Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Research on Animal Production, Vol. 15, Issue 3, 2024 p: 30-41

OPEN ACCESS

Research Paper

Identification of Selection Signatures Related to Johne's Disease in Iranian Holstein Cows using Genomic Data

Fateme Navoshki[1], Hossein Moradi shahr babak[2], Ali Sadeghi Sefid Mazgi[3] and Johann Solkner[4]

1- Ph.D., Department of Animal Sciences, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Alborz, Iran

2- Assistant Professor, Department of Animal Sciences, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Alborz, Iran, (Corresponding authors: hmoradis@ut.ac.ir)

3- Associate Professor,Department of Animal Sciences, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Alborz, Iran

4- Professor, Department for Sustainable Agricultural Systems University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna (BOKU)

Received: 27 November, 2023 Accepted: 17 February, 2024

Extended Abstract

Background: One of the principal and challenging animal studies in population genetics is to identify the signs of selection to improve economic traits and reduce diseases. Johne's disease is an incurable chronic bacterial infection that primarily affects the lower parts of the small intestine of ruminants, although its pathology and symptoms vary among species. The economic consequences of Johne's disease include reduced production, loss of genetic value, increased sensitivity to other diseases, increased interval between calving, weight loss, reduced carcass value, reduced fertility (due to reduced serum progesterone formation and corpus luteum), decreased quality and quantity of milk (decreasing fat and protein and increasing somatic cells in milk), and premature elimination. According to the results of new research, this bacterium may be a zoonotic pathogen that plays a role in causing Crohn's disease (a chronic inflammatory bowel disease (IBD)) in humans. Even after milk pasteurization, this pathogen remains alive and is therefore a threat to the health of society. This disease is one of the main diseases economically and one of the most prevalent diseases, causing great economic damage to the livestock industry worldwide. In this study, an extensive genome-wide scan was performed using single nucleotide polymorphisms (SNPs) to identify the signs of selection between populations of Holstein cows affected by Johne's disease and healthy animals.

Methods: In this study, 145 Holstein cows of the Feka cattle farm in Isfahan were genotyped based on Illumina 30K chips. Cows were grouped into two sick and healthy groups, with 45 and 100 cows, respectively. Quality control indicators included the animal read rate (mind), SNP read rate (geno), rare allele frequency (MAF), and Hardy-Weinberg equilibrium. To identify important metabolic pathways, ClueGo (version 2.5.6) was used in Cytoscape software, which provides biological interpretations of genes. In this study, two statistics, iHS and RSB, were used to identify the signs of selection.

Results: Using iHS statistics, 63 and 70 genes were identified in the diseased and healthy populations of Holstein cows, respectively. The important genes identified by iHS statistics included HCN2, DOCK4, ITGA8, and STAG1 in the patient population, and CAV2, CNTNAP4, MIB1, and TTC23 in the healthy population. After examining the selected regions, 39 and 53 genes were identified in the diseased and healthy populations of Holstein cows with RSB statistics. The important genes identified by RSB statistics included GRID2, PPIP5K2, and CTNNA2 in the patient population, and DOCK1, PCDH9, and AK1 in the healthy population.

Conclusion: In the present study, the results of the iHS statistics showed that 84 and 96 genomic regions were under selection in the healthy and patient populations, as well as 152 and 129 genomic regions in the healthy and patient populations using the RSB statistics. Most of the genes identified in this study were related to immunity, cancer, bacterial invasion of cells, cell aging,

[DOI: 10.61186/rap.15.3.30]

cell response, growth, and cell adhesion, which are among the important biological traits and characteristics of living organisms. By identifying possible candidate genes related to and resistance to Johne's disease in cattle, this information can be used in breeding programs (selection to reduce or increase the expression and frequency of important genes) for Holstein cows in Iran. However, due to the incomplete information related to the function of the genes in cattle species and the small population used in this study, more extensive studies with more samples and the analysis of several separate populations will provide a better understanding of candidate genes for Johne's disease in the cattle population.

Keywords: Dairy Cattle, iHS, Johne's disease, RSB, Selection Signature, SNP

How to Cite This Article: Navoshki, F., Moradi shahr babak, H., Sadeghi Sefid Mazgi, A., & Solkner, J. (2024). Identification of Selection Signatures Related to Johne's Disease in Iranian Holstein Cows using Genomic Data. *Res Anim Prod,* 15(3), 30-41. DOI: 10.61186/rap.15.3.30

مقاله پژوهشی

شناسایی مناطق تحت انتخاب مرتبط با بیماری یون در گاوهای هلشتاین ایرانی با استفاده از داده‌های ژنومی

فاطمه ناوشکی[۱]، حسین مرادی شهربابک[۲]، علی صادقی سفید مزگی[۳] و جوهان سولکنر[۴]

۱- دانش‌آموخته دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، البرز، ایران
۲- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، البرز، ایران، (نویسنده مسوول: hmoradis@ut.ac.ir)
۳- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، البرز، ایران
۴- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه بوکو، وینا، اتریش

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۲۸
صفحه: ۳۰ تا ۴۱

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: یکی از مهم‌ترین و چالش برانگیزترین مطالعات حیوانات در زمینه ژنتیک جمعیت، شناسایی نشانه‌های انتخاب در جهت ارتقا صفات اقتصادی و کاهش بیماری‌ها است. بیماری یون یک عفونت باکتریایی مزمن علاج‌ناپذیر است که به‌صورت اولیه قسمت‌های تحتانی روده کوچک نشخوارکنندگان را درگیر می‌کند، هرچند آسیب‌شناسی و نشانه‌های آن میان گونه‌ها متفاوت است. از پیامدهای اقتصادی بیماری یون کاهش تولید، از دست رفتن ارزش ژنتیکی، افزایش حساسیت به سایر بیماری‌ها، افزایش فاصله بین گوساله‌زایی، کاهش وزن‌گیری، کاهش ارزش لاشه، کاهش باروری (به‌دلیل کاهش تشکیل پروژسترون سرم و جسم زرد)، کاهش کیفیت وکمیت شیر (کاهش چربی و پروتئین و افزایش سلول‌های سوماتیک در شیر) و حذف پیش از موعد می‌باشند. از جهتی، با توجه به نتایج تحقیقات جدید احتمال داده می‌شود این باکتری یک پاتوژن زئونوز باشد که در ایجاد بیماری کرون (یک بیماری التهابی مزمن روده (IBD)) در انسان نقش دارد. نتایج بررسی تعدادی از محققان نشان می‌دهد که حتی در مواردی بعد از پاستوریزاسیون شیر نیز این پاتوژن، زنده باقی‌مانده و در نتیجه تهدیدی برای سلامت جامعه می‌باشد. این بیماری از نظر اقتصادی یکی از مهم ترین بیماری‌ها و از نظر شیوع یکی از شایع‌ترین بیماری‌هاست و خسارت اقتصادی زیادی به صنعت دامداری در سراسر جهان وارد می‌کند. در این مطالعه، با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب بین جمعیت‌های گاوهای مبتلا به بیماری یون و سالم هلشتاین، با استفاده از چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) یک پویش گسترده در سطح ژنوم انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از گاوهای گاوداری فکا در اصفهان که شامل ۱۴۵ رأس گاو هلشتاین بود استفاده شد. این ۱۴۵ راس بر اساس تراشه‌های 30K شرکت ایلومینا تعیین ژنوتیپ شدند. گاوها در دو گروه بیمار و سالم گروه‌بندی شدند. گروه بیمار شامل ۴۵ رأس و گروه سالم شامل ۱۰۰ رأس گاو بود. شاخص‌های کنترل کیفیت شامل نرخ خوانش حیوان (mind)، نرخ خوانش SNP (geno)، فراوانی آلل نادر (maf) و تعادل هاردی– واینبرگ بودند. برای شناسایی مسیرهای متابولیکی مهم، از افزونه ClueGo (نسخه ۲.۵.۶) در نرم‌افزار Cytoscape استفاده شد که تفسیرهای بیولوژیکی ژن‌ها را ارائه می‌کنند. در این مطالعه برای شناسایی نشانه‌های انتخاب از دو آماره iHS و RSB استفاده شد.

یافته‌ها: ۶۳ ژن در جمعیت بیمار و ۷۰ ژن در جمعیت سالم گاوهای هلشتاین توسط آماره iHS شناسایی شد. ژن‌های مهم شناسایی شده توسط آماره iHS در جمعیت بیمار شامل HCN2، DOCK4، ITGA8 و STAG1 و همچنین، در جمعیت سالم شامل CAV2، CNTNAP4، MIB1 و TTC23 بودند. همچنین، پس از بررسی مناطق تحت انتخاب ۳۹ ژن در جمعیت بیمار و ۵۳ ژن در جمعیت سالم گاوهای هلشتاین توسط آماره RSB شناسایی شد. ژن‌های مهم شناسایی شده توسط آماره RSB در جمعیت بیمار شامل GRID2، PPIP5K2 و CTNNA2 و در جمعیت سالم شامل DOCK1، PCDH9 و AK1 بودند.

نتیجه‌گیری کلی: در مطالعه اخیر، نتایج آماره iHS نشان داد که در جمعیت سالم ۸۴ منطقه ژنومی و در جمعیت بیمار ۹۶ منطقه ژنومی و همچنین در آماره RSB در جمعیت سالم ۱۵۲ منطقه ژنومی و در جمعیت بیمار ۱۲۹ منطقه ژنومی تحت انتخاب بودند. اکثر ژن‌های شناسایی شده در این مطالعه با ایمنی، سرطان، تهاجم باکتری به سلول‌ها، پیری سلولی، پاسخ سلولی، رشد و چسبندگی سلولی در ارتباط بود، که جزو صفات و ویژگی‌های مهم زیستی جاندار قرار می‌گیرد. با مشخص شدن ژن‌های کاندید احتمالی مرتبط با بیماری یون و مقاوم به بیماری یون در گاو، می‌توان از این اطلاعات در برنامه‌های اصلاح نژادی (انتخاب در جهت کاهش یا افزایش بیان و فراوانی ژن‌های مهم) گاوهای هلشتاین در کشور استفاده کرد. البته به‌دلیل اطلاعات ناقص مربوط به عملکرد ژن‌ها در گونه گاو و همچنین کوچک بودن جمعیت مورد استفاده در این مطالعه، مطالعات گسترده‌تر با تعداد نمونه‌های بیشتر و تجزیه و تحلیل چند جمعیت جداگانه درک بهتری از ژن‌های کاندید برای بیماری یون در جمعیت گاو ایجاد خواهد نمود.

واژه‌های کلیدی: بیماری یون، گاو شیری، نشانه‌های انتخاب، iHS، RSB، SNP

مقدمه

بیماری یون یک عفونت باکتریایی مزمن علاج‌ناپذیر است که به‌صورت اولیه قسمت‌های تحتانی روده کوچک نشخوارکنندگان را درگیر می‌کند، هرچند آسیب‌شناسی و نشانه‌های آن میان گونه‌ها متفاوت است. عفونت معمولاً هنگامی رخ می‌دهد که حیوانات جوان باکتری مایکوباکتریوم اویوم پاراتوبرکلوزیس را دریافت کنند. پس از آلودگی، باکتری داخل سلول‌های روده‌ای حیوانات به آرامی رشد می‌کند و پس از مدتی سلول‌های ایمنی حیوانات در پاسخ به حضور باکتری تکثیر می‌یابند که منجر به ضخیم شدن روده و آسیب به قابلیت جذب غذا و نشانه‌های کلینیکی بیماری یون در تعدادی از حیوانات می‌شود. علائم کلینیکی بیماری یون به‌صورت تأخیری بروز می‌نماید و این امر به این دلیل می‌باشد که دوره کمون آن ۲ تا ۶ سال یا بیشتر است (Tiwari *et al.*, 2006).

در ایران برای اولین بار عامل بیماری از مدفوع ماده گاوهای نژاد جرسی وارداتی شرکت نفت آبادان جدا شد. تاکنون وقوع بیماری در گاو در استان‌های مختلف کشور گزارش شده است و خسارات جبران‌ناپذیری را به سیستم دامپروری وارد کرده است (Shahmoradi *et al.*, 2009). ضررهای اقتصادی بسیار قابل‌توجه می‌باشد، اما هزینه‌های تحمیلی غیرمستقیم و تلفات به‌دلیل عفونت تحت بالینی ویران کننده‌تر است (Hasonova and Pavlik, 2006). براساس گزارش‌های دریافتی از ایران،

[DOI: 10.61186/rap.15.3.30]

شیوع بیماری یون در گاو و بز به‌ترتیب ۲ تا ۵۹ ٪ و ۳۷ تا ۹۶ ٪ است (Manning & Collins, 2001). در سایر مناطق از جمله اهواز آلودگی به این بیماری در کشتارگاه‌ها با استفاده از آزمون الایزا و رنگ‌آمیزی Ziehl-Neelsen به‌ترتیب ۳، ۲/۴-۱ و ۹۶ ٪ در گاو، بز و گوسفند بود. همچنین، نتایج به‌دست‌آمده در سایر نقاط ایران با استفاده از روش‌های الایزا، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)، کشت و رنگ‌آمیزی Ziehl-Neelsen که در آن‌ها از سرم، شیر و مدفوع استفاده شد، میزان شیوع این باکتری را در گاو و بز به‌ترتیب ۳/۶ تا ۲۵ ٪ و ۱۷/۳ تا ۳۷ ٪ گزارش کرد (Johnson *et al*, 2019). نکته قابل‌توجه این است که شیوع واقعی این بیماری در جمعیت دام ایران (گاو، بز و گوسفند) به‌طور معنی‌داری بالاست. در نتیجه توجه به این بیماری و آسیب‌های اقتصادی ناشی از آن ضروری است. ضررهای اقتصادی ناشی از این بیماری شامل از دست رفتن سودمندی دام‌ها، کاهش تولید شیر بین ۵ تا ۲۵ درصد، کاهش ارزش لاشه، افت بازارپسندی، عدم مصرف گوشت و هزینه‌های مربوط به کنترل بیماری می‌باشد (Hasonova & Pavlik, 2006).

نشانگرهای SNP، یک فناوری جدید نشانگر مولکولی، برای اولین‌بار در سال ۱۹۹۶ ارائه شد، که به یک پلی‌مورفیسم ناشی از یک جهش تک‌نوکلئوتیدی در یک مکان خاص در توالی DNA اشاره دارد. SNPها به‌عنوان یک منبع ژنتیکی عمده از تغییرات فنوتیپی درون یک گونه در نظر گرفته می‌شوند و می‌توانند به‌عنوان یک نشانگر ژنتیکی مهم به‌حساب آیند. ازجمله مزایای استفاده از این نشانگرها نسبت به استفاده از ریز ماهواره‌ها و دیگر نشانگرهای مولکولی شامل وجود این جهش‌ها در دو ناحیه کد کننده و غیر کد کننده، قابلیت دسترسی در تعداد بالا، دقت بالاتر و راحتی مقایسه نتایج بین پژوهش‌های مختلف است (Yang *et al.*, 2013). در حال حاضر، نشانگرهای SNP یکی از رویکردهای ارجح برای تعیین ژنوتیپ هستند، زیرا در ژنوم فراوان هستند، از نظر ژنتیکی پایدار هستند و قابلیت تجزیه و تحلیل به‌صورت خودکار دارند (Vignal *et al.*, 2002).

انتخاب‌های متوالی در طول زمان باعث ایجاد نشانه‌هایی در ژنوم می‌شود. این نشانه‌های ژنومی که در نتیجه انتخاب‌های متوالی بر روی ژنوم ایجاد می‌شود، نشانه‌های انتخاب نامیده می‌شوند. از این نشانه‌ها در جهت شناسایی جایگاه‌هایی که تحت انتخاب بوده‌اند، استفاده می‌شوند (Kreitman *et al.*, 2002). با توجه به در دسترس بودن اطلاعات ژنومی گونه‌های مختلف دامی و پیشرفت ابزارهای آماری، شناسایی این ردپاها در گونه‌های خاصی امکان‌پذیر شده است (Dong *et al.*, 2013). شناسایی نشانه‌های انتخاب می‌تواند منجر به شناسایی مناطق و ژن‌های مهم مرتبط با صفات و بیماری‌ها شود.

از طرف دیگر، اطلاع از ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها در حوزه ژنتیک و اصلاح دام می‌تواند کمک بزرگی به طرح‌های اصلاح‌نژادی و از همه مهم‌تر، حفظ ذخایر ژنتیکی باشد (Gholamhoseini Gooki *et al.*, 2018). یکی از بهترین گزینه‌ها استفاده از نشانگرهای مولکولی است، زیرا با توجه به اطلاعات زیادی که دارا هستند، نتایجی که از تجزیه و تحلیل رکوردها با روش‌های آماری به‌دست آمده است را می‌شود تأیید و تکمیل و حتی رد کرد (Mohammadifar & Mohammadabadi, 2018). همچنین، استفاده از ژنتیک ملکولی دارای مزایای زیادی از قبیل تعیین ژنوتیپ افراد برای جایگاه خاصی است (Bahador *et al.*, 2016). علاوه بر این استفاده از نشانگرهای مولکولی در برنامه‌های انتخاب و اصلاح‌نژاد حیوانات ممکن است به‌طور مهیجی پیشرفت ژنتیکی را تسریع بخشد (Mohamadipoor Saadatabadi *et al.*, 2021). مطالعه تنوع ژنتیکی اطلاعات مهمی را برای استراتژی‌های حفاظت و بهبود جمعیت حیوانات اهلی و سازگاری آن‌ها با محیط‌های خاص ارائه می‌دهد (Dong *et al.*, 2013).

بنابراین، هدف از این مطالعه شناسایی نشانه‌های انتخاب در گاوهای بیمار یون و سالم هلشتاین ایران با استفاده از نشانگر تک نوکلئوتیدی بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه که از گاوهای هلشتاین گاوداری فکا در اصفهان استفاده شد. جمعیت بیمار شامل ۴۵ رأس و جمعیت سالم شامل ۱۰۰ رأس گاو با محدوه سنی بین ۲-۵ سال و ترکیب جمعیتی نمونه‌های انتخابی همه شامل ماده‌ها بود. نمونه‌های خون از رگ وداجی به‌مقدار ۵-۷ میلی‌لیتر استحصال شده همراه با ۰/۵ میلی‌لیتر EDTA در لوله‌های خلاء ریخته شد. نمونه‌های گرفته شده بلافاصله بعد از شماره‌گذاری و با حفظ شرایط سرد به آزمایشگاه منتقل و تا زمان استخراج سرم و DNA در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA از خون (دنازیست- ایران) صورت گرفت. به‌منظور بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده از اسپکتوفتومتری (بایورد-آمریکا) و ژل الکتروفورز استفاده شد که بر اساس ریزآرایه SNPchip30k تعیین ژنوتیپ شدند. برای بررسی کنترل کیفیت داده‌های ژنوتیپی از نرم‌افزار Plink v1.9 استفاده شد.

شاخص‌های کنترل کیفیت شامل نرخ خوانش حیوان (mind)، نرخ خوانش SNP (geno)، فراوانی آلل نادر (maf) و تعادل هاردی- واینبرگ بودند. حیوانات با نرخ تعیین ژنوتیپ کمتر از ۹۹ درصد، SNPها با نرخ تعیین ژنوتیپ کمتر از ۹۹/۹ درصد، فراوانی آلل نادر کمتر از ۵ درصد و انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ با شدت $P < 1*10^{-6}$ از داده‌ها کنار گذاشته شدند. پس از مراحل کنترل کیفیت، در نهایت ۲۸۷۴۹ SNP برای آنالیزهای بعدی انتخاب شدند. بخش‌هایی از ژنوم که دارای iHS بالایی هستند نشان دهنده نشانه‌های انتخاب در هر جمعیت است که ممکن است بر اثر بیماری یون یا انتخاب به‌وجود آمده باشند. برای شناسایی مناطق ژنومی که ممکن است تحت انتخاب اخیر بوده باشند، iHS برای SNPها در سراسر ژنوم جمعیت‌های بیمار و سالم محاسبه شد. به‌منظور نشان دادن توزیع سیگنال‌های متمایز در هر کروموزوم، آماره iHS در برابر موقعیت ژنومی برای هر دو جمعیت ترسیم شد (شکل ۱).

جهت شناسایی نشانه‌های انتخاب در این بیماری، از دو آماره iHS و RSB استفاده شد. آزمون آماری iHS یک روش

[DOI: 10.61186/rap.15.3.30]

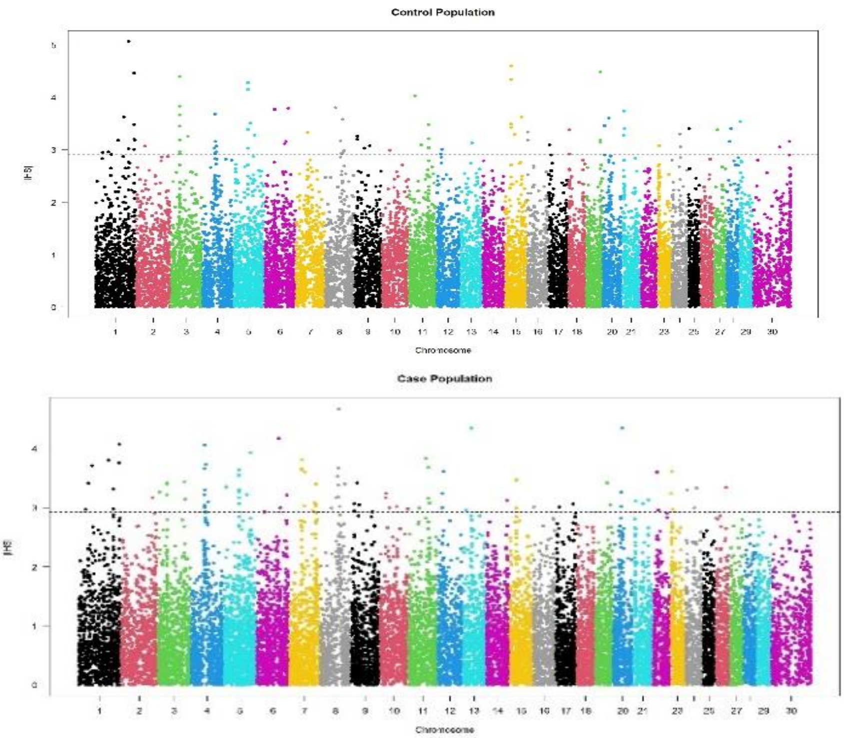
جابجایی انتخاب مبتنی بر هاپلوتیپ است که بر اساس تخمین هموزیگوسیتی هاپلوتیپ توسعه یافته (EHH) از هر SNP دو آللی که می‌تواند مشتق شده یا اجدادی باشد، محاسبه می‌شود. مجموع EHH بر روی مناطق مجاور از هسته SNP محاسبه شده به‌عنوان EHH یکپارچه نامیده می‌شود (Qanbari *et al.*, 2011). بنابراین، آن‌را به‌عنوان یک مقدار درون جمعیت توصیف می‌کند که از نسبت iHHA و iHHD که توسط Voight *et al.*, (2012) گزارش شده است، به‌دست می‌آید. بسته rehh (Gautier and Vitalis, 2012) در برنامه R (4.0.4 x64) برای محاسبه مقدار iHS برای SNP با $MAF \geq 0.05$ در هریک از دو جمعیت سالم و بیمار، به‌طور جداگانه استفاده شد. مقادیر منفی یا مثبت بزرگ iHS نشان‌دهنده‌ی هاپلوتیپ‌های طولانی است که به‌ترتیب دارای آلل مشتق شده یا اجدادی هستند. همچنین RSB نیز بر اساس تخمین EHH برآورد می‌شود. اگرچه، برخلاف iHS، RSB شامل مقایسه الگوهای EHH همان آلل (به‌عنوان "iES") بین دو جمعیت است (Tang *et al.*, 2007). برای محاسبه مقادیر RSB، از آمارهای مختلف iES که در طول تجزیه و تحلیل iHS در هر یک از جمعیت‌های سالم و بیمار با استفاده از بسته rehh برآورد شد، استفاده گردید. مقادیر RSB در نرم‌افزار R (4.0.4 x64) نرمال شد. از آنجایی‌که مقدار RSB جهت‌دار است، مقدار منفی انتخاب را در جمعیت بیمار و مقدار مثبت RSB انتخاب را در جمعیت سالم پیشنهاد می‌کند. در هر روش ۵ درصد از بالاترین مقادیر برآورد شده به عنوان مناطق تحت انتخاب معرفی شدند (Tao *et al.*, 2020). بعد از شناسایی مناطق تحت انتخاب، برای پیدا کردن ژن‌های مرتبط با این مناطق از ژن لیست شرکت ایلومینا در محیط نرم‌افزار Plink v1.9 استفاده شد.

برای شناسایی مسیرهای متابولیکی مهم، از افزونه ClueGo (نسخه ۲.۵.۶) در نرم‌افزار Cytoscape استفاده شد که تفسیرهای بیولوژیکی ژن‌ها را ارائه می‌کنند (Bindea *et al.*, 2009). ژن‌های کاندید با ارزش بالا انتخاب و تحت تجزیه و تحلیل غنی‌سازی عملکردی قرار گرفتند. نماد B.taurus به‌عنوان ارگانیسم پس‌زمینه انتخاب شد. مقادیر $p < 0.05$ برای هر مسیر بیولوژی، پس از تصحیح بنفرونی، از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

برآورد آماره iHS برای تمام SNPها در دو جمعیت بر روی ژنوم انجام شد. نتایج نشان داد که در جمعیت سالم ۸۴ منطقه ژنومی و در جمعیت بیمار ۹۶ منطقه ژنومی روی کروموزوم‌های مختلف تحت انتخاب است. ۶۳ ژن در جمعیت بیمار و ۷۰ ژن در جمعیت سالم گاوهای هلشتاین توسط آماره iHS شناسایی شد (فایل ضمیمه جدول ۱ و ۲).

پس از شناسایی ژن‌های مرتبط با مناطق تحت انتخاب در دو جمعیت سالم و بیمار مسیرهای بیولوژی مرتبط با این ژن‌ها در دو جمعیت شناسایی شد (جدول ۱).



شکل ۱- توزیع ارزش‌های iHS در سطح ژنوم گاوهای بیمار (پایین) و گاوهای سالم (بالا): موقعیت ژنومیSNPها بر روی محور X و ارزش iHS آن‌ها بر روی محور Y نمایش داده شده است. خط ترسیم شده نشان‌دهنده ۹۹/۹ صدک کروموزوم‌ها است.

Figure 1. Distribution of iHS values on the genome level of diseased cows (right) and healthy cows (left): the genomic position of SNPs is displayed on the X axis and their iHS values are displayed on the Y axis. The drawn line represents 99.9 percent of chromosomes.

[DOI: 10.61186/rap.15.3.30]

جدول ۱- مسیرهای شناسایی شده مرتبط با ژن های آماره iHS در دو جمعیت سالم و بیمار گاوهای هلشتاین
Table 1. Identified pathways associated with iHS statistic genes in two populations of healthy and diseased Holstein cattle.

Term عنوان	P-Value	Genes ژن ها
cell aging پیری سلولی	5.00E-04	ZMIZ1, NOX4, PRELP
Proteoglycans in cancer پروتئوگلیکان‌ها در سرطان	0.0103	ERBB4, CAV2, ANK3, IGF1R
positive regulation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling تنظیم مثبت سیگنال‌دهی فسفاتیدیل ۳-کیناز	0.0143	ERBB4, UNC5B, IGF1R
netrin receptor activity فعالیت گیرنده نترین	0.0169	UNC5B, UNC5D
microtubule binding اتصال میکروتوبول	0.0286	REEP1, DST, NAV3, CEP295
regulation of JNK cascade تنظیم آبشار JNK	0.0342	SH3RF2, IGF1R
positive regulation of MAPK cascade تنظیم مثبت آبشار MAPK	0.0359	CAV2, PROK1, IGF1R
Membrane غشاء	0.0422	REEP1, DST, PNPLA8, ABHD3, GLT8D2, ERGIC1, FAM83B, CFTR
bicarbonate transport انتقال بی‌کربنات	0.0481	SLC4A10, CFTR
UDP-glycosyltransferase activity فعالیت UDP-گلیکوزیل ترانسفراز	0.0498	LOC100140261, GLT8D2
cellular response to glucose stimulus پاسخ سلولی به محرک گلوکز	0.0506	NOX4, IGF1R
protein autophosphorylation اتوفسفوریلاسیون پروتئین	0.0505	MELK, ERBB4, IGF1R
Ion's disease population جمعیت بیماری یون		
Schaffer collateral - CA1 synapse شافر کولترال- سیناپس CA1	0.0007	AKAP12, GRM5, CAPZB, CTNNB1
positive regulation of protein localization to plasma membrane تنظیم مثبت محلی‌سازی پروتئین در غشای پلاسما	0.0082	LRP1, SPTBN1, EPHA3
Human cytomegalovirus infection عفونت سیتومگالوویروس انسانی	0.0092	CTNNB1, LOC529196, PIK3R3, ADCY3, CCR3
Chemokine signaling pathway مسیر سیگنالینگ کموکاین	0.0251	LOC529196, PIK3R3, ADCY3, CCR3
cellular response to forskolin پاسخ سلولی به فورسکولین	0.0257	ADCY3, CFTR
Bacterial invasion of epithelial cells تهاجم باکتری به سلول‌های اپیتلیال	0.0263	ACTR3, CTNNB1, PIK3R3
cell chemotaxis کموتاکسی سلولی	0.0319	DOCK4, LOC529196, CCR3
Rap1 signaling pathway مسیر سیگنال‌دهی Rap1	0.0348	DOCK4, CTNNB1, PIK3R3, ADCY3
Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection عفونت هرپس ویروس مرتبط با سارکوم کاپوزی	0.036	CTNNB1, LOC529196, PIK3R3, CCR3
Alzheimer disease بیماری آلزایمر	0.043	GRM5, LRP1, NDUFS4, CTNNB1, PIK3R3
integral component of plasma membrane جزء جدایی‌ناپذیر غشای پلاسمایی	0.0447	GRM5, SLCO4C1, PLXNA2, ADCY3, KCNK3, EPHA3, CFTR
isomerase activity فعالیت ایزومراز	0.046	ITPK1, CFTR
cAMP signaling pathway مسیر سیگنالینگ cAMP	0.0481	PIK3R3, ADCY3, HCN2, CFTR

برخی از ژن‌های شناسایی شده توسط آماره iHS در دو جمعیت بیمار و سالم شامل ACTR3, ADCY3, CAPZB, CAV2, CCR3, CFTR, CTNNB1, AKT, ERGIC1 و DST بودند. ACTR3 در پلیمریزاسیون رشته اکتین و سازماندهی اسیدهای چرب نقش دارد (Mokhber *et al.*, 2018). علاوه بر این ژن ACTR3 در مقاومت در ورم پستان نقش به‌سزایی دارد (Zhong *et al.*, 2023). در مطالعه‌ای ژن ACTR3 با تنظیم طول رشته اکتین مربوط به متابولیسم عضلانی مشخص شد (Lee *et al.*, 2013).

در مطالعه ارتباط گسترده ژنوم با صفات روز آزمون و تولید شیر ۳۰۵ روزه در گاوهای آمیخته، ژن ADCY3 تحت انتخاب بود (Wara *et al.*, 2019). همچنین، این ژن با پاسخ سلولی به فورسکولین، مسیر ملانوژنز، مسیر ترشح انسولین، فعال‌سازی پلاکت‌ها، مسیر سیگنال‌دهی کلسیم و مسیر سیگنال‌دهی

[DOI: 10.61186/rap.15.3.30]

Rap1 مرتبط شناسایی شده است (Mengistie *et al*., 2022). ژن CAPZB زیر واحد بتا پروتئین اتصال دهنده اکتین انتهای خاردار را رمزگذاری می‌کند که به خانواده پروتئین پوشاننده اکتین تعلق دارد. ژن CAPZB که در ساختار عضلانی و متابولیسم دخیل است بر حساسیت گوشت تاثیر می‌گذارد. ژن CAPZB که ممکن است به‌طور بالقوه بر ساختار و رشد عضلانی تأثیر بگذارد و در نتیجه بر حساسیت گوشت در گاو Ankole تأثیر می‌گذارد (Taye *et al*., 2017). سازماندهی اسکلت سلولی اکتین که توسط ژن CAPZB و فرآیند مبتنی بر رشته اکتین نشان داده می‌شود با نرمی گوشت مرتبط است (Damon *et al*., 2012). CAPZB به خواص متابولیک و ساختاری ماهیچه‌ها و فرآیندهای پروتئولیتیک کمک می‌کند که منجر به پیوند بین شبکه‌های عملکردی برای تولید عضله می‌شود (Ponsuksili *et al*., 2019).

در مطالعه بین جمعیت گاو هلشتاین چینی و سیمنتال، ژن CAV2 مربوط به آنزیم‌های لیپولیتیک مشخص شد (Chen *et al*., 2016). همچنین، اثر ژن CAV2 بر عضلات اسکلتی موش شناسایی شد (Kosińska-Selbi *et al*., 2020). یکی از ژن‌های کاندید عملکردی بالقوه برای بهره‌وری خوراک برای گاو انگوس CCR3 شناسایی شد (Fonseca *et al*., 2023). ژن CCR3 مربوط به رشد و عملکرد سیستم قلبی– عروقی، رشد ارگانیسمی، حرکت سلولی، توسعه و عملکرد سیستم خونی، سلول‌های ایمنی، پاسخ التهابی و متابولیسم لیپید بود (Moré *et al*., 2019). CFTR در تعریق و توسعه غدد تعرق نقش دارد. این ژن پروتئینی به‌نام InsP3R را کد می‌کند که به یون‌های کلسیم کمک می‌کند تا به داخل و خارج سلول‌ها حرکت کنند، که به‌نوبه خود برای بسیاری از عملکردهای سلول ضروری است (Cui *et al*., 2015). CFTR به تحریک الکتروشیمیایی ترشح غدد عروقی کمک می‌کند و در بازجذب یون‌های سدیم در مجاری عروقی دخیل است (Cui *et al*., 2015). جهش در ژن CFTR منجر به فیبروز کیستیک می‌شود، در نتیجه آن وضعیتی بوجود می‌آید که منجر به افزایش سطح کلر در تعرق می‌شود (Wilke *et al*., 2007). CTNNB1 در ۲۵۳ ژن منحصر به‌فرد در ۹ مجموعه ژن مرتبط با باروری تلیسه، وجود داشت. CTNNB1 در تنظیم چندین ژن نقش دارد در حالی‌که CTNNB1 دارای یک حلقه بازخورد با WNT2 و WNT16 در مسیر سیگنالینگ WNT است. CTNNB1 نقش مهمی در اتصالات چسبنده در چسبندگی سلول به سلول ایفا می‌کند و عامل مرکزی در مسیر سیگنال‌دهی متعارف WNT است. سیگنالینگ WNT احتمالاً یک واسطه عملکردی مهم در رویدادهای اولیه بارداری در گاو، گوسفند، موش و انسان است (Denicol *et al*., 2004, Tribulo *et al*., 2017). داده‌های اخیر نشان می‌دهد که القای FSH از CTNNB1 ممکن است اثر مستقیمی بر افزایش فعالیت مسیر AKT داشته باشد (Castanon *et al*., 2012). درمطالعه‌ای که کاستانون و همکاران (Castanon *et al*., 2012) انجام دادند، نشان دادند که GC گاوهای تحت درمان با FSH نسبت به گروه کنترل، افزایش تجمع پروتئین CTNNB1 را داشته و تمایل برای شروع مسیر سیگنالی AKT داشتند. سیگنال‌دهی توسط یک کیناز اختصاصی سرین/ترئونین را فعال می‌کند، که نقش‌های چندمنظوره مانند تکثیر سلولی، سنتز پروتئین و رونویسی را انجام می‌دهد. تجزیه و تحلیل ارتباط ژنومی اخیر (GWAS)، یک منطقه ۱۰ کیلو جفت بازی شامل پنج SNP مرتبط با حساسیت BRD در کروموزوم ۲۳ گاو شناسایی شد که شامل ژن دیستونین (DST) بود. DST نقش مهمی درانتقال کپسیدهای BHV-1 از طریق شبکه میکروتوبول به هسته سلول میزبان دارد، نقش عمده‌ای در عفونت ویروس تبخال در گاو دارد (Testa and Tsichlis, 2005). در اینترون ژن DST، rs136573888 (T/C) به فاکتور اتصال رونویسی گیرنده گلوکوکورتیکوئید در حضور نوکلئوتید T متصل می‌شود، اما به نوکلئوتید C متصل نمی‌شود. فاکتور رونویسی گیرنده گلوکوکورتیکوئید به‌طور گسترده به‌عنوان یک داروی ضد التهابی در گاو استفاده می‌شود و تقریباً بر تمام فرآیندهای التهابی شامل سنتز فسفولیپاز A2 تأثیر می‌گذارد و در نتیجه سنتز سیتوکین‌های پیش‌التهابی مانند اینترلوکین‌ها را کاهش می‌دهد و تولید لکوسیت‌ها را کاهش می‌دهد (McElwee *et al*., 2013). افزایش بیان ژن DST در حیوانات آلوده به IBR در مقایسه با حیوانات کنترل، نقش DST در گاوهای آلوده به BHV-1 را حمایت می‌کند (Tizioto *et al*., 2015). ژن EPHA3 بیشتر در گاوهای شمال غربی چین که دارای آب و هوای خشک با فشار کم است بیان شده است. این ژن مربوط به سیستم عصبی، واکنش پلاکتی، مقاومت انگل و آنتی ژن‌های گروه خونی می‌باشد (Cahn & Line, 2005). ERGIC1 یک پروتئین غشایی چرخشی است که در حمل و نقل مواد مغذی بین شبکه آندوپلاسمیک، محفظه میانی و دستگاه گلژی به غشاء کمک می‌کند (Yang *et al*., 2017). rs43350563 پروتئین ERGIC1 را کد می‌کند که از جمله نشانگرهای مرتبط با تأثیر قابل‌توجه بر وزن بدن است. آگاهی از این‌گونه انواع عملکردی، دقت و صحت تحقیقات را بهبود می‌بخشد و پیش‌بینی‌های ژنومی می‌تواند فرصت‌های جدیدی برای انتخاب حیوانات با وزن بدن مناسب برای حصول به اهداف اصلاح نژادی ایجاد می‌کند و می‌تواند بیماری را در جمعیت گاوهای پرواری کاهش دهد (Breuza *et al*., 2004). ژن GRM5 نقش مهمی در یادگیری فضایی دارد و برای عملکرد و حافظه ضروری است (Saatchi, 2018). متعاقباً، جیو و همکاران (Jew *et al*., 2013) پیشنهاد کردند که GRM5 انعطاف‌پذیری سیناپسی عصبی را کنترل می‌کند و این به‌نوبه خود واکنش حرکتی موش‌ها را به محیط‌های جدید تعدیل می‌کند. HCN2 یک ژن کد کننده پروتئین است. پروتئین کدگذاری شده توسط این ژن یک کانال کاتیونی فعال شده با هیپرپلاریزاسیون است که در تولید فعالیت ضربان‌ساز در قلب و مغز نقش دارد. پروتئین کدگذاری شده توسط cAMP فعال می‌شود و می‌تواند جریان سریع و زیادی تولید کند. نقص در این ژن به‌عنوان علت احتمالی بیماری صرع ذکر شده است. در مطالعات GWAS این ژن یکی از ژن‌های کاندید برای بررسی بیولوژی مغز مورد آزمایش قرار می‌گیرد (Manca *et al*., 2020). گیرنده فاکتور رشد شبه انسولین نوع ۱ (IGF1R) نقش حیاتی در تعدیل ایمنی

[DOI: 10.61186/rap.15.3.30]

و رشد عضلات و استخوان دارد (Yi-Lei *et al.*, 2019). ژن IGF1R روی کروموزوم شماره ۲۱ است. این ژن در حفظ بارداری و رشد جنین مؤثر است. ژن IGF1R در انتقال مواد مغذی به جنین نقش دارد و رویدادهای آنابولیک را در مرحله رشد جنینی تحریک می‌کند (Hellstrom, 2016). با توجه به نقش مرکزی عمل IGF1 در تولیدمثل، گیرنده فاکتور رشد شبه انسولین نوع ۱ (IGF1R) به‌نظر می‌رسد یک ژن کاندید قوی برای جهش‌های مرتبط با صفات تولیدمثل باشد. IGF1R گیرنده اصلی IGFها است که واسطه اعمال محور سوماتوتروپیک در رشد، شیردهی و تولیدمثل است. نتایج مطالعه‌ای برای اولین‌بار نشان داد که یک پلی‌مورفیسم از IGF1R با صفات تخمک‌گذاری مرتبط است و نشان داد که ژن IGFIR می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر بالقوه برای donor selection مورد استفاده قرار گیرد (Yang *et al.*, 2013). ادعا می‌شود که پلی‌مورفیسم در ژن IGF1R بر پارامترهای اقتصادی مانند وزن بدن و چربی زیر جلدی کمر تأثیر می‌گذارد درحالی‌که مشاهده کردند که آلل A ژن IGF1R بر روی صفات تولید شیر نیز تأثیرگذار است (Akis *et al.*, 2010). ژن IPTK1 آنزیمی را کد می‌کند که متعلق به خانواده اینوزیتول، متابولیسم اینوزیتول در توسعه لوله عصبی نقش دارد. گمان می‌رود که اختلالات در این ژن با نقص لوله عصبی مرتبط باشد. یک ژن کاذب از این ژن در کروموزوم X شناسایی شده است (Chamberlain *et al.*, 2007).

در این مطالعه ژن CBFA2T2 مرتبط با بیماری یون شناسایی و گزارش شد. همچنین، در یک مطالعه GWAS مبتنی بر توالی که اخیراً در گاوهای هلشتاین و نورماند فرانسه انجام شد، نتایج نشان داد که سه QTL با مقاومت در برابر عفونت MAP مرتبط هستند. یکی از سه ژن نامزد ژن CBFA2T2 بود (Sanchez *et al.*, 2020). علاوه بر این، این ژن در مطالعه دیگری که مربوط به بیماری یون در گاو هلشتاین بود نیز گزارش شده است (Mallikarjunappa *et* al., 2021). ژن KCNAB1 در این مطالعه در جمعیت سالم شناسایی شد. اما این ژن در دو مطالعه که مرتبط با بیماری یون در گاو بود، جزو ژن‌های کاندید برای بیماری یون گزارش شده است (Mallikarjunappa *et al.*, 2021; Brito *et al.*, 2018).

آماره RSB

روش RSB مبتنی بر EHH برای کشف امضاهای انتخاب در جمعیت بیمار با مقایسه ژنوم آن با جمعیت سالم استفاده شد. توزیع مقادیر RSB در امتداد اتوزوم‌های گاو در شکل ارائه شده است (شکل ۲). آماره RSB اگر این آماره منفی باشد، وجود انتخاب در جمعیت بیمار را نشان می‌دهد و اگر مثبت باشد وجود انتخاب در جمعیت سالم را نشان می‌دهد. بخش‌هایی از ژنوم با ارزش‌های RSB بالا، نشان‌دهنده تمایز بین دو جمعیت بیمار و سالم در آن مناطق ژنومی در اثر بیماری است. نتایج به‌دست آمده نشان داد که در جمعیت سالم ۱۵۲ منطقه روی کروموزوم‌های مختلف و در جمعیت بیمار ۱۲۹ منطقه ژنومی روی کروموزوم‌های مختلف شناسایی شد.

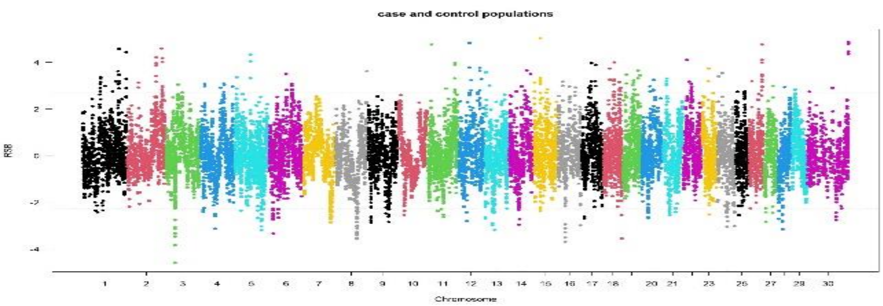
همچنین، پس از بررسی مناطق تحت انتخاب ۳۹ ژن در جمعیت بیمار و ۵۳ ژن در جمعیت سالم گاوهای هلشتاین توسط آماره RSB شناسایی شد (فایل ضمیمه جدول ۳ و ۴). علاوه بر این، در آماره RSB نیز مشابه با بقیه پس از شناسایی ژن‌های مرتبط با مناطق تحت انتخاب در دو جمعیت سالم و بیمار مسیرهای بیولوژی مرتبط با این ژن‌ها در دو جمعیت شناسایی شد (جدول ۲).

ژن‌های شناسایی شده توسط آماره RSB در دو جمعیت بیمار و سالم شامل ACTA2، CTNNA2، CNTNAP2، PCDH9 و SIGLEC5 بودند. ACTA2 پروتئینی است که در تکثیر سلولی، مهاجرت و تهاجم نقش دارد (Hu *et al.*, 1991). ژن ACTA2 نقش مهمی در کیفیت گوشت گاو دارد (Li *et al.*, 2020). تجزیه و تحلیل توسط هانگ و همکاران از پروفایل‌های بیان ژن ACTA2 نشان داد که سطح بیان ژن ACTA2 در مراحل مختلف رشد خوک‌ها بسیار متفاوت است، و نشان می‌دهد که اکتین بر رشد و تکامل حیوانات تأثیر بگذارد و این یک امر بسیار مهم است (Huang *et al.*, 2009). وانگ و همکاران دریافتند که تنظیم پایین ACTA2 با افزایش بیان Rho A و کاهش بیان Rac1 برای جلوگیری از پلیمریزاسیون رشته اکتین، مهاجرت سلول‌های بنیادی عصبی را مهار می‌کند (Wang *et al.*, 2019). CTNNA2 پروتئینی را رمزگذاری می‌کند که ممکن است به‌عنوان یک پیوند دهنده بین گیرنده‌های چسبندگی کادرین و اسکلت سلولی عمل کند تا چسبندگی سلولی و تفکیک در سیستم عصبی را تنظیم کند (Schaer *et al.*, 2018). CTNNA2 با سطوح پلاسمایی ویتامین K، که نقش مهمی در بیماری‌های قلبی و اندازه‌گیری‌های قلبی عروقی، مرتبط است (Sigurdsson *et al.*, 2018). ژن CNTNAP2 پروتئینی را کدگذاری می‌کند که نقش مهمی در کاتابولیسم کلاژن، چسبندگی سلولی و میوژنز دارد (Malik *et al.*, 2018). ژن CTNNA2 با تنظیم غلظت ال–آلانین در خون گاو مرتبط است (Li *et al.*, 2020). ژن PCDH9 در گاوهای هلشتاین به‌عنوان ژن کاندید تاثیرگذار بر قدرت کمر انتخاب شد (Lu *et al.*, 2021). بیان غیرمعمول PCDH9 در سلول‌ها می‌تواند منجر به تأخیر در رشد و میکروسفالی در انسان شود (Bellucco *et al.*, 2019). در مطالعه ارتباط ژنومی برای صفات زایش در گاو شیری هلشتاین– فریزین ژن SIGLEC5 نشان داد که بر صفات زایش تأثیر می‌گذارد (Purfield *et al.*, 2014). SIGLEC5 به‌عنوان یک ژن کاندید درگیر در تغییر طول بارداری در تبار هلشتاین– فریزین مورد هدف قرار گرفت (Puckowska *et al.*, 2019).

[DOI: 10.61186/rap.15.3.30]

جدول ۲- مسیرهای شناسایی شده مرتبط با ژن‌های آماره RSB در دو جمعیت سالم و بیمار گاوهای هلشتاین
Table 2. Identified pathways related to RSB genes in healthy and diseased populations of Holstein cows.

Term عنوان	P-Value	Genes ژن
Case population جمعیت		
regulation of neuron projection development تنظیم توسعه طرح ریزی نورون	0.0407	GRID2, CTNNA2
positive regulation of synapse assembly تنظیم مثبت اسمبلی سیناپس	0.0502	NTRK2, GRID2
identical protein binding اتصال پروتئین یکسان	0.0523	TRPA1, RASEF, CCDC6, RBBP8, UBQLN1
Control population جمعیت کنترل		
kidney development گسترش کلیه	0.0131	PKHD1, C1GALT1, RPGRIP1L
cell adhesion چسبندگی سلولی	0.0362	COL28A1, PCDH9, LOC618268, SIGLEC5
brain development رشد مغز	0.0374	ZFHX3, MACO1, SPATA5
sialic acid binding اتصال اسید سیالیک	0.0479	LOC618268, SIGLEC5
ATP metabolic process فرآیند متابولیک ATP	0.0502	AK1, SLC25A25
ATP binding اتصالATP	0.0512	ACTA2, PFKFB3, PCCA, ATP8A1, UBA6, PIP5KL1, AK1, SPATA5



شکل ۲- توزیع مقادیر RSB بین دو جمعیت بیمار و سالم. جمعیت بالا مربوط به سالم و جمعیت پایین مربوط به بیمار
Figure 2. Distribution of RSB values between two diseased and healthy populations. The upper population corresponds to the healthy and the lower population corresponds to the patient

نتیجه‌گیری کلی

در مطالعه اخیر، نتایج آماره iHS نشان داد که در جمعیت سالم ۸۴ منطقه ژنومی و در جمعیت بیمار ۹۶ منطقه ژنومی و همچنین در آماره RSB در جمعیت سالم ۱۵۲ منطقه ژنومی و در جمعیت بیمار ۱۲۹ منطقه ژنومی تحت انتخاب بودند. ژن‌های شناسایی شده در این مطالعه با صفات و ویژگی‌های مهم زیستی جانداران مثل ایمنی، سرطان، تهاجم باکتری به سلول‌ها، پیری سلولی، پاسخ سلولی، رشد و چسبندگی سلولی در ارتباط بودند. با مشخص شدن ژن‌های کاندید احتمالی مرتبط با بیماری یون و مقاوم به بیماری یون در گاو، می‌توان از این اطلاعات در برنامه‌های اصلاح نژادی (انتخاب در جهت کاهش یا افزایش بیان و فراوانی ژن‌های مهم) گاوهای هلشتاین در کشور استفاده کرد. البته به‌دلیل اطلاعات ناقص مربوط به عملکرد ژن‌ها در گونه گاو و همچنین کوچک بودن جمعیت مورد استفاده در این مطالعه، مطالعات گسترده‌تر با تعداد نمونه‌های بیشتر و تجزیه و تحلیل چند جمعیت جداگانه درک بهتری از ژن‌های کاندید برای بیماری یون در جمعیت گاو ایجاد خواهد نمود. با توجه به اهمیت پرورش گاو هلشتاین در ایران و جهان افزایش اطلاعات در این زمینه تأثیر مناسبی بر طراحی برنامه‌های اصلاح‌نژادی و کاهش ضررهای اقتصادی ناشی از بیماری در گاوهای هلشتاین کشور خواهد داشت. اگرچه همپوشانی بین مناطق شناسایی شده از طریق این مطالعه با مطالعات قبلی کم است، اما ممکن است نتایج ما در آینده برای شناسایی نشانه‌های انتخاب بین نژادهای گاو موردتوجه قرار گیرد.

References

Akis, I., Oztabak, K., Gonulalp, I., Mengi, A., Un, C. (2010). IGF-1 and IGF-1r gene polymorphisms in East Anatolian Red and South Anatolian Red cattle breeds. *Genetika*, *46*(4), 497-501. https://doi.org/10.1134/S1022795410040083

Bahador, Y., Mohammadabadi, M., Khezri, A., Asadi, M., & Medhati, L. (2016). Study of genetic diversity in honey bee populations in Kerman province using ISSR markers. *Research On Animal Production*, 7(13), 192-186. https://doi.org/10.18869/acadpub.rap.7.13.192 [In Persian]

Bellucco, F. T., Rodrigues de Oliveira-Júnior, H., Santos Guilherme, R., Bragagnolo, S., Alvarez Perez, A. B., Ayres Meloni, V., & Melaragno, M. I. (2019). Deletion of chromosome 13 due to different rearrangements and impact on phenotype. *Molecular Syndromology*, *10*(3), 139-146. https://doi.org/10.1159/000497402

[DOI: 10.61186/rap.15.3.30]

Bindea, G., Mlecnik, B., Hackl, H., Charoentong, P., Tosolini, M., Kirilovsky, A., Fridman, W.H., Pagès, F., Trajanoski, Z., & Galon, J. (2009). ClueGO: a Cytoscape plug-in to decipher functionally grouped gene ontology and pathway annotation networks. *Bioinformatics*, *25*(8), 1091-1093. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp101

Brito, L. F., Mallikarjunappa, S., Sargolzaei, M., Koeck, A., Chesnais, J., Schenkel, F. S., ... & Karrow, N. A. (2018). The genetic architecture of milk ELISA scores as an indicator of Johne's disease (paratuberculosis) in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 101(11), 10062-10075. https://doi.org/10.3168/jds.2017-14250

Breuza, L., Halbeisen, R., Jenö, P., Otte, S., Barlowe, C., Hong, W., & Hauri, HP. Proteomics of endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment (ERGIC) membranes from brefeldin A-treated HepG2 cells identifies ERGIC-32, a new cycling protein that interacts with human Erv46. *Journal of Biological Chemistry*, *279*, 47242–47253. https://doi.org/10.1074/jbc.M406644200

Cahn, C.M., & Line, S. (2005). *The Merck Veterinary Manual*. 9th ed. John Wiley & Sons.

Castanon, B. I., Stapp, A. D., Gifford, C. A., Spicer, L. J., Hallford, D. M., & Hernandez Gifford, J. A. (2012). Follicle-stimulating hormone regulation of estradiol production: possible involvement of WNT2 and beta-catenin in bovine granulosa cells. *Journal of Animal Science*, 90, 3789–3797. https://doi.org/10.2527/jas.2011-4696

Chamberlain, P. P., Qian, X., Stiles, A. R., Cho, J., Jones, D. H., Lesley, S. A., ... & Spraggon, G. (2007). Integration of inositol phosphate signaling pathways via human ITPK1. *Journal of Biological Chemistry*, *282*(38), 28117-28125. https://doi.org/10.1074/jbc.M703121200

Chen, M., Pan, D., Ren, H., Fu, J., Li, J., Su, G., Wang, A., Jiang, L., Zhang, Q., & Liu, J. F. (2016). Identification of selective sweeps reveals divergent selection between Chinese Holstein and Simmental cattle populations. *Genetics Selection Evolution*, 48(1), 1-12. https://doi.org/10.1186/s12711-016-0254-5

Cui, C.Y. and Schlessinger, D., 2015. Eccrine sweat gland development and sweat secretion. *Experimental Dermatology*, *24*(9), 644-650. https://doi.org/10.1111/exd.12773

Damon, M., Wyszynska-Koko, J., Vincent, A., Herault, F., & Lebret, B. (2012). Comparison of muscle transcriptome between pigs with divergent meat quality phenotypes identifies genes related to muscle metabolism and structure. *Plos One*, *7*(3), e33763. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033763

Denicol, A.C., Block, J., Kelley, D.E., Pohler, K.G., Dobbs, K.B., Mortensen, C.J., Ortega, M.S. and Hansen, P.J. (2014). The WNT signaling antagonist Dickkopf-1 directs lineage commitment and promotes survival of the preimplantation embryo. *The FASEB Journal*, *28*(9), p.3975. https://doi.org/10.1096/fj.14-253112

Dong, Y., Xie, M., Jiang, Y., Xiao, N., Du, X., Zhang, W., Tosser-Klopp, G., Wang, J., Yang, S., Liang, J., & Chen, W. (2013). Sequencing and automated whole-genome optical mapping of the genome of a domestic goat (Capra hircus). *Nature Biotechnology*, *31*(2), 135-141. https://doi.org/10.1038/nbt.2478

Fonseca, P. A. S., Lam, S., Chen, Y., Waters, S. M., Guan, L. L., & Cánovas, A. (2023). Multi-breed host rumen epithelium transcriptome and microbiome associations and their relationship with beef cattle feed efficiency. *Scientific Reports*, 13(1), 16209. https://doi.org/10.1038/s41598-023-43097-8

Gautier, M., & Vitalis, R. (2012). rehh: an R package to detect footprints of selection in genome-wide SNP data from haplotype structure. *Bioinformatics*, *28*(8), 1176-1177. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts115

Gholamhoseinzadeh Gooki, F., Mohammadabadi, M. R., & Asadi Fozi, M. (2018). Polymorphism of the growth hormone gene and its effect on production and reproduction traits in goat. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 8(4), 653-659.

Hasonova, L., & Pavlik, I. (2006). Economic impact of paratuberculosis in dairy cattle herds: a review. *Veterinarni Medicina*, *51*(5), 193.

Hellstrom, A., et al. (2016). Role of insulin-like growth factor 1 in fetal development and in the early postnatal life of premature infants. *American Journal of Perinatology*, *33*, 1067–1071. https://doi.org/10.1055/s-0036-1586109

Hu, GF., Chang, SI., Riordan, JF., Vallee, BL. (1991). An angiogenin-binding protein from endothelial cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *88*, 2227-2231. https://doi.org/10.1073/pnas.88.6.2227

Huang, J. S. X. Y., & Deng, C. Y. (2009). Cloning and expression analysis of porcine ACTA2 gene and its association with production traits. *Yi Chuan*, *31*(5), 489–494. https://doi.org/10.3724/sp.j.1005.2009.00489

Jew, C. P., Wu, C. S., Sun, H., Zhu, J., Huang, J. Y., Yu, D., ... & Lu, H. C. (2013). mGluR5 ablation in cortical glutamatergic neurons increases novelty-induced locomotion. *PLoS One*, *8*(8), e70415. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070415

Johnson, S. A., Kaneene, J. B., Asare-Dompreh, K., Tasiame, W., Mensah, I. G., Afakye, K., ... & Addo, K. (2019). Seroprevalence of Q fever in cattle, sheep and goats in the Volta region of Ghana. *Veterinary Medicine and Science*, 5(3), 402-411. https://doi.org/10.1002/vms3.160

Kosińska-Selbi, B., Suchocki, T., Egger-Danner, C., Schwarzenbacher, H., Frąszczak, M., & Szyda, J. (2020). Exploring the potential genetic heterogeneity in the incidence of hoof disorders in Austrian

Fleckvieh and Braunvieh cattle. *Frontiers in Genetics*, 11, 577116. https://doi.org/10.3389/fgene.2020.577116
Kreitman, M. (2000). Methods to detect selection in populations with applications to the human. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, *1*(1), 539-559. https://doi.org/10.1146/annurev.genom.1.1.539
Lee, K.T., Chung, W.H., Lee, S.Y., Choi, J.W., Kim, J., Lim, D., Lee, S., Jang, G.W., Kim, B., Choy, Y.H., & Liao, X. (2013). Whole-genome resequencing of Hanwoo (Korean cattle) and insight into regions of homozygosity. *BMC Genomics*, *14*(1), 1-14. https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-519
Li, J., Akanno, E. C., Valente, T. S., Abo-Ismail, M., Karisa, B. K., Wang, Z., & Plastow, G. S. (2020). Genomic heritability and genome-wide association studies of plasma metabolites in crossbred beef cattle. *Frontiers in Genetics*, *11*, 538600. https://doi.org/10.3389/fgene.2020.538600
Li, N., Yu, Q. L., Yan, X. M., Li, H. B., & Zhang, Y. (2020). Sequencing and characterization of miRNAs and mRNAs from the longissimus dorsi of Xinjiang brown cattle and Kazakh cattle. *Gene*, *741*, p. 144537. https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.144537
Lu, X., Abdalla, I. M., Nazar, M., Fan, Y., Zhang, Z., Wu, X., Xu, T., & Yang, Z. (2021). Genome-wide association study on reproduction-related body-shape traits of Chinese Holstein cows. *Animals*, *11*(7), 1927. https://doi.org/10.3390/ani11071927
Malik, A., Lee, E. J., Jan, A. T., Ahmad, S., Cho, K. H., Kim, J., & Choi, I. (2015). Network analysis for the identification of differentially expressed hub genes using myogenin knock-down muscle satellite cells. *PLoS One*, *10*(7), e0133597. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133597
Mallikarjunappa, S., Brito, L. F., Pant, S. D., Schenkel, F. S., Meade, K. G., & Karrow, N. A. (2021). Johne's disease in dairy cattle: An Immunogenetic perspective. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 718987. https://doi.org/10.3389/fvets.2021.718987
Manca, E., Cesarani, A., Gaspa, G., Sorbolini, S., Macciotta, N. P., & Dimauro, C. (2020). Use of the multivariate discriminant analysis for genome-wide association studies in cattle. *Animals*, *10*(8), 1300. https://doi.org/10.3390/ani10081300
Manning, E. J., & Collins, M. T. (2001). Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis: pathogen, pathogenesis and diagnosis. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics*), 20(1), 133-150. https://doi.org/10.20506/rst.20.1.1275
McElwee, M., Beilstein, F., Labetoulle, M., Rixon, F.J., Pasdeloup, D. (2013). Dystonin/BPAG1 Promotes Plus-End-Directed Transport of Herpes Simplex Virus 1 Capsids on Microtubules during Entry. *Journal of Virology*, *87*, 11008–11018. https://doi.org/10.1128/JVI.01633-13
Mengistie, D., Edea, Z., Sisay Tesema, T., Dejene, G., Jemal, J., Dessie, T., Kim, K.S., Samuel, B., & Dadi, H. (2022). Detection and Evaluation of Breed-specific SNPs and Minor allele frequency in Ethiopian Indigenous and European Beef Cattle Breeds. https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1618777/v1
Mohammadifar, A., & Mohammadabadi, M. (2018). Melanocortin-3 receptor (mc3r) gene association with growth and egg production traits in Fars indigenous chicken. *Malaysian Applied Biology*, 47(3), 85-90.
Mohamadipoor Saadatabadi, L., Mohammadabadi, M., Amiri Ghanatsaman, Z., Babenko, O., Stavetska, R., Kalashnik, O., ... & Asadollahpour Nanaei, H. (2021). Signature selection analysis reveals candidate genes associated with production traits in Iranian sheep breeds. *BMC Veterinary Research*, 17(1), 1-9. https://doi.org/10.1186/s12917-021-03077-4
Mokhber, M., Moradi-Shahrbabak, M., Sadeghi, M., Moradi-Shahrbabak, H., Stella, A., Nicolzzi, E., Rahmaninia, J., & Williams, J. L. (2018). A genome-wide scan for signatures of selection in Azeri and Khuzestani buffalo breeds. *BMC Genomics*, *19*(1), 1-9. https://doi.org/10.1186/s12864-018-4759-x
Moré, D. D., Cardoso, F. F., Mudadu, M. A., Malagó-Jr, W., Gulias-Gomes, C. C., Sollero, B. P., Ibelli, A. M., Coutinho, L. L., & Regitano, L. C. (2019). Network analysis uncovers putative genes affecting resistance to tick infestation in Braford cattle skin. *BMC Genomics*, 20, 1-20. https://doi.org/10.1186/s12864-019-6360-3
Ponsuksili, S., Murani, E., Phatsara, C., Schwerin, M., Schellander, K., & Wimmers, K. (2009). Porcine muscle sensory attributes associate with major changes in gene networks involving CAPZB, ANKRD1, and CTBP2. *Functional & Integrative Genomics*, 9, 455-471. https://doi.org/10.1007/s10142-009-0131-1
Puckowska, P., Borowska, A., Szwaczkowski, T., Oleński, K., & Kamiński, S. (2019). Effects of a novel missense polymorphism within the SIGLEC5 gene on fertility traits in Holstein Friesian cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, *54*, 1163–1168. https://doi.org/10.1111/rda.13484
Purfield, D. C., Bradley, D. G., Kearney, J. F., & Berry, D. P. (2014). Genome-wide association study for calving traits in Holstein–Friesian dairy cattle. *Animal*, *8*(2), 224-235. https://doi.org/10.1017/S175173111300195X
Qanbari, S., Gianola, D., Hayes, B., Schenkel, F., Miller, S., Moore, S., Thaller, G., & Simianer, H. (2011). Application of site and haplotype-frequency based approaches for detecting selection signatures in cattle. *BMC Genomics*, *12*(1), 1-12. https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-318
Saatchi, M. (2018). Putative Functional Variants in the NCAPG, ARRDC3, PLAG1 and ERGIC1 Genes are Remarkably Associated with Pre-and Post-Natal Growth in Beef Cattle. In *Plant and Animal Genome XXVI Conference (January 13-17, 2018)*. PAG.

Sanchez, M. P., Guatteo, R., Davergne, A., Saout, J., Grohs, C., Deloche, M. C., ... & Boichard, D. (2020). Identification of the ABCC4, IER3, and CBFA2T2 candidate genes for resistance to paratuberculosis from sequence-based GWAS in Holstein and Normande dairy cattle. *Genetics Selection Evolution*, 52(1), 1-17. https://doi.org/10.1186/s12711-020-00535-9

Schaffer, A. E., Breuss, M. W., Caglayan, A. O., Al-Sanaa, N., Al-Abdulwahed, H. Y., Kaymakcalan, H., ... & Gleeson, J. G. (2018). Biallelic loss of human CTNNA2, encoding αN-catenin, leads to ARP2/3 complex overactivity and disordered cortical neuronal migration. *Nature Genetics*, *50*(8), 1093-1101. https://doi.org/10.1038/s41588-018-0166-0

Shahmoradi, A.H., Mosavari, N., Aref Pajouhi, R., Heidari, M.R., Noamaan, V., Nabinejad, A., Tadaion, K., & Hosseini, S.M. (2009). Study of John's disease in industrial & semi-industrial cattle husbandry of Esfahan province. *Veterinary Research & Biological Products*, *22*(1), 13-17. [In persian]

Sigurdsson, M. I., Waldron, N. H., Bortsov, A. V., Smith, S. B., Maixner, W. (2018). Genomics of cardiovascular measures of autonomic tone. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, *71*, 180–191. https://doi.org/10.1097/FJC.0000000000000559

Tang, K., Thornton, K.R., & Stoneking, M. (2007). A new approach for using genome scans to detect recent positive selection in the human genome. *PLoS Biology*, *5*(7), e171. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050171

Tao, L., He, X., Wang, F., Zhong, Y., Pan, L., Wang, X., Gan, S., Di, R., & Chu, M. (2020). Luzhong mutton sheep: Inbreeding and selection signatures. *Journal of Animal Science and Technology*, *62*(6), 777. https://doi.org/10.5187/jast.2020.62.6.777

Taye, M., Kim, J., Yoon, S.H., Lee, W., Hanotte, O., Dessie, T., Kemp, S., Mwai, O.A., Caetano-Anolles, K., Cho, S., & Oh, S.J. (2017). Whole genome scan reveals the genetic signature of African Ankole cattle breed and potential for higher quality beef. *BMC Genetics*, *18*(1), 1-14. https://doi.org/10.1186/s12863-016-0467-1

Testa, J. R., & Tsichlis, P. N. (2005). AKT signaling in normal and malignant cells. *Oncogene*, *24*, 7391–7393. https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209100

Tiwari, A., VanLeeuwen, J.A., McKenna, S.L., Keefe, G.P., & Barkema, H.W. (2006). Johne's disease in Canada: Part I: Clinical symptoms, pathophysiology, diagnosis, and prevalence in dairy herds. *The Canadian Veterinary Journal*, *47*(9), 874.

Tizioto, P. C., Kim, J., Seabury, C. M., Schnabel, R. D., Gershwin, L. J., Van Eenennaam, A. L., ... & Taylor, J. F. (2015). Immunological response to single pathogen challenge with agents of the bovine respiratory disease complex: an RNA-sequence analysis of the bronchial lymph node transcriptome. *PloS one*, *10*(6), e0131459. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131459

Tribulo, P., Moss, J.I., Ozawa, M., Jiang, Z., Tian, X.C., Hansen, P.J. (2017). WNT regulation of embryonic development likely involves pathways independent of nuclear CTNNB1. *Reproduction*, 153, 405–419. https://doi.org/10.1530/REP-16-0610

Vignal, A., Milan, D., SanCristobal, M., & Eggen, A. (2002). A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution*, *34*(3), 275-305. https://doi.org/10.1051/gse:2002009

Voight, B. F., Kudaravalli, S., Wen, X., & Pritchard, J. K. (2007). Correction: A map of recent positive selection in the human genome, *PLoS Biology*, *5*(6), 1382-1382. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050147

Wang, Y., Zhang, C., Wang, N., Li, Z., Heller, R., Liu, R., ... & Qiu, Q. (2019). Genetic basis of ruminant headgear and rapid antler regeneration. *Science*, *364*(6446), eaav6335. https://doi.org/10.1126/science.aav6335

Wara, A. B., Kumar, A., Singh, A., Arthikeyan, A. K., Dutt, T., & Mishra, B. P. (2019). Genome-wide association study of test day's and 305 days milk yield in crossbred cattle. *Indian Journal of Animal Science*, *89*, 861-865.

Wilke, K., Martin, A., Terstegen, L. and Biel, S.S., 2007. A short history of sweat gland biology. *International Journal of Cosmetic Science*, *29*(3), pp.169-179. https://doi.org/10.1111/j.1467-2494.2007.00387.x.

Yang, L., Xu, L., Zhu, B., Niu, H., Zhang, W., Miao, J., Shi, X., Zhang, M., Chen, Y., Zhang, L., & Gao, X. (2017). Genome-wide analysis reveals differential selection involved with copy number variation in diverse Chinese cattle. *Scientific Reports*, *7*(1), 14299. https://doi.org/10.1038/s41598-017-14768-0

Yang, W., Kang, X., Yang, Q., Lin, Y., & Fang, M. (2013). Review on the development of genotyping methods for assessing farm animal diversity. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, *4*(1), 1-6. https://doi.org/10.1186/2049-1891-4-2

Yi-Lei, M., Yi-Fan, W., Cao, X. K., Cheng, J., Yong-Zhen, H., Ma, Y., ... & Chen, H. (2019). Copy number variation (CNV) in the IGF1R gene across four cattle breeds and its association with economic traits. *Archiv Fuer Tierzucht*, *62*(1), 171-179. https://doi.org/10.5194/aab-62-171-2019

Zhong, L., Ma, S., Wang, D., Zhang, M., Tian, Y., He, J., Zhang, X., Xu, L., Wu, C., Dong, M., & Gou, M. (2023). Methylation Levels in the Promoter Region of FHIT and PIAS1 Genes Associated with Mastitis Resistance in Xinjiang Brown Cattle. *Genes*, *14*(6), 1189. https://doi.org/10.3390/genes14061189

[DOI: 10.61186/rap.15.3.30]