



Identification of Genomic Regions Associated with Fat Deposition in Some Asian and African Sheep Breeds Based on Selection Signature

Susan Radpour¹, Mohammad Taghi Beigi Nassiri², Mohammad Hossein Moradi³, Ali Esmaili Kashkooieh⁴

1. Department of Animal Science, Faculty of Animal science and Food Technology, Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran. E-mail: S.Radpoor90@yahoo.com
2. Corresponding Author, Department of Animal Science, Faculty of Animal science and Food Technology, Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran. E-mail: mt_nassiri@yahoo.com
3. Associate Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Environmental Sciences, Arak University, Arak, Iran. E-mail: Hoseinmoradi@ut.ac.ir
4. Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar Kerman University, Kerman, Iran. E-mail: aliesmaili@uk.ac.ir

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 17 April 2024

Received in revised form: 1 June 2024

Accepted: 16 June 2024

Published online: Spring 2025

Keywords:

Candidate genes,
Population differentiation index,
Asian sheep,
African sheep,
Selection signatures.

ABSTRACT

The selection of novel mutations beneficial only in some subpopulations leads to the retention of signatures across the genome. This study aimed to identify genomic regions, candidate genes, and biological pathways associated with fat deposition in some Asian and African sheep breeds based on selection signatures method and gene set enrichment analysis. A total of 49,034 SNP markers data obtained from 404 animal samples, including 13 fat-tailed and 7 thin-tailed sheep breeds with relatively similar tail and fat-tail dimensions distributed across different regions of Asia and Africa, were used. Principal component analysis (PCA) was utilized for assessing the clustering of animals into their true population, and F_{ST} (Theta) statistics was employed for detecting of positive selection signatures. Subsequently, genes reported in the selected regions were identified, and gene set enrichment analysis was performed to identify biological pathways (and candidate genes) associated with fat deposition. PCA analysis showed that all animals clustered into their respective breed groups, and thin and fat tailed sheep breeds could be separated based on different components. In this study, 19 genomic regions were identified to be under selection between thin and fat tailed sheep breeds. Investigation of reported genes in these regions led to the identification of several biological pathways (and candidate genes) directly or indirectly associated with tail morphology (*NDUFB*, *ANO4*, *ASXL2*, *ABHD2*, and *NID2*), fat-tail size (*ACADL*), skeletal or body size (*PDGFD*, *ACAN*, *HOXC*, *HOXB*, *BMP2*, and *BMP4*), immune response (*ATG5*, *IL4*, *IL5*, and *IL13*), and melanocyte regulation (*KITLG*). Overall, the findings of this study could play an important role for identifying the genomic regions associated with distinctive phenotypic traits of these breeds, especially fat deposition traits in tails, immunity, and adaptability, which could be of great economic importance in the future considering the observable climatic changes in recent years in various countries.

Cite this article: Radpour, S., Taghi Beigi Nasiri, M., Moradi, M. H. & Esmaili Kashkooieh, A. (2025). Identification of Genomic Regions Associated with Fat Deposition in Some Asian and African Sheep Breeds Based on Selection Signature. *Iranian Journal of Animal Science*, 56 (1), 19-34. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2024.374928.654010>



© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2024.374928.654010>

Extended Abstract

Introduction and Objective

Both natural and artificial selection are among the main driving forces shaping genetic variation across the genome of livestock species. Selection typically leaves signatures in the genome, which are often characterized by high genetic differentiation across breeds and/or a strong reduction in genetic diversity in regions associated with traits under intense selection pressure. Such selections are likely to have imposed distinctive selection signatures on the sheep genome. Therefore, detecting selection signatures across the genome may help elucidate mechanisms of selection and pinpoint candidate genes of interest for further investigation. This study

aimed to identify genomic regions, candidate genes, and biological pathways associated with fat deposition in some Asian and African sheep breeds based on selection signatures method and gene set enrichment analysis.

Materials and Methods

A total of 49,034 SNP markers data obtained from 404 animal samples, including 13 fat-tailed and 7 thin-tailed sheep breeds with relatively similar tail and fat-tail dimensions distributed across different regions of Asia and Africa, were used. Quality control of genotypes was performed based on the minor allele frequency ($MAF \leq 0.02$), missing genotype ($MIND > 10\%$), and genotyping rate ($GENO > 0.05$), using PLINK software. Principal component analysis (PCA) was utilized for assessing the clustering of animals into their true population, and F_{ST} (Theta) statistics was employed for detecting positive selection signatures. Subsequently, genes reported in the selected regions were identified with the Genome Data Viewer database, and gene set enrichment analysis was performed to identify biological pathways (and candidate genes) associated with fat deposition.

Results

After quality control, 44913 markers and 400 animals (281 fat-tailed and 119 thin-tailed sheep breeds) were remained for the further analysis. PCA analysis showed that all animals clustered into their respective breed groups, and thin and fat tailed sheep breeds could be separated based on different components. In this study, 19 genomic regions were identified to be under selection between thin and fat tailed sheep breeds. Genes associated with selected markers were subsequently identified. Investigation of reported genes in these regions led to the identification of several biological pathways (and candidate genes) directly or indirectly associated with tail morphology (*NDUFB*, *ANO4*, *ASXL2*, *ABHD2*, and *NID2*), fat-tail size (*ACADL*), skeletal or body size (*PDGFD*, *ACAN*, *HOXC*, *HOXB*, *BMP2*, and *BMP4*), immune response (*ATG5*, *IL4*, *IL5*, and *IL13*), and melanocyte regulation (*KITLG*).

Conclusion

The results of the present study and identified genomic regions suggest that the selection during the evolution and adaptation to the different environments and geographical conditions led to population differentiation in Asian and African breeds. Overall, the findings of this study could play an important role for identifying the genomic regions associated with distinctive phenotypic traits of these breeds, especially fat deposition traits in tails, immunity, and adaptability, which could be of great economic importance in the future considering the observable climatic changes in recent years in various countries.

Author Contributions

Conceptualization, S.R, and M.H.M; methodology, S.R, and M.H.M; software, S.R, and M.H.M; validation, M.H.M, and M.T.B.; formal analysis, S.R; investigation, M.H.M, A.E; resources, M.H.M, A.E; data curation, M.H.M; writing—original draft preparation, S.R; writing—review and editing, M.H.M, M.T.B, A.E; visualization, M.H.M, M.T.B; supervision, M.T.B, M.H.M; project administration, M.H.M, A.E; funding acquisition, M.T.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.”

Data Availability Statement

“Not applicable”

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge the International Sheep Genomics Consortium for access to the Ovine HapMap genotypes and the Animal Breeding Center of Iran (ABCI) for access to the data of the Iranian breeds. We sincerely thank all authors who made their data available for the present research. The authors also acknowledge the supports and contributions of INSF (Project No. 40232205), Animal Science Research Institute of Iran, Mobarakandish Institute and AgResearch, New Zealand.

Ethical considerations

The study was approved by the Ethics Committee of the Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Iran (Code: 1402.3918). The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.



شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با ذخیره چربی در برخی از نژادهای گوسفند آسیایی و آفریقایی بر پایه روش نشانه‌های انتخاب

سوسن رادپور^۱ | محمدتقی بیگی نصیری^{۲*} | محمدحسین مرادی^۳ | علی اسمعیلی زاده کشکوئیه^۴

۱. گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران. رایانامه: s.radpoor90@yahoo.com
۲. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران. رایانامه: mt_nassiri@yahoo.com
۳. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک، اراک، ایران. رایانامه: Hoseinmoradi@ut.ac.ir
۴. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه: aliesmaili@uk.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>نوع مقاله:</p> <p>مقاله پژوهشی</p>	<p>انتخاب برای افزایش فراوانی جهش‌های جدیدی که فقط در برخی از زیرجمعیت‌ها سودمند هستند باعث باقی گذاشتن نشانه‌هایی در سطح ژنوم می‌شود. پژوهش حاضر با هدف شناسایی مناطق ژنومی، ژن‌های کاندید و مسیرهای زیستی مؤثر بر ذخیره چربی در دنبه در برخی از نژادهای گوسفند آسیایی و آفریقایی بر اساس بررسی نشانه‌های انتخاب و آنالیز غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی انجام شده است. بدین منظور، از مجموع اطلاعات ژنومی مربوط به ۴۹۰۳۴ جایگاه نشانگری SNP متعلق به ۴۰۴ نمونه حیوان شامل ۱۳ نژاد دنبه‌دار و ۷ نژاد بدون دنبه، با ابعاد دنبه و دم نسبتاً مشابه که در مناطق مختلف آسیا و آفریقا پراکنش داشتند، استفاده شد. جهت بررسی نحوه قرار گرفتن حیوانات در گروه‌های نژادی خود از آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA) و برای ردیابی نشانه‌های انتخاب مثبت از آزمون ناریب FST (تتا) استفاده شد. سپس ژن‌های گزارش شده در مناطق تحت انتخاب شناسایی گردید و آنالیز غنی‌سازی مجموعه ژنی با هدف شناسایی مسیرهای بیولوژیکی (و ژن‌های کاندیدی) مرتبط با ذخیره چربی انجام شد. آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA) نشان داد که تمام حیوانات در گروه‌های نژادی خود قرار می‌گیرند و نژادهای دنبه‌دار و بدون دنبه را می‌توان بر اساس مؤلفه‌های مختلف از هم تفکیک نمود. در این پژوهش ۱۹ منطقه ژنومی تحت انتخاب بین نژادهای دنبه‌دار و بدون دنبه شناسایی شد. بر سی ژن‌های گزارش شده در این مناطق منجر به شناسایی چندین مسیر بیولوژیکی (و ژن‌های کاندیدا) شد که به طور مستقیم یا غیر مستقیم با مورفولوژی دم (<i>ASXL2</i>, <i>ANO4</i>, <i>NDUFB</i>, <i>ABHD2</i> و <i>NID2</i>)، اندازه دنبه (<i>ACADL</i>)، اسکلت و یا ساختار اندازه بدن (<i>HOXC</i>, <i>ACAN</i>, <i>PDGFD</i>)، <i>HOXB</i>, <i>BMP2</i> و <i>BMP4</i>)، پاسخ ایمنی (<i>ATG5</i>, <i>IL4</i>, <i>IL5</i> و <i>IL13</i>) و تنظیم ملانوسیت‌ها (<i>KITLG</i>) مرتبط می‌باشند. در مجموع، نتایج به دست آمده از این پژوهش می‌تواند نقش مهمی در ردیابی مناطق ژنومی مرتبط با صفات فنوتیپی متمایزکننده این نژادها، به ویژه صفات ذخیره چربی در دنبه، ایمنی و سازگاری شود که با توجه به تغییرات اقلیمی قابل مشاهده در طی سال‌های اخیر در کشورهای مختلف، می‌تواند دارای اهمیت اقتصادی زیادی در آینده باشند.</p>
<p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۲۹</p> <p>تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۳/۱۲</p> <p>تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۷</p> <p>تاریخ انتشار: بهار ۱۴۰۴</p>	
<p>کلیدواژه‌ها:</p> <p>ژن‌های کاندید، شاخص تمایز جمعیتی، گوسفندان آسیایی، گوسفندان آفریقایی، نشانه‌های انتخاب.</p>	

استناد: رادپور، سوسن؛ بیگی نصیری، محمدتقی؛ مرادی، محمدحسین و اسمعیلی زاده کشکوئیه، علی (۱۴۰۴). شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با ذخیره چربی در برخی از نژادهای گوسفند آسیایی و آفریقایی بر پایه روش نشانه‌های انتخاب. *نشریه علوم دامی ایران*، ۵۶ (۱)، ۳۴-۱۹. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2024.374928.654010>



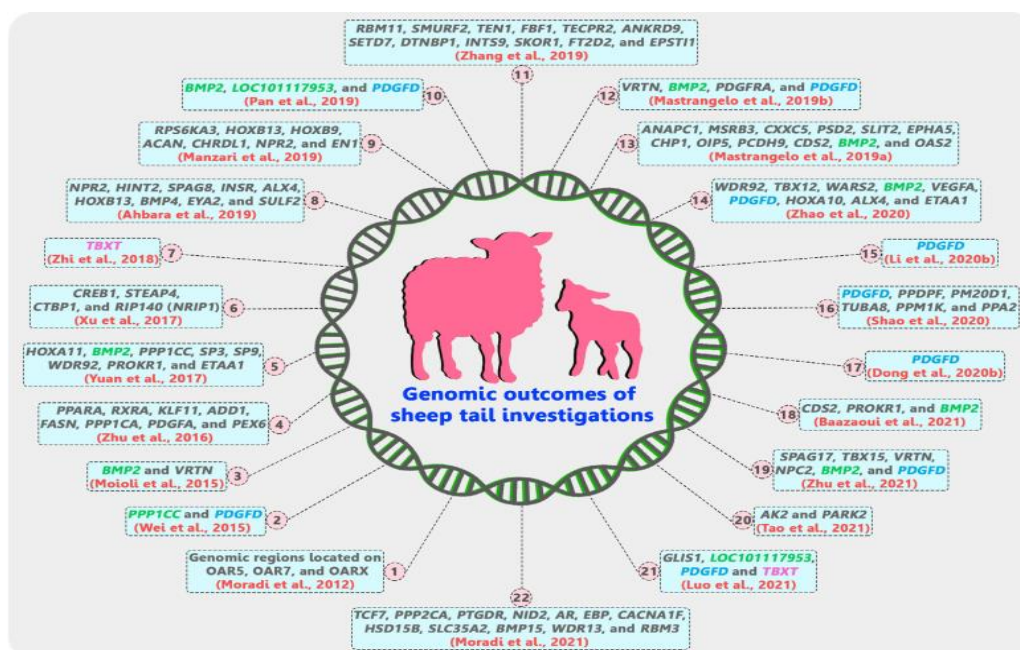
مقدمه و پیشینه پژوهش

گوسفند یکی از حیوانات اهلی است که از اهمیت ویژه‌ای در سطح جهانی به عنوان منبع مهمی از گوشت، شیر، چربی و پشم برخوردار است. علاوه بر این گوسفند به عنوان الگوی خوبی برای انجام تحقیقات بیوپزشکی و درک عمیق‌تر بیماری‌های مختلف انسانی محسوب می‌شود (Scheerlinck *et al.*, 2008; Pinnapureddy *et al.*, 2015). دنبه یکی از صفات ژنتیکی مهم در گوسفند است که بر اساس آن کلیه نژادهای گوسفند دنیا را می‌توان به دو گروه دنبه‌دار و بدون دنبه تقسیم‌بندی کرد. اعتقاد بر این است گوسفندان دنبه‌دار از اجداد وحشی دم‌دار خود شکل گرفته‌اند (Moradi *et al.*, 2021). به نظر می‌رسد دنبه یک پاسخ انطباقی به شرایط خشکی و تغییرات آب و هوایی می‌باشد که امکان ذخیره انرژی را در شرایط آب و هوایی سخت فراهم می‌کند. با این حال اگرچه نژادهای گوسفند دنبه‌دار هنوز تحت شرایط پرورشی چراگاهی، بیابانی یا نیمه بیابانی در جوامع مختلف ترجیح داده می‌شوند (Kalds *et al.*, 2021)، ولی از آنجا که ذخیره چربی در دنبه به دلیل انرژی بیشتر مورد نیاز نسبت به ذخیره عضله و گوشت باعث افزایش هزینه‌های پرورش می‌شود (Moradi *et al.*, 2012) و با توجه به امکان دسترسی آسان به علوفه در تمام طول سال و کاهش تقاضا برای مصرف چربی دنبه (Nejati-Javaremi *et al.*, 2007)، امروزه ذخیره چربی در دنبه در بسیاری از کشورها به خصوص در سیستم پرورش بسته و نیمه بسته، اهمیت اقتصادی خود را از دست داده است. به همین خاطر مانند بسیاری از کشورهای آسیایی (Farid, 1991; Isani *et al.*, 2012)، کشاورزان در کشورهای آفریقایی (Bedhiar-Romdhani *et al.*, 2008) نیز در طی سال‌های اخیر سعی کرده‌اند از طریق آمیخته‌گری مکرر با نژادهای بدون دنبه، میزان چربی ذخیره شده در گوسفندان خود را کاهش دهند. به عنوان مثال، گوسفندان دنبه‌دار باربارین الجزایری به طور گسترده با گوسفندان بدون دنبه اولدجلا تلاقی داده شده است (Bedhiar-Romdhani *et al.*, 2017; *al.*, 2008; Abdelkader

دستیابی به هدف کاهش یا حذف دنبه مستلزم انتخاب ژنوتیپ‌هایی از دام‌هاست که بتوانند به صورت ژنتیکی گوشت بیشتر و چربی کمتر تولید کنند. از آن جا که وزن دنبه را نمی‌توان در دام زنده به سادگی اندازه‌گیری کرد، لذا برآوردهای صحیح از پارامترهای ژنتیکی و فنوتیپی وزن دنبه و صفات مرتبط با آن دشوار می‌باشد. بنابراین یکی از راه‌کارهای مهم برای نیل به این هدف استفاده از روش‌های مولکولی برای شناخت مناطق ژنومی مرتبط با این صفت است. چنانچه یک جهش جدید باعث افزایش شایستگی افراد حامل آن نسبت به سایر افراد جامعه گردد، انتخاب (طبیعی یا مصنوعی) باعث می‌شوند افرادی که دارای شایستگی بیشتری هستند در تشکیل نسل بعد مشارکت بیشتری داشته باشند. به این ترتیب فراوانی واریانت جهش یافته بسته به سهم آن در افزایش شایستگی به سرعت شروع به افزایش خواهد کرد. بنابراین زمانی که یک آلل سودمند در طی زمان‌های مختلف، هدف انتخاب قرار می‌گیرد باعث ایجاد نشانه‌هایی در سطح ژنوم می‌گردد که از طریق روش‌های آماری مختلف مربوط به شناسایی نشانه‌های انتخاب مانند شاخص تمایز جمعیتی F_{ST} قابل شناسایی هستند (Akey *et al.*, 2009; Moradi *et al.*, 2012).

بررسی تحقیقات مختلف انجام شده در طی سال‌های اخیر با مقایسه نژادهای دنبه‌دار و بدون دنبه در کشورهای مختلف نشان می‌دهد که هرچند تاکنون گاهی مناطق ژنومی و ژن‌های کاندیدای مشترکی گزارش شده است ولی در اکثر موارد نتایج متناقض و مناطق متفاوتی برای این صفت در نژادهای مختلف مشاهده شده است. شکل ۱ به برخی از تحقیقات انجام شده در این زمینه و ژن‌های کاندیدای گزارش شده در آنها اشاره دارد. نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که ژن‌های *BMP2* (Moioli *et al.*, 2020) *PDGFD* (Yuan *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2020; *al.*, 2015; Mastrangelo *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2020) و *TBXT* (Dong *et al.*, 2020; Zhao *et al.*, 2020) دارای بیشترین اشتراکات بین تحقیقات مختلف بوده‌اند ولی در بیشتر موارد مناطق و ژن‌های گزارش شده با همدیگر متفاوت هستند و در مجموع هنوز مکانیسم وراثتی این صفت در گوسفند ناشناخته است. Kalds و همکاران (۲۰۲۱) با بررسی جامع نتایج تحقیقات مختلف، گزارش کردند که علت بخشی از تفاوت‌های مشاهده شده در نتایج حاصل از تحقیقات مختلف می‌تواند به دلیل کم بودن تعداد

نمونه در برخی از تحقیقات انجام شده در نژادهای بومی کشورهای مختلف باشد که انجام قضاوت آماری در زمینه نتایج تحقیقات مربوطه را محدود می‌کند. از طرفی به این نکته نیز باید دقت کرد که شکل دنبه نیز در نژادهای مختلف، تنوع فنوتیپی زیادی دارد و از حالت دنبه‌های بلند و کشیده تا دم‌های کوتاه متغیر است که می‌تواند بر نتایج به دست آمده در نژادهای مختلف تأثیرگذار باشد (Kalds et al., 2021). لذا در تحقیق حاضر با بررسی اولیه اشکال مختلف دنبه و دم در نژادهایی که تاکنون در کشورهای مختلف مورد بررسی قرار گرفته‌اند تلاش شد تا با جمع‌آوری اطلاعات ژنومی نژادهایی که با قرار گرفتن در کشورهای آسیایی و آفریقایی دارای شکل دنبه و دم مشابهی هستند، ضمن افزایش تعداد نمونه محدودیت‌های تحقیقات قبلی نیز پوشش داده شوند. یکی دیگر از مواردی که در مطالعات مختلف جهت شناسایی مناطق ژنومی مؤثر بر صفات باید در نظر گرفت، آستانه‌های معنی‌داری متفاوتی است که در تحقیقات مختلف در نظر گرفته شده‌اند و باعث می‌شوند گاه SNPهایی که دارای اثرات کوچک‌تر از حد آستانه در نظر گرفته شده هستند، کنار گذاشته شوند. در این راستا به منظور برطرف نمودن چالش فوق و درک بهتر مبنا و اساس ژنتیکی و بیولوژیکی صفات پیچیده، از آنالیزهای غنی‌سازی مجموعه ژنی استفاده می‌شود (Abdalla et al., 2016). در این نوع مطالعات به جای جستجوی معنی‌دارترین SNPها، بر روی ارتباط گروهی از SNPها، علاوه بر SNPهای معنی‌دار، تمرکز می‌شود که می‌توانند با هم یک مجموعه‌ی ژنی را حاصل نمایند که با گروه‌های عملکردی و مسیرهای بیولوژیکی مرتبط با صفات در ارتباط هستند. در نتیجه انتظار می‌رود با استفاده از روش تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی بتوان مسیرهای بیولوژیکی و بیوشیمیایی مرتبط با صفت ذخیره چربی در دنبه را به طور صحیح‌تر شناسایی نمود. لذا هدف از انجام پژوهش حاضر، شناسایی مناطق ژنومی، ژن‌های کاندید و مسیرهای زیستی مؤثر بر ذخیره چربی در دنبه (یا قسمت‌های احشایی) در برخی از نژادهای گوسفند آسیایی و آفریقایی بر اساس بررسی نشانه‌های انتخاب و آنالیز غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی می‌باشد که امید است با پوشش دادن محدودیت تحقیقات قبلی، نتایج حاصل بتواند گامی مهم در شناسایی مکانیسم توارث و معماری ژنتیکی این صفت مهم اقتصادی باشد.



شکل ۱. تحقیقات انجام شده در زمینه شناسایی مناطق ژنومی و ژن‌های کاندیدی گزارش شده مرتبط با ذخیره چربی در گوسفندان بومی کشورهای مختلف جهان (Kalds et al., 2021): در این شکل ژن‌های مشترک در تحقیقات مختلف با رنگ مشابه (شامل *BMP2* و *LOC101117953* با رنگ سبز، *PDGFD* با رنگ آبی و *TBXT* با رنگ بنفش) نمایش داده شده‌اند.

روش‌شناسی پژوهش

انتخاب نمونه‌ها و کنترل کیفیت داده‌های اولیه: در این تحقیق جهت شناسایی نشانه‌های انتخاب بین نژادهای دنبه‌دار و بدون دنبه ابتدا با بررسی جامع کلیه مقالات چاپ شده در این زمینه، لیستی از نژادهایی که دارای شکل دنبه و دم مشابهی (همانند نژادهای بومی ایران) بودند، تهیه شد و نژادهایی که دارای دنبه کشیده (Long fat tailed) و یا گرد (Rumped fat tailed) و همچنین دم کشیده (Long thin tailed) بودند کنار گذاشته شدند. از آنجا که پس از بررسی اولیه لیست، مشاهده شد که این نژادها عمدتاً در آسیا و آفریقا (با اشتراکات جغرافیایی زیاد) متمرکز شده‌اند، جهت اطمینان بیشتر از تشابه ابعاد دنبه و دم در این تحقیق تنها بر روی این نژادها تمرکز شد. سپس اطلاعات ژنومی آنها از پایگاه‌های اطلاعاتی در دسترس مانند <https://www.sheepmap.org> و <https://datadryad.org/stash> و یا پس از مکاتبه با نویسندگان آنها جمع‌آوری شد. تعداد و نام نژادهای مورد استفاده در این پژوهش در جدول ۱ ارائه شده است. تمام نمونه‌ها با استفاده از آرایه‌های Illumina

Ovine 50K SNP BeadChip گوسفندی و با به‌کارگیری پروتکل شرکت ایلومینا تعیین ژنوتیپ شده بودند. در این پژوهش از مجموع اطلاعات ژنومی مربوط به ۴۹۰۳۴ جایگاه نشانگری SNP متعلق به ۴۰۴ نمونه حیوان شامل اطلاعات ۲۸۱ نمونه مربوط به ۱۳ نژاد دنبه‌دار و ۱۲۳ نمونه متعلق به ۷ نژاد بدون دنبه از کشورهای مختلف آسیا و آفریقا استفاده شد. این نژادها در کشورهای ایران، ترکیه، هندوستان، فلسطین اشغالی، چین، الجزایر و ایتوپیی پراکنش داشتند. مراحل مختلف بررسی کنترل کیفیت و ویرایش داده روی اطلاعات ژنوتیپی اولیه انجام شد. ابتدا حیوانات با بیش از ۱۰ درصد ژنوتیپ از دست رفته از آنالیزهای بعدی کنار گذاشته شدند. دو فاکتور حداقل فراوانی آلل نادر (MAF) و نرخ فراخوانی (Call rate) یا درصدی از نمونه‌ها که برای آن نشانگر تعیین ژنوتیپ شده‌اند برای هر SNP محاسبه شدند و SNP‌هایی که در مجموع حیوانات دارای MAF و Call rate به ترتیب کمتر از ۲ درصد و ۹۵ درصد بودند حذف شدند (Moradi et al., 2012). همچنین از آنجا که اطلاعات نشانگرهای موجود روی کروموزوم‌های جنسی به دلیل توزیع متفاوت الگوی IBD (Curik et al., 2014) در برخی از آنالیزها کنار گذاشته می‌شوند و در نتیجه برای بسیاری از نژادهای مورد استفاده در این پژوهش نیز در پایگاه‌های اطلاعاتی در دسترس به اشتراک گذاشته نشده بود، این نشانگرها نیز حذف گردیدند. در نهایت نشانگرهایی که موقعیت ژنومی آنها نیز مشخص نبودند از مجموع نشانگرها خارج شدند. مراحل مختلف ویرایش داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار PLINK (نسخه ۱/۹) انجام شد (Chang et al., 2015).

بررسی ساختار جمعیتی و شناسایی نشانه‌های انتخاب: یکی از شیوه‌های آماری برای آزمون ارتباط بین جوامع و اختصاص افراد به آنها با استفاده از ماتریس فاصله، استفاده از آنالیز مؤلفه‌های اصلی^۳ (PCA) است (Jombart et al., 2011). در این تحقیق به منظور بررسی ساختار جمعیتی دام‌های مورد مطالعه و شناسایی نحوه قرار گرفتن حیوانات در گروه‌های نژادی خود از آنالیز PCA استفاده شد. این آنالیز با استفاده از تابع prcomp در محیط نرم‌افزار R (نسخه ۴/۳/۱) انجام شد. جهت شناسایی نشانه‌های انتخاب مرتبط با ذخیره چربی ابتدا تمام حیوانات بر اساس دنبه‌دار یا بدون دنبه بودن به دو دسته گروه‌بندی شدند. سپس جهت بررسی نشانه‌های انتخاب ژنومی در بین دو توده نژادی، ابتدا روش شاخص ثابت تمایز جمعیتی F_{ST} برای هر نشانگر SNP در محیط R نسخه 3.4.1 برنامه‌نویسی و محاسبه شد (McEachern et al., 2009). ارزش‌های حاصل می‌توانند بین صفر (بدون تفاوت) تا یک (تفاوت کامل، که هر جمعیت برای آلل متفاوتی تثبیت شده اند) متغیر باشد.

از روش F_{ST} به صورت گسترده در گونه‌های مختلف دامی جهت شناسایی نشانه‌های انتخاب استفاده شده است (Moradi et al., 2021). با این وجود در این تحقیق علاوه بر این روش در مرحله دوم، روش برآوردگر ناریب تتا (Weir and Cockerham., 1984) نیز در محیط R (نسخه ۴/۳/۱) برنامه‌نویسی و محاسبه گردید. مزیت این روش نسبت به روش قبلی

1. Minor Allele Frequency

2. Identical by descent

3. Principal Component Analysis

این است که در روش ناریب تا اندازه‌ی نمونه‌ها در نظر گرفته می‌شود. این روش غالباً در مواردی استفاده می‌شود که اندازه نمونه کم و یا جمعیت‌ها از نظر اندازه متفاوت باشند (Hirokawa and Tekamura., 2003). به منظور شناسایی بهتر نشانه‌های انتخاب در سطح ژنوم به جای در نظر گرفتن ارزش هر نشانگر، میانگین ارزش تعدادی از SNPهای مجاور تحت عنوان پنجره (Win) در نظر گرفته شدند. در این تحقیق میانگین ارزش عددی تعداد ۵ نشانگر مجاور در نظر گرفته شد (Moradi *et al.*, 2012). سپس مناطقی از ژنوم که در صدک ۹۹/۹٪ ارزش تا قرار داشتند به عنوان نشانه‌های انتخاب در نظر گرفته شدند. حد آستانه در این مرحله سخت‌گیرانه بود و فقط مناطقی از ژنوم که دارای بیشترین درجه تمایز در بین دو جمعیت دنبه‌دار و بدون دنبه بودند، به عنوان مناطق ژنومی کاندیدا مرتبط با این صفت گزارش شدند (Jarvis *et al.*, 2012; Kijas *et al.*, 2012).

جدول ۱. نژادها و تعداد نمونه‌های مورد استفاده در این پژوهش و نحوه دسترسی به اطلاعات ژنوتیپی آنها

نژاد	وضعیت دنبه	نمونه	منطقه	دسترسی داده
Lori-Bakhtiari	دنبه‌دار	۴۵	آسیا	Moradi <i>et al.</i> , (2012)
Afshari	دنبه‌دار	۳۷	آسیا	Hap Map Project
Moghani	دنبه‌دار	۳۴	آسیا	Hap Map Project
Qezel	دنبه‌دار	۳۵	آسیا	Hap Map Project
Norduz	دنبه‌دار	۲۰	آسیا	Hap Map Project
Karakas	دنبه‌دار	۱۸	آسیا	Hap Map Project
Hu	دنبه‌دار	۱۲	آسیا	Yuan <i>et al.</i> , (2016)
Lop	دنبه‌دار	۱۵	آسیا	Yuan <i>et al.</i> , (2016)
Local Awassi	دنبه‌دار	۲۴	آسیا	Hap Map Project
Barbaine Alg	دنبه‌دار	۵	آفریقا	Gaouar <i>et al.</i> , (2017)
Kefis	دنبه‌دار	۱۴	آفریقا	Ahbara <i>et al.</i> , (2019)
Arabo	دنبه‌دار	۱۰	آفریقا	Ahbara <i>et al.</i> , (2019)
Adane	دنبه‌دار	۱۲	آفریقا	Ahbara <i>et al.</i> , (2019)
Zel	بدون دنبه	۴۵	آسیا	Moradi <i>et al.</i> , (2012)
Sakiz	بدون دنبه	۲۲	آسیا	Hap Map Project
Rembi	بدون دنبه	۶	آفریقا	Gaouar <i>et al.</i> , (2017)
Deccani	بدون دنبه	۲۴	آسیا	Hap Map Project
Hamara Alg	بدون دنبه	۶	آفریقا	Gaouar <i>et al.</i> , (2017)
Hammari	بدون دنبه	۱۱	آفریقا	Ahbara <i>et al.</i> , (2019)
Kabashi	بدون دنبه	۹	آفریقا	Ahbara <i>et al.</i> , (2019)

شناسایی ژن‌های گزارش شده در مناطق تحت انتخاب و آنالیز غنی‌سازی مجموعه ژنی: برای بررسی بیوانفورماتیکی مناطق ژنومی شناسایی شده، ابتدا ژن‌های گزارش شده در این مناطق و نواحی مجاور آنها (۵۰۰ کیلوباز پیش و پس نقاط آغاز و پایان توالی مرتبط با مناطق تحت انتخاب) در پایگاه‌های اطلاعاتی به روز Biomart Ensemble و Genome Data Viewer (<http://asia.ensembl.org/biomart/martview>) و (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/gdv/>) شناسایی گردید. در این تحقیق برای تعیین موقعیت ژنومی SNPها در سطح ژنوم از OAR true chromosomes ver.3.1 مرکز CSIRO استرالیا استفاده شد. سپس عملکرد بیولوژیکی این ژن‌ها با استفاده از پایگاه‌های اطلاعاتی Genecards (<http://WWW.genecards.org>) و UniProtKB Gene (http://WWW.uniprot.org/help/gene_name) بررسی شد. در نهایت به منظور آنالیز هستی‌شناسی (GO) و شناسایی

مسیرهای بیوشیمیایی و شبکه‌های ژنی که این ژن‌ها در آنها غنی می‌شوند از پایگاه اطلاعاتی DAVID (<https://david.ncicrf.gov/tools.jsp>) استفاده شد. در این مرحله از کلیه نشانگرهایی که در صدک ۹۹/۵٪ کل ارزش‌های تتا در مقایسه نژادهای دنبه‌دار و بدون دنبه قرار گرفته بودند استفاده شد تا با کاهش حد آستانه، تعداد بیشتری از نشانگرهای متمایزکننده نژادهای دنبه‌دار و بدون دنبه در آنالیز غنی‌سازی مجموعه ژنی در نظر گرفته شوند.

یافته‌های پژوهش و بحث

پس از اجرای مراحل کنترل کیفیت داده‌ها، در نهایت ۴۴۹۱۳ نشانگر مربوط به ۴۰۰ حیوان (۲۸۱ نمونه دنبه‌دار، ۱۱۹ نمونه بدون دنبه) برای تجزیه و تحلیل‌های بعدی انتخاب شدند. مراحل مختلف ویرایش داده‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲. مراحل کنترل کیفیت داده‌های تعیین ژنوتیپ شده در برخی از گوسفندان آسیایی و آفریقایی

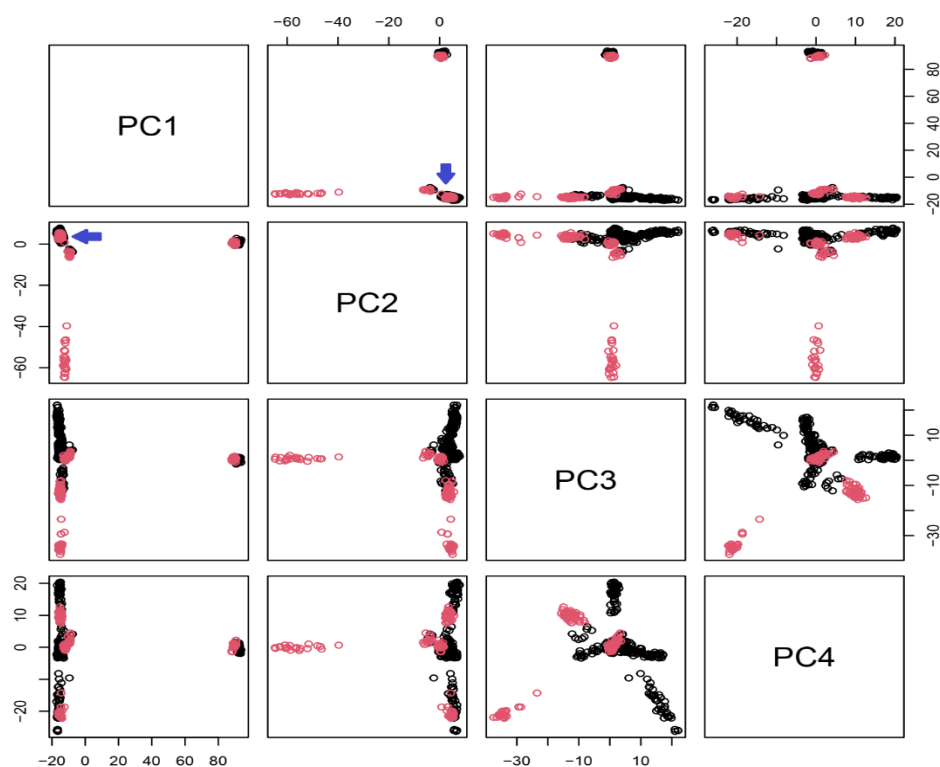
Different steps of quality control	All samples
Number of animals	404 (281 Fat tail + 123 Thin tail)
Remove samples with more than 10% missing genotype	4
The number of remaining samples	400 (281 Fat tail + 119 Thin tail)
Number of markers before quality control	49034
Remove of markers with $\leq 95\%$ call rate	2601
Remove of markers with $MAF \leq 0.02$ in all samples	298
Remove of markers located on sex chromosomes	1222
Remove of markers with unknown position	0
Number of markers after quality control	44913

در این تحقیق جهت بررسی نحوه قرار گرفتن حیوانات در گروه‌های نژادی خود از آنالیز PCA استفاده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که همه حیوانات در گروه‌های نژادی خود قرار می‌گیرند و هرچند پراکنش جغرافیایی نژادهای مورد مطالعه در این تحقیق بسیار گسترده است و کشورهای مختلفی را دربرمی‌گیرد اما حتی اگر آنالیز PCA برای دو گروه دنبه‌دار و بدون دنبه انجام شود، هرچند ممکن است در گراف دو مؤلفه اصلی اول (PC1 نسبت به PC2) همپوشانی‌هایی بین این دو گروه مشاهده شود ولی با در نظر گرفتن مؤلفه‌های بیشتر می‌توان دو گروه دنبه‌دار و بدون دنبه را نیز تا حدود زیادی بر اساس آنالیز PCA از یکدیگر تفکیک نمود (شکل ۲).

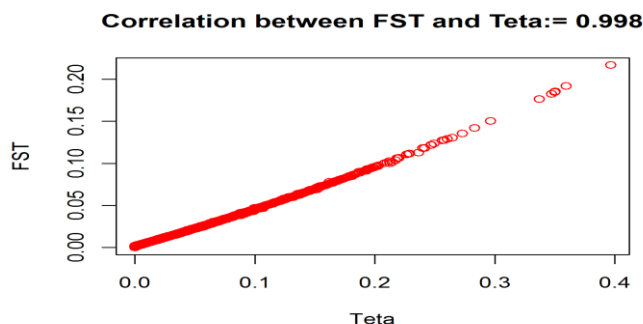
در این آنالیز PC1، PC2، PC3 و PC4 به ترتیب ۱۴/۵، ۲/۰، ۱/۴ و ۱/۱ درصد کل واریانس را به خود اختصاص می‌دادند. آنالیز PCA در تحقیق حاضر نشان داد، نژادهایی که مربوط به مناطق جغرافیایی نزدیکی هستند در خوشه‌بندی‌ها نیز نزدیک به همدیگر قرار می‌گیرند. مثلاً نژادهای مربوط به کشورهای ایران و ترکیه در نمودارهای PCA نیز نزدیک به همدیگر قرار می‌گرفتند. از آنجا که نژادهای پرورش یافته در کشورهای مجاور دارای زمینه مشترک محیطی و آب و هوایی و در نتیجه تاریخچه تکاملی مشابهی هستند، قرار گرفتن آنها در نزدیکی همدیگر در گراف PCA دور از انتظار نیست (Moradi et al., 2017). تحقیقات دیگر نیز با بررسی نشانه‌های انتخاب در گوسفندان آفریقایی و اروپایی-آسیایی نتایج مشابهی را گزارش کرده‌اند (Mastrangelo et al., 2019).

در این تحقیق، برای شناسایی نشانه‌های انتخاب بین نژادهای دنبه‌دار و بدون دنبه از آماره‌های تفرق جمعیتی F_{ST} رایت (McEachern et al., 2009) و برآوردگر ناریب تتا (Weir and Cockerham., 1984) استفاده شد که نتایج حاصل نشان داد که همبستگی بالایی ($r^2 = 0/99$) بین نتایج دو آماره وجود دارد (شکل ۳). همبستگی بالای این دو آماره نشان می‌دهد که

تفاوت در تعداد نمونه مورد استفاده در دو گروه دنبه‌دار و بدون دنبه تأثیری روی نتایج حاصل ایجاد نمی‌کند که نتایج مشابهی در تحقیقات قبلی (Moradi *et al.*, 2021; Manzari *et al.*, 2019) نیز گزارش شده است و به همین خاطر در ادامه این مقاله تنها نتایج حاصل از روش نآریب تنها گزارش شده است.



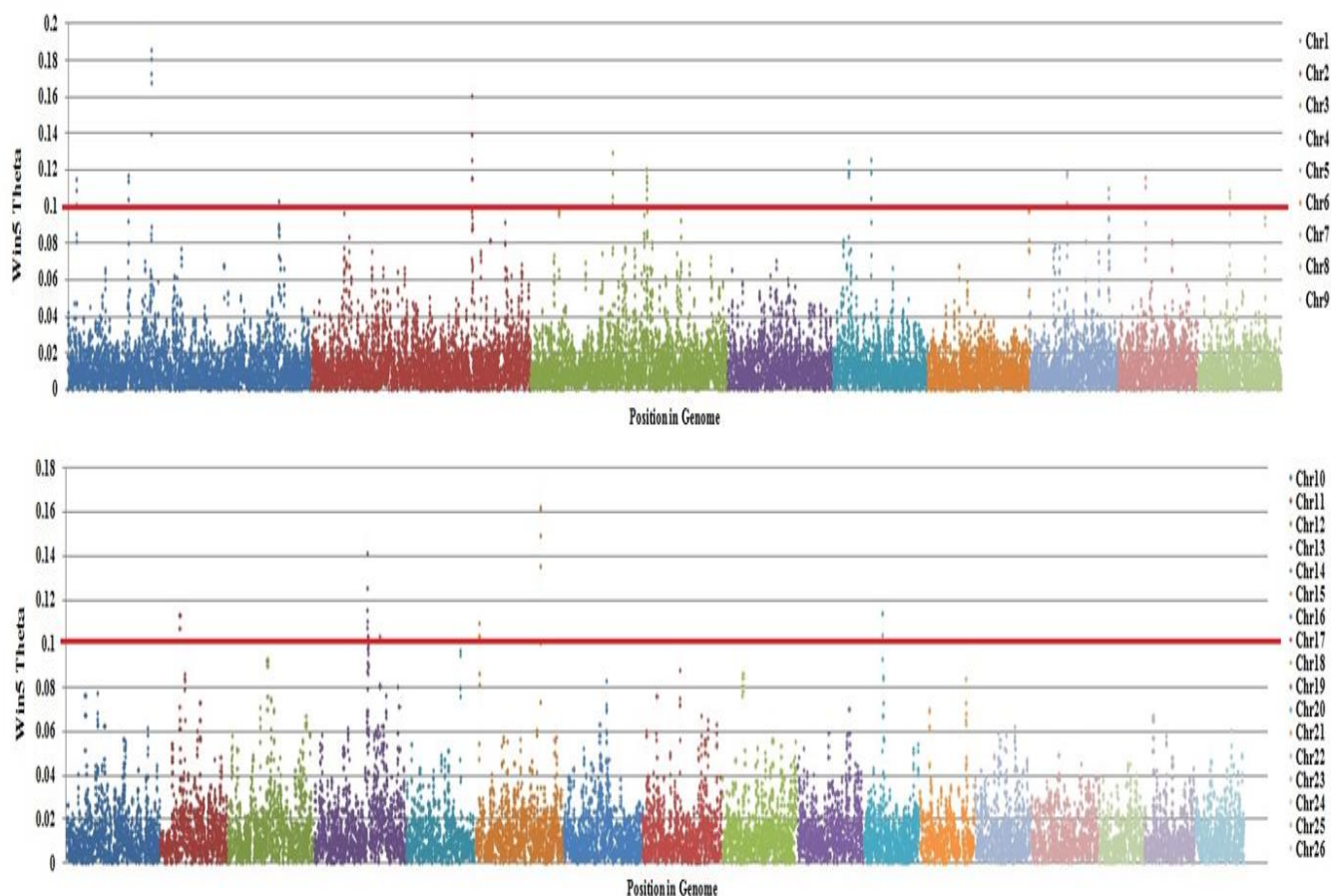
شکل ۲. خوشه‌بندی حیوانات دنبه‌دار و بدون دنبه براساس آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA) با استفاده از اطلاعات ژنومی: در این شکل نتایج خوشه‌بندی برای چهار مؤلفه اصلی اول (PC اول تا چهارم) نمایش داده شده است و حیوانات دنبه‌دار با رنگ مشکی و بدون دنبه با رنگ قرمز مشخص شده‌اند. پیکان‌های آبی موقعیت قرار گرفتن نژادهای ایرانی و ترکیه‌ای مورد استفاده در تحقیق حاضر را در گراف مربوط به مؤلفه اول (PC₁) و دوم (PC₂) نشان می‌دهد.



شکل ۳. مقایسه ضرایب FST حاصل از روش رایب و ضرایب نآریب تنها: در این نمودار بر روی محور X ارزش‌های نآریب تنها (Weir and Cockerham., 1984) و روی محور Y ارزش‌های FST رایب (McEachern *et al.*, 2009) نمایش داده شده‌اند.

ترسیم گراف منتهن نشانه‌های انتخاب با استفاده از آماره تننا منجر به شناسایی مناطقی از ژنوم بین نژادهای دنبه‌دار و بدون دنبه مورد مطالعه در این تحقیق شد که به شدت هدف انتخاب قرار گرفته‌اند (شکل ۴). در این شکل تنها ۱/۰ درصد مناطقی از سیگنال‌های انتخابی که ارزش عددی بالایی داشتند به عنوان نشانه‌های انتخاب گزارش شده‌اند. این مناطق ژنومی روی

کروموزوم‌های ۱ (چهار منطقه)، ۲، ۳ (دو منطقه)، ۵ (دو منطقه)، ۷ (دو منطقه)، ۸، ۹، ۱۱، ۱۳ (دو منطقه)، ۱۵ (دو منطقه)، و ۲۰ قرار داشتند (شکل ۴).



شکل ۴. توزیع ارزش‌های Win5 تا در سطح ژنوم نژادهای دنبه‌دار و بدون دنبه: موقعیت ژنومی SNPها بر روی محور X و ارزش تنا آنها بر روی محور Y نمایش داده شده است. خط ترسیم شده نشان‌دهنده صدک ۹۹/۹ کل ارزش‌های تنا می‌باشد.

پس از شناسایی و ترسیم نقشه انتخاب (شکل ۴)، برای اینکه دید جامع‌تری نسبت به مسیرهای بیولوژی (و ژن‌های کاندیدای) مرتبط با مناطق ژنومی متمایزکننده نژادهای دنبه‌دار و بدون دنبه حاصل شود آنالیز غنی‌سازی مجموعه ژنی برای کلیه ژن‌های گزارش شده در این مناطق انجام شد که نتایج آن در جدول ۳ گزارش شده است. همانطور که قبلاً نیز اشاره شد برای انجام این آنالیز کلیه مناطق ژنومی که درصد بالای ۹۹/۵ درصد کل ارزش‌های تنا قرار داشتند به عنوان مناطق ژنومی کاندیداهای مرتبط با ذخیره چربی در نظر گرفته شدند تا با کاهش سطح آستانه نشانگرهای SNP که اثرات کوچک‌تر از سطح آستانه قبلی (۰/۰۰۱) داشتند نیز در آنالیز غنی‌سازی مجموعه ژنی مورد استفاده قرار گیرند (Abdalla *et al.*, 2016).

جدول ۳. تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی و مسیرهای معنی‌دار ($p < 0.05$) شناسایی شده مرتبط با نشانه‌های انتخاب بین نژادهای دنبه‌دار و بدون دنبه مورد مطالعه در این تحقیق

Term	Count	P-Value	Genes
Biological process			
GO:0009952~anterior/posterior pattern specification	32	1.10E-11	<i>BMP2, HOXB, HOXC, AURKA, BMP4, BMPR2, EPB41L5, FZD5, WNT1, ALX1</i>
GO:0001501~skeletal system development	51	9.00E-11	<i>GLI2, IHH, ACAN, BMP2, BMP1, DMPR2</i>
GO:0002520~immune system development	54	5.70E-04	<i>ATG5, IL4, LYN, ACTIN1, AURKA, FZD7, DMTN</i>
GO:0033993~response to lipid	29	2.20E-02	<i>AXL, BAD, LYN, ABHD2, BMP4, CPS1, FAM210B</i>
GO:0055088~lipid homeostasis	12	6.90E-03	<i>ABCA12, LIMA1, NFE2L1, SOAT2, SAR1B, TGFB1</i>
GO:0043549~regulation of kinase activity	35	1.00E-03	<i>BMP2, BMP4, ALX1, NAD, CDK5RAP3, IGF1, MAP3K5, PIP4K2B</i>
Cellular component			
GO:0044424~intracellular part	597	5.60E-13	<i>DNPH1, ATIC, ASXL2, ACADL, CLK1, HSP40, EHD1</i>
GO:0044464~cell part	672	6.90E-11	<i>NID2, ACADL, ANO4, DNPH1, AKT2, GLS, DIP2B</i>
GO:0016942~insulin-like growth factor binding protein complex	3	1.20E-02	<i>IGF1, IGFBP5, IGFBP6</i>
Molecular Function			
GO:0005515~protein binding	294	4.10E-09	<i>PDGFD, ERBB2, EPB41L1, FNI, FZD5, MAP4K2</i>
GO:0008083~growth factor activity	15	9.60E-04	<i>KITLG, AMH, PDGFD, BMP2, BMP4, IL4, IL5, VEGFA, VEGFB</i>
Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes			
oas05200:Pathways in cancer	48	7.00E-06	<i>AKT2, BAD, STAT4, TCF7, VEGFA</i>
oas04010:MAPK signaling pathway	29	8.60E-05	<i>CRK, MKNK2, DUSP6, ERBB2, FGF17</i>
oas05217:Basal cell carcinoma	11	2.90E-04	<i>GLI2, WNT1, BMP2, BMP4, FZD5</i>
oas04934:Cushing syndrome	17	9.00E-04	<i>WNT6, ADCY6, SPI1, GNAI1</i>
oas04916:Melanogenesis	13	1.30E-03	<i>KITLG, WNT6, CREB1</i>

بررسی مسیرهای هستی‌شناسی (GO term)^۱ در سه بخش فرآیندهای زیستی^۲ (BP)، عملکرد مولکولی^۳ (MF) و اجزای سلولی^۴ (CC) و همچنین مسیرهای بیوشیمیایی^۵ (KEGG) انجام شد (جدول ۳). نتایج حاصل نشان داد که بیشتر این ژن‌ها در مسیرهای بیولوژیکی مانند، توسعه محور قدامی- خلفی (GO:0009952)، مورفولوژی اسکلتی و ساختار بدن (GO:0001501)، هموستازی لیپیدها (GO:0055088)، سیستم ایمنی (GO:0002520)، فعالیت پروتئین کیناز (GO:0043549)، و نکروز سرطانی (oas05200) دخالت دارند. تحقیقات مختلف وجود ارتباط بین این مسیرهای بیولوژیکی (و ژن‌های کاندیدای هر مسیر) با سنتز چربی را نشان داده است که در ادامه به برخی از موارد که در تحقیقات قبلی نیز گزارش شده است اشاره می‌شود. به عنوان مثال، ژن *BMP2* که در این پژوهش در منطقه ژنومی ۴۸۴۶۲۲۳۲-۴۸۴۷۲۵۹۹ روی کروموزوم ۱۳ به عنوان ژن کاندیدا شناسایی شد، ریخت‌شناسی ساختار و اندازه بدن را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در یک بررسی برای شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با ذخیره چربی در گوسفند، با توجه به نقش مهم ژن *BMP2* در توسعه استخوان و غضروف، این ژن به عنوان محتمل‌ترین ژن مؤثر در تشکیل دنبه گزارش شده است (Moioli et al., 2015). در تحقیقات متعدد دیگری نیز ژن *BMP2* به عنوان یکی از کاندیداهای اصلی مرتبط با ذخیره چربی در دنبه گزارش شده است (Ahbara et al., 2019).

1. Gene Ontology
2. Biological Process
3. Molecular Function
4. Cellular Component
5. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes

از دیگر ژن‌های شناسایی شده در تحقیق حاضر می‌توان به ژن *HOXB* (که شامل *HOXB1*, *HOXB2*, *HOXB3*, *HOXB4*, *HOXB5*, *HOXB6*, *HOXB7*, *HOXB8*, *HOXB9* و *HOXB13* می‌باشد) و ژن *HOXC* (که شامل *HOXC4*, *HOXC5*, *HOXC6*, *HOXC8*, *HOXC9*, *HOXC11* و *HOXC13* است) اشاره کرد. ژن‌های خانواده *HOX* در کنترل و گسترش جنین، توسعه محور قدامی- خلفی و مورفولوژی اسکلتی (الگودهی در امتداد محور قدامی- خلفی)، ساختارهای عصبی و اندام‌های داخلی نقش دارند. این گروه ژنی در مهره‌داران نقش کلیدی بازی می‌کنند و ما را در درک تنظیم چگونگی عملکرد و گسترش اندام‌ها و سامانه‌ی عصبی یاری می‌کند. شواهد حاصل از مطالعات انسانی و موش نشان می‌دهد که ژنهای *HOX* در بافت‌های چربی، حتی در سلول‌های پیش‌ساز تمایز نیافته و سلول‌های چربی قهوه‌ای بالغ وجود دارند و با تجمع لیپیدها مرتبط هستند (Kang et al., 2017).

ژن *IGF1* در منطقه ژنومی ۱۷۱۳۲۷۷۵۲ - ۱۷۱۲۶۸۴۰۰ روی کروموزوم ۳ شناسایی شد که پروتئین کدگذاری شده توسط این ژن از نظر عملکرد و ساختار شبیه به انسولین است. انسولین با فعال کردن لیپوژنز، ذخیره چربی را افزایش می‌دهد. فعالیت پروتئین کیناز برای عملکرد انسولین روی متابولیسم چربی در سلول‌های چربی ضروری هستند (Berggreen et al., 2009). همچنین تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که اکسی‌توسین باعث افزایش جذب گلوکز و استفاده از لیپید در بافت چربی و عضله اسکلتی می‌شود که نشان می‌دهد اختلال در عملکرد اکسی‌توسین می‌تواند زمینه ساز پاتوژنز مقاومت به انسولین باشد (Ding et al., 2018). همچنین ژن *ASXL2* در منطقه ژنومی ۳۲۹۹۷۰۷۱-۳۲۹۶۰۷۱۴ روی کروموزوم ۳ شناسایی شد که در تنظیم رونویسی با واسطه گیرنده‌های هورمون هسته‌ای متصل به لیگاند، مانند گیرنده گاما فعال شده با تکثیر پراکسی زوم (PPARG) به عنوان فعال‌کننده PPARG عمل می‌کند و فعالیت القای تمایز سلولی چربی را افزایش می‌دهد (UniProtKB). ژن *NID2* که در این تحقیق به عنوان نشانه انتخاب شناسایی شد، در منطقه کروموزومی ۴۲۰۱۳۲۹۴-۴۲۰۱۳۲۹۴ روی کروموزوم ۳ قرار داشت که در متابولیسم چربی نقش دارد و توزیع چربی را در بدن تنظیم می‌کند (Sun et al., 2021).

ژن *ACADL* که در منطقه ژنومی ۲۱۰۸۳۹۹۵۱ - ۲۱۰۷۹۷۴۶۷ روی کروموزوم ۲ قرار دارد، در متابولیسم چربی‌ها دخالت دارد. مرحله اولیه بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب زنجیره بلند توسط آسیل کوآنزیم A دهیدروژناز کاتالیز می‌شود، که *ACADL* تنظیم کننده کلیدی در متابولیسم چربی است. این ژن به عنوان یک ژن کاندید برای رسوب چربی در خوک پیشنهاد شده است (Zhang et al., 2020). اخیراً مشخص شده است که ژن *ACADL*، تمایز سلول‌های چربی زیر جلدی بز را نیز به عنوان یک تنظیم‌کننده تعدیل می‌کند (Li et al., 2023). همچنین، این ژن در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ و افراد چاق شناسایی شده است (Zhang et al., 2010). بررسی‌های پیشین نشان می‌دهد، ژن *ANO4* که در این تحقیق هم به عنوان نشانه انتخاب شناسایی شد، در منطقه ژنومی ۱۷۰۰۶۱۶۱۰-۱۶۹۶۲۲۰۶۵ روی کروموزوم ۳ قرار دارد، در رسوب چربی مؤثر می‌باشد (Chaabi et al., 2022). ژن *PDGFD* (فاکتور رشد مشتق از پلاکت D) نیز یکی دیگر از ژن‌هاست که در بسیاری از تحقیقات دیگر مرتبط با ذخیره چربی به عنوان یک ژن کاندید مهم برای فنوتیپ دنبه در گوسفند گزارش شده است (Wei et al., 2021). این ژن در پژوهش حاضر نیز در موقعیت ۴۱۳۳۹۹۸-۳۸۴۸۵۴۶ روی کروموزوم ۱۵ به عنوان یکی از ژن‌های تحت انتخاب در مقایسه گوسفندان دنبه‌دار و بدون دنبه شناسایی شد.

ژن *ACADL* که در منطقه ژنومی ۲۱۰۸۳۹۹۵۱ - ۲۱۰۷۹۷۴۶۷ روی کروموزوم ۲ قرار دارد، در متابولیسم چربی‌ها دخالت دارد. مرحله اولیه بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب زنجیره بلند توسط آسیل کوآنزیم A دهیدروژناز کاتالیز می‌شود، که *ACADL* تنظیم کننده کلیدی در متابولیسم چربی است. این ژن به عنوان یک ژن کاندید برای رسوب چربی در خوک پیشنهاد شده است (Zhang et al., 2020). اخیراً مشخص شده است که ژن *ACADL*، تمایز سلول‌های چربی زیر جلدی بز را نیز به عنوان یک تنظیم‌کننده تعدیل می‌کند (Li et al., 2023). همچنین، این ژن در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ و افراد چاق شناسایی شده است (Zhang et al., 2010). بررسی‌های پیشین نشان می‌دهد، ژن *ANO4* که در این تحقیق هم به عنوان نشانه انتخاب شناسایی شد، در منطقه ژنومی ۱۷۰۰۶۱۶۱۰-۱۶۹۶۲۲۰۶۵ روی کروموزوم ۳ قرار دارد، در رسوب چربی مؤثر می‌باشد (Chaabi et al., 2022). ژن *PDGFD* (فاکتور رشد مشتق از پلاکت D) نیز یکی دیگر از ژن‌هاست که در بسیاری از تحقیقات دیگر مرتبط با ذخیره چربی به عنوان یک ژن کاندید مهم برای فنوتیپ دنبه در گوسفند گزارش شده است (Wei et al., 2021). این ژن در پژوهش حاضر نیز در موقعیت ۴۱۳۳۹۹۸-۳۸۴۸۵۴۶ روی کروموزوم ۱۵ به عنوان یکی از ژن‌های تحت انتخاب در مقایسه گوسفندان دنبه‌دار و بدون دنبه شناسایی شد.

ژن *LIMA1* یکی دیگر از ژن‌های تحت انتخاب در تحقیق حاضر است که در منطقه ژنومی ۱۳۵۹۱۸۲۴۶ - ۱۳۵۹۷۸۷۷۸ روی کروموزوم ۳ قرار دارد. این ژن در هموستاز کلسترول نقش دارد و سطح کلسترول پلاسما را از طریق تنظیم جذب کلسترول روده‌ای تحت تأثیر قرار می‌دهد (Gene Cards). همچنین ژن *NFE2L1* نیز که در منطقه ژنومی ۳۷۹۷۲۰۷۶ - ۳۷۹۸۱۷۴۳ روی کروموزوم ۱۱ قرار دارد، به عنوان یک حسگر کلیدی، کلسترول اضافی عمل می‌کند. در شرایط کلسترول اضافی، فرم غشای شبکه آندوپلاسمی پروتئین به طور مستقیم از طریق موتیف CRAC خود به کلسترول متصل می‌شود و از برش و آزاد شدن فاکتور رونویسی *NRF1* جلوگیری می‌کند، در نتیجه امکان بیان ژن‌هایی را فراهم می‌کند که باعث حذف کلسترول می‌شوند (Gene Cards). همچنین در یکی از جدیدترین گزارش‌ها بیان شده است ژن *ABHD2* که در منطقه ژنومی ۱۹۸۰۲۵۷۸ - ۱۹۷۲۳۲۸۶ روی کروموزوم ۱۸ قرار دارد، و در تحقیق حاضر در مناطق ژنومی متمایز کننده نژادهای دنبه‌دار و بدون دنبه شناسایی شده است می‌تواند متابولیسم تری گلیسیریدها را تنظیم نماید (Lv et al., 2024).

در انتها ذکر این نکته ضروری است که هرچند هدف تحقیق حاضر شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با ذخیره چربی بود ولی با توجه به اینکه عمدتاً نژادهای دنبه‌دار در مقایسه با نژادهای بدون دنبه تحت شرایط محیطی و آب و هوایی سخت‌تری نگهداری می‌شوند، این انتظار وجود داشت که برخی از مناطق شناسایی شده در تحقیق حاضر با سیستم ایمنی و مقاومت به شرایط محیطی نیز در ارتباط باشند. نتایج حاصل نیز تأیید کننده این واقعیت بودند. به عنوان مثال ژن‌های اینترلوکین (*IL4*, *IL3*، *IL5* و *IL13*) که در این تحقیق شناسایی شدند، جزئی از خانواده سایتوکین‌ها هستند، و نقش کلیدی در پاسخ‌های ایمنی دارند. سایتوکین‌ها خانواده بزرگی از مولکول‌های محلول در آب بوده و نقش تنظیمی در پاسخ به التهاب دارند و در فرآیند ایمنی مؤثر هستند. به طوری که هم در ایمنی ذاتی و هم در ایمنی اکتسابی نقش دارند (Gene Cards). ژن دیگری که در سیستم ایمنی نقش داشت و به عنوان نشانه انتخاب در این تحقیق شناسایی شد ژن *ATG* بود که پروتئین کدگذاری شده توسط این ژن، در ترکیب با پروتئین اتوفاژی ۱۲، به عنوان یک آنزیم فعال کننده شبه E1 در یک سیستم کونژوگه مانند یوبیکوئیتین عمل می‌کند. پروتئین کدگذاری شده در چندین فرآیند سلولی، از جمله تشکیل وزیکول اتوفاژی، کنترل کیفیت میتوکندری پس از آسیب اکسیداتیو، تنظیم منفی پاسخ ایمنی ضد ویروسی ذاتی، توسعه و تکثیر لنفوسیت‌ها، تمایز سلول‌های چربی و آپوپتوز نقش دارد (Gene Cards).

نتیجه گیری و پیشنهادها

در این تحقیق با هدف شناسایی مناطق ژنومی، مسیرهای زیستی و ژن‌های کاندیدای مؤثر بر ذخیره چربی در دنبه (یا قسمت‌ها احشایی) از اطلاعات ژنومی مجموعه‌ای از نژادهای دنبه‌دار و بدن دنبه که در کشورهای مختلف قاره آسیا و آفریقا پراکنش داشتند استفاده شد. نتایج حاصل از این تحقیق منجر به شناسایی مناطقی از ژنوم روی کروموزوم‌های ۱ (چهار منطقه)، ۲، ۳ (دو منطقه)، ۵ (دو منطقه)، ۷ (دو منطقه)، ۸، ۹، ۱۱، ۱۳ (دو منطقه)، ۱۵ (دو منطقه)، و ۲۰ گردید که به شدت (صدک ۰/۰۰۱) بین این نژادها به صورت متمایز هدف انتخاب قرار گرفته بودند. بررسی بیوانفورماتیکی و آنالیز مجموعه غنی شده ژن‌های موجود در این مناطق ژنومی نشان داد که بیشتر ژن‌های شناسایی شده در این مناطق به صورت مستقیم یا غیر مستقیم با متابولیسم چربی، سازگاری با شرایط محیطی و سیستم ایمنی در ارتباط هستند. در مجموع، نتایج پژوهش حاضر با استفاده از اطلاعات ژنومی مجموعه متنوعی از نژادهای گوسفند آسیایی و آفریقایی، ضمن پوشش دادن محدودیت تحقیقات قبلی (همانند تعداد کم نمونه و در نظر گرفتن شکل دم و دنبه در انتخاب حیوانات) رویکرد جدیدی را برای استنتاج نشانه‌های انتخاب مرتبط با ذخیره چربی در ژنوم گوسفند ارائه می‌دهد. نتایج این تحقیق می‌تواند منبع اطلاعاتی باارزشی در جهت شناسایی مناطق ژنومی، مسیرهای بیولوژیکی ژن‌های متمایز کننده نژادهای دنبه‌دار و بدون دنبه در گوسفندان این دو قاره و درک

سازوکارهای مولکولی دخیل در سازگاری تکاملی این نژادها به شرایط آب و هوایی که با آن سازگاری یافتند، فراهم آورد. بررسی هر یک از این جایگاه‌های ژنومی شناسایی شده در نژادهای مستقل دارای رکوردهای فنوتیپی دقیق در تحقیقات بعدی، می‌تواند در تأیید ارتباط این مناطق کاندیدا با ذخیره چربی و یا روشن شدن ماهیت فنوتیپی هر یک از جایگاه‌های ژنومی دیگر نقش مهمی داشته باشد.

منابع

چیبی، م؛ فیاضی، ج؛ روشنفکر، ه.؛ نظری، م؛ مرادی، م. ح (۱۴۰۱). پویش گسترده ژنوم گوسفند برای اثرات متقابل لوکوسهای مؤثر بر وجود دنبه. *پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان*، ۴۸-۴۷.

مرادی، م. ح؛ خلت آبادی فراهانی، ا. ح؛ نجاتی جوارمی، ا (۱۳۹۶). ارزیابی ژنگانی اندازه مؤثر جمعیت برخی از نژادهای گوسفند ایرانی با استفاده از اطلاعات عدم تعادل پیوستگی. *مجله علوم دامی ایران*، ۴۸ (۱)، ۴۹-۳۹.

REFERENCES

- Abdalla E.A., Peñagaricano, F., Byrem T.M., Weigel K.A., & Rosa, G.J.M. (2016). Genome-wide association mapping and pathway analysis of leukosis incidence in a US holstein cattle population. *Animal Genetics*, 47(4), 395-407.
- Abdelkader, A.A., Ata, N., Benyoucef, M.T., Djaout, A., Azzi, N., & Yilmaz, O. (2017). New genetic identification and characterisation of 12 Algerian sheep breeds by microsatellite markers. *Italian Journal of Animal Science*, 17, 38-48.
- Ahbara, A., Bahbahani, H., Almathen, F., Al Abri, M., Omar Agoub, M., Abeba, A., Kebede, A., Musa, H., Mastrangelo, S., Pilla, F., Ciani, E., Hanotte, O., & Mwacharo, J. M. (2019). Genome-wide variation, candidate regions and genes associated with fat deposition and tail morphology in Ethiopian Indigenous sheep. *Frontiers in Genetics*, 9, 699.
- Akey J.M. (2009). Constructing genomic maps of positive selection in humans: Where do we go from here. *Genome Research*, 19(5), 711-722.
- Berggreen, C., Gormand, A., Omar, B., Degerman, E., & Goransson, O. (2009). Protein kinase B activity is required for the effects of insulin on lipid metabolism in adipocytes. *Physiolgy Endocrinol Metabolism*, 296, 635-E646.
- Bedhraf-Romdhani, S., Djemali, M., Zaklouta, M., & Iniguez, L. (2008). Monitoring crossbreeding trends in native Tunisian sheep breeds. *Small Ruminant Research*, 74(3), 274-8.
- Chaabi, M., Fayazi, J., Roshanfekar, H.A., Nazari, M., & Moradi M.H. (2022). GWAS of the sheep genome to find loci interaction affecting Fat-tail formation. *Master of Science thesis*, University of Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan. Pp, 47-48. (In Persian)
- Chang, C.C., Chow, C.C., Tellier, L.CAM., Vattikuti, S., Purcell, S.M., & Lee, J. (2015). Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *Giga Science*, 4(7), 1-16.
- Curik, I., Ferencakovic, M., & Solkner, M. (2014). Inbreeding and runs of homozygosity: A possible solution to an old problem. *Science Direct*, 166, 26-34.
- Ding, C., Leow, M.K., & Magkos, F. (2018). Oxytocin in metabolic homeostasis: implications for obesity and diabetes management. *Obesity Reviews*, 20, 22-40.
- Dong, K., Yang, M., Han, J., Ma, Q., Han, J., & Song, Z. (2020). Genomic analysis of worldwide sheep breeds reveals PDGFD as a major target of fat-tail selection in sheep. *BMC Genomics*, 21, 800.
- Farid, A. (1991). Slaughter and carcass characteristics of three fat-tailed sheep breed and their crosses with Corriedal and Targhee rams. *Small Ruminant Research*, 5, 255-71
- Fariello, M.I., Servin, B., Tosser-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), 103813.
- Gaouar, S.B.S., Lafri, M., Djaout, A., El-Bouyahiaoui, R., Bouri, A., Bouchatal, A., Maftah, A., Ciani, E., & DaSilva, A.B. (2017). Genome -wide analysis highlights genetic dilution in

- Algerian sheep. *Heredity*, 118, 293-301.
- GeneCards. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=STAT2>
- Hirokawa, N., & Tekamura, R. (2003). Biochemical and molecular characterization of disease linked to motor proteins. *Trends Biochemical Science*, 28(10), 558-565.
- Jarvis, J.P., Scheinfeldt, L.B., Soi, S., Lambert, C., Omberg, L., Ferwerda, B., Froment, A., Bodo, J.M., Beggs, W., Hoffman, G., Mezey, J., & Tishkoff, S.A. (2012). Patterns of ancestry, signatures of natural selection, and genetic association with stature in Western African pygmies. *PLoS Genetics*, 8(4), 1002641.
- Jombart, T., & Ahmed, I. (2011). New tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics*, 27(21), 3070-3071.
- Isani, G.B., Yaqoob, M., Khan, B.B., Younas, M., & Hanjra, S.H. (2012). A comparative study of effect of docking fat-tailed sheep and crossbreeding fat-tailed and thin-tailed sheep on growth and carcass characteristics. *Pakistani Journal of Agriculture Science*, 49(1), 88-92.
- Kalds, P., Luo, Q., Sun, K., Zhou, S., Chen, Y., & Wang, X. (2021). Trends towards revealing the genetic architecture of sheep tail patterning: Promising genes and investigatory pathways. *Animal Genetics*, 52, 799-812.
- Kang, D., Zhou, G., Zhou, S., Zeng, J., Wang, X., Jiang, Y., Yang, Y., & Chen, Y. (2017). Comparative transcriptome analysis reveals potentially novel roles of Homeo box genes in adipose deposition in fat-tailed sheep. *Nature*, 7, 14491.
- Kijas, J.W., Lenstra, J.A., Hayes, B., Boitard, S., Porto Neto, L.R., Cristobal, M.S., & Dalrymple, B. (2012). Genome wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection. *PLoS Biology*, 10, e1001258.
- Li, A., Li, Y.Y., Wuqie, Q.B., Li, X., Zhang, H., & Wang, Y. (2023). Effect of ACADL on the differentiation of goat subcutaneous adipocyte. *Animal Bioscience*, 36, 829.
- Li, X., Yang, J., Shen, M., Xie, X.L., Liu, G.J., & Xu, Y.X. (2020). Whole-genome resequencing of wild and domestic sheep identifies genes associated with morphological and agronomic traits. *Nature Communications*, 11, 2815.
- Lu, Z., Liu, J., Han, J., & Yang, B. (2020). Association Between BMP2 Functional Polymorphisms and Sheep Tail Type. *Animals*, MDPI 10, 739.
- Luo, R., Zhang, X., Wang, L., Zhang, L., Li, G., & Zheng, Z. (2021). GLIS1, a potential candidate gene effect fat deposition in sheep tail. *Molecular Biology Reports*, 48, 4925-4931.
- Lv, M.Y., Jin, L.L., Sang, X.Q., Shi, W.C., Qiang, L.X., Lin, Q.Y., & Jin, S.D. (2024). Abhd2, a Candidate Gene Regulating Airway Remodeling in COPD via TGF- β . *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 19, 33-50.
- MacEachern, S.B., Hayes, J., McEwan, & 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.
- Manzari, Z., Mehrabani-Yeganeh, H., Nejati-Javaremi, A., Moradi, M.H., & Gholizadeh, M. (2019). Detecting selection signatures in three Iranian sheep breeds. *Animal Genetics*, 50 (3), 298-302.
- Mastrangelo, S., Bahbahani, H., Moioli, B., Ahbara, A., Abri, M.A., & Almathen, F. (2019). Novel and known signals of selection for fat deposition in domestic sheep breeds from Africa and Eurasia. *PLOS ONE* 14, 0209632.
- Moioli, B., Pilla, F., & Ciani, E. (2015). Signatures of selection identify loci associated with fat tail in sheep. *American Society of Animal Science*, 93 (10), 4660-4669.
- Moradi, M.H., Farahani, A.H., & Nejati-Javaremi, A. (2017). Genome-wide evaluation of effective population size in some Iranian sheep breeds using linkage disequilibrium information. *Iranian Journal Animal Science*, 48(1), 39-49. (In Persian)
- 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(1), 10

- Moradi, M.H., Nejati-Javaremi, A., Moradi-Shahrbabak, M., Dodds, K.G., Brauning, R., & McEwan, J.C. (2021). Hitchhiking mapping of candidate regions associated with fat deposition in Iranian thin and Fat Tail sheep breeds suggests new insights into molecular aspects of fat tail selection. *Animals*, 12, 1423.
- Nejati-Javaremi, A., Izadi, F.A., Rahmati, G.H., & Moradi, M. (2007). Selection in fat-tailed sheep based on two traits of fat-tail and body weight versus single-trait total body weight. *International Journal of Agriculture Biology*, 9(4), 645-8.
- Pan, Z., Li, S., Liu, Q., Wang, Z., Zhou, Z., Di, R., An, X., Miao, B., Wang, X., Hu, W., Guo, X., Lv, S., Li, F., Ding, G., Chu, M., & Li, X. (2019). Rapid evolution of a retro-transposable hotspot of ovine genome underlies the alteration of BMP2 expression and development of fat tails. *BMC Genomics*, 20, 261.
- Pinnapureddy, A. R., Stayner, C., McEwan, J., Baddeley, O., Forman, J., & Eccles, M. R. (2015). Large animal models of rare genetic disorders: sheep as phenotypically relevant models of human genetic disease. *Orphanet journal of rare diseases*, 10(1), 1-8.
- Scheerlinck, J. P. Y., Snibson, K. J., Bowles, V. M., & Sutton, P. (2008). Biomedical applications of sheep models: from asthma to vaccines. *Trends in biotechnology*, 26(5), 259-266.
- Sun, C., Kovacs, P., & Guiu-Jurado, E. (2021). Genetics of body fat distribution: comparative analyses in populations with European, Asian and African ancestries. *Genes*, 12, 841.
- UniProtKB Gene. http://www.uniprot.org/help/gene_name
- Weedon, M.N., Lango, H., Lindgren, C.M., Wallace, C., & Evans, D.M. (2008). Genome-wide association analysis identifies 20 loci that influence adult height. *Nature genetics*, 40, 575-83.
- Wei, C., Wang, H., Liu, G., Wu, M., Cao, J., Liu, Z., Liu, R., Zhao, F., Zhang, L., Lu, J., Liu, C., & Du, L. (2015). Genome-wide analysis reveals population structure and selection in Chinese indigenous sheep breeds. *BMC Genomics*, 16, 194.
- Weir, B.S., & Cockerham, C.C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38, 1358-1370.
- Yuan, Z., Liu, E., Liu, z., Kijas, J.W., Zhu, C., Hu, S., Ma, X., Zhang, L., Du, L., Wang, H., & Wei, C. (2016). Selection signature analysis reveals genes associated with tail type in Chinese indigenous sheep. *Animal Genetics*, 48 (1), 55-66.
- Zhang, D., Christianson, J., Liu, Z.X., Tian, L., Choi, C.S., Neschen, S., Dong, J., Wood, P.A., & Shulman, G.I. (2010). Resistance to high-fat diet-induced obesity and insulin resistance in mice with very long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Cell metabolism*, 11, 402-411.
- Zhang, M., Sunaba, T., Sun, Y., Shibata, T., Sasaki, K., & Isoda, H. (2020). Acyl-CoA dehydrogenase long chain (ACADL) is a target protein of stylissatin A, an anti-inflammatory cyclic heptapeptide. *Antibiotics*, 73, 589-592.
- Zhao, F., Deng, T., Shi, L., Wang W., Zhang Q., & Du, L. (2020). Genomic Scan for Selection Signature Reveals Fat Deposition in Chinese Indigenous Sheep with Extreme Tail Types. *MDPI*, 10, 773.
- Zhi, D., Da, L., Liu, M., Cheng, C., Zhang, Y., Wang, X., Li, X., Tian, Z., Yang, Y., He, T., Long, X., Wei, W., & Cao, G. (2018). Whole genome sequencing of Hulunbuir short-tailed sheep for identifying candidate genes related to the short-tail phenotype. *Genome Reports*, 8(2), 377-383.
- Zhu, C., Li, N., Cheng, H., & Ma, Y. (2021). Genome wide association study for the identification of genes associated with tail fat deposition in Chinese sheep breeds. *Biology Open*, 10, 5.