



"مقاله پژوهشی"

شناسایی تفاوت‌های ژنتیکی بین گاوهای نژاد هلشتاین و آمیخته‌های بومی شمال غرب ایران با استفاده از اطلاعات ژنومی

پریسا بیابانی^۱، حسن مهربانی یگانه^۲، حسین مرادی شهرباک^۳ و مهدی مخبر^۴

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

۲- عضو هیأت علمی گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

۳- عضو هیأت علمی گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، (نویسنده مسوول: hmoradis@ut.ac.ir)

۴- عضو هیأت علمی گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۵/۲۵

صفحه: ۱۷۵ تا ۱۸۶

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: انتخاب برای افزایش فراوانی جهش‌های جدید که فقط در بعضی زیر جمعیت‌ها مفید هستند، باعث باقی ماندن نشانه‌هایی در سطح ژنوم می‌شود. اغلب این مناطق با ژن‌ها و QTL‌های کنترل کننده صفات مهم اقتصادی در ارتباط هستند.

مواد و روش‌ها: به منظور شناسایی تفاوت‌های ژنتیکی بین گاوهای شیری هلشتاین و آمیخته‌های بومی شمال غرب ایران، از اطلاعات ژنومی ۶۰ رأس گاو هلشتاین و ۱۰۰ رأس گاو آمیخته بومی شمال غرب ایران استفاده شد. بعد از اطمینان از ساختار مجزای جمعیت‌های مورد مطالعه، آماره‌های F_{ST} ، $XP-EHH$ و R_{sb} جهت شناسایی نشانه‌های انتخاب استفاده شد.

یافته‌ها: به ترتیب تعداد ۲۱، ۱۶ و ۲۴ منطقه‌ی ژنومی که حدود آستانه‌ای آماره‌های مربوطه را گذرانده بودند، با آماره‌های F_{ST} ، $XP-EHH$ و R_{sb} به‌عنوان نشانه‌های انتخاب، تعیین شدند. مناطق ژنومی انتخاب شده با مناطق ژنومی متناظر آن روی ژنوم گاو (ARS-UCD1.2 Bos Taurus Genome)، هم‌ردیف سازی و در نهایت تعداد ۱۰۴ و ۱۳۴ ژن به ترتیب از روش F_{ST} و روش‌های مبتنی بر LD، شناسایی شدند.

نتیجه‌گیری: برخی از ژن‌های شناسایی شده در مسیرهای متابولیکی مرتبط با چشایی، بویایی، مسیرهای متابولیکی سنتز چربی‌ها، مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا و نیز عملکرد تولید مثلی نقش دارند. همچنین برخی از ژن‌های شناسایی شده از طریق مسیر سیگنالینگ WNT (Wingless-type) با تولید شیر در ارتباط هستند. مناطق ژنومی تحت انتخاب جهت آنالیزهای بیشتر و یافتن شبکه‌های ژنی مورد بررسی بیشتر قرار گرفتند. این آنالیزها توسط نرم‌افزار آنالین و مرتبط با پایگاه داده‌های ژنومی (DAVID) انجام گرفت. یک مورد شبکه ژنی معنی‌دار ($p < 4/5 \times 10^{-6}$) شناسایی شد. این شبکه ژنی با گیرنده‌های چشایی و بیشتر برای تشخیص مزه‌های تلخ ارتباط داشتند. شناسایی جایگاه‌های تحت انتخاب، علاوه بر درک بهتر چگونگی عمل انتخاب طبیعی و مصنوعی روی نژاد هلشتاین و آمیخته‌های شمال غرب ایران، می‌تواند به شناسایی QTL‌ها و نواحی مرتبط با صفات اقتصادی مهم کمک کند. به‌طور کلی، جهت شناسایی نقش دقیق این ژن‌ها و QTL‌ها باید مطالعات پیوستگی و عملکردی بیشتری انجام گیرد.

واژه‌های کلیدی: آمیخته‌های بومی، تنوع ژنتیکی، تمایز جمعیتی، گاو هلشتاین

مقدمه

(۵۷،۱۱). استفاده از اطلاعات ژنوم امکان شناسایی ساختار و تاریخچه تکاملی جمعیت‌ها را فراهم آورده است (۱۰،۲۵). در این میان جستجوی نشانه‌های انتخاب یک روش معمول و بسیار مفید در این راستا است. نشانه‌های انتخاب الگوهایی روی ژنوم هستند که در اثر نیروهای انتخاب روی نواحی خاصی از ژنوم تشکیل می‌شوند (۶۳). این نشانه‌ها شامل کاهش مکانی تنوع ژنتیکی^۱، انحراف از توزیع فراوانی آلی^۲ و افزایش عدم تعادل لینکاژی^۳ و توسعه‌ی ساختار هاپلو تایی^۴ و نیز تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها، می‌باشند (۵۵). در حال حاضر ابزارها و روش‌های مختلفی برای شناسایی این نشانه‌های انتخاب در سطح ژنوم جمعیت‌های مختلف، به‌طور موفقیت‌آمیزی توسعه‌یافته و استفاده می‌گردد (۴۱). تاکنون مطالعات متعددی در خصوص شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب در گاو (۳۲،۴۲،۵۶،۷۴)، بز و گوسفند (۷،۱۰،۱۱،۱۶،۲۰)، خوک (۴۹،۳۱)، اسب (۲۷،۵۰)، گاو میش (۴۶،۴۷،۶۶)، شتر (۹) و طیور (۶،۷۲) انجام شده است. در این میان سهم مطالعات مربوط به گاو به دلیل اهمیت بیشتر آن، بالاتر بوده است. به دلیل اهمیت گونه‌ی گاو در تولید بالای گوشت، شیر و فعالیت‌های کشاورزی و سهم بیشتر در تولید محصولات کشاورزی نسبت به سایر گونه‌ها، مطالعه برای پرورش و اصلاح نژاد آن گسترش یافته است. عمده نژادهای گاو شیری که در دنیا برای تولید شیر پرورش داده می‌شود،

الگوی تنوع ژنتیکی در جهت بهبود زنده مانی و شایستگی در تولیدمثل جمعیت‌ها در نتیجه انتخاب طبیعی شکل می‌گیرد (۱۹). انتخاب طبیعی فرآیندی است که طی نسل‌های پیاپی، فراوانی بخشی از صفات ارثی که احتمال زنده ماندن یک موجود را بهبود می‌دهند، افزایش یابد (۲۶). به‌عبارت‌دیگر، در شرایطی که جهش ایجاد شده منجر به افزایش شایستگی افراد گردد، فراوانی افراد حاوی این جهش در جمعیت افزایش خواهد یافت. زیرا این افراد به دلیل شایستگی بیشتر، هدف انتخاب مثبت قرار گرفته و در تشکیل نسل‌های بعد مشارکت بیشتری خواهند داشت (۲،۶۰). در گونه‌های دام‌های اهلی، فرآیند اهلی شدن و به دنبال آن تشکیل نژادها و انتخاب‌های مصنوعی بعدی برای صفات اقتصادی و تیپ، باعث شکل‌دهی ژنوم و ایجاد تنوع ژنتیکی شده است. نحوه‌ی شکل‌دهی ژنوم در اثر پدیده‌های طبیعی یا مصنوعی باعث ایجاد علائمی روی ژنوم می‌شود. این علائم روی ژنوم این جمعیت‌ها، قابل‌ردیابی هستند (۶۴،۶۲،۴۳). بنابراین از زمان اهلی شدن تاکنون، دامنه‌ی وسیعی از رویدادهای انتخاب طبیعی و مصنوعی روی جمعیت‌های گاو صورت گرفته و خصوصیات مهم گاوها از قبیل سازگاری به شرایط محیطی مختلف، تولیدمثل، ساختار بدنی، رفتار، مقاومت به بیماری‌ها و انگل‌ها و صفات اقتصادی مطلوب تغییر پیدا کرده است

1- Reduced local genomic variability
3- Linkage Disequilibrium

2- Site Frequency Spectrum
4- Haplotype Structure

اطلاعات (Illumina, Inc, San Diego, CA, USA) ژنومی مربوط به گاوهای هلشتاین مربوط به کشورهای فرانسه (۶۰ رأس) از پایگاه داده WIDDE (۷۵) تهیه شد.

کنترل کیفی و فیلتراسیون داده‌ها

جهت انجام کنترل کیفیت و فیلتراسیون افراد و نشانگرهای SNP از نرم‌افزار Plink 1.9 استفاده شد (۵۴). آماره‌های مورد استفاده برای کنترل کیفیت بررسی گردید، بدین صورت که ابتدا دام‌هایی که ژنوتیپ از دست‌رفته آن‌ها (Individual call rate) و نیز نشانگرهایی که ژنوتیپ از دست‌رفته آن‌ها (SNP call rate) بیش از ۵ درصد بودند، حذف شدند. سپس داده‌ها برای حداقل فراوانی آلی (Minor Allele Frequency) کمتر از ۱ درصد و نشانگرهای خارج از تعادل هاردی-واینبرگ (HWE) غربال شدند. سپس با توجه به اینکه نمونه‌های مورد استفاده در مطالعه حاضر با استفاده از پلتفرم‌های متفاوتی توالی‌یابی شده بودند، داده‌های فیلتر شده باهم ادغام شدند و بعد از به دست آمدن اطلاعات ژنومی مشترک، داده‌ها دوباره برای حذف نشانگرهای SNP با داده‌های گمشده‌ی بالا فیلتر شدند. بررسی و شناسایی گروه‌های ژنتیکی با استفاده از اطلاعات آنالیز PCA (۵۳) و توسط بسته GenABEL در محیط R انجام گرفت (۵). روش DAPC به کمک بسته adegenet در نرم‌افزار R انجام شد (۳۴). برای بررسی آمیختگی بین جمعیت‌ها، آنالیز اختلاط جمعیتی با استفاده از نرم‌افزار Admixture در محیط لینوکس انجام شد (۴). رسم گراف‌های مربوط به نتایج آنالیزهای مختلف در محیط R انجام گرفت (۶۷).

جستجوی نشانه انتخاب

جهت بررسی الگوی ژنومیک انتخاب مثبت بین گروه‌های ژنتیکی مجزا (هلشتاین و آمیخته‌های بومی شمال غرب ایران)، از روش‌های برآوردگر ناریب تتا F_{ST} ، XP-EHH^۴ و R_{sb} ^۳ استفاده شد. ارزش‌های F_{ST} برای هر SNP و فقط روی کروموزوم‌های اتوزومی در محیط R (۷۲)، انجام شد. جهت شناسایی بهتر سیگنال‌های انتخاب در سطح ژنوم به‌جای در نظر گرفتن ارزش عددی مستقیم هر SNP، از میانگین‌گیری ارزش‌های عددی SNP‌های مجاور به روش پنجره پیش‌رونده با طول ۵۰۰ کیلو جفت باز استفاده شد (۵۸). در نهایت ۱/۰ درصد نشانگرهای مورد مطالعه به‌عنوان نشانه‌های انتخاب تعیین شدند. جستجوی نشانه‌های انتخاب با استفاده از آماره‌های XP-EHH و R_{sb} توسط نرم‌افزار ReHH انجام گرفت. آماره‌های XP-EHH و R_{sb} از طریق آله‌هایی با فراوانی بالا و EHH^۵ بالا محاسبه می‌شوند. ابتدا ژنوم هر کدام از گروه‌های ژنتیکی به فرمت ورودی Beagle تبدیل شده و به‌طور مجزا توسط نرم‌افزار Beagle (۱۲)، برای نشانگرهای SNP گمشده ایمپوت و به حالت Phase تبدیل شدند. سپس آماره‌های XP-EHH و R_{sb} با استفاده از داده‌های Phase شده و توسط نرم‌افزار ReHH (۲۴) محاسبه شدند. گراف منهن پلات برای هر کدام از روش‌ها با استفاده از بسته نرم‌افزاری QQman در محیط R رسم گردید (۶۹).

نژاد هلشتاین، براون سوئیس، آیرشایر، جرسی و گرنزی هستند. از بین این نژادها، نژاد هلشتاین پر تولیدترین نژاد برای تولید شیر است. تولید بالای شیر در این نژاد به پتانسیل ژنتیکی نژاد و انجام اقدامات مؤثر اصلاح نژادی روی این حیوان، مربوط می‌شود. طی سال‌های اخیر در کنار مطالعات صورت گرفته روی دام‌های فرامرزی و اصیل دنیا، مطالعات متعددی روی نژادهای گاوهای بومی دنیا انجام شده است (۳۳،۳۹،۴۳). زیرا افزایش اطلاعات در خصوص ساختار و تنوع ژنتیکی نژادهای بومی جهت استفاده کارآمد از این نژادها در دامپروری و کشاورزی پایدار، شرایط پرورشی سخت و توسعه‌نیافته و نیز حفاظت ژنتیکی دام‌ها، اهمیت حیاتی دارد (۲۸). از آنجایی‌که نژادهای بومی قابلیت سازگاری بالا به محیط زندگی‌شان دارند و طول عمرشان به‌طور قابل توجهی طولانی‌تر است، مخزن ژنی نژادهای انتخاب‌نشده‌ی بومی، منبع ژنتیکی باارزشی به حساب می‌آید (۴۴).

آنالیز یا تجزیه مؤلفه‌های اصلی (PCA)^۱ یک روش معمول برای بررسی تمایز و گروه‌بندی جمعیت، در مطالعات ژنومی دام‌های اهلی است (۳۶). در این آنالیز، ساختار جمعیت بر مبنای میزان روابط ژنتیکی افراد جمعیت محاسبه و ترسیم می‌گردد. به عبارت دیگر، نتایج حاصل از آنالیز PCA نشان‌دهنده‌ی قرابت ژنتیکی میان افراد مورد مطالعه بر اساس ماتریس خویشاوندی ژنومی است. روش تحلیل افتراقی مؤلفه‌های اصلی (DAPC)^۲ روش دیگری است که در این راستا کاربرد دارد. در این روش برخلاف روش PCA که از هر دو جزء واریانس بین و درون گروه‌ها استفاده می‌کند، در روش افتراقی تفاوت بین گروهی بهینه‌شده و اختلافات بین گروه‌ها تا حد ممکن نشان داده می‌شود ولی واریانس داخل گروه‌ها حداقل می‌شود.

هدف از این مطالعه، استفاده از اطلاعات ژنومی جهت شناسایی مناطقی از ژنوم گاوهای هلشتاین و آمیخته‌های بومی شمال غرب ایران است که طی سال‌های متمادی تحت تأثیر نیروهای انتخاب طبیعی یا مصنوعی قرار گرفته‌اند. این مناطق ژنومی می‌توانند جزء مناطق ژنومی متمایز کننده‌ی نژادهای مذکور باشند. نتایج به‌دست‌آمده از این بررسی می‌تواند در تحلیل تفاوت‌های بین نژادهای مورد مطالعه و برنامه‌ریزی‌های اصلاح نژادی و تلاقی‌گری مفید باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه داده‌های ژنومی

در مطالعه حاضر از اطلاعات ژنومی ۱۶۰ نمونه (شامل ۶۰ رأس هلشتاین و ۱۰۰ رأس آمیخته‌های بومی شمال غرب ایران) استفاده شد. در این مطالعه جمع آوری نمونه‌های مربوط به ۱۰۰ رأس گاو آمیخته بومی شمال غرب ایران از استان آذربایجان شرقی، شهرستان سراب و از گله‌های مردمی که تحت نظارت سازمان جهاد کشاورزی و مرکز اصلاح نژاد بودند، انجام شد. اطلاعات ژنومی مربوط به ۱۰۰ رأس آمیخته‌های بومی شمال غرب ایران با همکاری شرکت ساینبا گستر البرز و با استفاده از ریزآرایه‌های GeneSeek Genomic Profiler (GPP) bovine 40K توالی‌یابی شدند

1 Principal Components Analysis

3- Cross-Population Extended Haplotype Homozygosity

5- Extended Haplotype Homozygosity

2- Discriminant Analysis of Principal Components

4- Extended haplotype homozygosity between-populations

مطالعات ژن آنتولوژی

موقعیت کروموزومی جایگاه‌های تحت انتخاب با موقعیت ژن‌های لیست شده برای ژنوم گاو (ARS-UCD1.2 Bos Taurus Genome) در پایگاه اطلاعاتی Ensemble Biomart Tool (۱۷) و نیز با موقعیت QTL‌های موجود برای ژنوم گاو (ARS-UCD1.2 Bos Taurus Genome) در پایگاه اطلاعاتی آنالین QTL‌های گاو (۸) هم‌ردیف سازی شده و اطلاعات مربوط به ژن‌ها و QTL‌های مرتبط با مناطق انتخابی تعیین شدند. برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های بدست آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی آنالین GeneCards (۲۵) و UniProtKB (۷۰) استفاده شد. مناطق ژنومی تحت انتخاب جهت آنالیزهای بیشتر و یافتن شبکه‌های ژنی، توسط نرم‌افزار DAVID (۱۴) مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج و بحث

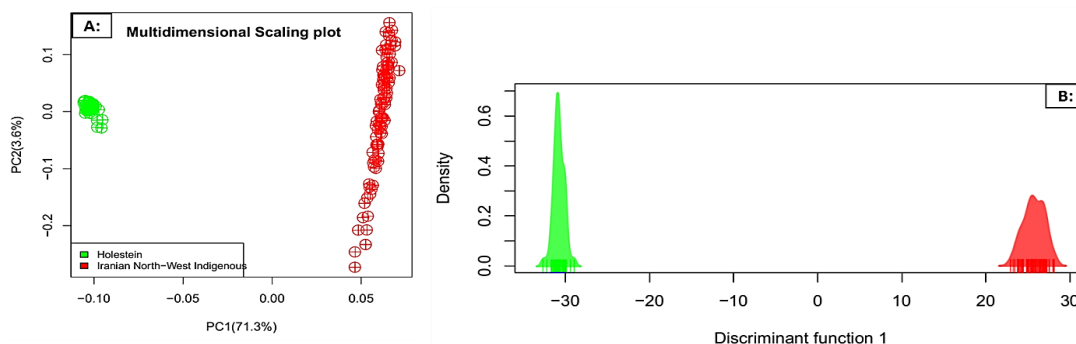
کنترل کیفی و غربالگری داده‌ها

پس از انجام مراحل مختلف غربالگری بر اساس اطلاعات

کنترل کیفی داده‌های خام و خویشاوندی حیوانات، در نهایت ۲۶۷۰۹ نشانگر SNP مربوط کروموزوم‌های بدنی از ۱۶۰ حیوان (به ترتیب از ۶۰ رأس هلشتاین و ۱۰۰ رأس آمیخته‌های بومی شمال غرب ایران) مراحل کنترل کیفیت را گذرانده و جهت انجام آنالیزهای نهایی، انتخاب شدند.

آنالیز ساختار جمعیت و تعیین برخی مؤلفه‌های تنوع

در این راستا سه روش متداول آنالیز یا تجزیه مؤلفه‌های اصلی (PCA)، روش تحلیل افتراقی مؤلفه‌های اصلی (DAPC) و آنالیز ADMIXTURE مورد استفاده قرار گرفت. نتایج آنالیز PCA و DAPC نشان داد که جمعیت‌های مورد مطالعه در ۲ دسته‌ی کاملاً مجزا قرار دارند (شکل ۱). در مجموع ۷۴/۹ درصد از واریانس کل با استفاده از اطلاعات PC‌های اول و دوم توجیه شد.

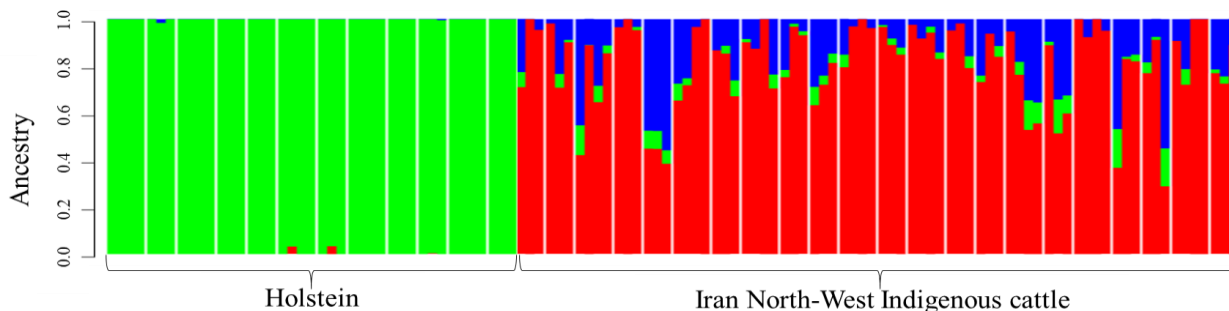


شکل ۱- نتایج آنالیزهای PCA (A) و DAPC (B) مربوط به گاوهای نژاد هلشتاین و آمیخته‌های بومی شمال غرب ایران با استفاده از اطلاعات نشانگرهای SNP

Figure 1. Results of PCA (A) and DAPC (B) analysis related to Holstein and Iranian North-West indigenous hybrid cattles using SNP markers information

جمعیتی حاکی از تمایز دو گروه ژنتیکی مورد مطالعه بود و نتایج آنالیزهای PCA و DAPC را تأیید کرد. نتایج همچنین نشان داد که گروه‌های مورد مطالعه کمترین اشتراک ژنتیکی را دارند. در ادامه جزئیات بیشتر تمایز جمعیتی با آنالیز شاخص تمایز جمعیتی ویر و کوکرهام (F_{ST}) مشخص شد.

در بررسی ساختار جمعیتی با استفاده از نرم‌افزار Admixture، اطلاعات جمعیتی با پیش فرض ۱ تا ۵ جمعیت اجدادی یا گروه ژنتیکی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مربوط به پیش فرض ۲ جمعیت اجدادی کمترین خطای cross-validation را داشت و بهترین وضوح را در رابطه با تمایز جمعیت‌ها ارائه داد (شکل ۲).



شکل ۲- نتایج آنالیز Admixture مربوط به گاوهای نژاد هلشتاین و آمیخته‌های بومی شمال غرب ایران با استفاده از اطلاعات نشانگرهای SNP

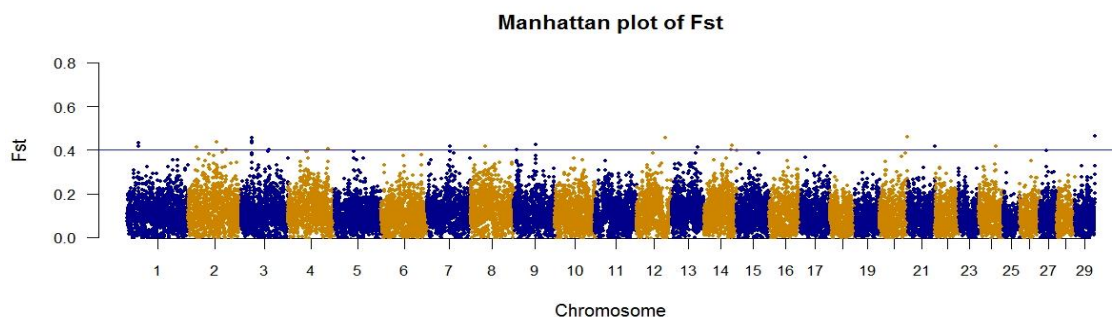
Figure 2. Results of Admixture analyse related to Holstein and Iranian North-West indigenous hybrid cattles using SNP markers information

بجای در نظر گرفتن ارزش عددی هر SNP از میانگین‌گیری ارزش‌های عددی SNPهای مجاور به روش پنجره پیش‌رونده با طول ۵۰۰ کیلو جفت باز صورت گرفت و تنها ۰/۱ درصد مناطقی از ژنوم که در آن تمام نشانگرهای مجاور دارای ارزش بالایی باشند، به‌عنوان نشانه‌های انتخاب شناسایی شدند (شکل ۳). این حد آستانه در مطالعات مختلف از ۰/۱ درصد (۴۸) تا ۲/۵ درصد (۵۸) متغیر بوده است. در نهایت ۲۱ ناحیه بر روی ژنوم که ارزش عددی بالاتر از ۰/۴ را داشتند، جهت بررسی‌های بیشتر تعیین شدند. این مناطق به‌ترتیب روی کروموزوم‌های ۱، ۲ (۳ ناحیه)، ۳ (۲ ناحیه)، ۴ (۲ ناحیه)، ۷، ۸، ۹ (۲ منطقه)، ۱۲، ۱۳، ۱۴ (۲ ناحیه)، ۲۰، ۲۱، ۲۴، ۲۷ و ۲۹ قرار داشتند (شکل ۳).

در بررسی ساختار جمعیتی گاوهای تونسی با روش‌های مختلف از جمله روش DAPC و PCA، دو مؤلفه اول ۲۰ درصد واریانس کلی را توصیف کرد و روش DAPC توانایی تشخیص بهتری بین نژادها از منشأ یکسان را داشت (۳۳). در مطالعه‌ای دیگر از روش مبتنی بر مدل در نرم‌افزار Admixture جهت بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت گاوهای بومی ایران (هر نژاد تقریباً ۱۰ نمونه) استفاده کردند. نتایج این تحقیق نشان داد که وجود سه گروه ژنتیکی به بهترین شکل تغییرات موجود در جمعیت‌ها را توجیه می‌کند. در این سطح از خوشه‌بندی ($K=3$) نژادهای سرابی، کردی و سیستانی خوشه‌های متمایزی را به خود اختصاص دادند و سایر نژادها آمیخته‌ای از این سه خوشه بودند (۳۵).

جستجوی نشانه‌های انتخاب

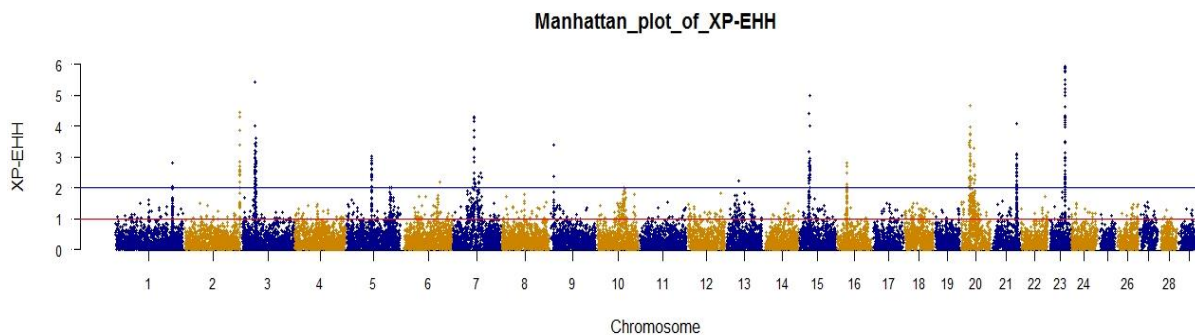
جهت شناسایی بهتر سیگنال‌های انتخاب در سطح ژنوم



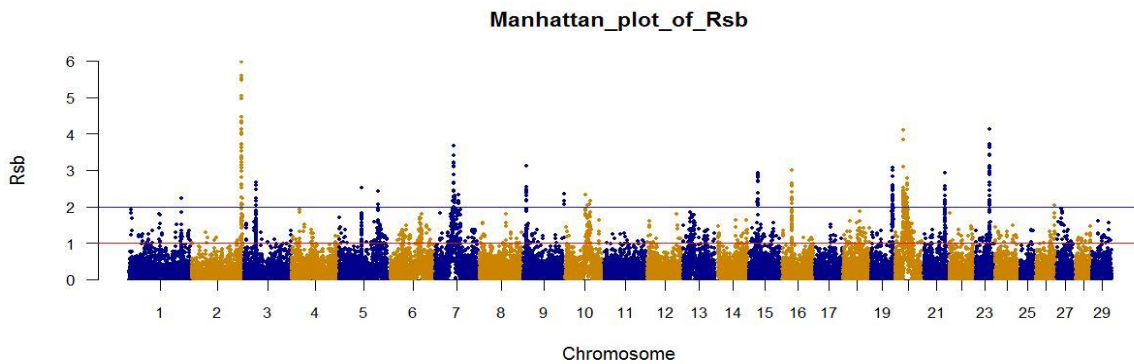
شکل ۳- تصویر منهن پلات مربوط به ارزش‌های میانگین‌گیری شده F_{ST} با طول پنجره‌ی ۰/۵ مگا جفت بازی در مقایسه‌ی بین گاوهای نژاد هلشتاین و آمیخته‌های بومی شمال غرب ایران. خط آبی حد آستانه‌ی شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب، در نظر گرفته شده است
Figure 3. Manhattan plot image of F_{ST} averaged values with a window length of 0.5 Mbp in comparison between Holstein and Iranian North-West indigenous hybrid cattles. The blue line is the threshold for identifying selected genomic regions

بارزتر و قدرتمندتری بودند و یا مشترک بودند، به‌عنوان نشانه انتخاب تعیین شدند (شکل‌های ۴ و ۵). مناطق شناسایی شده به‌ترتیب روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ۵ (۲ منطقه)، ۷ (۲ منطقه)، ۹ (۲ منطقه)، ۱۰ (۳ منطقه)، ۱۵، ۱۶، ۱۹، ۲۰ (۳ منطقه)، ۲۱ و ۲۳ قرار دارند.

در بررسی نشانه‌های انتخاب با استفاده از روش XP-EHH و Rsb به ترتیب تعداد ۱۶ و ۲۴ منطقه‌ی ژنومی که حد آستانه‌ای ۲ را گذرانده بودند. از این تعداد اکثر موارد مشترک بودند. از بین همه‌ی موارد که حد آستانه را گذرانده بودند، مواردی که (۲۰ ناحیه) در هر کدام از روش‌ها نشانه‌های



شکل ۴- تصویر منهن پلات مربوط به ارزش‌های XP-EHH در مقایسه‌ی بین گاوهای نژاد هلشتاین و آمیخته‌های بومی شمال غرب ایران خط آبی حد آستانه‌ی شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب، در نظر گرفته شده است
Figure 4. Manhattan plot image of XP-EHH values in comparison between the Holstein and Iranian North-West indigenous hybrid cattles. The blue line is the threshold for identifying selected genomic regions



شکل ۵- تصویر منهنن پلات مربوط به ارزش‌های Rsb در مقایسه‌ی بین گاوهای نژاد هلشتاین و آمیخته‌های بومی شمال غرب ایران. خط آبی حد آستانه‌ی شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب، در نظر گرفته شده است.

Figure 5. Manhattan plot image of Rsb values in comparison between the Holstein and Iranian North-West indigenously hybrid cattles. The blue line is the threshold for identifying selected genomic regions.

از قبیل چربی و پروتئین گزارش شده است. از این میان می‌توان به ارتباط ژن‌های SLC39A8، SLC34A2، SLCA3، SLC1A4، SLC30A4، SLC7A5، SLC6A2 و SLC35B1 با صفات مربوط به تولید و کیفیت شیر اشاره کرد (۵۰). ولی با توجه به طیف فعالیتی وسیع ژن‌های انتخابی این خانواده ژنی، اختصاص دقیق ژن‌های انتخابی این خانواده ژنی به مسیر بیولوژیکی خاصی امکان‌پذیر نیست. به هر حال در مطالعات پیشین به برخی از عملکردهای فیزیولوژیکی ژن‌های خانواده ژنی SLC شناسایی شده است. Sugimoto و همکاران (۶۵) نشان دادند که ژن SLC44A5 با افزایش وزن تولد در گاو ارتباط دارد. در بررسی‌های صورت گرفته روی ژن SLC26A4، ارتباط این ژن با شنوایی در انسان، تایید شد (۳۰، ۶۸). مطالعه Koolen (۳۸) نشان داد ژن SLC9A3 با کنترل عصبی تنفس ارتباط دارد. از ژن‌های مهم دیگر می‌توان به HBP1 (مرتبط با مسیر سیگنالینگ WNT)، RALB (درگیر با پاسخ سلولی به گرسنگی)، SEH1L (مرتبط با پاسخ‌های آلترژیک و پاسخ‌های ایمنی در مقابل باکتری‌ها)، PSMG2 (مرگ‌ومیر سلولی)، ADRB2 (درگیر در مسیرهای بیولوژیکی بسیار زیاد از قبیل نقل و انتقالات غشایی، پاسخ به گرما، تولید گرما، ترموژنسیز ناشی از غذا، مسیرهای معدنی شدن و نیز تحلیل استخوان‌ها)، CIDEA (هموستازی دمایی، متابولیسم چربی‌ها و نیز مرگ‌ومیر سلولی)، CRYZ (تولید و تبدیل انرژی) و نیز ژن PRKAR2B که در متابولیسم چربی و نیز ساختار دندریت‌ها در سیستم عصبی درگیر است. علاوه بر این ژن‌های دیگری از قبیل NGF، MAP2 و TSPAN2 در ساختار اعصاب درگیر هستند. ژن TSPAN2 همچنین در مسیر پاسخ التهابی مشارکت دارد. علاوه بر موارد گفته شده، برخی از ژن‌های شناسایی شده در این بخش از مطالعه از قبیل CIDEA در مرگ‌ومیر سلولی و در سطح موجود زنده با رشد در ارتباط هستند. همانطور که ذکر شد از جمله ژن‌های شاخص شناسایی شده، ژن HBP1 می‌باشد که با مسیر سیگنالینگ WNT ارتباط دارد. WNT8A یکی دیگر از ژن‌های شناسایی شده‌ی مهمی است که نقش‌های متنوعی در توسعه

نتایج ژن آنتولوژی مربوط به جستجوی نشانه انتخاب بین گاوهای نژاد هلشتاین و آمیخته‌های بومی شمال غرب ایران با استفاده از آماره‌های XP-EHH، F_{ST} و Rsb

جهت شناسایی ژن‌ها و QTL‌های مرتبط با بخش‌های انتخابی ژنوم، مناطق هم‌ردیف با مناطق انتخابی به علاوه ناحیه ۵۰۰ کیلو جفت بازی اطراف آن مناطق، مورد بررسی قرار گرفت. ۱۹ ناحیه از ۲۱ ناحیه تعیین شده با روش F_{ST} و ۲۰ ناحیه از ۲۴ ناحیه تعیین شده با روش XP-EHH و Rsb حاوی ژن‌های عملکردی و QTL‌ها بودند. به ترتیب تعداد ۱۰۴ و ۱۳۴ ژن از مناطق مربوطه شناسایی شد. در مجموع ژن‌های شناسایی شده در مسیرهای متابولیکی مرتبط با چشایی، بویایی، مسیرهای متابولیکی چربی‌ها، ایمنی بدن، عملکرد تولیدمثلی، توسعه بافت‌های عصبی، مرگ‌ومیر سلولی و انتقال دهنده‌ها یا گیرنده‌های غشایی فعال بوده و نقش داشتند. با توجه به تعدد ژن‌های شناسایی شده، در ادامه به عملکرد برخی از ژن‌های شناسایی شده، اشاره می‌گردد. همانطور که در جدول ۱ آورده شده است، بخشی از ژن‌ها به خانواده ژنی SLC مربوط بودند. این ژن‌ها عبارت هستند از SLC9A3، SLC32A1، SLC26A4، SLC44A5. این خانواده ژنی نقش‌های بسیار اساسی به خصوص در زمینه انتقال مواد از طریق غشاء سلولی دارند. اکثر مطالعات صورت گرفته روی خانواده ژنی SLC مربوط به جمعیت‌های انسانی است. چرا که در جوامع انسانی بیشتر مورد تمایز و انتخاب قرار گرفته‌اند. این خانواده ژنی نقش‌های متنوعی در مکانیسم‌های زیستی بر عهده دارند. در مطالعات مختلف ارتباط این خانواده ژنی با رنگدانه‌های پوست (۷۱، ۵۲، ۴۰)، فرایندهای از قبیل افزایش (SLC27A4) و اکسیداسیون (SLC25A20) اسیدهای چرب غذا نشان داده شده است (۷۱). این خانواده ژنی نقش‌های بیولوژیکی بسیار گسترده‌ای از قبیل سیگنال‌دهی پرولاکتین، ترشح انسولین، جذب طیف وسیعی از مواد مغذی، سنتز هورمون تیروئید و مسیرهای متابولیکی مختلف دیگر دارند (۱۸). به علاوه در مطالعات دیگری ارتباط این خانواده ژنی با صفات تولید و ترکیبات شیر

مؤثر بوده و بخصوص تشخیص مزه تلخ نقش کارآمدی دارند (۱۸). در کنار این ژن‌ها، ژن‌های مرتبط با حس بویایی هستند که در نواحی مختلف انتخابی به‌عنوان نشانه‌های انتخاب تعیین شدند. به طور کلی حیوانات قادرند از طریق گیرنده‌های چشایی ۵ مزه‌ی اصلی را تشخیص دهند. از میان مزه‌ها، طعم تلخ به طور گسترده‌تری مورد مطالعه قرار گرفته است. گیرنده‌های تلخی در گیاه‌خواران پیچیده بوده و بسیار حائز اهمیت هستند، زیرا اعتقاد بر این است که گیرنده‌های طعم تلخ برای تشخیص و جلوگیری از مصرف گیاهان سمی تکامل یافته است (۲۲). درک طعم در یک گونه با رژیم غذایی و محیط زندگی آن گونه ارتباط دارد (۶۱). بنابراین تنوع ژنتیکی در گیرنده‌های طعم ممکن است دلیل تفاوت در انتخاب غذا و عادات غذایی باشد (۲۲). بنابراین، کاوش ژنتیکی گیرنده‌های طعم تلخ در درک و تحلیل بهتر رفتار تغذیه‌ای حیوانات از نظر ترجیحات غذایی و سازگاری با شرایط و محیط تغذیه‌ای، مفید است (۲۱). در حالت کلی، این ژن‌ها شاخصی از تکامل و سازگاری دام‌ها به شرایط محیطی مختلف در نظر گرفته می‌شوند (۲۱). نکته قابل توجه در خصوص ژن‌های مرتبط با سازگاری بین گروه‌های مورد مطالعه، عدم وجود ژن‌هایی از این خانواده از قبیل پروتئین‌های استرس گرمایی بود. این سری ژن‌ها در مقایسات دام‌های بومی مناطق گرمسیری در مقابل نژادهای اصیل اروپا به چشم می‌خورد. البته با توجه به شرایط اقلیمی گروه‌های مورد بررسی در مطالعه حاضر، انتظار شناسایی این قبیل ژن‌ها، خیلی محتمل به نظر نمی‌رسید. مواردی که اشاره شد، تنها بخشی از عملکرد بیولوژیکی ژن‌های شناسایی شده است. ژن‌های به دست آمده در این بخش در DAVID و EnrichmentMap جهت تعیین و مشخص کردن مسیرهای بیولوژیکی و شبکه‌های ژنی مورد بررسی قرار گرفت. ژن‌های شناسایی شده از طریق هم‌ردیف سازی مناطق تعیین شده به‌عنوان نشانه انتخاب، جهت بررسی بیشتر و تعیین مسیرهای بیولوژیکی فعال در موجود زنده به پایگاه اطلاعاتی DAVID منتقل شدند و تنها یک شبکه با Enrichment Score برابر ۳/۱۳ و p-value برابر $10^{-9} \times 4/5$ شناسایی شد. این شبکه ژنی با گیرنده‌های چشایی و بیشتر تشخیص مزه‌های تلخ ارتباط داشتند (۱۴).

آندودرم، تمایز سلول‌های عصبی و مسیر سیگنالینگ Wnt دارد. ژن‌هایی از خانواده Wnt شامل Wnt11، Wnt5A و Wnt6 می‌توانند از طریق مسیر سیگنالینگ Wnt در توسعه و رشد غدد پستانی و نیز تولید شیر مطرح باشند (۳،۴۶). ژن HBP1 در مطالعه کساردا و همکاران (۳۶) به عنوان نشانه انتخاب شناسایی شد که این ژن با صفات تولیدمثلی ارتباط دارد. از سایر ژن‌های شناسایی شده می‌توان به ژن STAG1 اشاره کرد. از این گروه ژنی، ژن STAG3 در مطالعه‌ی کساردا و همکاران (۳۶) به عنوان نشانه مرتبط با صفات تولیدمثلی معرفی شده است. از دیگر ژن‌های شناسایی شده، می‌توان به ژن DNAJC14 اشاره کرد که مربوط به خانواده‌ای از ژن‌هاست که نقش عمده‌ای در طی اهلی شدن داشته و در تحمل یا حساسیت به گرما نقش دارد. همچنین از ژن‌های شاخص مرتبط با مناطق انتخابی، می‌توان به ژن‌های مرتبط با ایمنی شامل MYOT، MYBPHL و NXPE2 اشاره کرد (۱۹،۱۸). ژن MYBPHL در بروز بیماری‌های قلبی در انسان نقش دارد (۲۹). ژن RNF41 نیز با سیستم ایمنی بدن ارتباط دارد. در مطالعه Kasarda و همکاران (۳۶) نیز ژن‌های مرتبط با ایمنی به عنوان نشانه‌های انتخاب گزارش شده است. البته در مطالعات دیگر عملکردهای دیگری برای ژن‌های مذکور آورده شده است. به‌عنوان مثال ژن MYOT یک ژن چند عملکردی است که در توسعه ماهیچه و در نتیجه کیفیت و کمیت گوشت در گاو نقش دارد (۱). همچنین این ژن به عنوان ژن مرتبط با چاقی و چربی پشت در خوک معرفی شده است که ژن‌های درگیر در متابولیسم چربی از جمله ژن‌هایی هستند که می‌توانند در کیفیت شیر تولیدی نقش داشته باشند (۵۹). ژن NXPE2 نیز در مطالعه ارتباطی روی ژنوم گاو میش‌های ایرانی به عنوان ژن مرتبط با تولید شیر گزارش شد (۴۵).

برخی از ژن‌ها از قبیل ژن‌های درگیر در حس بویایی، توسعه مغز و ایمنی احتمالاً در مسیرهای بیولوژیکی دخالت دارند که با اهلی شدن حیوانات ارتباط دارد. ژن‌های درگیر در تولید نیز عمدتاً با رشد (مرگ‌ومیر سلولی) ارتباط دارند. از سری ژن‌های مرتبط با اهلی شدن، می‌توان به ژن‌های TAS2R42، TAS2R42، T2R65A، T2R12، GNAT2، LOC782957 و T2R10B اشاره کرد که روی حس چشایی

جدول ۱- لیست ژنهای شناسایی شده مربوط به نواحی مورد انتخاب بین گاوهای نژاد هلستاین و آمیخته‌های بومی شمال غرب ایران با استفاده از روش‌های F_{ST} ، XP-EHH و Rsb

Table 1. List of identified genes related to selected regions between Holstein and Iranian North-West indigenous hybrid cattles using F_{ST} , XP-EHH and Rsb methods

ژن‌های شناسایی شده	آماره‌ها	ناحیه پایان (Kbp)	ناحیه شروع (Kbp)	کروموزوم
STAG1 - MSL2 - ENSBTAG00000054797 - ENSBTAG00000052750	Rsb و XP_EHH	133.11	132.42	1
RSRP1 - SYF2 - RUNX3 - STPG1	Rsb و XP_EHH	128.56	127.71	2
ENSBTAG00000050694 - NHLH2 - CASQ2 - NGF - TSPAN2 - U6 - 7SK - SIK1 - CSDE1 - NRAS - AMPD1	F_{ST}	28.66	27.05	3
EPS8L3 - GSTM3 - GNAT2 - AMIGO1 - PSMA5 - SORT1 - MYBPHL - PSRC1 - C3H1orf194 - TAF13 - ENSBTAG00000018806 - WDR47 - CLCC1	Rsb و XP_EHH	34.43	33.63	3
GLS2 - MIP - TIMELESS - APOF - APON - STAT2 - PAN2 - CNPY2 - bta-mir-12054 - CS - ANKRD52 - ENSBTAG00000052591 - RNF41 - SMARCC2 PMEL - PYM1 - MMP19 - DNAJC14 - SARNP ENSBTAG00000009051 - CD63- ITGA7 - OR10P25 - ENSBTAG00000011931 - OR6C264	Rsb و XP_EHH	57.79	56.91	5
ENSBTAG00000006605 (OR) - TAS2R42 - ENSBTAG00000052662 (OR) - ENSBTAG00000053012 - TAS2R46 - ENSBTAG00000051472 - ENSBTAG00000049848 - T2R65A - ENSBTAG0000001336 - T2R12 - BOTAT2R10B	Rsb و XP_EHH	98.71	98.55	5
MYOT - PKD2L2 - ENSBTAG00000052546 - WNT8A	Rsb و XP_EHH	49.53	49.33	7
RBM27 - POU4F3 - U6 - TCERG1	Rsb و XP_EHH	57.7	57.42	7
SPINK5 - SPINK6 - SPINK7 - FBXO38 - ADRB2-ENSBTAG00000052309 - ENSBTAG00000052607 - RIMS1 - ENSBTAG00000048046	F_{ST}	60.23	59.32	7
RIMS1	Rsb و XP_EHH	11.7	10.63	9
U6 - ENSBTAG00000033083	F_{ST}	11.7	11.09	9
C9H6orf120 - ERMARD - ENSBTAG00000020238 - FAM120B - TBP	Rsb و XP_EHH	55.8	55.5	9
LEO1	Rsb و XP_EHH	103.5	103.49	9
LYSMD2 - DMXL2 - CYP19A1-ENSBTAG00000035437	Rsb و XP_EHH	59.16	58.4	10
SLC30A4 - GATM - ENSBTAG00000000737	Rsb و XP_EHH	58.45	58.45	10
HTR3B -U6 - HTR3A - ZBTB16 - RBM7 -REXO2- NXPE2 - ENSBTAG00000048598 - ENSBTAG00000008219 -ENSBTAG00000008219 - CLDN25	Rsb و XP_EHH	65.11	64.95	10
MIA3 - BROX - FAM177B DISP1 - CCDC185 - ENSBTAG00000007595	Rsb و XP_EHH	24.33	24.33	15
CD300E -CD300H - CD300LB - BTBD17 - ENSBTAG00000049777 - ENSBTAG00000053365 - ENSBTAG00000008328 - ENSBTAG ANKRD55 -IL6ST - bta-mir-2359 - SLC38A9 - ENSBTAG0000001651 - ENSBTAG00000010278	Rsb و XP_EHH	26.85	26.1	16
U6	Rsb و XP_EHH	57.24	56.77	19
OXCT1 - PLCXD3 - C6 - MROH2B	Rsb و XP_EHH	23.54	22.56	20
CLPTM 1L - TERT - bta-mir-12015 - SLC12A7 - BRD9 - TPPP - SLC9A3 - 5S_rRNA - CCDC127 - RNH1 - ENSBTAG00000053495	Rsb و XP_EHH	27.97	27.97	20
U6 - TMEM251 - UBR7 - UNC79 - FAM181A - CCDC197 - OTUB2	Rsb و XP_EHH	33.51	32.67	20
5S_Rrna - TPMT - NHLRC1 - KIF13A - U6 - bta-mir-2325b	F_{ST}	71.95	71.12	20
RNH1 - ANO9 - SIGIRR - IFITM3 - ENSBTAG00000053929	XP_EHH & Rsb	58.66	57.77	21
	XP_EHH & Rsb	40.39	39.42	23
	F_{ST}	51	50.79	29

روزانه و شاخص رشد، عمق بدن، ارتفاع هیپ، ارتفاع دام، عمق پستان، ساختار پاها، زاویه پاها و امتیاز ساختار بدنی و نیز صفات مرتبط با کیفیت گوشت از قبیل محتویات برخی ترکیبات از قبیل فسفر، منیزیم و کراتین گوشت، رنگ گوشت، چربی زیر جلدی و برخی اندام‌های داخلی مثل قلب و کلیه، همچنین صفات میزان مقاومت یا حساسیت در مقابل برخی بیماری‌ها و انگل‌ها از قبیل مقاومت به کنه، حساسیت به بیماری سل گاو، حساسیت به بیماری‌های تنفسی و برخی عوامل ایمنی بدنی از قبیل بازوفیل و اتوزینوفیل و نیز برخی صفات تولیدمثلی شامل نرخ آبستنی، شاخص باروری، تلقیح به ازای آبستنی، فاصله اولین تا آخرین تلقیح در ماده‌ها و محیط بیضه‌ها و نرخ آبستنی دختران در نرها، ارتباط نشان دادند (۳۲). جزئیات بیشتر در مورد این ارتباط‌ها را می‌توان با ارجاع به منابع مورد مطالعه به‌طور کامل مورد بررسی قرار داد (۳۲) ولی به دلیل حجم بالای مطالب در اینجا فقط به کلیاتی جمع‌بندی شده اشاره شد.

نتایج QTLهای مربوط به جستجوی نشانه انتخاب بین نژاد هلستاین و آمیخته‌های بومی شمال غرب ایران با استفاده از آماره‌های F_{ST} ، XP-EHH و Rsb

از مجموع مناطق ژنومی شناسایی شده به‌عنوان نشانه انتخاب از روش‌های XP-EHH و Rsb، ۱۹ ناحیه و از میان ۲۱ منطقه ژنومی شناسایی شده از روش F_{ST} ، تعداد ۸ منطقه ی ژنومی با طول حدودی ۹ مگا جفت باز حاوی QTLهای مرتبط با صفات عملکردی بودند. در مجموع QTLهای شناسایی شده از کل آماره‌های مورد مطالعه با میزان تولید شیر و تداوم شیردهی، صفات مرتبط با کیفیت شیر شامل میزان و درصد چربی و پروتئین شیر، محتوی و پروفایل اسیدهای چرب شیر (از قبیل لینولئیک، کاپریک، کاپریلیک، میریستیک، استئاریک، پالمیتیک، لوریک، پنتادی‌اسیلیک، اولئیک)، نسبت اسید چرب امگا ۶ به ۳، نسبت کاپا کاربئن شیر، سرعت پایین آمدن شیر و تعداد سلول‌های شیر ارتباط داشتند. QTLهای شناسایی شده مرتبط با رشد و ابعاد بدنی از قبیل اوزان تولد، شیرگیری، یک‌سالگی و بلوغ، وزن متابولیکی، افزایش وزن

عمدتاً در صفات تولیدی و تولیدمثلی، صفات رشد و ایمنی نقش داشتند. شناسایی جایگاه‌های تحت انتخاب، علاوه بر درک بهتر چگونگی عمل انتخاب طبیعی و مصنوعی روی نژاد هلشتاین و آمیخته‌های شمال غرب ایران، می‌تواند به شناسایی QTLها و نواحی مرتبط با صفات اقتصادی مهم کمک کند، ولی جهت شناسایی نقش دقیق این ژن‌ها و QTLها بایستی مطالعات پیوستگی و عملکردی بیشتری انجام گیرد.

در کل نتایج مربوط به اطلاعات ژن‌ها نشان می‌دهد که ژن‌های انتخابی در نقل و انتقالات سلولی، رشد و توسعه بافت‌های بدن (ژن‌های مرتبط با مرگومیر سلولی، عموماً در رشد نقش بسزایی دارند)، تشکیل استخوان‌ها و نیز ساختار اعصاب نقش دارند. همچنین برخی از ژن‌های شناسایی شده می‌توانند از طریق مسیر سیگنالینگ WNT در تولید شیر نقش داشته باشند. ژن‌های شناسایی شده همچنین در مسیر ایمنی در مقابل عوامل بیماری‌زا نقش داشتند. QTLها هم

منابع

1. Adoligbe, C.M., L. Zan and S. Farougou. 2016. Functional analysis and association studies of bovine MYOT gene with meat quality. *Journal of Animal Science*, 94: 59-60.
2. Akey, J.M. 2009. Constructing genomic maps of positive selection in humans: where do we go from here? *Genome Research*, 19(5): 711-722.
3. Alexander, C.M., S. Goel, S.A. Fakhraldeen and S. Kim. 2012. Wnt signaling in mammary glands: plastic cell fates and combinatorial signaling. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(10): 8037-8042.
4. Alexander, D.H. and K. Lange. 2011. Enhancements to the ADMIXTURE algorithm for individual ancestry estimation. *BMC Bioinformatics*, 12(246): 1-6.
5. Alexander, D.H., J. Novembre and K. Lange. 2009. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Research*, 19(9): 1655-1664.
6. Almeida, O.A.C., G.C.M. Moreira, F.M. Rezende, C. Boschiero, P.J. de Oliveira and A.M.G. Ibelli. 2019. Identification of selection signatures involved in performance traits in a paternal broiler line. *BMC Genomics*, 20(449): 1-20.
7. Álvarez, I., I. Fernández, A. Traoré, L. Pérez-Pardal, N.A. Menéndez-Arias and F. Goyache. 2020. Genomic scan of selective sweeps in Djallonké (West African Dwarf) sheep shed light on adaptation to harsh environments. *Nature*, 10(2824): 1-13.
8. Animalgenome: National animal genome research program. <http://www.animalgenome.org/cgi-bin/OTLdb/BT/browse/>.
9. Bahbahani, H., H.H. Musa, D. Wragg, E.S. Shuiep, F. Almathen and O. Hanotte. 2019. Genome diversity and signatures of selection for production and performance traits in dromedary camels. *Frontiers in Genetics*, 10(893):1-14.
10. Bertolini, F., B. Servin, A. Talenti, E. Rochat, E.S. Kim, C. Oget and P. Crepaldi. 2018. Signatures of selection and environmental adaptation across the goat genome post-domestication. *Genetics Selection Evolution*, 50(1): 1-24.
11. Brito, L.F., J.W. Kijas, R.V. Ventura, M. Sargolzaei, L.R. Porto-Neto and A. Cánovas. 2017. Genetic diversity and signatures of selection in various goat breeds revealed by genome-wide SNP markers. *BMC Genomics*, 18(229): 1-19.
12. Browning, S.R. and B.L. Browning. 2007. Rapid and accurate haplotype phasing and missing-data inference for whole-genome association studies by use of localized haplotype clustering. *The American Journal of Human Genetics*, 81(5): 1084-1097.
13. Chen, N., Y. Cai, Q. Chen, R. Li, K. Wang, Y. Huang and C. Lei. 2018. Whole-genome resequencing reveals world-wide ancestry and adaptive introgression events of domesticated cattle in East Asia. *Nature Communications*, 9(1): 1-13.
14. DAVID: The Database for annotation, visualization and integrated discovery. <https://david.ncifcrf.gov/>.
15. Dorfman, R., C. Taylor, F. Lin, L. Sun, A. Sandford, P. Paré and Members of the Canadian Consortium for CF Genetic Studies. 2011. Modulatory effect of the SLC9A3 gene on susceptibility to infections and pulmonary function in children with cystic fibrosis. *Pediatric pulmonology*, 46(4): 385-392.
16. Edea, Z., H. Dadi, T. Dessie and K.S. Kim. 2019. Genomic signatures of high-altitude adaptation in Ethiopian sheep populations. *Genes and Genomics*, 41: 973-981.
17. Ensembl BioMart: Ensembl online genome data base BioMart Tool. <http://www.ensembl.org/biomart/martview/>.
18. EntrezGene: NCBI Resources EntrezGene. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.
19. Falconer, D.S. and T.F.C. Mackay. 1996. Introduction to quantitative genetics. 4rd edn., Longman, Essex, 478 pp.
20. Fariello, M.I. B. Servin, G. Tosser-Klopp, R. Rupp, C. Moreno, M. San Cristobal and International Sheep Genomics Consortium. 2014. Selection signatures in worldwide sheep populations. *PLoS One*, 9(8): 103813.

21. Ferreira, A.M., S.S. Araújo, E. Sales-Baptista and A.M. Almeida. 2013. Identification of novel genes for bitter taste receptors in sheep (*Ovis aries*). *Animal*, 7(4): 547-554.
22. Garcia-Bailo, B., C. Toguri, K.M. Eny and A. El-Sohemy. 2009. Genetic variation in taste and its influence on food selection. *OMICS*, 13: 69-80
23. Gautier, M. and R. Vitalis. 2012. rehh: An R package to detect footprints of selection in genome-wide SNP data from haplotype structure. *Bioinformatics*, 28(8): 1176-1177.
24. Gautier, M., D. Laloë and K. Moazami-Goudarzi. 2010. Insights into the genetic history of French cattle from dense SNP Data on 47 worldwide breeds. *PLOS ONE*, 5(9): 13038.
25. GeneCards: The Human Gene Database. <http://www.genecards.org>.
26. Gregorv, T.R. 2009. Artificial selection and domestication: modern lessons from Darwin's enduring analogy. *Evolution: Education and Outreach*, 2: 5-27.
27. Grilz-Seger, G., M. Neuditschko, A. Ricard, B. Velie, G. Lindgren and M. Mesarič. 2019. Genome-wide homozygosity patterns and evidence for selection in a set of European and near eastern horse breeds. *Genes (Basel)*, 10: 491.
28. Groenen, M.A., A.L. Archibald, H. Uenishi, C.K. Tuggle, Y. Takeuchi, M.F. Rothschild and L.B. Schook. 2012. Analyses of pig genomes provide insight into porcine demography and evolution. *Nature*, 491(7424): 393-398.
29. Hariharan, P. and J. Dupuis. 2021. Mapping gene and gene pathways associated with coronary artery disease: a CARDIoGRAM exome and multi-ancestry UK biobank analysis. *Scientific Reports*, 11(1): 1-15.
30. Honda, K. and A.J. Griffith. 2021. Genetic architecture and phenotypic landscape of SLC26A4-related hearing loss. *Human Genetics*, 1-10.
31. Hu, Z.L., C.A. Park and J.M. Reecy. 2022. Bringing the animal QTLdb and CorrDB into the future: meeting new challenges and providing updated services. *Nucleic acids research*, 50(D1): 956-961.
32. Igoshin, A.V., N.S. Yudin, N.M. Belonogova and D.M. Larkin. 2019. Genome-wide association study for body weight in cattle populations from Siberia. *Animal Genetics*, 50: 250-265.
33. Jemaa, S.B., M. Boussaha, M.B. Mehdi, J.H. Lee and S.H. Lee. 2015. Genome-wide insights into population structure and genetic history of Tunisian local cattle using the illumina bovinesnp50 beadchip. *BMC Genomics*, 16(1): 1-13.
34. Jombart, T. 2008. adegenet: A R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24: 1403-1405.
35. Karimi, K., E.M. Strucken, N. Moghaddar, M.H. Ferdosi, A. Esmailizadeh and C. Gondro. 2016. Local and global patterns of admixture and population structure in Iranian native cattle. *BMC genetics*, 17(1): 1-14.
36. Kasarda, R., N. Moravčíková, B. Olšanská, G. Mészáros, L. Vostrý, H. Vostrá-Vydrová and J. Candrák. 2021. The evaluation of genomic diversity and selection signals in the autochthonous Slovak Spotted cattle. *Czech Journal of Animal Science*, 66(7): 251-261.
37. Kijas, J.W., J.S. Ortiz, R. McCulloch, A. James, B. Brice, B. Swain and International Goat Genome Consortium. 2013. Genetic diversity and investigation of polledness in divergent goat populations using 52088 SNPs. *Animal Genetics*, 44(3): 325-335.
38. Koolen, L.A. 2021. Effects of serotonin 1A receptor transmission on neural control of respiration (Doctoral dissertation, University of Bristol).
39. Kukuckova, V., N. Moravcikova, M. Simcic, M. Ferencakovié, G. Mészáros, J. Solkner, A. Trakoviccka, O. Kadleeik, I. Curik and R. Kasarda. 2017. Genomic characterization of Pinzgau cattle: genetic conservation and breeding perspectives. *Conservation Genetics*, 18: 893-910.
40. Lamason, R.L., M. Mohideen, J.R. Mest, A.C. Wong and H.L. Norton. 2005. SLC24A5, a putative cation exchanger, affects pigmentation in zebrafish and humans. *Science*, 310: 1782-1786.
41. Li, C., D.S. Sun, S. Zhang, X. Wang, Q. Wu, L. Zhang, Y. Li and L. Qiao. 2014. Genome wide association study identifies 20 novel promising genes associated with milk fatty acid traits in Chinese Holstein. *PLoS One*, 9(5): e96186.
42. Maiorano, A.M., D.L. Lourenco, S. Tsuruta, A.M.T. Ospina, N.B. Stafuzza and Y. Masuda. 2018. Assessing genetic architecture and signatures of selection of dual purpose Gir cattle populations using genomic information. *PLoS One*, 13: 0200694.
43. Mastrangelo, S., S.B. Jemaa, E. Ciani, G. Sottile, A. Moscarelli and M. Boussaha. 2020. Genome-wide detection of signatures of selection in three Valdostana cattle populations. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 137: 609-621.
44. Medugorac, I., A. Medugorac, I. Russ, C.E. Veit-Kensch, P. Taberlet and B. Luntz. 2009. Genetic diversity of European cattle breeds highlights the conservation value of traditional unselected breeds with high effective population size. *Molecular Ecology*, 18: 3394-3410.
45. Mokhber, M. 2017. Genome-wide association study for milk production in Iranian buffalo. In 1st International and 5th National Conference on Organic vs. Conventional Agriculture, Ardabil, Iran. 16-17th August 2017 (In Persian).

46. Mokhber, M., M. Moradi-Shahrbabak, M. Sadeghi, H. Moradi-Shahrbabak, A. Stella, E. Nicolzzi and J.L. Williams. 2018. A genome-wide scan for signatures of selection in Azeri and Khuzestani buffalo breeds. *BMC Genomics*, 19(1): 1-9.
47. Mokhber, M., M. Moradi-Shahrbabak, M. Sadeghi, H. Moradi-Shahrbabak and J. Williams. 2015. Genome-wide survey of signature of positive selection in Khuzestani and Mazandrani buffalo breeds. *Iranian Journal of Animal Science*, 46(2) (In Persian).
48. Moradi, M.H., A. Nejati-Javaremi, M. Moradi-Shahrbabak, K.G. Dodds and J.C. McEwan. 2012. Genomic scan of selective sweeps in thin and fat tail sheep breeds for identifying of candidate regions associated with fat deposition. *BMC Genetics*, 13:10.
49. Muñoz, M., R. Bozzi and J. Garcia-casco. 2019. Genomic diversity, linkage disequilibrium and selection signatures in European local pig breeds assessed with a high density SNP chip. *Scientific Reports*, 9: 13546.
50. Nolte, W., G. Thaller and C. Kuehn. 2019 Selection signatures in four German warmblood horse breeds: tracing breeding history in the modern sport horse. *PLoS One*, 14: 1-25.
51. Ogorevc, J., T. Kunej, A. Razpet and P. Dovc. 2009. Database of cattle candidate genes and genetic markers for milk production and mastitis. *Animal Genetics*, 40: 832-851.
52. Pardridge, W.M. 2005. The blood-brain barrier: bottleneck in brain drug development. *Neurotherapeutics: journal of the American Society for Experimental Neurotherapeutics (ASENT)*, 2(1): 3-14.
53. Price, A.L., N.J. Patterson, R.M. Plenge, M.E. Weinblatt, N.A. Shadick and D. Reich. 2006. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nature Genetics*, 38(8): 904-909.
54. Purcell, S., B. Neale, K. Todd-Brown, L. Thomas, M.A.R. Ferreira, D. Bender, J. Maller, P. Sklar, P.I.W. de-Bakker, M.J. Daly and P.C. Sham. 2007. PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *American Journal of Human Genetics*, 81: 559-575.
55. Qanbari, S. and H. Simianer. 2014. Invited review: mapping signatures of positive selection in the genome of livestock. *Livestock Science*, 166: 133-143.
56. Qanbari, S., E.C. Pimentel, J. Tetens, G. Thaller, P. Lichtner, A.R. Sharifi and H. Simianer. 2010. A genome-wide scan for signatures of recent selection in Holstein cattle. *Animal Genetics*, 41(4): 377-389
57. Qanbari, S., H. Pausch, S. Jansen, M. Somel, T.M. Strom, R. Fries and H. Simianer. 2014. Classic selective sweeps revealed by massive sequencing in cattle. *PLoS Genetics*, 10(2): e1004148.
58. Qanbari, S., T.M. Strom, G. Haberer, S. Weigend and A.A. Gheyas. 2012. A high resolution genome-wide scan for significant selective sweeps: An application to pooled sequence data in laying chickens. *PLoS One*, 7(11): e49525.
59. Revilla, M., M. Ballester, A. Puig-Oliveras, A. Castelló, A.I. Fernández and J.M. Folch. 2016. P3018 Gene expression analysis in backfat and identification of eQTL regions for fatness and fatty acid composition candidate genes in pigs. *Journal of Animal Science*, 94(4): 60-61.
60. Sabeti, P.C., S.F. Schaffner, B. Fry, J. Lohmueller, P. Varilly, O. Shamovsky, A. Palma, T.S. Mikkelsen, D. Altshuler and E.S. Lande. 2006. Positive natural selection in the human lineage. *Science*, 3129: 1614-1620.
61. Shi, P. and J. Zhang. 2006. Contrasting modes of evolution between vertebrate sweet/umami receptor genes and bitter receptor genes. *Molecular Biology and Evolution*, 23: 292-300.
62. Signer-Hasler, H., A. Burren, M. Neuditschko, M. Frischknecht, D. Garrick and C. Stricker. 2017. Population structure and genomic inbreeding in nine Swiss dairy cattle populations. *Genetics Selection Evolution*, 49: 1-13.
63. Simianer, H., Y. Ma and S. Qanbari. 2014. Statistical problems in livestock population genomics. *Proceedings, 10th Congress of Genetics Applied to Livestock Production, 17-22 August, Vancouver, BC, Canada*.
64. Stella, A., P. Ajmone-Marsan, B. Lazzari and P. Boettcher. 2010. Identification of selection signatures in cattle breeds selected for dairy production. *Genetics*, 185: 1451-1461.
65. Sugimoto, M., T. Watanabe and Y. Sugimoto. 2012. The molecular effects of a polymorphism in the 5' UTR of solute carrier family 44, member 5 that is associated with birth weight in Holsteins. *PLoS One*, 7(7): e41267
66. Sun, T., G. Huang, Z. Wang and S. Teng. 2020. Selection signatures of Fuzhong Buffalo based on whole-genome sequences. *BMC genomics*, 21: 674.
67. The R Project for Statistical Computing: Free software environment for statistical computing and graphics. [http:// www.r-project.org/](http://www.r-project.org/).
68. Tsukada, K., S.Y. Nishio, M. Hattori and S.I. Usami. 2015. Ethnic-specific spectrum of GJB2 and SLC26A4 mutations: their origin and a literature review. *Annals of Otolaryngology & Laryngology*, 124(1): 61-76.
69. Turner, S.D. 2014. QQman: An R package for visualizing GWAS results using Q-Q and manhattan plots. *bioRxiv*, 5165.

70. UniProtKB. <http://www.uniprot.org/>.
71. Voight, B.F., S. Kudravalli, X. Wen and J.K. Pritchard. 2006. A Map of recent positive selection in the human genome. *PLoS Biology*, 4(3): e72.
72. Walugembe, M., F. Bertolini, C.M.B. Dematawewa, M.P. Reis, A.R. Elbeltagy and C.J. Schmidt. 2019. Detection of selection signatures among brazilian, sri lankan, and egyptian chicken populations under different environmental conditions. *Frontiers in Genetics*, 9:737.
73. Weir, B.S. and C.C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38: 1358-1370.
74. Weldenegodguad, M., R. Popov, K. Pokharel, I. Ammosov, Y. Ming, Z. Ivanova and J. Kantanen. 2019. Whole-genome sequencing of three native cattle breeds originating from the northernmost cattle farming regions. *Frontiers in Genetics*, 9: 728.
75. WIDDE: a Web-Interfaced next generation Database dedicated to genetic Diversity Exploration. <http://widde.toulouse.inra.fr/widde/>.
76. Zhang, W., M. Yang and M. Zhou. 2020. Identification of Signatures of Selection by Whole-Genome Resequencing of a Chinese Native Pig. *Frontiers in Genetics*, 11: 566255.
77. Zhao, S., P. Zheng, S. Dong, X. Zhan, Q.I. Wu, X. Guo and F. Wei. 2013. Whole-genome sequencing of giant pandas provides insights into demographic history and local adaptation. *Nature Genetics*, 45(1): 67-71.

Detection of Genetic Differences between Holstein and Iranian North-West Indigenous Hybrid Cattles using Genomic Data

Parisa Biabani¹, Hassan Mehrabani Yeganeh², Hossein Moradi Shahrabak³
and Mahdi Mokhber⁴

1- PhD. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Iran

2- Faculty Member, of Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Iran

3- Faculty Member, of Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Iran,
(Corresponding author: hmoradis@ut.ac.ir)

4- Faculty Member of Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Iran

Received: 13 April, 2022 Accepted: 16 August, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: Selection to increase the frequency of new mutations useful only in some subpopulations leaves markers at the genome level. Most of these regions are related to genes and QTLs controlling significant economic traits.

Material and Methods: In order to detection of genetic differences between Iranian northwestern crossbred and Holstein cattle breed, respectively number of 100 and 60 sample from Iranian north-west hybrid and Holstein populations were used. After ensuring the distinct structure of the studied populations, F_{ST} , XP_EHH and Rsb statistics were used to identify the selection signatures and 21, 16 and 24 regions exceeding the threshold were identified as signatures of selection respectively. These selected genomic regions were surveyed and 104 and 135 genes were extracted from the corresponding areas in ARS-UCD1.2 Bos Taurus Genome Assembly for F_{ST} and LD based methods, respectively.

Results: Some of detected genes in regions under selection were involved in metabolic pathways related to taste, smell, fat metabolic pathways, resistance to disease and reproduction performance. Some of detected genes were involved with milk production by involving in WNT (Wingless-type) signaling pathway. The selected genomic regions were further examined for further analysis and finding of gene networks. These analyzes were performed by online software related to the genomic database (DAVID). Only one significant network was identified ($p < 4.5 \times 10^{-9}$). This gene network communicates with taste receptors and specially detection of bitter tastes.

Conclusion: In addition to better understanding about natural and artificial selection effects on the Holstein breed and Iranian north-west indigenous hybrid, the selected regions can help us to detect QTLs and regions associated with important economic traits. In any case, it will be necessary to carry out more association and functional studies to demonstrate the implication of these genes.

Keywords: Holstein cattle breed, Iranian northwestern native crossbred cattle, Population differentiation index, Signatures of selection