تشخیص دادند. لیو و همکاران در بررسی جمعیتی از گوسفند ژن EBF4 را مرتبط با رنگ بدن گزارش کردند ([Liu et al., 2015](#)). ژن‌های EIF4G3 و FAM13A در مسیر سنتز پروتئین شیر حیاتی تشخیص داده شده‌اند ([Suárez-Vega et al., 2016](#)).

در بررسی ژن‌های گوسفند و بز گزارش شده‌است که ژن GABRB1 و KCND2 مرتبط با مسیرهای زیستی است که در پاسخ به درد فعالیت دارند ([Taheri et al., 2020](#); [Deng et al., 2018](#)). همچنین وینر و همکاران در بررسی جمعیتی از گوسفندان اتیوپی، ژن GABRB1 را یکی از ژن‌های کاندید برای سازگاری به شرایط محیطی گزارش کرد ([Wiener et al., 2021](#)). با توجه به شرایط نامساعد جوی محل زندگی نژادهای این تحقیق همانند اتیوپی به نظر می‌رسد برای این ژن هم انتخاب طبیعی صورت گرفته است.

گروهی از محققان در مطالعات مجزا بر روی گاوهای چینی، ژن GLRB را مرتبط با سیستم عصبی و پاسخ به محرک-ها تشخیص دادند ([Dong et al., 2014](#)) و ([Yang et al., 2017](#)). در مطالعه لی و همکاران نشانه‌های انتخاب خوک تبتی دریافتند که ژن GNA14 توسط هیپوکسی ایجاد می‌شود و نقش مهمی در جفت دارد و عملکرد اندوتلیال عروقی جنین تحت هیپوکسی مزمن به دلیل عملکرد این ژن است. لی و همکاران در تحقیقی بر روی کل ژنوم گوسفند اهلی و وحشی دریافت که ژن GRM3 و MACROD2 در سرطان پستان و همچنین تعداد شاخ مؤثر است ([Li et al., 2020](#)).

وینگ و همکاران در مطالعه پاسخ‌های ژنومی به انتخاب رفتارهای روباه نقره ای رام و وحشی (*Vulpes vulpes*) دریافتند، فراوانی جهش ژن GRM3 در روباه رام تغییر قابل محسوسی پیدا کرده است ([Wang et al., 2015](#)). با توجه به اینکه این ژن در تحقیق انجام شده ما هم بین گوسفند اهلی و وحشی با هم اختلاف دارند می‌توان نتیجه گرفت که ژن GRM3 یک ژن کاندید احتمالی در فرآیند اهلی سازی است.

گونوان و همکاران ([Gunawan et al., 2021](#)) در تجزیه و تحلیل ترانس کریپتوم ژن‌های کبدی گوسفند نشان دادند که ژن GSTCD یکی از ژن‌های مهم دخیل در بیوستنز چربی، چربی‌زایی، رسوب چربی و متابولیسم لیپید است. همچنین سرانیتو و همکاران در بررسی نشانه‌های انتخاب گوسفند و بز مدیترانه‌ای ژن GSTCD را در بز تحت انتخاب معرفی کرد ([Serranito et al., 2021](#)).

آلوارز و همکاران در تحقیقی بر روی گوسفند دجالونکی<sup>۱</sup> غرب آفریقا در مورد تأثیر ژنومی سازگاری دام با محیط زیست ژن HERC1 را در این رابطه معنی‌دار توصیف کردند ([Álvarez et al., 2020](#)). این ژن نیز می‌تواند یک ژن کاندید احتمالی در فرآیند اهلی سازی باشد. چن و همکاران در تجزیه و تحلیل توالی کل ژنوم تعدادی گوسفند بامنشا موفلون اروپایی و آسیایی و بررسی ژن‌های مربوط به اهلی‌سازی در گوسفند، ژن HERC3 را یکی از ژن‌های مؤثر در پاسخ به

<sup>1</sup> Djallonké

ایمنی معرفی کردند (Chen et al., 2021). همچنین الکالده و همکاران در مطالعه‌ای برای تشخیص نواحی ژنومی مقاومت در برابر انگل‌های دستگاه گوارش در گوسفند استرالیایی، ژن HERC3 را مؤثر در سیستم ایمنی شناسایی کردند (Al Kalaldehy et al., 2019).

جیانو و همکاران ژن IP6K1 در گوسفند را درگیر در مسیر تولید گرما در حیوانات در معرض سرما گزارش کردند (Jiao et al., 2021). دوارته و همکاران، ژن JPH1 در خوک را مرتبط با مسیرهای مربوط به تنظیم متابولیسم بافت چربی و رشد عضلات اسکلتی گزارش کردند (Duarte et al., 2017). تاو و همکاران در مطالعه‌ای برای شناسایی ژن‌های مرتبط با وزن تولد، ژن KCND2 را ژن کاندید معرفی کرد، آنها همچنین برای شناسایی ژن‌های مرتبط به اندازه تولد، ژن MACROD2 را مرتبط با صفت تعدادپستانک گزارش کرد (Tao et al., 2021). همچنین هزارد و همکاران، ژن KCND2 را مرتبط با QTL‌های رفتار مادری گزارش کردند (Hazard et al., 2018). دنو و همکاران ژن LDB2 را مرتبط با صفات رشد و لاشه درجوجه‌های گوشتی شناسایی کردند (Dou et al., 2022). ونگ و سعادت آبادی و همکاران ژن NBEA را مرتبط با صفات پشم و استرس گرمایی معرفی کردند (Wang et al., 2015).

تزارسیانیدو و همکاران در بررسی ژنومی گوسفند مدیترانه‌ای، ژن NFS1 را مرتبط با صفت رشد غدد پستانی گزارش کردند (Tsartsianidou et al., 2021). همچنین گوان و همکاران، ژن NFS1 را مؤثر در مسیرهای متابولیکی ذکر کردند (Guan et al., 2016). پیکرینگ در بررسی منشاء ژنتیکی گوسفند آراپاوا نیوزلند، ژن NIPA1 را یک نشانه انتخاب معرفی کرد (Pickering, 2013). سوئیت جونز و همکاران در بررسی نشانه‌های انتخاب دو گونه گوسفند سیبری ژن SOCS6 را مسیر تنظیم گیرنده‌های انسولین شناسایی کردند (Sweet-Jones et al., 2021). محققان مختلفی در توالی‌یابی کل ژنوم گوسفند وحشی برای آدپتاسیون به شرایط آب و هوایی ژن USH2A را مرتبط با قدرت بینایی و شنوایی گزارش کردند (Upadhyay et al., 2021) و (Chen et al., 2021). همچنین عیداوی و همکاران در بررسی ژنومی گوسفندان خاور میانه و آفریقا ژن USH2A را از ژن‌های کاندید مرتبط با مقاومت به بیماریها و آدپتاسیون به شرایط آب و هوا معرفی کرد (Eydivandi et al., 2020).

مواچارو و همکاران در تحقیقی برای شناسایی ردپای ژنومی گوسفند دنبه‌دار مصری برای سازگاری با استرس در زمین‌های خشک شرق آفریقا و غرب آسیا ژن ZBP1 را از ژن‌های کاندید در تقویت عملکرد ایمنی شناسایی کردند (Mwacharo et al., 2017). کریوروچکو و همکاران در مطالعه ژنوم گوسفند مریوس گوشتی روسی برای ژن‌های کاندید صفات اقتصادی ژن BTB21 را در صفات مرتبط با رشد و توسعه سلول معنی‌دار گزارش کردند (Krivoruchko et al., 2020).

برای درک بهتر عملکرد مولکولی ژن‌های تحت انتخاب مثبت، هستی‌شناسی ژن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. ۳۲ مسیر بیولوژیکی که میزان P-Value آنها کمتر از ۰/۰۵ بود به عنوان مسیرهای معنی‌دار معرفی شدند. در جدول شماره ۳ برخی از مسیرهای مهم و معنی‌دار آمده است.

### جدول ۳- مسیرهای زیستی شناسایی شده معنی‌دار مرتبط با مناطق تحت انتخاب در نژادهای اهلی و وحشی

**Table 3-** Identified significant biological pathways related to the areas under selection in domestic and wild sheep breeds

Genes	P value	Count	Term	Category
ATRN, GRID2, HERC1, RFX4	0.0017	4	GO:0021549~cerebellum development (توسعه مخچه)	GOTERM_BP_FAT
ATRN, GRID2,	0.0022	4	GO:0022037~metencephalon	GOTERM_BP_FAT

HERC1, RFX4			development (توسعه متانسفالون)	
GRID2, GABRB1, KCN5, GLRB, ITGAV, ANO6	0.0043	6	GO:0022836~gated channel activity (فعالیت کانال دروازه دار)	GOTERM_MF_FAT
GRID2, HERC1, RFX4	0.0052	3	GO:0021696~cerebellar cortex morphogenesis (مورفوژنز (قشر مخچه)	GOTERM_BP_FAT
ATRN, GRID2, HERC1, RFX4	0.0056	4	GO:0030902~hindbrain development (توسعه مغز پسین)	GOTERM_BP_FAT
AKAP6, ANO6, GPD1L, SRI, ATP6V1C2	0.0059	5	GO:0098662~inorganic cation transmembrane transport (غشا انتقال کاتیون غیر آلی)	GOTERM_BP_FAT
AKAP6, ANO6, GPD1L, SRI, ATP6V1C2	0.0061	5	GO:0098660~inorganic ion transmembrane transport (غشا انتقال یونهای غیر آلی)	GOTERM_BP_FAT
GRID2, HERC1, RFX4	0.0079	3	GO:0021587~cerebellum morphogenesis (مورفوژنز مخچه)	GOTERM_BP_FAT
AKAP6, ANO6, GPD1L, SRI, ATP6V1C2	0.0081	5	GO:0098655~cation transmembrane transport (انتقال کاتیون غشایی)	GOTERM_BP_FAT
GRID2, HERC1, RFX4	0.0089	3	GO:0021575~hindbrain morphogenesis (مورفوژنز مغز پسین)	GOTERM_BP_FAT
AKAP6, ANO6, GPD1L, SRI	0.0099	4	GO:0043270~positive regulation of ion transport (تنظیم مثبت یونهای عبور کننده)	GOTERM_BP_FAT
GRID2, GABRB1, KCN5, GLRB, ITGAV, ANO6	0.0110	6	GO:0005216~ion channel activity (فعالیت کانال یونی)	GOTERM_MF_FAT
GRID2, HERC1, RFX4	0.0122	3	GO:0021695~cerebellar cortex development (رشد قشر مخچه)	GOTERM_BP_FAT
GRID2, GABRB1, KCN5, GLRB, ITGAV, ANO6	0.0125	6	GO:0022838~substrate-specific channel activity (فعالیت اختصاصی کانال زیر لایه)	GOTERM_MF_FAT
GRID2, GABRB1, KCN5, GLRB, ITGAV, ANO6	0.0140	6	GO:0015267~channel activity (فعالیت کانال)	GOTERM_MF_FAT
GRID2, GABRB1, KCN5, GLRB, ITGAV, ANO6	0.0140	6	GO:0022803~passive transmembrane transporter activity (غیرفعال کردن کانال زیر لایه)	GOTERM_MF_FAT
OCA2, AKAP6, ANO6, GPD1L, SRI, ATP6V1C2	0.0143	6	GO:0055085~transmembrane transport (حمل و نقل غشایی)	GOTERM_BP_FAT
AKAP6, ANO6, GPD1L, SRI, ATP6V1C2	0.0143	5	GO:0034220~ion transmembrane transport (	GOTERM_BP_FAT



NIPA1, AKAP6, ANO6, GPD1L, SRI, ATP6V1C2	0.0192	6	( حمل و نقل غشایی یون ) GO:0034220~ion transmembrane transport ( حمل و نقل غشایی کاتیون )	GOTERM_BP_FAT
AKAP6, ANO6, GPD1L, ATP6V1C2	0.0217	4	GO:0015672~monovalent inorganic cation transport ( حمل و نقل غشایی کاتیون غیر آلی تک ظرفیتی )	GOTERM_BP_FAT
AKAP6, ANO6, SRI	0.0247	3	GO:0034767~positive regulation of ion transmembrane transport ( تنظیم مثبت یونهای عبور کننده غشایی )	GOTERM_BP_FAT
AKAP6, ANO6, GPD1L, SRI	0.0259	4	GO:0034765~regulation of ion transmembrane transport ( تنظیم یونهای عبور کننده غشایی )	GOTERM_BP_FAT
AKAP6, ANO6, SRI	0.0271	3	GO:0034764~positive regulation of transmembrane transport ( تنظیم مثبت عبور کننده غشایی )	GOTERM_BP_FAT
AKAP6, ANO6, GPD1L, SRI	0.0296	4	GO:0034762~regulation of transmembrane transport ( تنظیم عبور کننده غشایی )	GOTERM_BP_FAT
GRM3, GRID2, GLRB	0.0329	3	GO:0045211~postsynaptic membrane ( غشا پس سیناپسی )	GOTERM_CC_FAT
GRID2, GABRB1, GLRB	0.0337	3	GO:0005230~extracellular ligand-gated ion channel activity ( فعالیت کانال عبور دهنده یونهای خارج سلولی )	GOTERM_MF_FAT
GRM3, GRID2, GABRB1, GLRB, SH3GL2	0.0347	5	GO:0045202~synapse ( سیناپس )	GOTERM_CC_1
GRID2, GLRB, AKAP6, GPD1L	0.0393	4	GO:0042391~regulation of membrane potential ( تنظیم کننده بالقوه غشایی )	GOTERM_BP_FAT
NIPA1, AKAP6, ANO6, GPD1L, SRI	0.0413	5	GO:0030001~metal ion transport ( انتقال دهنده یون های فلزی )	GOTERM_BP_FAT
CEP250, CCDC92, TTBK2	0.0429	3	GO:0005814~centriole ( سانتریول )	GOTERM_CC_FAT
GRID2, GLRB, AKAP6, ANO6	0.0445	4	GO:0034702~ion channel complex ( کانال های یونی ترکیبی )	GOTERM_CC_FAT
GRID2, HERC1, GLRB	0.0456	3	GO:0050905~neuromuscular process ( فرآیندهای عصبی - عضلانی )	GOTERM_BP_FAT

بیشتر مسیرهای زیستی شناسایی شده مربوط به کانال‌های عبور یون‌ها از غشاء سلولی، فرآیندهای عصبی عضلات، رشد مغز و مخچه، رشد متانسفالون، انتقال غشایی یونهای غیر آلی و مسیرهای مرتبط با تنظیم حمل و نقل یونها در غشا سلولی می باشد (Deng et al., 2018).

## نتیجه‌گیری کلی

بررسی مناطق ژنومی نشان داد که این مناطق به طور مستقیم و غیرمستقیم با صفات کیفیت و کمیت گوشت، شیر، چربی، استخوان، سیستم ایمنی و مقاومت به انگل مرتبط می‌باشند. مشخص نمودن صفات مهم اقتصادی و مکان‌یابی بخش‌هایی از ژنوم که در اثر انتخاب تغییر پیدا کرده‌اند، می‌تواند در برنامه‌های اصلاح نژادی گوسفند در کشور مورد استفاده قرار گیرد. البته با توجه به کامل نبودن اطلاعات مربوط به حاشیه‌نویسی عملکردی ژن‌ها در گونه گوسفند و همچنین کوچک بودن جمعیت‌های مورد بررسی، مطالعات بعدی با تعداد نمونه‌های بیشتر و نژادهای بیشتر از گوسفند اهلی و وحشی ایران، درک بهتری از ژن‌های کاندید برای صفات مهم اقتصادی در گونه‌های اهلی و وحشی ایجاد خواهد نمود. همچنین با تحقیقات بیشتر در این زمینه می‌توانیم زمان و چرای مستقیم شدن نژادها و ژن‌های مسبب آن را مشخص کنیم. با انجام مطالعات بیشتر در رابطه با شناسایی گوسفندان وحشی ایران امید آن است که بتوانیم از این ذخیره ژنتیکی منحصر به فرد در دنیا محافظت کرده و با شناسایی خصوصیات ژنتیکی مطلوب این حیوانات، به جای واردات نژاد های خارجی بتوانیم بخشی از کاستی های گوسفند اهلی را با انتقال از گوسفند وحشی و یا پرورش خالص آن جبران کنیم.

## سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت دانشگاه فردوسی مشهد و گرنت شماره ۳/۴۸۷۲۸ انجام پذیرفت.

## منابع

- 1 Akey, J. M. (2009). Constructing genomic maps of positive selection in humans: where do we go from here? *Genome research*, 19(5), 711-722. [Doi: 10.1101/gr.086652.108](https://doi.org/10.1101/gr.086652.108).
- 2 Al Kalalkeh, M., Gibson, J., Lee, S. H., Gondro, C., & Van Der Werf, J. H. (2019). Detection of genomic regions underlying resistance to gastrointestinal parasites in Australian sheep. *Genetics Selection Evolution*, 51(1), 1-18. [Doi: 10.1186/s12711-019-0479-1](https://doi.org/10.1186/s12711-019-0479-1).
- 3 Álvarez, I., Fernández, I., Traoré, A., Pérez-Pardal, L., Menéndez-Arias, N. A., & Goyache, F. (2020). Ancient homozygosity segments in West African Djallonké sheep inform on the genomic impact of livestock adaptation to the environment. *Animals*, 10(7), 1178. [Doi: 10.3390/ani10071178](https://doi.org/10.3390/ani10071178).
- 4 Bakhshalizadeh, S., Zerehdaran, S., & Javadmanesh, A. (2021). Meta-analysis of genome-wide association studies for somatic cells score trait in dairy cows. *Journal of Ruminant Research*, 9(3), 39-58. [Doi: 10.22069/ejrr.2021.19036.1787](https://doi.org/10.22069/ejrr.2021.19036.1787) (In Persian)
- 5 Chen, Z. H., Xu, Y. X., Xie, X. L., Wang, D. F., Aguilar-Gómez, D., Liu, G. J., ... & Li, M. H. (2021). Whole-genome sequence analysis unveils different origins of European and

- Asiatic mouflon and domestication-related genes in sheep. *Communications biology*, 4(1), 1-15. [Doi: s42003-021-02817-4](#).
- 6 Deng, X., Wang, D., Wang, S., Wang, H., & Zhou, H. (2018). Identification of key genes and pathways involved in response to pain in goat and sheep by transcriptome sequencing. *Biological research*, 51. [Doi: 10.1186/s40659-018-0174-7](#).
  - 7 Dong, K., Yao, N., Pu, Y., He, X., Zhao, Q., Luan, Y., ... & Ma, Y. (2014). Genomic scan reveals loci under altitude adaptation in Tibetan and Dahe pigs. *PLoS One*, 9(10), e110520. [Doi: 10.1371/journal.pone.0110520](#).
  - 8 Dou, D., Shen, L., Zhou, J., Cao, Z., Luan, P., Li, Y., ... & Zhang, H. (2022). Genome-wide association studies for growth traits in broilers. *BMC Genomic Data*, 23(1), 1-9. [Doi: 10.1186/s12863-021-01017-7](#).
  - 9 Duarte, D. A. S., Fortes, M. R. S., de Souza Duarte, M., Guimarães, S. E., Verardo, L. L., Veroneze, R., ... & e Silva, F. F. (2017). Genome-wide association studies, meta-analyses and derived gene network for meat quality and carcass traits in pigs. *Animal Production Science*, 58(6), 1100-1108. [Doi: 10.1071/AN16018](#).
  - 10 Durinck, S., Spellman, P. T., Birney, E., & Huber, W. (2009). Mapping identifiers for the integration of genomic datasets with the R/Bioconductor package biomaRt. *Nature protocols*, 4(8), 1184-1191. [Doi: 10.1038/nprot.2009.97](#).
  - 11 Eydivandi, S., Sahana, G., Momen, M., Moradi, M. H., & Schönherz, A. A. (2020). Genetic diversity in Iranian indigenous sheep vis-à-vis selected exogenous sheep breeds and wild mouflon. *Animal Genetics*, 51(5), 772-787. [Doi: 10.1111/age.12985](#).
  - 12 Forough Ameri, N. Asadi Fouzi, M. Vasmeilzade Keshkoi, A. (2015). Whole genome scanning of eight indigenous breeds of Iranian cattle to identify selection markers. *Livestock production magazine*. 18 (2). 201- 213. (In Persian)
  - 13 Guan, D., Luo, N., Tan, X., Zhao, Z., Huang, Y., Na, R., ... & Zhao, Y. (2016). Scanning of selection signature provides a glimpse into important economic traits in goats (*Capra hircus*). *Scientific reports*, 6(1), 1-7. [Doi: 10.1038/srep36372](#).
  - 14 Gunawan, A., Listyarini, K., Harahap, R. S., Roosita, K., Sumantri, C., Inounu, I., ... & Uddin, M. J. (2021). Hepatic transcriptome analysis identifies genes, polymorphisms and pathways involved in the fatty acids metabolism in sheep. *PloS one*, 16(12), e0260514. [Doi: 10.1371/journal.pone.0260514](#).
  - 15 Guomundsdottir, O. O. (2015). *Genome-wide association study of muscle traits in Icelandic sheep* (Doctoral dissertation). (Doctoral dissertation).
  - 16 Hazard, D., Mace, T., Foulquie, D., Delval, E., Douls, S., Carriere, F., ... & Boissy, A. (2018, February). Genome wide association studies of maternal behaviours in sheep. In *11. World Congress on Genetics Applied to Livestock Production (WCGALP)* (pp. 1130-p). Massey Universtiy.
  - 17 Jiao, D., Ji, K., Liu, H., Wang, W., Wu, X., Zhou, J., ... & Yang, G. (2021). Transcriptome analysis reveals genes involved in thermogenesis in two cold-exposed sheep breeds. *Genes*, 12(3), 375. [Doi: 10.3390/genes12030375](#).
  - 18 Krivoruchko, A. Y., Yatsyk, O. A., & Safaryan, E. Y. (2020). Candidate genes for productivity identified by genome-wide association study with indicators of class in the Russian meat merino sheep breed. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 24(8), 836. [Doi: 10.18699/VJ20.681](#).
  - 19 Li, Z., He, X., Zhang, X., Zhang, J., Guo, X., Sun, W., & Chu, M. (2020). Transcriptome Profile of Key CircRNAs and MiRNAs in Oviduct that Affect Sheep Reproduction. [Doi: 10.21203/rs.3.rs-67727/v1](#).
  - 20 Liu, G., Liu, R., Tang, X., Cao, J., Zhao, S., & Yu, M. (2015). Expression profiling reveals genes involved in the regulation of wool follicle bulb regression and regeneration in sheep.

*International Journal of Molecular Sciences*, 16(5), 9152-9166. [Doi: 10.3390 / ijms16059152](https://doi.org/10.3390/ijms16059152).

- 21 Mohammadi, F., Tahmoorespur, M., & Javadmanesh, A. (2019). Study of differentially expressed genes, related pathways and gene networks in sheep fetal muscle tissue in thin- and fat-tailed breeds. *Animal Sciences Journal*, 32(123), 301-312. [Doi: 10.22092 /asj .2018 .122913.1749](https://doi.org/10.22092/asj.2018.122913.1749).
- 22 Mohammadi, H., Rafat, S. A., Moradi Shahrababak, H., Shodja, J., & Moradi, M. H. (2020). Genome-wide association study and gene ontology for growth and wool characteristics in Zandi sheep. *Journal of Livestock Science and Technologies*, 8(2), 45-55. [Doi: 10.22103/jlst.2020.15795.1317](https://doi.org/10.22103/jlst.2020.15795.1317). (In Persian)
- 23 Moradi, M. H., Nejati-Javaremi, A., Moradi-Shahrababak, M., Dodds, K. G., & McEwan, J. C. (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), 1-15. [Doi: 10.1186/1471-2156-13-10](https://doi.org/10.1186/1471-2156-13-10).
- 24 Mwacharo, J. M., Kim, E. S., Elbeltagy, A. R., Aboul-Naga, A. M., Rischkowsky, B. A., & Rothschild, M. F. (2017). Genomic footprints of dryland stress adaptation in Egyptian fat-tail sheep and their divergence from East African and western Asia cohorts. *Scientific reports*, 7(1), 1-10. [Doi: 10.1038/s41598-017-17775-3](https://doi.org/10.1038/s41598-017-17775-3).
- 25 Pickering, N. K. (2013). *Genetics of flystrike, dagginess and associated traits in New Zealand dual-purpose sheep: a thesis presented in partial fulfilment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in Animal Science at Massey University, Palmerston North, New Zealand* (Doctoral dissertation, Massey University).
- 26 Kaveh Pishghadam, N., Malekian, M., & Adavodi, R. (2017). Genetic assessment of funding population of wild sheep (*Ovis orientalis*) in Chadegan captive breeding site. *Journal of Animal Environment*, 9(3), 41-48. [Doi: 20.1001.1.27171388.1396.9.3.6.6](https://doi.org/20.1001.1.27171388.1396.9.3.6.6).(In Persian)
- 27 Qanbari, S., Strom, T. M., Haberer, G., Weigend, S., Gheyas, A. A., Turner, F., ... & 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. [Doi: 10.1371/journal.pone.0049525](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049525).
- 28 Qanbari, S., Pausch, H., Jansen, S., Somel, M., Strom, T. M., Fries, R., ... & Simianer, H. (2014). Classic selective sweeps revealed by massive sequencing in cattle. *PLoS genetics*, 10(2), e1004148. [Doi: 10.1371/journal.pgen.1004148](https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004148).
- 29 Qarawaisi, S.H., Salehinjad, M., Najafi, N., Mirhosseini, Z., Siddavi, A. (2007). Utilisation and conservation of farm animal genetic resources. (In Persian).
- 30 Sabeti, P. C., Reich, D. E., Higgins, J. M., Levine, H. Z., Richter, D. J., Schaffner, S. F., ... & Lander, E. S. (2002). Detecting recent positive selection in the human genome from haplotype structure. *Nature*, 419(6909), 832-837. [Doi: 10.1038/nature01140](https://doi.org/10.1038/nature01140).
- 31 Sabeti, P. C., Varilly, P., Fry, B., Lohmueller, J., Hostetter, E., Cotsapas, C., ... & Lander, E. S. (2007). Genome-wide detection and characterization of positive selection in human populations. *Nature*, 449(7164), 913-918. [Doi: 10.1038/nature06250](https://doi.org/10.1038/nature06250).
- 32 Serranito, B., Cavalazzi, M., Vidal, P., Taurisson-Mouret, D., Ciani, E., Bal, M., ... & Da Silva, A. (2021). Local adaptations of Mediterranean sheep and goats through an integrative approach. *Scientific Reports*, 11(1), 1-17. [Doi: s41598-021-00682-z](https://doi.org/s41598-021-00682-z).
- 33 Suárez-Vega, A., Gutiérrez-Gil, B., & Arranz, J. J. (2016). Transcriptome expression analysis of candidate milk genes affecting cheese-related traits in 2 sheep breeds. *Journal of dairy science*, 99(8), 6381-6390. [Doi: 10.3168/jds.2016-11048](https://doi.org/10.3168/jds.2016-11048).
- 34 Sweet-Jones, J., Yurchenko, A. A., Igoshin, A. V., Yudin, N. S., Swain, M. T., & Larkin, D. M. (2021). Resequencing and signatures of selection scan in two Siberian native sheep

- breeds point to candidate genetic variants for adaptation and economically important traits. *Animal Genetics*, 52(1), 126-131. [Doi: 10.1111/age.13015](https://doi.org/10.1111/age.13015).
- 35 Tao, L., He, X. Y., Wang, F. Y., Pan, L. X., Wang, X. Y., Gan, S. Q., ... & Chu, M. X. (2021). Identification of genes associated with litter size combining genomic approaches in Luzhong mutton sheep. *Animal Genetics*, 52(4), 545-549. [Doi: 10.1111/age.13078](https://doi.org/10.1111/age.13078).
- 36 Taheri, S., Zerehdaran, S., Javadmanesh, A. (2020). Investigating genetic diversity and traces of selection in Iranian domestic and wild sheep and goats. Master's thesis of Ferdowsi University of Mashhad, Faculty of Agriculture. (In Persian)
37. Tsartsianidou, V., Sánchez-Molano, E., Kapsona, V. V., Basdagianni, Z., Chatziplis, D., Arsenos, G., ... & Banos, G. (2021). A comprehensive genome-wide scan detects genomic regions related to local adaptation and climate resilience in Mediterranean domestic sheep. *Genetics Selection Evolution*, 53(1), 1-17. [Doi: 10.1186/s12711-021-00682-7](https://doi.org/10.1186/s12711-021-00682-7).
- 38 Upadhyay, M., Kunz, E., Sandoval-Castellanos, E., Hauser, A., Krebs, S., Graf, A., ... & Medugorac, I. (2021). Whole genome sequencing reveals a complex introgression history and the basis of adaptation to subarctic climate in wild sheep. *Molecular Ecology*, 30(24), 6701-6717. [Doi: 10.1111/mec.16184](https://doi.org/10.1111/mec.16184).
- 39 Wang, H., Zhang, L., Cao, J., Wu, M., Ma, X., Liu, Z., ... & Du, L. (2015). Genome-wide specific selection in three domestic sheep breeds. *PloS one*, 10(6), e0128688. [Doi: 10.1371/journal.pone.0128688](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128688).
- 40 Wiener, P., Robert, C., Ahbara, A., Salavati, M., Abebe, A., Kebede, A., ... & Clark, E. L. (2021). Whole-genome sequence data suggest environmental adaptation of Ethiopian sheep populations. *Genome biology and evolution*, 13(3), evab014. [Doi: 10.1093/gbe/evab014](https://doi.org/10.1093/gbe/evab014).
- 41 Yang, J. I., Li, W. R., Lv, F. H., He, S. G., Tian, S. L., Peng, W. F., ... & Liu, M. J. (2016). Whole-genome sequencing of native sheep provides insights into rapid adaptations to extreme environments. *Molecular biology and evolution*, 33(10), 2576-2592. [Doi: 10.1093/molbev/msw129](https://doi.org/10.1093/molbev/msw129).
- 42 Zeraatpisheh, Y., Zerehdaran, S., & Javadmanesh, A. (2022). Investigation of metabolic pathways of genes related to the QTL of parasite resistance trait in sheep genome using gene network and gene ontology. *Veterinary Researches & Biological Products*. [Doi: 10.22092/vj.2022.357660.1941](https://doi.org/10.22092/vj.2022.357660.1941). (In Persian)