

Research Paper

Identification of Positive Selection Signatures Associated with Important Economic Traits in Beetal Goats

Hossein Mohammadi¹ and Abouzar Najafi²

1. Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran, (Corresponding author: H-mohammadi64@araku.ac.ir)
2. Assistant Professor, Department of Animal and Poultry Science, College of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht, Iran

Received: 4 February, 2024

Accepted: 8 May, 2024

Extended Abstract

Background: The identification of selection targeted genomic regions is one of the main aims of biological research. Domestication and selection have significantly changed the behavioral and phenotypic traits in modern domestic animals. The selection of animals by humans has left detectable signatures on the genome of modern cattle. The identification of these signals can help us to improve the genetic characteristics of economically important traits in cattle. The interest in the detection of genes or genomic regions that are targeted by selection has been growing over the last decade. Identifying the signatures of selection can provide valuable insights about the genes or genomic regions that are or have been under selection pressure, which in turn leads to a better understanding of genotype-phenotype relationships. This study aimed to identify effective genes and genomic regions on positive signatures of selection in Beetal goats using selection signature and gene ontology methods.

Methods: In this study, data from 631 Beetal goats genotyped using the Caprine 50 K Bead Chip were used to identify genomic regions under selection associated with important traits in Beetal goats. Quality control measures were performed in Plink by setting an animal call rate of 0.90, SNP call rate of 0.95, and SNPs with minor allele frequencies (MAF) lower than 0.05 or that do not conform to the Hardy-Weinberg expectation ($p\text{-value} \leq 0.000001$) and unknown positions. After quality control of the initial data using Plink software (v1.90; <http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink>), 36,861 SNP markers in 594 animals of cattle were finally entered for further analysis. To identify the signatures of selection, the statistical method iHS was used under REHH software packages. Candidate genes were identified by SNPs located at 1% upper the range of iHS using Plink v1.9 software and the gene list of Illumina in R. Additionally, the latest published version of Animal Genome Database was used for defining QTLs associated with economically important traits in identified locations. In addition, the DAVID database (<http://david.abcc.ncifcrf.gov>) was used to determine biological routes. At this stage, it is assumed that genes belonging to a functional class can be considered a group of genes that have some specific and common characteristics. GeneCards (<http://www.genecards.org>) and UniProtKB (<http://www.uniprot.org>) databases were also used to interpret the function of the obtained genes. Moreover, gene ontology analysis for identified genes was performed using the DAVID online database.

Results: After quality control filters, 36,861 SNPs were left while 9761 SNPs were removed due to Hardy-Weinberg Equilibrium, 1342 SNPs were removed due to unknown positions, 3963 were removed due to a minor allele threshold, and 1342 were removed due to missing genotypes. Besides 37 individuals were removed after quality control measures. Using the iHS approach, 10 genomic regions were identified on chromosomes 4, 6, 7, 11 (two regions per chromosome), 13, 14, 15, 17, and 18. Some of the genes located in identified regions under selection were associated with body size (SPP1, SCN9A, and TNPO2), fat metabolism (SDCBP), skeletal development (IBSP and MEPE), and energy metabolism (UCP2, TRPC3, and FBP1). Some of the genes under selection were found to be consistent with some previous studies. Results of the gene ontology analysis identified two biological pathways, namely skeletal system development and a calcium channel complex, with two important KEGG pathways, including the glucagon signaling pathway and the AMPK signaling pathway, which play an important role in glucose metabolism, homeostasis, and skeletal system development.



Conclusion: Overall, various genes found within these regions can be considered the candidates under selection based on function. Most of the genes under selection were found to be consistent with some previous studies and to be involved in several processes, such as growth, body weight, metabolic pathways, and domestication-related changes, including system development and immune systems. Furthermore, a survey on extracted QTLs showed that these QTLs were involved in some important economic traits in goats, such as feed conversion ratio, subcutaneous fat, Marbling score, meat tenderness, body weight, average daily gain, conformation traits, the length of productive life, carcass traits, and composition carcass traits. However, it will be necessary to carry out more association and functional studies to demonstrate the implication of these genes and surveys on QTLs related to selected regions. However, will be necessary to carry out more association and functional studies to demonstrate the implication of genes obtained from association analyses. Using these findings can accelerate genetic progress in breeding programs and can be used to understand the genetic mechanism controlling this trait. The results of our research can be used to understand the genetic mechanism controlling growth traits. Since this study supported previous results from the genome scan of production traits and revealed additional regions, using these findings could potentially be useful for genetic selection in goats for a better body weight.

Keywords: Body weight, iHS statistics, Genomic scan, Goat, selective sweeps

How to Cite This Article: Mohammadi, H., & Najafi, A. (2024). Identification of Positive Selection Signatures Associated with Important Economic Traits in Beetal Goats. *Res Anim Prod*, 15(4), 83-92. DOI: 10.61186/rap.15.4.83

مقاله پژوهشی

شناسایی نشانه‌های انتخاب مثبت مرتبط با صفات مهم اقتصادی در بزهای نژاد بیتال

حسین محمدی^۱ و ابودر نجفی^۲

۱- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک، اراک، ایران، (نویسنده مسئول: h-mohammadi64@araku.ac.ir)

۲- استادیار، گروه علوم دام و طیور، پردیس ایوریخان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱۵

صفحه ۸۳ تا ۹۲

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: شناسایی مناطق ژنومی که هدف انتخاب بوده‌اند، یکی از راهکارهای اصلی تحقیقات زیستی است. به عبارت دیگر اهلی‌سازی و انتخاب به‌شدت در خصوصیات ظاهری و رفتاری حیوانات اهلی امروز تغییر ایجاد کرده است. در این مسیر انتخاب‌های انجام شده توسط انسان نشانه‌های قابل شناسایی را در ژنوم بزهای امروزی به‌جا گذاشته است که شناسایی این نشانه‌ها می‌تواند به اصلاح و بهبود ژنتیکی صفات مهم اقتصادی در این حیوانات کمک کند. طی دهه‌های اخیر تمایل به شناسایی مناطق ژنومی که حاوی ژن‌های کاندیدایی که هدف انتخاب بوده‌اند روبه افزایش بوده است. شناسایی نشانه‌های انتخاب می‌تواند دیدگاه‌های ارزشمندی در مورد ژن‌ها و یا مناطق ژنومی که تحت انتخاب مثبت بوده و یا هستند فراهم کند که به‌نوبه خود منجر به درک بهتر ارتباط ژنوتیپ با فنوتیپ می‌شود. هدف از این مطالعه، شناسایی ژن‌های کاندیدا و مناطق ژنومی تحت انتخاب مثبت در بزهای نژاد بیتال از طریق روش‌های شناسایی ردپای انتخاب و هستی‌شناسی ژن می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش اطلاعات ژنوتیپی مربوط به ۶۳۱ رأس بزهای نژاد بیتال تعیین ژنوتیپ شده توسط آرایه‌های Caprine 50K BeadChip شرکت ایلومینا استفاده شد. ابتدا جهت اطمینان از کیفیت داده‌های تعیین ژنوتیپ، مراحل مختلف کنترل کیفیت روی داده‌های اولیه تعیین ژنوتیپ شده قبل از آنالیزهای ژنومی انجام شد. برای فیلتراسیون داده‌های ژنوتیپ شده، ابتدا نمونه‌هایی که فراوانی نرخ تعیین ژنوتیپ آنها کمتر از ۹۰٪ بود، شناسایی و حذف شد. در مرحله بعد نشانگرهایی که حداقل فراوانی آللی در آنها کمتر از ۵٪ بود حذف شدند. سپس نشانگرهایی که نرخ تعیین ژنوتیپ آنها در نمونه‌ها کمتر از ۹۵٪ بود شناسایی و حذف شدند. در نهایت برای SNP‌های باقیمانده آنهایی که بر روی کروموزوم جنسی بودند و یا در تعادل هاردی-واینبرگ قرار نداشتند کنار گذاشته شدند. پس از کنترل کیفیت داده‌های اولیه تعیین ژنوتیپ شده با استفاده از نرم‌افزار PLINK (v1.90; <http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink>) نهایتاً ۳۶۸۶۱ نشانگر SNP و ۵۹۴ رأس دام وارد آنالیزهای بعدی شدند. برای شناسایی نشانه‌های انتخاب از روش مبتنی بر عدم تعادل پیوستگی ژنی و آزمون نمره هاپلوتیپ تمایز یافته (iHS) با استفاده از بسته نرم‌افزاری REHH در نرم‌افزار R انجام شد. ژن‌های کاندیدا با استفاده از SNP‌هایی که در بازه‌ی ۱٪ بالای iHS واقع شده بودند، با استفاده از نرم‌افزار PLINK و توسط لیست ژنی شرکت ایلومینا در محیط R شناسایی شدند. همچنین، برای بررسی وجود QTL‌های مرتبط با صفات مربوط به صفات مهم اقتصادی در مناطق شناسایی شده معنی‌دار، از آخرین نسخه‌ی منتشر شده پایگاه Animal genome استفاده شد. به‌منظور شناسایی مراحل بیولوژی ژن‌های شناسایی شده از آنالیز هستی‌شناسی استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل هستی‌شناسی ژن‌های شناسایی شده از پایگاه برخط DAVID (<http://david.abcc.ncicrf.gov>) استفاده گردید. همچنین برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های به‌دست آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی آنالین GeneCards (<http://www.genecards.org>) و UniProtKB (<http://www.uniprot.org>) استفاده شد.

یافته‌ها: از مجموع ۵۳۳۴۷ نشانگر SNP به‌کار رفته در این تحقیق، ۳۶۸۶۱ نشانگر توانستند مراحل مختلف کنترل کیفیت را بگذرانند. به‌طور کلی ۳۹۶۳ نشانگر به‌دلیل حداقل فراوانی آللی کمتر از ۰/۰۵، ۱۳۴۲۰ نشانگر به‌دلیل نرخ تعیین ژنوتیپ کمتر از ۹۵٪ در هر نمونه، ۹۷۶۱ نشانگر به‌دلیل عدم تعادل هاردی واینبرگ و ۱۴۲۰ نشانگر با موقعیت ناشناخته و همچنین ۳۷ نمونه به‌دلیل فراوانی تعیین ژنوتیپ کمتر از ۹۰٪ حذف شدند. نتایج این پژوهش منجر به شناسایی ده منطقه ژنومی روی کروموزوم‌های ۴، ۶، ۷، ۱۱ (دو منطقه)، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۷ و ۱۸ با بالاترین ارزش آزمون آماره iHS شد. ژن‌های شناسایی شده در مناطق مورد انتخاب با اندازه بدن (*SPP1*، *TNPO2*)، متابولیسم چربی (*SDCBP*)، رشد و توسعه استخوان (*IBSP*، *MEPE*) و متابولیسم انرژی (*TRPC3*، *UCP2*، *FBP1*) مرتبط بودند. برخی از این ژن‌ها در مناطق تحت انتخاب با مطالعات قبلی هم‌خوانی داشتند. بررسی QTL‌های گزارش شده در مناطق انتخابی و اورتولوگوس گاوی در مناطق شناسایی شده، QTL‌های مرتبط با میانگین خوراک مصرفی، وزن لاشه و اندازه بدن قرار داشتند. از بین مسیرهای زیستی شناسایی شده، مسیرهای *skeletal system development* و *calcium channel complex* و مسیرهای KEGG شامل *Glucagon signaling pathway* و *AMPK signaling pathway* نقش مهمی در تنظیم یون کلسیم، متابولیسم مواد غذایی، هموستازی گلوکز و رشد و توسعه عضلات اسکلتی داشتند.

نتیجه‌گیری: در هر صورت، ژن‌های متعددی که در نواحی شناسایی شده بر اساس عملکرد می‌توانند به‌عنوان کاندیداهای تحت انتخاب مطرح باشند. برخی از این ژن‌ها در مناطق تحت انتخاب با مطالعات قبلی هم‌خوانی داشتند و بیشتر در مسیرهای بیولوژیکی مرتبط با رشد، وزن بدن، فرآیندهای متابولیکی، صفات تیپ نقش دارند. همچنین، بررسی QTL‌های موجود در مناطق تحت انتخاب نشان داد که این QTL‌ها با بعضی صفات اقتصادی مهم از قبیل وزن بدن، عمق بدن، وزن و ترکیبات لاشه ارتباط دارند. در هر حال نیاز به بررسی‌های پیوستگی و عملکردی بیشتری جهت شناسایی عملکرد ژن‌ها می‌باشد. همچنین بررسی بیشتر QTL‌های مرتبط با مناطق ژنومی انتخاب شده از مطالعات جستجوی نشانه‌های انتخاب و مطالعات پیوستگی ضروری است. نتایج این تحقیق می‌تواند در درک ساز و کار ژنتیکی کنترل کننده صفات رشد مورد استفاده قرار گیرد و با توجه به تأیید مناطق قبلی پویش ژنومی و شناسایی مناطق ژنومی جدید، استفاده از یافته‌های این پژوهش می‌تواند در انتخاب ژنتیکی بز از طریق افزایش وزن بدن مفید واقع شود.

واژه‌های کلیدی: آماره iHS، بز، پویش ژنومی، رد پای انتخاب، وزن بدن

مقدمه

انتخاب^۱ در سطح ژنوم و شناسایی ژن‌های کاندیدای عملکردی به‌شمار می‌آیند (Toro-Ospina *et al.*, 2022).

علاوه بر این نتایج تحقیقات گسترده در طی چند سال اخیر نشان داده است که اهلی کردن و به‌دنبال آن شکل‌گیری نژادها و انتخاب طبیعی یا مصنوعی باعث ایجاد نشانه‌های انتخاب مثبت در مناطق ژنومی شده است (Cheruiyot *et al.*, 2018).

شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب یکی از اهداف اساسی ژنتیک مولکولی است. حیوان‌های اهلی به‌دلیل اینکه افزون بر انتخاب طبیعی هدف انتخاب‌های مصنوعی شدیدی قرار گرفته‌اند، نمونه‌های مناسب‌تری برای شناسایی نشانه‌های

توسعه یافته (EHH) از هر SNP دو آلی 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., 2014). بنابراین، آن را به‌عنوان یک مقدار درون جمعیت توصیف می‌کند که از نسبت iHHA و iHHD که توسط (Voight et al., 2006) گزارش شده است، به‌دست می‌آید.

یک پژوهش روی گاوهای گوشتی نژاد شاروله با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب با استفاده از آماره iHS مرتبط با صفات عملکردی انجام شده است. نتایج این تحقیق ده منطقه ژنومی روی کروموزوم‌های ۴، ۵، ۶ و ۱۴ را گزارش کرد که این مناطق شامل ژن‌های کاندیدا *TFEC*، *TMEM168*، *POMC*، *MDFIC*، *PPP1R3A* و *MYOD1* مرتبط با رشد عضلات اسکلتی و بافت چربی بودند (Joel Jahuey - Martínez et al., 2018). در پژوهشی دیگر که با استفاده از رویکرد پویش ژنومی و شناسایی نشانه‌های انتخاب با استفاده از آماره iHS جهت شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات تولیدی در گاوهای نژاد شیری آمیخته انجام شده است. نواحی ژنومی روی کروموزوم‌های ۱، ۶، ۸، ۱۰، ۱۱، ۱۳، ۱۴ و ۲۷ شناسایی شدند که ژن‌های کاندیدا *HERC6*، *TGS1*، *XKR4*، *ABCG2*، *CHCHD7*، *PLAG1* و *NCAPG* در این ناحیه قرار داشتند و به‌طور معنی‌داری با وزن بدن، تولید شیر، میزان خوراک مصرفی و آدپتاسیون ارتباط داشتند (Cheruiyot et al., 2018). شناسایی مناطق ژنومی در گاوهای بومی کلمبیا با استفاده از آماره iHS نشان داد که چندین منطقه ژنومی روی کروموزوم‌های ۳، ۴، ۹، ۱۱، ۱۴، ۱۹ و ۲۲ دارای شواهدی از انتخاب می‌باشند. بررسی مناطق کاندیدا نیز حاکی از آن بود که ژن‌های موجود در این مناطق شامل *FOXO2*، *CMFK1*، *RCAN1*، *ARPP21*، *ULBP*، *CSMD3* و *KRTAP9-2* با صفات مهم اقتصادی افزایش وزن بدن، رشد و اندازه بدن و بازده خوراک همپوشانی دارند (Toro-Ospina et al., 2022). انتخاب برای صفات مهم اقتصادی در بزهای نژاد بیتال طی نسل‌های گذشته می‌تواند منجر به ایجاد نشانه‌های انتخاب در سطح ژنوم شده باشد که بررسی و ردیابی این نشانه‌ها می‌تواند در شناسایی این مناطق و ژن‌های کاندیدی مؤثر بر وزن بدن مفید باشد. تا کنون تحقیقی در زمینه بررسی نشانه‌های انتخاب مرتبط با صفات مهم اقتصادی در نژاد بیتال انجام نشده است. بنابراین هدف از پژوهش حاضر شناسایی مناطق ژنومی و ژن‌های کاندیدی مرتبط با صفات مهم اقتصادی در بزهای نژاد بیتال با استفاده از آماره iHS برای پویش نشانه‌های انتخاب مثبت است.

مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر از اطلاعات ژنوتیپی مجموع ۶۳۱ رأس بزهای غیر خویشاوند مربوط به نژادهای بیتال استفاده گردید. استخراج DNA توسط دانشگاه PMAS-Arid Agriculture پاکستان انجام شده بود. پس از اطمینان از کیفیت بالای DNA استخراج شده، نمونه‌ها با استفاده از آرایه‌های شرکت ایلومینا Caprine 50 K SNP Bead Chip برای ۵۳۳۴۷ جایگاه نشانگری تعیین ژنوتیپ شده بودند. داده‌های

انتخاب می‌تواند منجر به تغییر فراوانی یک آلل در جمعیت بشود در حالی که فراوانی آن در جمعیت‌هایی که تحت انتخاب نبوده‌اند بدون تغییر باقی می‌ماند. نتیجه این حالت ایجاد تفرق در بین جمعیت‌ها در این مناطق ژنومی است. بنابراین تفاوت به نسبت زیاد در فراوانی آلی بین جمعیت‌ها نیز می‌تواند به‌عنوان نشانه‌ای از انتخاب مثبت در جایگاه‌های ژنی مربوط به‌شمار آید (Chen et al., 2019).

اگر جهش به‌وجود آمده در سطح ژنوم باعث افزایش شایستگی افراد در جامعه شود، انتخاب باعث می‌شود تا افراد با شایستگی بالاتر هدف انتخاب مثبت قرار گرفته و سهم بالاتری در تشکیل نسل بعد داشته باشند. انتخاب‌های مثبت انجام شده روی یک آلل سودمند در طول ژنوم، باعث ایجاد نشانه‌هایی در سطح ژنوم می‌گردد. این نشانه‌ها عبارتند از ایجاد ساختارهای هاپلوتایی، افزایش عدم تعادل پیوستگی ژنی، کاهش مکانی تنوع ژنتیکی و انحراف از توزیع فراوانی آلی (Qanbari et al., 2014). متناسب با انواع نشانه‌های انتخاب به‌جا مانده روی ژنوم، ابزارها و روش‌های مختلفی برای شناسایی این نشانه‌ها ارائه شده است. البته با توجه به انتخاب‌های مصنوعی صورت گرفته بر روی ژنوم دام‌های اهلی در کنار انتخاب طبیعی و نیز عوامل مؤثری از قبیل اندازه‌ی مؤثر کوچک‌تر دام‌های اهلی و عدم تعادل پیوستگی ژنی بالاتر این گونه‌ها در مقایسه با انسان، این گونه‌ها نمونه مناسب‌تری برای شناسایی سیگنال‌های انتخاب در سطح ژنوم هستند (Rahimadad et al., 2021). شناسایی نشانه‌های انتخاب از سه دیدگاه مهم می‌باشند، اول اینکه این نشانه‌ها حاوی اطلاعات ارزشمندی در خصوص تکامل و مکانیسم‌های مؤثر بر تکامل را فراهم می‌کنند. دوم اینکه جایگاه‌های ژنی شناخته شده و تنوع ژنتیکی صفات کمی آشکار می‌شود. از طرفی دیگر اهلی‌سازی و انتخاب به‌شدت در ویژگی‌های ظاهری و رفتاری حیوانات اهلی امروزی تغییر ایجاد کرده است. در این مسیر، انتخاب‌های انجام شده توسط انسان نشانه‌های قابل شناسایی را در ژنوم دام‌های امروزی به‌جا گذاشته که آشکار نمودن این نشانه‌ها می‌تواند به اصلاح و بهبود ژنتیکی صفات مهم اقتصادی در این دام‌ها کمک کند (Fleming et al., 2019).

براساس مکانیسم عملکرد شناسایی نشانه‌های انتخاب، دسته‌بندی‌های مختلفی برای روش شناسایی وجود دارد. در حالت کلی می‌توان این روش‌ها را در ۵ دسته مجزا شامل آزمون‌های آماری بر پایه تمایز ژنومی جمعیت‌ها مانند F_{ST} ، FLK و hapFLK (Fariello et al., 2014)، آزمون‌های آماری مبتنی بر عدم تعادل پیوستگی و طول هاپلوتایی مانند XP-EHH، iHS و Rsb (Tang et al., 2007)، آزمون‌های آماری مبتنی بر توزیع فراوانی آلی، مانند آزمون‌های Fay and Wu's Tajima's D (Fay & Wu, 2000)، آزمون‌های آماری مبتنی بر کاهش مکانی تنوع ژنتیکی مانند آزمون ZHp (Rubin et al., 2010) و آزمون‌های آماری مبتنی بر جهش‌های تغییر دهنده عملکرد مانند $\omega = Dn/Ds$ (Nielsen et al., 2005) قرار داد.

آزمون آماری iHS یک روش جابجایی انتخاب مبتنی بر هاپلوتیپ است که براساس تخمین هموزیگوسیتی هاپلوتیپ

با فراوانی بالا و EHH بالا قابل تمایز هستند و به صورت (رابطه ۱) محاسبه می‌شود:

$$EHH = \frac{\sum_{i=1}^G \binom{n_i}{2}}{\binom{N}{2}} \quad (\text{رابطه ۱})$$

که در این معادله، G تعداد گروه‌های حامل یک هاپلوتیپ مرکزی بسط داده شده منحصر به فرد، n_i تعداد افراد داخل هر زیر گروه و N تعداد کل نمونه‌های حامل هاپلوتیپ مرکزی خاص می‌باشند.

آماره iHS نیز بر پایه‌ی روش EHH توسعه یافته است. روش iHS در شناسایی سیگنال‌هایی از انتخاب که هنوز تثبیت نشده‌اند مناسب هستند. این آماره مناطقی از ژنوم را شناسایی می‌کند که در مقایسه با کل ژنوم به صورت غیر طبیعی دارای عدم تعادل پیوستگی بالاتری می‌باشد. همچنین از مزایای دیگر آزمون آماری iHS زمانی که نمی‌توان به یک جمعیت مرجع مناسبی دسترسی داشته باشیم، نتایج به دست آمده از این آماره قابل اعتمادتر خواهد بود (Waineina et al., 2022; Guan et al., 2021)، با توجه به اینکه اکثر نژادهای بز عمدتاً به شکل غیر متمرکز پرورش داده می‌شوند، به نظر می‌رسد آزمون آماری iHS روش مناسبی برای مطالعات پویش ژنومی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب باشد.

در این روش انتگرال زیر منحنی EHH در تمام جایگاه‌های اطراف SNP مرکزی تا زمانی که EHH به ۰/۰۵ می‌رسد محاسبه و ارزش‌های به دست آمده برای آل‌های اجدادی و مشتق شده (غیر اجدادی) با هم مقایسه می‌شوند. این EHH انتگرال گیری شده در دو طرف آل مرکزی با هم جمع شده و بسته به اینکه مربوط به آل اجدادی یا مشتق شده باشند به ترتیب تحت عنوان iHH_A و iHH_D نامیده می‌شوند. سپس ارزش‌های iHS با استفاده از (رابطه ۲) استاندارد می‌شوند.

$$iHS = \frac{\ln\left(\frac{iHH_A}{iHH_D}\right) - E_{ps}[\ln\left(\frac{iHH_A}{iHH_D}\right)]}{SD_{ps}[\ln\left(\frac{iHH_A}{iHH_D}\right)]} \quad (\text{رابطه ۲})$$

در این فرمول iHH_A =هموزیگوسیتی هاپلوتیپ یکپارچه اجدادی، iHH_D = هموزیگوسیتی هاپلوتیپ یکپارچه مشتق شده، ps = فراوانی SNP مرکزی، SD = انحراف استاندارد، E = امید ریاضی می‌باشد.

برای محاسبه آماره iHS و تعیین جایگاه‌های مورد انتخاب از بسته نرم‌افزاری REHH (نسخه ۲/۰) در محیط R استفاده شد. جهت شناسایی بهتر نشانه‌های انتخاب، ارزش‌های عددی SNP ها به روش CW (Creeping Window) تا حداکثر طول ۱۰ SNP های مجاور میانگین گیری شد (Qanbari et al., 2012) و تنها ۰/۱ درصد مناطقی از ژنوم که در آن تمام انتخاب شناسایی و تعیین شدند. آستانه‌ی تعیین شده سختگیرانه بوده و فقط مناطقی از ژنوم که بیشترین تمایز جمعیتی را نشان می‌دهند، انتخاب شدند. این آستانه در مطالعات مختلف از ۰/۱ درصد (Waineina et al., 2022) تا ۱ درصد (Huang et al., 2024) متغیر بوده است. همچنین در این تحقیق برای ترسیم گراف منهن از بسته نرم‌افزاری ggplot2 در برنامه R (نسخه ۴/۲/۰) استفاده گردید.

مورد استفاده این پژوهش در پایگاه برخط figshare (https://figshare.com/articles/dataset/19668633) در دسترس می‌باشد.

نژاد مورد استفاده در پژوهش حاضر، یکی از نژادهای بز ممتاز کشور پاکستان از نظر صفات تولیدی و تولیدمثلی می‌باشد. به طوریکه این نژاد دارای تولید شیر بالا و عملکرد تولیدمثلی مطلوبی در سیستم‌های پرورشی صنعتی و نیمه صنعتی است (Moaeen-ud-Din et al., 2022). نژاد بز بیتال یک نژاد دو منظوره شیری-گوشتی است، از خصوصیات فوتوتیپی این نژاد می‌توان به گوش‌های بلند، دست و پاهای کشیده، قوسی بزرگ بر روی بینی و با جثه بزرگ اشاره نمود. منطقه اصلی پرورش بزهای نژاد بیتال در ایالت پنجاب بوده و دام‌های مورد استفاده در این تحقیق در سنین مختلف تا هفت سالگی بودند (Moaeen-ud-Din et al., 2022).

جهت اطمینان از کیفیت داده‌های تعیین ژنوتیپ مراحل مختلف کنترل کیفیت روی داده‌های اولیه تعیین ژنوتیپ شده قبل از آنالیزهای ژنومی انجام شد. برای فیلتراسیون داده‌های تعیین ژنوتیپ شده، ابتدا نمونه‌هایی که فراوانی نرخ تعیین ژنوتیپ آنها کمتر از ۹۰٪ بود، شناسایی و حذف شد. در مرحله بعد نشانگرهایی که حداقل فراوانی آللی در آنها کمتر از ۵٪ بود حذف شدند. سپس نشانگرهایی که نرخ تعیین ژنوتیپ آنها در نمونه‌ها کمتر از ۹۵٪ بود شناسایی و حذف شدند. در نهایت برای SNP های باقیمانده آنهایی که بر روی کروموزوم جنسی و یا در تعادل هاردی-واینبرگ قرار نداشتند کنار گذاشته شدند. بدین منظور سطح احتمال 10^{-6} در نظر گرفته شد. مراحل مختلف فیلتراسیون با استفاده از نرم‌افزار PLINK (v1.90; http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink) انجام شد (Purcell et al., 2007).

از مجموع ۵۳۳۴۷ نشانگر SNP به کار رفته در این تحقیق، ۳۶۸۶۱ نشانگر توانستند مراحل مختلف کنترل کیفیت را بگذرانند. به طور کلی ۳۹۶۳ نشانگر به دلیل حداقل فراوانی آللی کمتر از ۰/۰۵، ۱۳۴۲۲ نشانگر به دلیل نرخ تعیین ژنوتیپ کمتر از ۹۵٪ در هر نمونه، ۹۷۶۱ نشانگر به دلیل عدم تعادل هاردی واینبرگ و ۱۴۲۰ نشانگر با موقعیت ناشناخته و همچنین ۳۷ نمونه به دلیل فراوانی تعیین ژنوتیپ کمتر از ۹۰٪ حذف شدند.

ردیابی نشانه‌های انتخاب

در این پژوهش برای شناسایی نشانه‌های انتخاب مرتبط با صفات مهم اقتصادی در سطح ژنوم از آماره iHS استفاده شد. آماره iHS یک آماره مبتنی بر عدم تعادل پیوستگی و طول هاپلوتیپ است و مناطقی از ژنوم را که تحت انتخاب بوده را از طریق آل‌های با هموزیگوسیتی هاپلوتیپی بسط داده شده یا EHH با فراوانی بالا در داخل یک جمعیت را تشخیص می‌دهند و در شناسایی سیگنال‌هایی از انتخاب که هنوز تثبیت نشده‌اند مناسب هستند (Saravanan et al., 2021; Toro-Ospina et al., 2022).

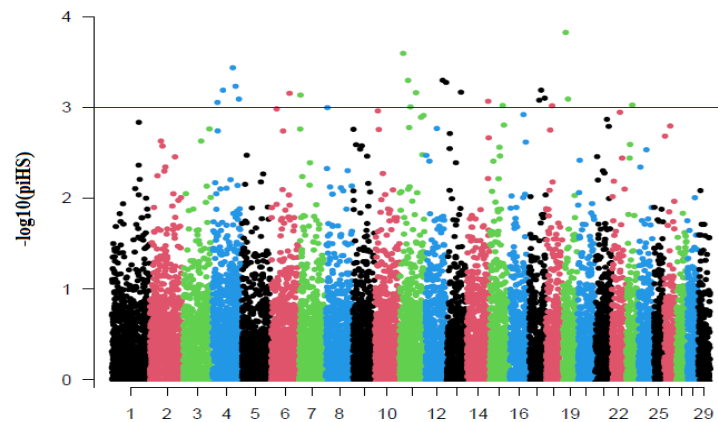
آزمون iHS

EHH بر پایه‌ی ارتباط بین فراوانی یک آل و LD اطراف آن استوار است. انتخاب در یک جایگاه ژنومی از طریق آل‌هایی

که کارائی مختلفی دارا می‌باشند. یکی از نرم‌افزارهای مفید و پر کاربرد در این زمینه نرم‌افزار برخط (DAVID) (<https://david.ncicrf.gov>) می‌باشد. این نرم‌افزار حاوی یک پایگاه اطلاعاتی گسترده مربوط به مراحل مختلف بیولوژیکی و همچنین کاربردهای متنوع به منظور درک مکانیسم‌های درگیر در یک مجموعه ژنی می‌باشد. و لذا در این مطالعه به‌منظور بررسی گروه‌های کارکردی مختلف که مجموعه ژن‌های شناسایی شده در آماره iHS از نرم‌افزار DAVID (نسخه ۶/۸) استفاده شد. تنها مسیرهای هستی‌شناسی که براساس ارزش P تصحیح شده در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار بودند در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

آماره iHS که مبتنی بر عدم تعادل پیوستگی و طول هاپلوتیپی می‌باشد، جهت شناسایی نواحی ژنومی تحت انتخاب مثبت مورد استفاده قرار گرفت. این روش مناطق ژنومی تحت انتخاب را به‌وسیله آلل‌های اجدادی و فازهای هاپلوتیپی تشخیص می‌دهد. جهت شناسایی بهتر سیگنال‌های انتخاب در سطح ژنوم به‌جای در نظر گرفتن ارزش عددی هر SNP، میانگین‌گیری ارزش‌های عددی SNP‌های مجاور به‌روش CW با طول ۱۰ SNP صورت گرفت و تنها ۰/۱ درصد مناطقی از ژنوم که در آن تمام نشانگرهای مجاور دارای ارزش بالایی باشند، به‌عنوان نشانه‌های انتخاب شناسایی و تعیین شدند (شکل ۱).



شکل ۱- توزیع ارزش‌های آماره iHS در سطح ژنومی جمعیت بزهای نژاد بیتال: با موقعیت کروموزومی SNP‌ها بر روی محور X و ارزش‌های iHS استاندارد شده آنها بر روی محور Y نمایش داده شده است. خط ترسیم شده نشان دهنده ۹۹/۹۹ صدک کروموزوم‌های اوتوزومی می‌باشد. Figure 1. Distribution of iHS statistic values in Beetal breed population: the SNP position on different chromosomes shown on the X-axis, and iHS values are plotted on the Y-axis. The values above the line are in the 99.9 percentile of autosomal chromosomes.

اقتصادی مرتبط باشند. در این بخش برخی از ژن‌ها که احتمالاً تحت انتخاب مثبت مرتبط با وزن بدن و رشد بوده‌اند مورد بحث و تحلیل قرار می‌گیرند. شماری از ژن‌ها در این بررسی به‌عنوان نشانه‌های انتخاب گزارش شده‌اند، با بررسی‌های پیشین همخوانی داشت (Boulefour et al., 2014; Denninger et al., 2015; Goodman et al., 2021).

ژن‌های *SPP1*، *IBSP* و *MEPE* که روی کروموزوم شماره ۶ در ناحیه ۳۷/۲۱ مگابازی واقع شده‌اند، یک کلاستر

برای بررسی ژن‌های گزارش شده در این مناطق و ۵۰۰ کیلو جفت‌باز اطراف آنها از پایگاه اطلاعاتی برخط Genes 111 BioMart Database Ensembl (www.ensembl.org/biomart) مورد بررسی قرار گرفت. برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های به‌دست آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی آنالین GeneCards (<http://www.genecards.org>) و UniProtKB (<http://www.uniprot.org>) استفاده شد.

با توجه به اینکه تفسیر عملکردی (Annotation) ژنوم بز هنوز تکمیل نشده است، پایگاه‌هایی که برای توصیف مکانیسم‌های بیوشیمیایی و شبکه ژنی و شناسایی QTL موجود هستند، گونه بز را قبول نمی‌کنند لذا از ژنوم گاو جهت بررسی اینکه مناطق ژنومی شناسایی شده حاوی ژن خاصی هستند، در مناطق ارتولوگوس ژنوم گاو با استفاده از جستجو در پایگاه اطلاعاتی آنالین Genes 111 BioMart Database Ensembl (www.ensembl.org/biomart) مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت برای بررسی اینکه آیا مناطق مورد نظر با QTL‌های شناسایی شده همپوشانی دارد یا خیر، از مرکز اطلاعاتی آنالین QTL (<http://i.animalgenome.org/jbrowse/>) مورد بررسی قرار گرفت.

به‌منظور شناسایی اینکه ژن‌های شناسایی شده در مرحله قبل در چه مراحل بیولوژیکی درگیر هستند، عمدتاً از آنالیز هستی‌شناسی (GO) استفاده می‌شود (Zhao et al., 2015). به‌منظور انجام آنالیز GO نرم‌افزارهای مختلفی ارائه شده است

مناطق ژنومی که iHS ارزش عددی بالاتر از ۳ را داشتند به‌ترتیب روی کروموزوم‌های ۴، ۶، ۷، ۱۱ (دو منطقه)، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۷ و ۱۸ بودند (شکل ۱). پس از شناسایی نواحی ژنومی تحت انتخاب، ژن‌های موجود در این مناطق شناسایی و عملکرد بیوشیمیایی آن‌ها بررسی شدند (جدول ۱). ژن‌های مشخص شده در جدول ۱ عملکردهای متفاوتی در رشد و توسعه عضلات اسکلتی، رشد استخوان و غضروف، فرآیند میوز و توسعه بافت داشتند که می‌توانند به‌طور مستقیم و غیرمستقیم با صفت مهم

است (Salehi et al., 2015). ژن *MEPE*، نقش کلیدی در صفات مرتبط با استخوان در گونه‌های مختلف شامل انسان، موش و گاو دارد (Zelenchuk et al., 2015). ژن *IBSP* در ساخت پروتئین‌های ساختاری در ترکیب ماتریکس خارج سلولی استخوان نقش داشته که در توسعه استخوان نقش کلیدی دارند (Boulefour et al., 2014).

ژن *TNPO2* روی کروموزوم شماره ۷ در ناحیه ۹۸/۱۶ گونه بز قرار دارد. ژن *TNPO2* نقش تنظیمی مثبت در رشد و توسعه عضلات دارد (Goodman et al., 2021). در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب در بزهای نژاد Youzhou Dark ژن کاندیدای *TNPO2* در ارتباط با صفات مورفولوژیکی گزارش شده است (Sun et al., 2023).

ژنی موجود در استخوان و غضروف می‌باشد که جزو فسفولیپید پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی (ECM) هستند و نقش اساسی در تشکیل فرم طبیعی استخوان در جنین در سن ۱۸۰ روزگی دارند که به‌طور مؤثری بر اندازه گوساله نقش دارند و به‌طور غیرمستقیم بر روی سخت‌زایی و یا مرده‌زایی معنی‌دار گزارش شده است (Olsen et al., 2010).

ژن *SPP1* که نام دیگر آن استئوپتین (OPN) می‌باشد و در فسفریله کردن گلیکوپروتئین‌ها و تشکیل استخوان در انسان و موش از طریق تفرق سلول‌های استئوبلاست نقش کلیدی دارد (Denninger et al., 2015). همچنین در مطالعه‌ای با هدف بررسی بین‌چندشکلی در ژن استئوپتین با صفات مرتبط با تولید شیر در گاوهای هلشتاین ایرانی، ارتباط معنی‌داری گزارش شده

جدول ۱- نواحی ژنومی تحت انتخاب و ژن‌های شناسایی شده در این مناطق ژنومی مرتبط با صفات مهم اقتصادی در بزهای نژاد بیتال
Table 1. Genomic regions containing selection signatures related to economic traits, and genes (QTL) reported in these genomic regions in Beetal goat breed

شماره کروموزوم Number of chromosomes	موقعیت ژنومی Genomic region	ژن‌های موجود در منطقه ژنومی Genes including in these region	منطقه ژنومی QTL reported in these region	کد دسترسی به مقاله (PubMed ID)
4	65827307-66827427	<i>CHUK, HHIP, PLEKHG5, FZD9, WNT8B, PIK3CD, MTF, ADCY1, LOC102170915, ADCY7, FGF2, MTOR, GLI3, NFKB2, IGF1R, CASP9, FGF8, EGR1, REEP2, LOC102187480, LOC102185830, HSPA9, ETF1, SPP1, MEPE, IBSP</i>	Body depth	21831322
6	37870902-38870902	<i>TNPO2, HHIP, SUFU, DVL1, FZD9, WNT8B, GLI3</i>	Carcass weight	22607022
7	12738981-13718981	<i>RCAN1, MIC1, TCF19, CCHCR1, TBPL2, VARS2, PPP1R18</i>	Body height	29459679
11	830081-1854181	<i>H6PD, MDH2, IDH2, OGDH, MTHFR, ENO1, PGD, GCK</i>	-	-
13	37411655-38465754	<i>EGR1, SDCBP, CRT3, CHUK, FZD9, WNT8B, PIK3CD, ADCY1, ADCY7, IL2, NFKB2, CDC23, POLD2, DVL1</i>	Body depth	21831322
14	24638895-25538895	<i>NPY, PIK3CD, ADCY1, PLIN1, ADCY7, UCP2, UCP3</i>	Carcass weight	24116007
15	53374582-54284582	<i>CAMK2B, TRPC3, RIMS2, ADCY1, ADCY7, GCK, STX1A</i>	Rump width	21831322
17	35328366-35878366	<i>PCGF6, DVL1, FZD9, WNT8B, PIK3CD, INHBA, FGF2, TMEM208, FHOD1, SLC9A5</i>	Body weight	19966163
18	36221802-37216802		-	-

مورسیا-گرانادینا با استفاده از آماره χ^2 ژن *TRPC3* را گزارش کردند (Guan et al., 2016).

ژن *FBP1* که در این پژوهش با منطقه تحت انتخاب روی کروموزوم شماره چهار همپوشانی دارند، نقش کلیدی در چرخه پنتوز فسفات و چرخه کربس داشته و به‌عنوان کاتالیز آنزیم تبدیل فروکتوز ۱ و ۶-فسفات به فروکتوز ۶-فسفات می‌باشند. علاوه بر این در هموستازی گلوکز، تنظیم گلوکوکورتیزون و ایزوزیم عضله نقش دارند و نقص در این آنزیم‌ها باعث محدود شدن افزایش وزن می‌شود (GeneCards). این ژن در فرآیندهای بیولوژیکی در متابولیسم قندهای فروکتوز و بیوستتزر ساکارز نقش دارند. ژن *FBP1* فرم کبدی آنزیم ۱ و ۶ فسفاتاز است (UniProtKB Gene). نقش این ژن در ارتباط با عضله‌های اسکلتی و غدد پستانی معنی‌دار گزارش شده است (Weikard et al., 2012).

بررسی QTL‌های شناسایی شده در مناطق ژنومی مورد نظر نشان داد که بر روی کروموزوم‌های ۴، ۶، ۷، ۱۵ و ۱۷ QTL‌های گزارش شده مرتبط با صفات مهم اقتصادی از جمله افزایش وزن روزانه، وزن لاشه گرم و صفات بیومتری شامل عمق بدن و عرض کپل بود (جدول ۱). ژن‌های شناسایی شده برای تعیین مسیرهای زیستی و درک بهتر عملکردهای

ژن *SDCBP*، که بر روی کروموزوم شماره ۱۴ در ناحیه ۵۷/۳۱ مگابازی گونه بز واقع شده است در مورفولوژی و توسعه بافت نقش دارد (GeneCards) به‌طوریکه در فرآیندهای بیولوژیکی نقش تنظیمی مثبت در رشد سلول دارد (UniProtKB). ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی در ژن *SDCBP* با وزن لاشه گرم در گاوهای گوشتی هانفو گزارش شده است (Lee et al., 2013). ژن‌های *UCP2* و *UCP3* روی کروموزوم شماره ۱۵ به‌ترتیب در ناحیه ۳۶/۷۵ و ۳۶/۴۴ مگاجفت بازی واقع شده‌اند، که نقش مؤثری در تنظیم رشد سلولی و اتصالات سلولی دارند (GeneCards). در مطالعه‌ای با هدف بررسی چندشکلی‌های موجود در ژن‌های کاندیدای *UCP2* و *UCP3* با صفات بیومتری در گاوهای Qinchuan، ارتباط معنی‌داری بین ژن‌های کاندیدای *UCP2* و *UCP3* با اندازه بدن گزارش شده است (Wang et al., 2016).

ژن *TRPC3* که بر روی کروموزوم ۱۷ در ناحیه ۳۵/۲۹ مگا جفت‌بازی گونه بز قرار دارد، نقش مؤثری در ارتباط با تنظیم میزان خوراک مصرفی، متابولیسم لیپید و همچنین جذب و هضم ویتامین‌ها در بدن دارد (GeneCards). در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب در بزهای نژاد

به‌دست آمده را برای مطالعات اصلاحی (انتخاب در جهت کاهش یا افزایش بیان و فراوانی ژن‌های مهم) به کار برد. البته به‌دلیل اطلاعات ناقص مربوط به عملکرد ژن‌ها در گونه بز و همچنین کوچک بودن جمعیت مورد استفاده در این مطالعه، مطالعات گسترده‌تر با تعداد نمونه‌های بیشتر و تجزیه و تحلیل چند جمعیت جداگانه، ادغام داده‌های تحقیقات مشابه جدید و استفاده از آنالیزهای آماری جامع‌تر درک بهتری از ژن‌های کاندید برای صفات رشد در جمعیت بز ایجاد خواهد کرد. با توجه به اهمیت پرورش بز در ایران و جهان افزایش اطلاعات در این زمینه تأثیر مناسبی بر طراحی برنامه‌های اصلاح نژادی و افزایش بهره‌وری جمعیت بزهای کشور خواهد داشت. در مجموع، نتایج این تحقیق می‌تواند منابع اطلاعاتی با ارزشی در جهت شناسایی ژن‌های متمایز کننده و شناسایی نواحی ژنومی کاندید برای بسیاری از صفات مهم اقتصادی فراهم آورد. همچنین از اطلاعات این تحقیق می‌توان در تحقیقات مرتبط با انتخاب ژنومی، طراحی سیستم‌های آمیزشی و مطالعات تکمیلی استفاده نمود.

مولکولی در پایگاه برخط DAVID مورد تجزیه هستی‌شناسی قرار گرفتند. در این پژوهش، مسیرهای زیستی و بیوشیمیایی KEGG، ژن‌هایی که با آستانه $P < 0.05$ معنی‌دار شدند، انتخاب شدند. تعداد ۹ دسته عملکردی در هستی‌شناسی فرآیندهای زیستی با آماره iHS معنی‌دار شدند. فرآیندهای skeletal positive regulation of و system development glycoprotein biosynthetic process با آماره iHS دارای بیشترین ارتباط با صفت مورد مطالعه بودند (جدول ۲).

با توجه به عملکرد بیولوژیکی ژن‌های کاندیدا و مسیرهای مهم هستی‌شناسی شناسایی شده مرتبط با صفات مهم اقتصادی در این پژوهش، به‌نظر می‌رسد این ژن‌ها در بروز فنوتیپی صفات رشد بدن در سنین مختلف نقش ایفا می‌کنند، در نتیجه می‌توان کارایی آزمون آماری iHS برای شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب مثبت صفات رشد بدن را نیز مورد تأیید قرار داد. همچنین با بررسی چند شکلی موجود در ژن‌های کاندیدی شناسایی شده مرتبط با صفات رشد بدن از طریق مطالعات آزمایشگاهی در نژادهای بز بومی می‌توان نتایج

جدول ۲- تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی معنی‌داری ($p < 0.05$) مرتبط با صفات مهم اقتصادی با استفاده از آماره iHS
Table 2. Gene set enrichment analysis significantly ($P < 0.05$) associated with economic traits using iHS method

ارزش P	تعداد ژن‌های موجود در مسیر	نام مسیر	ID مسیر
P-value	Number of genes in pathway	Pathway name	ID Pathway
0.008	18	cellular metabolic process	GO:0044237
0.004	14	skeletal system development	GO:0001501
0.024	11	calcium channel complex	GO:0034704
0.002	9	single-organism metabolic process	GO:0044710
0.017	7	cell growth	GO:0016049
0.021	12	positive regulation of glycoprotein biosynthetic process	GO:1903706
0.006	9	insulin-like growth factor receptor signaling pathway	GO:0048009
			KEGG_PATHWAY
0.006	8	Vitamin B6 metabolism	bta00750
0.004	14	Glucagon signaling pathway	bta04922
0.009	19	AMPK signaling pathway	bta04152

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع نتایج این تحقیق می‌تواند منبع اطلاعاتی با ارزشی در جهت شناسایی ژن‌های مرتبط با افزایش وزن بدن ارائه دهد و آغازی برای بررسی‌های بیشتر در این زمینه و استفاده از اطلاعات به‌دست آمده در شناسایی ویژگی‌های ژنتیکی این صفت مهم اقتصادی در صنعت پرورش بز باشد.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

در این مطالعه برای شناسایی نشانه‌های انتخاب مثبت از آماره iHS استفاده شد و نشانه‌های انتخاب در بخش‌هایی از ژنوم شناسایی شد که برخی از این مناطق در بررسی‌های پیشین در بز و دام‌های اهلی دیگر نیز تأیید شده بودند. بررسی ژن‌ها در نواحی تحت انتخاب نشان داد، ژن‌های موجود در این مناطق با رشد و توسعه عضلات اسکلتی، رشد و توسعه سیستم استخوانی، متابولیسم چربی و هموستازی گلوکز مرتبط هستند.

References

- Abo-Ismael, M. K., Vander Voort, G., Squires, J. J., Swanson, K. C., Mandell, I. B., Liao, X., ... & Miller, S. P. (2014). Single nucleotide polymorphisms for feed efficiency and performance in crossbred beef cattle. *BMC Genetics*, 15, 1-14.
- Boulefour, W., Boudiffa, M., Wade-Gueye, N. M., Bouet, G., Cardelli, M., Laroche, N., ... & Malaval, L. (2014). Skeletal development of mice lacking bone sialoprotein (BSP)-Impairment of long bone growth and progressive establishment of high trabecular bone mass. *PloS One*, 9(5), e95144.
- Cendron, F., Perini, F., Mastrangelo, S., Tolone, M., Criscione, A., Bordonaro, S., ... & Cassandro, M. (2020). Genome-wide SNP analysis reveals the population structure and the conservation status of 23 Italian chicken breeds. *Animals*, 10(8), 1441.
- Chen, L., Wang, X., Cheng, D., Chen, K., Fan, Y., Wu, G., ... & Ren, J. (2019). Population genetic analyses of seven Chinese indigenous chicken breeds in a context of global breeds. *Animal Genetics*, 50(1), 82-86.
- Cheruiyot, E. K., Bett, R. C., Amimo, J. O., Zhang, Y., Mrode, R., & Mujibi, F. D. (2018). Signatures of selection in admixed dairy cattle in Tanzania. *Frontiers in Genetics*, 9, 607.
- Denninger, K. C., Litman, T., Marstrand, T., Moller, K., Svensson, L., Labuda, T., & Andersson, Å. (2015). Kinetics of gene expression and bone remodelling in the clinical phase of collagen-induced arthritis. *Arthritis Research & Therapy*, 17, 1-18.

- Fariello, M. I., Servin, B., Tosser-Klopp, G., Rupp, R., Moreno, C., International Sheep Genomics Consortium, ... & Boitard, S. (2014). Selection signatures in worldwide sheep populations. *PLoS One*, 9(8), e103813.
- Fay, J. C., & Wu, C. I. (2000). Hitchhiking under positive Darwinian selection. *Genetics*, 155(3), 1405-1413.
- Fleming, D. S., Weigend, S., Simianer, H., Weigend, A., Rothschild, M., Schmidt, C., ... & Lamont, S. J. (2017). Genomic comparison of indigenous African and Northern European chickens reveals putative mechanisms of stress tolerance related to environmental selection pressure. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 7(5), 1525-1537.
- Goodman, L. D., Cope, H., Nil, Z., Ravenscroft, T. A., Charng, W. L., Lu, S., ... & Tan, Q. K. G. (2021). TNPO2 variants associate with human developmental delays, neurologic deficits, and dysmorphic features and alter TNPO2 activity in *Drosophila*. *The American Journal of Human Genetics*, 108(9), 1669-1691.
- Guan, D., Martínez, A., Luigi-Sierra, M. G., Delgado, J. V., Landi, V., Castelló, A., ... & Amills, M. (2021). Detecting the footprint of selection on the genomes of Murciano-Granadina goats. *Animal Genetics*, 52(5), 683-693.
- Ghoreishifar, S. M., Eriksson, S., Johansson, A. M., Khansefid, M., Moghaddaszadeh-Ahrabi, S., Parna, N., ... & Javanmard, A. (2020). Signatures of selection reveal candidate genes involved in economic traits and cold acclimation in five Swedish cattle breeds. *Genetics Selection Evolution*, 52, 1-15.
- Huang C., Zhao Q., Chen Q., Su Y., Ma Y., Ye S. & Zhao, Q. (2024). Runs of Homozygosity Detection and Selection Signature Analysis for Local Goat Breeds in Yunnan, China. *Genes*, 15, 31.
- Jahuey-Martínez F.J., Parra-Bracamonte G.M., Sifuentes-Rincón A.M. & Moreno-Medina V.R. (2019). Signatures of selection in Charolais beef cattle identified by genome-wide analysis. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 136(5), 378-389.
- 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.
- Maiorano, A. M., Lourenco, D. L., Tsuruta, S., Ospina, A. M. T., Stafuzza, N. B., Masuda, Y., ... & Silva, J. A. I. D. V. (2018). Assessing genetic architecture and signatures of selection of dual purpose Gir cattle populations using genomic information. *PLoS One*, 13(8), e0200694.
- Moaeen-ud-Din, M., Danish Muner, R., & Khan, M. S. (2022). Genome wide association study identifies novel candidate genes for growth and body conformation traits in goats. *Scientific Reports*, 12(1), 9891.
- Nielsen, R., & Yang, Z. (1998). Likelihood models for detecting positively selected amino acid sites and applications to the HIV-1 envelope gene. *Genetics*, 148(3), 929-936.
- Nielsen, R., Williamson, S., Kim, Y., Hubisz, M. J., Clark, A. G., & Bustamante, C. (2005). Genomic scans for selective sweeps using SNP data. *Genome Research*, 15(11), 1566-1575.
- Olsen, H. G., Hayes, B. J., Kent, M. P., Nome, T., Svendsen, M., & Lien, S. (2010). A genome wide association study for QTL affecting direct and maternal effects of stillbirth and dystocia in cattle. *Animal Genetics*, 41(3), 273-280.
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A., Bender, D., ... & Sham, P. C. (2007). PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American Journal of Human Genetics*, 81(3), 559-575.
- Qanbari, S., Pausch, H., Jansen, S., Somel, M., Strom, T. M., Fries, R., ... & Simianer, H. (2014). Classic selective sweeps revealed by massive sequencing in cattle. *PLoS Genetics*, 10(2), e1004148.
- Rahimmadar, S., Ghaffari, M., Mokhber, M. & Williams, J. L. (2021). Linkage disequilibrium and effective population size of buffalo populations of Iran, Turkey, Pakistan, and Egypt using a medium density SNP array. *Frontiers in Genetics*, 12, 608186.
- Saravanan, K.A., Panigrahi, M., Kumar, H., Parida, S., Bhushan, B., Gaur, G.K., Dutt, T., Mishra, B.P. & Singh, R.K. (2021). Genomic scans for selection signatures revealed candidate genes for adaptation and production traits in a variety of cattle breeds. *Genomics*, 113(3), 955-963.
- Salehi, A., Nasiri, K., Aminafshar, M., Sayaadnejad, M.B. & Sobhani, R. (2015). The Association of Bovine Osteopontin (OPN) Gene with Milk Production Traits in Iranian Holstein Bulls. *Iranian Journal of Biotechnology*, (1), 43-48.
- Silva, D.B.S., Fonseca, L.F.S., Pinheiro, D.G., Magalhães, A.F.B., Muniz, M.M.M., Ferro, J.A., Baldi, F., Chardulo, L.A.L., Schnabel, R.D. & Taylor, J.F. (2020). Spliced Genes in Muscle from Nelore Cattle and Their Association with Carcass and Meat Quality. *Scientific Reports*, 10, 14701.
- Sun, X., Niu, Q., Jiang, J., Wang, G., Zhou, P., Li, J., Chen, C., Liu, L., Xu, L. & Ren, H. (2023). Identifying Candidate Genes for Litter Size and Three Morphological Traits in Youzhou Dark Goats Based on Genome-Wide SNP Markers. *Genes*, 14, 1183.
- 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, e171.

- Toro-Ospina, A.M., Herrera Rios, A.C., Bizarria Santos, W., Pimenta Schettini, G. & Vallejo Aristizabal, V.H. (2022). Genetic Architecture and Signatures of Selection in the Caqueteño Creole (Colombian Native Cattle). *Diversity*, 14, 828.
- Waineina, R.W., Okeno, T.O., Ilatsia, E.D. & Ngeno, K. (2022). Selection Signature Analyses Revealed Genes Associated With Adaptation, Production, and Reproduction in Selected Goat Breeds in Kenya. *Frontiers in Genetics*, 13, 858923.
- Voight, B.F., Kudaravalli, S., Wen X. & Pritchard, J.K. (2006). A map of recent positive selection in the human genome. *PLoS Biology*, 4, e72.