



"مقاله پژوهشی"

پوشش ژنومی برای شناسایی رشته‌های هموزیگوت و ژن‌های موجود در این نواحی در ژنوم گوسفندان بومی ایرانی

عباس میرزاپور آبی‌بگلو^۱، نعمت هدایت^۲، رضا خلخالی ایوریک^۳، رضا سیدشیرینی^۴ و حسین عبدی‌بنمار^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران، (نویسنده مسؤل: nhedayat@uma.ac.ir)
۳- پژوهشگر، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۴- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۳/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۵/۴ صفحه: ۱۲۱ تا ۱۳۰

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: گوسفند یکی از مهم‌ترین حیوانات مزرعه ای با توانایی در سازگاری به اقلیم‌های متفاوت به شمار می‌رود و در ایران نیز از تنوع نژادی زیادی برخوردار است. در نتیجه‌ی انتخاب‌های مکرر، برخی نواحی ژنومی خلوص بالایی به خود می‌گیرند که رشته‌های هموزیگوت مشترک (ROH) نامیده می‌شوند. با بررسی این نواحی در ژنوم گوسفندان می‌توان هدف‌های انتخاب در این نژادها را دنبال و ژن‌های موجود در این نواحی را شناسایی نمود.
مواد و روش‌ها: برای این منظور، داده‌های ژنومی ۲۸ نمونه از گوسفندان ایرانی شامل نژادهای افشار، قزل، قره‌گل، مغانی، ماکویی، بلوچی، خاکستری و شال، از پایگاه داده NCBI دریافت شد. پس از بررسی کیفی و تصحیح داده‌ها، خوانش‌های باکیفیت بالا توسط نرم‌افزار BWA به ژنوم مرجع گوسفند هم‌تراز شد و سپس وارینت‌ها شناسایی و فیلتر شدند. با استفاده از نرم‌افزار VCFtools، فایل VCF با محتوی اطلاعات مرتبط با SNPها تولید شد. سپس رشته‌های هموزیگوت استخراج شده و در نهایت ژن‌های موجود در این نواحی شناسایی شدند.

یافته‌ها: براساس نتایج PCA، نمونه‌های مربوط به نژادهای ایرانی، به سه گروه تقسیم‌بندی شدند. گروه اول شامل نژادهای قره‌گل و بلوچی (KB)، گروه دوم شامل نژادهای مغانی و ماکویی (MM) و گروه سوم شامل نژادهای شال، افشاری، قزل و خاکستری (SGAG) بودند. طبق نتایج این آنالیز، در هر یک از جمعیت‌های KB، MM و SGAG به ترتیب ۴۱۹ (۵۲/۳۷۵ ناحیه به ازای هر فرد)، ۱۳۹ (۲۳/۱۷ ناحیه به ازای هر فرد) و ۸۷۶ (۶۲/۵۷ ناحیه به ازای هر فرد) ناحیه ROH شناسایی شدند. علاوه بر این، ۶ و ۱۷ رشته‌ی هموزیگوت مشترک (حداقل دو نمونه)، به ترتیب در جمعیت‌های KB و SGAG شناسایی شدند، در حالی که در جمعیت MM هیچ ناحیه ROH مشترکی شناسایی نشد. پس از شرح‌نویسی ROHهای مشترک، به ترتیب ۹۹ و ۱۷۳ ژن کدکننده‌ی پروتئین در داخل این مناطق ژنومی برای جمعیت‌های KB و SGAG شناسایی شدند. نتایج آنالیز ژن آنولوژی نشان داد که اغلب این ژن‌ها در مسیر و فرآیندهایی مانند متابولیسم انرژی و چربی (FLCN، ELOVL3، STK3، SREBF1 و NCOR1) و همچنین رشد و نمو بافت عضلانی و کیفیت گوشت (MYL6) و TMOD1 دخیل هستند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، می‌توان گفت که سطح بالایی از تنوع و آمیختگی در نژادهای گوسفند بومی ایران وجود دارد. از این ظرفیت ویژه در نژادهای گوسفند بومی می‌توان در زمینه اهداف اصلاح نژادی مختلف و تولید نژادهایی با سطح تولید مناسب استفاده کرد. از طرف دیگر، ژن‌های کاندید شناسایی شده در این تحقیق نیز زمان دست‌یابی به اهداف اصلاحی در این نژادها را شتاب می‌بخشند.

واژه‌های کلیدی: رشته‌های هموزیگوت، کیفیت گوشت، متابولیسم انرژی

مقدمه

گوسفند از جمله نشخوارکنندگانی است که به‌منظور دستیابی به اهداف چندگانه نظیر تولید گوشت، شیر و پشم، فرآیند اهلی‌سازی روی آن اتفاق افتاده است. گوسفند به‌دلیل برخوردار بودن از قدرت زیستی مناسب در زیست‌بوم‌های متنوع و سازگاری با شرایط محیطی سخت، حیوان بسیار مناسبی جهت پرورش به شمار می‌آید (۱۷). ایران به این دلیل که جزء کشورهای با آب و هوای گرم و خشک طبقه‌بندی می‌شود، خاستگاه بسیاری از نژادهای گوسفندی امروزی بوده (۴۶) و شامل اکوتیپ‌ها و نژادهای بسیار متنوعی است که برخی به‌صورت طبیعی و برخی با دخالت انسان به این محیط سخت سازگار شده‌اند. تنوع آب و هوایی و وضعیت‌های اجتماعی مختلف در سطح کشور ایران منجر به تشکیل ۲۷ اکوتیپ و نژاد گوسفند بومی شده است (۴۲). گوسفندان ایرانی اغلب چندمنظوره بوده و معمولاً تولیدات گوشت و شیر قابل قبولی دارند. قره‌گل، افشاری، مغانی، ماکویی، شال، قزل، خاکستری و بلوچی از جمله‌ی این ژنوتیپ‌ها به شمار می‌روند که هر کدام در شرایط جغرافیایی و اقلیمی خاصی پرورش داده می‌شوند. نحوه‌ی نامگذاری بیشتر نژادهای ایرانی براساس خاستگاه جغرافیایی و قبیله‌ی پرورش‌دهنده‌ی آن‌ها بوده و براساس صفات ظاهری و عملکردهای تولیدمثلی

طبقه‌بندی می‌شوند (۳۹). خزانه‌ی ژنی نژادهای گوسفند ایرانی بسیار غنی بوده و این گونه‌ی حیوانی به لحاظ ژنتیکی از تنوع بسیار بالایی برخوردار است. جهت حفظ این میزان از تنوع و ارتقای کیفیت هر کدام از صفات مهم اقتصادی، بایستی برنامه‌ریزی‌های دقیق پرورشی و اصلاح‌نژادی طراحی نموده و تبعیت از آن‌ها را در دستور کار خود قرار دهیم (۳۸). با پیشرفت تکنولوژی‌های نسل جدید در توالی‌یابی و همچنین افزایش سطح دسترسی به آن‌ها، بیشتر برنامه‌های اصلاح نژادی امروزی بر پایه‌ی نتایجی است که از کارهای تحقیقاتی صورت گرفته توسط این ابزارها روی ژنوم موجودات مختلف، به‌دست می‌آیند (۴۱). امروزه داده‌های ژنوم کامل گوسفند در دسترس بوده و به واسطه‌ی این ابزارهای پیشرفته، آنالیزهای گوناگونی روی آن انجام می‌گیرد (۷). ژنوم موجودات مختلف حاوی اطلاعاتی است که استفاده صحیح از آن‌ها، بستر مناسبی را برای شناخت ظرفیت‌های آن‌ها در جهت بهبود عملکرد، فراهم می‌کند. همین امر ضرورت رمزگشایی اطلاعات ژنومی موجودات مختلف را آشکار می‌سازد. مناطق ژنومی که تحت تاثیر انتخاب‌های پیوسته طبیعی یا مصنوعی (توسط انسان) قرار می‌گیرند، ردی از خود بر روی ژنوم جای می‌گذارند که با انجام برخی تجزیه و تحلیل‌های مناسب می‌توان به شناسایی آن‌ها پرداخت. در

تحت تاثیر قرار می‌دادند. در مطالعه‌ی دیگری که به همین ترتیب روی سویه‌های گوشتی گوسفندان تجاری انجام گرفت، مناطق ژنومی حامل ژن‌هایی شناسایی شدند که اغلب روی صفاتی نظیر رنگ پوست، اندازه‌ی بدن و شکل ماهیچه‌ها اثرگذار بودند (۳۶). تجزیه و تحلیل رشته‌های هموزیگوت گونه‌های دیگری مانند گاو (۱۸)، اسب (۲۹) و شتر (۱۶) منجر به شناسایی ژن‌های کاندید و اثرگذار شده و اطلاعات اصلاحگران ژنتیکی را در زمینه‌ی حیوانات مزرعه بالا برده است. با شناسایی ژن‌های کاندید موجود در نواحی ROH گوسفندان ایرانی، می‌توان زمینه‌های انتخاب در آن‌ها را یافت و در جهت بهبود صفات مرتبط با ژن‌های یافت شده، دست به کارهای اصلاحی زد. هدف از انجام این مطالعه، شناسایی و بررسی ROH‌های مربوط به هشت نژاد گوسفند بومی ایرانی با استفاده از داده‌های توالی‌یابی کل ژنوم بود. گام بعدی، شناسایی ژن‌های موجود در این نواحی شناسایی شده می‌باشد که شرح‌نویسی آن‌ها، اطلاعات عملکردی ارزشمندی در زمینه‌ی توانایی‌ها و عملکردهای نژادهای ایرانی می‌دهد. علاوه بر این، نمونه‌های مربوط به هشت نژاد مورد مطالعه، در سه گروه کلاس‌بندی شده و به مقایسه آنها پرداخته شد.

مواد و روش‌ها جمع‌آوری داده‌ها

داده‌های توالی‌یابی کل ژنوم ۲۸ نمونه گوسفند بومی ایرانی شامل پنج نمونه از هر یک از نژادهای قره‌گل پنج و افشاری و سه نمونه به ازای هر یک از نژادهای مغانی، ماکویی، شال، قزل، خاکستری و بلوچی، از بخش SRA سایت NCBI انتخاب و سپس دانلود شدند. در جدول ۱، لیست همه‌ی کدهای دسترسی برای ۲۸ نمونه‌ی مورد استفاده در این مطالعه ارائه گردیده است.

این مناطق ژنومی می‌توان گستره‌هایی از جایگاه‌های هموزیگوت با طول‌های مختلف را مشاهده کرد که معمولاً میزان تنوع نوکلئوتیدی در آن‌ها بسیار پایین است. به این مناطق با خلوص ژنتیکی بالا، رشته‌های هموزیگوت^۱ (ROH) گفته می‌شود. این مناطق بخش‌های به هم پیوسته‌ای از قطعات هموزیگوت ژنوم هستند که در آن‌ها دو هاپلوتیپ به ارث رسیده از والدین، به دلیل وجود یک جد مشترک در شجره‌ی آن‌ها، مشابه یکدیگر می‌باشند (۳۶). طول ROH‌ها هرچه قدر بیشتر باشد احتمال اینکه همخونی در شجره‌ی جمعیت در گذشته‌های نزدیک رخ داده باشد بالاست و سخت بتوان این قطعات هاپلوتیپ را از هم جدا کرد. به همین دلیل، ROH معیار مناسبی برای پیش بینی میزان همخونی کل ژنوم در نظر گرفته می‌شود (۱۹). گاهی مناطق ROH، شامل ژن‌هایی است که روی برخی صفات فنوتیپی تاثیر مثبت یا منفی می‌گذارند. وجود ROH در تعداد قابل توجهی نمونه‌ی آزمایشی می‌تواند بیانگر حضور یک نیروی انتخابی در مورد صفتی خاص در گذشته‌ی دور یا نزدیک یک جمعیت باشد که چنین آلل‌های مفیدی را در جمعیت تثبیت کرده‌اند (۱۷). با بررسی دقیق این مناطق ژنومی که میزان تنوع ناچیزی دارند، می‌توان به وجود انتخاب پی برده و با شناسایی ژن‌ها یا QTL‌های مرتبط با این نواحی در جهت افزایش کارآمدی صفات مهم اقتصادی که در ارتباط با آن نواحی هستند، دست به کار اصلاح‌نژادی زد (۳۶). بر این اساس، برای بررسی توزیع رشته‌های هموزیگوت و شناسایی نشانگرهای انتخابی، چندین مطالعه روی حیوانات مزرعه انجام گرفته است. رابیول ایسلام و همکاران (۱۵) از قطعات ROH جهت بررسی ترکیب جمعیتی و شناسایی ژن‌های کاندید در شش بز چینی استفاده کردند. در همین راستا ۵۴ جایگاه خالص که حامل ۸۶ ژن کاندید بودند، شناسایی شد که غالباً صفات تولیدمثلی را جدول ۱- کد دسترسی توالی‌ها در هر یک از نژادهای گوسفند

Table 1. Accession number of sequencing for each sheep breeds

| نام نژاد (Breed Name) | کد دسترسی (Accession Number) |
|-----------------------|------------------------------|
| قره‌گل (Karakul) | SRR11657634 |
| قره‌گل (Karakul) | SRR12396969 |
| قره‌گل (Karakul) | SRR12396932 |
| قره‌گل (Karakul) | SRR12396933 |
| قره‌گل (Karakul) | SRR12396935 |
| بلوچی (Baluchi) | SRR12396937 |
| بلوچی (Baluchi) | SRR12396859 |
| بلوچی (Baluchi) | SRR12397022 |
| مغانی (Moghani) | SRR12397020 |
| مغانی (Moghani) | SRR12397019 |
| مغانی (Moghani) | SRR11657633 |
| ماکونی (Makui) | SRR12397021 |
| ماکونی (Makui) | SRR16036490 |
| ماکونی (Makui) | SRR11657631 |
| شال (Shal) | SRR12396952 |
| شال (Shal) | SRR12396955 |
| شال (Shal) | SRR11657630 |
| قزل (Ghezel) | SRR12396959 |
| قزل (Ghezel) | SRR12396960 |
| قزل (Ghezel) | SRR11657628 |
| افشاری (Afshari) | SRR501853 |
| افشاری (Afshari) | SRR501871 |
| افشاری (Afshari) | SRR12396956 |
| افشاری (Afshari) | SRR12396958 |
| افشاری (Afshari) | SRR11657629 |
| خاکستری (Grey) | SRR12396961 |
| خاکستری (Grey) | SRR12396936 |
| خاکستری (Grey) | SRR11657627 |

کنترل کیفی داده‌ها و هم‌ترازی در ژنوم مرجع

به منظور ارزیابی کیفیت داده‌های خام جمع‌آوری شده، از نرم‌افزار FastQC (نسخه ۱۱/۹) استفاده شد. خوانش‌های با کیفیت کم توسط نسخه ۰/۳۹ نرم‌افزار Trimmomatic (۲) اصلاح شدند. گزینه‌هایی که به این منظور استفاده شدند شامل LEADING:5، TRAILING:5، SLIDINGWINDOW:5:20 و MINLEN:40 بود که در مورد همه داده‌ها اعمال شد. در مورد برخی نمونه‌ها از گزینه‌های HEADCROP، برای حذف دو نوکلئوتید ابتدایی خوانش‌ها به دلیل کیفیت پایین، استفاده شد. در نمونه‌های مورد مطالعه، هیچ آلودگی آداپتوری مشاهده نشد، اما در برخی نمونه‌ها زنجیره‌های PolyG یافت شد که توسط نرم‌افزار prinseq-lite (نسخه ۰/۲۰/۴) حذف شدند. با استفاده از دستور MEM در نسخه ۷/۱۷ نرم‌افزار BWA (۲۱)، همه خوانش‌های پالایش شده، با ژنوم مرجع گوسفند (GCF_016772045.1)، هم‌تراز شدند. کلیدی فایل‌های SAM تولیدی در این مرحله توسط نرم‌افزار SAMtools (۲۲) به فرمت فشرده‌ی BAM تبدیل شدند. فایل‌های BAM، به وسیله‌ی نرم‌افزار Picard مرتب و خوانش‌های مضاعف شده، حذف شدند.

شناسایی واریانت‌ها

در ابتدا فایل‌های BAM ایجاد شده در مرحله قبل، توسط برنامه‌ی GATK (نسخه ۳/۷) (۲۸)، با هم‌ترازی محلی در نواحی نزدیک به جایگاه‌های حذف-اضافه، انجام شد. سپس توسط نرم‌افزار PLINK (۳۵) آنالیز PCA برای مشخص کردن وضعیت دسته‌بندی ژنتیکی نژادهای مورد مطالعه انجام گرفت. براساس نتایج PCA، کل هشت نژاد مورد مطالعه به سه دسته تقسیم شدند: دسته اول شامل نژادهای قره‌گل و بلوچی (KB)، دسته دوم شامل نژادهای مغانی و ماکویی (MM) و دسته سوم شامل نژادهای شال، قزل، افشاری و خاکستری (SGAG). این نتایج به وسیله‌ی پکیج ggplot2 نرم‌افزار R بصری‌سازی شدند. در مرحله بعد، با کمک برنامه‌ی GATK و با استفاده از الگوریتم HaplotypeCaller واریانت‌های همه‌ی افراد در حالت ERC GVCF فراخوانی شدند. سپس، با استفاده از ماژول GenotypeGVCFs، به شناسایی همزمان واریانت‌های هر گروه (KB، MM و SGAG) پرداخته شد و در مجموع سه فایل VCF شامل همه‌ی واریانت‌های افراد تشکیل‌دهنده‌ی هر گروه ایجاد شد. از آنجا که طبق هدف این مطالعه، فقط واریانت‌های از نوع چند شکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNP) برای ادامه‌ی روند آنالیز مورد نیاز بودند، این دسته از واریانت‌ها توسط گزینه‌ی SelectVariants موجود در برنامه‌ی GATK گزینش شدند. برای فیلتر کردن این نوع از واریانت‌ها، از برنامه‌های GATK و BCFtools استفاده شد. همه‌ی SNP‌هایی که $QD < 2.0$ ، $FS > 60.0$ ، $MQ < 3$ ، $MQRankSum < -12.5$ ، $ReadPosRankSum < 40.0$ و $SOR > 3.0$ داشتند، از ادامه‌ی آنالیز کنار گذاشته شدند. همچنین در صورتی که در پنجره‌های ۱۰ بازی، تعداد

SNP‌ها بیش از ۳ باشد، این واریانت‌ها توسط دستور VariantFiltration برنامه‌ی GATK فیلتر شده و در نهایت، با به‌کار بردن برنامه‌ی VCFtools (۶) همه‌ی SNP‌هایی که از معیارهای زیر شامل: $max\text{-alleles } 2$ ، $min\text{-alleles } 2$ ، $maf \ 0.05$ ، $minDP \ 5$ ، $max\text{-missing } 0.8$ و $hwe \ 0.001$. تبعیت نمی‌کردند حذف شدند. در نهایت، کروموزوم‌های جنسی و کانتیگ‌هایی که در توالی‌های کروموزومی قرار نگرفته بودند، در فایل‌های VCF نهایی نادیده گرفته شدند.

شناسایی ROH

با استفاده از نرم‌افزار PLINK، با دستور make-bed و در نظر گرفتن آپشن‌های no-sex، no-phenو allow-extra-chr، سه فایل با فرمت‌های bim، fam و bed ایجاد شدند. در ادامه، توسط دستور homozyg و با لحاظ گزینه‌های allow-extra-chr، homozyg-window-1، homozyg-window-het، homozyg-snp 50، homozyg-kb 500، homozyg-gap 1000 و homozyg-density 50 رشته‌های هموزیگوت مورد نظر استخراج شدند. همچنین برای شناسایی ROH‌هایی که حداقل بین دو فرد دارای همپوشانی بودند، از ابزار homozyg-group در برنامه PLINK 1.9 بهره گرفته شد.

شرح نویسی

پس از استخراج ژن‌های موجود در نواحی ROH‌های شناسایی شده در هر گروه با استفاده از نرم‌افزار BEDtools (نسخه ۲/۲۷/۱) (۳۷) و فایل GTF مرتبط با ژنوم گوسفند، شرح نویسی عملکردی این ژن‌ها با کمک آنالیز ژن آنتولوژی (GO) در برنامه "g:Profiler" صورت پذیرفت. در واقع، آنالیز GO این امکان را به ما می‌دهد تا ژن‌ها را در گروه‌های عملکردی مربوط به فرآیندهای زیستی (BP)، عملکرد مولکولی (MF)، اجزای سلولی (CC) و مسیرهای KEGG کلاس‌بندی کنیم. برای شناسایی عبارات معنادار ژن آنتولوژی و مسیرهای KEGG، از آستانه p-value تصحیح شده (با استفاده از روش Benjamini-Hochberg) کمتر و مساوی ۰/۰۵ استفاده شد (۴۷).

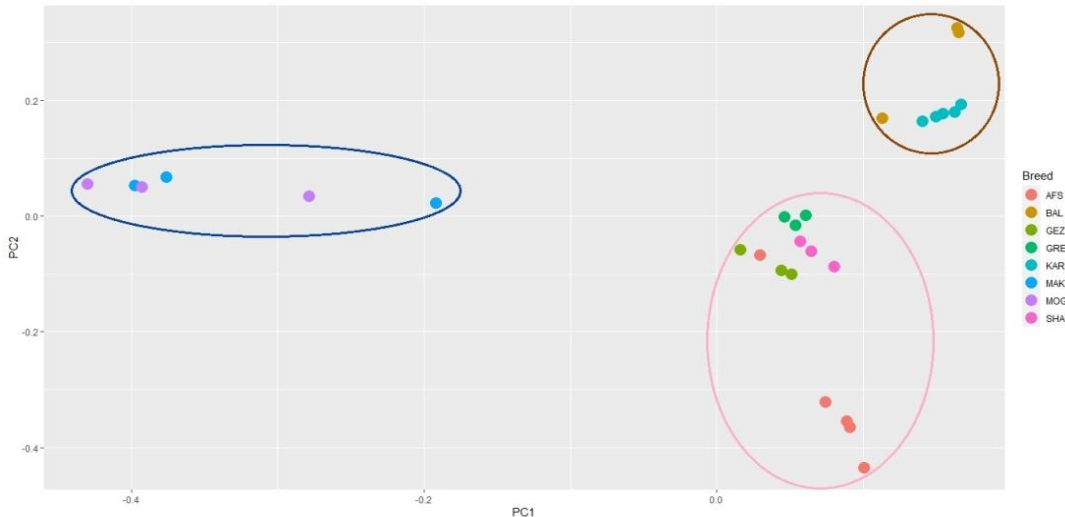
نتایج و بحث

براساس نتایج آنالیز PCA، هشت نژاد مورد بررسی به سه دسته کلی تقسیم‌بندی شدند. مولفه‌ی اول (PC1)، گروه MM را از دیگر نژادها جدا کرده و مولفه‌ی دوم نیز گروه‌های KB و SGAG را از هم تفکیک کرد (شکل ۱). این تقسیم‌بندی را می‌توان به سه دلیل عمده پراکنش جغرافیایی، خصوصیات مورفولوژیکی و همچنین اهداف تولیدی این نژادها نسبت داد.

طبق نتایج این آنالیز، نواحی ROH برای جمعیت‌های KB، MM و SGAG به ترتیب ۴۱۹ (۵۲/۳۷۵) ناحیه به ازای هر فرد، ۱۳۹ (۲۳/۱۷) ناحیه به ازای هر فرد) و ۸۷۶ (۶۲/۵۷) ناحیه به ازای هر فرد شناسایی شد. میانگین طول کل ROH‌ها برای سه جمعیت‌های KB، MM و SGAG

2 Mb (بلند) قرار داده شدند. در هر سه گروه جمعیتی، ROHهای کوتاه بیشترین درصد را به خود اختصاص دادند. به این ترتیب در حدود ۷۹/۵ درصد از ROHهای جمعیت KB، ۷۲/۳۹ درصد از ROHهای جمعیت MM و ۷۴/۱ درصد از ROHهای جمعیت SGAG مربوط به ROHهای کوتاه بودند (شکل ۲).

به ترتیب برابر ۷۲۶/۴ (کمترین ۵۰۰/۴۰۹ و بیشترین ۲۳۷۹/۰۹۶)، ۷۵۰/۳۸ (کمترین ۵۰۱/۰۴۹ و بیشترین ۱۹۰۶/۰۶۵) و ۷۷۱/۳۱ (کمترین ۵۰۰/۵ و بیشترین ۲۴۹۴/۴۶۸) محاسبه شد. در مطالعه کنونی، ROHهای شناسایی شده، بر اساس اندازه در سه گروه ROHهای با طول 1-5.0 Mb (کوتاه)، 1-2 Mb (متوسط) و طولانی‌تر از

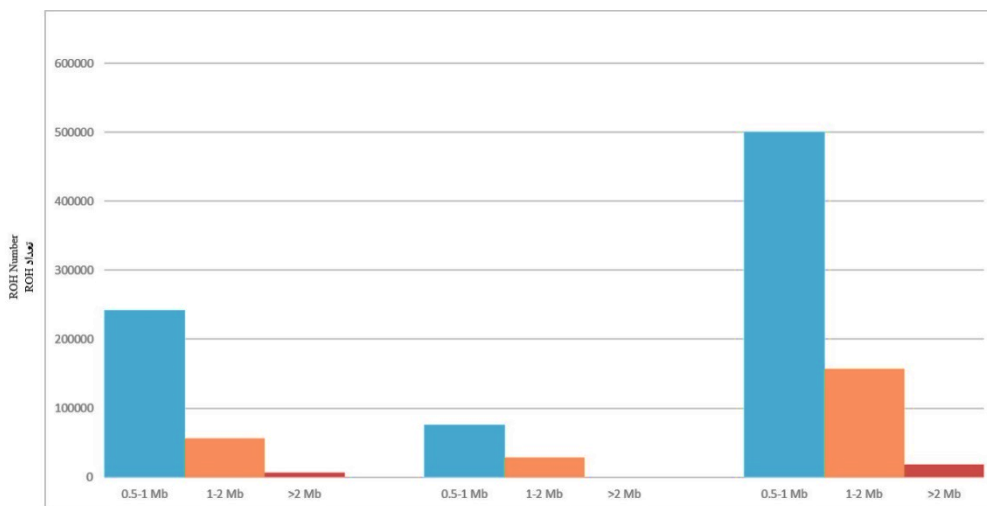


شکل ۱- دسته‌بندی هشت نژاد بومی ایرانی براساس نتایج PCA. نژادهای مغانی و ماکویی در دسته‌ی MM (آبی)، نژادهای قره‌گل و بلوچی در دسته‌ی KB (قهوه‌ای) و نژادهای شال، افشاری، قزل و خاکستری در دسته‌ی SGAG (صورتی)

Figure 1. Eight Iranian indigenous breeds classified based on PCA results. Moghani and Makui breeds in MM group (blue), Karakul and Baluchi breeds in KBgroup (brown) and Shal, Ghezel, Afshari, and Grey breeds in SGAG group (pink)

بومی چینی توسط چنگ و همکاران (۴)، فراوانی ROHهایی که طول کمتر از ۵۰۰ هزار باز داشتند، در تمام نمونه‌های مورد مطالعه بیشترین بود. از طرفی هرچه طول ROH نمونه‌ای بزرگ‌تر می‌شد، تنوع ژنتیکی آن کاهش پیدا می‌کرد.

در مطالعه‌ی انجام گرفته روی گوسفندان تجاری (۳۶)، بیشتر رشته‌های ROH شناسایی شده طولی کمتر از ۱۰ میلیون باز داشتند و تنها ۸/۲۱ درصد از نمونه‌ها حداقل یک ROH بزرگ‌تر از ۲۰ میلیون باز داشتند. در بررسی گوسفندان

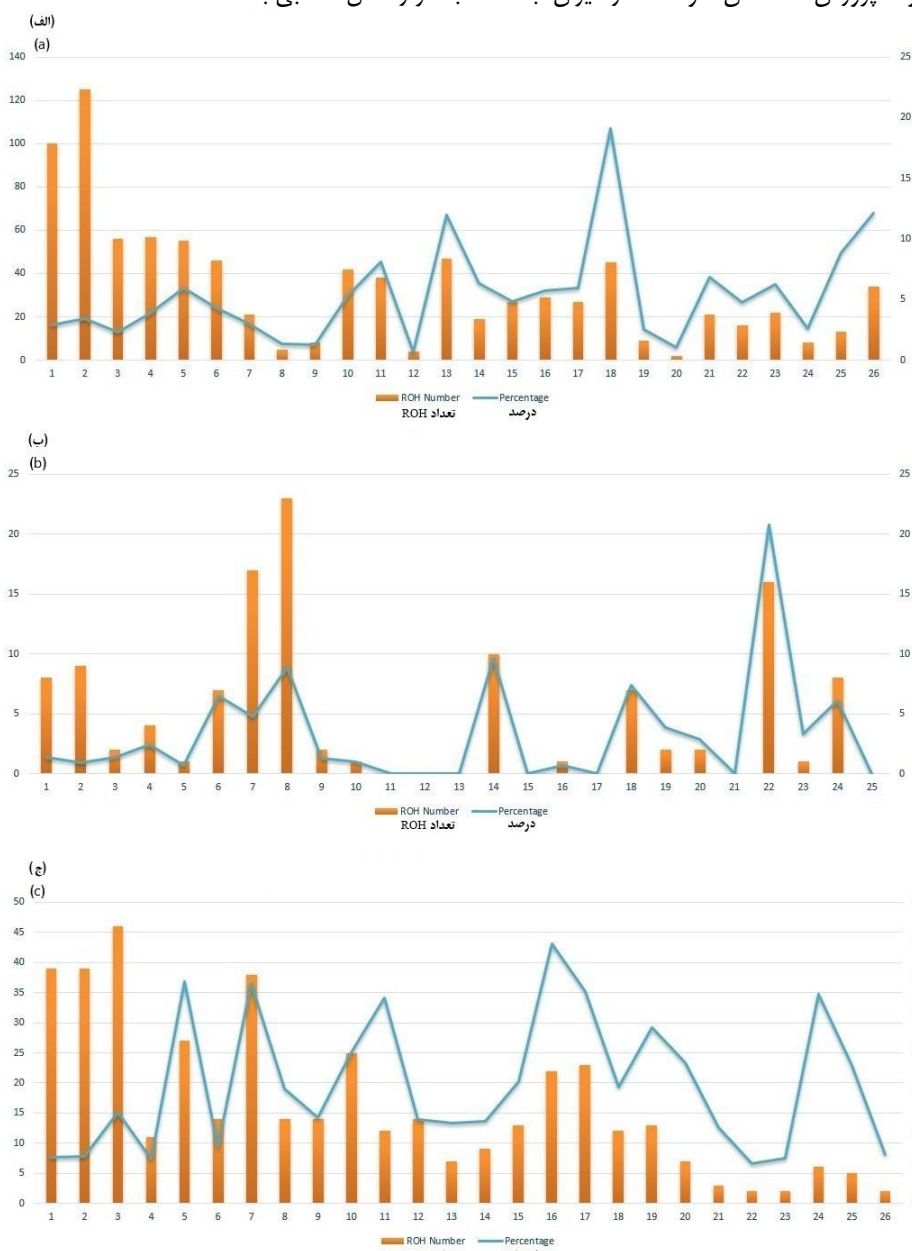


شکل ۲- تعداد کل ROHهای شناسایی شده در سه دسته‌ی طولی برای گروه‌های KB (سمت چپ)، MM (نمودار میانی) و SGAG (سمت راست).

Figure 2. The total number of ROHs identified in the three longitudinal categories for KB (left), MM (center) and SGAG (right) groups

استفاده از قوچ‌های دیگر علاقه‌ی زیادی نشان می‌دهند که این امر می‌تواند تنوع ژنتیکی داخل نژادی را افزایش دهد. رابطه‌ی بین درصد پوشش ROHها و طول کروموزوم‌ها از الگوی خاصی پیروی نکردند، هرچند با کاهش طول کروموزوم‌ها نسبت طولی ROHها تا حدودی بالا می‌رفت (شکل ۳). احتمالاً به دلیل تعداد کم نمونه در جمعیت MM، هیچ ROH روی ۷ عدد از کروموزوم‌ها شناسایی نشد، هرچند دلایل دیگری مانند وجود تنوع بالا در این جمعیت نیز می‌تواند منجر به عدم شناسایی ROHها شود. به نظر می‌رسد برای بحث بهتر در این مورد، آنالیز این نژادها با تعداد نمونه بالاتر راه حل مناسبی باشد.

به‌طور کلی وجود ROHهای بلند در جمعیت بیانگر این حقیقت است که احتمالاً هم‌خونی در جمعیت در گذشته‌های نزدیک رخ داده است. وجود ROHهای کوتاه نیز نشانگر این امر است که خویش‌آمیزی یا انتخاب در جمعیت، در نسل‌های گذشته و بسیار دور رخ داده است به‌طوری‌که در اثر پدیده شکسته شدن کروموزوم، طول آن‌ها در طول زمان کاهش یافته است (۱۹). به‌دلیل بالا بودن درصد ROHهای کوتاه در نژادهای مورد مطالعه ایرانی، می‌توان چنین استنباط کرد که افراد جمعیت‌های مورد بررسی دارای سطح هتروزیگوسیتی بالایی هستند که می‌تواند به دلیل سبک پرورش گوسفند در ایران باشد. عموماً پرورش دهندگان گوسفند در ایران به



شکل ۳- تعداد ROHها (ستون نارنجی) و میانگین درصد پوشش طولی آنها (خط آبی) روی هر کروموزوم در جمعیت SGAG (الف)، MM (ب) و KB (ج).

Figure 3. The number of ROHs (orange bar) and average percentage of longitudinal coverage (blue line) per chromosome in SGAG (A), MM (B), and KB (C) populations

به شناسایی ۹۹ و ۱۷۳ ژن کاندید کدکننده پروتئین به ترتیب برای جمعیت‌های KB و SGAG شد. بررسی ژن آنتولوژی این ژن‌های منتخب منجر به شناسایی یک عبارت مرتبط با ترکیب سلولی (CC) برای جمعیت KB و سه عبارت مرتبط با مسیر بیولوژیکی (BP) به همراه یک عبارت مرتبط با ترکیب سلولی (CC) برای جمعیت SGAG شد (جدول ۲).

زمانی که ROH‌های مشترک بین حداقل دو نمونه مورد بررسی قرار گرفتند، ۶ رشته‌ی هموزیگوت روی ۶ کروموزوم متفاوت در جمعیت KB و ۱۷ رشته‌ی هموزیگوت روی ۸ کروموزوم متفاوت در جمعیت SGAG، به دست آمد. هنگام بررسی جمعیت MM هیچ ROH مشترکی بین نمونه‌های این جمعیت پیدا نشد. شرح‌نویسی ROH‌های مشترک منجر

جدول ۲- عبارات و مسیرهای معنی‌دار از آنالیز ژن آنتولوژی

Table 2. Significant terms and pathways from gene ontology analysis

| درجه اطمینان (Adjusted p) | ID اصطلاح (Term ID) | نام اصطلاح (Term Name) | منبع (Source) | نام جمعیت (Population Name) |
|---------------------------|---------------------|-------------------------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|
| 0.018 | GO:0005737 | Cytoplasm (سیتوپلاسم) | ترکیب سلولی (Cellular Components) | KB |
| 0.069 | GO:0072034 | Renal Vesicle Induction (القاء وزیکول کلیوی) | فرآیند بیولوژیکی (Biological Process) | SGAG |
| 0.069 | GO:0030163 | Protein Catabolic Process (فرآیند کاتابولیک پروتئینی) | فرآیند بیولوژیکی (Biological Process) | SGAG |
| 0.069 | GO:0048513 | Animal Organ Development (توسعه‌ی اندام حیوانی) | فرآیند بیولوژیکی (Biological Process) | SGAG |
| 0.01 | GO:0005829 | Cytosol (مایع درون سلولی) | ترکیب سلولی (Cellular Components) | SGAG |

بیان بالای این ژن باعث کاهش چربی بین‌ماهچه‌ای شده و به‌طور کلی جلوی گسترش بافت چربی را می‌گیرد (۲۰). دوآن و همکاران (۹) گزارش کردند که ژن STK3 با مسیرهای سیگنالی Hippo و AMPK و سایر مسیرها و فرآیندهای زیست‌شناختی در ارتباط بوده و احتمالاً در تکثیر و تمایز سلولی، رشد و نمو اندام‌ها و توسعه‌ی سیستم عصبی نقش دارد. اثر این ژن روی تولیدمثل و باروری بزها نیز گزارش شده است (۴۷). از دیگر ژن‌های منتخب یافت شده در این مطالعه که در متابولیسم چربی نقش پررنگی دارد، SREBF1 می‌باشد که با اثرگذاری روی ژن‌های هدف مرتبط با هموستازی چربی، سوخت‌وساز کلسترول و اسیدهای چرب را تنظیم می‌کند. این سازوکار، با انجام مطالعه‌ای روی گوسفندان دنده‌دار چینی تایید شد و چنین نتیجه گرفته شد که این ژن نقش حیاتی و مهمی در رسوب چربی و متابولیسم آن طی دوره‌ی رشد و نمو گوسفندان دنده‌دار ایفا می‌کند (۲۴). مشابه نتایج به‌دست آمده از مطالعه‌ی انجام گرفته روی گاوها (۸)، چن و همکاران (۳) پیشنهاد کردند که می‌توان ژن SREBF1 را به‌عنوان یک نشانگر ژنتیکی مناسب جهت بهبود محتوای چربی بین‌ماهچه‌ای خوک‌ها به حساب آورد. بسته به میزان نیاز به انرژی، اندازه و تعداد میتوکندری‌های داخل سلول‌های پستانداران پیوسته تغییر می‌کند. بنابراین همگام و هماهنگ ساختن مسیرهای میتوکندریایی، در پاسخ به این نیازهای متغیر انرژی، لازمه‌ی اصلی حفظ تعادل و هموستازی سلولی پستانداران است. NCOR1 ژن منتخب دیگر یافت شده در این مطالعه است که در این هموستازی سلولی نقش دارد (۲۵). طبق مطالعه‌ی انجام گرفته روی موش‌ها، بیان پایین این ژن در سلول‌های ماهیچه‌ای آن‌ها منجر به افزایش تعداد و فعالیت‌های میتوکندری‌های سلولی می‌شود که در نتیجه‌ی آن استقامت و قدرت ماهیچه‌ای آن‌ها بالا می‌رود (۴۴).

دسته‌ای دیگر از ژن‌های یافت شده در این مطالعه، صفات مرتبط با تشکیل و توسعه‌ی بافت ماهیچه‌ای را سبب

از بین ژن‌های بررسی شده در این آنالیز تعدادی در مسیرها و فرآیندهای مرتبط با متابولیسم انرژی و چربی (FLCN، NCOR1 و STK3 در جمعیت KB و SREBF1 و ELOVL3 در جمعیت SGAG) و تعدادی در رشد و نمو بافت عضلانی و کیفیت گوشت (MYL6 و TMD1 در جمعیت SGAG) مشاهده شد. فولیکولین (FLCN) یکی از ژن‌های مهمی است که احتمالاً در متابولیسم انرژی سلولی دخالت دارد. این ژن پروتئینی به همین نام تولید می‌کند که به دو پروتئین دیگر به نام‌های FNIP1 و FNIP2 می‌چسبد. این دو پروتئین با مسیر AMPK برهم‌کنش دارند (۱۲، ۱۱). این مسیر زمانی که میزان ATP سلولی کاهش می‌یابد فعال می‌شود (۳۰) و یکی از تنظیم‌کننده‌های اصلی هموستازی سلولی است. طبق یافته‌های یان و همکاران (۴۵)، این ژن با تاثیر روی مسیر AMPK نقش مهمی در تنظیم منفی عملکردهای میتوکندریایی دارد. با در نظر گرفتن اثر غیرمستقیمی که این ژن روی متابولیسم ATP می‌گذارد، می‌توان چنین برداشت کرد که احتمالاً این ژن نقش پررنگی در سوخت‌وساز سلولی دارد (۱۳). ژن ELOVL3 متعلق به خانواده‌ای از ژن‌ها است که در تنظیم متابولیسم انرژی نقش عمده‌ای دارند. این ژن در بافت چربی قهوه‌ای و پوست بیان بالایی دارد (۳۲). در تحقیقات صورت گرفته روی گوسفند، این ژن جزء کاندیدهای انتخابی در زمینه‌ی سنتز، رسوب و متابولیسم چربی گزارش شده است (۲۷، ۴۰). در مطالعه‌ی انجام شده روی بز، تاثیر این ژن روی رنگ پوست نیز مشاهده شده است. میزان بیان این ژن در بزهای خاکستری مورد آزمایش، بالاتر از بزهای قهوه‌ای و سفید رنگ بوده است (۳۴). ژن STK3 نقش به‌سزایی در مسیر سیگنالی Hippo دارد. این مسیر، هموستازی بافت‌های بدن پستانداران را کنترل می‌کند (۱۴). با غیرفعال شدن این ژن، محتوای میتوکندریایی افزایش یافته و در نتیجه باعث بروز پدیده میتوکندری‌خواری یا میتوفاژی می‌شود (۵). در نتیجه‌ی این اتفاق، مصرف انرژی در بافت چربی افزایش می‌یابد (۲۶).

ماه‌یچه‌ای را تحت‌تاثیر قرار داده و بنابراین روی کیفیت و میزان رشد گوشت لخم اثر می‌گذارد (۲۳،۴۳).

نتیجه‌گیری کلی

در این مطالعه، با بررسی داده‌های ژنومی نمونه‌هایی از هشت نژاد گوسفند بومی ایرانی، با شناسایی ROHها و ژن‌های داخل این نواحی به آثاری از انتخاب در برخی از ژن‌های مهم دست یافتیم. با توجه به شواهد به دست آمده از مطالعه کنونی، مبنی بر این که بخش عمده ROHهای شناسایی شده دارای اندازه کوتاه (مابین نیم تا یک میلیون باز) هستند، می‌توان نتیجه گرفت که سطح آمیختگی در نژادهای ایرانی بالا بوده و انتخاب و اصلاح‌نژادی در طی سالهای اخیر روی آنها صورت نگرفته است. تنوع بالا از یک سو و قابلیت‌های تولیدی نژادهای ایرانی از سویی دیگر، زمینه بسیار مناسبی برای انتخاب و به‌نژادی در این گروه‌های ژنتیکی ارزشمند را فراهم می‌نماید.

می‌شدند. از جمله‌ی این ژن‌ها MYL6 را می‌توان نام برد. این ژن کدکننده‌ی فراوان‌ترین پروتئین بافت ماهیچه، یعنی میوزین، بوده و به شدت با عملکردهای ماهیچه‌ای و ترکیبات عضلانی در ارتباط است. این پروتئین در رشد و انقباضات ماهیچه‌ای نقش کلیدی ایفا می‌کند. در مطالعه‌ی انجام شده روی صفت شاخص تکه‌تکه شدن میوفیبریل (MFI)، که معیاری برای سنجش لذیذ بودن گوشت محسوب می‌شود، MYL6 در گروه گاوهای نری که عملکرد قابل‌قبولی داشتند، بیشتر بیان شده بود (۳۱). همچنین در مطالعات انجام شده روی گوسفند (۳۳) و گاو گوشتی (۱۰)، شواهدی مبنی بر انتخاب این ژن در راستای بهبود کیفیت گوشت حاصل شده است. ژن TMOD1 از دیگر کاندیدهای دخیل در صفات مرتبط با بافت عضلانی بدن می‌باشد و از تنظیم‌کننده‌های اصلی فیزیولوژی ماهیچه‌های اسکلتی محسوب می‌شود (۱۱). گزارش شده که این ژن ساختمان و نظم رشته‌های

منابع

- Baba, M., S.B. Hong, N. Sharma, M.B. Warren, M.L. Nickerson, A. Iwamatsu, D. Esposito, W.K. Gillette, R.F. Hopkins, J.L. Hartley and M. Furihata. 2006. Folliculin encoded by the BHD gene interacts with a binding protein, FNIP1, and AMPK, and is involved in AMPK and mTOR signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(42): 15552-15557.
- Bolger, A.M., M. Lohse and B. Usadel. 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15): 2114-2120.
- Chen, J., X.J. Yang, D. Xia, J. Chen, J. Wegner, Z. Jiang and R.Q. Zhao. 2008. SREBF1 expression and genetic polymorphism significantly affect intramuscular fat deposition in the longissimus muscle of Erhualian and Suta pigs. *Journal of Animal Science*, 86: 57-63.
- Cheng, J., H. Zhao, N. Chen, X. Cao, Q. Hanif, L. Pi, L. Hu, B. Chaogetu, Y. Huang, X. Lan and C. Lei. 2020. Population structure, genetic diversity, and selective signature of Chaka sheep revealed by whole genome sequencing. *BMC genomics*, 21(1): 1-10.
- Cho, Y.K., Y. Son, A. Saha, D. Kim, C. Choi, M. Kim, J.H. Park, H. Im, J. Han, K. Kim and Y.S. Jung. 2021. STK3/STK4 signalling in adipocytes regulates mitophagy and energy expenditure. *Nature Metabolism*, 3(3): 428-441.
- Danecek, P., A. Auton, G. Abecasis, C.A. Albers, E. Banks, M.A. DePristo, R.E. Handsaker, G. Lunter, G.T. Marth, S.T. Sherry and G. McVean. 2011. The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*, 27(15): 2156-2158.
- Davenport, K.M., D.M. Bickhart, K. Worley, S.C. Murali, M. Salavati, E.L. Clark, N.E. Cockett, M.P. Heaton, T.P. Smith, B.M. Murdoch and B.D. Rosen. 2022. An improved ovine reference genome assembly to facilitate in-depth functional annotation of the sheep genome. *GigaScience*, 11: 1-9.
- Dervishi, E., C. Serrano, M. Joy, M. Serrano, C. Rodellar and J.H. Calvo. 2011. The effect of feeding system in the expression of genes related with fat metabolism in semitendinous muscle in sheep. *Meat Science*, 89(1): 91-97.
- Duan, X., B. An, L. Du, T. Chang, M. Liang, B.G. Yang, L. Xu, L. Zhang, J. Li, G. E and H. Gao. 2021. Genome-Wide Association Analysis of Growth Curve Parameters in Chinese Simmental Beef Cattle. *Animals*, 11(1): 192.
- El Hou, A., D. Rocha, E. Venot, V. Blanquet and R. Philippe. 2021. Long-range linkage disequilibrium in French beef cattle breeds. *Genetics Selection Evolution*, 53(1): 1-14.
- Gokhin, D.S., R.A. Lewis, C.R. McKeown, R.B. Nowak, N.E. Kim, R.S. Littlefield, R.L. Lieber and V.M. Fowler. 2010. Tropomodulin isoforms regulate thin filament pointed-end capping and skeletal muscle physiology. *Journal of Cell Biology*, 189(1): 95-109.
- Hasumi, H., M. Baba, S.B. Hong, Y. Hasumi, Y. Huang, M. Yao, V.A. Valera, W.M. Linehan and L.S. Schmidt. 2008. Identification and characterization of a novel folliculin-interacting protein FNIP2. *Gene*, 415(1-2): 60-67.
- Hasumi, H., M. Baba, Y. Hasumi, Y. Huang, H. Oh, R.M. Hughes, M.E. Klein, S. Takikita, K. Nagashima, L.S. Schmidt and W.M. Linehan. 2012. Regulation of mitochondrial oxidative metabolism by tumor suppressor FLCN. *Journal of the National Cancer Institute*, 104(22): 1750-1764.
- He, Z., R. Li and H. Jiang. 2021. Mutations and copy number abnormalities of hippo pathway components in human cancers. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9: p.661718.

- ۱۲۸ پوشش ژنومی برای شناسایی رشته‌های هموزیگوت و ژن‌های موجود در این نواحی در ژنوم گوسفندان بومی ایرانی
15. Islam, R., Y. Li, X. Liu, H. Berihulay, A. Abied, G. Gebreselassie, Q. Ma and Y. Ma. 2019. Genome-wide runs of homozygosity, effective population size, and detection of positive selection signatures in six Chinese goat breeds. *Genes*, 10(11): p.938.
 16. Khalkhali-Evrigh, R. Hedayat, N. and Ming, L. 2022. Identification of selection signatures in Iranian dromedary and Bactrian camels using whole genome sequencing data. *Scientific Reports*, 12(1): 1-10.
 17. Kijas, J.W., D. Townley, B.P. Dalrymple, M.P. Heaton, J.F. Maddox, A. McGrath, P. Wilson, R.G. Ingersoll, R. McCulloch, S. McWilliam and D. Tang. 2009. A genome wide survey of SNP variation reveals the genetic structure of sheep breeds. *PLoS one*, 4(3): p.e4668.
 18. Kim, E.S., J.B. Cole, H. Huson, G.R. Wiggans, C.P. Van Tassell, B.A. Crooker, G. Liu, Y. Da and T.S. Sonstegard. 2013. Effect of artificial selection on runs of homozygosity in US Holstein cattle. *PLoS one*, 8(11): p.e80813.
 19. Kirin M., R. McQuillan, C.S. Franklin, H. Campbell, P.M. McKeigue and J.F. Wilson. 2010. Genomic runs of homozygosity record population history and consanguinity. *PLoS one*, 5(11): p.e13996.
 20. Lee, S.H., J.H.J. Van Der Werf, N.K. Kim, S.H. Lee, C. Gondro, E.W. Park, S.J. Oh, J.P. Gibson and J.M. Thompson. 2011. QTL and gene expression analyses identify genes affecting carcass weight and marbling on BTA14 in Hanwoo (Korean Cattle). *Mammalian genome*, 22(9): 589-601.
 21. Li, H. and R. Durbin. 2009. Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. *Bioinformatics*, 25(14): 1754-1760.
 22. Li, H., B. Handsaker, A. Wysoker, T. Fennell, J. Ruan, N. Homer, G. Marth, G. Abecasis and R. Durbin. 2009. The sequence alignment/map format and SAMtools. *Bioinformatics*, 25(16): 2078-2079.
 23. Li, W., D.M. Bickhart, L. Ramunno, D. Iamartino, J.L. Williams and G.E. Liu. 2019. Comparative sequence alignment reveals River Buffalo genomic structural differences compared with cattle. *Genomics*, 111(3): 418-425.
 24. Liang, C., L. Qiao, Y. Han, J. Liu, J. Zhang and W. Liu. 2020. Regulatory roles of SREBF1 and SREBF2 in lipid metabolism and deposition in two Chinese representative fat-tailed sheep breeds. *Animals*, 10(8): 1317.
 25. Lima, T.I., R.R. Valentim, H.N. Araújo, A.G. Oliveira, B.C. Favero, E.S. Menezes, R. Araújo and L.R. Silveira. 2018. Role of NCoR1 in mitochondrial function and energy metabolism. *Cell Biology International*, 42(6): 734-741.
 26. Liu, X., Y. Zhu, S. Zhan, T. Zhong, J. Guo, J. Cao, L. Li, H. Zhang and L. Wang. 2022. RNA-Seq reveals miRNA role in thermogenic regulation in brown adipose tissues of goats. *BMC genomics*, 23(1): 1-13.
 27. Ma, L., M. Zhang, Y. Jin, S. Erdenee, L. Hu, H. Chen, Y. Cai and X. Lan. 2018. Comparative transcriptome profiling of mRNA and lncRNA related to tail adipose tissues of sheep. *Frontiers in genetics*, 9: 365.
 28. McKenna, A., M. Hanna, E. Banks, A. Sivachenko, K. Cibulskis, A. Kernytsky, K. Garimella, D. Altshuler, S. Gabriel, M. Daly and M.A. DePristo. 2010. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome research*, 20(9): 1297-1303.
 29. Metzger, J., M. Karwath, R. Tonda, S. Beltran, L. Águeda, M. Gut, I.G. Gut and O. Distl. 2015. Runs of homozygosity reveal signatures of positive selection for reproduction traits in breed and non-breed horses. *BMC genomics*, 16(1): 1-14.
 30. Mihaylova, M.M. and R.J. Shaw. 2011. The AMPK signaling pathway coordinates cell growth, autophagy and metabolism. *Nature cell biology*, 13(9): 1016-1023.
 31. Muniz, M.M.M., L.F.S. Fonseca, A.F.B. Magalhães, D.B. dos Santos Silva, A. Canovas, S. Lam, J.A. Ferro, F. Baldi, A.L. Chardulo and L.G. de Albuquerque. 2020. Use of gene expression profile to identify potentially relevant transcripts to myofibrillar fragmentation index trait. *Functional & integrative genomics*, 20(4): 609-619.
 32. Nakamura, M.T., B.E. Yudell and J.J. Loor. 2014. Regulation of energy metabolism by long-chain fatty acids. *Progress in lipid research*, 53: 124-144.
 33. Peng, H., M. Hu, Z. Liu, W. Lai, L. Shi, Z. Zhao, H. Ma, Y. Li and S. Yan. 2022. Transcriptome Analysis of the Liver and Muscle Tissues of Dorper and Small-Tailed Han Sheep. *Frontiers in genetics*, 13: 785.
 34. Peng, Y., X. Liu, L. Geng, R. Ma, L. Li, J. Li, C. Zhang, Z. Liu, Y. Gong and X. Li. 2017. Illumina-sequencing based transcriptome study of coat color phenotypes in domestic goats. *Genes & Genomics*, 39(8): 817-830.
 35. Purcell, S., B. Neale, K. Todd-Brown, L. Thomas, M.A. Ferreira, D. Bender, J. Maller, P. Sklar, P.I. De Bakker, M.J. Daly and P.C. Sham. 2007. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American journal of human genetics*, 81(3): 559-575.
 36. Purfield, D.C., S. McParland, E. Wall and D.P. Berry. 2017. The distribution of runs of homozygosity and selection signatures in six commercial meat sheep breeds. *PLoS One*, 12(5): p.e0176780.
 37. Quinlan, A.R. and I.M. Hall. 2010. BEDTools: a flexible suite of utilities for comparing genomic features. *Bioinformatics*, 26(6): 841-842.

38. Rexroad, C., J. Vallet, L.K. Matukumalli, J. Reecy, D. Bickhart, H. Blackburn, M. Boggess, H. Cheng, A. Clutter, N. Cockett and C. Ernst. 2019. Genome to phenome: improving animal health, production, and well-being—a new USDA blueprint for animal genome research 2018–2027. *Frontiers in genetics*, 10: 327 p.
39. Ruiz-Larrañaga, O., H. Asadollahpour Nanaei, I. Montes, A. Ayatollahi Mehrgardi, A. Abdolmohammadi, H. Kharrati-Koopae, S.S. Sohrabi, F. Rendo, C. Manzano, A. Estonba and M. Iriondo. 2020. Genetic structure of Iranian indigenous sheep breeds: insights for conservation. *Tropical Animal Health and Production*, 52(5): 2283-2290.
40. Ruiz-Larrañaga, O., J. Langa, F. Rendo, C. Manzano, M. Iriondo and A. Estonba. 2018. Genomic selection signatures in sheep from the Western Pyrenees. *Genetics Selection Evolution*, 50(1): 1-12.
41. Sharma, A., J.E. Park, H.H. Chai, G.W. Jang, S.H. Lee and D. Lim. 2017. Next generation sequencing in livestock species: A review. *J. Anim. Breed. Genom*, 1(1): 23-30.
42. Sheikhlou, M. and M.A. Abbasi. 2016. Genetic diversity of Iranian Lori-Bakhtiari sheep assessed by pedigree analysis. *Small Ruminant Research*, 141: 99-105.
43. Wu, H., S. Zhao, B. Liu, M. Yu, M. Zhu, C. Li and B. Fan. 2009. Tropomodulin 1 (TMOD1) is associated with lean meat growth and meat quality in the pig (Brief Report). *Archives Animal Breeding*, 52(1): 108-110.
44. Yamamoto, H., E.G. Williams, L. Mouchiroud, C. Canto, W. Fan, M. Downes, C. Héligon, G.D. Barish, B. Desvergne, R.M. Evans and K. Schoonjans. 2011. NCoR1 is a conserved physiological modulator of muscle mass and oxidative function. *Cell*, 147(4): 827-839.
45. Yan, M., É. Audet-Walsh, S. Manteghi, C.R. Dufour, B. Walker, M. Baba, J. St-Pierre, V. Giguère and A. Pause. 2016. Chronic AMPK activation via loss of FLCN induces functional beige adipose tissue through PGC-1 α /ERR α . *Genes & development*, 30(9): 1034-1046.
46. Zeder, M.A. 2008. Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: Origins, diffusion, and impact. *Proceedings of the national Academy of Sciences*, 105(33): 11597-11604.
47. Zhao, Y.J. and Y.F. Huang. 2019. Selection signatures of litter size in Dazu black goats based on a whole genome sequencing mixed pools strategy. *Molecular Biology Reports*, 46(5): 5517-5523.

Genome-Wide Scan for Detection of Runs of Homozygosity in Iranian Indigenous Sheep Breeds

Abbas Mirzapour-Abibagloo¹, Nemat Hedayat², Reza Khalkhali-Evrigh³,
Reza Seyedsharifi⁴ and Hossein Abdi-Benemar⁴

1- MSc Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

2- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, (Corresponding author: nhedayat@uma.ac.ir)

3- Researcher, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

4- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Received: 17 Jun, 2022

Accepted: 27 July, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: Sheep are considered one of the essential livestock with the high ability to adapt to different climates, and a breed diversity was observed in Iran. As a result of different selections, some genomic regions have acquire high purity called Runs of Homozygosity (ROH). By examining these regions in the genome of sheep, the goals of selection in these breeds can be followed and the genes present in these regions can be identified.

Material and Methods: For this purpose, the whole-genome sequencing data from 28 samples of Iranian sheep, including Afshar, Ghezel, Karakul, Moghani, Makui, Baluchi, Gray, and Shal breeds, were downloaded from the NCBI database. After quality checking and trimming, high-quality reads were aligned to the sheep reference genome by BWA software. Then the variants were identified and filtered using VCFtools software, a VCF file containing information related to SNPs was created for more analysis. At the end of the analysis, homozygous strands were extracted, and finally, the genes related to these regions were identified.

Results: Based on the results of PCA, the samples related to Iranian sheep breeds were divided into three categories, the first group includes the Karakul and Baluchi breeds (KB), the second group includes the Moghani and Makui breeds (MM), and the third group includes the Shal, Ghezel, Afshari and Gray breeds (SGAG). According to the results of the analysis, ROH areas for KB, MM, and SGAG populations have 419 (52.375 areas per person), 139 (23.17 areas per person), and 876 (62.57 areas per person) ROH areas, respectively. Also, 6 and 17 common ROH (at least two samples) were identified in KB and SGAG populations, respectively. We could not find a common ROH for the MM population. Annotating the sharing ROHs leads to identifying 99 and 173 protein-coding genes within these genomic regions for the KB and SGAG populations, respectively. The results of gene ontology analysis showed that most of these genes are involved in processes such as energy and fat metabolism (FLCN, ELOVL3, STK3, SREBF1, and NCOR1) as well as the growth and development of muscle tissue and meat quality (MYL6 and TMOD1).

Conclusion: According to the results of this study, it could be concluded that there is a high level of diversity and crossbreeding in the native sheep breeds that could be used for different breeding goals and producing breeds with appropriate production. On the other hand, the candidate genes identified in this research also accelerate the time to achieve breeding goals in these breeds.

Keywords: Energy metabolism, Meat quality, Runs of homozygosity