Identification of genomic regions and candidate genes associated somatic cell count in dairy sheep breeds using Bayesian approach

Abbas Kamil Taher[1], Amir Hossein Khaltabadi Farahani[*2], Hossein Mohammadi[3]

1. Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran. E-mail: K.karim@msc.araku.ac.ir
3. Corresponding Author, Associate Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Ilam. Ilam, Iran. Email: amfarahanikh@gmail.com
3. Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran. E-mail: H-mohammadi64@araku.ac.ir
https://doi.org/10.22067/ijasr.2026.100283.1327

Introduction: Mastitis is an inflammatory disease in mammary gland that occurs in response to infectious factors. Increased incidence of mastitis in farms is one of the health problems, causing in serious economic losses as a consequence of treatment costs and reduction of production and longevity. Mastitis is an inflammatory disease in dairy animals that occurs in response to infectious factors and has substantial impacts on animal health, economic profitability. In recent decades, somatic cell score has been used as an indirect method to control mastitis. Resistance to infection disease may be defined as the ability of an animal to have an immune response to prevent the spread of pathogens after infection. Previous studies showed that animals differ in their genetic ability for immune competence. Genetic resistance to mastitis involves interconnected biological mechanisms that result from differences in the response to mastitis that activate and regulate different levels of the immune response. A better understanding of the immune system and the metabolic pathways involved in responding to various pathogens may be used as a complementary approach to the control of the disease. Several studies have been evaluated genetic mechanisms affecting somatic cells score in dairy sheep. Many candidate genes affecting somatic cells score has been introduced. But the complex relationships between genes and pathways that affect them have not been fully identified yet. Thus, the aim of the present study was to perform a genome-wide association study (GWAS) in order to identify genomic regions and candidate genes that are associated with somatic cell count trait.

Materials and Methods: For this purpose, phenotypes records and genotypic data related to somatic cell count milk was obtained from 587 in Chios and Frizarta dairy sheep. Different steps of quality control and identification of independent SNP markers were performed by PLINK software. After quality control, 587 animals and 47451 markers were identified for further analysis. The analyses were performed using package hibayes in R software by fitting covariates for either SNPs alleles in Bayes A, Bayes B, or Bayes Cπ models. Using the BioMart software from Ensemble database based on last assembly (*ARS-UI_Ramb_v2.0*) the SNP were assigned to genes if they were within the genomic sequence of the gene or within a flanking region of 500 kb up- and downstream of the genes. Finally, a gene enrichment analysis was performed with the DAVID platform from online bioinformatics databases for the assignment of the genes to functional categories, the GO, KEGG, Reactome, BioCyc and PANTHER databases were used. 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 BayesA GWAS that fits all SNPs simultaneously, can improve the accuracy of detecting variances provide greater insight for identifying the genomic region of the casual variant and estimates the proportion of variance explained by the SNPs. In the

present study, the genes related to immune response in our study included *NRG1*, *ADAM17*, *LEF1*, *CHIA*, and *PIK3CA* in Chios sheep and *ASH1L*, *CCL4*, *ELANE*, *PTPRC*, *NLRP3*, and GSK3B in Frizarta sheep genes related to milk somatic cell count. Some of the found genes, are consistent with some of the previous studies related to immune responses. According to pathway analysis, eight pathways from gene ontology and biological pathways were associated with the immune response. Some of the genes were found are consistent with some previous studies and to be involved biological pathways related to immune system response, regulate inflammation response, regulate innate immune, clinical mastitis, bacterial infection resistance, gastrointestinal nematodes susceptibility, ovine tuberculosis susceptibility and breast cancer.

Conclusions: The present results show when the genetic architecture of quantitative traits follows infinitesimal model assumptions, BayesA method usually performs better than another Bayes. Moreover, considering the identification of new genome regions and the key role of the mentioned genes in milk somatic cell count, the Bayes A method can be validated for GWAS in production traits. Our results provide useful biological information for the improvement of milk productive performance and have practical applications for genomic selection in sheep. In general, the data of this research can be used in research related to genomic selection and genomic regions associated with mastitis in dairy sheeps, and additional reviews and evaluations to improve milk production in dairy sheep breeds.

Keyword: Candidate gene, Genome scan, Mastitis, Statistical Model, SNP

شناسایی مناطق ژنومی و ژن‌های کاندیدا مرتبط با شمار سلول‌های بدنی شیر در گوسفندان نژاد شیری با روش‌های بیزین

عباس کامل طاهر[۱]، امیر حسین خلت‌آبادی فراهانی*[۱]، حسین محمّدی[۱]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۵/۱۴

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۸/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۸/۱۷

۱. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران. رایانامه:A.taher@msc.araku.ac.ir
۲. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران. رایانامه: amfarahanikh@gmail.com
۳. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران. رایانامه:H-mohammadi64@araku.ac.ir
https://doi.org/10.22067/ijasr.2026.100283.1327

چکیده

شمار سلول‌های بدنی به عنوان روشی غیر مستقیم برای کنترل بیماری ورم پستان استفاده می‌گردد. هدف از انجام پژوهش حاضر، محاسبه میزان واریانس توجیه شده با استفاده از روش‌های چند مرحله‌ای بیزی برای صفت شمار سلول‌های بدنی شیر مربوط به ۵۸۷ رأس از گوسفندان شیری نژاد کایاس و فریزارته بود که توسط آرایه‌های 50K تعیین ژنوتیپ شده بودند. پس از مراحل مختلف کنترل کیفی، ۵۸۷ رأس حیوان و ۴۷۴۵۱ نشانگر SNP برای آنالیزهای بعدی باقی ماندند. آنالیز پویش کل ژنومی بر پایه مدل‌های مختلف بیزی در بسته نرم‌افزاری hibayes برنامه R انجام شد. سپس با استفاده از نرم‌افزار BioMart ژن‌های موجود در مناطق ژنومی معنی‌دار شناسایی شدند و آنالیز غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی با برنامه برخط DAVID انجام شد. نتایج این پژوهش نشان داد میزان واریانس ژنتیکی توجیه شده در روش

BayesA نسبت به سایر روش‌های بیزی عملکرد بهتری داشت. پنجره‌های ژنومی با بیشترین واریانس ژنتیکی روی کروموزوم‌های مختلف قرار داشتند و شامل ژن‌های کاندیدای *NRG1*، *ADAM17*، *LEF1*، *CHIA* و *PIK3CA* در گوسفندان نژاد کایاس و ژن‌های کاندیدای *ASH1L*، *CCL4*، *ELANE*، *PTPRC*، *NLRP3* و *GSK3B* در گوسفندان نژاد فریزارته مرتبط با شمار سلول‌های بدنی شیر بودند. همچنین مسیرهای زیستی مرتبط با پاسخ سیستم ایمنی، ورم پستان بالینی، مقاومت به عفونت‌های باکتریایی، تنظیم ایمنی ذاتی، حساسیت به بیماری پارتوبرکلوزیس و سرطان پستان شناسایی شدند. ژن‌های کاندیدای شناسایی شده در رابطه با بیماری ورم پستان در صورت تأیید جمعیت گوسفندان بومی کشور، می‌تواند در اصلاح نژاد بزهای شیری مفید باشد. به هر حال، به منظور درک بهتر ژن‌های مؤثر بر این صفت مهم ضروری است پژوهش‌های گسترده‌تر با تعداد نمونه‌های بیشتر انجام شود.

واژه‌های کلیدی: پویش ژنومی، چندشکلی تک نوکلئوتیدی، ژن کاندیدا، مدل آماری، ورم پستان

مقدمه

نژاد کایاس[1] مورد استفاده در پژوهش حاضر یکی از بهترین نژادهای گوسفند شیری کشور یونان از نظر صفات تولید شیر و تداوم شیردهی، تولید شیر بالا و عملکرد تولیدی مطلوب در سیستم‌های پرورشی صنعتی و نیمه صنعتی است. تولید شیر این نژاد در یک دوره شیردهی ۱۷۰ روزه، ۳۰۷ لیتر و درصد چربی و پروتئین شیر به ترتیب ۶/۲ و ۵/۵ است و گوسفندان نژاد کایاس به تولید شیر بالا و شمار سلول‌های بدنی پایین معروف هستند (Argyriadou *et al.*, 2023). همچنین، نژاد فریزراته[2] یکی از بهترین نژادهای گوسفند متوسط وزن و ممتاز کشور یونان از لحاظ صفات تولید و ترکیبات شیر گوسفندی است. میزان تولید شیر در این نژاد طی یک دوره شیردهی ۱۹۰، ۲۵۶ کیلوگرم است و درصد چربی و پروتئین شیر به ترتیب ۶/۲۸٪ و ۵/۶۱٪ است. گوسفند نژاد فریزراته به تولید شیر با پروتئین بالا شهرت دارد و شیر تولیدی این نژاد برای ساخت پنیر بسیار مناسب است (Kominakis *et al.*, 2017).

ورم پستان به عفونت بافت پستان در اثر باکتری، مواد شیمیایی یا مکانیکی تعریف می‌شود. به عبارت دیگر، ورم پستان یک بیماری التهابی در غدد پستانی است که در پاسخ به آسیب فیزیکی و یا عفونت با میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا مانند *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus* و *Streptococcus uberis* ایجاد می‌شود (Öner *et al.*, 2021). این بیماری نه تنها منجر به ضررهای مستقیم به دلیل هزینه‌های درمان، دامپزشکی و مرگ و میر می‌شود، بلکه منجر به کاهش تولید و کیفیت شیر، چالش‌های تولید مثلی، رفاه دام و افزایش نرخ حذف می‌گردد (Argyriadou et al., 2023). ورم پستان بالینی در گله‌های گوسفندان شیری شایع بوده و به کاهش تولید شیر منجر می‌گردد. در گله‌های گوسفند نژاد شیری وال دل بلیس[3] ایتالیایی کاهش تولید شیر در اثر ابتلاء به ورم پستان به طور میانگین ۱۶ درصد بود (Sutera *et al.*, 2018).

شمار سلول‌های سوماتیک شیر یا SCC[4] پیش‌بینی کننده خوبی برای عفونت درون پستان است و به طور عمده از گلبول‌های سفید خون تشکیل شده‌اند که شامل لکوسیت‌ها مانند نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها، لنفوسیت‌ها، و اریتروسیت‌ها به میزان ۷۵ درصد و سلول‌های اپیتلیال به میزان ۲۵ درصد می‌باشند. در زمان التهاب (ورم پستان) بیشترین افزایش SCC در شیر رخ می‌دهد که نتیجه هجوم نوتروفیل‌ها به درون شیر برای مبارزه با عفونت می‌باشد و بالای ۹۰ درصد تخمین زده می‌شود. بنابراین عواملی که باعث افزایش تعداد سلول‌های سوماتیک شیر می‌شود، عفونت‌ها هستند که از طریق

[1] Chios
[2] Frizarta
[3] Valle del Belice
[4] Somatic cell count

مجرای سر پستانک وارد شیر می‌شوند. ورم پستان تحت بالینی با افزایش جزئی یا متوسط شمار سلول‌های بدنی مشخص می‌گردد و همبستگی ژنتیکی بین شمار سلول‌های بدنی و ورم پستان حدود ۰/۷۰ می‌باشد (Oget *et al.*, 2019). از طرف دیگر، به علت وراثت‌پذیری پایین مقاومت به ورم پستان (۰/۰۷-۰/۰۶) و همبستگی ژنتیکی منفی با تولید شیر، دستیابی به کاهش ورم پستان از طریق روش‌های کلاسیک و سنتی دشوار است (Sutera *et al.*, 2018).

به طور کلی مدل‌های آماری مورد استفاده در آنالیزهای پویش ژنومی را می‌توان به دو دسته تقسیم کرد. یک دسته مدل‌های خطی و دسته دیگر مدل‌های غیر خطی است، که در سال‌های اخیر بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. از جمله مدل‌های خطی می‌توان به مدل بهترین پیش بینی نااریب خطی ژنومی تک مرحله‌ای اشاره کرد. بر اساس یافته‌های تحقیقات مختلف، مشکل آنالیزهای پویش ژنومی مبتنی بر مدل‌های خطی، بالا بودن نرخ خطای نوع اول و بیش برآورد اثر SNPها است (Peters *et al.*, 2012). علاوه بر این در مدل‌های خطی، توزیع در نظر گرفته شده برای تمامی صفات کمی برپایه توزیع نرمال می‌باشد که ممکن است فرض درستی برای تمامی صفات کمی در تحقیقات نباشد. بنابراین یک جایگزین مناسب برای حل این مشکلات استفاده از مدل‌های غیر خطی از جمله روش‌های بیزی در آنالیزهای پویش ژنومی است که در آن می‌توان به دلخواه توزیع‌های متفاوتی برای دسته‌های مختلف از متغیرهای ژنتیکی در نظر گرفت. روش‌های ارزیابی برای دسته‌بندی نشانگرها بر حسب سهم واریانس، یا همه نشانگرها را به صورت یکنواخت در نظر می‌گیرند و یا غیر یکنواختی بین نشانگرها و سهم واریانس را لحاظ کرده و تعدادی از نشانگرها دارای سهم بالا و بقیه دارای سهم کم و حتی صفر در نظر گرفته می‌شوند و از روش‌های بیزی غیر خطی استفاده می‌کنند (Khaltabadi Farahani *et al.*, 2020).

مطالعه پویش کل ژنومی در گوسفندان شیری وال دل بلیس ایتالیایی با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با شمار سلول‌های بدنی انجام شده بود، ژن‌های کاندیدای *SERP1*، *SIAH2*، *LRRIQ3*، *FPGT*، *FAM49A*، *FGF7* و *SOD2* ارتباط معنی‌داری با سیستم ایمنی، مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، سیستم ایمنی ذاتی، سرعت شیردهی و پاسخ به التهاب داشتند (Sutera *et al.*, 2021). مطالعه پویش کل ژنومی در گوسفندان شیری Assaf با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با شمار سلول‌های بدنی انجام شده بود، ژن‌های کاندیدای *NUP210*، *HDAC11*، *ARPP21*، *FBLN2*، *R3HDM1* و *SOCS2* ارتباط معنی‌داری با تنظیم پاسخ سیستم ایمنی، استرس حرارتی، سرطان سینه و پاسخ به التهاب داشتند (Öner *et al.*, 2021). اخیراً مطالعه پویش کل ژنومی در گاوهای شیری کشور اتیوپی با هدف شناسایی مناطق ژنومی و ژن‌های کاندیدای مرتبط با شمار سلول‌های بدنی انجام شده بود، برای ژن‌های کاندیدای *MPP7*، *MPP8*، *MMP13*، *BIRC2*، *BIRC3*، *BTRC*، *SRSF1* و *MPO* ارتباط معنی‌داری با ایمنی، پاسخ به التهاب، آپوپتوزیس و مقاومت به عفونت‌های باکتریایی گزارش شده است (Chernet *et al.*, 2025). هدف از انجام پژوهش حاضر، شناسایی مناطق ژنومی و ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفت شمار سلول‌های بدنی شیر در گوسفندان نژاد شیری کایاس و فریزارته با استفاده از آرایه‌های ۵۰K ایلومینا براساس روش‌های مختلف آماری بیزی بود.

مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر، از اطلاعات ژنوتیپی و فنوتیپی ۵۸۷ رأس گوسفند نژادهای شیری کایاس و فریزارته با حداقل روابط خویشاوندی استفاده شد. نمونه‌ها با استفاده از آرایه‌های شرکت ایلومینا Ovine SNP50 Bead Chip برای ۵۴۲۴۱ نشانگر تعیین ژنوتیپ شده بودند. داده‌های تعیین ژنوتیپ شده همراه با اطلاعات فنوتیپی مورد استفاده این پژوهش در پایگاه برخط Zenodo (https://zenodo.org/deposit/) با شماره دسترسی ۸۳۴۴۵۴۶ در دسترس می‌باشد.

برای فیلتراسیون داده‌های ژنومی از معیارهای فراوانی نمونه‌های تعیین ژنوتیپ شده، نرخ تعیین ژنوتیپ نشانگرها در هر نمونه و فراوانی آلل نادر استفاده شد. در ابتدا نمونه‌هایی که فراوانی تعیین ژنوتیپ در آنها کمتر از ۹۰ درصد بود، شناسایی و حذف شدند. در مرحله بعد نشانگرهای دارای فراوانی آلل نادر کمتر از ۲ درصد، حذف شدند. سپس نشانگرهایی که نرخ تعیین ژنوتیپ آنها در نمونه‌ها کمتر از ۹۷ درصد بود شناسایی و حذف شدند. در نهایت برای SNPهای باقیمانده آنهایی که در تعادل هاردی–واینبرگ نبودند، به عنوان معیاری از خطای تعیین ژنوتیپ کنار گذاشته شدند. بدین منظور سطح احتمال $۱۰^{-۶}$ در نظر گرفته شد. مراحل مختلف فیلتراسیون با نرم افزار PLINK (نسخه۱/۹۰) انجام شد (Chang *et al.*, 2015).

انجام مطالعات پویش کل ژنومی (GWAS) با استفاده از روش‌های آماری بیزی

مدل آماری در تمامی سه روش آماری بیزی به کار برده شده در این تحقیق به صورت ذیل بود:

$$\boldsymbol{y_i} = \boldsymbol{\mu} + \sum_{\boldsymbol{j=1}}^{\boldsymbol{p}} \boldsymbol{x_{ij}\beta_j} + \boldsymbol{\varepsilon_i}$$

در معادله بالا، $\boldsymbol{\mu}$ عرض از مبداء، $\boldsymbol{x_{ij}}$ ژنوتیپ‌های نشانگری با عناصر 0، 1، 2، $\boldsymbol{\beta}$ اثرات نشانگری و $\boldsymbol{\varepsilon}$ اثر تصادفی باقیمانده است.

توزیع چگالی احتمال توأم پیشین[5] مجهولات رابطه فوق به صورت زیر است:

$$p(\mu,\beta,\sigma^2|df,S,\omega) \propto \left\{\prod_{j=1}^{p} p\left(\beta_j|\theta_{\beta j},\sigma^2\right)p(\theta_{\beta j}|\omega)\right\} x^{-2}(\sigma^2|df,S)$$

در رابطه فوق توزیع پیشین یکنواخت[6] برای میانگین، $x^{-2}(\sigma^2|df,S)$ معکوس توزیع کای اسکور مقیاس‌دار برای واریانس باقیمانده با درجه آزادی df و پارامتر مقیاس برابر با S در نظر گرفته شد. $p(\beta_j|\theta_{\beta j},\sigma^2)$ توزیع پیشین jامین اثر نشانگر را نشان می‌دهد که در آن $\theta_{\beta j}$ یک بردار از پارامترهای ایندکس شده است که نوع توزیع پیشین در نظر گرفته شده برای اثرات نشانگری را مشخص می‌کند. $p(\theta_{\beta j}|\omega)$ توزیع پیشین در نظر گرفته شده برای $\theta_{\beta j}$ و ω پارامتری است که این نوع توزیع را مشخص می‌کند.

بر پایه قوانین بیز، توزیع پسین ناشناخته‌های مدل بدین صورت است:

$$\begin{aligned} p(\mu,\beta,\sigma^2|y,df,S,\omega) &\propto \prod_{i=1}^{n} N(y_i|\mu+\sum\nolimits_{j=1}^{p} x_{ij}\,\beta_j,\sigma^2) \\ &\times \left\{\prod_{j=1}^{p} p\left(\beta_j|\theta_{\beta j},\sigma^2\right)p(\theta_{\beta j}|\omega)\right\} x^{-2}(\sigma^2|df,S) \end{aligned}$$

تفاوت اصلی روش‌های بیزین در نوع توزیع پیشین در نظر گرفته شده برای اثرات نشانگری است (Zhu & Stephens, 2016). در ادامه برای هر کدام از روش‌های بیزی مورد استفاده در پژوهش حاضر شکل توزیع پیشین شرح داده شده‌اند.

بیز A (BayesA)

در روش بیز A توزیع شرطی در نظر گرفته شده برای اثرات نشانگری توزیع t و به صورت زیر می‌باشد:

$$t(\beta_j|df_\beta,S_\beta) = \int N\left(\beta_j|0,\sigma^2_{\beta j}\right)x^{-2}(\sigma^2_{\beta j}|df_\beta,S_\beta)\partial\sigma^2_{\beta j}$$

---

[5] Prior
[6] Flat

در این رابطه df_β و S_β به ترتیب درجه آزادی پیشین و پارامتر مقیاس و $x^{-2}(\sigma^2_{\beta j}|df_\beta, S_\beta)$ توزیع کای اسکور معکوس مقیاس‌دار است.

بیز B (BayesB)

در روش بیز B اثرات نشانگری با احتمال π برابر با صفر و با احتمال $(1-\pi)$ از توزیع t به روشی که در بیز A شرح داده شد بدست می‌آیند. لذا توزیع پیشین یک توزیع مخلوط[7] است که به صورت زیر است:

$$b_j|df_b, S_b, \pi \sim IID \begin{cases} 0 \; with \; probability \; \pi \\ t(b_j|df_b, S_b) with \; probability \; 1-\pi \end{cases}$$

به عبارت دیگر، در روش بیز B فرض بر این است که تنها بخشی از جایگاه‌های ژنی بر کل واریانس ژنتیکی صفت مؤثر می‌باشند و در نتیجه بخش اعظمی از جایگاه‌های ژنی نقشی در ایجاد واریانس ژنتیکی صفت ندارند. به عبارت دیگر فرض اصلی این روش بیز B این است که بسیاری از SNPها در بخش‌هایی از ژنوم قرار دارند که تأثیری بر صفات ندارند در حالی که فقط بخش اندکی از SNPها (π -۱) در عدم تعادل پیوستگی با QTL بوده و در نتیجه دارای تأثیرگذاری می‌باشند. در نتیجه در مدل‌های بیز B عدم حضور (با احتمال π) یا حضور (با احتمال π-1) نشانگرهای SNP در مدل است که در تحقیق حاضر π در سه سطح ۰/۹۰، ۰/۹۵ و ۰/۹۹ در نظر گرفته شدند.

بیز $C\pi$ (Bayes$C\pi$)

بیز C شکلی از بیز B است و در برخی از مقالات به عنوان بیز $C\pi$ شناخته می‌شود. فقط به جای اینکه از توزیع پیشین t برای اثرات نشانگری استفاده کند از توزیع نرمال استفاده می‌کند و لذا توزیع پسین هم مزدوج و هم نرمال است.

برای اجرای روش‌های مختلف بیزی در این پژوهش از بسته نرم‌افزاری hibayes در برنامه R نسخه (۳/۳/۱) (Yin *et al.*, 2021) و الگوریتم نمونه‌گیری گیبس برای نمونه گیری توزیع پسین شرطی اثرات نشانگری استفاده شد و استنباط اثرات نشانگری با استفاده از زنجیره‌های ۵۵۰۰۰ نمونه‌ای (۵۰۰۰ نمونه اولیه برای قلق گیری و ۵۰۰۰۰ نمونه بعدی برای استنباط توزیع پسین) انجام گرفت. نتایج پژوهش حاضر براساس واریانس ژنتیکی توجیه شده توسط پنجره‌های (SNP window) بیست نشانگری از SNPهای مجاور (Moving windows) ارائه شده است (Jung *et al.*, 2024).

آنالیز پویش کل ژنومی بر اساس آنالیز غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی

جهت شناسایی ژن‌های موجود در مناطق حاوی نشانگرهای SNP معنی‌دار از برنامه BioMart موجود در پایگاه Ensembl (www.ensembl.org/) استفاده شد. با توجه به اینکه تفسیر عملکردی ژنوم گوسفند هنوز بطور کامل تکمیل نشده است، پایگاه‌هایی که برای توصیف مکانیسم‌های بیوشیمیایی و شبکه ژنی و شناسایی QTL موجود هستند، برای گونه گوسفند را یا قبول نمی‌کنند و یا اینکه ناقص هستند، لذا از ژنوم گاو جهت بررسی اینکه مناطق ژنومی شناسایی شده حاوی ژن خاصی هستند، در مناطق ارتولوگوس ژنوم گاو با استفاده از جستجو در پایگاه اطلاعاتی آنلاین Genes Database Ensemble 116 مورد بررسی قرار گرفت. همچنین پایگاه اطلاعاتی شامل مسیر بیوشیمیایی DAVID و Panther جهت تعیین طبقات عملکردی و مسیرهای متابولیکی و تنظیمی ژن‌های شناسایی شده مورد استفاده قرارگرفتند. 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 مانند شرکت در سه فرآیند هستی‌شناسی شامل

[7] Mixture distribution

فرآیندهای زیستی، عملکرد مولکولی و اجزای سلولی در نظر گرفته شوند. در نهایت برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های به دست آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی آنلاین (http://www.genecards.org) GeneCards و UniProtKB (http://www.uniprot.org) استفاده شد.

نتایج و بحث

آمار توصیفی مرتبط با تولید شیر و شمار سلول‌های بدنی نژادهای مورد مطالعه پژوهش حاضر در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج مربوط به مراحل مختلف ویرایش داده‌های تعیین ژنوتیپ در جدول ۲ ارائه شده است. پس از مراحل مختلف کنترل کیفی در سطح SNP در نهایت ۴۳۹۹۸ و ۴۷۴۵۱ نشانگر SNP به ترتیب در نژادهای کایاس و فریزارته باقی ماندند که شامل اطلاعات ۲۶ جفت کروموزوم گوسفند بودند (جدول ۲).

جدول ۱- آمار توصیفی نژادهای مورد بررسی در پژوهش حاضر

Table 1- Descriptive statistics breeds in this study

نژاد Breed	تعداد نمونه Sample size	میانگین تعداد روزهای شیرواری Average milking lengths (day)	میانگین تولید شیر Average milk production (kg)	شمار سلول‌های بدنی Somatic cell count (cells/ml)
کایاس Chios	288	189	292.5	263266
فریزارته Frizarta	299	168	278.4	595116

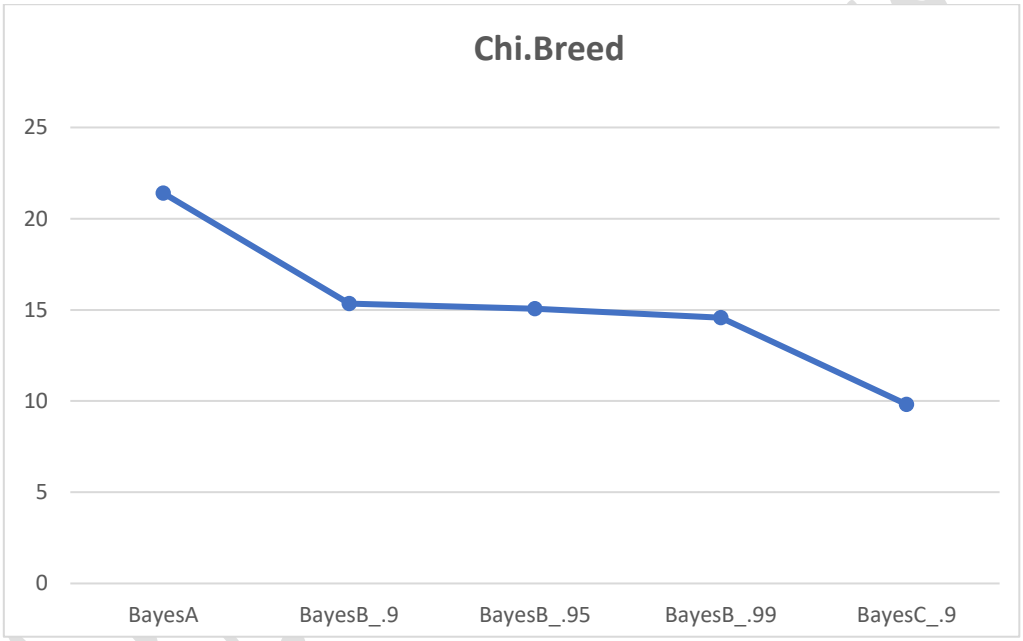
جدول ۲- خلاصه مراحل مختلف کنترل کیفیت نشانگرهای SNP برای آنالیزهای نشانه‌های انتخاب

Table 2- Summary of quality control steps for SNP markers used for signature of selection analysis

تعداد حیوانات	کایاس Chios	فریزارته Frizarta
Number of SNPs تعداد نشانگرها	۵۴۲۴۱	۵۴۲۴۱
Number of animals حذف حیواناتی با نرخ فراخوانی کمتر از ۹۰ درصد	288	299
Excluding animals with call rate<0.90 حذف SNPهایی با فراوانی آللی نادر کمتر از ۲ درصد	0	0
Excluding SNPs ≤ 2% MAF over all animals حذف SNPهایی با نرخ فراخوانی کمتر از ۹۷ درصد در کلیه حیوانات	5905	1678
Excluding SNPs ≤97% Call rate over all animals	1945	1999

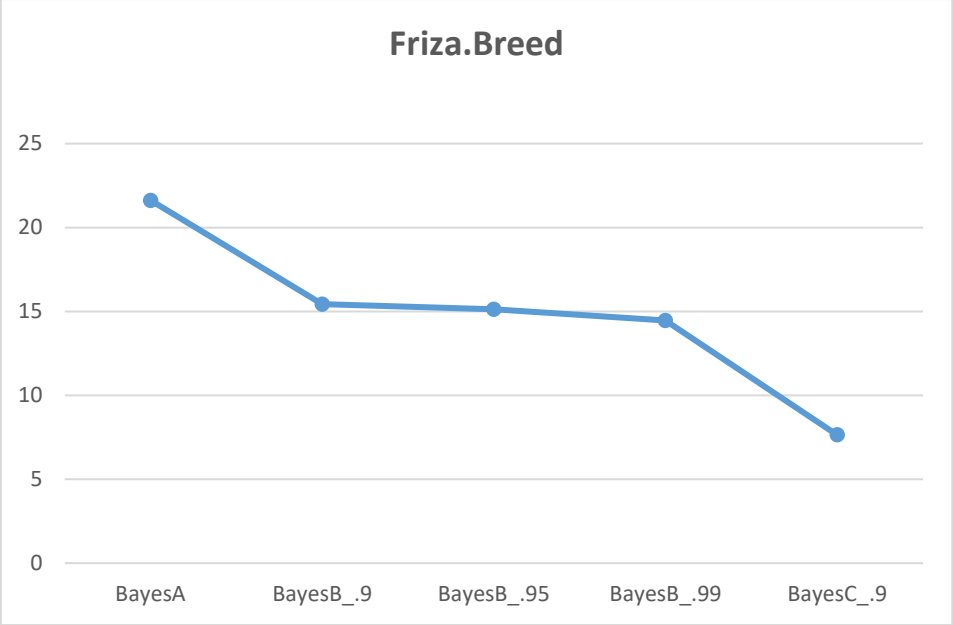
حذف SNPهای خارج از تعادل هاردی-واینبرگ با ارزش (۰/۰۰۰۰۰۱)		
Excluding SNPs with deviation from HW (<0.000001)	236	244
تعداد نشانگرهای SNP با موقعیت نامشخص و کروموزوم جنسی		
unmapped or located in nonautosomal	2157	2144
تعداد حیوانات باقیمانده		
Remaining animals	288	299
تعداد نشانگرهای SNP باقیمانده		
Remaining SNPs	43998	47451

در این پژوهش مطالعه پویش کل ژنومی (GWAS) برپایه روش‌های آماری بیز A، B و Cπ جهت شناسایی نشانگرهای SNP مرتبط با صفت شمار سلول‌های بدنی در دو نژاد گوسند شیری انجام گردید. نتایج اولیه حاصل از بررسی میزان واریانس ژنتیکی توجیه شده حاصل از سه روش مورد استفاده در گراف‌های ۱ و ۲ نمایش داده شده است.



شکل۱- میزان واریانس ژنتیکی توجیه شده با استفاده از روش‌های آماری بیز A و B (سه سطح ۰/۹۰، ۰/۹۵ و ۰/۹۹) و بیز Cπ برای صفت شمار سلول‌های بدنی شیر در نژاد کایاس

Figure 1- Proportion of explained genetic variance related to somatic cell count trait based on BayesA, BayesB (π=0.90, 0.95 and 0.99) and Bayes Cπ methods in Chios sheep



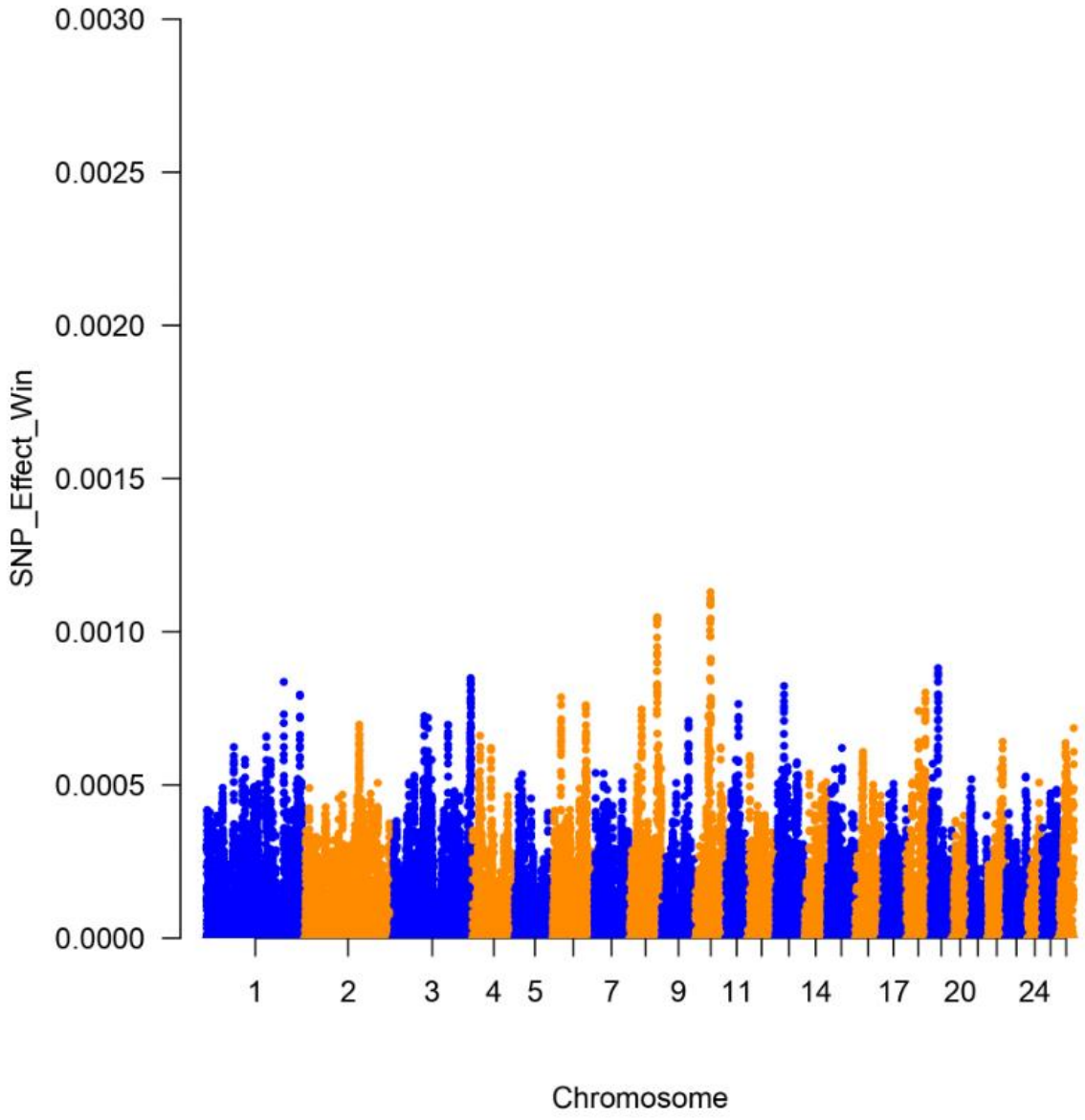
شکل ۲- میزان واریانس ژنتیکی توجیه شده با استفاده از روش‌های آماری بیز A و B (سه سطح ۰/۹۰، ۰/۹۵ و ۰/۹۹) و بیز Cπ برای صفت شمار سلول‌های بدنی شیر در نژاد فریزارته

Figure 2- Proportion of explained genetic variance related to somatic cell count trait based on BayesA, BayesB (π=0.90, 0.95 and 0.99) and Bayes Cπ methods in Frizarta sheep

همانطور که در گراف‌های ۱ و ۲ مشاهده می شود نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان می‌دهد روش بیز A قادر بوده است سهم بیشتری از واریانس فنوتیپی صفات مختلف را توجیه کند. دلیل این امر را می‌توان به توزیع مقدار محدودی واریانس ژنتیکی بر تعداد زیادی QTL دانست که در نتیجه سهم هر QTL در ارزش ژنتیکی کل کاهش یافته است و قدرت مدل بیزی همراه با انتخاب متغیرهای بیز B و Cπ کاهش یافته است. به عبارت دیگر بیز A سهم یکسانی از واریانس را برای نشانگرهای اختصاص می‌دهد، در حالیکه در سایر مدل‌های بیزی برحسب توزیع پیشین وزن‌های متفاوتی به نشانگر داده می‌شود (Habier *et al.*, 2011).

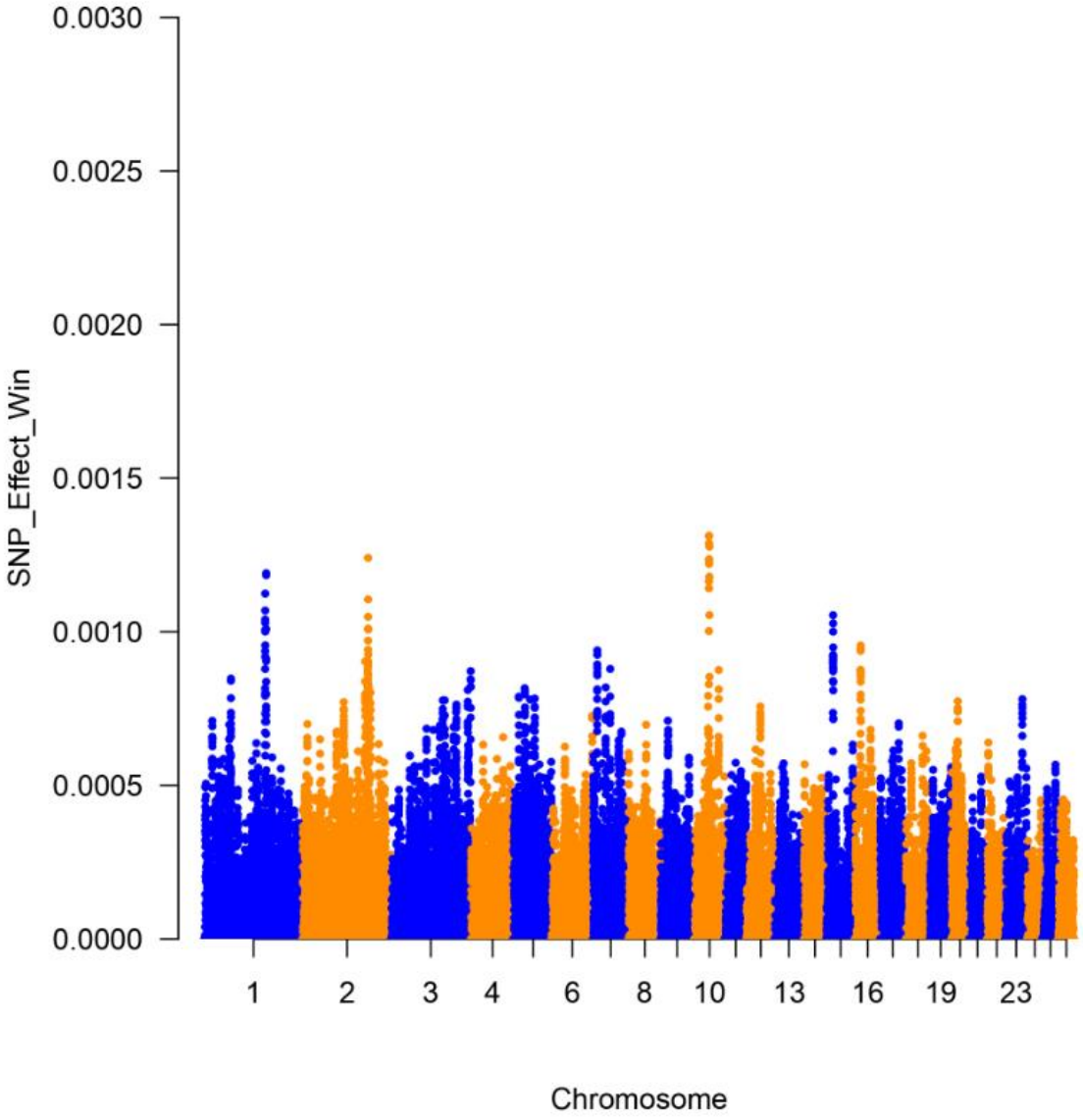
در مطالعات اصلاح نژاد دام اهمیت روش‌های آماری استفاده شده جهت شناسایی مناطق ژنومی معنی‌دار بسیار اهمیت دارد. در روش‌های بیزی که اثر نشانگرهای SNP مبتنی بر تکنیک‌های نمونه گیری گیبس است و تمامی نشانگرها همزمان با هم وارد آنالیز می شوند و در نتیجه مشکل بیش برآورد اثرات SNPها در این روش کاهش می‌یابد و امکان بررسی صفات با معماری ژنتیکی متفاوت را فراهم می‌کنند (Khaltabadi Farahani *et al.*, 2020). در واقع روش بیز A به دلیل استفاده همزمان از همه SNPها در مدل، می‌تواند جایگزین مناسبی برای غلبه بر بیش برآورد اثرات SNPها و میزان بالای مثبت کاذب باشد. با توجه به اینکه صفات کمی تحت تأثیر تعداد زیادی SNP قرار دارند، مدلی که تمام نشانگرها را به طور همزمان آنالیز می‌کند نسبت به مدل‌های رگرسیون تک نشانگری که به صورت جداگانه آنالیز می‌کنند و مشکل افزایش تعداد پارامترهای پیش‌بینی کننده (تعداد بالای نشانگرهای SNP در مقایسه با تعداد رکوردهای فنوتیپی) دارند، می‌تواند نتایج دقیق‌تری داشته باشد (Peters *et al.*, 2012). در تحقیقی با استفاده از داده‌های تولید تخم مرغ و کیفیت تخم مرغ در مرغان تخم‌گذار نشان داده شد که تفاوت معنی‌داری بین روش‌های بیز A و

بیز Cπ از نظر صحت و تداوم صحت ارزش‌های اصلاحی ژنومی وجود ندارد (Wolc *et al.*, 2012). همچنین در تحقیقات گزارش شده است درحالتی‌که توزیع اثرات ژنی نرمال باشد نسبت به توزیع گاما مدل‌های بیزی دارای توان کمتری برای توجیه واریانس ژنتیکی توجیه شده صفات اقتصادی می‌باشند (Alboali *et al.*, 2023). از اینرو روش‌های فقط جریمه‌ای متغیر بهتر از روش‌های جریمه‌ای همراه با انتخاب متغیر عمل می‌کنند. همچنین با استفاده از داده‌های تولید شیر و نرخ آبستنی در گاوهای هلشتاین فرانسوی، دلیل مشابه بودن نتایج حاصل از روش‌های بیزی در پیش‌بینی‌های ارزش اصلاحی ژنومی، معماری ژنتیکی (تعداد ژن درگیر در صفت و توزیع اثرات ژنی) و توزیع نرمال تأثیر ژنی گزارش شده است (Colombani *et al.*, 2012). در نتیجه، در تحقیق حاضر نیز نتایج به دست آمده از مدل بیز A در ادامه مورد استفاده قرار گرفتند. پلات‌های منهتن مرتبط با صفت شمار سلول‌های بدنی در دو نژاد گوسفند کایاس و فریزارته با استفاده از مدل بیز A به ترتیب در شکل‌های ۳ و ۴ ارائه شده است.



شکل ۳- پلات منهتن حاصل از آنالیز پویش کل ژنومی براساس روش بیز A برای صفت شمار سلول‌های بدنی در نژاد کایاس.

Figure 3- Manhattan plot for genome-wide association study based on BayesA method of somatic cell count trait in Chios breed



شکل ۴- پلات منهتن حاصل از آنالیز پویش کل ژنومی براساس روش بیز A برای صفت شمار سلول‌های بدنی در نژاد فریزارته.

Figure 4- Manhattan plot for genome-wide association study based on BayesA method of somatic cell count trait in Frizarta breed

شناسایی ژن‌های کاندیدا مرتبط با شمارش سلول‌های بدنی حاصل از آنالیزهای بیوانفورماتیک در نژاد گوسفند کایاس

جزئیات کامل ترم‌های هستی شناسی به همراه اسامی ژن‌های کاندیدا در جدول ۳ ارائه شده است. مسیرهای اصلی معنی‌دار مرتبط با شمارش سلول‌های بدنی در گوسفندان نژاد کایاس، positive regulation of catalytic activity و detection of stimulus involved in sensory perception بدست آمد که جزء فرآیندهای

زیستی (BP) است. که بین ژن‌های کاندیدای موجود در این مسیرها، ژن‌های کاندیدای *NRG1* و *OR10AL41* بیشترین ارتباط را داشتند. ژن کاندیدای *NRG1* نقش مهمی بر متیلاسیون و بیان لنفوسیت‌های خونی در بدن دارد (Genecards). در مطالعه پویش کل ژنومی در نژادهای گاوشیری هلشتاین، جرسی و ایرشایر در مراحل شیردهی مختلف دوره تولید با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با تولید شیر و شمارش سلول‌های بدنی انجام شده بود، ژن کاندیدای *NRG1* ارتباط معنی‌داری با شمارش سلول‌های بدنی در گاوهای نژاد هلشتاین و ایرشایر گزارش گردید (Oliveira *et al.*, 2019). همچنین ژن کاندیدای *OR10AL41* بخشی از مجموعه ژنی مرتبط با پاسخ سیستم ایمنی بدن می‌باشد. مطالعه‌ی پویش ژنومی در گاومیش‌های رودخانه‌ای با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با مقاومت به پاتوژن‌ها انجام شده بود، ژن *OR10AL41* به عنوان تنظیم کننده گیرنده‌های سطح سلول‌های اپیتلیال پستانی برای چسبندگی استافیلوکوکوس اورئوس در مقابل حمله به پاتوژن‌ها گزارش شده است (Mokhber *et al.*, 2018).

جدول ۳- تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی معنی‌داری (P<0.05) مرتبط با صفت شمار سلول‌های بدنی نژد کایاس

Table 3- Gene set enrichment analysis significantly (P < 0.05) associated with somatic cell count trait in Chios sheep

طبقات هستی شناسی GO category	نام مسیر هستی‌شناسی Term GO	تعداد ژن موجود در مسیر No. genes in the GO term	ژن(های) کاندیدا Candidate genes	ارزش-P P-adjust
Biological process فرآیند زیستی				
GO:0050906	detection of stimulus involved in sensory perception	26	*LHFPL5, F1MGD9, TULP1, LXN,* ***OR10AL41,*** *OR10C1, OR12D2E, OR12D2G, OR2AD1, OR2AE1, OR2B3, OR2B37, OR2B3B, OR2G7B, OR2H1, OR2H18, OR2H19, OR2H1D, OR2H20, OR2J1, OR2J3, OR2J3B, OR2J3D, OR2U5, OR2W1D, STRC*	1.78e-3
GO:0043085	positive regulation of catalytic activity	18	*ASAP2, RASGEF1A, ARHGEF15, SASH1, APH1B, AXIN2, LOC617486, CIMAP3, CLPS, FLT1, IGF1R, ITGB1BP1, LGR4,* ***NRG1,*** *PIK3R5, PIK3R6, RGS9, RET*	4.04e-3
GO:0002520	immune system development	10	*HMCES,* ***ADAM17,*** *ATM, CTC1, POLQ, MAFB, LEF2, PRKDC, RET, SLC46A2*	4.58e-2
GO:0002200	somatic diversification of immune receptors	5	*HMCES, ATM, POLQ,* ***LEF1,*** *PRKDC*	4.58e-2
GO:0032722	positive regulation of chemokine production	5	*ADAM17,* ***CHIA,*** *FFAR2, FFAR3, SYK*	4.59e-2
KEGG Pathways مسیرهای KEGG				
oas04210	Apoptosis	11	*ATM, HTRA2, CTSB, LOC101905399, LOC508858, LOC786126, GZMB, LOC508646, LOC505326,* ***PIK3CA,*** *TUBA1B*	1.72e-2

[1]ژن‌های کاندیدا مرتبط با صفت به صورت پر رنگ نشان داده شده‌اند.

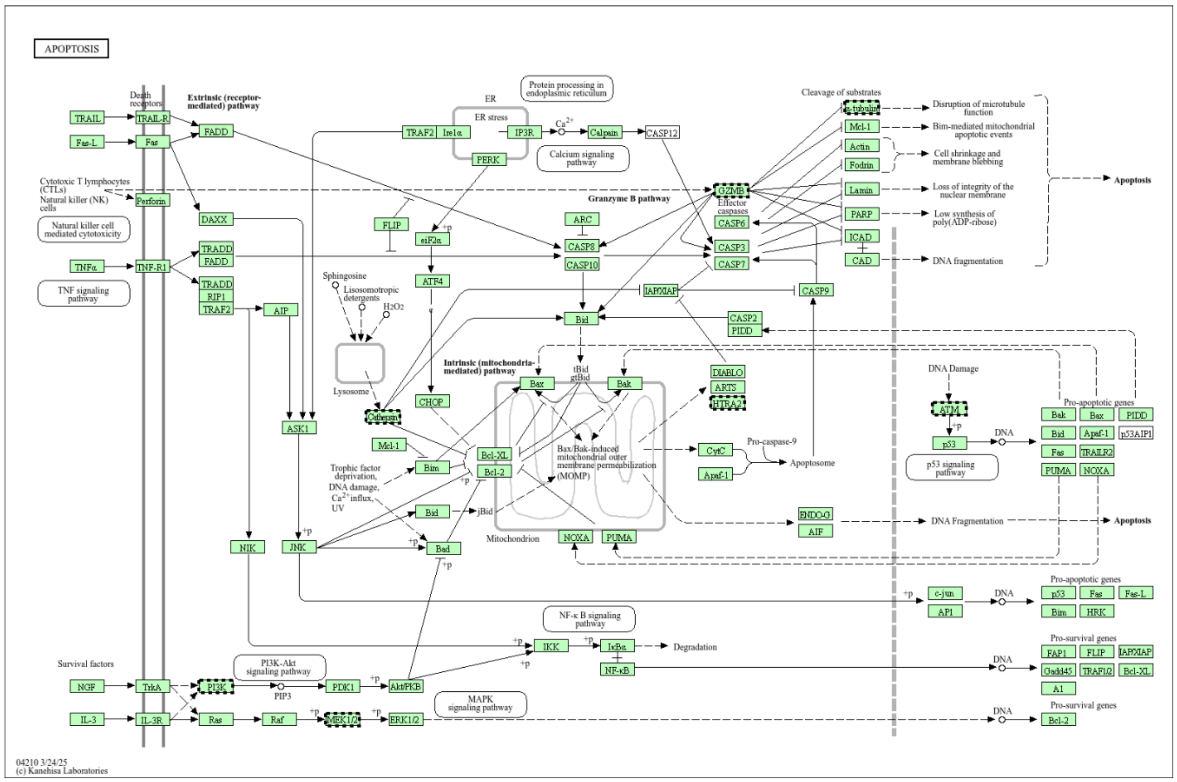
[1]Candidate genes associated with trait are shown in bold.

مسیر هستی‌شناسی immune system development که جزء مسیرهای معنی‌دار مرتبط با شمارش سلول‌های بدنی شیر بدست آمد حاوی ۱۰ ژن در این مجموعه ژنی بود که از این بین ژن کاندیدای *ADAM17* مرتبط با سیستم ایمنی می‌توان در نظر گرفت. ژن *ADAM17* بخشی از خانواده ژنی ADAM می‌باشد که این خانواده ژنی نقش کلیدی در پاسخ التهابی به عفونت در بدن داشته و ژن *ADAM17* به عنوان فاکتور نکروزدهنده‌ی تومور-آلفا (TNF-α) نیز شناخته می‌شود. ارتباط معنی‌داری بین ژن کاندیدای *ADAM17* با مقاومت به بیماری ویروسی طاعون گزارش شده است (Zaruba *et al.*, 2022).

مسیر somatic diversification of immune receptors که جزء مسیرهای معنی‌دار فرآیند زیستی مرتبط با شمارش سلول‌های بدنی شیر بدست آمد، از مسیرهای ژنی مؤثر بر تقویت سیستم ایمنی بدن می‌باشد و از بین ژن‌های موجود در این مسیر، ژن کاندیدای *LEF1* مرتبط با شمار سلول‌های بدنی شیر می‌توان در نظر گرفت. در مطالعه پویش کل ژنومی با هدف شناسایی مناطق ژنومی و ژن‌های کاندیدای مرتبط با مقاومت به بیماری‌های عفونی، ژن کاندیدای *LEF1* در پاسخ ایمنی به عفونت‌های باکتریایی در گاوهای مدیترانه‌ای گزارش شده است (Flori *et al.*, 2019).

شاید بتوان مسیر positive regulation of chemokine production که جزء هستی شناسی فرآیند زیستی می‌باشد را یکی از مهمترین مسیرهای مؤثر بر شمارش سلول‌های بدنی شیر دانست. از بین ژن‌های موجود در این مسیر زیستی، ژن کاندیدای *CHIA* بیشترین ارتباط را با صفت مورد مطالعه داشت. ژن کاندیدای *CHIA* بخشی از خانواده کموکاین‌ها می‌باشد. مهاجرت نوتروفیل‌ها از خون محیطی (مسیر بافت پستانی) به ترشحات سلول‌های پستانی، کموتاکسی نامیده می‌شود. محققان گزارش کردند که سازوکارهایی مانند اتصال گیرنده‌های سایتوکین و یا مهار تولید کموکاین‌ها توسط سلول می‌تواند بر فعالیت شیمیایی نوتروفیل‌ها به سمت عوامل کموتاکسی تأثیر منفی بگذارد و مسیر متابولیسم کموتاکسی را تنظیم کند. در مطالعه پویش ژنومی مرتبط با مقاومت به بیماری پاراتوبرکلوزیس در گوسفند، ژن کاندیدای *CHIA* گزارش شد (Moioli *et al.*, 2016).

تحلیل مسیرهای زیستی KEGG نشان‌دهنده این است که ژن *PIK3CA* به‌طور معنی‌داری با مسیر زیستی Apoptosis در ارتباط می‌باشد. این مسیر زیستی نقش مهمی در مکانیسم سیستم امینی بدن دارد. در شکل ۵ مسیر Apoptosis و ژن‌های مربوطه شناسایی شده از پایگاه برخط KEGG را نشان می‌دهد. ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی در ژن *PIK3CA* با سرطان پستان گزارش شده است (Cizkova *et al.*, 2010).



شکل ۵- مسیر زیستی Apoptosis و ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفت شمار سلول‌های بدنی (پایگاه داده KEGG)

Figure 5- Apoptosis signaling pathway and candidate genes related to somatic cell count trait (KEGG database).

شناسایی ژن‌های کاندیدا مرتبط با شمار سلول‌های بدنی حاصل از آنالیزهای بیوانفورماتیک در نژاد گوسفند فریزارته

جزئیات کامل ترم‌های هستی شناسی به همراه اسامی ژن‌های کاندیدا در جدول ۴ ارائه شده است. مسیرهای اصلی معنی‌دار مرتبط با شمارش سلول‌های بدنی در گوسفندان نژاد فریزارته negative regulation of response to stimulus و positive regulation of cell migration بدست آمد که جزء فرآیندهای زیستی (BP) می‌باشند. که بین ژن‌های کاندیدای موجود در این مسیرها، ژن‌های کاندیدای *CCL4* و *ASH1L* بیشترین ارتباط را داشتند. در مطالعه پویش کل ژنومی در گاوهای نژاد شیری هلشتاین، جرسی و ایرشایر با هدف شناسایی مناطق ژنومی و ژن‌های کاندیدای مرتبط با مقاومت به بیماری ورم پستان انجام شده بود، ژن کاندیدای *CCL4* نقش کلیدی در التهاب و پاسخ ایمنی گزارش شده است (Gorji *et al.*, 2019). همچنین در مطالعه پویش کل ژنومی برپایه داده‌های توالی‌یابی کل ژنوم در گاوهای هلشتاین آلمانی با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات سلامت انجام شده بود. ژن کاندیدای *ASH1L* ارتباط معنی‌داری با شمارش سلول‌های بدنی داشت (Križanac *et al.*, 2025).

جدول ۴- تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی معنی‌داری (P<0.05) مرتبط با صفت شمار سلول‌های بدنی گوسفندان نژاد فریزارته

Table 4- Gene set enrichment analysis significantly (P < 0.05) associated with somatic cell count trait in Frizarta sheep

طبقات هستی شناسی GO category	نام مسیر هستی‌شناسی Term GO	تعداد ژن موجود در مسیر No. genes in the GO term	ژن(های) کاندیدا Candidate genes	ارزش-P P-adjust
Biological process فرآیند زیستی				
GO:0048585	negative regulation of response to stimulus	63	***ASH1L,*** *BARX1, CD2AP, CD80, DCST1, GATA3, LYN, MECOM, MPV17L, NLRP3, RTCA, RRN3, TAF3, TGIF1, TNFRSF11B, BECN2, BFAR, BMP2, CDH5, CTNNBIP1, CGNL1, CUL3, DEFB114, DUSP1, EFNA1, FFAR4, GBA1, QARS1, GPX1, GSK3B, HDAC1, IGF1R, LGR4, LZIC, KMT5A, NOTUM, NCOR2, NR2F2, PALM, PDE6C, PDE7B, PRKAR2A, PTPRC, PYCR1, RGS1, RGS13, RGS18, RGS21, RFFL, RNF126, SHISA6, SIRT7, SORL1, SULF1, SYT11, TREX1, TCIM, TMEM64, TPBG, UBASH3B, UBR1, USP4, ZBTB7B*	3.77e-3
GO:0030335	positive regulation of cell migration	26	*LOC100297044, LOC616364****, CCL4,*** *GATA3, ETS1, LYN, RAB40B, RAC3, RIN2, BSG, BMP2, CDH5, CCL3, EDN2, FGF7, FUT4, GSK3B, MADCAM1, NTRK3, PIK3CD, P4HB, PTPRC, RREB1, ROR2, TMEM201, VIM*	1.32e-3
GO:0050900	leukocyte migration	15	*LOC100297044, LOC616364, CCL4, GATA3, AIMP1, CNN2, CCL3, LOC112442293, CRTAM****, ELANE,*** *EDN2, FUT4, GBA1, MADCAM1, PRTN3*	2.55e-3
GO:0002762	negative regulation of myeloid leukocyte differentiation	6	*GPR55, LYN, TCTA, TNFRSF11B, CCL3, UBASH3B*	4.93e-3
GO:1902105	regulation of leukocyte differentiation	15	*GATA3, LCK, LYN, NLRP3, TCTA, GPR55, TNFRSF11B, CTNNBIP1, CCL3, CRTAM, PRXL2A,* ***PTPRC,*** *TMEM64, UBASH3B, ZBTB7B*	1.17e-2
GO:0050727	regulation of inflammatory response	16	*ASH1L, ABCC1, ETS1, GATA3, LYN, NEK7,* ***NLRP3,*** *CDH5, CCL3, DEFB114, FFAR4, GBA1, GPX1, IDO1, SYT11, TREX1*	3.40e-2
Molecular Function عملکرد مولکولی				
GO:0042379	chemokine receptor binding	7	*A0AAA9S2L4, A0AAF6YUG4, LOC100297044, LOC616364,* ***CCL4, CCL3,*** *LOC112442293*	4.78e-2
KEGG Pathways مسیرهای KEGG				
biu04722	Neurotrophin signaling pathway	9	*KRAS, ARHGDIA, SHC1, SHC2, SHC4, BDNF,* ***GSK3B****, NTRK3, PIK3CD*	3.96e-2

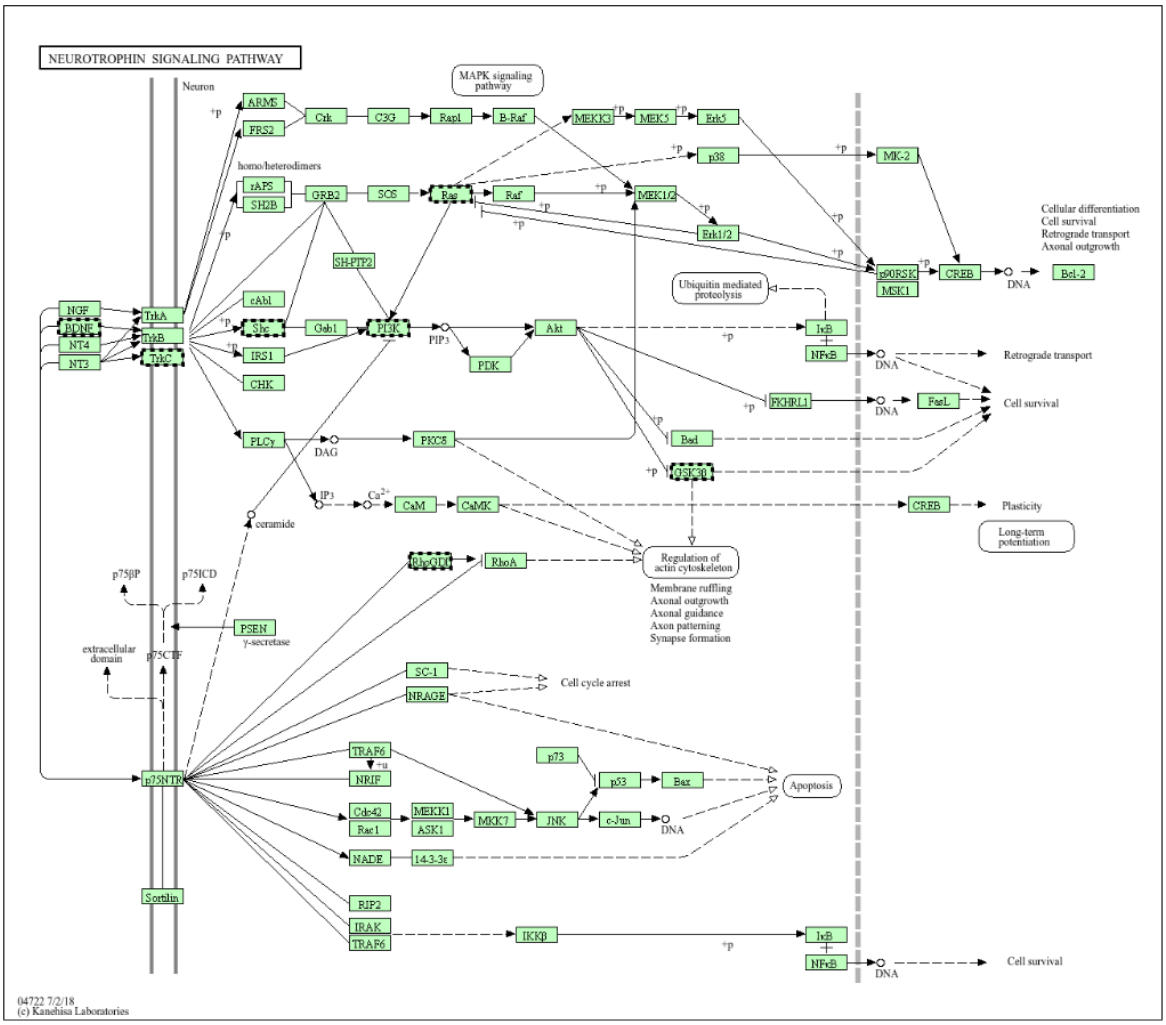
[1]ژن‌های کاندیدا مرتبط با صفت به صورت پر رنگ نشان داده شده‌اند.

[1]Candidate genes associated with trait are shown in bold.

مسیر هستی‌شناسی leukocyte migration که جزء مسیرهای معنی‌دار مرتبط با شمارش سلول‌های بدنی شیر بدست آمد حاوی ۱۵ ژن در این مجموعه ژنی بود که از این بین ژن کاندیدای *ELANE* مرتبط با سیستم ایمنی می‌توان در نظر گرفت. مطالعه پویش کل ژنومی در گاوهای جرسی با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با مقاومت به شرایط محیطی و آداپتاسیون انجام شده بود، ژن کاندیدای *ELANE* ارتباط معنی‌داری با ابتلاء به عفونت باکتریایی داشت (Verardo *et al.*, 2021).

مسیر regulation of leukocyte differentiation که جزء مسیرهای معنی‌دار فرآیند زیستی مرتبط با شمارش سلول‌های بدنی شیر بدست آمد، از مسیرهای ژنی مؤثر بر تقویت سیستم ایمنی بدن می‌باشد و از این بین ژن‌های موجود در این مسیر، ژن کاندیدای *PTPRC* مرتبط با شمار سلول‌های بدنی شیر می‌توان در نظر گرفت. ژن کاندیدای *PTPRC* که به ژن *CD45* هم شناخته می‌شود، بخش کلیدی در سیگنال‌دهی سایتوکاین‌ها و گیرنده‌های سطح سلولی می‌باشد که در نهایت باعث تولید و ترشح سایتوکاین‌ها و تنظیم پاسخ‌های التهابی با فعال کردن سلول‌های T و B در سلول‌های اپیتلیال پستانی می‌شوند (UniProtKB). مطالعه پویش کل ژنومی در گاوهای شیری نژاد Xinjiang با استفاده از تکنیک RNA-Seq با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با شمارش سلول‌های بدنی انجام شده بود، ژن کاندیدای *PTPRC* گزارش شده است (Yan *et al.*, 2026).

مسیر regulation of inflammatory response که جزء هستی شناسی فرآیند زیستی می‌باشد، یکی از مهمترین مسیرهای مؤثر بر شمارش سلول‌های بدنی شیر دانست. از بین ژن‌های موجود در این مسیر زیستی، ژن کاندیدای *NLRP3* بیشترین ارتباط را با صفت مورد مطالعه داشت. در مطالعه پویش کل ژنومی در گاوهای هلشتاین با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با مقاومت به باکتری مایکوباکتریوم پاراتوبرکلوزیس (بیماری یون) انجام شده بود، ژن کاندیدای *NLRP3* گزارش شده است (Mallikarjunappa *et al.*, 2018). تحلیل مسیرهای زیستی KEGG نشان‌دهنده این است که ژن *GSK3B* به‌طور معنی‌داری با مسیر زیستی Neurotrophin signaling pathway در ارتباط می‌باشد (شکل ۶). مطالعه پویش مقایسه‌ای ژنومی در نژادهای محتلف گاوهای کشور هندوستان با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با سیستم ایمنی انجام شده بود، ژن کاندیدای *GSK3B* مرتبط با تقویت سیتسم ایمنی ذاتی گزارش شده بود (Thambiraja *et al.*, 2026).



شکل ٦- مسیر سیگنال‌دهی Neurotrophin و ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفت شمار سلول‌های بدنی (پایگاه داده KEGG)

Figure 6- Neurotrophin signaling pathway and candidate genes related to somatic cell count trait (KEGG database).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج آنالیزها نشان داد که روش بیز A، به ترتیب ۲۱/۳۹ و ۲۱/۶۲ درصد از واریانس ژنتیکی صفت شمار سلول‌های بدنی را در گوسفندان نژاد کایاس و فریزارته را توجیه می‌کند. این نتایج نشان می‌دهد که معماری ژنتیکی این صفات به گونه‌ای است که احتمالاً تعداد زیادی ژن با اثرات کوچک این صفات را کنترل می‌کنند. در مجموع روش بیز A در مقایسه با سایر روش‌های آماری بیزی مناطق ژنومی مرتبط با صفت شمار سلول‌های بدنی و تنظیم سیستم ایمنی بدن را بهتر شناسایی کرد، بطوریکه علاوه بر اینکه مناطق ژنومی شناسایی شده در مطالعات قبلی مرتبط با بیماری ورم پستان در گونه‌های مختلف را تأیید کرد، مناطق ژنومی جدیدی را شناسایی کرد. با توجه به عملکرد بیولوژیکی ژن‌های کاندیدای شناسایی شده مرتبط با صفت مورد بررسی در این پژوهش، به نظر می‌رسد این ژن‌ها در بروز فنوتیپی صفت بیماری ورم پستان در مراحل مختلف دوره شیردهی نقش ایفاء می‌کنند، در نتیجه می‌توان کارآیی روش بیز A برای پویش ژنومی صفت شمار سلول‌های بدنی در شیر را نیز مورد تأیید قرار داد. همچنین با بررسی چند شکلی موجود در ژن‌های کاندیدای شناسایی شده در تحقیق حاضر طی آزمایشات مستقل در آینده می‌توان در صورت تأیید عملکرد این مسیرها و ژن‌ها بر صفت مورد مطالعه در گوسفندان نژاد شیری، نتایج به‌دست آمده را در برنامه‌های اصلاحی در این گونه ارزشمند نیز به کار برد.

Refrences

Alboali H, Moradi MH, Khaltabadi Farahani AH, Mohammadi H. (2024). Genome-wide association study for body weight and feed consumption traits in Japanese quail using Bayesian approaches. *Poultry Science*. 103(1):103208. doi: 10.1016/j.psj.2023.103208.

Argyriadou, A., Michailidou, S., Vouraki, S., Tsartsianidou, V., Triantafyllidis, A., Gelasakis, A., Banos, G., & Arsenos, G. (2023). A genome-wide association study reveals novel SNP markers associated with resilience traits in tow Mediterranean dairy sheep breeds. *Frontiers in Genetics*, 14, 1294573. doi: 10.3389/fgene.2023.1294573.

Colombani C., Legarra A., Fritz S., Guillaume F., Croiseau P., Ducrocq V. and Robert-Granié C. (2012). Application of Bayesian least absolute shrinkage and selection operator (LASSO) and BayesCp methods for genomic selection in French Holstein and Montbéliarde breeds. *Journal of Dairy Science,* 96: 575-591. doi: 10.3168/jds.2011-5225. Epub 2012 Nov 3.

Chang, C.C., Chow, C.C., Tellier, L.C., Vattikuti, S., Purcell, S.M., & Lee J.J. (2015). Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *Gigascience*, 4, 7. doi:10.1186/s13742-015-0047-8.

Chernet TF, Tarekegn GM, Ally OM, Meseret S, Mrode R, Negussie E, Bedada ZE, Gebreyohanes G, Ekine-Dzivenu C, Tera A, Tessema TS. (2025). Single-step genome-wide association study of milk somatic cell scores across multi-cattle breeds in Ethiopia. *Animal Biotechnology*, (1):2586262. doi: 10.1080/10495398.2025.2586262.

Cizkova, Magdalena, Géraldine Cizeron-Clairac, Sophie Vacher, Aurélie Susini, Catherine Andrieu, Rosette Lidereau, and Ivan Bièche. (2010). Gene expression profiling reveals new aspects of PIK3CA mutation in ERalpha-positive breast cancer: major implication of the Wnt signaling pathway. *PLoS One* 5, no. 12: e15647. doi: 10.1371/journal.pone.0015647.

Flori, L., Moazami−Goudarzi, K., Alary, V., Araba, A., Boujenane, I., Boushaba, N., (2019). A genomic map of climate adaptation in Mediterranean cattle breeds. Molecular Ecology, 28, 1009–1029.doi: 10.1111/mec.15004

Gorji, A. E., Z. Roudbari, B. Sadeghi, A. Javadmanesh, and T. Sadkowski. 2019. Transcriptomic analysis on the promoter regions discover gene networks involving mastitis in cattle. (2019). Microbial Pathology,137:103801. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103801.

Jung JH, Lee SM, Oh SH. (2024). A genome-wide association study on growth traits of Korean commercial pig breeds using Bayesian methods. *Anim Bioscience,* 2024 May;37(5):807-816. doi: 10.5713/ab.23.0443. Epub 2024 Apr 15.

Habier D., Fernando R. L., Kizilkaya K. and Garrick D. J. (2011). Extension of the Bayesian alphabet for genomic selection. *BMC Bioinformatics,* 12:1. doi: 10.1186/1471-2105-12-186.

Khaltabadi Farahani A. M., Mohammadi H. Moradi M. H. and Ghasemi H. A. (2020). Identification of potential genomic regions for egg weight by a haplotype-based genome-wide association study using Bayesian methods. *British Poultry Science,* 26:1-7. doi: 10.1080/00071668.2020.1724879.

Kominakis, A., Hager-Theodorides, A.L., Saridaki, A., Antonakos, G., & Tsiamis, G. (2017). Genome-wide population structure and evolutionary history of the Frizarta dairy sheep. *Animal,* (10), 1680-1688. doi: 10.1017/S1751731117000428. Epub 2017 Mar 9.

Križanac, A. M., C. Reimer, J. Heise, Z. Liu, J. E. Pryce, J. Bennewitz, G. Thaller, C. Falker-Gieske, and J. Tetens. (2025). Sequence-based genome-wide association study and fine-mapping in German Holstein reveal new quantitative trait loci for health traits. *Journal of Dairy Science,* 108, no. 7 (2025): 7310-7328. doi: 10.3168/jds.2025-26328. Epub 2025 May 9.

Mallikarjunappa, Sanjay, Mehdi Sargolzaei, Luiz F. Brito, Kieran G. Meade, N. A. Karrow, and S. D. Pant. (2018). Uncovering quantitative trait loci associated with resistance to Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis infection in Holstein cattle using a high-density single nucleotide polymorphism panel. *Journal of dairy science* 101, no. 8, 7280-7286. doi: 10.3168/jds.2018-14388. Epub 2018 May 10.

Mokhber, Mahdi, Mohammad Moradi-Shahrbabak, Mostafa Sadeghi, Hossein Moradi-Shahrbabak, Alessandra Stella, Ezequiel Nicolzzi, Javad Rahmaninia, and John L. Williams. (2018). A genome-wide scan for signatures of selection in Azeri and Khuzestani buffalo breeds. *BMC genomics* 19, no. 1 (2018): 449. doi: 10.1186/s12864-018-4759-x.

Moioli B, D'Andrea S, De Grossi L, Sezzi E, De Sanctis B, Catillo G, (2016). Genomic scan for identifying candidate genes for paratuberculosis resistance in sheep. *Animal Production Science,* 2016;56:1046–55 https://doi.org/10.1071/AN14826

Oget, C., Tosser-Klopp, G., and Rupp, R. (2019). Genetic and genomic studies in ovine mastitis. *Small Ruminant Research,* 176, 55–64. doi: 10.1016/j.smallrumres.2019. 05.011

Öner, Y.; Serrano, M.; Sarto, P.; Iguácel, L.P.; Piquer-Sabanza, M.; Estrada, O.; Juan, T.; Calvo, J.H. (2021). Genome-Wide Association Studies of Somatic Cell Count in the Assaf Breed. *Animals* 2021, 11, 1531.https://doi.org/10.3390/ani11061531

Oliveira, H. R., D. A. L. Lourenco, Y. Masuda, I. Misztal, S. Tsuruta, J. Jamrozik, L. F. Brito, F. F. Silva, J. P. Cant, and F. S. Schenkel. (2019). Single-step genome-wide association for longitudinal traits of Canadian Ayrshire, Holstein, and Jersey dairy cattle. *Journal of dairy science* 102, no. 11 (2019): 9995-10011. doi: 10.3168/jds.2019-16821. Epub 2019 Aug 30.

Peters S., Kizilkaya K., Garrick D., Fernando R., Reecy J., Weaber R., Silver G. and Thomas M. (2012). Bayesian genome-wide association analysis of growth and yearling ultrasound measures of carcass traits in Brangus heifers. *Journal of Animal Science* 90: 3398-3409. doi: 10.2527/jas.2012-4507. Erratum in: J Anim Sci.

Sutera, A. M., Portolano, B., Di Gerlando, R., Sardina, M. T., Mastrangelo, S., and Tolone, M. (2018). Determination of milk production losses and variations of fat and protein percentages according to different levels of somatic cell count in Valle del Belice dairy sheep. *Small Ruminant Research,* 162, 39–42. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.03.002

Sutera AM, Moscarelli A, Mastrangelo S, Sardina MT, Di Gerlando R, Portolano B and Tolone M (2021) Genome-Wide Association Study Identifies New Candidate Markers for Somatic Cells Score in a Local Dairy Sheep. *Frontiers in Genetics,* 12:643531. doi: 10.3389/fgene.2021.643531

Thambiraja, Menaka, Shukrruthi K. Iyengar, Brintha Satishkumar, Sai Rohith Kavuru, Aakanksha Katari, Dheer Singh, Suneel K. Onteru, and Ragothaman M. Yennamalli. (2026). Genetic basis of immunity in Indian cattle as revealed by comparative analysis of Bos genome." *Scientific Reports* (2026). doi: 10.1038/s41598-026-44002-9.

Verardo, Lucas Lima, Fabyano Fonseca e Silva, Marco Antonio Machado, João Cláudio do Carmo Panetto, Daniele Ribeiro de Lima Reis Faza, Pamela Itajara Otto, Luciana Correia de Almeida Regitano et al. (2021). Genome-wide analyses reveal the genetic architecture and candidate genes of indicine, taurine, synthetic crossbreds, and locally adapted cattle in Brazil. *Frontiers in Genetics* 12 (2021): 702822. doi: 10.3389/fgene.2021.702822.

Wolc A., Arango J., Settar P., Fulton J. E., O'sullivan N. P. and Preisinger R. (2012). Genome-wide association analysis and genetic architecture of egg weight and egg uniformity in layer chickens. *Animal Genetics,* 43: 87–96. doi: 10.1111/j.1365-2052.2012.02381.x.

Yan, Mengjie, Dan Wang, Shengchao Ma, Jiangkun Wang, Lei Xu, Menghua Zhang, and Xixia Huang. (2026). Differences in Peripheral Blood Gene Expression of Xinjiang Brown Cattle with Varying Somatic Cell Counts. *Biology* 15, no. 11 (2026): 830. doi: 10.3390/biology15110830.

Yin L, Zhang H, Li X, Zhao S, Liu X (2021). hibayes: Individual-Level, Summary-Level and Single-Step Bayesian Regression Model for Genome-Wide Association and Genomic Prediction." R package version 1.0.0. https://doi.org/10.18637/jss.v114.i06

Zaruba M, Chen HW, Pietsch OF, Szakmary-Braendle K, Auer A, Mötz M, Seitz K, Düsterhöft S, Workman AM, Rümenapf T, Riedel C. (2022). *ADAM17* Is an Essential Factor for the Infection of Bovine Cells with Pestiviruses. *Viruses,* Feb 13;14(2):381. doi: 10.3390/v14020381.

Zhu X, Stephens M (2016). Bayesian large-scale multiple regression with summary statistics from genome-wide association studies. doi:10.1101/042457.