



RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

Gene-set enrichment analysis to identify genomic regions associated with environmental adaptation in some Iranian sheep breeds

A. Noroozi¹, M. H. Moradi^{1,2*}, H. Mohammadi¹, A. H. Khaltabadi Farahani¹, A. K. Esmailizadeh³

1. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Environmental Sciences, Arak University, Arak, Iran

2. Department of Animal Science, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

3. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

(Received: 14-01-2025 – Revised: 10-04-2025 – Accepted: 11-04-2025 – Available online: 13-04-2025)

Abstract

Introduction: Environmental adaptations that allow different breeds to thrive in different ecological conditions are significant in sheep breeding. Understanding the genetic basis for such adaptations can greatly enhance breeding programs aimed at improving resilience and productivity. Various indigenous sheep breeds exhibit unique traits suited for their respective habitats in Iran. This study aimed to identify genomic loci associated with environmental adaptation through genome-wide association studies (GWAS) based on gene-set enrichment (GSE) analysis. By leveraging high-density single-nucleotide polymorphism (SNP) arrays, we explored the genetic mechanisms underlying thermotolerance, altitude adaptation, and coat type differentiation, which are critical for sustaining sheep production under Iran's heterogeneous climates. These adaptations are particularly relevant given Iran's diverse topography, where temperatures range from -20°C in mountainous regions to +50°C in deserts, creating strong selective pressures on local breeds.

Materials and methods: The Illumina HD ovine SNP600K BeadChip genomic arrays were utilized to analyze 139 animals from nine Iranian sheep breeds, namely Kermani (n=15), Sanjabi (n=14), Lori-Bakhtiari (n=15), Qezel (n=15), Gharagol (n=15), SiahKobod (n=15), GrayShiraz (n=9), Afshari (n=14), Shal (n=15), and Baluchi (n=12). Animals were grouped based on three adaptive traits: (1) tropical vs. cold climate resilience, (2) high vs. low altitude distribution, and (3) wool vs. skin coat type. Quality control filters included minor allele frequency (MAF) > 0.05, SNP call rate > 95%, and removal of markers with unknown genomic positions. To assess the relationship between specific traits and SNP variations across the genome, GWAS was conducted based on logistic regression models using PLINK software (v 1.9), with principal component analysis (PCA) to correct for population stratification. SNPs were assigned to respective genes based on their locations within the genomic sequence or a flanking region of 50 kb upstream and downstream of each significant SNP. Following this analysis, we employed various bioinformatics databases to interpret gene sets and ascertain their biological functions related to selected genomic regions.

Results and discussion: The results of the GWAS showed that 2431, 2244, and 2145 SNP markers were associated with adaptation to tropical-cold environmental conditions, distribution in areas with high-low height of sea level, and wool-skin body covering in Iranian indigenous sheep, respectively ($P < 0.05$). Gene-set enrichment analysis identified the biological pathways (and candidate genes) of defense response to gram-positive bacterium (*HSPA4L*, *DNAJB4*, *MSRB3*), regulation of immunoglobulin mediated immune response (*IL27A*, *TRAF3IP2*,

* Corresponding author: H-Moradi@Araku.ac.ir or Hoseinmoradi@ut.ac.ir



LY96), regulation of muscle system process and cell junction (*BMP2*, *THBS1*, *MYH10*), regulation of anatomical structure size (*FGF2*, *ACTR3*), regulation of ossification and organ growth (*TMEM117*, *PTBP1*), and skin epidermis development (*KR25*, *KR27*, *KRT71*). The pathways identified in the current study for adaptation traits in indigenous breeds played an important role in the regulation of the immune system, muscle structure development, osteoclast differentiation, body size, and regulation of wool growth. The insights gained from this study greatly extend our understanding of how specific genetic determinants contribute toward functional adaptations in Iranian sheep breeds under diverse environments. For example, the identification of *HSPA4L* in thermotolerance aligns with its known role in heat shock response, while novel candidates like *TMEM117* may represent breed-specific adaptations. Some genes have also not been well-established in their biological function, and there may be potential mutual effects that are not yet understood in this context. Therefore, to determine the precise role of these genes, it is essential to conduct further comprehensive functional studies and biological system analyses.

Conclusions: In general, our findings provide valuable knowledge on genomic regions linked with vital adaptation traits among indigenous Iranian sheep breeds. The integration of GWAS and pathway analysis revealed not only expected candidates (e.g., *KRT* genes for wool) but also novel genes (e.g., *LY96* for immunity) that broaden our understanding of genomic adaptability. These results may serve future research endeavors focused on dissecting genetic architectures underlying adaptability, particularly for marker-assisted selection in breeding programs. However, the study's limitations, including sample size and the need for functional validation of candidate genes, highlight opportunities for future work. A pivotal component influencing successful breeding strategies aimed at improving these animals' resilience while considering changing global climates.

Keywords: Pathway analysis, Candidate gene, Iranian sheep, Genome-wide association analysis

Ethics statement: This study was conducted with the full consideration of animal welfare and the approval of this study was granted by the Ethics Committee of Arak University, Iran.

Data availability statement: The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author.

Conflicts of interest: The authors declare no conflicts of interest.

Funding: The authors received no specific funding for this project.

How to cite this article:

Noroozi, A., Moradi, M. H., Mohammadi, H., Khaltabadi Farahani, A. H., & Esmailizadeh, A. (2025). Gene-set enrichment analysis to identify genomic regions associated with environmental adaptation in some Iranian sheep breeds. *Animal Production Research*, 14(2), 1-18. doi: 10.22124/ar.2025.29391.1876



مقاله پژوهشی

تجزیه و تحلیل غنی سازی مجموعه های ژنی جهت شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با سازگاری محیطی در برخی از نژادهای گوسفندان ایرانی

علی نوروزی^۱، محمدحسین مرادی^{۱*}، حسین محمدی^۱، امیرحسین خلت آبادی فراهانی^۱، علی اسمعیل-

زاده کشکویی^۲

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک

۲- گروه علوم دامی، دانشکده گاو کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

۳- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۲۵ - تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۱/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۱/۲۲ - تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۴/۰۱/۲۴)

چکیده

پژوهش حاضر با هدف مطالعه ارتباط ژنومی (GWAS) بر اساس تجزیه و تحلیل غنی سازی مجموعه های ژنی جهت شناسایی جایگاه های ژنی مؤثر بر صفات سازگاری با شرایط محیطی با استفاده از اطلاعات آرایه های ژنومی Ovine high-density 600K Illumina انجام شد. به این منظور از اطلاعات ژنوتیپی ۱۳۹ رأس گوسفندان بومی ایرانی شامل نژادهای کرمانی (۱۵ رأس)، سنجابی (۱۴ رأس)، لری بختیاری (۱۵ رأس)، قزل (۱۵ رأس)، قره گل (۱۵ رأس)، سیاه کبود (۱۵ رأس)، کبوده شیراز (۹ رأس)، افشاری (۱۴ رأس)، شال (۱۵ رأس) و بلوچی (۱۲ رأس) استفاده شد. ابتدا، تجزیه GWAS برای صفات مورد مطالعه در برنامه PLINK انجام شد. سپس، ژن های معنی داری که در داخل و یا ۵۰ کیلوباز بالا و پایین دست نشانگرهای معنی دار قرار داشتند، شناسایی شدند. در نهایت، تفسیر مجموعه ژنی با هدف شناسایی عملکرد زیستی ژن های نزدیک به مناطق انتخابی از مسیر پایگاه های بیوانفورماتیکی مختلف انجام شد. نتایج نشان داد که به ترتیب ۲۴۳۱، ۲۲۴۴ و ۲۱۴۵ نشانگر SNP با صفات سازگاری با شرایط محیطی گرمسیری-سردسیری، پراکنش در مناطق با ارتفاع بالا-پایین از سطح دریا و پوشش بدنی پشمی-پوستی در گوسفندان بومی ایران مرتبط هستند ($P < 0.05$). با تجزیه و تحلیل غنی سازی مجموعه های ژنی، مسیرهای زیستی (و ژن های کاندیدی) مربوط به پاسخ دفاعی به عفونت های باکتریایی (*DNAJB4*، *HSPA44* و *MSRB3*)، تنظیم پاسخ ایمنی به واسطه ایمنوگلوبولین ها (*IL27A*، *TRAF3IP2* و *LY96*)، تنظیم فرآیند سیستم رشد و اتصالات سلولی (*THBS1*، *BMP2* و *MYH10*)، تنظیم اندازه ساختار آناتومی (*FGF2* و *ACTR3*)، تنظیم استخوان سازی و توسعه اندام (*PTBPI* و *TMEM117*)، و رشد اپیدرم پوست و پشم (*KRT25* و *KRT27*) شناسایی شدند. در مجموع، نتایج تحقیق حاضر می تواند دیدگاه جدیدی در رابطه با معماری ژنتیکی صفات سازگاری در برنامه های اصلاح نژادی گوسفندان کشور فراهم آورند.

واژه های کلیدی: تجزیه مسیر، ژن کاندیدا، گوسفندان ایرانی، مطالعه ارتباط ژنومی

* نویسنده مسئول: H-Moradi@Araku.ac.ir یا Hoseinmoradi@ut.ac.ir

مقدمه

عوامل مختلف محیطی مانند شرایط آب و هوایی (Wiener et al., 2021)، منطقه جغرافیایی (Jin et al., 2024)، و انتخاب‌های طبیعی و مصنوعی (Wang et al., 2019) باعث شده است ساختار ژنتیکی جمعیت‌های گوسفند به شدت تحت تأثیر قرار گیرد و نژادهای مختلف با تنوع ژنتیکی و فنوتیپی بالا برای صفات متنوع در کشورهای مختلف دنیا شکل بگیرد (Moradi et al., 2012). نژادهای بومی هر کشوری به عنوان یک سرمایه ملی و محصولی راهبردی در اقتصاد و رونق آن کشور محسوب می‌شوند که حفظ و نگهداری این نژادها از ارزش و اهمیت بسیاری برخوردار است (Mohammadi & Sadeghi, 2010). بیست و شش نژاد و اکوتیپ مختلف گوسفند در ایران پرورش داده می‌شوند که هر کدام از آنها با بخش خاصی از کشور سازگار شده‌اند (Amiri Roudbar et al., 2017)، به طوری که در مناطق بسیار گرم و خشک، و یا مناطق سرد و مرتفع سازگاری یافته‌اند و طی تکامل، برای صفات مختلف از جمله تولید پشم یا پوست انتخاب شده‌اند (Zamani et al., 2015).

شرط لازم برای ایجاد بهبود ژنتیکی در یک جمعیت حیوانی، وجود تنوع در آن جمعیت است (Gootwine, 2020). فقدان تنوع ژنتیکی، امکان انتخاب را به منظور رفع نیازهای آینده به خصوص با در نظر گرفتن تغییرات شدید اقلیمی در چند دهه اخیر محدود می‌سازد (Jin et al., 2024). بررسی پژوهش‌های انجام شده در گوسفند طی سال‌های اخیر، به خصوص در زمینه ارزیابی‌های ژنومی، نشان می‌دهد عمده این تحقیقات روی صفات تولیدی مانند رشد و تولید گوشت (Zhang et al., 2013)، چربی (Moradi et al., 2021)، تولید شیر (Li et al., 2020)، صفات تولیدمثلی (Gholizadeh et al., 2014; Abdoli et al., 2019a,b) و یا سلامتی (Kaseja et al., 2023) متمرکز شده‌اند و کمتر به تأثیر عوامل محیطی در تنوع دام‌ها توجه شده است. بنابراین، با توجه به توسعه فناوری‌های مولکولی و روش‌های آماری جهت شناسایی مناطق ژنومی مؤثر بر صفات مختلف و محدودیت تحقیقات انجام شده در این زمینه در نژادهای بومی کشور، شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با سازگاری به شرایط محیطی و اقلیمی مختلف ایران ضروری به نظر می‌رسد.

رشد روزافزون اطلاعات حاصل از تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها با استفاده از فن‌آوری‌های نسل جدید توالی‌یابی (NGS: Next generation sequencing) سبب تحول در تجزیه و تحلیل و شناسایی جایگاه‌های ژنی مؤثر بر صفات فنوتیپی در گونه‌های مختلف شده است (Gootwine, 2020). امروزه عمدتاً جهت شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات فنوتیپی از مطالعات ارتباط ژنومی (GWAS: Genome-wide association study) استفاده می‌شود (Arzik et al., 2023; Ghavi Hossein-Zadeh, 2024; Pacheco et al., 2024). این وجود در GWAS برای شناسایی تفاوت‌های (چندشکلی‌های) تک‌نوکلئوتیدی (SNP: Single nucleotide polymorphism) و جایگاه‌های ژنی مؤثر بر صفات، آستانه‌های معنی‌داری بسیار محافظه‌کارانه تعریف می‌شود که در نتیجه آن، SNP‌های معنی‌دار با آثار بزرگ شناسایی می‌شوند. این در حالی است که SNP‌هایی دارای اثر کوچک‌تر نیز ممکن است در مسیرهای زیستی و بیوشیمیایی مؤثر بر صفت نقش داشته باشند (Zhang et al., 2022; Khanzadeh et al., 2012). در این راستا و به منظور برطرف نمودن چالش مذکور، و درک بهتر مبنا و اساس ژنتیکی و زیستی صفات پیچیده، از تجزیه‌های غنی-سازی مجموعه ژنی (GSEA: Gene-set enrichment analysis)، استفاده می‌شود که امکان شناسایی مجموعه‌ای از ژن‌های دارای عملکرد مشابه زیستی یا ساختاری مرتبط با صفت مورد نظر و مستندسازی آنها در قالب گروه‌های عملکردی

هستی‌شناسی ژن‌ها (GO: Gene ontology) و مسیرهای زیستی (Biological pathways) را فراهم می‌سازد (Abdalla et al., 2016; Han & Peñagaricano, 2016). در این نوع مطالعات، به جای جستجوی معنی‌دارترین SNP‌ها، روی ارتباط گروهی از SNP‌ها (علاوه بر SNP‌های معنی‌دار) تمرکز می‌شود که می‌توانند با هم، یک مجموعه ژنی را حاصل نمایند (Esmailifard et al., 2019). امروزه از این روش به طور گسترده جهت شناسایی ژن‌های کاندیدا و مسیرهای زیستی و هستی‌شناسی مرتبط با صفات مختلف در گاو (Abdalla et al., 2016; Dadousis et al., 2017; Jafarymanesh et al., 2019)، مرغ (Clancey et al., 2022; Mohammadi et al., 2020)، بلدرچین (Mohammadi et al., 2022) و گوسفند (Khalatabadi-Farahani et al., 2020; Weiner et al., 2021);

پشمی) از داده‌های ژنومی ۱۳۹ رأس گوسفندان ایرانی شامل نژادهای کرمانی (۱۵ رأس)، سنجابی (۱۴ رأس)، لری‌بختیاری (۱۵ رأس)، قزل (۱۵ رأس)، قره‌گل (۱۵ رأس)، سیاه‌کبود (۱۵ رأس)، کبوده شیراز (۹ رأس)، افشاری (۱۴ رأس)، شال (۱۵ رأس) و بلوچی (۱۲ رأس) استفاده شد. نمونه‌های خون پس از جمع‌آوری جهت استخراج و تعیین کمیت و کیفیت DNA به آزمایشگاه ژنتیک مولکولی، گروه علوم دامی، دانشگاه شهید باهنر کرمان انتقال داده شدند و پس از اطمینان از کیفیت و کمیت مناسب DNA با استفاده از ژل آگارز ۱٪ و اسپکتروفتومتر، تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها با استفاده از آرایه Illumine Ovine SNP 600k حاوی ۶۰۶۰۰۶ جایگاه نشانگری SNP (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) انجام شد.

جهت اجرای این تحقیق و گروه‌بندی حیوانات در دسته‌های مختلف شامل گوسفندان پرورش یافته در مناطق سردسیر- گرمسیر، ارتفاع بالا-پایین و گوسفندان پشمی-پوستی، ابتدا اطلاعات مورد نیاز از مراکز هواشناسی کشور، مرکز آمار ایران و همچنین، بررسی مقالات معتبر چاپ شده در این زمینه تهیه شدند و سپس، با در نظر گرفتن مجموع اطلاعات با توجه به هدف هر بخش از تحقیق حاضر، حیوانات به گروه‌های مختلف تقسیم‌بندی شدند. به این منظور، ابتدا با توجه به دمای مناطق تحت پراکنش نژادهای مختلف ایران طی سالیان متمادی، حیوانات در دو گروه مقاوم به دمای پایین (حیوانات سردسیری شامل نژادهای قزل، افشاری، شال، سنجابی و لری‌بختیاری با میانگین دمای سالیانه حدود ۱۲ درجه سلسیوس) و همچنین، سازگار به دمای بالا (حیوانات گرمسیری شامل نژادهای قره‌گل، کرمانی و بلوچی با میانگین دمای سالیانه بالای ۲۰ درجه سلسیوس) گروه‌بندی شدند. همچنین، این حیوانات بر اساس ارتفاع از سطح دریا به دو گروه دیگر شامل سازگار با ارتفاع بالا (شامل نژادهای لری‌بختیاری و افشاری) و ارتفاع پایین (شامل نژادهای قره‌گل و سیاه‌کبود) تقسیم‌بندی شدند. گوسفندان لری‌بختیاری و افشاری به ترتیب در شهرکرد و زنجان که جزء مناطق سردسیر محسوب می‌شوند، پراکنش دارند و میانگین ارتفاع از سطح دریا در این استان‌ها، ۱۸۵۴ متر است. قره‌گل و سیاه‌کبود نیز در مناطق گرمسیر کشور (سرخس و قم) پراکنش دارند که میانگین ارتفاع از سطح دریا به ۵۸۰ متر می‌رسد، که جزء

(Esmailifard et al., 2019; Mohammadi et al., 2022) استفاده شده است. Wiener et al. (2021) با مطالعه گوسفندان اتیوپی، شواهدی از غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی مرتبط با سازگاری به ارتفاعات بالا در این کشور را گزارش کردند که یکی از قوی‌ترین سیگنال‌های مرتبط با این صفت با ژن کلاژن مرتبط بود. همچنین، چندین ژن مرتبط با ارتفاع نیز شواهدی از انطباق با شرایط دمایی را نشان دادند که بیانگر رابطه بین پاسخ به این عوامل محیطی با همدیگر است. Senczuk et al. (2022) تحقیقی را در جهت شناسایی نحوه تأثیر جغرافیا و آب و هوا روی تنوع ژنومی نژادهای گاو و گوسفند بومی ایتالیا انجام دادند. نتایج این تحقیق نشان داد که تأثیر عوامل جغرافیایی (طول و عرض جغرافیایی) در گوسفند (۲۶/۴ درصد) بیشتر از گاو (۱۳/۸ درصد) بود. همچنین، هنگامی که اثر عوامل جغرافیایی از تجزیه و تحلیل خارج شد، ۱۰/۱ درصد از تنوع ژنومی گاو و ۱۳/۳ درصد از تنوع ژنومی گوسفند به آثار آب و هوایی نسبت داده شد. سهم بیشتر آثار جغرافیایی و آب و هوایی در گوسفند را می‌توان به ترکیبی از تنوع ژنتیکی بالاتر گوسفند قبل از اهلی شدن همراه با ویژگی‌های زیستی و تولیدی این گونه مرتبط دانست. در مجموع، نتایج این تحقیق تأیید می‌کند که هر دو گونه، نتیجه تاریخچه‌های تکاملی پیچیده‌ای هستند که به‌وسیله تعامل بین نیازهای انسان و تغییرات شرایط محیطی ایجاد شده است. با توجه به اینکه بر اساس بررسی منابع انجام شده، تحقیقات صورت گرفته در جهت شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با سازگاری به شرایط محیطی در گوسفندان بومی ایران بسیار محدود است، هدف از این تحقیق، مطالعه GWAS جهت شناسایی مناطق ژنومی، ژن‌های کاندیدا و مسیرهای زیستی مرتبط با صفات سازگاری با شرایط محیطی مانند شرایط آب و هوایی منطقه (سرسیری-گرمسیری)، ارتفاع منطقه محل پرورش از سطح دریا (ارتفاع پایین-بالا) و همچنین، نوع تولید (پشمی-پوستی) در برخی از نژادهای گوسفند بومی ایران به‌روشنی غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی بود.

مواد و روش‌ها

داده‌های مورد استفاده و نحوه تعیین ژنوتیپ: در این تحقیق، به‌منظور شناسایی مناطق ژنومی کاندیدی مرتبط با صفات سازگاری با شرایط محیطی از جمله دمای محیط و ارتفاع از سطح دریا، و همچنین نوع پوشش بدن (پوستی-

۱/۹ محاسبه شد که در صورت عدم وجود لایه‌بندی جمعیتی، مقدار آماره لامبدا نزدیک به عدد ۱ خواهد بود (Devlin & Roeder, 1999).

برای مشاهده توزیع معنی‌داری نشانگرها در سطح ژنوم، نمودارهای منهن برای صفات مختلف با استفاده از برنامه SNPEVG نسخه ۳/۲ ترسیم شد (Wang et al., 2012). جهت بررسی ژن‌های موجود در مناطق حاوی نشانگرهای SNP معنی‌دار از برنامه BioMart موجود در پایگاه Ensembl (www.ensembl.org/) بر پایه نسخه ژنومی Oar_v3.1 گوسفند استفاده شد. برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های به‌دست آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی برخط GeneCards (http://www.genecards.org) و UniProtKB (http://www.uniprot.org) نیز استفاده شد. تجزیه مطالعه کل ژنوم بر اساس تجزیه غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی (GSEA): اساساً تجزیه مطالعه ژنومی بر پایه تجزیه و تحلیل مجموعه‌های ژنی در سه مرحله شناسایی ژن‌های گزارش شده در مناطق ژنومی کاندیدا، ارتباط ژن‌ها به طبقات عملکردی و مسیرهای بیوشیمیایی و نهایتاً مطالعه کل ژنوم بر پایه تجزیه مسیر انجام می‌شود (Mooney et al., 2014). به این منظور ابتدا نشانگرهای که مقدار P-value آنها کمتر یا مساوی ۰/۰۵ بود با استفاده از بسته نرم‌افزاری Biomart در محیط نرم‌افزار R نسخه ۴/۰/۲ با استفاده از ژنوم مرجع گوسفند (Oar_v3.1) به ژن‌هایی که نشانگر SNP مورد نظر در داخل آن ژن و یا ۵۰kb بالادست یا پایین دست آن ژن قرار داشت، (Pasandideh et al., 2020) ارتباط داده شدند. سپس، پایگاه‌های اطلاعاتی شامل GO (Ashburner et al., 2000)، DAVID (Huang et al., 2009) و Panther (Mi & Thomas, 2009) جهت تعیین طبقات عملکردی و مسیرهای متابولیکی و تنظیمی ژن‌های شناسایی شده مورد استفاده قرار گرفتند. در این مرحله، فرض بر این است که ژن‌هایی که در یک طبقه عملکردی قرار می‌گیرند می‌توانند به‌عنوان یک گروه از ژن‌هایی که برخی از ویژگی‌های خاص و مشترک دارند مانند شرکت در سه فرآیند هستی‌شناسی شامل فرآیندهای زیستی، عملکرد مولکولی و اجزای سلولی، در نظر گرفته شوند. در انتها، جهت مطالعه کل ژنوم بر پایه مسیر و شناسایی ارتباط‌های معنی‌دار، مسیرهای عملکردی با صفات مورد مطالعه در تحقیق حاضر، از توزیع فوق هندسی و آماره Fisher's exact test استفاده شد. P-value

مناطق کم ارتفاع محسوب می‌شوند. در انتها، گوسفندان به دو دسته پوستی و پشمی تقسیم شدند. گوسفندان پوستی شامل نژادهای قره‌گل، سیاه کبود و کبوده شیراز بودند که به‌ترتیب در سرخس، قم و شیراز که جز مناطق گرمسیر کشور محسوب می‌شوند، پراکنش دارند و دارای پوششی رنگی هستند. در مقابل، گوسفندان پشمی که پشمی مناسب قالی‌بافی دارند شامل نژادهای سنجابی در کرمانشاه، کرمانی در کرمان و بلوچی در کهنوج بود که عمدتاً دارای پوششی سفید هستند.

مراحل کنترل کیفیت داده‌های تعیین ژنوتیپ شده: جهت بررسی و پالایش داده‌های ژنومی در آغاز، حیواناتی که در هر مقایسه دارای بیش از ۵٪ ژنوتیپ از دست رفته بودند از تجزیه‌های بعدی کنار گذاشته شدند. سپس نشانگرهایی که فراوانی آلل نادر (MAF: Minor allele frequency) در آنها کمتر از ۵٪ بود شناسایی و حذف شدند. در مرحله بعد، نشانگرهایی که نرخ خوانش SNP (SNP call rate) آنها کمتر از ۹۵ درصد بود نیز حذف شدند (Moradi et al., 2021). در نهایت، همه SNP‌های با موقعیت ژنومی ناشناخته از تجزیه‌های بعدی کنار گذاشته شدند. مراحل مختلف پالایش با استفاده از نرم‌افزار PLINK نسخه ۱/۹ (Purcell et al., 2007) انجام شد. در ادامه، برای بررسی نحوه قرار گرفتن حیوانات در گروه‌های نژادی خود و داشتن دیدگاهی کلی در زمینه ساختار جمعیتی نژادهای مورد بررسی، تجزیه مؤلفه‌های اصلی (PCA: Principal component analysis) در محیط R نسخه ۳/۶/۱ با استفاده از دستور precomp انجام شد.

مطالعه GWAS و بررسی ژن‌های شناسایی شده در اطراف SNP‌های معنی‌دار مرتبط با صفات: تجزیه ارتباط ژنومی به‌منظور شناسایی تمام نشانگرهای SNP تاثیرگذار بر صفات مختلف با سطح معنی‌داری ۰/۰۵ بر پایه مدل‌های رگرسیون لجستیک با استفاده از برنامه PLINK نسخه ۱/۹ (Purcell et al., 2007) انجام شد. به‌منظور کنترل اثر لایه‌بندی جمعیتی (Population Stratification) که می‌تواند منجر به نتایج مثبت کاذب شود، از روش PCA استفاده شد. مؤلفه‌های اصلی اولیه (۱۰ مؤلفه اول) به‌عنوان متغیرهای کمکی در مدل GWAS وارد شدند تا اثر ساختار جمعیتی کاهش یابد. سپس، به‌منظور بررسی وجود آثار لایه‌بندی جمعیتی در مقایسات مختلف، عامل تورم کنترل جمعیتی (λ) در تجزیه GWAS با استفاده از برنامه PLINK نسخه

مسیرهای عملکردی با سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ (Dadousis et al., 2017) و تجزیه غنی‌سازی مجموعه ژنی با استفاده از بسته نرم‌افزاری goseq در محیط نرم‌افزار R نسخه ۳/۶/۱ انجام شد (Young et al., 2010).

نتایج و بحث

کنترل کیفیت داده‌های خام تعیین ژنوتیپ شده: مراحل مختلف کنترل کیفیت داده‌های تعیین ژنوتیپ شده بر اساس گروه‌بندی دام‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. بدین ترتیب، پس از کنترل کیفی اولیه داده‌های تعیین ژنوتیپ شده بر اساس گروه‌بندی مناطق سردسیری-گرمسیری، هیچ‌یک از دام‌ها به‌خاطر ژنوتیپ از دست رفته بیشتر از پنج درصد حذف نشدند و در نتیجه، ۱۱۴ حیوان برای تجزیه‌های بعدی باقی ماندند. از مجموع ۶۰۶۰۰۶ نشانگر SNP به‌کار رفته در این تحقیق، ۵۵۷۸۳۹ نشانگر توانستند مراحل مختلف کنترل کیفیت را برای این مقایسه بگذرانند. مراحل مختلف بررسی کنترل کیفیت داده‌ها در گروه‌بندی نژادهای پرورش یافته در مناطق با ارتفاع بالا و پایین از سطح دریا نیز نشان داد که نهایتاً اطلاعات ژنوتیپی مربوط به ۵۹ حیوان در ۵۵۳۱۴۰ جایگاه نشانگری SNP در تجزیه‌های بعدی مربوط به این مقایسه قابل استفاده است. همچنین، نتایج به‌دست آمده از کنترل کیفی داده‌های تعیین ژنوتیپ شده بر اساس گروه‌بندی پوستی-پشمی نشان داد که در مجموع، اطلاعات ژنوتیپی ۵۵۸۲۴۲ نشانگر در ۸۰ حیوان توانستند مراحل مختلف کنترل کیفیت را بگذرانند (جدول ۱).

یکی از شیوه‌های آماری برای آزمون ارتباط بین جوامع و اختصاص افراد به گروه‌های جمعیتی خود با استفاده از ماتریس فاصله، استفاده از PCA است (Jombart et al., 2011). به‌منظور بررسی نحوه خوشه‌بندی حیوانات در گروه‌های نژادی مختلف مورد بررسی در این تحقیق، از تجزیه PCA استفاده شد (شکل ۱). نتایج حاصل از بررسی حیوانات قرار گرفته در دو گروه سردسیر و گرمسیر (شکل ۱-ا) نشان داد که این دو گروه با استفاده از دو مؤلفه اصلی اول (PC1 و PC2) در گروه‌های جداگانه‌ای قرار می‌گیرند. در این تجزیه، PC1 و PC2 به‌ترتیب ۵/۲۴ و ۳/۷۰ درصد از کل واریانس را به خود اختصاص دادند. نتایج PCA به‌منظور بررسی نحوه خوشه‌بندی حیوانات در دو جمعیت پرورش یافته در مناطق با ارتفاع بالا و پایین نسبت به سطح

دریا (شکل ۱-ب) نیز نشان داد که هر چند تعدادی از حیوانات در دو گروه جمعیتی هم‌پوشانی دارند، اما می‌توان آنها را به دو گروه اصلی دسته‌بندی نمود. در این خوشه-بندی، PC1 و PC2 به‌ترتیب ۳/۵۲ و ۲/۴۹ درصد از کل واریانس را به خود اختصاص دادند. در نهایت، تجزیه PCA به‌منظور بررسی نحوه قرارگفتن حیوانات در گروه‌های جمعیتی پوستی و پشمی نیز انجام شد (شکل ۱-ج). بر اساس این تجزیه، PC1 و PC2 به‌ترتیب ۴/۸۲ و ۳/۱۵ درصد از کل واریانس را به خود اختصاص دادند و هر چند برخی حیوانات در این گروه‌بندی نیز هم‌پوشانی جزئی داشتند اما در مجموع، حیوانات در دو گروه اصلی خوشه-بندی شدند. (Kijas et al., 2012) نیز با بررسی نژادهای مختلف گوسفند از سراسر دنیا گزارش کردند که در تجزیه-های PCA، حیواناتی که در مناطق جغرافیایی نزدیکی نسبت به هم قرار می‌گیرند در کنار هم خوشه‌بندی می‌شوند که این باعث هم‌پوشانی برخی حیوانات در نمودارهای PCA می‌شود. تحقیقات دیگر نیز با بررسی ساختار جمعیتی در نژادهای گوسفند ایرانی (Moradi et al., 2017) و یا در گوسفندان آفریقایی و اروپایی-آسیایی، نتایج مشابهی را گزارش کرده‌اند (Mastrangelo et al., 2019).

مطالعه GWAS برای صفات مختلف و ترسیم نمودارهای منهن: در این پژوهش، GWAS جهت شناسایی نشانگرهای SNP مرتبط با صفات سازگاری با شرایط محیطی شامل دمای محیط، ارتفاع از سطح دریا و همچنین، توسعه پشم و پوست در نژادهای مختلف گوسفندان بومی ایران انجام شد. به این منظور، ابتدا اثر لایه‌بندی جمعیتی با استفاده از عامل تورم کنترل جمعیتی (λ) در تجزیه‌های پیوستگی محاسبه شد. لایه‌بندی جمعیتی که ناشی از تفاوت در فراوانی زیر جمعیت‌ها به‌دلیل تفاوت ژنتیکی جد مشترک و همچنین میزان خویشاوندی است، می‌تواند نتایج یک مطالعه ارتباط ژنومی را با مشکل مواجه نماید. مقدار λ بزرگ‌تر از ۱ وجود لایه‌بندی جمعیتی و یا خطای تعیین ژنوتیپ را نشان می‌دهد و مقدار تورم کمتر از ۱ را می‌توان با آزمون تورم کنترل ژنومیکی (GC) تصحیح نمود (Devlin & Roeder, 1999). نتایج حاصل از محاسبه λ در تحقیق حاضر نشان داد که مقدار λ برای سه صفت مورد مطالعه سردسیری-گرمسیری، ارتفاع بالا-پایین نسبت به سطح دریا و پوستی-پشمی به‌ترتیب ۰/۹۸، ۱/۰۲ و ۰/۹۹

این جدول، مسیرهای که بیشتر از سه ژن داشتند گزارش شده‌اند.

همان‌طور که در جدول ۲ قابل مشاهده است نتایج تحقیق حاضر بر پایه غنی‌سازی مجموعه ژنی نهایتاً منجر به شناسایی مسیرهایی شد که به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم، ارتباط معنی‌داری با سازگاری محیطی داشتند. بررسی ژن‌های موجود در هر مسیر نشان داد که برخی از آنها در تحقیقات قبلی نیز به‌عنوان ژن‌های کاندیدا برای صفات مورد مطالعه در تحقیق حاضر گزارش شده‌اند که در بخش زیر با جزئیات بیشتر به برخی از این مسیرها و ژن‌های کاندید در هر مسیر اشاره می‌شود.

بررسی اولیه نتایج حاصل از طبقات عملکردی و هستی-شناسی (GOهای) شناسایی شده نشان می‌دهد که مسیرهای زیستی، عملکرد مولکولی و اجزای سلولی شناسایی شده عمدتاً در دسته‌های رشد اندام (به‌عنوان مثال، اندام عضلانی و اسکلتی)، تنظیم سیستم (به‌عنوان مثال، سیستم ایمنی)، فرآیندهای متابولیکی غنی شده‌اند، که نشان‌دهنده اهمیت اندازه بدن، بهینه‌سازی انرژی و سیستم ایمنی برای بقای گوسفند در محیط‌های مختلف هستند. (Yang et al. (2016 و Jin et al. (2024 نیز با توالی‌یابی کل ژنوم گوسفندان بومی چین جهت شناسایی مناطق ژنومی و ژن‌های کاندیدای مرتبط با شرایط آب و هوایی مختلف شامل مناطق خشک و بیابانی، و یا با ارتفاع بالا یا پست نتایج مشابهی را گزارش کردند. نتایج تحقیقات آنها نشان داد بیشتر GOهای به‌دست آمده با اندازه بدن و سیستم عصبی و تنش، هم‌خوانی دارند و گزارش کردند که مسیرهای زیستی شناسایی شده برای سازگاری با شرایط محیطی با اندازه بدن و سوخت و ساز انرژی در این حیوانات در ارتباط هستند. از مسیرهای زیستی مهم و معنی‌دار مرتبط با این صفت می‌توان به مسیرهای تنظیم فرآیند سیستم عضلانی، تنظیم مورفوز ساختار آناتومی و تنظیم توسعه رشد اشاره نمود که از بین ژن‌های معنی‌دار در این مسیرها، می‌توان به ژن کاندیدای *BMP2* اشاره کرد که در شکل‌گیری استخوان و غضروف نقش به‌سزایی ایفاء می‌کند (<https://www.genecards.org>). *BMP2* عضوی از خانواده ژنی پروتئین چندشکلی استخوان (BMPs) است که از فاکتورهای تغییردهنده رشد ($TGF-\beta$) هستند که در سلول‌های مختلف بیان می‌شوند. این ژن‌ها نقش مهمی در تولید استخوان، رشد و نمو جنینی و هموستازی سلولی

بود که نزدیک به ۱ است. این موضوع نشان می‌دهد که اثر لایه‌بندی جمعیتی روی نتایج مطالعه حاضر، حداقل است. نمودارهای منهتن GWAS مرتبط با گروه‌بندی نژادها بر اساس صفات گرمسیری-سردسیری، ارتفاع بالا-ارتفاع پایین و پوستی-پشمی به‌ترتیب در شکل‌های ۲ تا ۴ ارائه شده است. برای درک بهتر نشانگرهای مرتبط با هر صفت در این شکل‌ها، نشانگرهایی که در صدک بالای ۰/۰۰۱ کل نشانگرهای مورد بررسی برای هر گروه‌بندی قرار داشته‌اند مشخص شده‌اند. با این وجود، جهت تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی جهت شناسایی طبقات عملکردی و ساز و کارهای مولکولی مرتبط با هر صفت، تمام نشانگرهایی که در هر گروه‌بندی در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار بودند ($-\log(P\text{-value}) > 1.3$) برای تجزیه‌های غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج این بخش نشان داد که به‌ترتیب ۲۴۳۱، ۲۲۴۴، و ۲۱۴۵ نشانگر SNP با صفات گرمسیری-سردسیری، ارتفاع بالا-ارتفاع پایین و پوستی-پشمی در گوسفند بومی ایران در ارتباط بودند که در کروموزوم‌های مختلف توزیع یافته‌اند (شکل‌های ۲ تا ۴). شناسایی ژن‌های کاندیدا در مناطق ژنومی مرتبط با صفات مختلف با استفاده از تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی: پس از بررسی ژن‌های گزارش شده در داخل یا مجاورت نشانگرهای SNP معنی‌دار مرتبط با صفات مختلف، مجموع ۶۱۶ ژن به‌ترتیب شامل ۲۹۵، ۱۴۸ و ۱۷۳ برای نشانگرهای معنی‌دار مرتبط با صفات گرمسیری-سردسیری، ارتفاع بالا-پایین و پوستی-پشمی شناسایی شد. نتایج تحقیقات گذشته نشان می‌دهد که هر سه صفت سازگاری با دمای محیط (Weiner et al., 2021; Patiabadi et al., 2024)، ارتفاع منطقه محل پرورش از سطح دریا (Jin et al., 2024)، و نوع تولید از دیدگاه پشم یا پوست (Vasu et al., 2024)، صفاتی هستند که در انطباق حیوانات به محیط پیرامون خود طی فرآیندهای انتخاب طبیعی و مصنوعی مؤثر هستند و با همدیگر نیز در ارتباط هستند (Senczuk et al., 2022). نتایج این پژوهش منجر به شناسایی ۱۴۶ طبقه عملکردی هستی‌شناسی (فرآیند زیستی، عملکرد مولکولی و اجزای سلولی) و ۴۸ مسیر بیوشیمیایی PANTHER شد. همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است، طبقات عملکردی در هستی‌شناسی فرآیندهای زیستی، عملکرد مولکولی، اجزای سلولی و مسیرهای زیستی با صفات مورد بررسی دارای ارتباط هستند ($P < 0.05$). در

این ژن نقش مهمی در رشد اندام‌های بدن، تکثیر و تمایز سلولی و رشد و نمو جنین دارد (Habimana et al., 2021). Jin et al. (2020) جهت شناسایی ژن‌های موثر بر سازگاری به ارتفاع در بز، چهار نژاد مختلف بز در چین را که در مناطقی با ارتفاع بسیار بالا (نژاد تبتی با ارتفاع بیش از ۴۵۰۰ متر) و پایین‌تر از سطح دریا پرورش داده می‌شوند، با استفاده از روش‌های مبتنی بر نشانه‌های انتخاب مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد ژن *FGF2* یکی از ژن‌های کاندیدای مهم برای سازگاری با ارتفاع محسوب می‌شود.

مسیر زیستی تنظیم اندازه ساختار آناتومی از دیگر مسیرهایی بود که در ارتباط با این صفات شناسایی شد. ژن‌های کاندیدای *TGFBR3* و *ACTR3* نقش مهمی در توسعه بافت عضله دارند. در مطالعه کل ژنوم مرتبط با صفات ساختاری بدن، ژن *TGFBR3* مرتبط با صفات اندازه بدن و طول لاشه گزارش شده است (Zhang et al., 2021). همچنین، در مطالعه کل ژنوم مرتبط با فراسنجه‌های منحنی رشد (وزن بدن در سنین شش، دوازده و هیجده ماهگی)، ژن *ACTR3* مرتبط با وزن بدن گزارش شده است (Duan et al., 2021). ژن *TGFBR3* به‌عنوان یکی از ژن‌های کاندیدای اصلی در سازگاری با ارتفاع در گوسفند (Wei et al., 2016; Tian et al., 2023) و ژن *ACTR3* با سازگاری با شرایط محیطی در مقایسه گاومیش‌های خوزستانی و آذری در ایران (Mokhber et al., 2018) گزارش شده است.

دارند. در مطالعه کل ژنوم با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفات رشد در گاوهای گوشتی، ژن کاندیدای *BMP2* مرتبط با صفات رشد گزارش شده است (Chen et al., 2021). Jin et al. (2024) نیز با توالی‌یابی کل ژنوم در گوسفندان بومی چین، جهت شناسایی مسیرهای زیستی مقاومت به شرایط مختلف آب و هوایی این کشور، گزارش کردند که ژن *BMP2* با تحریک مسیر سیگنالینگ BMP/SMAD در مقاومت به شرایط دمایی گرم مؤثر است. از بین ژن‌های موجود در مسیر تنظیم فرآیند سیستم عضلانی، می‌توان به ژن کاندیدای *THBS1* نیز اشاره کرد که در سوخت و ساز عضله و اسیدهای آمینه در بدن نقش دارد. در مطالعه‌ای با بررسی ایندل‌های موجود در ژن *THBS1* با صفات رشد در چهار نژاد گوسفند، ارتباط معنی‌داری بین این ژن با صفت وزن بدن گزارش شده است (Wang et al., 2019). علاوه بر این در تحقیقات گذشته، ژن *THBS1* به‌عنوان ژن کاندیدا برای دو صفت مقاومت به دمای محیط در گاوهای سیبری (Igoshin et al., 2021) و تولید پشم در گوسفندان چینی (Guo et al., 2021) و پرتغالی (Gaspar et al., 2024) گزارش شده است.

از سایر مسیرهای زیستی معنی‌دار مرتبط می‌توان به مسیر تنظیم رشد بافت عضلانی اسکلتی اشاره کرد که جزء مسیرهای زیستی مرتبط با تولید است و از بین ژن‌های کاندیدای موجود در این مسیرها، *FGF2* دارای نقش زیستی مستقیمی با صفات مرتبط با تولید است. در مطالعه کل ژنوم مرتبط با وزن بدن، ژن *FGF2* گزارش شده است.

جدول ۱- مراحل مختلف کنترل کیفیت داده‌های حاصل از تعیین ژنوتیپ حیوانات با توجه به گروه‌بندی نژادهای مختلف در مناطق گرمسیر-سردسیر، ارتفاع بالا-پایین نسبت به سطح دریا و نوع انتخاب پوستی-پشمی

Table 1. Different steps of quality control for genotyping data according to the grouping of different breeds in tropical-cold regions, high-low altitude above sea level, and type of skin-wool selection

Different steps of quality control	Tropical vs. Cold	High vs. Low altitude	Skin vs. Wool
Number of animals	114 (42 Tropical and 72 Cold; 61 Male and 53 Female)	59 (29 High and 30 Low altitude; 30 Male and 29 Female)	80 (39 Skin and 41 Wool sheep; 36 Male and 44 Female)
Excluding animals with more than 5% missing genotype	0	0	0
Removing SNP markers with $MAF \leq 0.05$ in all samples	31093	34957	31507
Removing SNP markers with $\leq 95\%$ call rate	16659	17505	15844
Removing SNP markers with unknown position	415	404	413
Number of SNP markers after quality control	557839	553140	558242

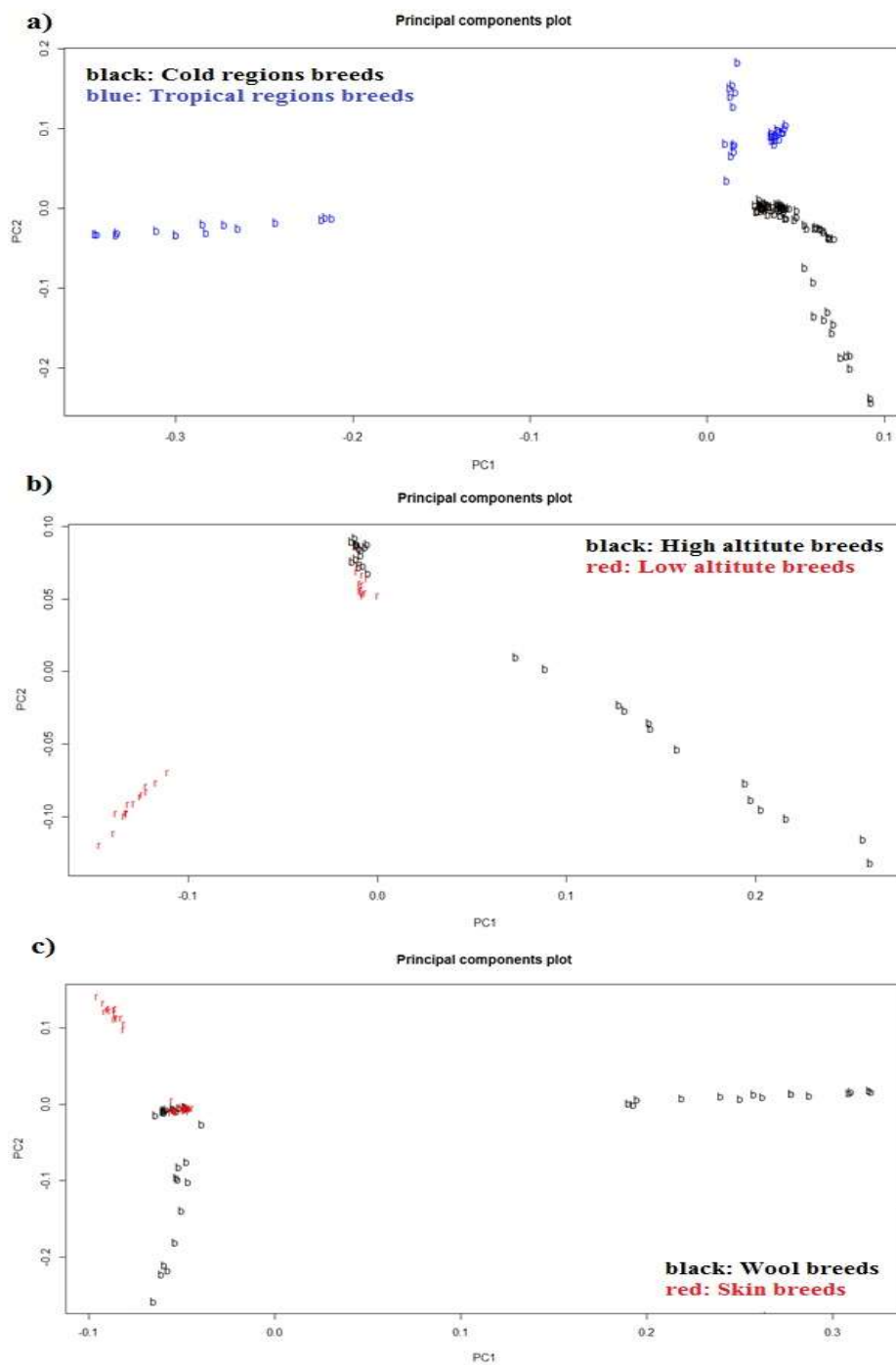


Fig. 1. Principal component analysis (PCA) plot for sheep breeds raised (a) in cold-tropical regions, (b) at high and low altitudes, and (c) for wool and skin breeds: These plots illustrate the clustering of animals based on the first (PC1) and second (PC2) principal components.

شکل ۱- نمودار تجزیه مؤلفه‌های اصلی (PCA) برای نژادهای گوسفند پرورش‌یافته در مناطق سردسیری-گرمسیری (a)، مناطق با ارتفاع بالا و پایین نسبت به سطح دریا (b) و نژادهای پشمی و پوستی (c): نحوه خوشه‌بندی حیوانات در این نمودارها بر اساس دو مؤلفه اصلی اول (PC1) و دوم (PC2) ترسیم شده است.

سیرکیومسینتا (*Teladorsagia circumcincta*) گزارش شد. مقاومت سلولی به تنش گرمایی با تولید خانواده‌ای از پروتئین‌ها به نام پروتئین شوک حرارتی (HSP) کنترل می‌شود که این پروتئین‌ها به واسطه آثار آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی در شرایط تنش منجر به محافظت هسته و عضای سلولی در مقابل آسیب‌های محیطی می‌شوند (Connell et al., 2001). ژن *HSPA44* عضوی از خانواده پروتئین‌های شوک حرارتی است که در تحقیقات گذشته به‌عنوان یکی از ژن‌های کاندیدا در مقاومت به تنش دمایی در گاو شناسایی شده است (Freitas et al., 2021). به همین ترتیب، ارتباط بین ژن‌های *DNAJB4* (Saravanan et al., 2021)، *MSRB3* (Edea et al., 2019) و *TRAF3IP2* (Pham et al., 2022) و *LY96* (Karimi et al., 2021) با صفات مختلف سازگاری با محیط در دامنه وسیعی از گونه‌ها گزارش شده است.

مسیر رشد اپیدرم پوست که جزء هستی‌شناسی فرآیند زیستی است یکی از مهمترین مسیرهای مؤثر شناسایی شده در تحقیق حاضر در ارتباط با گروه‌بندی پوستی-پشمی است که در فرآیند رشد و توسعه پشم نقش دارد. از بین ژن‌های معنی‌دار در این مسیر، می‌توان به ژن‌های کاندیدای *KRT71*، *KR25* و *KR27* اشاره کرد. تا به امروز بیش از ۱۰۰ ژن مرتبط با تولید و تنظیم کراتین شناسایی و گزارش شده‌اند که در تشکیل ماتریکس اطراف کورتکس میکروفیبریل‌های الیاف پشم، نقش مؤثری دارند (McLaren et al., 1997). کراتین‌ها به دو گروه پروتئین-های کراتین میانی یا IF و پروتئین‌های وابسته به کراتین یا KAP تقسیم می‌شوند. پروتئین‌های IF، فیلامنت‌هایی را تشکیل می‌دهند که در داخل ماتریکس پروتئین‌های KAP قرار می‌گیرند. Rastifar et al. (2015) با مطالعه کل ژنوم نژادهای گوسفند ایرانی زل و لری‌بختیاری گزارش کردند ژن‌های *KAP10* (Keratin-associated protein 10) و *KAP12-2* (Keratin-associated protein 12-2-like) می‌توانند به‌عنوان ژن‌های کاندیدای مرتبط با قطر پشم در نظر گرفته شوند. (Parsons et al., 1994) نیز گزارش کردند که بین ژن‌های کراتین که تولیدکننده پروتئین با درصد گلیسین-تیروزین بالا است و قطر الیاف پشم، ارتباط وجود دارد.

از دیگر مسیرهای اصلی معنی‌دار مرتبط با صفات مورد بررسی در تحقیق حاضر می‌توان به مسیر تنظیم استخوان-سازی و تنظیم رشد اندام اشاره کرد. از میان ژن‌های کاندیدای موجود، ژن‌های کاندیدای *PTBPI* و *TMEM117* دارای بیشترین ارتباط معنی‌دار با صفات رشد بودند. در مطالعه کل ژنوم با هدف شناسایی مناطق ژنومی و ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفات رشد در گاو گوشتی سمینتال، ژن کاندیدای *PTBPI* گزارش شده است (An et al., 2020). علاوه بر این، در مطالعه کل ژنوم در گاوهای شیری هلشتاین نیز ژن کاندیدای *TMEM117* مرتبط با امتیاز وضعیت بدنی گزارش شده است (Veerkamp et al., 2012).

با توجه به اینکه دامنه جغرافیایی پرورش نژادهایی که در این تحقیق جزء دسته حیوانات پرورش یافته در مناطق گرمسیری یا ارتفاعات پایین از سطح دریا طبقه‌بندی شده‌اند، اغلب در مناطق کویری و خشک است، این نژادها دارای خصوصیات بارزی مانند سازگاری به شرایط سخت تغذیه‌ای و عوامل نامساعد محیطی هستند. بنابراین، مسیرهای شناسایی‌شده در تحقیق حاضر با مسیرهای متابولیکی درگیر در سازگاری به شرایط محیطی مرتبط هستند. این مسیرها شامل مواردی مانند مقاومت به عفونت‌ها، مقابله با انگل‌ها و تقویت سیستم ایمنی هستند، که برای بقا و سازگاری این نژادها در محیط‌های سخت ضروری هستند. نتایج حاصل نشان داد که از جمله مسیرهای زیستی مهم مرتبط با سازگاری شرایط محیطی شناسایی شده در این مطالعه، مسیرهای پاسخ دفاعی به عفونت‌های باکتریایی گرم مثبت و تنظیم پاسخ ایمنی به واسطه ایمنوگلوبولین‌ها هستند. از بین ژن‌های کاندیدای مهم موجود در این مسیرها، می‌توان به ژن‌های *IL27A*، *HSPA44*، *DNAJB4*، *MSRB3*، *TRAF3IP2* و *LY96* اشاره کرد. اینترلوکین‌ها عضوی از خانواده سایتوکین‌ها هستند. سایتوکین‌ها، خانواده بزرگی از مولکول‌های قابل حل در آب هستند که نقش تنظیمی در پاسخ به التهاب دارند و در کنترل سیستم ایمنی نقش مهمی دارند. ژن *IL27A* شناسایی شده در تحقیق حاضر نیز جزء گروه سایتوکین‌ها است که نقش کلیدی در پاسخ‌های ایمنی دارند. در مطالعه (Khare et al., 2012). ژن *IL27A* در ارتباط با ایمنی ذاتی با بیماری مایوباکتریوم آویوم (*Mycobacterium avium*) زیر گروه پاراتوبرکلوزیس و نماتود انگلی تلادورسازیا

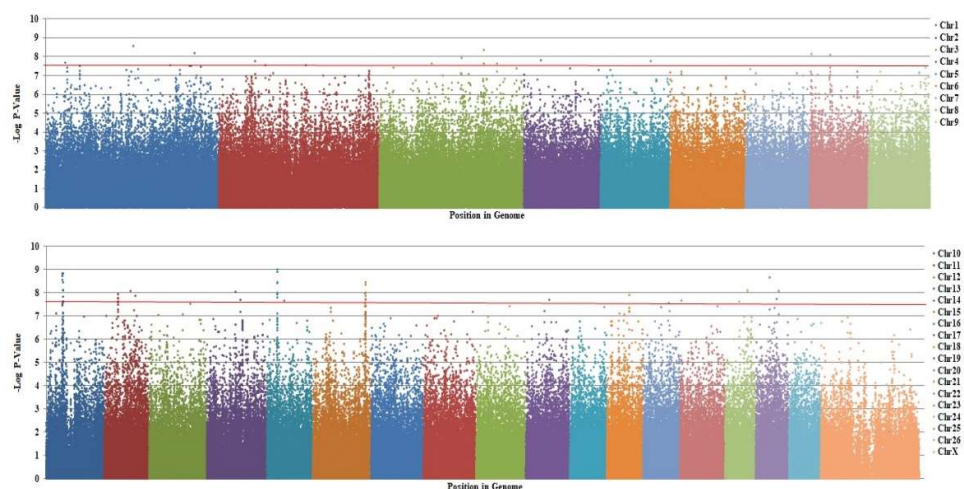


Fig. 2. Manhattan plot of genome wide association study (GWAS) for the tropical-cold trait. In this graph, the X-axis shows the location of SNPs on different chromosomes and the Y-axis shows the negative logarithm of P -values. The red line shows SNPs with a value higher than 7.65. This value is in the 0.0001 percentile of all marker values in comparison of animals raised in cold and tropical environments.

شکل ۲- نمودار منهن مطالعه ارتباط ژنومی (GWAS) برای صفت گرمسیری-سردسیری. در این نمودار، روی محور X ، موقعیت SNPها در کروموزوم‌های مختلف و روی محور Y ، ارزش‌های منفی لگاریتم P -value نمایش داده شده است. خط قرمز، SNPهایی را نشان می‌دهد که دارای ارزشی بالاتر از ۷/۶۵ هستند. این ارزش در صدک ۰/۰۰۰۱ کل ارزش‌های نشانگری در مقایسه حیوانات پرورش یافته در محیط سردسیر و گرمسیر قرار دارد.

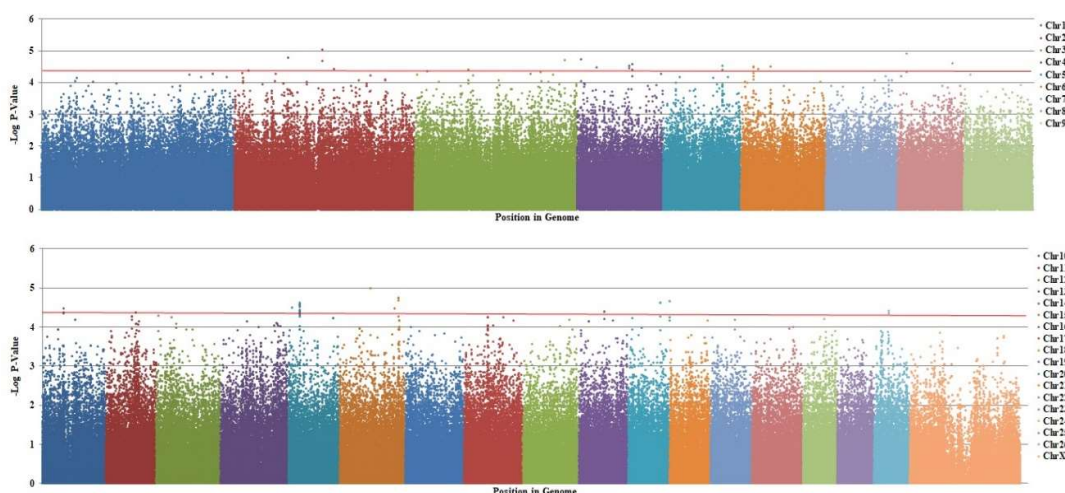


Fig. 3. Manhattan plot of genome wide association study (GWAS) for the high vs. low altitude trait. In this graph, the X-axis shows the location of SNPs on different chromosomes and the Y-axis shows the negative logarithm of P -values. The red line shows SNPs with a value higher than 4.35. This value is in the 0.0001 percentile of all marker values in comparison of animals raised in environments with high and low altitude from sea level.

شکل ۳- نمودار منهن مطالعه ارتباط ژنومی (GWAS) برای صفت ارتفاع بالا-ارتفاع پایین. در این نمودار، روی محور X ، موقعیت SNPها در کروموزوم‌های مختلف و روی محور Y ، ارزش‌های منفی لگاریتم P -value نمایش داده شده است. خط قرمز، SNPهایی را نشان می‌دهد که دارای ارزشی بالاتر از ۴/۳۵ هستند. این ارزش در صدک ۰/۰۰۰۱ کل ارزش‌های نشانگری در مقایسه حیوانات پرورش یافته در محیط‌های با ارتفاع بالا و پایین از سطح دریا قرار دارد.

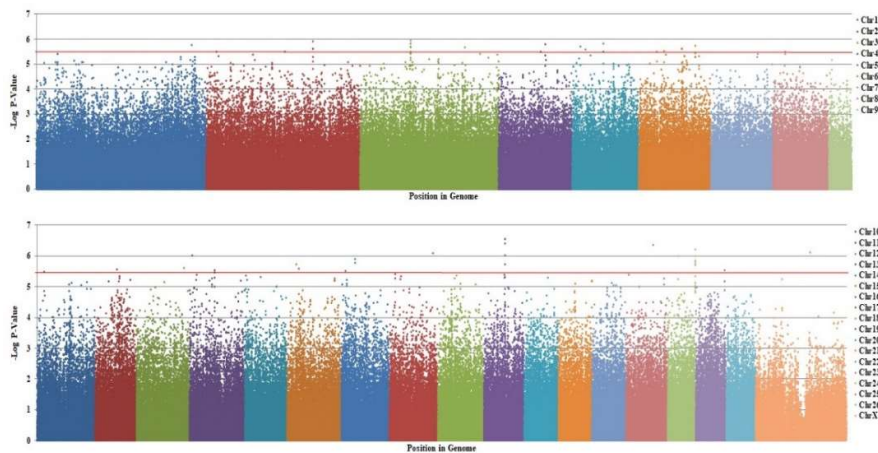


Fig. 4. Manhattan plot of genome wide association study (GWAS) for the skin vs wool trait. In this graph, the X-axis shows the location of SNPs on different chromosomes and the Y-axis shows the negative logarithm of *P*-values. The red line shows marker values in comparison of skin and wool breeds.

شکل ۴- نمودار منهتن مطالعه ارتباط ژنومی (GWAS) برای صفت پوستی-گوشتی. در این نمودار، روی محور X، موقعیت SNPها در کروموزومهای مختلف و روی محور Y، ارزشهای منفی لگاریتم *P*-value نمایش داده شده است. خط قرمز، SNPهایی را نشان می‌دهد که دارای ارزشی بالاتر از ۵/۴۸ هستند. این ارزش در صدک ۰/۰۰۱ کل ارزشهای نشانگری در مقایسه نژادهای پوستی و پشمی قرار دارد.

همچنین، برخی از تحقیقات نشان می‌دهند این ژن در سازگاری با دما نقش دارد (Liang et al., 2017). از مسیرهای بیوشیمیایی معنی‌دار KEGG مرتبط با سازگاری با شرایط محیطی می‌توان به مسیر تمایز استئوکلاست و مسیر سیگنال‌دهی انسولین اشاره کرد. از بین ژن‌های معنی‌دار در این مسیر، ژن کاندیدای *TGFBR3* در مطالعات قبلی در ارتباط با صفات ساختاری مختلف نیز ارتباط معنی‌داری داشته است. در مطالعه کل ژنوم مرتبط با صفات ساختاری بدن مرتبط با دست و پا در خوک، ژن کاندیدای *TGFBR3* مرتبط با اندازه بدن گزارش شده است (Reimer et al., 2018). در ضمن، همان‌طور که قبلاً اشاره شد این ژن به‌عنوان یکی از ژن‌های کاندیدای اصلی در سازگاری با ارتفاع در گوسفند (Wei et al., 2023) نیز گزارش شده است. (al., 2016).

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع، تحقیق حاضر با هدف شناسایی مناطق ژنومی، مسیرهای زیستی و ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفات سازگاری با شرایط محیطی (با گروه‌بندی حیوانات به نژادهای پرورش یافته در مناطق سردسیر-گرمسیر و ارتفاع بالا-پایین از سطح دریا)، و همچنین، نوع پوشش بدن (پوستی-پشمی) و با استفاده از اطلاعات ژنومی گوسفندان

اتصال به پروتئین اسکلتی و فعالیت پروتئینی سرین-ترئونین کیناز، دو مسیر مولکولی معنی‌دار شناسایی شده در تحقیق حاضر بود (جدول ۲). تحقیقات قبلی در زمینه شناسایی مناطق ژنومی مؤثر بر سازگاری با شرایط محیطی در دو گونه گوسفند و گاو بومی کشور روسیه (Yudin & Larkin, 2019) و نژادهای گوسفند کشور هند (Arora et al., 2024) نیز نشان دادند که این مسیرهای مولکولی با صفات سازگاری با آب و هوا و ارتفاع در ارتباط هستند. مسیر اتصالات سلولی را می‌توان یکی دیگر از مهمترین مسیرهای مؤثر بر وزن بدن در ارتباط با صفات مورد بررسی دانست. در این مسیر، پروتئین‌های واسطه جهت ارتباط دادن اسکلت سلولی یک سلول به اسکلت سلولی سلول مجاور یا یک پروتئین در ماتریکس خارج سلولی از سطح غشای پلاسمایی گسترش می‌یابند. این مسیر در فرآیندهای ارتباط و اتصال سلول‌ها به هم و یا به بافت همبند پایه مؤثر هستند. از بین ژن‌های معنی‌دار در این مسیر، می‌توان به ژن کاندیدای *MYH10* اشاره کرد. در یک تحقیق، مطالعه کل ژنوم مرتبط با صفات رشد در گاوهای گوشتی سمینتال، ژن کاندیدای *MYH10* مرتبط با وزن بدن در یک‌سالگی و هیجده ماهگی را مشخص نمود (Zhuang et al., 2020).

و در این مسیرها، ژن‌های کاندیدای متفاوتی شناسایی شدند که در تحقیقات گذشته نیز ارتباط آن‌ها با انطباق با دمای محیط، ارتفاع منطقه و رشد پشم یا پوست گزارش شده است. با توجه به عملکرد زیستی مسیرهای شناسایی شده در این پژوهش، به نظر می‌رسد این ژن‌ها در بروز فنوتیپی صفات مهم اقتصادی، نقش ایفا می‌کنند. بنابراین، با بررسی ارتباط بین ژن‌های کاندیدای شناسایی شده در تحقیق حاضر، طی تحقیقات مستقل در آینده می‌توان ضمن تأیید ارتباط این ژن‌ها با صفات سازگاری با شرایط محیطی و رشد در نژادهای بومی ایران، از نتایج به‌دست آمده در صورت امکان برای مطالعات اصلاح نژادی در آینده بهره‌مند شد.

ایرانی انجام شد. در این مطالعه با استفاده از تجزیه GWAS به کمک نشانگرهای متراکم SNP، برخی از مناطق ژنومی مرتبط با صفات سازگاری محیطی، رشد بدن و توسعه پشم شناسایی شدند. همچنین، جهت شناسایی مسیرهای زیستی مرتبط با صفات مورد مطالعه از روش غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی که نوعی تجزیه بر مبنای مسیر است، استفاده شد. بررسی این مناطق ژنومی معنی‌دار با استفاده از پایگاه بیوانفورماتیکی مختلف نشان داد که مناطق ژنومی مؤثر بر صفات سازگاری محیطی به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم با صفات رشد و توسعه عضلات اسکلتی و استخوان، سیستم ایمنی و پاسخ دفاعی بدن مرتبط هستند.

جدول ۲- تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی معنی‌دار ($P < 0.05$) مرتبط با صفات مورد بررسی در تحقیق حاضر

Table 2. Gene-set enrichment analysis significantly associated with the traits studied in the present study ($P < 0.05$)

Ontology classes	GO ID and name	Number of genes in the ontology pathway	Number of significant genes	Corrected significance level based on FDR
Biological process (BP)	GO:0090257-Regulation of muscle system process	29	6	0.0041
	GO:0022603-Regulation of anatomical structure morphogenesis	24	8	0.0337
	GO:0048638-Regulation of developmental growth	29	9	0.0475
	GO:0048641-Regulation of skeletal muscle tissue development	67	15	0.0082
	GO:0090066-Regulation of anatomical structure size	53	9	0.0094
	GO:0045778-Positive regulation of ossification	12	3	0.0450
	GO:0030833-Actin filament polymerization	15	4	0.0339
	GO:0060249-Positive regulation of organ growth	23	6	0.0465
	GO:0071363-Cellular response to growth factor stimulus	86	5	0.0010
	GO:0010762-Regulation of fibroblast migration	25	7	0.0076
	GO:0040008-Regulation of growth	21	9	0.0119
	GO:0030036-Actin cytoskeleton organization	17	8	0.0461
	GO: 0050830-Defense response to Gram-positive bacterium	41	9	0.0149
	GO: 0002890-Regulation of immunoglobulin mediated immune response	10	5	0.0146
	GO: 0019724-Regulation of B cell mediated immunity	65	9	0.0134
	GO: 0098773-Skin epidermis development	56	4	0.0339
Molecular functions (MF)	GO:0008092-Cytoskeletal protein binding	76	11	0.0165
	GO:0004674-Protein serine/threonine kinase activity	50	9	0.0232
	GO:0003690-Double-stranded DNA binding	56	13	0.0258
Cellular contents (CC)	GO:0030054-Cell junction	21	9	0.0373
	GO:0034703-Cation channel complex	32	6	0.0434
KEGG pathways	oas04380: Osteoclast differentiation	79	20	0.0231
	oas04910: Insulin signaling pathway	66	11	0.0497

فهرست منابع

- Abdalla, E., Byrem, T., Weigel, K., & Rosa, G. (2016). Genome-wide association mapping and pathway analysis of leukosis incidence in a US holstein cattle population. *Animal Genetics*, 47(4), 395-407. doi: 10.1111/age.12438
- Abdoli, R., Mirhoseini, S. Z., Hossein-Zadeh, N. G., Zamani, P., Ferdosi, M. H., & Gondro, C. (2019a). Genome-wide association study of four composite reproductive traits in Iranian fat-tailed sheep. *Reproduction, Fertility and Development*, 31(6), 1127-1133. doi: 10.1071/RD18282
- Abdoli, R., Mirhoseini, S. Z., Ghavi Hossein-Zadeh, N., Zamani, P., Moradi, M. H., Ferdosi, M. H., & Gondro, C. (2019b). Genome-wide association study of first lambing age and lambing interval in sheep. *Small Ruminant Research*, 178, 43-45. doi: 10.1016/J.SMALLRUMRES.2019.07.014
- Amiri Roudbar, M., Mohammadabadi, M., Ayatollahi Mehrgardi, A., & Abdollahi Arpanahi, R. (2017). Estimates of variance components due to parent-of-origin effects for body weight in Iran-Black sheep. *Small Ruminant Research*, 141, 1-5. doi: 10.1016/j.smallrumres
- An, B., Xu, L., Xia, J., Wang, X., Miao, J., Chang, T., Song, M., Ni, J., Xu, L., Zhang, L., Li, J., & Gao, H. (2020). Multiple association analysis of loci and candidate genes that regulate body size at three growth stages in Simmental beef cattle. *BMC Genetics*, 21(1), 32. doi: 10.1186/s12863-020-0837-6
- Arora, R., Kaur, M., Kumar, A., Chhabra, P., Mir, M. A., Ahlawat, S., Singh, M. K., Sharma, R., & Gera, R. (2024). Skeletal muscle transcriptomics of sheep acclimated to cold desert and tropical regions identifies genes and pathways accentuating their diversity. *International Journal of Biometeorology*, 68(9), 1811-1821. doi: 10.1007/s00484-024-02708-3
- Arzik, Y., Kizilaslan, M., Behrem, S., White, S. N., Piel, L. M., & Cinar, M. U. (2023). Genome-wide scan of wool production traits in akkaraman sheep. *Genes*, 14(3), 713. doi: 10.3390/genes14030713
- Ashburner, M., Ball, C. A., Blake, J. A., Botstein, D., Butler, H., Cherry, J. M., Davis, A. P., Dolinski, K., Dwight, S. S., Eppig, J. T., Harris, M. A., Hill, D. P., Issel-Tarver, L., Kasarskis, A., Lewis, S., Matese, J. C., Richardson, J. E., Ringwald, M., Rubin, G. M., & Sherlock, G. (2000). Gene ontology: Tool for the unification of biology. *Nature Genetics*, 25, 25-29. doi: 10.1038/75556
- Chen, Z. H., Xu, Y. X., Xie, X. L., Wang, D. F., Aguilar-Gómez, D., Liu, G. J., Li, X., Esmailizadeh, A., Rezaei, V., Kantanen, J., Ammosov, I., Nosrati, M., Periasamy, K., Coltman, D. W., Lenstra, J. A., Nielsen, R., & Li, M. H. (2021). Whole-genome sequence analysis unveils different origins of European and Asiatic mouflon and domestication-related genes in sheep. *Commun Biology*, 4(1), 1307. doi: 10.1038/s42003-021-02817-4
- Clancey, E., Kiser, J. N., & Moraes, J. G. N. (2019). Genome-wide association analysis and gene set enrichment analysis with SNP data identify genes associated with 305-day milk yield in Holstein dairy cows. *Animal Genetics*, 50, 254-258. doi: 10.1111/age.12792
- Connell, P., Ballinger, C. A., Jiang, J., Wu, Y., Thompson, L. J., Hohfeld, J., & Patterson, C. (2001). The cochaperone CHIP regulates protein triagedecisions mediated by heat -shock proteins. *Nature Cell Biology*, 3, 93 -96. doi: 10.1038/35050618
- Dadousis, C., Pegolo, S., Rosa, G., Gianola, D., Bittante, G., & Cecchinato, A. (2017). Pathway-based genome-wide association analysis of milk coagulation properties, curd firmness, cheese yield, and curd nutrient recovery in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 100(2), 1223-1231. doi: 10.3168/jds.2016-11587
- Dadousis, C., Pegolo, S., Rosa, G. J. M., Gianola, D., Bittante, G., & Cecchinato, A. (2017). Pathway-based genomewide association analysis of milk coagulation properties, curd firmness, cheese yield, and curd nutrient recovery in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 100, 1223-1231. doi: 10.3168/jds.2016-11587
- Devlin, B., & Roeder, K. (1999). Genomic control for association studies. *Biometrics*, 55, 997-1004. doi: 10.1111/j.0006-341x
- Duan, X., An, B., Du, L., Chang, T., Liang, M., Yang, B. G., Xu, L., Zhang, L., Li, J. E. G., & Gao, H. (2021). Genome-wide association analysis of growth curve parameters in chinese simmental beef cattle. *Animals*, 11(1), 192. doi: 10.3390/ani11010192
- Edea, Z., Dadi, H., Dessie, T., & Kim, K. S. (2019). Genomic signatures of high-altitude adaptation in Ethiopian sheep populations. *Genes & Genomics*, 41, 973-981. doi: 10.1007/s13258-019-00820-y
- Esmailifard, S. M., Gholizadeh, M., Hafezian, S. H., & Abdollahi-Arpanahi, R. (2021). Genes and pathways affecting sheep productivity traits: genetic parameters, genome-wide association mapping, and pathway enrichment analysis. *Frontiers in Genetics*, 12, 710613. doi: 10.3389/fgene.2021.710613
- Esmailifard, S. M., Hafezian, S. H., Gholizadeh, M., & Abdollahi-Arpanahi, R. (2019). Gene set enrichment analysis using genome-wide association study to identify genes and biological pathways associated with twinning in Baluchi sheep. *Animal Production Research*, 8(2), 63-80. doi: 10.22124/AR.2019.11948.1365 [In Persian]

- Freitas, P. H., Wang, Y., Yan, P., Oliveira, H. R., Schenkel, F. S., Zhang, Y., Xu, Q., & Brito, L. F. (2021). Genetic diversity and signatures of selection for thermal stress in cattle and other two Bos species adapted to divergent climatic conditions. *Frontiers in Genetics*, 12, 604823. doi: 10.3389/fgene.2021.604823
- Gaspar, D., Ginja, C., Carolino, N., Leão, C., Monteiro, H., Tábuas, L., Branco, S., Padre, L., Caetano, P., Romão, R., & Matos, C. (2024). Genome-wide association study identifies genetic variants underlying footrot in Portuguese Merino sheep. *BMC Genomics*, 25(1), 100.
- Ghavi Hossein-Zadeh, N. (2024). An overview of recent technological developments in bovine genomics. *Veterinary and Animal Science*, 25, 100382. doi: 10.1016/J.VAS.2024.100382
- Gholizadeh, M., Rahimi-Mianji, G., Nejati-Javaremi, A., De Koning, D. J., & Jonas, E. (2014). Genome wide association study to detect QTL for twinning rate in Baluchi sheep. *Journal of Genetics*, 93, 489-493. doi: 10.1186/s12864-024-10130-7
- Gootwine, E. (2020). Invited review: Opportunities for genetic improvement toward higher prolificacy in sheep. *Small Ruminant Research*, 186, 106090. doi: 10.1016/j.smallrumres.2020.106090
- Guo, T., Zhao, H., Yuan, C., Huang, S., Zhou, S., Lu, Z., Niu, C. E., Liu, J., Zhu, S., Yue, Y., & Yang, Y. (2021). Selective sweeps uncovering the genetic basis of horn and adaptability traits on fine-wool sheep in China. *Frontiers in Genetics*, 12, 604235. doi: 10.3389/fgene.2021.604235
- Habimana, R., Ngeno, K., Okeno, T. O., Hirwa, C. A., Keambou Tiambo, C., & Yao, N. K. (2021). Genome-wide association study of growth performance and immune response to newcastle disease virus of indigenous chicken in Rwanda. *Frontiers in Genetics*, 12, 723980. doi: 10.3389/fgene.2021.723980
- Han, Y., & Peñagaricano, F. (2016). Unravelling the genomic architecture of bull fertility in Holstein cattle. *BMC Genetics*, 17(1), 143. doi: 10.1186/s12863-016-0454-6
- Huang, D.W., Sherman, B.T., & Lempicki, R.A. (2009). Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID Bioinformatics Resources. *Nature Protocols*, 4(1), 44-57. doi: 10.1038/nprot.2008.211
- Igoshin, A., Yudin, N., Aitnazarov, R., Yurchenko, A. A., & Larkin, D. M. (2021). Whole-genome resequencing points to candidate DNA loci affecting body temperature under cold stress in Siberian cattle populations. *Life*, 11(9), 959. doi: 10.3390/life11090959
- Jafarymanesh, A. R., Khaltabadi Farahani, A. H., Moradi, M. H., & Mohammadi, H. (2020). Gene-set enrichment analysis to identify genes and biological pathways associated with egg weight in the whole laying period. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 12(3), 91-116. doi: 10.22103/JAB.2020.15255.1197 [In Persian]
- Jombart, T., & Ahmed, I. (2011). New tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics*, 27, 3070-3071. doi: 10.1093/bioinformatics/btr521
- Jin, M., Lu, J., Fei, X., Lu, Z., Quan, K., Liu, Y., Chu, M., Di, R., Wei, C., & Wang, H. (2020). Selection signatures analysis reveals genes associated with high-altitude adaptation in Tibetan goats from Nagqu, Tibet. *Animals*, 10(9), 1599. doi: 10.3390/ani10091599
- Jin, M., Wang, H., Liu, G., Lu, J., Yuan, Z., Li, T., Liu, E., Lu, Z., Du, L., & Wei, C. (2024). Whole-genome resequencing of Chinese indigenous sheep provides insight into the genetic basis underlying climate adaptation. *Genetics Selection Evolution*, 56(1), 26. doi: 10.1186/s12711-024-00880-z
- Karimi, K., Farid, A. H., Myles, S., & Miar, Y. (2021). Detection of selection signatures for response to Aleutian mink disease virus infection in American mink. *Scientific Reports*, 11(1), 2944. doi: 10.1038/s41598-021-82522-8
- Kaseja, K., Mucha, S., Yates, J., Smith, E., Banos, G., & Conington, J. (2023). Genome-wide association study of health and production traits in meat sheep. *Animal*, 17(10), 100968. doi: 10.1016/j.animal.2023.100968
- Khalatabadi-Farahani, A. H., Mohammadi, H., & Moradi, M. H. (2020). Gene set enrichment analysis using genome-wide association study to identify genes and pathways associated with litter size in various sheep breeds. *Journal of animal production*, 22(3), 325-335. doi: 10.22059/jap.2020.292715.623468 [In Persian]
- Khanzadeh, H., Ghavi Hossein-Zadeh, N., & Ghovvati, S. (2022). The statistical power of genome-wide association studies for threshold traits with different frequencies of causal variants. *Genetica*, 150(1), 51-57. doi: 10.1007/s10709-021-00140-8
- Khare, S., Lawhon, S. D., Drake, K. L., Nunes, J. E. S., Figueiredo, J. F., Rossetti, C. A., Gull, T., Everts, R. E., Lewin, H. A., & Galindo, C. L. (2012). Systems biology analysis of gene expression during in vivo Mycobacterium avium paratuberculosis enteric colonization reveals role for immune tolerance. *PLoS One*, 8, e42127. doi: 10.1371/journal.pone.0042127
- Kijas, J. W., Lenstra, B., Hayes, S., Boitard, L. R., & Porto, N. (2012). Genome wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection. *PLoS Biology*, 10, 1001258. doi: 10.1371/journal.pbio.1001258
- Li, H., Wu, X. L., Tait, J. R. G., Bauck, S., Thomas, D. L., Murphy, T. W., & Rosa, G. J. M. (2020). Genome-wide association study of milk production traits in a crossbred dairy sheep population using three statistical models. *Animal Genetics*, 51(4), 624-628. doi: 10.1111/age.12956

- Li, X., Yuan, L., Wang, W., Zhang, D., Zhao, Y., Chen, J., Xu, D., Zhao, L., Li, F., & Zhang, X. (2022). Whole genome re-sequencing reveals artificial and natural selection for milk traits in East Friesian sheep. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 1034211. doi: 10.3389/fvets.2022.1034211
- Liang, C. S., Kobiyama, A., Shimizu, A., Sasaki, T., Asakawa, S., Shimizu, N., & Watabe, S. (2007). Fast skeletal muscle myosin heavy chain gene cluster of medaka *Oryzias latipes* enrolled in temperature adaptation. *Physiological Genomics*, 29(2), 201-214. doi: 10.1152/physiolgenomics.00078.2006
- Mastrangelo, S., Bahbahani, H., Moioli, B., Ahbara, A., Abri, M. A., & Almathen, F. (2019). Novel and known signals of selection for fat deposition in domestic sheep breeds from Africa and Eurasia. *PloS ONE*, 14, 0209632. doi: 10.1371/journal.pone.0209632
- McLaren, R. J., Rogers, G. R., Davies, K. P., Maddox, J. F., & Montgomery, G. W. (1997). Linkage mapping of wool keratin and keratin-associated protein genes in sheep. *Mammalian Genome*, 8(12), 938-940. doi: 10.1007/s003359900616
- Mi, H., & Thomas, P. (2009). PANTHER Pathway: an ontology-based pathway database coupled with data analysis tools. *Methods in Molecular Biology*, 563, 123-140. doi: 10.1007/978-1-60761-175-2_7
- Mohammadi, H., Khalatabadi Farahani, A. H., Moradi, M. H., & Hajkhodadadi, I. (2022). Genome wide association study based on gene-set enrichment analysis of growth traits in a Chicken advanced intercross line. *Journal of Animal Science Research*, 31(3), 99-111. doi: 10.22034/AS.2021.46637.1621 [In Persian]
- Mohammadi, H., Khalatabadi Farahani, A. H., & Moradi, M. H. (2023). Genome-wide association study based on gene-set enrichment analysis of economically important traits in Japanese quail. *Animal Production Research*, 12(1), 65-78. doi: 10.22124/AR.2023.20946.1657 [In Persian]
- Mohammadi, H., Moradi, M. H., & Farahani, A. H. K. (2022). Genome-wide association study and pathway analysis for identifying the genes associated with coat color in Lori-Bakhtiari sheep breed. *Iranian Journal of Animal Science*, 53(3), 153-160. doi: 10.22059/IJAS.2022.329848.653846 [In Persian]
- Mohammadi, H., & Sadeghi, M. (2010). Estimation of genetic parameters for growth and reproduction traits and genetic trends of growth traits in Zel sheep breed under rural production system. *Iranian Journal of Animal Science*, 41(3), 231-241. doi: 20.1001.1.20084773.1389.41.3.6.9 [In Persian]
- Mokhber, M., Moradi-Shahrbabak, M., Sadeghi, M., Moradi-Shahrbabak, H., Stella, A., Nicolzzi, E., Rahmaninia, J., & Williams, J. L. (2018). A genome-wide scan for signatures of selection in Azeri and Khuzestani buffalo breeds. *BMC Genomics*, 19, 1-9. doi: 10.1186/s12864-018-4759-x
- Mooney, M. A., & Wilmot, B. (2015). Gene Set Analysis: a step-by-step guide. *American Journal of Medical Genetics*, 168(7), 517-527. doi: 10.1002/ajmg.b.32328
- Moradi, M. H., Nejati-Javaremi, A., Moradi-Shahrbabak, M., Dodds, K. G., Brauning, R., & McEwan, J. C. (2021). 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, 1423. doi: 10.3390/ani12111423
- Moradi, M. H., Farahani, A. H., & Nejati-Javaremi, A. (2017). Genome-wide evaluation of effective population size in some Iranian sheep breeds using linkage disequilibrium information. *Iranian Journal Animal Science*, 48, 39-49. doi: 10.22059/IJAS.2017.213736.653464 [In Persian]
- 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, 10. doi: 10.1186/1471-2156-13-10
- Pacheco, A., Banos, G., Lambe, N., McLaren, A., McNeilly, T. N., & Conington, J. (2024). Genome-wide association studies of parasite resistance, productivity and immunology traits in Scottish Blackface sheep. *Animal*, 18(2), 101069. doi: 10.1016/j.animal.2023.101069
- Parsons, Y. M., Piper, L. R., & Cooper, D. W. (1994). Linkage relationships between keratin-associated protein (KRTAP) genes and growth hormone in sheep. *Genomics*, 20(3), 500-502. doi: 10.1006/geno.1994.1209
- Pasandideh, M., Gholizadeh, M., & Rahimi-Mianji, G. (2020). A genome-wide association study revealed five SNPs affecting 8-month weight in sheep. *Animal Genetics*, 51(6), 973-976. doi: 10.1111/age.12996
- Patiabadi, Z., Razmkabir, M., EsmailizadehKoshkoiyeh, A., Moradi, M. H., Rashidi, A., & Mahmoudi, P. (2024). Whole-genome scan for selection signature associated with temperature adaptation in Iranian sheep breeds. *PLoS ONE*, 19(8), e0309023. doi: 10.1371/journal.pone.0309023
- Pham, K., Frost, S., Parikh, K., Puvvula, N., Oeung, B., & Heinrich, E. C. (2022). Inflammatory gene expression during acute high-altitude exposure. *The Journal of Physiology*, 600(18), 4169-4186. doi: 10.1113/JP282772
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A. R., & Bender, D. (2007). PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *The American Journal of Human Genetics*, 81, 559-575. doi: 10.1086/519795
- Rastifar, M., Nejati-Javaremi, A., Moradi, M. H., & Abdollahi-Arpanahi, R. (2015). Identification of genomic regions associated with wool diameter in Iranian sheep breeds. *Iranian Journal of Animal Science*, 46(1), 65-72. doi: 10.22059/IJAS.2015.54592 [In Persian]

- Saravanan, K. A., Panigrahi, M., Kumar, H., Parida, S., Bhushan, B., Gaur, G. K., Dutt, T., Mishra, B. P., & Singh, R. K. (2021). Genomic scans for selection signatures revealed candidate genes for adaptation and production traits in a variety of cattle breeds. *Genomics*, 113(3), 955-963. doi: 10.1016/j.ygeno.2021.02.009
- Senczuk, G., Criscione, A., Mastrangelo, S., Biscarini, F., Marletta, D., Pilla, F., Laloë, D., & Ciampolini, R. (2022). How geography and climate shaped the genomic diversity of Italian local cattle and sheep breeds. *Animals*, 12, 2198. doi: 10.3390/ani12172198
- Tian, D., Han, B., Li, X., Liu, D., Zhou, B., Zhao, C., Zhang, N., Wang, L., Pei, Q., & Zhao, K. (2023). Genetic diversity and selection of Tibetan sheep breeds revealed by whole-genome resequencing. *Animal Bioscience*, 36(7), 991. doi: 10.5713/ab.22.0432
- Vasu, M., Ahlawat, S., Chhabra, P., Sharm, U., Arora, R., Sharma, R., Mir, M. A., & Singh, M. K. (2024). Genetic insights into fiber quality, coat color and adaptation in Changthangi and Muzzafarnagri sheep: A comparative skin transcriptome analysis. *Gene*, 891, 147826. doi: 10.1016/j.gene.2023.147826
- Veerkamp, R. F., Coffey, M. P., Berry, D. P., de Haas, Y., Strandberg, E., Bovenhuis, H., Calus, M. P. L., & Wall, E. (2012). Genome-wide associations for feed utilization complex in primiparous Holstein-Friesian dairy cows from experimental research herds in four European countries. *Animal*, 6, 1738-1749. doi: 10.1017/S1751731112001152
- Wang, S., Dvorkin, D., & Da, Y. (2012). SNPEVG: a graphical tool for GWAS graphing with mouse clicks. *BMC Bioinformatics*, 13, 1-6. doi: 10.1186/1471-2105-13-319
- Wang, S., Yi, X., Wu, M., Zhao, H., Liu, S., Pan, Y., Li, Q., Tang, X., Zhu, Y., & Sun, X. (2019). Detection of key gene InDels in TGF- β pathway and its relationship with growth traits in four sheep breeds. *Animal Biotechnology*, 32(2), 194-204. doi: 10.1080/10495398.2019.1675682
- Wei, C., Wang, H., Liu, G., Zhao, F., Kijas, J. W., Ma, Y., Lu, J., Zhang, L. I., Cao, J., Wu, M., & Wang, G. (2016). Genome-wide analysis reveals adaptation to high altitudes in Tibetan sheep. *Scientific Reports*, 6(1), 26770. doi: 10.1038/srep26770
- Wiener, P., Robert, C., Ahbara, A., Salavati, M., Abebe, A., Kebede, A., Wragg, D., Friedrich, J., Vasoya, D., Hume, D. A., & Djikeng, A. (2021). Whole-genome sequence data suggest environmental adaptation of Ethiopian sheep populations. *Genome Biology and Evolution*, 13(3), 014. doi: 10.1093/gbe/evab014
- Yang, J. I., Li, W. R., Lv, F. H., He, S. G., Tian, S. L., Peng, W. F., Sun, Y. W., Zhao, Y. X., Tu, X. L., Zhang, M., & Xie, X. L. (2016). Whole-genome sequencing of native sheep provides insights into rapid adaptations to extreme environments. *Molecular Biology and Evolution*, 33(10), 2576-2592. doi: 10.1093/molbev/msw129
- Young, M. D., Wakefield, M. J., Smyth, G. K., & Oshlack, A. (2010). Method gene ontology analysis for RNA-seq: Accounting for selection bias. *Genome Biology*, 11, 14-23. doi: 10.1186/gb-2010-11-2-r14
- Yudin, N., & Larkin, D. M. (2019). Shared signatures of selection related to adaptation and acclimation in local cattle and sheep breeds from Russia. *Russian Journal of Genetics*, 55, 1008-1014. doi: 10.1134/S1022795419070159.
- Zamani, P., Akhondi, M., & Mohammadabadi, M. (2015). Associations of inter-simple sequence repeat loci with predicted breeding values of body weight in sheep. *Small Ruminant Research*, 132, 123-127. doi:10.1016/j.smallrumres.2015.10.018
- Zhang, H., Wang, Z., Wang, S., & Li, H. (2012). Progress of genome wide association study in domestic animals. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 3(1), 26. doi: 10.1186/2049-1891-3-26
- Zhang, H., Zhuang, Z., Yang, M., Ding, R., Quan, J., Zhou, S., Gu, T., Xu, Z., Zheng, E., Cai, G., Yang, J., & Wu, Z. (2021). Genome-wide detection of genetic loci and candidate genes for body conformation traits in Duroc $\times$ Landrace $\times$ Yorkshire crossbred pigs. *Frontiers in Genetics*, 12, 664343. doi: 10.3389/fgene.2021.664343
- Zhang, L., Liu, J., Zhao, F., Ren, H., Xu, L., Lu, J., Zhang, S., Zhang, X., Wei, C., Lu, G., & Zheng, Y. (2013). Genome-wide association studies for growth and meat production traits in sheep. *PloS ONE*, 8(6), e66569. doi: 10.1371/journal.pone.0066569
- Zhuang, Z., Xu, L., Yang, J., Gao, H., Zhang, L., Gao, X., Li, J., & Zhu, B. (2020). Weighted single-step genome-wide association study for growth traits in chinese simmental beef cattle. *Genes*, 11(2), 189. doi: 10.3390/genes11020189