Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Research on Animal Production, Vol. 17, Issue 1, 2026 p: 13-23

OPEN ACCESS

Research Paper

Analysis of Epistatic Effects on the Genetics of Fat-tail Formation in Sheep

Mona Chaabi[1], Jamal Fayazi[2], Hedayatolah Roshanfekr[3], Mahmod Nazari[4] and Mohammad Hosein Moradi[5]

1- M.Sc., Agricultural Seiences and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran
2- Professor, Agricultural Seiences and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran, (Corresponding author: j_fayazi@asnrukh.ac.ir)
3- Professor, Agricultural Seiences and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran
4- Associate Professor, Agricultural Seiences and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran
5- Associate Professor, Department of Animal Science, University of Tehran, Karaj, Iran

Received: 5 July, 2025 Revised: 10 September, 2025 Accepted: 12 October, 2025

Extended Abstract

Background: Fat Tail comprises 20% of the carcass weight, which greatly reduces the economic value of the carcass, so sheep breeders should investigate the mechanisms that genetically control fat development, in order to design sheep breeding programs to reduce tail size. Fat storage in the tail is one of the issues raised in our country and many developing countries. In recent years, various researches have been conducted in the field of crossbreeding between tailless and tailless breeds to investigate how these traits are inherited in different places. However, the investigation of these researches has generally been associated with conflicting results, so the genomic region or regions affecting this trait is still unknown. Therefore, identifying genes or genomic regions related to fat storage is one of the most important and challenging research areas in many countries that breed these breeds. Methods such as genome study and gene expression analysis have been used to describe the potential genetic background of fat deposition in sheep. Epistatic studies are interesting for researchers because they play a key role in understanding the functional relationship of genes. Over the past few decades, GWAS have provided a central role in the field of epistasis. In GWAS analysis, SNPs are first tested by a standard statistical method, and by that they determine the relationship between the SNP and the phenotype. It is this type of analysis that is widely used, but it is not as responsive as expected and in fact it identifies a small part of the genetic variance and does not indicate the remaining part or in other words the lost heritability. It is generally accepted that lost heritability is partly due to a variety of genetic effects and their interaction with one or more other factors. According to the conducted researches, many researches have been done on GWAS, but GWAS studies on the tail are limited, and considering the importance of epistasis effects, there is no place to investigate them through chip snaps, and many questions remain in this matter. Therefore, this research is designed to investigate and answer these questions.

Methods: About 3000 data including different types of sheep were prepared from the Sheep Hap Map database after writing a letter and obtaining permission. The samples were genotyped using llumina50K chips. Data editing was done in terms of frequencies, genotypes, Hardy-Weinberg equilibrium and Maf. Breeds were examined in terms of tail formation and tail type and phenotype was determined. By using PLINK software, it was started to find the relationship between the effective snips and the tail formation phenotype. A P-value was determined for each of the snaps and a Manhattan diagram was drawn using R. According to the results, PCA analysis was done. Epistasis effects were estimated using PLINK. The physical locations of the snaps were determined to confirm the chromosomes. Gene detection and function analysis and genomic and bioinformatics comparisons were performed using the latest genomic information from databases. Finally, the mutual effects between genes and SNPs affecting tail (epistasis effects) were investigated.

Results: Effective loci and their epistasis effects were investigated in 19 breeds and 806 animals. Extensive genome scanning was done to find the gene loci and their epistasis by logistic regression method and with the help of Plink program. The Manhattan diagram was drawn with the help of R program and the effective genes were determined based on the GWAS result in Ensemble database. The results showed that 8 snaps in chromosomes 1, 2, 3, 6, 10, 15, and 18 are

Copyright ©2026 Chaabi et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License which allows users to read, copy, distribute and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited properly.

effective on tailiness. A total of 23 genes were found in 500 thousand bases upstream and downstream of effective snips. Gene network drawn using TCHHL, S100A10, LCE3D, C1orf6, NR1H4, U6, SLC17A8 ANO4, SCYL2, ACRT6, CCSER1 MED4, ITM2B RB1, LPAR6, RCBTB2, GPC6 ALKBH3, MIR129-2, C11orf96, TTC17, ACCS genes. and EXT2 from He did not have good wealth. Therefore, little biological interactions can be reported. But in the statistical epistasis section, many interaction effects were seen. Among the effective snips, the snip on S08620.1 of chromosome 2 has the greatest epistasis effect with other sheep genomic loci.
Conclusion: According to the importance of the loci affecting the tail fat deposition, there is a relationship between their genomic locations. According to the results of this research, it can be said that the tail formation process is influenced by genomic loci and epistasis effects. In this research, using population structure analysis by GWAS, 23 genes and nearly 4000 interactions were identified. NR1H4, EXT2, ANO4, and SLC17A8 are among the effective genes. The gene network of effector genes showed few biological interactions. But in statistical epistasis, many mutual effects were observed. 7 effective snips were identified on a number of chromosomes, the most interactions were observed on snip S08620.1 of chromosome number 2. As a result, the most epistasis interactions on the snips of chromosome number 2 are related to 1841 snips on other chromosomes. After chromosome number 2, chromosome 1 and 18 showed the most epistasis effects.

Keywords: Epistasis, Gene network, GWAS, Sheep fat-tail, SNP

How to Cite This Article: Chaabi, M., Fayazi, J., Roshanfekr, H.A., Nazari, M., & Moradi, M.H. (2026). Analysis of Epistatic Effects on the Genetics of Fat-tail Formation in Sheep. *Res Anim Prod,* 17(1), 13-23. DOI: 10.61882/rap.2026.1514

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مقاله پژوهشی

تحلیل اثرات اپیستازی بر ژنتیک تشکیل دنبه در گوسفند

منا چعبی[۱]، جمال فیاضی[۲]، هدایت‌اله روشنفکر[۳]، محمود نظری[۴] و محمدحسین مرادی[۵]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد، گروه علوم دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران
۲- استاد، گروه علوم دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران، (نویسنده مسوول: j_fayazi@asnrukh.ac.ir)
۳- استاد، گروه علوم دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران
۴- دانشیار، گروه علوم دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران
۵- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۱۴ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۶/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۲۰
صفحه: ۱۳ تا ۲۳

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: دنبه ۲۰٪ وزن لاشه را شامل می‌شود که ارزش اقتصادی لاشه را به شدت کاهش می‌دهد بنابراین اصلاح‌کنندگان گوسفند باید مکانیسم‌هایی که به طور ژنتیکی توسعه چربی را کنترل می‌کنند بررسی کرده، تا بتوانند برنامه‌های پرورش گوسفند را برای کاهش اندازه دنبه طراحی کنند. ذخیره چربی در دنبه یکی از مسائل مطرح در کشور ما و بسیاری از کشورهای در حال توسعه می باشد، در طی سالیان اخیر تحقیقات مختلفی در زمینه آمیخته‌گری بین نژادهای دنبه‌دار و بی‌دنبه به بررسی چگونگی توارث این صفات در نقاط مختلف انجام شده است. اما بررسی این تحقیقات عموما با نتایج متناقضی همراه بوده، لذا منطقه یا مناطق ژنومی موثر بر این صفت همچنان ناشناخته باقیمانده است. بنابراین شناسایی ژن‌ها یا مناطق ژنومی مرتبط با ذخیره چربی از مهمترین و چالش‌برانگیزترین حوزه‌های تحقیقاتی در بسیاری از کشورهای پرورش‌دهنده این نژادها محسوب می‌شود. روش‌هایی مانند مطالعه ژنوم وتجزیه و تحلیل بیان ژن برای توصیف زمینه ژنتیکی بلقوه رسوب چربی در گوسفندان دنبه‌دار استفاده شده است. مطالعات اپیستاتیک از آنجا که نقش کلیدی در درک ارتباط عملکردی ژن‌ها دارند، برای محققان جالب هستند. در طول چند ده گذشته GWAS نقش اصلی را در زمینه اپیستازی فراهم کرده است. در تجزیه و تحلیل GWAS ابتدا SNPها به وسیله یک روش استاندارد آماری آزمایش می‌شوند و به وسیله آن ارتباط بین اسنیپ و فنوتیپ را مشخص می‌کنند. این نوع تجزیه و تحلیل‌هاست که به صوررت گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما آنطور که انتظار می‌رود پاسخگو نمی‌باشد و در واقع بخش کوچکی از واریانس ژنتیکی را مشخص می‌کند و به قسمت باقیمانده یا به عبارت دیگر وراثت‌پذیری از دست رفته اشاره نمی‌کند. معمولا پذیرفته شده است که وراثت‌پذیری از دست رفته تا حدودی به دلیل انواع اثرات ژنتیکی و تعامل آن‌ها بایک یا چند عامل دیگراست. با توجه به پژوهش‌های انجام شده تحقیقات زیادی در مورد GWAS صورت گرفته است اما مطالعات GWAS بر روی دنبه محدود می‌باشد، و نیز با توجه به اهمیت اثرات اپیستازی جای بررسی آن‌ها از طریق چیپ اسنیپ‌ها خالی است و سوالات زیادی در این مورد باقی مانده است. لذا این پژوهش برای بررسی و پاسخ به این سوالات طراحی شده است.

مواد و روش‌ها: حدود ۳۰۰۰ داده شامل انواع مختلف گوسفند پس از نامه‌نگاری و کسب مجوز از بانک داده Sheep Hap Map تهیه شدند. نمونه‌ها با استفاده از تراشه‌های llumina50K تعیین ژنوتایپ شدند. ویرایش داده‌ها از نظر فراوانی‌ها، ژنوتیپ‌ها، تعادل هاردی‌واینبرگ و Maf انجام شد. نژادها از نظر تشکیل دنبه و نوع دنبه مورد بررسی قرار گرفته و تعیین فنوتیپ شدند. با استفاده از نرم افزار PLINK شروع به یافتن ارتباط بین اسنیپ‌های موثر با فنوتیپ تشکیل دنبه شد. برای هر کدام از اسنیپ‌ها یک P-value مشخص شد و با استفاده از R نمودار منهتن رسم گردید. با توجه به نتایج به دست آماده آنالیز PCA انجام شد. با استفاده از PLINK اقدام به برآورد اثرات اپیستازی شد. مکان‌های فیزیکی اسنیپ‌ها برای تائید کروموزم‌ها مشخص شد. تشخیص ژن‌ها و تجزیه و تحلیل عملکرد و مقایسه‌های ژنومیک و بیوانفورماتیک با استفاده از آخرین اطلاعات ژنومی پایگاه‌های داده‌ای انجام شد. در آخر اثرات متقابل بین ژن‌ها و SNPهای موثر بر دنبه (اثرات اپیستازی) مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: لوکوس‌های موثر و اثرات اپیستازی آن‌ها به طبع ژن‌های موثر در ۱۹ نژاد و ۸۰۶ دام مورد بررسی قرار گرفتند. پویش گسترده ژنوم برای یافتن جایگاه‌های ژنی و اپیستازی آن‌ها به روش رگرسیون لجستیک و به کمک برنامه Plink انجام شد. نمودار منهتن به کمک برنامه R رسم و ژن‌های موثر براساس نتیجه GWAS ، درپایگاه انسمبل تعیین شدند. نتایج نشان داد ۸ اسنیپ در کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ۶، ۱۰، ۱۵و ۱۸ بر دنبه دار بودن موثراند. در مجموع ۲۳ ژن در ۵۰۰ هزار باز در بالا دست و پایین دست اسنیپ‌های موثر یافت شدند. شبکه ژنی ترسیم شده به کمک ژن‌های TCHHL، S100A10، LCE3D، C1orf6، NR1H4، U6، ANO4 SLC17A8، SCYL2، ACRT6، CCSER1 MED4، ITM2B RB1، LPAR6، RCBTB2، GPC6 ALKBH3، MIR129-2، C11orf96، TTC17، ACCS و EXT2 از غنای خوبی برخوردار نبود. لذا اثرات متقابل بیولوژیکی کمی قابل گزارش است. اما در بخش اپیستازی آماری، اثرات متقابل زیادی دیده شد. از بین اسنیپ‌های موثر اسنیپ روی S08620.1 کروموزوم ۲ بیشترین اثر اپیستازی را با سایر لوکوس‌های ژنومی گوسفند داشته است.

نتیجه‌گیری: با توجه به اهمیت لوکوس‌های موثر بر رسوب چربی دنبه بین جایگاه‌های ژنومی آن‌ها ارتباط وجود دارد. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان گفت فرایند تشکیل دنبه تحت تاثیر جایگاه‌های ژنومی و اثرات اپیستازی می‌باشد. در این پژوهش با استفاده از تجزیه و تحلیل ساختار جمعیت بوسیله GWAS، ۲۳ ژن و نزدیک به ۴۰۰۰ اینترکشن شناسایی شدند. از ژن‌های موثر می‌توان به NR1H4، EXT2، ANO4 و SLC17A8 اشاره نمود. شبکه ژنی ژن‌های موثر اثرات متقابل بیولوژیکی کمی را نشان دادند. ولی در اپیستازی آماری اثرات متقابل زیادی مشاهده شدند. ۷ اسنیپ موثر بر روی تعدادی از کروموزوم‌ها شناسایی شدند، که بیشترین اینترکشن‌ها برروی اسنیپ S08620.1 کروموزوم شماره ۲ مشاهده شدند. در نتیجه بیشترین تعاملات اپیستازی بر روی اسنیپ‌های کروموزوم شماره ۲ با ۱۸۴۱ اسنیپ بر روی دیگر کروموزوم‌های در ارتباط می‌باشند. بعد از کروموزوم شماره ۲،کروموزوم ۱ و ۱۸بیشترین اثرات اپیستازی را نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: گسترده ژنوم، اسنیپ، شبکه ژنی، اپیستازی، دنبه گوسفند

مقدمه

گوسفند به‌عنوان اولین نشخوارکننده اهلی شناخته می‌شود. اعتقاد بر این است که گوسفندان در ۹۰۰۰ تا ۱۱۰۰۰ سال پیش (پایان دوره میانسنگی) برای استفاده از گوشت، پشم، شیر و سایر محصولات انتخاب می‌شدند (Moradi *et al.,* 2012). بیش از ۱۴۰۰ نژاد ثبت‌شده از انواع گوسفند با مرفولوژی متمایز خود در نتیجه واکنش‌های تکاملی به طیف گسترده‌ای از محیط‌های جغرافیایی و اجتماعی از این جمعیت، توسعه یافته‌اند (Bakhtiarizadeh *et al*., 2019). یکی از تغییرات اصلی مرفولوژیکی، تغییر اندازه و شکل دنبه بین نژادهای مختلف است. گوسفندان دنبه‌دار در اصل از نژادهای دارای دم (پس از اهلی شدن جد وحشی دارای دم) منشعب شده‌اند که نیاز به ذخیره انرژی حیاتی را در محیط‌های سخت نشان می‌دهد. با این حال، امروزه فنوتیپ دنبه دیگر مزایای گذشته خود را حفظ نکرده است و کاهش اندازه آن به یک هدف مهم برای تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان تبدیل شده است. این امر به این دلیل است که ذخیره چربی هزینه بیشتری نسبت به تجمع بافت بدون چربی به همراه دارد. جالب است که در برخی نژادها، دنبه تا ۲۰٪ از وزن لاشه را تشکیل می‌دهد که به شدت بر ارزش اقتصادی آن تأثیر می‌گذارد. از این رو، اصلاح‌کنندگان گوسفند باید به بررسی مکانیسم‌های ژنتیکی کنترل‌کننده توسعه چربی دنبه بپردازند تا بتوانند برنامه‌های پرورشی مؤثری را برای کاهش اندازه آن طراحی کنند. روش‌هایی مانند مطالعه ژنوم و تجزیه و تحلیل بیان ژن به عنوان ابزارهایی کارآمد برای درک زمینه ژنتیکی رسوب چربی در انواع گوسفندان دنبه‌دار به کار گرفته می‌شوند. این تلاش‌ها می‌توانند به بهبود کیفیت و بهره‌وری در صنعت دامپروری کمک شایانی کنند. به عنوان مثال، توالی‌یابی‌های RNA امکان کشف تنوع ژنتیکی را فراهم کرده‌اند که ممکن است زمینه‌ساز تفاوت‌های مختلف فنوتیپی در شناسایی تنوع ژنتیکی برای توصیف فنوتیپ‌های مختلف دنبه در گوسفند باشد (Bakhtiarizadeh *et al*., 2019). کشف مکانیسم وراثت دنبه مهمترین امر در کنترل آن است. تلاش‌های متعددی با هدف شناسایی ژن‌ها یا مناطق ژنومی مرتبط با فنوتیپ دنبه از طریق کاوش‌های ژنوم انجام شده‌اند. با این حال نتایج، این مطالعات بحث‌برانگیز است. به نظر می‌رسد که گوسفندان دنبه‌دار دارای منبع یکسانی هستند؛ بنابر این، انتظار می‌رود که پایه ژنتیکی مشابهی در زمینه این ویژگی داشته باشند. در مطالعات پویش ژنومی برای دنبه، ابتدا جمعیت گوسفند در مناطق محدود مورد بررسی قرار می‌گیرد و سپس مطالعات بیشتر بر روی جایگاه‌های ژنومی شناسایی‌شده اعمال می‌شود.

این رویکرد به پژوهشگران این امکان را می‌دهد که به درک بهتری از تنوع ژنتیکی و عوامل مؤثر بر توسعه دنبه دست یابند و در نهایت به بهبود برنامه‌های پرورشی کمک کند (Dong *et al*., 2020). در طی سالیان اخیر، تکنیک‌های بیولوژی مولکولی سرعت شگرفی توسعه پیدا کرده‌اند و موجب گردیده است تا پروژه‌های مختلف توالی‌یابی کل ژنوم، از جمله گوسفند، تکمیل شود. متعاقب آن، پانل‌های مختلفی از آرایه‌های نانویی با تراکم متفاوت طراحی شده‌اند و انجام مطالعات پویش کل ژنومی را امکان‌پذیر می‌سازد. مطالعه پویش ژنومی می‌توانند به شناسایی دقیق ژن‌های مرتبط با صفات اقتصادی کمک کنند و یافته‌های آن برای انتخاب به کمک نشانگر مفید باشد. این پیشرفت‌ها در بیولوژی مولکولی نه تنها به درک بهتر از ژنتیک گوسفند کمک می‌کنند، بلکه می‌توانند به بهبود کیفیت و بهره‌وری در صنعت دامپروری نیز منجر شوند (Mohammadi & Shamsollahi, 2023). مناطق ژنومی که تحت تاثیر انتخاب‌های پیوسته طبیعی یا مصنوعی (توسط انسان) قرار می‌گیرند، ردی از خود بر روی ژنوم می‌گذارند که با انجام برخی تجزیه و تحلیل‌های مناسب می‌توان به شناسایی آن‌ها پرداخت (Mirzapour *et al*., 2023). تعاملات اپیستاتیک بین ژن‌ها یا QTLها موضوعی است که در ژنتیک مولکولی و کمی مورد توجه است (Cordell, 2002). اپیستازی (اثرات متقابل جایگاه‌های ژنی) زمانی رخ می‌دهد که اثر فنوتیپی یک جهش تحت تاثیر جهش‌های دیگر در ژنوم قرار میگیرد (Papp & Pál, 2011). مطالعات اپیستاتیک از آنجایی که نقش کلیدی در درک ارتباط عملکردی ژن‌ها دارند برای محققان جالب هستند. مطالعات GWAS که به کمک تراشه‌های تجاری اسنیپ انجام می‌شوند دانشی را در رابطه با ارتباط فنوتیپ‌ها و نشانگرهای اسنیپ فراهم کرده‌اند. اگرچه اکثر اسنیپ‌ها به طور معناداری با صفات مرتبط هستند اما متاسفانه تنها بخش کمی از واریانس ژنتیکی را به صورت منفرد توجیه می‌کنند (Fazer *et al*., 2009: Manolio *et al*., 2009: Eichler *et al*., 2010). لذا بررسی سایر اثرات توجیه‌کننده واریانس ژنتیکی از اهمیت زیادی برخوردار است. انتظار می‌رود که بخشی از این واریانس به کمک اثر اپیستازی تأمین شده باشد. اول ضروری است که اپیستازی بیولوژیکی (عملکردی) را تشخیص دهیم، سپس به سراغ اپیستازی آماری برویم (Cordell, 2002). اپیستازی زیستی به مفهوم اثر آللی در یک مکان است که توسط اثر آلل دیگر در مکان دیگری آشکار می‌شود، یا به عبارت دیگر، اثرات واریانت‌های ژنتیکی که سایر واریانت‌ها را تقویت می‌کنند. این پدیده می‌تواند نقش مهمی در شکل‌گیری صفات پیچیده و واریانس ژنتیکی داشته باشد و درک آن می‌تواند به بهبود روش‌های انتخاب و پرورش در دام‌ها کمک کند (Siemiatycki & Thomas, 1981). اپیستازی آماری به خروجی اثرات غیر افزایشی و غیر غالبیت تغییرات ژنتیکی در جایگاه‌های مختلف با توجه به فنوتیپ اشاره دارد. در این روش با استفاده از روش‌های آماری محاسباتی، برای نزدیک شدن نتایج به یک تعریف بیولوژیکی و درک بهتر آن پرداخته می‌شود. یک دیدگاه تکاملی در منشا اپیستازی بر اساس یک فرضیه بیان می‌کند که انتخاب طبیعی اکثریت جمعیت را در وضعیت سالم نگه می‌دارد؛ بنابر این، در پاسخ به تغییرات ژنتیکی و محیطی، تغییرات فنوتیپی ظاهر می‌شوند. به عنوان مثال، سطح فیزیولوژیکی حیاتی مانند قند خون یا فشار خون در پاسخ به این اثرات، سیستم‌های پیچیده قوی را برای مقاومت در برابر تغییرات از خود نشان می‌دهند (Moore & Williams, 2005). ازآنجایی که اپیستازی به عنوان تعامل بین ژن‌ها یا نشانگرهای اسنیپ که بر یک صفت تاثیر می‌گذارد، تعریف شده است، بنابر این، هر نشانگر اسنیپ به‌دست آمده در GWAS سطح قابل‌توجهی از تاثیر قوی یک صفت را تعیین می‌کند، اما

نشانگرهای غیر معنی‌دار که با یکدیگر تعامل دارند، می‌توانند تاثیر زیادی بر یک صفت نیز داشته باشند. ، با در نظر گرفتن فعل و انفعالات اپیستاتیک برای اثرات غیر افزایشی چندمتغیره، امکان کشف نشانگرهای بیشتر مرتبط با صفات مورد نظر توسط GWAS فراهم می‌شود. در مورد اثرات افزایشی تک‌متغیره بسیاری از مطالعات GWAS از تحلیل اپیستاتیک به عنوان یک رویکرد مکمل استفاده کرده‌اند و اپیستازی قابل توجهی را گزارش داده‌اند (Kim *et al*., 2020).

مواد و روش‌ها

آرایه Ovine SNP50K Genotyping Beadchip جامع‌ترین آرایه ژنوتایپینگ گسترده ژنوم برای گوسفند را فراهم می‌کند و دارای قدرت بالایی برای بررسی تنوع ژنتیکی در بسیاری از نژادها است. Beadchip با همکاری شرکت Illumina توسعه داده شد. این آرایه دارای بیش از ۵۴۰۰۰ SNP است که به طور یکنواخت کل ژنوم را در بر می‌گیرد. Ovine SNP50K Beadchip طیف وسیعی از مطالعات گوسفند شامل انتخاب گسترده ژنوم، شناسایی جایگاه‌های صفت کمی (QTL)، ارزیابی شایستگی ژنتیکی، نقشه‌برداری نژادی، مطالعات عدم پیوستگی، مقایسات ژنتیکی و خصوصیات نژادی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی را فراهم می‌کند.

سری اطلاعات مورد استفاده در این تحقیق شامل داده‌های تعیین ژنوتایپ تعدادی از نژادهای دنبه دار و بدون دنبه موجود در پروژه HapMap است که از کنسرسیوم بین‌المللی ژنومیکس گوسفند (ISGC) تهیه شده‌اند. کنسرسیوم بین‌المللی ژنومیک از محققان برجسته از AgResearch، Baylor، استرالیا و UCSC سازمان تحقیقات علمی و صنعتی مشترک– المنافع تشکیل شده است (برگرفته از پروژه هپ مپ). در این پروژه، به صورت رسمی رکوردهای فنوتیپی حیوانات جمع‌آوری نشده‌اند. بنابر این، جهت اجرای تحقیق حاضر با استفاده از منابع منتشر شده مختلف، خصوصیات نژادها به خصوص در ارتباط با شکل و ابعاد دنبه آن‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. در مجموع، حدود ۳۰۰۰ نمونه حیوان از نژادهای مختلف در پروژه HapMap تعیین ژنوتیپ شده‌اند که این اطلاعات در https://www.sheephapmap.org در دسترس هستند. اطلاعات دریافتی از این پروژه همگی مربوط به نژادهای گوسفندان اهلی بود. همه نمونه‌ها با استفاده از آرایه Ovine SNP50K Beadchip تعیین ژنوتیپ شده‌اند. پس از فیلتر اسنیپها، در مجموع ۴۹۰۳۹ نشانگر باقی می‌ماند. برخی نشانگرها به دلیل کم بودن فراوانی آلل نادر (MAF) از محاسبات خارج می‌شوند. در مورد کنترل کیفیت MAF، آستانه ۰/۵ مورد بررسی قرار می‌گیرد. تعادل هاردی‌واینبرگ با سطح ۰/۰۰۰۰۰۰۱ برای تک‌تک اسنیپ‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در اینجا، ابتدا دنبه‌دار بودن و نبودن تعدادی از نژادها با استفاده از مطالعات در مقالات و مرور بر منابع تعیین شد. انتخاب دام‌های مورد آنالیز و تعیین ژنوتایپ و فنوتایپ بر اساس منطقه پراکنش آن‌ها انجام شده است تا به این وسیله اثرات سایر عوامل مربوط به اقلیم کاسته شود. اسنیپ‌ها به صورت فایل‌هایی با نامه‌نگاری و کسب مجوز از بانک داده Sheep Hap Map در اختیار قرار گرفتند. از ۳۰۰۰ نمونه که شامل ۷۵ نژاد هست، ۱۹ نژاد با توجه به شکل و ابعاد دنبه گزارش شده از آنها در منابع علمی معتبر جهت اجرای پژوهش حاضر استفاده شد. تعداد کل دام‌های تعیین فنوتیپ شده ۸۰۶ حیوان است. ۴۸۸ حیوان از نژادهای بدون دنبه شامل هشت نژاد به نام‌های: استارالین سافوک، دکانی، جرمن تکسل، گلف کاستنیتیو، ایراش سافوک، نیوزلند تکسل، اسکتیش تکسل و اسکتیش بلک فیس هستند. ۳۱۸ حیوان از نژادهای دنبه‌دار شامل ۱۱ نژاد به نام‌های افشاری، بوندر اوبرلند، سپروس، اتیوپی منز، لوکال آواسی، کاراکاس، مغانی، قزل، ردمایسی، رندریب آفریکن و نوردز هستند. مبنای طبقه‌بندی در این مرحله تشابه نسبی شکل و ابعاد دم و دنبه در نژادهای انتخاب شده بود. همچنین، با توجه به بحث لایه‌بندی جمعیت و پراکنش جغرافیایی، آنالیزهای بعدی بر مبنای این اصل انجام گرفت. با توجه به این که تنوع زیادی بین نژادهای مختلف از لحاظ شکل و اندازه دنبه و دم وجود دارد، در تحقیق حاضر تلاش شد تا تنها نژادهایی که از لحاظ شکل و اندازه مشابهت زیادی با همدیگر و به ویژه با نژادهای دنبه‌دار و بدون دنبه ایرانی دارند جهت اجرای این پژوهش انتخاب شوند.

برای تعیین موقعیت ژنومی اسنیپ‌ها در سطح ژنوم گوسفند از نسخه ژنومی Oar-v4/0 پایگاه اطلاعاتی NCBI استفاده شد. بررسی ارتباط اسنیپ با فنوتیپ به کمک رگرسیون لجستیک با استفاده از آنالیز PLINK انجام شد. در مرحله بعدی، رسم نمودار منهتن با استفاده از نرم‌افزار R پکیج qqman انجام شد. تعداد اسنیپ‌های موثر مشخص شد. با توجه به نمودار منهتن برای اجتناب از گزارش نشانگرهای مثبت کاذب و تحلیل ساختار ژنتیکی جمعیت از تجزیه مولفه‌های اصلی (PCA) استفاده شد. لذا به کمک برنامه PLINK، ۱۴ مولفه اصلی اول برای تصحیح داده‌ها مورد استفاده قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل مولفه‌های اصلی در تمام آنالیزها جهت تصحیح لایه‌بندی جمعیتی استفاده شد. رسم شبکه ژنی و تجزیه و تحلیل شبکه بر همکنش ژن‌ها با استفاده از پایگاه استرینگ (https://string-db.org/) و بررسی عملکرد ژن‌ها با استفاده از بیومارت، سایت Gene Cards (https://www.genecards.org) و انسمبل صورت گرفت. در مرحله بعدی، با نرم‌افزار *PLINK* اپیستازی انجام شد.

نتایج و بحث

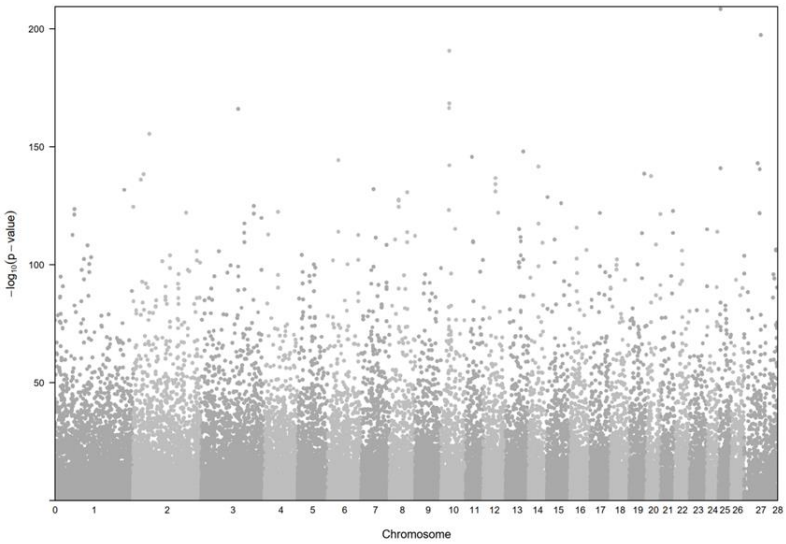
ارتباط ژنومی با مدل لجستیک توسط نرم‌افزار PlinkV1/9، تعداد ۱۶۴۰۸ اسنیپ موثر را نشان داد. توزیع آنها در طول ژنوم در نمودار منهتن شکل شماره ۱ نشان داده شده است. اطلاعات اولیه ژنوتیپی حیوانات انتخاب شده جهت کنترل کیفیت با استفاده از نرم‌افزار PKINK مورد ارزیابی قرار گرفت. در مورد فراوانی آلل نادر (MAF)، ۴۶ اسنیپ حذف شدند. برای تعادل هاردی–واینبرگ ۱۰۴ اسنیپ حذف شدند. این تعداد نشانگر معنی‌دار برای یک مطالعه پویش گسترده ژنومی زیاد به نظر می‌رسد. با توجه به نتایج به دست آمده نیاز به تصحیح ساختاری و آنالیزهای دیگری است که لایه‌بندی جمعیتی کاهش یلبد و

اسنیپ‌های موثر تر ظهور کنند. در اینجا فیلتراسیون توسط آنالیز PCA انجام شد.

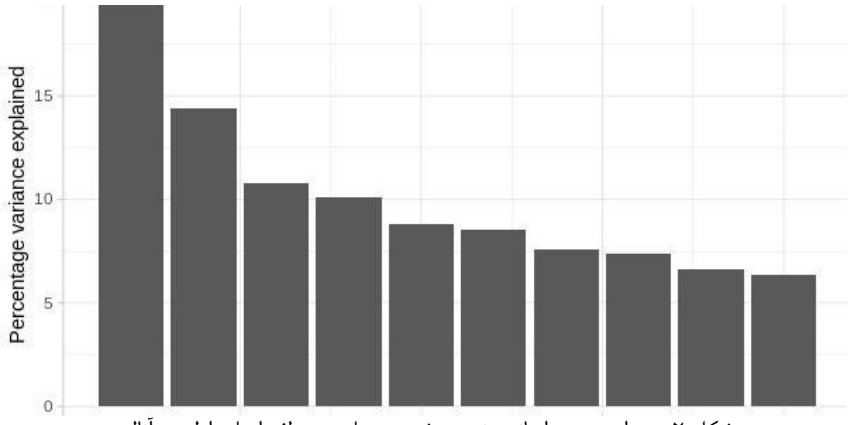
در این گراف (شکل شماره۱) بر روی محور x موقعیت اسنیپ‌ها در کروموزوم‌های مختلف و روی محور y ارزش‌های منفی لگاریتم گزارش داده شده‌اند.

با توجه به شکل شماره ۲ نمودار شامل ۱۰مولفه اصلی اول است که نشان‌دهنده میزان تاثیرگذاری مولفه‌ها در هر مرحله است. طول هر مولفه میزان واریانسی است که توجیه می‌کند، با توجه به شکل شماره ۳ ، نمودار اثر تجمعی مولفه‌ها را نشان می‌دهد. به عنوان مثال، ۱۴ مولفه اول بالای ۶۰٪ واریانس را توجیه می‌کنند و به ۵۰ مولفه اول که می‌رسد تقریبا ۱۰۰٪ واریانس توجیه می‌شود.

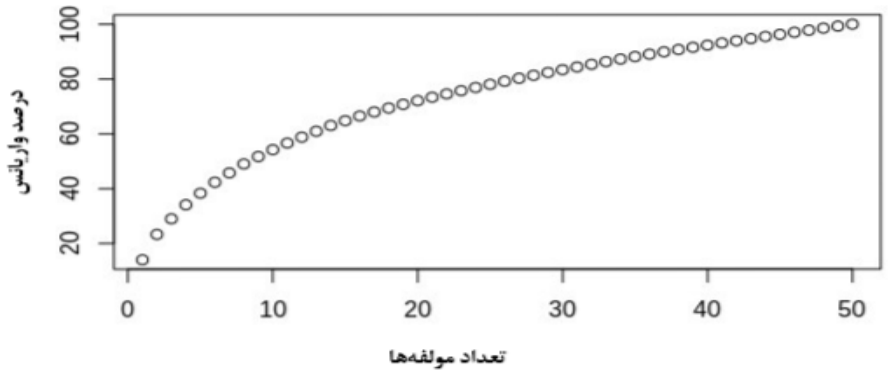
پس از تصحیح ساختاری در این مرحله، هشت جایگاه نشانگری اسنیپ یافت شدند که در جدول شماره ۱ نشان داده شده‌اند. از میان آن‌ها، دو اسنیپ بر روی کروموزوم ۱۰ و بقیه آنها بر روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ۶، ۱۰، ۱۵ و ۱۸ هستند.



شکل ۱- گراف منهتن از مطالعه پیوستگی ژنومی برای صفت ذخیره چربی در دنبه
Figure 1. The Manhattan graph of the genomic wide study for fat storage in fat-tail



شکل ۲- میزان سهم واریانس توجیه شده بوسیله ده مولفه اصلی اول در آنالیز
Figure 2. The share of variance justified by the first ten principal components in PCA analysis



شکل ۳- اثر تجمعی مولفه‌های موثر در بررسی تشکیل دنبه
Figure 3. Cumulative effects of effective components in the study of fat-tail formation

جدول ۱- اسنیپ برتر با بیشترین تاثیر مورد بررسی در فنوتیپ دنبه‌دار بودن گوسفندان
Table 1. The best SNP with the most studied effect on the fat-tail phenotype of sheep

کروموزوم CHR	شناسه اسنیپ SNP ID	موقعیت براساس نسخه ژنومی Position based on Genom Version
1	OAR1_117122442.1	11712242-
10	s15707.1	19420049-
3	OAR3_196245495.1	196245495
10	s35548.1	84220033-
15	s67246.1	89564195-
18	OAR18_35456814.1	35458615-
2	s08620.1	194245184-
6	OAR6_42208195.1	42208195-

ژو و همکاران (Zhu *et al*., 2021) گوسفندان مناطق آلتای و تبتی را که دارای اشکال متفاوت از دم بودند و در مناطق مختلفی از چین پراکنش داشتند مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق، یک بررسی گسترده ژنومی بر روی دنبه سه نژاد گوسفند انجام شد. با استفاده از GWAS به تجزیه و تحلیل ارتباط بین اسنیپ‌ها و فنوتیپ‌ها پرداخته شد. نتایج GWAS نوع ارتباط با صفات دنبه را در سطح ژنومی بر روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۷، ۱۰، ۱۳، ۱۵، و ۱۹ گزارش دادند اما بیشترین تأثیر در کروموزم‌های ۱، ۱۳ و ۱۵مشاهده شد. بنابر این، در این پژوهش، کروموزم‌های ۱، ۲، ۱۰ و ۱۵ کروموزوم‌های موثر در ارتباط با صفات دنبه بودند.

بررسی تمایز جمعیتی با استفاده از آماره‌های FST و تتا در نژادهای ایرانی نشان داد که هفت منطقه ژنومی دارای بیشترین تمایز ژنتیکی بودند. با آنالیزهای پروژه Map Ovien Hap سه منطقه ژنومی بر روی کروموزم‌های X، ۷ و ۵ در هر دو سری اطلاعاتی مشخص شدند که این مناطق برای انجام آزمایش‌های مکان‌یابی دقیق انتخاب شدند که در این تحقیق در جدول آزمون معناداری اسنیپ‌ها تعدادی بر روی کروموزوم ۲ نیز مشاهده شدند (Moradi *et al*., 2012). با توجه به روش‌های آماری متفاوت استفاده شده در پژوهش مرادی و همکاران، استفاده از همه حیوانات و تفاوت‌های نژادی آنها در تحقیق ژو و همکاران، در نتایج حاصل از این پژوهش نیز اسنیپ‌های برتر درتشکیل دنبه بیشتر بر روی کروموزم ۲ گزارش شدند.

با توجه به نتایج به‌دست آمده، ژن‌ها در فاصله kb۵۰۰ در اطراف نشانگرهای معنی‌دار جستجو شدند. در جدول شماره ۲ فاصله ژن‌های شناسایی شده در قسمت بالادست (به علامت مثبت) و یا پایین‌دست (با علامت منفی) از نشانگر مورد نظر را مشخص می‌کند.

جدول ۲- ژن‌های گزارش شده در اطراف نشانگرهای معنی‌دار شناسایی شده در تحقیق حاضر
Table 2. Genes reported around the significant markers identified in the current research

Chr	Position on genome	Bonferroni P-Value	Genes	Distance (Kb)
1	108193348	1.03E-18	*TCHHL1*	- 255
			S100A10	- 375
			LCE3B	+ 396
			C1orf68	+ 434
2	183299001	1.01E-06	---	---
3	182022302	3.40E-15	*NR1H4*	- 53
			U6	+ 71
			SLC17A8	- 236
			ANO4	+ 237
			SCYL2	- 295
			ACTR6	- 371
6	37865761	1.82E-06	*CCSER1*	Within
10	20082182	7.70E-16	*MED4*	+ 108
			ITM2B	+242
			RB1	+328
			LPAR6	+412
			RCBTB2	+450
10	76938661	2.08E-13	*GPC6*	Within
15	80007334	2.66E-12	*ALKBH3*	+129
			MIR129-2	-159
			C11orf96	+195
			TTC17	-247
			ACCS	+331
			EXT2	+360
18	33864740	1.72E-08	---	---

با توجه به جدول شماره ۲، احتمال مرتبط بودن ژن‌های NR1H4، SLC17A8 و ANO4 در کروموزوم ۳ و EXT2 بر روی کروموزوم ۱۵ در تشکیل دنبه است. در این تحقیق، شبکه ژنی این ژن‌های یافت‌شده با استفاده از پایگاه داده استرینگ مورد بررسی قرار گرفت. NR1H4 یک ژن از زیرخانواده گیرنده‌های هسته‌ای است. ژن NR1H4 با نام علمی Nuclear Receptor Subfamily 1 Group H Member 4 و کدکننده پروتئین‌ها است. این ژن روی اسنیپ OAR-196245495.1 بر روی کروموزوم شماره ۳ قرار دارد. این ژن یک فاکتور رونویسی فعال‌شده با لیگاند را کد می‌کند که ویژگی ساختاری مشترکی با اعضای خانواده گیرنده هورمون هسته‌ای دارد. این پروتئین به عنوان گیرنده اسیدهای صفراوی به اسیدهای صفراوی متصل می‌شود و با اتصال به DNA، بیان ژن‌های دخیل در سنتز و انتقال اسیدهای صفراوی را تنظیم می‌کند. به طور متناوب به انواع رونوشت‌ها متصل می‌شود و ایزوفرم‌های مختلف را کد می‌کند. بیماری‌های مرتبط با آن عبارت‌اند از کلستاز پیشرونده داخل کبدی ۵ و ۱. از مسیرهای مرتبط با آن می‌توان به سنتز اسیدهای صفراوی و نمک‌های صفراوی و بیان ژن (رونویسی) اشاره کرد. یک پارالوگ مهم این ژن NR1H3 است. از ویژگی‌های پروتئینی برای این ژن اندازه ۴۸۶ اسیدآمینه و سطح وجود پروتئین پلی‌اتیلن است. با توجه به شکل ترسیم شده از شبکه ژنی NR1H4 ژن رسوب چربی SLC51A8 با ۸۷٪ نشان‌دهنده سطح اطمینان از ارتباط شدیدتر ژن‌ها در شبکه ژنی آن است. در شبکه ژنی ANO4 نیز بالاترین ژن موثر در گره‌های شبکه ژنی، ژن SLC17A8 با ۵۹٪ سطح اطمینان از ارتباط گزارش شد. SLC17A8 یک ژن انتقال‌دهنده صفات معدنی وابسته به سدیم از ژن‌های موثر بر رسوب چربی است و به ترتیب با توجه به نقشه شبکه ژنی آن، ژن‌های SLC18A3 با ۹۷٪، SLC18A2 با ۹۰٪ و SLC18A1 با ۸۴٪ از ژن‌های مرتبط و موثر در گره‌های شبکه ژنی SLC17A8 گزارش شدند. ژن ANO4 با نام علمی ANoctamin4 و کدکننده پروتئین است. در شبکه ژنی ANO4 نیز بالاترین ژن موثر در گره‌های شبکه ژنی، ژن SLC17A8 با ۵۹٪ سطح اطمینان از ارتباط گزارش شد. SLC17A8 یک ژن انتقال‌دهنده صفات معدنی وابسته به سدیم از ژن‌های موثر بر رسوب چربی است و به ترتیب با توجه به نقشه شبکه ژنی آن، ژن‌های SLC18A3 با ۹۷٪، SLC18A2 با ۹۰٪ و SLC18A1 با ۸۴٪ از ژن‌های مرتبط و موثر در گره‌های شبکه ژنی SLC17A8 گزارش شدند. ژن *EXT2* کدکننده یکی از گلیکوترانس فرازی است که در طولانی شدن زنجیره سنتز هپارین سولفات نقش دارد. جهش در این ژن باعث فرم ۲ اگزوتوسیز چندگانه می‌شود. بر اساس اسپلایس‌های مختلف در واریانت‌های این ژن، ایزوفرم‌های مختلفی برای این ژن دیده شده است. این ژن یک ژن کدکننده پروتئین است. از بیماری‌های مرتبط با این ژن، بیماری سیروز، اسکلیوسیز، سندرم میکروسلفیا و اگزوتوزسیز چندگانه است. مسیرهای چرخه‌هایی که این ژن در آن‌ها موثر است در متابولسیم گلیکوآمینوگلیکان و در بیماری گلیکوزیلیشن نقش دارند. EXT2 ، یک ژن ۷۳۷ اسید آمینه از خانواده گلیکوزیل ترانس‌فراز۴۷ گزارش شد. با توجه به ساختار شبکه ژنی

EXT2، EXT1 نشان‌دهنده ۹۸٪ سطح اطمینان از ارتباط وSLC35B2 با ۸۷٪ سطح اطمینان از ارتباط، در شبکه ژنی EXT2 گزارش شد. این نتایج نشان‌دهنده ارتباط موثر این ژن‌ها در رابطه با صفات مرتبط با چربی دنبه هستند.

نتایج به دست آمده بختیاری‌زاده و الموتی (Bakhtiarizadeh *et al*., 2020) بر اساس RNA-seq نشان دادند که ژن *SLC22A4* از ژن‌های موثر در تشکیل دنبه است و دیگری *NR7P1* این ژن یک پروتئین هسته‌ای را کد می‌کند و به عنوان تنظیم‌کننده متابولیسم لیپید و گلوکز در رسوب چربی نام برده می‌شود.

ژو و همکاران (Zhu *et al*., 2021) از نتایج *GWAS* در ارتباط با صفات دنبه گزارش نمودند که ژن *EXT2* بر روی کروموزوم ۱۵ از ژن‌های موثر بر رسوب چربی است.

مرادی و همکاران (Moradi *et al*., 2022) نمونه‌های نژادهای ایرانی زل و لری‌بختیاری با چگالی نشانگری بالا در سه منطقه ژنومی بیان شده تعیین ژنوتیپ کردند. آنالیزهای آماری با استفاده از آماره‌های مختلف شامل روش‌های مبتنی بر تمایز و الگوی تنوع ژنتیکی (XP-EHH) انجام شدند. نتایج حاصل به روشنی سیگنال‌های انتخاب را در مناطق موردنظر آشکار کردند و نشان دادند که آلل‌های انتخابی در مناطق کاندیدای کروموزوم‌های ۵ و X به‌سمت تثبیت شدن در نژاد دنبه‌دار افزایش یافته‌اند در حالی‌که بر روی کروموزم ۷ این حالت در جهت افزایش آلل‌های سودمند در نژاد بدون دنبه تغییر یافته است. در مجموع سه منطقه ژنومی جدید مرتبط با ذخیره چربی شناسایی شد که دو منطقه ژنومی در کروموزوم‌های ۵ و X بیانگر انتخاب در جهت افزایش فراوانی جهش‌های موثر بر روی اندازه دنبه هستند که در میان آنها ژن SLC35A2 از ژن‌های مرتبط با چربی گزارش شد. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، ژن SLC17A8 بیشترین تاثیر را بر تشکیل دنبه دارد.

شبکه ژنی حاصل از پایگاه استرینگ و نتایج حاصل از اثرات متقابل بیولوژیکی نشان دادند که بیشترین گره‌ها در ارتباط با ژن‌های *EXT2* و *GPC6* هستند که در شکل شماره ۴ نشان داده شده است. از دیگر ژن‌های موثر بر رسوب چربی که در این شبکه نیز با یکدیگر در ارتباط‌اند، *SLC17A8* و *ANO4* است. ۳ ژن *ITM2B*، *LPAR6* و *RCBTB2* در یک راستا با یکدیگر ارتباط موثر نشان دادند. از این سه ژن موثر بر هم *RCBTB2* بیشترین ارتباط موثر را با *MED4* نشان داد. *LPAR6* با کمترین ارتباط موثر با *RB1* مشاهده شد. غنی‌سازی شبکه (شکل شماره ۴) گویای ارتباط زیاد ژن‌ها باهم دیگر نیست، یعنی این ژن‌ها به طور مستقیم در ارتباط نیستند و به احتمال قوی ژن‌های واسطه دیگری در این زمینه نقش ایفا می‌کنند.

با توجه به نتایج حاصل از اثرات اپیستازی آماری که در جدول شماره ۳ برخی از نتایج آن ارائه شده است، اسنیپ *OAR1_117122442.1* بر روی کروموزوم یک با ۵۶۰ اسنیپ دیگر اپیستازی دارد. این اسنیپ با *OAR12_69405277.1* بر روی کروموزوم ۱۲، *s60712.1* روی کروموزوم ۲۶ و *OAR14_68716023.1* روی کروموزوم ۱۴ بیشترین اثر متقابل معنی‌دار را گزارش می‌دهد. اسنیپ *s08620.1* روی کروموزوم ۲ نیز با ۱۸۴۱ اسنیپ دیگر اپیستازی دارد. این اسنیپ با *OAR17_22472527.1* بر روی کروموزوم ۱۷، *OAR3_194949591.1* روی کروموزوم ۳ و *OAR2_195458281.1* روی کروموزوم ۲ بیشترین اثر معنادار را گزارش داد. اسنیپ *OAR3_196245495.1* روی کروموزوم ۳ با ۱۶۱ اسنیپ دیگر اپیستازی دارد. این اسنیپ با *OAR5_89139276_X.1* روی کروموزوم ۵، *s42244.1* روی کروموزوم ۴ و *OAR16_31612666.1* روی کروموزوم ۱۶ بیشترین اثر متقابل معنی‌دار را گزارش داد. اسنیپ *OAR6_42208195.1* روی کروموزوم ۶ با ۳۸۱ اسنیپ دیگر اپیستازی دارد. این اسنیپ با *OAR6_42282329.1* و *OAR6_42528741.1* بروی کروموزوم ۶ و *OAR10_82991415.1* بر روی کروموزوم ۱۰ بیشترین اثر معنی‌دار را نشان داد. اسنیپ *s35548.1* بر روی کروموزوم ۱۰ با ۳۴۴ اسنیپ دیگر اپیستازی دارد. این اسنیپ با *s25815.1* بر روی کروموزوم ۱۸، s58903.1 بر روی کروموزوم ۲۰ و *OAR21_25051954.1* بر روی کروموزوم ۲۱ بیشترین اثر متقابل معنادار را نشان داد. از دیگر اسنیپ‌ها، s67246.1 بر روی کروموزوم ۱۵ است که ۱۴۴ اینترکشن را گزارش می‌دهد. این اسنیپ با سه اسنیپ *OAR17_27677954.1*، *OAR17_68457670.1* و *s07643.1* که هر سه بر روی کروموزوم ۱۷ قرار داشتند، بیشترین تاثیر را گزارش داد. آخرین اسنیپ با نام *OAR18_35456814.1* بر روی کروموزوم ۱۸ دارای ۴۴۹ تاثیر معنی‌دار با اسنیپ‌های دیگر است. این اسنیپ با *OAR23_12072551.1* بر روی کروموزوم ۲۳، s21393.1 بر روی کروموزوم ۲۲ و *OAR25_38993389_X.1* بر روی کروموزوم ۲۵ بیشترین تاثیر را نشان داد. همه این اطلاعات در جدول ۴-۴ نشان داده شده‌اند.

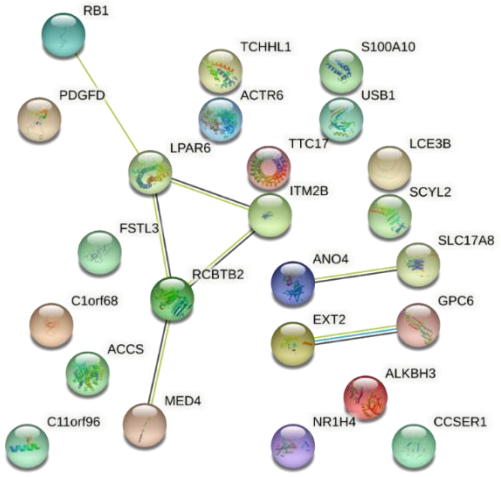
نکته مورد توجه این که اسنیپ *S15707.1* بر روی کروموزوم ۱۰ هیچ گونه اثر اپیستازی از خود نشان نداده است. در مجموع، ۳۸۸۰ اینترکشن در بین هفت اسنیپ باقی‌مانده مشاهده شدند.

بانرجی و همکاران (Banerjee *et al*., 2020) به بررسی اپیستازی در بازده خوراک خوک پرداختند. نژاد Duroc با ۱۲۴۷ اسنیپ و نژاد Landrace با ۱۲۱۵ اسنیپ دارای ارتباطات موثر معنی‌دار گزارش داده شدند و به این نتیجه رسیدند که تعاملات اپیستاتیک در کروموزوم‌های ۱۷، ۱۵ و ۱۰ بیشتر است. در این پژوهش نیز تعاملات اپیستازی بر روی کروموزم ۱۰ و ۱۸ گزارش شد که کروموزوم ۱۰ با ۳۴۴ اثر معنادار و کروموزوم ۱۸ با ۴۹۹ اثر معنادار بعد از کروموزوم ۲ و ۱ بیشترین تعاملات اپیستازی را نشان دادند.

کیم و همکاران (Kim *et al*., 2020) به بررسی ارتباط اسنیپ‌ها در زمان گل‌دهی در سویا پرداختند و چندین جایگاه اپیستاتیک بین اسنیپ‌های معنادار (۲ اسنیپ) و غیر معنی‌دار (۱۶ اسنیپ) را به‌عنوان اسنیپ‌های مؤثر بر زمان گل‌دهی به دست آوردند. جمعاً ۹۳ اسنیپ قابل‌توجه در ۵۹ ژن مهم و ۱۸ ژن کاندید از جمله E1 و E3 شناسایی شدند که در شش مسیر اصلی گل‌دهی نقش داشتند. در نتایج به‌دست آمده، هشت

اسنیپ (هفت اسنیپ معنادار و یک اسنیپ غیر معنی‌دار) به‌عنوان اسنیپ‌های موثر بر تشکیل دنبه به‌دست آمدند و ۲۳ ژن کاندید برای چربی دنبه شناسایی شدند.

در پژوهش حاضر، بیشترین تعاملات اپیستازی بر روی اسنیپ‌های کروموزوم شماره ۲ گزارش شدند که با ۱۸۴۱ اسنیپ بر روی دیگر کروموزوم‌ها در ارتباط هستند. بعد از کروموزوم شماره ۲، کروموزوم ۱ و ۱۸ بیشترین اثرات اپیستازی را نشان دادند.



شکل ۴- شبکه ژنی بین ژن‌های شناسایی شده در تحقیق حاضر موثر بر رسوب چربی دنبه

Figure 4. The gene network between genes identified in the present research effective on fat-tail deposition

جدول ۳- برخی اثرات اپیستازی اسنیپ‌های موثر بر تشکیل دنبه

Table 3. Some epistasis effects of SNPs affecting the formation of fat-tail

شماره کروموزم CHR Number	اسنیپ مورد بررسی Studied SNP	شماره کروموزم اسنیپ موثر CHR Nnmber of Effectiv SNP	اسنیپ موثر Effective SNP
1	OAR1_117122442.1	12	OAR12_69405277.1
1	OAR1_117122442.1	26	s60712.1
1	OAR1_117122442.1	14	OAR14_68716023.1
2	s08620.1	17	OAR17_22472527.1
2	s08620.1	3	OAR3_194949591.1
2	s08620.1	2	OAR2_195458281.1
3	OAR3_196245495.1	5	OAR5_89139276_X.1
3	OAR3_196245495.1	4	s42244.1
3	OAR3_196245495.1	16	OAR16_31612666.1
6	OAR6_42208195.1	6	OAR6_42282329.1
6	OAR6_42208195.1	6	OAR6_42528741.1
6	OAR6_42208195.1	10	OAR10_82991415.1
10	s35548.1	18	s25815.1
10	s35548.1	20	s58903.1
10	s35548.1	12	OAR21_25051954.1
15	s67246.1	17	OAR17_27677954.1
15	s67246.1	17	OAR17_68457670.1
15	s67246.1	17	s07643.1
18	OAR18_35456814.1	23	OAR23_12072551.1
18	OAR18_35456814.1	22	s21393.1
18	OAR18_35456814.1	25	OAR25_38993389_X.1

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس تجزیه و تحلیل ساختار جمعیت با استفاده از GWAS، ۲۳ ژن و ۳۸۸۰ اینترکشن شناسایی شدند. ژن‌های NR1H4، SLC17A8، ANO4 و EXT2 به‌عنوان ژن‌های مؤثر بر رسوب چربی شناسایی شدند. با توجه به اهمیت لوکوس‌های مؤثر بر رسوب چربی دنبه، ارتباط میان جایگاه‌های ژنومی این ژن‌ها وجود داشت. همچنین، هفت اسنیپ مؤثر بر رسوب چربی دنبه شناسایی شدند که بیشترین اثر اپیستازی در اسنیپ S08620.1 واقع در کروموزوم ۲ مشاهده گردید. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهند که بررسی اپیستازی بیولوژیکی نیازمند مطالعه گسترده‌تری است، چرا که محدودیت‌هایی در منابع اطلاعاتی موجود در پایگاه‌های داده وجود دارند که می‌توانند بر نتایج تأثیر بگذارند.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به خاطر حمایت مالی و معنوی تقدیر و تشکر می‌شود.

References

Bakhtiarizadeh, M. R., & Alamouti, A. A. (2020). RNA-Seq based genetic variant discovery provides new insights into controlling fat deposition in the tail of sheep. *Scientific Reports*, 10(1), 13525.

Bakhtiarizadeh, M. R., Salehi, A., Alamouti, A. A., Abdollahi-Arpanahi, R., & Salami, S. A. (2019). Deep transcriptome analysis using RNA-Seq suggests novel insights into molecular aspects of fat-tail metabolism in sheep. *Scientific Reports*, 9(1), 9203.

Banerjee, P., Carmelo, V. A. O., & Kadarmideen, H. N. (2020). Genome-wide epistatic interaction networks affecting feed efficiency in duroc and landrace pigs. *Frontiers in Genetics*, 11, 121.

Cordell, H. J. (2002). Epistasis: what it means, what it doesn't mean, and statistical methods to detect it in humans. *Human Molecular Genetics*, 11(20), 2463-2468.

Dong, K., Yang, M., Han, J., Ma, Q., Han, J., Song, Z., ... & Jiang, L. (2020). Genomic analysis of worldwide sheep breeds reveals PDGFD as a major target of fat-tail selection in sheep. *BMC Genomics*, 21, 1-12.

Eichler, E. E., Flint, J., Gibson, G., Kong, A., Leal, S. M., Moore, J. H., & Nadeau, J. H. (2010). Missing heritability and strategies for finding the underlying causes of complex disease. *Nature Reviews Genetics*, 11(6), 446-450.

Frazer, K. A., Murray, S. S., Schork, N. J., & Topol, E. J. (2009). Human genetic variation and its contribution to complex traits. *Nature Reviews Genetics*, 10(4), 241-251.

Kim, K. H., Kim, J. Y., Lim, W. J., Jeong, S., Lee, H. Y., Cho, Y., ... & Kim, N. (2020). Genome-wide association and epistatic interactions of flowering time in soybean cultivar. *PloS One*, 15(1), e0228114.

Manolio, T. A., Collins, F. S., Cox, N. J., Goldstein, D. B., Hindorff, L. A., Hunter, D. J., ... & Visscher, P. M. (2009). Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature*, 461(7265), 747-753.

Mirzapour, A., Hedayat, N., Khalkhali, R., Seyedsharifi, R., & Abdi, H. (2023). Genome-Wide San for Detection of Runs of Homozygosity in Iranian Indigenous Sheep Breeds. *Research on Animal Production, 14*(1), 121-130. doi:10.61186/rap.14.39.121 [In Persian]

Mohammadi, H., & Shamsollahi, M. (2023). Genome Wide Association Study Based on Pathway Analysis Relate to Total Number of Lambs Born and First Lambing Age in Prolificacy Sheep. *Research on Animal Production*. *14*(3), 70-79. doi:10.61186/rap.14.41.70 [In Persian]

Moore, J. H., & Williams, S. M. (2005). Traversing the conceptual divide between biological and statistical epistasis: systems biology and a more modern synthesis. *Bioessays*, 27(6), 637-646.

Moradi, M. H., Nejati-Javaremi, A., Moradi-Shahrbabak, M., Dodds, K. G., & McEwan, J. C. (2012). Genomic scan of selective sweeps in thin and fat tail sheep breeds for identifying of candidate regions associated with fat deposition. *BMC Genetics*, 13, 1-15.

Moradi, M. H., Nejati-Javaremi, A., Moradi-Shahrbabak, M., Dodds, K. G., Brauning, R., & McEwan, J. C. (2022). Hitchhiking mapping of candidate regions associated with fat deposition in Iranian thin and fat tail sheep breeds suggests new insights into molecular aspects of fat tail selection. *Animals*, 12(11), 1423.

Papp, B., & Pál, C. (2011). Systems biology of epistasis: Shedding light on genetic interaction network "hubs". *Cell Cycle*, 10(21), 3623-3624.

Siemiatycki, J., & Thomas, D. C. (1981). Biological models and statistical interactions: an example from multistage carcinogenesis. *International Journal of Epidemiology*, 10(4), 383-387.

Zhu, C., Li, N., Cheng, H., & Ma, Y. (2021). Genome wide association study for the identification of genes associated with tail fat deposition in Chinese sheep breeds. *Biology Open*, 10(5), bio054932.