

تعیین جایگاه‌های تحت انتخاب مثبت در نژادهای گوسفند ایرانی بلوچی و زل

زینب منظری^۱، حسن مهربانی‌یگانه^۲، اردشیر نجاتی‌جواری^{۳*}، محمدحسین مرادی^۴ و محسن قلی‌زاده^۲

۱ و ۲. دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیاران، گروه علوم دامی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی،

پدیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

۳. استادیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه اراک

۴. استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۳/۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۶/۲۰)

چکیده

نشانه‌های انتخاب در کل ژنگان (ژنوم)، ما را در درک سازوکارهای انتخاب و شناسایی مناطقی از ژنگان که در طی سالیان متمادی به صورت طبیعی و یا مصنوعی انتخاب شده‌اند، راهنمایی می‌کنند. هدف این تحقیق شناسایی نقاطی از ژنگان در گوسفندان زل و بلوچی بود که در طی سال‌های مختلف به صورت مصنوعی یا طبیعی انتخاب شده‌اند. ۱۴۳ رأس گوسفند بلوچی (۹۶ رأس) و زل (۴۷ رأس)، با استفاده از آرایه‌های ژنگانی Illumina ovine SNP50K BeadChip تعیین ژنوتیپ شدند. برای جستجوی نشانه‌های انتخاب از آزمون نأریب F_{ST} ویر و کوکرهام (تا) در بسته نرم‌افزاری R استفاده شد. نتایج ۱۷ منطقه ژنگانی روی کروموزوم‌های ۳، ۴، ۵، ۷، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۵، ۱۸ و X را شناسایی کرد. تجزیه و تحلیل اطلاعات زیستی (بیوانفورماتیک) نشان داد که برخی از این مناطق ژنگانی با ژن‌های مؤثر بر صفات گسترش نظام استخوان‌بندی (اسکتلی) و دم، ایمنی و یاخته‌شناختی (سیتولوژی) یاخته‌ای، سوخت‌وساز (متابولیسم) قند و انرژی و تولیدمثلی مانند ژن‌های RPS6KA3، HOXB9، ESPL1، AAAS، FNDC3A، همپوشانی دارند. نتایج این تحقیق و جایگاه‌های ژنگانی شناسایی شده می‌تواند نقش مهمی در رابطه با بررسی تأثیر انتخاب در تمایز جمعیتی دو نژاد دنبه‌دار بلوچی و بدون دنبه زل و در پی آن شناسایی مناطق ژنگانی مرتبط با صفات متمایزکننده این دو نژاد داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: انتخاب مثبت، روش ویر و کوکرهام، ژن‌های نامزد، گوسفند بلوچی، گوسفند زل.

Detection of loci under positive selection in Iranian Baluchi and Zel sheep breeds

Zeinab Manzari¹, Hassan Mehrabani- Yeghaneh², Ardeshir Nejati- Javaremi^{2*}, Mohammad Hossein Moradi³ and Mohsen Gholizadeh⁴

1, 2. M. Sc. Student and Associate Professors, Department of Animal Science, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

3. Assistant Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Arak, Iran

4. Assistant Professor, Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran

(Received: May. 25, 2016- Accepted: Sep. 10, 2016)

ABSTRACT

Selective signatures in whole genome can help us to understand the mechanisms of selection and to identify the genomic regions that have been under natural or artificial selection during long years. The objective of this study was to identify the genomic regions that have been under artificial and natural selection in Baluchi and Zel sheep breeds. 143 sheep from Baluchi (N=96) and Zel breeds (N=47) have been genotyped using the Illumina ovine SNP50 BeadChip. Unbiased method of Weir and Cockerham's F_{ST} (Theta) was used to detect the selection signatures in the R package. The results revealed seventeen genomic regions on 3, 4, 5, 7, 10, 11, 12, 13, 15, 18 and X chromosomes. Bioinformatics analysis demonstrated that some of these genomic regions overlapped with reported genes included in the development of the skeletal system and tail, cytology cells, immune system, sugar and energy metabolism and reproduction traits such as RPS6KA3, HOXB9, ESPL1, AAAS, FNDC3A genes. The results of the present study and the identified genomic regions can play an important role in study of the effect of the selection on population differentiation in two Baluchi fat-tailed and Zel thin-tailed breeds and subsequently, would direct us to identify the genomic regions associated with traits differentiate these breeds.

Keywords: Baluchi sheep, Candidate genes, Positive selection, unbiased method of Weir and Cockerham's F_{ST} , Zel sheep.

مقدمه

گوسفند به‌عنوان یکی از نخستین دام‌های اهلی در حدود ۹۰۰۰ سال پیش در ناحیه عراق و ایران امروزی (Zeder, 1999) برای تولید گوشت اهلی شد (Chessa *et al.*, 2009). از زمان اهلی شدن تاکنون، نژادهای مختلف گوسفند در سراسر جهان هدف انتخاب‌های طبیعی و مصنوعی قرار گرفته‌اند که این انتخاب‌ها با ایجاد نشانه‌هایی در سطح ژنگان (ژنوم) همراه است (Amaral *et al.*, 2011; Randhawa *et al.*, 2014). انتخاب‌های طبیعی و مصنوعی هنگامی رخ می‌دهند که افراد با ژنوتیپ خاص ظرفیت متفاوتی را برای مخزن ژنی نسل آینده ایجاد می‌کنند (Aquadro *et al.*, 2001). با توجه به اینکه افرادی که شایستگی بیشتری دارند در تشکیل نسل بعد مشارکت بیشتری می‌کنند، فراوانی هم‌ردیف ژنی (آلل) جهش‌یافته آن‌ها نیز بسته به سهم آن در افزایش شایستگی به‌سرعت آغاز به افزایش خواهد کرد، در چنین مواقعی انتخاب مثبت رخ می‌دهد. به انتخابی که به سود جهش‌هایی با اثرگذاری مطلوب در جمعیت‌های مختلف رخ می‌دهند انتخاب مثبت گفته می‌شود. انتخاب مثبت در طی زمان منجر به تمایز نژادها از همدیگر می‌شوند. در برابر انتخاب‌هایی همچون انتخاب متوازن‌کننده نیز هنگامی مطرح می‌شود که منجر به افزایش ناخالصی (هتروزیگوسیتی) در جمعیت‌ها شده و در نتیجه تنوع را در بین جمعیت‌ها حفظ می‌کنند (Nielsen, 2005). با استفاده از اطلاعات به‌دست‌آمده از بررسی نشانه‌های انتخاب و در نتیجه شناسایی مناطقی از ژنگان که در نژادهای گوناگون به‌صورت متمایز هدف انتخاب مثبت قرار گرفته‌اند می‌توان اطلاعاتی در مورد مراحل تکامل گونه‌های مختلف در طی سالیان طولانی و همچنین جایگاه‌های ژنگانی نامزد (کاندیدا) برای صفات فنوتیپی متمایزکننده این نژادها به‌دست آورد (Lopez *et al.*, 2015). نشانه‌های انتخاب را می‌توان از راه تغییر فراوانی هم‌ردیف‌های ژنی و کاهش عدم تعادل پیوستگی (لینکاژی) شناسایی کرد (Zhu *et al.*, 2015). هنگامی که جمعیت‌ها در مکان‌های جغرافیایی مختلف تحت فشارهای انتخاب متفاوتی قرار می‌گیرند، فراوانی‌های هم‌ردیفی ژنی تغییر می‌کنند، درحالی‌که

فراوانی همان هم‌ردیف‌های ژنی در دیگر جمعیت‌ها ممکن است بدون تغییر بماند. نتیجه این حالت ایجاد تفرق در بین جمعیت‌ها در این مناطق ژنگانی است. بنابراین تفاوت به نسبت زیاد در فراوانی یک هم‌ردیف ژنی و جایگاه‌های اطراف آن در بین جمعیت‌های مختلف می‌تواند به‌عنوان نشانه‌ای از انتخاب مثبت در جایگاه‌های ژنگانی مربوطه به شمار آید (Barreiro *et al.*, 2008).

گوسفند بلوچی و زل از جمله جمعیت‌های گوسفندان ایرانی هستند که در طی سالیان طولانی تحت تأثیر انتخاب طبیعی و مصنوعی قرار گرفته‌اند. گوسفند بلوچی حدود ۳۰ درصد از جمعیت گوسفندان ایرانی را در بر می‌گیرد که گستردگی زیادی در مناطق مختلف ایران از جمله شرق و جنوب‌شرق ایران دارد. این نژاد استخوان‌بندی قوی، بدن مستقیم و توان کافی برای راهپیمایی داشته و سرعت بالا رفتن آن در مراتع کوهستانی به دلیل سبکی وزن و دنبه به نسبت کوچک، شایان‌ملاحظه است (Mottaghinia *et al.*, 2012). گوسفند زل تنها نژاد بی‌دنبه بومی ایران است که حداقل بین گوسفندان اهلی و وحشی است (Khaldari, 2014). این نژاد بیشتر در دامنه‌های شمالی رشته کوه‌های البرز پراکنده است. این حیوان به دلیل نداشتن دنبه و بلندی نسبی دست‌وپا و نیز سبک بودن وزن بدن، توانایی زیادی در راهپیمایی و پیمودن مسیرهای مرتفع دارد (Saadat-Noori, 1987).

در سال‌های اخیر بررسی‌هایی برای بررسی تمایز جمعیتی در حیوانات اهلی صورت گرفته است (Wang *et al.*, 2015; Wei *et al.*, 2015). در پژوهشی Moradi *et al.* (2012) مناطق ژنگانی مؤثر بر صفت ذخیره چربی را در دو نژاد گوسفند ایرانی زل و لری بختیاری بررسی کردند. آن‌ها هفت منطقه ژنگانی دارای بیشترین تمایز ژنتیکی بین این دو نژاد را شناسایی کردند که در نهایت با انجام بررسی‌های مکان‌یابی دقیق، سه منطقه ژنگانی روی کروموزوم‌های ۵، ۷ و X را به‌عنوان مناطق ژنگانی نامزد برای این صفت گزارش کردند. در ارتباط با نحوه توارث صفت دنبه در این نژادها نیز گزارش‌های متفاوتی وجود دارد. برخی از تحقیقات نشان داد زمانی که قوچ‌های بدون

علوم پزشکی دانشگاه اویسالا (سوئد) و نمونه‌های گوسفند زل در مرکز ژنومیکس و تولیدمثل Invermay در کشور نیوزلند تعیین ژنوتیپ شدند. تعیین ژنوتیپ در هر دو نژاد با استفاده از آرایه‌های Beadchip Ovine SNP50K و با به‌کارگیری شیوه‌نامه (پروتکل) استاندارد شرکت ایلومینا (www.illumina.com) انجام شد لذا همه نشانگرها در دو بررسی نقشه ژنگانی یکسانی داشتند. پس از تعیین ژنوتیپ برای اطمینان از کیفیت داده‌های به‌دست آمده در تجزیه و تحلیل نهایی، مراحل مختلف کنترل کیفیت روی داده‌های اولیه اعمال شد. در آغاز حیوانات با بیش از ۵ درصد ژنوتیپ از دست‌رفته از تجزیه‌های بعدی کنار گذاشته شدند. آن‌گاه SNPهایی که در مجموع حیوانات دارای کمترین فراوانی هم‌ردیفی ژنی (MAF) کمتر از ۲ درصد و Call rate (درصدی از نمونه‌ها که برای آن نشانگر تعیین ژنوتیپ شده‌اند) کمتر از ۹۵ درصد بودند، حذف شدند. در نهایت برای SNPهای باقی‌مانده آن‌هایی که در هر کدام از نژادهای مورد بررسی تعادل هاردی-واینبرگ نداشتند به‌عنوان معیاری از خطای تعیین ژنوتیپ (Teo et al., 2007) کنار گذاشته شدند. به این منظور سطح احتمال 10^{-6} در نظر گرفته شد که با استفاده از تصحیح بنفرونی به دست آمد. تجزیه و تحلیل این بخش با نرم‌افزار Plink صورت گرفت (Purcell et al., 2007). برای داشتن دیدگاهی کلی در زمینه ساختار جمعیتی نژادهای مورد بررسی و شناسایی حیواناتی که بیرون از گروه نژادی خود قرار گرفته‌اند، تجزیه مؤلفه‌های اصلی (Principal Component Analysis) در محیط R انجام شد.

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، می‌پردازند (MacEachern et al., 2009; Akey et al., 2002). برای بررسی الگوی انتخاب مثبت در سطح ژنگان این دو نژاد، آماره F_{ST} در هر جایگاه با استفاده از روش ناریب تتا (Weir & Cockerham, 1984) در محیط نرم‌افزار R محاسبه شد. مزیت روش F_{ST} ناریب تتا نسبت به روش پایه‌ای F_{ST} که توسط رایب ارائه شد (Bonhomme et al.,

دنبه با میش‌های دنبه‌دار تلاقی داده شوند، بره‌های زاده‌شده بدون دنبه می‌شوند (Unal et al., 2006; Marai et al., 2009) این در حالی است که برخی از محققان همچون (Khaldari et al., 2007) نیز گزارش کرده‌اند که حاصل تلاقی این نژادها ایجاد بره‌های نیم دنبه خواهد بود. این گزارش‌ها نشان‌دهنده یک توارث ساده با تأثیر غالبیت یا افزایشی در این صفت است، فرضیه توارث چندژنی نیز برای این صفت مطرح شده است (Cavanagh et al., 2003). به‌رحال نحوه وراثت این صفت هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است. مقایسه نژادهایی مانند بلوچی که بالاترین فراوانی در بین نژادهای ایرانی را دارد و نژاد زل که تنها نژاد بی‌دنبه کشور است، می‌تواند از دیدگاه علمی و اقتصادی اهمیت زیادی داشته باشد. بنابراین هدف از انجام این تحقیق، شناسایی مناطق در معرض انتخاب‌های طبیعی و مصنوعی در دو نژاد شاخص ایرانی زل و بلوچی است که با استفاده از کاوش ژنگان برای حدود ۵۱۰۰۰ جایگاه نشانگری SNP انجام خواهد شد.

مواد و روش‌ها

از گله‌هایی که تحت نظام ثبت شجره و رکوردگیری مرکز اصلاح نژاد کشور قرار داشتند، نمونه‌گیری شد. در انتخاب حیوانات به دو عامل توجه شد که حیوانات نمونه‌گیری‌شده کمترین رابطه خویشاوندی را با یکدیگر داشته باشند و از سوی دیگر نمونه‌های گردآوری‌شده بتوانند نماینده‌ای از تنوع نژاد موردنظر باشند (Moradi et al., 2012). به این منظور نمونه‌های نژاد بلوچی از گله‌های دارای شجره در مرکز اصلاح نژاد شمال شرق کشور (عباس‌آباد) وابسته به سازمان جهاد کشاورزی استان خراسان رضوی (Gholizadeh et al., 2014) و نمونه‌های نژاد زل از گله‌های تحت پوشش مرکز اصلاح نژاد در استان مازندران (Moradi et al., 2012) گردآوری شدند. در مجموع ۴۷ نمونه از گوسفندان نژاد زل و ۹۶ نمونه از گوسفندان نژاد بلوچی تعیین ژنوتیپ شدند. استخراج DNA با استفاده از روش بهینه استخراج نمکی (Helms, 1990) از خون کامل انجام شد. نمونه‌های گوسفند بلوچی در بخش مولکولی گروه

جفت باز پیش و پس از نقاط آغاز و پایان توالی مرتبط با مناطق انتخابی به وسیله پایگاه اطلاعاتی Biomart (<http://asia.ensembl.org/biomart/martview>)، Genecards (<http://www.genecards.org>) و UniProtKB Gene (http://www.uniprot.org/help/gene_name) بررسی شد. همچنین برای پیش‌بینی ارتباط متقابل ژن‌های شناسایی شده در مناطق راست نسخه (اورتولوگوس) روی ژنگان گاو با استفاده از جستجوی BLAT در پایگاه (<http://gbrowse-ext.bioinformatics.csiro.au/gb2/gbrowse/oarv3/>) شناسایی شد. در مرحله نهایی مناطق راست نسخه گاو در پایگاه (<http://string-db.org>) STRING برای ترسیم شبکه ژنی کاوش شد.

نتایج و بحث

پس از مراحل ویرایش داده‌ها، در نهایت ۴۷۴۳۴ نشانگر SNP مربوط به ۱۳۱ حیوان (۴۵ نمونه نژاد زل، ۸۶ نمونه نژاد بلوچی) برای تجزیه و تحلیل‌های بعدی انتخاب شدند. مراحل مختلف ویرایش داده‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است.

این است که در روش نآریب تنا ناهمگنی اندازه جمعیت‌ها لحاظ می‌شود. F_{ST} یک روش ارزیابی تفرق جمعیتی بر پایه داده‌های چندشکلی ژنتیکی است. ارزش‌های به دست آمده از تجزیه و تحلیل این آماره می‌توانند بین ۰ (بدون تفاوت) تا ۱ (تفاوت کامل)، که هر جمعیت برای هم‌ردیف ژنی متفاوتی ثابت شده‌اند) متغیر باشند. به هر حال، با توجه به اینکه این روش یک برآوردگر نآریب است احتمال به دست آوردن ارزش‌های منفی نیز وجود دارد (Akey *et al.*, 2002). برای شناسایی بهتر نشانه‌های انتخاب در سطح ژنگان به جای در نظر گرفتن ارزش عددی هر SNP از میانگین ارزش‌های عددی تنای SNP‌های مجاور با طول ۵ SNP تحت عنوان ارزش Win5 استفاده شد. در این تحقیق تنها ۰/۱ درصد از مناطقی از ژنگان که در آن همه نشانگرهای مجاور ارزش بالایی داشتند به عنوان نشانه‌های انتخاب شناسایی و تعیین شدند (Moradi *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2015; Wei *et al.*, 2015). برای تعیین موقعیت ژنگانی SNP‌ها در سطح ژنگان از OAR true chromosomes ver.3.1 مرکز CSIRO استرالیا استفاده شد. به منظور شناسایی ژن‌های مرتبط با بخش‌های انتخابی ژنگان، ۵۰۰ کیلو

جدول ۱. توصیف مراحل کنترل کیفیت در گوسفند نژاد بلوچی و زل

Table 1. Description of the quality control steps in Zel-Baluchi sheep breeds

Quality control in Zel- Baluchi data set	
Number of Animals	143 (96 Baluchi sample and 47 Zel sample)
Excluding Animals with 95% Call rate	12 (10 Baluchi sample and 2 Zel sample)
Remaining Animals	131 (86 Baluchi sample and 45 Zel sample)
Number of SNPs	51103
Excluding SNPs $\leq 2\%$ MAF over all animals	2730
Excluding SNPs $\leq 95\%$ Call rate over all animals	902
Excluding SNPs with deviation from HW (< 0.000001)	37 (15 Baluchi sample and 22 Zel sample)
Remaining SNPs	47434

گروه‌های جداگانه‌ای قرار می‌گیرند و در هیچ نقطه‌ای همپوشانی ندارند (شکل ۱). در تحقیقات روی گونه‌های دیگر نیز نتایج همسانی بر پایه PC1 و PC2 با مقدار عددی واریانس نزدیک به این تحقیق گزارش شده است (Barendse *et al.*, 2009; Kijas *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2015).

در این تحقیق، برای شناسایی بهتر مناطق ژنگانی تحت انتخاب در کل ژنگان نگاره (گراف) منهتن ترسیم شد. در این گراف بخش‌هایی از ژنگان که ارزش

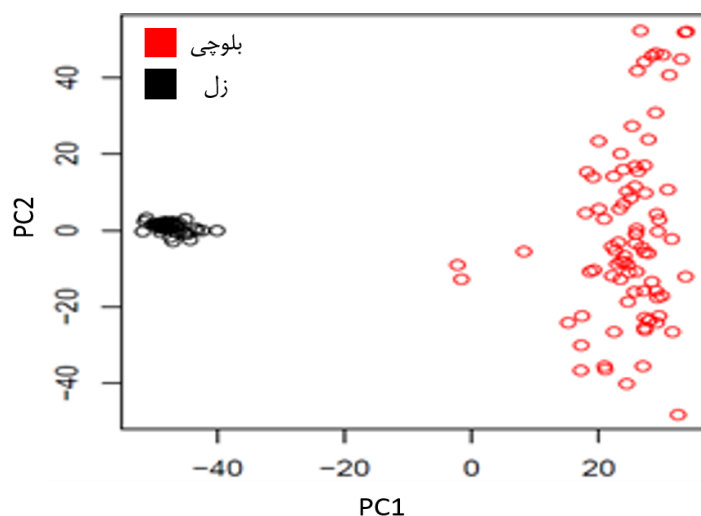
فاصله بین SNP‌ها با یکدیگر کمی تفاوت داشت ولی میانگین آن‌ها در سراسر ژنگان ۶۰ kb بود. در این تحقیق، ساختار جمعیتی نژادهای گوسفند بلوچی و زل بررسی شد. برای بررسی نحوه قرار گرفتن حیوانات در گروه‌های نژادی، تجزیه و تحلیل PCA با استفاده از اطلاعات تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها به عنوان داده مورد نیاز انجام شد. نتایج نشان داد که PC1 و PC2 به ترتیب ۸ درصد و ۲/۴ درصد از کل واریانس را به خود اختصاص می‌دهند و این دو نژاد با استفاده از این دو مؤلفه در

GeneCards و UniProtKB Gene, Biomart نشان داد که همه این مناطق با صفات توسعه نظام استخوان‌بندی و دم، تولیدمثل، سامانه ایمنی، یاخته‌شناسی یاخته‌ای، سوخت‌وساز (متابولیسم) قند و انرژی مرتبط هستند و فهرست ژن‌هایی که درون یا نزدیک این جایگاه‌های کروموزومی قرار دارند در جدول ۲ ارائه شده است. شماری از ژن‌ها در این بررسی به‌عنوان نشانه‌های انتخاب گزارش شده‌اند، با بررسی‌های پیشین همخوانی داشت (Moradi *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2015; Wei *et al.*, 2015; Zhao *et al.*, 2016).

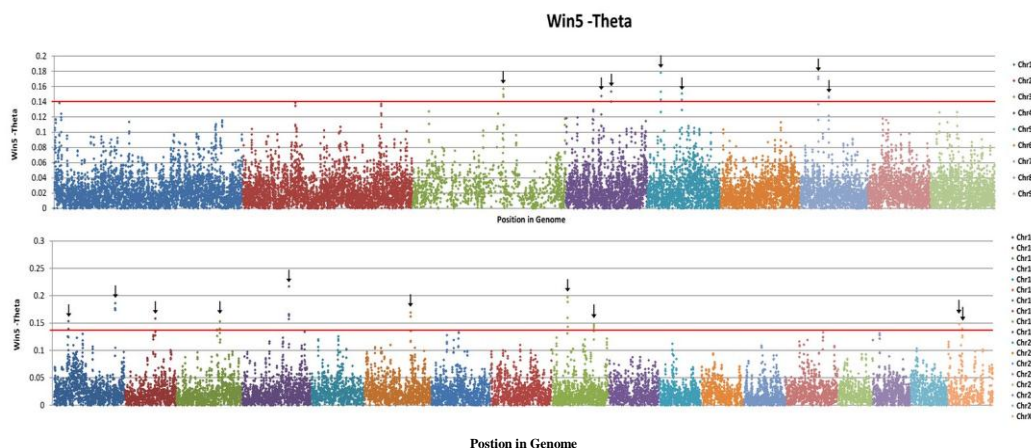
انتخاب مثبت از دیرباز حیواناتی که توان تولیدمثلی یا نرخ بقای بالایی نسبت به هم‌نوعان خود دارند را در تولید نسل آینده شرکت می‌دهد و ژن‌های مؤثر بر صفات تولیدمثلی برای ظهور و تکامل گونه‌های جدید ضروری هستند (Morgan *et al.*, 2010). بررسی‌های پیشین نشان می‌دهد که ژن‌های FNDC3A, RARG, AAAS و SYCP2 که در این تحقیق به ترتیب روی کروموزوم‌های ۳، ۱۰ و ۱۳ به‌عنوان نشانه‌های انتخاب شناسایی شده‌اند بر صفات تولیدمثلی مؤثر هستند (Zheng *et al.*, 2009; Vaysse *et al.*, 2011; Gely-Pernot *et al.*, 2012). ژن RPS6KA3، در ناحیه ژنگانی سامانه ایمنی، گسترش نظام استخوان‌بندی و نظام عصبی مرکزی نقش دارد (GeneCards).

F_{ST} بالایی دارند، نشان‌دهنده تمایز نژادهای بلوچی و زل در آن مناطق ژنگانی در اثر انتخاب مثبت هستند که به دنبال انتخاب‌های طبیعی و مصنوعی در طی نسل‌های مختلف برای جایگاه‌های موردنظر به وجود آمده است. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که در چندین منطقه ژنگانی SNP‌های مجاور تفرق جمعیتی بالایی داشتند، که در نژادهای زل-بلوچی، ۱۷ منطقه ژنگانی روی کروموزوم‌های ۳، ۴ (دو منطقه)، ۵ (دو منطقه)، ۷ (دو منطقه)، ۱۰ (دو منطقه)، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۵، ۱۸ (دو منطقه) و X (دو منطقه) بارزتر تا بالاتر از ۰/۱۴ شناسایی شد (شکل ۲). ارزش‌های تا ۰/۱۴ در مقایسه زل-بلوچی در صدک ۹۹/۹ کل ارزش‌های تا قرار داشت و بسیار معنی‌دار بودند.

در این بخش برخی از ژن‌هایی که تحت انتخاب مثبت بودند بحث می‌شوند. ژن‌های چندی در نواحی ژنگانی شناسایی شده می‌توانند به‌عنوان نامزدهای تحت انتخاب مثبت مطرح باشند. در این بررسی نژاد دنبه‌دار بلوچی و بدون دنبه زل را بررسی کردیم که نواحی ژنگانی روی کروموزوم‌های ۵، ۷ و X با بررسی همسانی که در نژادهای لری بختیاری و زل شناسایی شد (Moradi *et al.*, 2012) تا حدودی همخوانی دارد. بنابراین یافته‌ها گویای این است که توارث چندژنی ذخیره چربی وابسته به جنس نیست. در کل بررسی همه مناطق ژنگانی تحت انتخاب با استفاده از پایگاه اطلاعاتی



شکل ۱. خوشه‌بندی حیوانات بر پایه تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) با استفاده از داده‌های SNP کل ژنگان. Figure 1. Animal clusters based on principal component analysis (PCA) using whole genome SNP data.



شکل ۲. توزیع ارزش‌های Win5 تنها در سطح ژنگان نژاد زل- بلوچی: موقعیت ژنگانی SNPها روی محور X و ارزش تنها آنها روی محور Y نمایش داده شده است. خط ترسیم‌شده نشان‌دهنده ۹۹/۹۹ صدک کروموزوم‌های اوتوزوم و X است.

Figure 2. Distribution of windowed theta values for Zel versus Baluchi breeds by chromosome: SNP position in the genome is shown on the X-axis, and win5 theta values are plotted on the Y-axis. The values above the line are in the 99.99 percentile of autosomal and chromosome X SNPs.

سرطان پستان می‌شود. همچنین افزایش بیان این ژن نیز به سرطان خون، پروستات و ریه منجر می‌شود (Chen and Capecchi, 1999). این خانواده ژنی در ۷۴ نژاد گوسفند در سراسر جهان (Kijas *et al.*, 2012) و نیز گوسفندان جنوب غربی آسیا و آفریقا (Fariello *et al.*, 2014) تحت انتخاب بوده است.

انتخاب قوی برای عملکرد سامانه ایمنی ممکن است پس از قرار گرفتن حیوانات در معرض عامل‌های بیماری‌زای جدید هنگام تغییر در مدیریت پرورشی برای اهلی شدن و شکل‌گیری نژاد رخ دهد (Ramey *et al.*, 2013). ژن‌های IL-3 در ناحیه ژنگانی CSF2 (۱۹۹۷۳۲۴۳-۱۹۹۷۱۴۵۷) و در ناحیه ژنگانی CSF2 (۱۹۹۵۸۱۵۵-۱۹۹۵۶۱۴۴) روی کروموزوم ۵ در سامانه ایمنی بدن مؤثر هستند. IL-3، قادر به حمایت از گسترش طیف گسترده‌ای از انواع یاخته‌های خون‌ساز است و در انواع فعالیت‌های یاخته مانند رشد یاخته، تمایز و مرگ یاخته‌ای نقش دارد و نیز سایتوکین CSF2، در کنترل تولید، تمایز و عملکرد گرانولوسیت‌ها و بزرگ بیگانه‌خوار (ماکروفاژها) نقش دارد (Genecards).

ژن‌های SLC5A12 از خانواده ژنی SLC که جزو پروتئین‌های غشایی هستند به‌عنوان نشانه‌های انتخاب روی کروموزوم ۱۵ در ناحیه ژنگانی (۵۵۵۴۵۹۷۸-۵۵۵۰۰۹۹۶) قرار گرفته‌اند که در حمل‌ونقل

ژن‌های خانواده HOX که در این تحقیق با منطقه تحت انتخاب روی کروموزوم ۱۱ همپوشانی دارند در کنترل و گسترش جنین، ریخت‌شناختی (مورفولوژی) استخوان‌بندی (الگودهی در امتداد محور قدامی-خلفی)، ساختارهای عصبی و اندام‌های درونی نقش دارند (GeneCards). این گروه ژنی در مهره‌داران نقش کلیدی بازی می‌کنند و ما را در درک تنظیم و چگونگی عملکرد و گسترش اندام‌ها و سامانه عصبی یاری می‌دهد (Van den Akker *et al.*, 2001). ژن HOXB13، روی کروموزوم ۱۱ در ناحیه ژنگانی (۳۷۳۳۸۹۸۸-۳۷۳۳۷۲۳۱) به شدت در میان مهره‌داران حفظ شده و برای رشد و نمو جنین مهره‌داران ضروری است. بیان این ژن با تغییرپذیری‌های پویا در ارتباط با شکل‌گیری لوله ثانویه عصبی (SNT) و دم نقش دارد. نقش ثانویه ژن موردنظر گسترش پوست جنین و بازسازی پوست است (Economides *et al.*, 2003). ژن HOXB9 نیز روی کروموزوم ۱۱ در ناحیه ژنگانی (۳۷۴۱۵۵۴۸-۳۷۴۱۲۲۲۵) در توسعه بافت پستانی پس از بارداری، تکامل استخوان‌بندی محوری ستون فقرات و استخوان بازو مؤثر است (Shrestha *et al.*, 2012). جهش در این ژن سبب نمو کم^۱ غده پستانی پس از بارداری و

1. Hypoplasia

حمل‌ونقل کلسترول، ذخیره‌سازی چربی، شیردهی و گسترش پستان‌ها است (UniProtKB; GeneCards). ژن‌های PPP1R3D در ناحیه ژنگانی (۵۵۹۲۳۶۵۲-۵۵۹۲۲۷۵۳) روی کروموزوم ۱۳ و نیز AAAS در ناحیه ژنگانی (۱۳۳۰۴۹۴۸۲-۱۳۳۰۳۵۵۰۶) روی کروموزوم ۳، در تنظیم سوخت‌وساز، فرآیند زیست‌ساخت (بیوسنتز) و زیست‌سوزی (کاتابولیسم) گلیکوژن نقش دارند (UniProtKB Gene). ژن C12orf10 و EDN3 روی کروموزوم ۳ در ناحیه ژنگانی (۱۳۳۰۵۸۹۴۸-۱۳۳۰۴۹۸۰۶) و ۱۳ (۵۶۴۱۲۲۷۸-۵۶۳۸۸۵۴۹) در تشکیل اعصاب روده و گسترش ملانوسیت در رنگدانه نقش دارد، در گوسفندان پروژه HapMap هدف انتخاب قرار گرفته بود و همچنین ژن ACAN روی کروموزوم ۱۸ در منطقه ژنگانی (۱۹۵۲۰۲۳-۱۹۵۶۰۰۲۳) نیز که در ساختار غضروف و گسترش نظام استخوان‌بندی مؤثر است در ساختار غضروف و عملکرد مفاصل نقش حیاتی دارد (Fariello *et al.*, 2014). در جمعیت‌های اجدادی پروژه HapMap هم انتخاب مثبت شده بود و محققان دریافتند این ژن با قد انسان در ارتباط است (Weedon *et al.*, 2011). نتایج به‌دست‌آمده از شبکه ژنی پیش‌بینی کرد که ژن‌های به‌دست‌آمده با صفات یادشده در ارتباط هستند.

مولکول‌های مختلف (گلوکز، الکترولیت‌ها، انتقال‌دهنده‌های عصبی، اسیدآمین و ...) در سراسر غشاء یاخته‌ای نقش دارند (Lim *et al.*, 2012). افزون بر این در بررسی‌های دیگری ارتباط این خانواده ژنی با عامل‌های تنظیمی و آنزیم‌های گوارشی نیز گزارش شده است (Fredriksson *et al.*, 2008).

ژن‌های مهم دیگری که در این بررسی به‌عنوان نشانه‌های انتخاب شناسایی شدند عبارت‌اند از ژن‌های ESPL1، SYCP2، U6، 5S_rRNA که به ترتیب روی کروموزوم‌های ۳، ۱۳ و ۱۸ هستند و در یاخته‌شناسی (سیتولوژی) یاخته‌ای نقش دارند (GeneCards). سوخت‌وساز انرژی یک نقش اساسی در سازگاری گونه‌ها در محیط‌های افراطی بازی می‌کند. شواهد نشان داد که SNP‌های درگیر در سوخت‌وساز متابولیت‌های اولیه با متغیرهای آب و هوایی در ارتباط هستند (Hancock *et al.*, 2011). تنوع ریخت‌شناختی گوسفند از جمله اندازه بدن (بزرگ در مقابل کوچک) و شکل (دنبه‌دار در برابر بدون دنبه) از اصول سوخت‌وساز انرژی در آب‌وهوای مختلف پیروی می‌کند (Lv *et al.*, 2014). ژن CAV1 در منطقه ژنگانی (۵۱۸۲۰۷۹۱-۵۱۷۸۶۰۳۹) روی کروموزوم ۴، دارای نقش‌های مکملی در یاخته از جمله پاسخ یاخته به گرسنگی، خون‌بندآوری^۱ و

جدول ۲. ژن‌های شناسایی‌شده مرتبط با مناطق تحت انتخاب در نژادهای زل - بلوچی

Table 2. The identified genes under selection in Zel-Baluchi breeds

Gene name	Distance (kb)	Signal position	Chromosome- Region
AAAS- C12orf10- ESPL1-RARG-MFSD5- ITGB7- ZNF740	Within	3:133025037-133174034	3
CAV1	434	4:52255059	4-1
CHN2	Within	4:66633330-66785393	4-2
IL-3	13	5:19986771-20057438	5-1
CSF2	28		
SPRY4- IT1_1	Within	5:50703989-50759855	5-2
SCG5	138	7:26823904-26870173	7-1
PTGDR	54	7:42133836-42202240	7-2
FNDC3A	233	10:19386149-19390547	10-1
DOCK9	Within	10: 75220878-75411431	10-2
HOXB13	419	11:36917331	11
HOXB9	494		
LRRC38	Within	12:52079989-52281445	12
FAM217B- PPP1R3D- CDH26- SYCP2	Within	13:55866953-55970160	13
EDN3	418		
SLC5A12	434	15:55980323-55988510	15
ACAN- 5S_rRNA- U6	Within	18:19342316-19544332	18-1
LRFN5	411	18:50843879-50931502	18-2
CTPS2- S100G- SYAP1	Within	X:13916151-14196713	X-1
RPS6KA3	153	X:17767983	X-2

نتیجه‌گیری

در این تحقیق نشانه‌های انتخاب در دو نژاد گوسفند ایرانی بلوچی و زل، با استفاده از آرایه‌های ژنگانی 50K بررسی شد. نتایج به‌دست‌آمده ۱۷ منطقه ژنگانی را نشان داد که در این دو نژاد به‌صورت متمایز هدف انتخاب‌های مثبت طبیعی یا مصنوعی قرار گرفته‌اند. بررسی ژن‌هایی که تاکنون در این مناطق گزارش شده‌اند، تا حدودی همه این مناطق با صفات مؤثر بر سوخت‌وساز متابولیت‌های اولیه (قند و انرژی)، تولیدمثل، یاخته‌شناختی یاخته‌ای، سامانه ایمنی و گسترش نظام استخوان‌بندی و دم همپوشانی دارند. شناسایی این جایگاه‌های ژنگانی می‌تواند نقش مهمی در تحقیقات بعدی برای شناسایی مناطق ژنگانی مرتبط با صفات متمایزکننده این دو نژاد

شاخص کشور و درک بهتر سازوکارهای زیستی مشارکت‌کننده در سازگاری تکاملی این دو نژاد به شرایط آب و هوایی ویژه‌ای که با آن سازگار شده‌اند، داشته باشد.

سپاسگزاری

از همکاری مرکز اصلاح‌نژاد کشور و عباس‌آباد مشهد برای در اختیار گذاشتن حیوانات و همچنین از حمایت‌های مالی مرکز اصلاح‌نژاد کشور، مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، قطب علمی بهبود کمیت و کیفیت لاشه گوسفندان بومی دانشگاه تهران، مؤسسه مبارک اندیش، مرکز تحقیقاتی AgResearch نیوزلند و صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF) در اجرای این طرح، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Akey, J. M., Zhang, G., Zhang, K., Jin, L. & Shriver, M. D. (2002). Interrogating a high density SNP map for signatures of natural selection. *Genome research*, 12(12), 1805-14.
2. Amaral, A. J., Ferretti, L., Megens, H. J., Crooijmans, R. P., Nie, H., Ramos-Onsins, S. E. & *et al.* (2011). Genome-wide footprints of pig domestication and selection revealed through massive parallel sequencing of pooled DNA. *PLoS One*, 6(4), e14782.
3. Aquadro, C. F., Bauer Dumont, V. & Reed, F. A. (2001). Genome-wide variation in the human and fruitfly: a comparison. *Current Opinion in Genetics & Development*, 11, 627-634.
4. Barendse, W., Harrison, B. E., Bunch, R. J., Thomas, M. B. & Turner, L. B. (2009). Genome wide signatures of positive selection, the comparison of independent samples and the identification of regions associated to traits. *BMC Genomics*, 10, 178.
5. Barreiro, L. B., Laval, G., Quach, H., Patin, E. & Quintana-Murci, L. (2008). Natural selection has driven population differentiation in modern humans. *Nat Genet*, 40, 340-345.
6. Bonhomme, M., Chevalet, C., Servin, B., Boitard, S., Abdallah, J., Blott, S. & Sancristobal, M. (2010). Detecting selection in population trees: the Lewontin and Krakauer test extended. *Genetics*, 186, 241-62.
7. Cavanagh, C. R., Attard, G., Palmer, D., Thomson, P. C., Tammen, I. & Raadsma, H. W. (2003). Comparisons of quantitative trait loci (QTL) detected for fat deposition in sheep using computed tomography. In: *15th Conference of the Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics*, 7th-11th July., University of Melbourne, Melbourne, pp. 367-370.
8. Chen, F. & Capecchi, M. R. (1999). Paralogous mouse Hox genes, Hoxa9, Hoxb9, and Hoxd9, function together to control development of the mammary gland in response to pregnancy. *PNAS*, 96, 541-546.
9. Chessa, B., Pereira, F., Arnaud, F., Amorim, A., Goyache, F., Mainland, I. & *et al.* (2009). Revealing the history of sheep domestication using retrovirus integrations. *Science*, 324, 532-536.
10. Economides, K. D., Zeltser, L. & Capecchi, M. R. (2003). Hoxb13 mutations cause overgrowth of caudal spinal cord and tail vertebrae. *Dev Biol*, 256, 317-330.
11. Ensembl BioMart: Ensembl online genome data base BioMart Tool. <http://www.ensembl.org/biomart/martview/>.
12. Fariello, M. I., Servin, B., Tossier-Klopp, G., Rupp, R., Moreno, C., San Critobal, M., Boitard, S. & Consortium, I. S. G. (2014). Selection Signatures in Worldwide Sheep Populations. *PLoS ONE*, 9(8), e103813.
13. Fredriksson, R., Nordstrom, K. J., Stephansson, O., Hagglund, M. G. & Schioth, H. B. (2008). The solute carrier (SLC) complement of the human genome: phylogenetic classification reveals four major families. *FEBS letters*, 582, 3811-3816.
14. Gely-Pernot, A., Raverdeau, M., Celebi, C., Dennefeld, C., Feret, B., Klopfenstein, M. & *et al.* (2012). Spermatogonia differentiation requires retinoic acid receptor gamma. *Endocrinology*, 153, 438-449.

15. GeneCards. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=STAT>
16. Gholizadeh, M., Rahimi-Mianji, G., Nejati-Javaremi, A., De Koning, D. J. & Jonas, E. (2014). Genomewide association study to detect QTL for twinning rate in Baluchi sheep. *Journal of Genetics*, 93(2), 489-93.
17. Hancock, A. M., Brachi, B., Faure, N., Horton, M. W., Jarymowycz, L. B., Sperone, F. G. & *et al.* (2011). Adaptation to climate across the Arabidopsis thaliana genome. *Science*, 334, 83-86.
18. Helms, C. (1990). Salting out Procedure for Human DNA extraction. Retrieved April 20, 2010, from http://humgen.wustl.edu/hdk_lab_manual/dna/dna2.html.
19. Kijas, J. W., Lenstra, J. A., Hayes, B., Boitard, S., Neto, L. R. P., San Cristobal, M. & *et al.* (2012). Genome-Wide Analysis of the World's Sheep Breeds Reveals High Levels of Historic Mixture and Strong Recent Selection. *PLoS Biology*, 10(2), e1001258.
20. Khaldari, M., Kasha, N.E.J., Afzalzadeh, A. & Salehi, A. (2007). Growth and carcass characteristics of crossbred progeny from lean tailed and fat tailed sheep breeds. *South African Journal of Animal Science*, 37(1), 51-56.
21. Khaldari, M. (2014). *Sheep and goat husbandry (5th Ed.)*. Jahade-daneshgahi publisher (in Farsi).
22. Lim, C. H., Jeong, W., Lim, W., Kim, K., Song, G. & Bazer, F. W. (2012). Differential Expression of Select Members of the SLC Family of Genes and Regulation of Expression by MicroRNAs in the Chicken Oviduct. *Biology of Reproduction*, 87(6), 1-9.
23. Lopez, M. E., Naira, R. & Yanez, J. M. (2015). Applications in the search for genomic selection signatures in fish. *Frontiers in Genetics*, 458(5), 1-12.
24. Lv, F. H., Agha, S., Kantanen, J., Colli, L., Stucki, S. & Kijas, J. W. (2014). Adaptations to climate-mediated selective pressures in sheep. *Molecular biology and evolution*, 31(12), 3324-3343.
25. Marai, I. F. M., Daader, A. H. & Bahgat, L. B. (2009). Performance traits of purebred Ossimi and Rahmani lambs and their crosses with Finnsheep born under two accelerated mating systems. *Arch Tierz*, 52, 497-51.
26. MacEachern, S., Hayes, B., McEwan, J. & Goddard, M. (2009). An examination of positive selection and changing effective population size in Angus and Holstein cattle populations (*Bos taurus*) using a high density SNP genotyping platform and the contribution of ancient polymorphism to genomic diversity in Domestic cattle. *BMC Genomics*, 10, 181.
27. Morgan, C. C., Loughran, N. B., Walsh, T. A., Harrison, A. J. & O'Connell, M. J. (2010). Positive selection neighboring functionally essential sites and disease-implicated regions of mammalian reproductive proteins. *BMC Evolutionary*, 10, 39.
28. Moradi, M. H., Nejati-Javaremi, A., Moradi-Shahrbabak, 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, 10.
29. Mottaghinia, Gh., Farhangfar, H. & Jafari, M. (2012). A study of inbreeding trend and its effect on wool weight of Baluchi sheep in Abbas Abad breeding center of Mashhad. *Journal of Animal Science Researches*, 22(2), 121-129. (in Farsi)
30. Nielsen, R. (2005). Molecular signatures of natural selection. *Annu. Rev. Genet*, 39, 197-218.
31. Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A. R., Bender, D. & *et al.* (2007). PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *The American Journal of Human Genetics*, 81, 559-575.
32. Ramey, H., Decker, J., McKay, S., Rolf, M., Schnabel, R. & Taylor, J. (2013). Detection of selective sweeps in cattle using genome-wide SNP data. *BMC Genomics*, 14, 382.
33. Randhawa, I. A. S., Khatkar, M. S., Thomson, P. C. & Raadsma, H. W. (2014). Composite selection signals can localize the trait specific genomic regions in multi-breed populations of cattle and sheep. *BMC Genetics*, 15, 34.
34. Saadat-Noori, M. & Siah-Mansoor, S. (1987). *Sheep husbandry and management*. Asharfi Pub. Co. Tehran, Iran. (in Farsi)
35. Shrestha, B., Ansari, K. I., Bhan, A., Kasiri, S., Hussain, I. & Mandal, S. S. (2012). Homeodomain-containing protein HOXB9 regulates expression of growth and angiogenic factors, facilitates tumor growth in vitro and is overexpressed in breast cancer tissue. *FEBS Journal*, 279(19), 3715-3726
36. Szklarczyk, D., Franceschini, A., Wyder, S., Forslund, K., Heller, D. & *et al.* (2014). STRING v10: protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life. *Nucleic acids research*, D447-452.
37. Teo, Y. Y., Fry, A. E., Clark, T. G., Tai, E. S. & Seielstad, M. (2007). On the usage of HWE for identifying genotyping errors. *Annals of Human Genetics*, 71, 701-703.
38. The R Project for Statistical Computing: Free software environment for statistical computing and graphics. <http://www.r-project.org/>.
39. Unal, N., Akcapinar, H., Aytac, M. & Atasoy, F. (2006). Fattening performance and carcass traits in crossbred ram lambs. *Medycyna Weterynaryjna*, 62(2), 401-404.

40. UniProtKB Gene. http://www.uniprot.org/help/gene_name.
41. Van den Akker, E., Fromental-Ramain, C., de Graaff, W., Le Mouellic, H., Brulet, P., Chambon, P. & Deschamps, J. (2001). Axial skeletal patterning in mice lacking all paralogous group 8 Hox genes. *Development*, 128, 1911-1921.
42. Vaysse, A., Ratnakumar, A., Derrien, T., Axelsson, E., Pielberg, G. R., Sigurdsson, S., Fall, T., Seppala, E. H., Hansen, M. S. & Lawley, C. T. (2011). Identification of genomic regions associated with phenotypic variation between dog breeds using selection mapping. *PLoS Genetics*, 7(10), e1002316.
43. Wang, H., Zhang, L., Cao, J., Wu, M., Ma, X., Liu, Z. & *et al.* (2015). Genome-Wide Specific Selection in Three Domestic Sheep Breeds. *PLoS ONE*, 10(6), e0128688.
44. Weedon, M. N., Lango, H., Lindgren, C. M., Wallace, C., Evans, D. M., Mangino, M. & *et al.* (2008). Genome-wide association analysis identifies 20 loci that influence adult height. *Nature genetics*, 40(5), 575-83.
45. Wei, C. H., Wang, H. H., Liu, G., Wu, M. M., Cao, J. X. V., Liu, Z. & *et al.* (2015). Genome-wide analysis reveals population structure and selection in Chinese indigenous sheep breeds. *BMC Genomics*, 16, 194.
46. Weir, B. S. & Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-Statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38(6), 1358-1370.
47. Zeder, M. A. (1999). Animal domestication in the Zagros: a review of past and current research. *Paleorient*, 25, 11-26.
48. Zheng, Y. H., Rengaraj, D., Choi, J. W., Park, K. J., Lee, S. I. & Han, J. Y. (2009). Expression pattern of meiosis associated SYCP family members during germline development in chickens. *Reproduction*, 138(3), 483-92.
49. Zhu, C., Fan, H., Yuan, Z., Hu, S., Zhang, L., Wei, C. & *et al.* (2015). Detection of Selection Signatures on the X chromosome in Three Sheep Breeds. *International Journal of Molecular Sciences*, 6(9), 20360-20374.