

Using Bayes statistical method in identifying genetic factors affecting body weight at the final ages of growth in a population of mixed broiler chickens

Abstract

Body weight trait as a polygenic trait in animal breeding has a high impact on the profitability of poultry industry. For this reason, identifying the genetic loci associated with this trait is important. In typical GWAS, the analyses are based on the regression of single nucleotides on the observed phenotypes. In these methods, it is assumed that all genetic variables follow a normal statistical distribution which this is inconsistent with new findings about the role of some genomic loci. In contrast to these methods, in the Bayesian method it is possible to define more than one statistical distribution for the effects of variables. Therefore, the present study was performed to identify causal single nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with body weight in 9, 10, 11 and 12 weeks of age, in an F2 crossbred chicken population between Arian line and native chickens of Azerbaijan province using BayesCpi methodology. Finally, 10 significant markers for body weight at different ages were identified. These SNPs are close to or within 8 genes and are distributed on 6 chromosomes. Of the above genes, 7 genes encode proteins and 1 ncRNA gene. To identify genes associated with each SNP in candidate regions, 0.5 Mb around each SNP was considered significant. Results can be used in genomic selection and marker or gene assisted selection to improve growth rate in chicken.

Keywords: *Bayesian method, Body weight, Candidate gene, Genome-wide association study, Single nucleotide polymorphism,*

Extended Abstract

Introduction

Body weight as one of the most important carcass traits in chickens is of critical importance in meat production. This trait is regulated by different genetic factors (including genetic polymorphism, genetic background, and gene expression). Therefore, genetic studies focused on this trait are of great importance. In this regard, the identification of genome polymorphisms and genes affecting body weight (by genome wide association studies) provide the necessary information to select and improve this trait based on markers. Different methods have been used to identify the genetic factors affecting polygenic traits. Among them bayes methodology due to the simultaneous use of all SNPs in a regression model is a suitable alternative to overcome excess of false positives and the overestimation of SNPs effects which is created when using common methods such as least squares. For this reason, Bayesian methods based on Gibbs sampling technique have been considered as a new method. Therefore, the present study was conducted with the aim of identifying genes affecting the body weight trait using the BayesCpi method. The population under study was an F2 population of crossbred chickens, which are more beneficial than random populations in reducing errors and improving mapping accuracy.

Background and objectives

The aim of the present study is to identify SNPs associated with body weight in late growth stages in a population of mixed chickens. For this purpose, Bayesian methods based on Gibbs sampling technique are used as a new method and an F2 population of mixed chickens. Because in most breeding studies, the importance of statistical methods is considered, and the F2 population leads to a reduction in errors and improvement of mapping accuracy.

Materials and method

The required phenotypic data were collected from an F2 generation created in the Poultry Breeding Research Center, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University. To create this population, a cross was made between a commercial broiler line (Arian (AA)) and a native Iranian chicken (NN) (Urmia). The choice of Arian chicken was due to its body weight and meat quality characteristics. Urmia chicken was also chosen due to its greater resistance to diseases and pathogens. After 23 generations of selection, finally 450 F2. All weightings were done after 8 hours of fasting and weekly using a digital scale with a capacity of 50 kg and a measurement accuracy of 1 gram. Genotypic data were also obtained from 312 birds of the F2 generation using Illumina 60k SNP chips. Finally, crossbred regression model and GS3 software were used for data analysis. After identifying the markers using the ncbi website and considering 0.5 Mbp around each SNP, genes close to them were identified.

Result

Using the Bayes factor of 150 as significant thresholds, 10 SNP markers and eight candidate genes were identified for body weight at ages 9–12 weeks. These markers and genes were distributed on six chromosomes of which 6 were protein-encoding genes and the rest were noncoding regions (MIR135A2 and LOC112531721). The identified genes included AKR1D1, XPO7, CSMD2, SEPT8, LMO7 and SHISA6, and had different metabolic functions. Results can be used in genomic selection and marker or gene assisted selection to improve growth rate in chicken.

Conclusion

Our results have provided 10 SNP markers for body weight at ages 9, 10, 11 and 12 weeks which provide appropriate information to help identify the genes affecting the body weight trait in the end ages of chickens. The results of the present study, confirming the previous studies, prove the role of macro-chromosomes in controlling growth traits.

استفاده از روش آماری بیز در شناسایی عوامل ژنتیکی مؤثر بر وزن بدن در سنین نهایی

رشد در یک جمعیت از جوجه های گوشتی آمیخته

چکیده

صفت وزن بدن به عنوان یک صفت پلی ژنیک در اصلاح نژاد دام اثر بالایی بر سودآوری صنعت پرورش مرغ دارد. از این رو، شناسایی جایگاه های ژنتیکی مرتبط با این صفت حائز اهمیت است. در مطالعات پویش ژنوم معمولی، تجزیه و تحلیل ها بر اساس رگرسیون تک نوکلئوتیدی بر حسب فنوتیپ های مشاهده شده می باشد. در این روش ها، فرض بر این است که کل متغیرهای ژنتیکی، از یک توزیع آماری نرمال پیروی می کنند که با یافته های جدید در مورد نقش بیشتر برخی جایگاه های ژنومی و نقش کمتر برخی دیگر، همخوانی ندارد. برخلاف این روش ها، در روش های بیزی، امکان تعریف بیش از یک توزیع آماری برای اثرات متغیرها وجود دارد. از این رو، مطالعه ای حاضر با هدف شناسایی نشانگرهای تک مارکری مؤثر بر صفت وزن بدن مرغ در سنین پایانی رشد (۹، ۱۰، ۱۱ و ۱۲ هفته) و با استفاده از اطلاعات نسل دوم جوجه های آمیخته ایجاد شده از تلاقی دوطرفه بین لاین آرین و مرغ های بومی استان آذربایجان با استفاده از روش بیز Cpı انجام شد. در نهایت، ۱۰ نشانگر معنی دار برای وزن بدن در سنین مختلف شناسایی شدند. این SNP ها به صورت سببی و یا به واسطه وجود عدم تعادل پیوستگی با هشت ژن که بر روی شش کروموزوم توزیع شده اند، به طور معنی داری بر صفات مورد مطالعه اثر گذارند. از ژن های شناسایی شده، هفت ژن، کد کننده پروتئین و یک ژن ncRNA می باشند. برای شناسایی ژن های مرتبط با هر SNP در مناطق کاندیدا، ۰/۵ Mb اطراف هر SNP معنی دار در نظر گرفته شد. نتایج مطالعه حاضر، در انتخاب ژنومی و انتخاب به کمک نشانگر یا ژن برای بهبود سرعت رشد در مرغ مؤثر می باشند.

کلیدواژه ها: روش بیزین، وزن بدن، ژن کاندیدا، مطالعه پویش کل ژنوم، چندشکلی تک نوکلئوتیدی

در قرون وسطی، ایران در محل تلاقی راه‌های حمل و نقل زمینی و دریایی خوراک مصرفی انسان مانند طیور قرار داشت. بدنبال جنگ‌های متعدد در اطراف ایران و کشورهای همسایه، توسعه و گسترش جمعیت طیور تسهیل شد. به طوری که، کاوش‌های باستان‌شناسی، وجود مرغ در ایران را در دوران باستان تایید کرده است (Mohammadabadi et al. 2010). این تحقیقات شامل دو اکتشاف در تپه یحیی (جنوب شرقی ایران) به ترتیب مربوط به ۳۸۰۰ تا ۳۹۰۰ سال قبل از میلاد و ۱۰۰۰ سال قبل از میلاد و دیگری در تخت سلیمان (شمال غربی ایران) متعلق به ۱۰۰۰ سال قبل از میلاد می‌باشد (Mohammadifar et al. 2014; Mohammadifar and Mohammadabadi 2017). از سوی دیگر، مرغ در تامین منبع اصلی پروتئین با کیفیت بالا (تولید گوشت و تخم مرغ) برای انسان و همچنین به عنوان یک حیوان نمونه در مطالعات ژنومی مطرح است (Shahdadnejad et al. 2016; Khabiri et al. 2023). به طوری که، هر ساله میلیاردها جوجه برای تامین نیاز دائمی پروتئین حیوانی پرورش داده می‌شوند (Mohammadifar and Mohammadabadi 2018). بنابراین مطالعات در مورد ژنوم مرغ دارای ارزش خاصی در صنعت پرورش طیور و پزشکی است (Wang et al. 2012).

وزن بدن، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین صفات لاشه در مرغ، اهمیت ویژه‌ای در تولید گوشت دارد. این صفت توسط عوامل ژنتیکی مختلف (از جمله پلی مورفیسم ژنتیکی، زمینه ژنتیکی و بیان ژن) تنظیم می‌شود (Saadatabadi et al. 2023). بنابراین، مطالعات ژنتیکی متمرکز بر این صفت از اهمیت بالایی برخوردار است (Pan et al. 2024). طی نیم‌قرن گذشته، پیشرفت‌های قابل توجهی در سرعت رشد مرغ گوشتی، به‌عنوان یک صفت مهم و باارزش اقتصادی، به‌دست‌آمده است (Emmerson 1997). به‌طوری که، انتخاب شدید برای وزن بدن، منجر به کاهش قابل توجه تعداد روزهای موردنیاز برای رشد پرنده و رسیدن به وزن مطلوب بازار، همچنین بهبود غیرمستقیم در تبدیل خوراک مصرفی شده است (Emmerson 1997). در این راستا، شناسایی چندشکلی‌های سطح ژنوم و ژن‌های مسبب مؤثر بر وزن بدن، اطلاعات لازم جهت انتخاب به کمک نشانگرها و ژن‌ها را به‌منظور بهبود این صفات فراهم می‌کنند (Goddard and Hayes 2009). انتخاب بر مبنای ژن، با افزایش هموزیگوسیتی، به‌طور قابل توجهی مکان‌های ژنومی مرتبط با صفات خاص یک ارگانیسم را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Kim et al. 2018).

نشانگرهای تک مارکری ((Single-nucleotide polymorphism (SNP)) رایج‌ترین نوع واریانت‌ها در ژنوم هستند که به‌طور گسترده برای انجام مطالعات پویش ژنوم ((Genome-wide association study (GWAS)) استفاده شده‌اند (Goddard et al. 2016). تراشه‌های SNP، انجام GWAS را برای صفات پیچیده، به‌ویژه صفات اقتصادی مهم در دام، ممکن و مقرون به صرفه کرده‌اند. مطالعات متعددی در مورد کاربرد موفق GWAS در اصلاح نژاد حیوانات گزارش شده است. این مطالعات، در نهایت ژن‌ها یا نشانگرهای معنی‌داری را برای صفات مهم اقتصادی معرفی می‌کنند (Goddard et al. 2016) که می‌توانند در انتخاب/پیش‌بینی ژنومی مورد استفاده قرار بگیرند (Howard et al. 2017). این گزارشات، نه تنها نشانگرهای مولکولی مرتبط با صفات را ارائه می‌کنند، بلکه می‌توانند اطلاعات مهمی را برای صفات مهم اقتصادی معرفی می‌کنند (Howard et al. 2017) که می‌توانند در انتخاب ژنومی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. (Risch 2017) and Merikangas 1996).

روش‌های مختلفی برای شناسایی عوامل ژنتیکی مؤثر بر صفات پلی‌ژنیک مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Asgari et al. 2024). در این راستا، اولین روش استفاده شده، روش حداقل مربعات بر مبنای p-value و کاربرد تصحیح بنفرونی (Bonferroni) است (Costa et al. 2015)، اما این روش دارای مشکلاتی نظیر میزان بالای نتایج مثبت کاذب و بیش برآورد اثرات QTL و SNP می‌باشد (Peters et al. 2012). روش BayesCpi به دلیل استفاده هم‌زمان از همه SNPها در مدل، می‌تواند جایگزین مناسبی برای غلبه بر بیش برآورد از اثرات SNP و میزان بالای مثبت کاذب باشد (Asgari et al. 2021). با توجه به اینکه صفات کمی تحت تأثیر تعداد زیادی SNP قرار دارند، مدلی که همه نشانگرها را به‌طور هم‌زمان آنالیز می‌کند، نسبت به مدل‌هایی که نشانگرها را به‌صورت جداگانه آنالیز می‌کنند، می‌تواند نتایج دقیق‌تری داشته باشد (Fritz and Boichard 2013). در اکثر مطالعات اصلاح نژادی اهمیت روش‌های آماری مدنظر می‌باشد. از این رو، روش‌های بیزی مبتنی بر تکنیک نمونه‌برداری گیبس به‌عنوان یک روش نوین مورد توجه قرار گرفته‌اند (Asgari et al. 2021). از سوی دیگر، برای انجام مطالعات پویش ژنوم، جمعیت طراحی شده F_2 در کاهش

میزان خطاه و بهبود دقت نقشه برداری سودمندتر از جمعیت‌های تصادفی می‌باشد (Ledur et al. 2010). بنابراین، مطالعه حاضر، با هدف شناسایی ژن‌های مؤثر بر صفت وزن بدن با استفاده از روش BayesCpi در یک جمعیت F_2 از مرغان آمیخته، انجام شد. اگرچه پیش از این، یک مطالعه بر روی داده‌های حاضر با استفاده از مدل خطی تعمیم یافته و مدل خطی مختلط منتشر شده است (Emrani et al. 2017)، اما این مطالعه با فرض اینکه استفاده از روش‌های آماری دیگر مانند روش‌های بی‌زی، منجر به کاهش خطا و ایجاد تفاوت در اندازه و مکان‌های مناطق شناسایی شده می‌شود، انجام گرفت.

روش‌شناسی پژوهش

جمعیت مورد مطالعه و داده‌های فنوتیپی

پرندگان مورداستفاده در این تحقیق از تلاقی دوطرفه بین مرغ گوشتی نر لاین آرین (AA) و مرغان بومی آذربایجان (NN) به دست آمدند. مرغ بومی، به‌عنوان یک نژاد دومنظوره (تخم‌مرغ و تولید گوشت) پرورش داده شدند. جوجه‌های لاین آرین از سویه‌های گوشتی تجاری با رشد سریع و مرغان بومی آذربایجان از سویه‌های بومی کند رشد با ظرفیت ایمنی بالای بدن در ایران هستند. جوجه‌های آرین از نظر وزن بدن و ویژگی‌های کیفیت گوشت، تحت انتخاب شدید قرار گرفتند. مرغان بومی آذربایجان نیز تحت انتخاب طبیعی بوده و نسبت به جوجه‌های آرین در برابر بیماری‌ها و عوامل بیماری‌زا مقاومت بیشتری داشتند. با توجه به فاصله ژنومی احتمالی بین این دو سویه، پرندگان لاین آرین (۴۹ پرنده، ۲۶ مرغ و ۲۳ خروس) از ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد مرغ آرین و پرندگان بومی (۷۹ پرنده، ۴۰ مرغ و ۳۹ خروس) از ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد مرغ بومی استان آذربایجان غربی واقع در ارومیه، در سن تقریباً ۱۳ هفتگی، در اسفند ۱۳۹۰ به سالن مرغداری دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس منتقل شدند. ابتدا پرندگان نسل اول (F_1) شامل ۹۵ جوجه آمیخته (پدر آرین \times مادر بومی) و ۳۵ جوجه آمیخته (پدر بومی \times مادر آرین)، سپس، جمعیت F_2 از تلاقی متقابل پرندگان F_1 ایجاد شدند. برای این منظور، نرهای F_1 بین چهار تا هشت ماده تقسیم شده و در نهایت، ۴۵۰ پرنده F_2 در شش هج، ۵۲ خانواده full-sib و هشت خانواده half-sib تولید گردید. پرندگان ابتدا به‌صورت گروهی، سپس، به قفس‌های انفرادی با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد منتقل و به‌تدریج با کاهش دما مواجه شدند، تا در نهایت در دمای نهایی ۲۲ درجه سانتی‌گراد پرورش یافتند. برای تغذیه جوجه‌ها در دو هفته اول جیره شروع‌کننده (CP ۲۲/۸٪ و ۳۰۲۵ کیلوکالری) استفاده شد. این جوجه‌ها از سن سه تا هشت هفتگی با جیره رشد (CP ۲۰٪ و ۳۰۶۰ کیلوکالری) و سپس، تا سن ۱۲ هفتگی با جیره تکمیلی (CP ۱۸٪ و ۳۰۷۰ کیلوکالری) پرورش یافتند. مرغ‌ها در برابر هیچ بیماری واکسینه نشده و خوراک و آب به‌صورت آزاد در اختیار داشتند. برای افزایش دقت اندازه‌گیری‌ها، قبل از هر وزن‌کشی، ۸ ساعت گرسنگی اعمال شد و وزن‌ها به‌صورت هفتگی و انفرادی ثبت گردید. پرنده‌ها در وزن‌های کمتر از یک کیلوگرم به‌وسیله ترازوی آزمایشگاهی دیجیتالی به ظرفیت یک کیلوگرم و دقت اندازه‌گیری ۰/۰۱ گرم و در وزن‌های بیشتر از یک کیلوگرم به‌وسیله ترازوی دیجیتالی به ظرفیت ۵۰ کیلوگرم و دقت اندازه‌گیری یک گرم توزین شدند. برای مطالعه حاضر از داده‌های ثبت‌شده برای وزن بدن (گرم) در سنین ۱، ۱۰، ۱۱ و ۱۲ هفتگی، استفاده گردید (Emrani, 2016).

داده‌های ژنوتیپی

داده‌های ژنوتیپی شامل ۳۱۲ نمونه خون از ورید بال پرنده‌های نسل F_2 با استفاده از سرنگ‌های پنج سی سی سی آغشته به ماده ضد انعقاد EDTA نیم مولار و مقدار یک میلی لیتر خون از هر پرنده بود که برای تعیین ژنوتیپ به دانشگاه آرهوس دانمارک ارسال شدند. با استفاده از روش بهینه‌شده و تغییر یافته نمکی از نمونه‌های خون کامل (گلوبول قرمز دارای هسته) استخراج DNA ژنومی انجام شد. به منظور تعیین کمیت و کیفیت DNA از دو روش اسپکتوفتومتری حجم معینی از DNA ژنومی به نسبت به نسبت خاصی با آب دو بار تقطیر (یا آب یون‌زدایی شده) و یا بافر TE رقیق شده و شدت نور در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر خوانده شدند و نسبت بین این دو که برآوردی از خلوص DNA را نشان می‌دهد محاسبه گردید. تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها نیز، با استفاده از پنل تجاری Illumina 60k SNP chip انجام شد و برای هر نمونه ۵۴۳۴۰ نشانگر SNP تعیین ژنوتیپ شد (Emrani, 2016). پس از کنترل کیفیت داده‌ها به‌وسیله نرم‌افزار plink نسخه ۱،۹، تعدادی از SNP‌ها به دلیل خطای تعیین ژنوتیپ بیشتر از ۱۰ درصد و

فراوانی آلی جزئی کمتر از پنج درصد از داده‌ها حذف گردیدند. همچنین همه نمونه‌ها نرخ فراخوانی بالاتر از ۹۰ درصد داشتند و هیچ کدام، از آنالیزها حذف نشدند. از طرفی همه نشانگر با انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ (10^{-6}) حذف شدند. تعداد SNPهای مورد استفاده برای هر آنالیز و تعداد پرنده در هر سن در جدول شماره ۱ آورده شده است.

جدول ۱. تعداد پرنده نسل F2 در سنین مختلف و تعداد SNP برای هر آنالیز

سن مرغ	تعداد رکورد برای هر آنالیز	میانگین وزن (انحراف معیار) (g)	تعداد نشانگر SNP
۹ هفتگی	۳۰۵	1935 ± 363	۴۳۵۹۶
۱۰ هفتگی	۳۰۰	2283 ± 420	۴۳۵۷۷
۱۱ هفتگی	۲۷۸	2573 ± 472	۴۳۶۷۴
۱۲ هفتگی	۱۹۲	2854 ± 523	۴۳۴۹۶

آنالیز آماری داده‌ها

برای آنالیز داده‌ها، از مدل رگرسیونی چند مارکری استفاده شد که اثرات جنس و هج به‌عنوان اثرات ثابت و اثرات پلی‌ژنیک و نشانگرها به‌عنوان اثرات تصادفی در مدل قرار گرفتند. مدل استفاده‌شده به‌صورت زیر بود:

$$y = Xb + Zu + Wg + e \quad \text{رابطه ۱}$$

در مدل فوق، y بردار مربوط به فنوتیپ‌ها، X ماتریس طرحی که اثرات سیستماتیک را به فنوتیپ‌ها مرتبط می‌سازد، b بردار اثرات سیستماتیک، Z ماتریس طرح که اثرات تصادفی را به فنوتیپ‌ها مرتبط می‌سازد، u بردار اثرات تصادفی پلی‌ژنیک افراد موجود در شجره، W یک ماتریس شامل ژنوتیپ SNPها (s) برای هر حیوان (n)، g بردار تصادفی از اثرات SNP و e بردار تصادفی از اثرات باقی‌مانده می‌باشد. این آنالیز در نرم‌افزار GS3 انجام گردید (<https://github.com/alegarra/g3>; ۲۰۱۱).

اثر SNPها با استفاده از روش BayesCpi برآورد شد (Varona *et al.* 2001). مقادیر اولیه برای واریانس پلی‌ژنتیک و واریانس باقی‌مانده نیز با استفاده از نرم‌افزار DMU محاسبه گردید و نمونه‌گیری با زنجیره مارکوف مونت‌کارلو انجام شد. در مجموع، آنالیزها با ۱۰۰,۰۰۰ زنجیره مارکوف (MCMC) با دور سوخته ۲۰,۰۰۰ انجام گرفت و نتایج هر ۱۰ چرخه ذخیره گردید. همگرایی نمونه‌ها، به‌وسیله رسم پلات از تراکم پسین واریانس ژنتیکی و باقی‌مانده با استفاده از نرم‌افزار R مورد بررسی قرار گرفت. به دست آوردن p-value برای اثرات SNP با استفاده از روش بیس امکان‌پذیر نیست. در این روش بجای p-value از فاکتور بیس (Bayes Factor) (BF) استفاده می‌شود (Varona *et al.* 2001) که برای ارزیابی معنی‌داری SNPها در صفات به‌صورت زیر محاسبه گردید:

$$BF = \frac{\frac{p}{1-p}}{\frac{\pi}{1-\pi}} \quad \text{رابطه ۲}$$

p احتمال پسین از اثر SNPهایی است که به آن‌ها یک اثر غیر صفر اختصاص داده می‌شود، π احتمال پیشین از SNPهایی است که در آنالیزها قرار می‌گیرند (Kass and Raftery 1995).

زمانی که BF استفاده می‌شود، نیازی به تصحیح Bonferroni وجود ندارد، زیرا تعداد زیادی از نشانگرها را می‌توان به‌طور هم‌زمان تجزیه و تحلیل کرد (Costa *et al.* 2015). در ادامه مقیاس‌های زیر جهت تشخیص معنی‌داری SNPها، مورد استفاده قرار گرفتند. در مطالعات دیگر نیز این مقیاس‌ها (Varona *et al.* 2001) برای شناسایی QTLها استفاده شده‌اند:

$BF = 3 - 20$ ، شواهد ضعیفی برای معنی‌داری SNPs ارائه می‌دهد.

$BF = 20 - 150$ ، شواهد قوی برای معنی‌داری SNPs ارائه می‌دهد.

BF < ۱۵۰، شواهد خیلی قوی برای معنی‌داری SNPs ارائه می‌دهد. در این مطالعه، SNPs با BF بیشتر از ۱۵۰ در نظر گرفته شده‌اند.

آنالیز بیوانفورماتیک

بعد از انجام آنالیز، نشانگرهایی که اثر معنادار بر فنوتیپ مربوطه داشتند برای آنالیز بیوانفورماتیکی استفاده شدند. پایگاه داده NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>) و نقشه ژنوم مرغ (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)، برای تعیین موقعیت SNPs در ژنوم مورد استفاده قرار گرفت. برای تعیین وظایف هر ژن از سایت UniProt (<https://www.uniprot.org/>) و GeneCards (<http://www.genecards.org/>) استفاده شد. برای بررسی QTL‌های گزارش شده مرتبط با وزن بدن از سایت Animal QTL Database (<https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/index>) و پایگاه KEGG (<https://www.genome.jp/kegg>) برای مطالعه مسیرهای بیوشیمیایی ژن‌های معرفی شده استفاده گردید.

یافته‌های پژوهشی و بحث

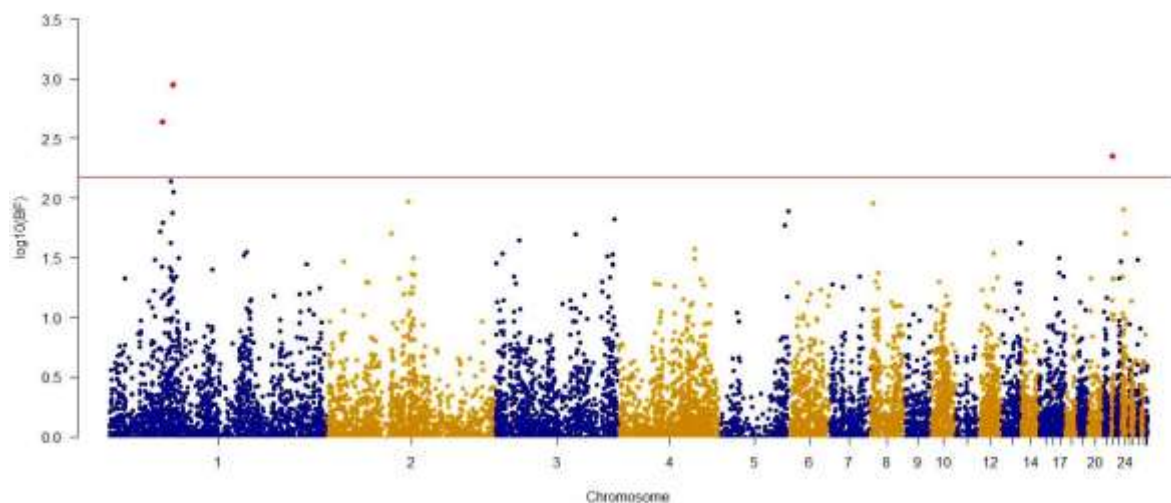
برای وزن بدن در سنین نه تا ۱۲ هفتگی، ۱۰ نشانگر SNP معنی‌دار شد. این نشانگرها یک بیز فاکتور بیشتر از ۱۵۰ داشتند (شکل ۱-۴). نشانگرهای معنی‌دار برای سنین مختلف داخل یا نزدیک هشت ژن بوده و بر روی شش کروموزوم توزیع شده‌اند. از این تعداد، شش ژن، کد کننده پروتئین و دو ژن، ncRNA (Non-coding Ribonucleic acid) هستند. برای شناسایی ژن‌های مرتبط با هر SNP در مناطق کاندیدا، ۰/۵ Mbp اطراف هر SNP معنی‌دار در نظر گرفته شد. ژن‌های حاوی SNPs معنی‌دار ذکر شده (با فاصله صفر) و در صورت قرار نداشتن SNP داخل ژن، نزدیک‌ترین ژن (به انتهای 'پنج یا 'سه) به آن با فاصله بین ژن و SNP در نظر گرفته شد (جدول ۲). ژن‌های ncRNA، توالی‌های RNA کوچک غیر کد کننده‌ای می‌باشند که اطلاعاتی را برای پروتئین‌سازی حمل نمی‌کنند، اما می‌توانند وظایف مهمی در سلول داشته باشند. این توالی‌ها در ویرایش بیان ژن پس از رونویسی در موجودات چند سلولی دخالت دارند (Costa et al. 2015). از ژن‌های ncRNA، ژن MIR135A2 برای وزن بدن در سن نه هفتگی و ژن LOC112531721 برای وزن بدن در سن ۱۲ هفتگی شناسایی شده‌اند. در پژوهش‌های پیشین QTL‌هایی برای وزن بدن در سن نه هفتگی، پیرامون نشانگر Gga_rs15254475 و ژن MIR135A2 شناسایی شده است (Nadaf et al. 2009). نشانگر SNPs شناسایی شده برای سنین مختلف و نزدیک‌ترین ژن شناسایی شده برای آن‌ها در جدول دو ارائه شده است. ژن‌های شناسایی شده در این پژوهش، با داشتن عملکردهای متابولیکی مختلف هر کدام به نحوی در رشد و افزایش وزن بدن درگیر می‌باشند.

جدول ۲. نشانگر SNPs معنی‌دار، موقعیت و ژن‌های مرتبط با وزن بدن در سنین ۹ تا ۱۲ هفتگی

صفات	کروموزوم	نشانگر SNP معنی‌دار	Bayes Factor	نزدیک‌ترین ژن به نشانگر	فاصله ژن کاندیدا از نشانگر (base pair)
وزن بدن در ۹ هفتگی	۱	Gga_rs315478364	۹۷۳/۴۹۱	AKRID1	۸۳۸ Kb ^D
وزن بدن در ۹ هفتگی	۱	Gga_rs15254475	۳۲۹/۵۱۴	MIR135A2	۴۴ Kb ^D
وزن بدن در ۹ هفتگی	۲۲	Gga_rs15998756	۲۳۳/۹۸۹	XPO7	.
وزن بدن در ۱۱ هفتگی	۱	Gga_rs315478364	۳۴۴۳/۵۸۲	AKRID1	۸۳۸ Kb ^D
وزن بدن در ۱۱ هفتگی	۲۳	Gga_rs15206035	۲۵۶/۳۰۲	CSMD2	.
وزن بدن در ۱۱ هفتگی	۱۳	Gga_rs15709788	۱۸۶/۱۵۰	SEPT8	.
وزن بدن در ۱۲ هفتگی	۱	Gga_rs15476136	۵۰۹/۰۲۳	LMO7	۳ Kb ^D
وزن بدن در ۱۲ هفتگی	۱۸	Gga_rs15036268	۳۳۶/۲۸۰	SHISA6	.
وزن بدن در ۱۲ هفتگی	۲	Gga_rs14170929	۲۰۱/۸۵۳	LOC112531721	.
وزن بدن در ۱۲ هفتگی	۲۲	Gga_rs15998756	۱۶۴/۴۴۴	XPO7	.

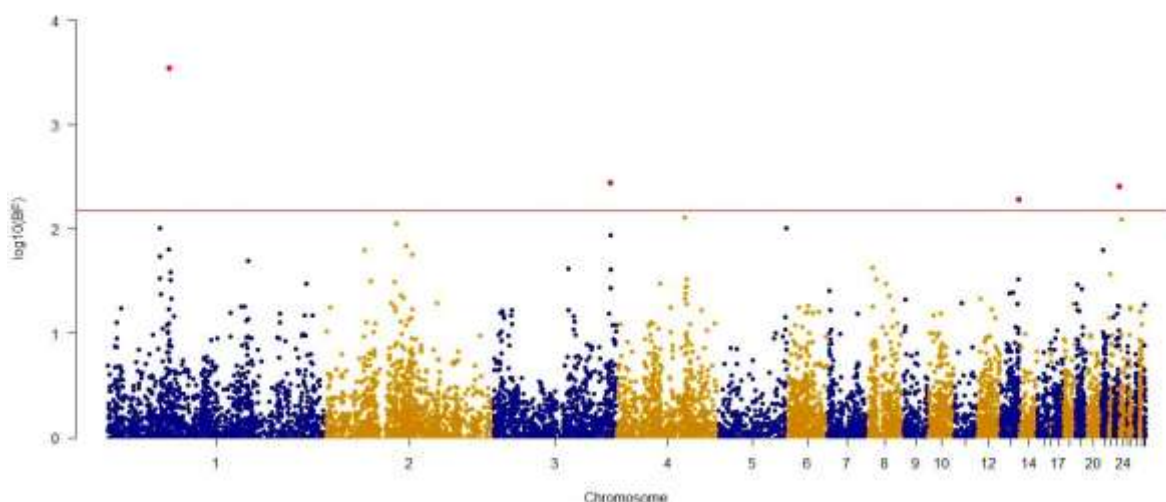
^D نشان‌دهنده‌ی پایین دست ژن است

نشانهگر SNP Gga_rs315478364 واقع در کروموزوم یک برای وزن بدن در سنین نه و ۱۱ هفتگی شناسایی شد. این نشانگر اسنیپ پایین دست ژن AKR1D1 قرار دارد. استروئید ۵- بتاردوکتاز (AKR1D1) یک عضو از بالا خانواده آلدوکتوردوکتاز (Mindnich *et al.* 2011)، آنزیمی است که در متابولیسم هورمون‌ها، از جمله آندروژن، استروژن و پروژسترون، همچنین پروستاگلاندین‌ها ضروری می‌باشد (Seery *et al.* 1998). بعلاوه عملکرد فیزیولوژیکی مرکزی AKR1D1 در بیوسنتز اسیدهای صفراوی، به‌عنوان یک مسیر سوخت‌وساز مهم در تمام مهره‌داران شناخته شده است (Mindnich *et al.* 2011). هورمون‌های استرویدی مانند استروژن و آندروژن نیز به‌عنوان محرک اصلی رشد مطرح شده‌اند. استروژن، اثرات متابولیک هورمون رشد را تنظیم می‌کند و می‌تواند بر ترشح هورمون رشد از هیپوفیز اثرگذار باشد. همچنین به‌طور اختصاصی، باعث بیان سرکوبگر سیگنالینگ سیتوکین 2-(SOCS) به‌عنوان یک تنظیم‌کننده منفی مسیر سیگنالینگ GHR-JAK2-STAT5 می‌شود (Rico-Bautista *et al.* 2006). اسیدهای صفراوی نیز با تشکیل میسل‌های مخلوط در روده کوچک برای حل، هضم و جذب چربی رژیم غذایی و ویتامین‌های محلول در چربی ضروری هستند. در مطالعات قبلی ژن AKR1D1 به‌عنوان کاندیدا برای وزن بدن در سنین پنج و هفت هفتگی شناسایی شده است (Asgari *et al.* 2021). همچنین QTL‌های مرتبط با صفت وزن بدن در نه هفتگی (Nadaf *et al.* 2009)، پیرامون نشانگر GGa_rs315478364 و ژن AKR1D1 گزارش شده‌اند.



شکل ۱. منهتن پلات حاصل از BF با استفاده از روش BayesCpi برای وزن بدن در سن نه هفتگی در جمعیت مرغان F2. محور y نشان دهنده $\log_{10}(BF)$ و محور x موقعیت SNP ها را در طول ژنوم نشان می‌دهد. آستانه معنی‌داری $\log_{10}(BF)=150$ است.

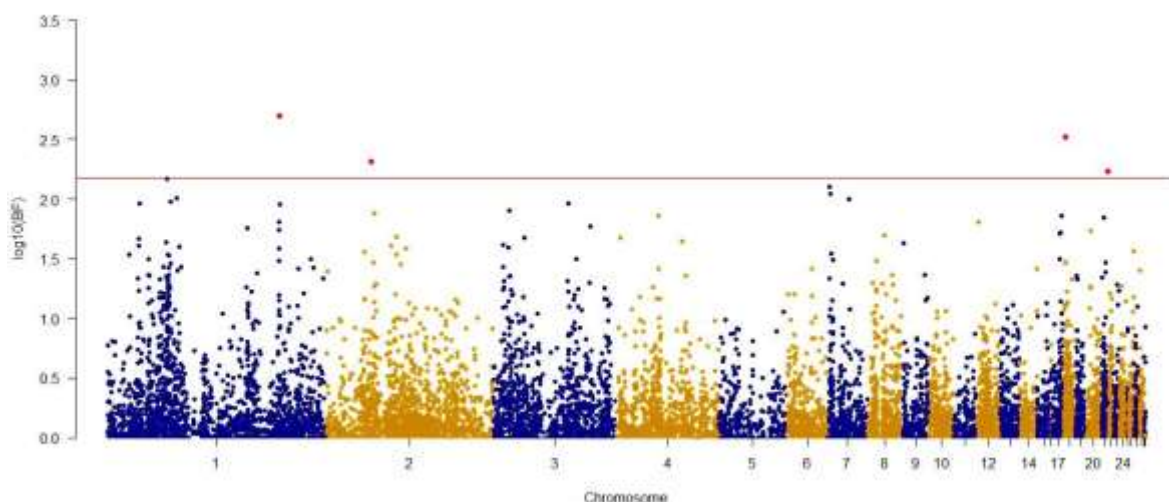
نشانهگر اسنیپ Gga_rs15998756 واقع در کروموزوم ۲۲ نیز برای وزن بدن در هر دو سن نه و ۱۲ هفتگی شناسایی شد. ژن دربرگیرنده این نشانگر XPO7، در تسهیل انتقال هسته‌ای گیرنده‌های هورمون تیروئید نقش کلیدی دارد (Stern 2015). گیرنده‌های هورمون تیروئیدی، گیرنده هورمون T3 می‌باشد که در تنظیم توسعه، رشد و سوخت‌وساز بدن شامل تکامل عصبی، عملکرد ریوی، توسعه اسکلتی و ایجاد توده استخوانی، سوخت‌وساز قندها، چربی‌ها و پروتئین ضروری است.



شکل ۲. منهن پلات حاصل از BFها با استفاده از روش BayesCpi برای وزن بدن در سن ۱۱ هفتگی در جمعیت مرغان F2. محور y نشان دهنده $\log_{10}(BF)$ و محور x موقعیت SNPs را در طول ژنوم نشان می‌دهد. آستانه معنی‌داری $\log_{10}(BF=150)$ است.

علاوه بر نشانگر SNP Gga_rs315478364 دو نشانگر دیگر برای وزن بدن در سن ۱۱ هفتگی شناسایی شدند. این نشانگرها عبارت‌اند از: SNP Gga_rs15206035 و SNP Gga_rs15709788 که به ترتیب داخل ژن‌های CSMD2 و SEPT8 قرار دارند. ژن CSMD2 واقع در کروموزوم ۲۳ طیور، با طولی حدود 230 Kbp شامل ۷۰ اگزون بوده و یک ژن کد کننده پروتئین می‌باشد. این ژن در مغز بیان می‌شود و ممکن است یک سرکوبگر الیگودندروگلیوما باشد (Lau and Scholnick 2003)، اگرچه عملکرد این پروتئین به‌خوبی مطالعه نشده است (Gutierrez *et al.* 2019)؛ اما برخی وظایف مولکولی شناسایی شده برای این ژن شامل فعالیت GTPase، اتصال GTP و فعالیت آدپتورهای مولکولی، همچنین فرآیندهای بیولوژیکی این ژن شامل سیتوکینز و وابسته به اسکلت سلولی، تنظیم حمل‌ونقل پروتئین داخل سلولی و تنظیم ثبات پروتئین می‌باشد. از طرفی GTPases به‌عنوان سوئیچ‌های مولکولی در بسیاری از فرآیندهای اساسی سلول عمل می‌کند. نمونه‌هایی از این نقش‌ها عبارت‌اند از: انتقال سیگنال در پاسخ به فعال شدن گیرنده‌های سطح سلول از جمله گیرنده‌های چشایی، بویایی و بینایی (Engelhardt and Rochais 2007)؛ بیوسنتز پروتئین در ریوزوم؛ تنظیم تمایز، تکثیر و تقسیم سلولی؛ انتقال پروتئین‌ها از طریق غشا و انتقال درون سلولی و زیچول‌ها.

علاوه بر نشانگر نام‌برده در بالا، دو نشانگر دیگر بنام SNP Gga_rs15476136 و SNP Gga_rs15036268، برای وزن بدن در سن ۱۲ هفتگی شناسایی شدند. اولین نشانگر در پایین‌دست ژن Lmo7 قرار دارد. ژن Lmo7 حاوی یک دامنه همولوژی پیش‌بینی شده کالپونین، یک F-box، یک دامنه PDZ و دامنه LIM است. دامنه کالپونین، اکتین‌ها را به هم متصل می‌کند و دامنه‌های PDZ و LIM، حوزه‌های تعامل پروتئین با پروتئین هستند (Semenova *et al.* 2003). این ژن، یک پروتئین اتصال‌دهنده Emerin است که رونویسی ژن Emerin و بسیاری از ژن‌های مرتبط با عضلات را تنظیم می‌کند. ژن Lmo7 به‌طور متناوب در اکثر بافت‌ها بیان می‌شود؛ اما در عضلات و قلب سطح بیان بالایی دارد. این ژن در هسته و سیتوپلاسم، همچنین در اتصالات چسبنده در سطح سلول‌های MDCK متمرکز شده است (Rozenblum *et al.* 2002). طی مطالعه‌ای مشخص گردید که حذف ژنومی ژن شامل ۸۰۰ Kbp از Lmo7 به همراه هشت اگزون UCHL3 باعث تخریب ماهیچه‌ها در موش می‌شود. همچنین Lmo7 ممکن است به‌طور مستقیم به عضلات و مکانیسم بیماری EDMD (Cenciarelli *et al.* 1999) و مسیر اتصالات ادهرنس مرتبط باشد. اتصالات ادهرنس سلول-سلول، متداول‌ترین نوع چسبندگی بین سلول می‌باشند که برای حفظ ساختار بافت و قطبیت سلول مهم بوده و می‌تواند حرکت و تکثیر سلول را محدود کند.



شکل ۳. منهتن پلات حاصل از BFها با استفاده از روش BayesCpi برای وزن بدن در سن ۱۲ هفتگی در جمعیت مرغان F2. محور y نشان دهنده $-\log_{10}(BF)$ و محور x موقعیت SNPs را در طول ژنوم نشان می‌دهد. آستانه معنی‌داری $\log_{10}(BF=150)$ است.

آخرین نشانگر شناسایی شده برای وزن بدن در سن ۱۲ هفتگی داخل ژن SHISA6 قرار دارد. این ژن در سیگنالینگ Wnt نقش دارد. در واقع یک مهارکننده مستقل سلولی Wnt، در یک زیرمجموعه محدود از سلول‌های $GFR\alpha1+$ می‌باشد، همچنین مقاومت در برابر سیگنالینگ Wnt/b-catenin را ارائه می‌دهد. پروتئین‌های Wnt نیز در حال حاضر به‌عنوان یکی از خانواده‌های بزرگ و اصلی مولکول‌های سیگنالینگ رشد به رسمیت شناخته شده‌اند (Cadigan and Liu 2006). این ژن‌ها یک خانواده بزرگ از پروتئین‌های ترشح‌کننده فاکتور رشد را رمزگذاری می‌کنند که در طول رشد حیوانات، استخوان‌سازی، تنظیم همه مراحل توسعه غضروف و رشد جنین نقش اساسی دارند (Surmann-Schmitt *et al.* 2009).

در مطالعه حاضر، برای وزن بدن در سن ۱۰ هفتگی نشانگر معنی‌داری شناسایی نشد. با توجه به اینکه، جهت بررسی عملکرد سیستم ایمنی سلولی در پرنده‌های مورد مطالعه در این پژوهش، از تزریق دی‌نیتروکلروبنزن (DNCB) به سطح بدون پر زیر بال پرنده‌ها در سن ۱۰ هفتگی در دو نوبت استفاده شده است؛ بنابراین، وجود این چالش در سن ۱۰ هفتگی را می‌توان دلیلی بر معنی‌دار نشدن نشانگر در این سن دانست.

اکثر نشانگرهای معنی‌دار (۵ نشانگر SNP) بر روی ماکرو کروموزوم‌ها (GGA1, GGA2) قرار دارند. همچنین، برای همه سنین نیز در کروموزوم یک نشانگر SNP معنی‌دار شناسایی شد. دو نشانگر SNP شناسایی شده در کروموزوم یک (Gga_rs315478364, Gga_rs15254475) نیز در فاصله ۱۰ Mb از هم قرار دارند که می‌تواند نشانه‌ای از وجود QTL در این فاصله باشد. در مطالعات پیشین نیز پیرامون این SNPها یک QTL مرتبط با وزن بدن شناسایی شده است (Nadaf *et al.* 2009). نتایج پژوهش حاضر، تأییدی بر این ادعاست که کروموزوم یک و کروموزوم دو مرغ بیشترین تأثیر را در رشد و افزایش وزن بدن دارند که این نتیجه با مطالعات پیشین نیز هم‌خوانی دارد (Asgari *et al.*, 2024; Xie *et al.* 2012). همچنین، در مطالعات گذشته بیشتر QTLهای مؤثر بر رشد، وزن بدن، وزن عضلات سینه، وزن ران و وزن بال در کروموزوم یک مشاهده شده است (Rao *et al.* 2007).

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

نتایج ما لیستی از ژن‌های کاندیدا برای وزن بدن در اواخر رشد را ارائه می‌دهد. ژن‌های شناسایی شده می‌توانند در انتخاب ژنومی یا انتخاب وابسته به نشانگر در بهبود رشد نقش داشته باشند. نتایج مطالعه حاضر در تصدیق مطالعات پیشین، نقش کروموزوم یک و دو مرغ در کنترل صفات رشد را اثبات می‌کند. در این راستا، کروموزوم یک را می‌توان به‌عنوان بااهمیت‌ترین ماکرو کروموزوم معرفی کرد که حاوی ژن‌ها و QTLهای مرتبط با صفات رشد و وزن بدن در سنین پایانی می‌باشد.

سپاسگزاری

با تشکر از کارکنان مرکز پرورش نژاد لاین آرین و مرکز پرورش پرندگان بومی آذربایجان غربی که والدین مرغ‌های F_1 را در اختیار دانشگاه تربیت مدرس قرار داده‌اند. از پروفسور یوست یونسن از دانشگاه آرهوس دانمارک به جهت همکاری در تعیین ژنوتیپ‌ها و از کنسرسیوم کاب-ونتروس به جهت در اختیار قرار دادن چیپ تجاری قدردانی می‌شود. در نهایت از کلیه دوستان و دانشجویان گرامی بجهت جمع‌آوری داده‌ها تشکر می‌نمایم.

دستورالعمل رفاه حیوانات

کلیه مراحل آزمایشی پرندگان در این پژوهش، مطابق دستورالعمل‌های استاندارد نگهداری و رفاه حیوانات بوده و به تایید کمیته مراقبت از حیوانات دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی با شماره نامه ۱۲۲۹۷۳۴ رسیده است.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

منابع

- عسگری، زینب؛ احسانی، علیرضا؛ مسعودی، علی‌اکبر؛ واعظ ترشیزی، رسول (۱۴۰۳). مطالعه ارتباط ژنومی برای شناسایی ژن‌های کاندیدا در مراحل اولیه رشد در مرغ. *علوم دامی ایران*, doi: 10.22059/ijas.2024.372924.654003.
- Asgari, Z., Ehsani, A., Masoudi, AA. and Vaez Torshizi. R. (2021). Bayes factors revealed selection signature for time to market body weight in chicken: a genome-wide association study using BayesCpi methodology. *Italian Journal of Animal Science*, 20:1468-1478. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2021.1965920>. In Persian.
- Asgari, Z., Ehsani, A., Masoudi, AA. and Vaez Torshizi. R. (2024). Genomic association study identifying candidate genes for early growth traits in chickens. *Iranian Journal of animal Science*, 10.22059/ijas.2024.372924.654003.
- Cadigan, K. M. and Liu, Y. I. (2006). Wnt signaling: complexity at the surface. *Journal of Cell Science*, 119(3):395-402. <https://doi.org/10.1242/jcs.02826>.
- Cenciarelli, C., Chiaur, D., Guardavaccaro, D., Parks, W., Vidal, M. and Pagano, M. (1999). Identification of a family of human F-box proteins. *Current Biology*, 9(20):1177-S1173. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(00\)80020-2](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(00)80020-2).
- Costa, R.B., Camargo, G.M., Diaz, I.D., Irano, N., Dias, M.M., Carvalheiro, R., Boligon, A.A., Baldi, F., Oliveira, H.N. and Tonhati, H. (2015). Genome-wide association study of reproductive traits in Nellore heifers using Bayesian inference. *Genetics Selection Evolution*, 47(1):1-9. <https://10.1186/s12711-015-0146-0>.
- Emmerson, D. (1997). Commercial approaches to genetic selection for growth and feed conversion in domestic poultry. *Poultry Science*, 76(8):1121-1125. <https://10.1093/ps/76.8.1121>.
- Emrani, H. (2016). *Genome Wide Association Study (GWAS) for Growth traits and Ascites Syndrome in Iranian chicken*. Ph.D. thesis, Tarbiat Modarres University Faculty of Agriculture.
- Engelhardt, S. and Rochais, F. (2007). G proteins: more than transducers of receptor-generated signals?, pp. 1109-11, Am Heart Assoc.
- Fritz, S.S. and Boichard, D. (2013). QTL fine mapping with Bayesian C (π): a simulation study. *Genetics Selection Evolution* 45, Non paginé.
- Gilman, A.G. (1987). G proteins: transducers of receptor-generated signals. *Annual review of biochemistry*, 56(1):615-649. <https://10.1161/01.RES.0000266971.15127.e8>.

Goddard, M., Kemper, K., MacLeod, I., Chamberlain, A. and Hayes, B. (2016). Genetics of complex traits: prediction of phenotype, identification of causal polymorphisms and genetic architecture. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 283, 20160569.

Goddard, M.E. and Hayes, B.J. (2009). Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. *Nature Reviews Genetics*, 10:381–391. <https://10.1038/nrg2575>.

Gutierrez, M.A., Dwyer, B.E. and Franco, S.J. (2019). Csm2 Is a Synaptic Transmembrane Protein that Interacts with PSD-95 and Is Required for Neuronal Maturation. *Eneuro*, 6(2). <https://10.1523/ENEURO.0434-18.2019>.

Howard, D.M., Hall, L.S., Hafferty, J.D., Zeng, Y., Adams, M.J., Clarke, T.-K., Porteous, D.J., Nagy, R., Hayward, C. and Smith, B.H. (2017). Genome-wide haplotype-based association analysis of major depressive disorder in Generation Scotland and UK Biobank. *Translational psychiatry* 7, 1263.

Kass, R.E. and Raftery, A.E. (1995). Bayes factors. *Journal of the American Statistical Association*, 90(430):773-795.

Khabiri, A., Toroghi, R., Mohammadabadi, M. and Tabatabaeizadeh, S. (2023). Introduction of a Newcastle disease virus challenge strain (sub-genotype VII. 1.1) isolated in Iran. *Veterinary Research Forum*, 14 (4), 221-228.

Kim K., Jung J., Caetano-Anollés K., Sung S., Yoo D., Choi B.-H., Kim H.-C., Jeong J.-Y., Cho Y.-M. and Park E.-W. (2018). Artificial selection increased body weight but induced increase of runs of homozygosity in Hanwoo cattle. *Plos one* 13, e0193701.

Lau, W.L. and Scholnick, S.B. (2003). Identification of two new members of the CSMD gene family. *Genomics*, 82(3):412-415. [https://10.1016/s0888-7543\(03\)00149-6](https://10.1016/s0888-7543(03)00149-6).

Ledur, M., Navarro, N. and Pérez-Enciso, M. (2010). Large-scale SNP genotyping in crosses between outbred lines: how useful is it and quest. *Heredity*, 105(2):173-182. <https://10.1038/hdy.2009.149>.

Mindnich, R., Drury, J.E. and Penning, T.M. (2011). The effect of disease associated point mutations on 5 β -reductase (AKR1D1) enzyme function. *Chemico-Biological Interactions*, [https://191\(1\):250-254](https://191(1):250-254). 10.1016/j.cbi.2010.12.020.

Mohammadifar, A. and Mohammadabadi, M. (2018). Melanocortin-3 receptor (mc3r) gene association with growth and egg production traits in Fars indigenous chicken. *Malaysian Applied Biology*, 47: 85-90.

Mohammadifar, A., Faghih Imani, S.A., Mohammadabadi, M.R. and Soflaei, M. (2014). The effect of TGF β 3 gene on phenotypic and breeding values of body weight traits in Fars native fowls. *Agricultural biotechnology Journal*, 5, 125-136.

Mohammadifar, A. and Mohammadabadi, M. (2017). The effect of uncoupling protein polymorphisms on growth, breeding value of growth and reproductive traits in the fars indigenous chicken. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 7, 679-85.

Mohammadabadi, M., Nikbakhti, M., Mirzaee, H., Shandi, A., Saghi, D., Romanov, M.N. and Moiseyeva, I.G. (2010). Genetic variability in three native Iranian chicken populations of the Khorasan province based on microsatellite markers. *Russian journal of genetics*, 46, 505-09.

Nadaf, J., Pitel, F., Gilbert, H., Duclos, M.J, Vignoles, F., Beaumont, C., Vignal, A., Porter, T.E., Cogburn, L.A. and Aggrey, S.E. (2009). QTL for several metabolic traits map to loci controlling growth and body composition in an F2 intercross between high-and low-growth chicken lines. *Physiological Genomics*, 38(3):241-249. <https://10.1152/physiolgenomics.90384.2008>.

Pan R., Qi L., Xu Z., Zhang D., Nie Q., Zhang, X. and Luo, W. (2024). Weighted single-step GWAS identified candidate genes associated with carcass traits in a Chinese yellow-feathered chicken population. *Poultry Science* 103, 103341.

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(10):3398-3409. <https://10.2527/jas.2012-4507>.

Rao, Y., Shen, X., Xia, M., Luo, C., Nie, Q., Zhang, D. and Zhang, X. (2007). SNP mapping of QTL affecting growth and fatness on chicken GGA1. *Genetics Selection Evolution*, 39(5):1. <https://10.1186/1297-9686-39-5-569>.

Rico-Bautista, E., Flores-Morales, A. and Fernández-Pérez, L. (2006). Suppressor of cytokine signaling (SOCS) 2, a protein with multiple functions. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 17(6):431-439. <https://10.1016/j.cytogfr.2006.09.008>.

Risch, N. and Merikangas, K. (1996). The future of genetic studies of complex human diseases. *Science*, 273:1516-1517. <https://10.1126/science.273.5281.1516>.

Rozenblum, E., Vahteristo, P., Sandberg, T., Bergthorsson, J., Syrjakoski, K., Weaver, D., Haraldsson, K., Johannsdottir, H., Vehmanen, P. and Nigam, S. (2002). A genomic map of a 6-Mb region at 13q21-q22 implicated in cancer development: identification and characterization of candidate genes. *Human genetics*, 110(2):111-121. <https://10.1007/s00439-001-0646-6>.

Saadatabadi, L. M., Mohammadabadi, M., Nanaei, H. A., Ghanatsaman, Z. A., Stavetska, R. V., Kalashnyk, O., Kochuk-Yashchenko, O. A. and Kucher, D. M. (2023). Unraveling candidate genes related to heat tolerance and immune response traits in some native sheep using whole genome sequencing data. *Small Ruminant Research*. 225: 107018.

Seery, L., Nestor, P. and FitzGerald, G. (1998). Molecular evolution of the aldo-keto reductase gene superfamily. *Journal of Molecular Evolution*, 46(2):139-146. <https://10.1007/pl00006288>.

Semenova, E., Wang, X., Jablonski, M.M., Levorse, J. and Tilghman, S.M. (2003). An engineered 800 kilobase deletion of Uchl3 and Lmo7 on mouse chromosome 14 causes defects in viability, postnatal growth and degeneration of muscle and retina. *Human molecular genetics*, 12(11):1301-1312. <https://10.1093/hmg/ddg140>.

Shahdadnejad, N., Mohammadabadi, M. and Shamsadini, M. (2016), Typing of clostridium perfringens isolated from broiler chickens using multiplex PCR. *Genetics in the 3rd millennium*, 14, 4368-74.

Stern, M.E.R. (2015). The Impact of the Ubiquitin-Proteasome Pathway and CRM1-Independent Exportins on Thyroid Hormone Receptor Localization and the Expression of T3-Responsive Genes. B.Sc. Dissertation. College of William and Mary.

Surmann-Schmitt, C., Widmann, N., Dietz, U., Saeger, B., Eitzinger, N., Nakamura, Y., Rattel, M., Latham, R., Hartmann, C. and von der Mark, H. (2009). Wif-1 is expressed at cartilage-mesenchyme interfaces and impedes Wnt3a-mediated inhibition of chondrogenesis. *Journal of Cell Science*, 122(20):3627-3637. <https://10.1242/jcs.048926>.

Van den Berg, I., Fritz, S. and Boichard, D. (2013). QTL fine mapping with Bayes C (π): a simulation study. *Genetics Selection Evolution*, 45(1):1. <https://10.1186/1297-9686-45-19>.

Varona Aguado, L., García Cortés, L.A. and Perez Enciso, M. (2001). Bayes factors for detection of quantitative trait loci. *Genetics Selection Evolution*, 33:133-152. <https://10.1186/1297-9686-33-2-133>.

Wang, S., Hu, X., Wang, Z., Li, X., Wang, Q., Wang, Y., Tang, Z. and Li, H. (2012). Quantitative trait loci associated with body weight and abdominal fat traits on chicken chromosomes 3, 5 and 7. *Genetics and molecular research*, 11(11):956-965.

Xie, L., Luo, C., Zhang, C., Zhang, R., Tang, J., Nie, Q., Ma, L., Hu, X., Li, N. and Da, Y. (2012). Genome-wide association study identified a narrow chromosome 1 region associated with chicken growth traits. *PLoS One*, 7(2):e30910. <https://1371/journal.pone.0030910>.