Animal Production Research

Vol. 12, No. 3, 2023 (85-96)
doi: 10.22124/AR.2024.24119.1759
eISSN: 2538-6107 pISSN: 2252-0872

University of Guilan

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Genomic scan for positive selection signatures associated with economically important traits in Iranian (Zandi) and Egyptian (Barki and Rahmani) sheep breeds using hapFLK method

H. Mohammadi[1,*], H. Moradi Shahrebabak[2], A. H. Khaltabadi Farahani[3]

1. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Environmental Sciences, University of Arak, Arak, Iran
2. Assistant Professor, Department of Animal Science, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
3. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Environmental Sciences, Arak University, Arak, Iran

(Received: 15-03-2023 – Revised: 16-05-2023 – Accepted: 17-05-2023)

Introduction: Artificial and natural selection not only increases the frequency of new-useful mutations but also remains some signals throughout the genome. Since these regions often control economically important traits, identifying and tracking these regions is the most important subject in animal genetics. Also, natural and artificial selection related to adaptation and economic traits, such as litter size, results in changes at the genomic level which leads to the appearance of selection signatures. Several tests including the linkage disequilibrium-based approach, site frequency spectrum, and population differentiation-based approach have been developed to explore the footprints of selection in the genome. Domestication and selection have significantly changed the behavioral and phenotypic traits in modern domestic animals. The selection of animals by humans left detectable signatures on the genome of modern sheep. The identification of these signals can help us to improve the genetic characteristics of economically important traits in sheep. Over the last decade, interest in the detection of genes or genomic regions that are targeted by selection has been growing. Identifying signatures of selection can provide valuable insights about the genes or genomic regions that are or have been under selection pressure, which in turn leads to a better understanding of genotype-phenotype relationships. One of the best ways to understand physiological processes is to analyze gene regulation networks. Identification of genes involved in economic traits as molecular markers in breeding is of special importance. Gene regulation networks enable the researcher to study all of the genes together. This study aimed to identify selection signature regions and candidate genes related to adaptation and the number of lambs born.

Materials and methods: To identify the signatures of selection in Iranian native sheep and Egyptian breeds, genomic information of 96 native sheep (including 96 Zandi) and 107 Egyptian sheep (including 59 Barki and 48 Rahmani) were used. The genomic information of foreign breeds was extracted from the Dryad database (https://dryad.com/articles/dataset). To determine the genotype of the samples, Illumina Bead Chip 50K was used. Quality control was conducted using the Plink software. The markers or individuals were excluded from the further study based on the following criteria: unknown chromosomal or physical location, call rate <0.95, missing genotype frequency >0.05, minor allele frequency (MAF) < 0.05, and a *P*-value for Hardy–Weinberg equilibrium test less than 10^{-6}. After the quality control of the data, the hapFLK statistical method, with hapFLK v1.4 software, was used to identify selection signatures. The genomic version of the Oar_v4.0 database in NCBI was used for detecting the genomic position of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the sheep genome. Candidate genes were identified by SNPs located at 0.1% upper range of hapFLK using BioMart software in ensemble 109. Then,

[*] Corresponding author: mohammadi13371364@gmail.com

CC BY

using the PANTHER database, the general biological function of the genes was checked. At this stage, it is assumed that genes that belong to a functional class can be considered as a group of genes that have some specific and common characteristics, and the QTLs in the selected region were extracted using the Animal Genome database, and the genes were compared with other research. GeneCards (http://www.genecards.org) and UniProtKB (http://www.uniprot.org) databases were also used to interpret the function of the obtained genes.
Results and discussion: Based on the results of hapFLK, by comparing the Zandi population with Egyptian breeds (Barki and Rahmani), seven genomic regions on chromosomes 1, 2 (three regions), 10, 25, and 26 were identified. Candidate genes of *DNAJB4, FNDC3B, GULP1, ACVR1*, and *FGF9* were in these regions. Further investigation using bioinformatics tools showed these genomic regions overlapped with the immune system, adaptation, litter size, and lipid and muscle metabolism.
Conclusions: The results of this study may provide an important source to facilitate the identification of genomic regions and then, the genes affecting economically important traits in the sheep industry. However, it will be necessary to carry out more association and functional studies to demonstrate the implications of these genes. Therefore, in subsequent studies with more samples and more breeds of domestic and wild sheep in Iran, a better understanding of candidate genes for important economic traits in domestic and wild species would be achieved.
Keywords: Selection, Genome scan, Litter size, Adaptation, Sheep
Conflicts of interest: The authors declare no conflicts of interest.
Funding: The authors received no specific funding for this work.

How to cite this article:

Mohammadi, H., Moradi Shahrebabak, H., & Khaltabadi Farahani, A. H. (2023). Genomic scan for positive selection signatures associated with economically important traits in Iranian (Zandi) and Egyptian (Barki and Rahmani) sheep breeds using hapFLK method. *Animal Production Research*, *12*(3), 85-96. doi: 10.22124/AR.2024.24119.1759

تحقیقات تولیدات دامی

سال دوازدهم/شماره سوم/پاییز ۱۴۰۲ (۹۶-۸۵)

مقاله پژوهشی

ردیابی نشانه‌های انتخاب مثبت مرتبط با صفات مهم اقتصادی در نژادهای گوسفند ایرانی (زندی) و مصری (بارکی و راهمنی) با استفاده از روش hapFLK

حسین محمّدی[1*]، حسین مرادی شهر بابک[2]، امیرحسین خلت‌آبادی فراهانی[3]

۱- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک
۲- استادیار، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران
۳- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۴ – تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۲/۲۶ – تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۲۷)

چکیده

انتخاب طبیعی و مصنوعی در جهت افزایش فراوانی جهش‌های جدیدی که در برخی از جمعیت‌ها مفید هستند باعث بر جای گذاشتن نشانه‌هایی در سطح ژنوم می‌شود. هدف از پژوهش حاضر، شناسایی نشانه‌های انتخاب بین نژادهای گوسفند بومی ایران با نژادهای مصری بود. بدین منظور از اطلاعات ۹۶ رأس گوسفند زندی و ۱۰۷ رأس گوسفند مصری (۵۹ رأس بارکی و ۴۸ رأس راهمنی) استفاده شد. پس از اجرای مراحل مختلف کنترل کیفیت داده‌ها، برای شناسایی نشانه‌های انتخاب از روش آماری hapFLK به وسیله نرم‌افزار hapFLK نسخه ۱/۴ استفاده شد. ژن‌های کاندیدا با استفاده از چندشکلی‌های تک نوکئوتیدی (SNP) که در بازه ۰/۱ درصد بالای ارزش hapFLK، واقع شده بودند با استفاده از برنامه BioMart شناسایی شدند. سپس عملکرد زیستی ژن‌ها با استفاده از پایگاه اطلاعاتی PANTHER بررسی شده و برای تفسیر عملکرد ژن‌های کاندیدا از پایگاه‌های برخط GeneCards و UniProtKB استفاده شد. نتایج حاصل از hapFLK نشان داد که در مقایسه جمعیت گوسفند بومی زندی با نژادهای مصری، هفت ناحیه ژنومی روی کروموزوم‌های یک، دو (سه منطقه)، ۱۰، ۲۵ و ۲۶ شناسایی شدند. بررسی ژن‌های گزارش شده در این مناطق نشان داد که در داخل یا مجاورت این نواحی، ژن‌های *DNAJB4*، *FNDC3B*، *GULP1*، *ACVR1* و *FGF9* قرار داشتند. ژن‌های موجود در این مناطق با سیستم ایمنی، سازگاری، تعداد بره متولد شده و رشد عضلات مرتبط هستند. نتایج این تحقیق می‌تواند منبع اطلاعاتی ارزشمندی در زمینه شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات در نژادهای مختلف گوسفند فراهم آورد. به هر حال، جهت شناسایی دقیق این ژن‌ها و جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمّی یا QTLها لازم است مطالعات پیوستگی و عملکردی بیشتری انجام شود.

واژه‌های کلیدی: انتخاب، پویش ژنومی، تعداد نتاج متولد شده، سازگاری، گوسفند

* نویسندهٔ مسئول: mohammadi13371364@gmail.com

doi: 10.22124/AR.2024.24119.1759

مقدمه

از زمان اهلی‌سازی، بهبود ژنتیکی قابل توجه‌ای برای بسیاری از صفات اقتصادی در گوسفند از جمله، سازگاری و مقاومت به تنش حرارتی، شکل ظاهری و تولید حاصل شده است. ابزارهای تازه در دسترس امکان بررسی منظم ژنوم برای یافتن محتمل‌ترین مکان ژنومی کاندیدا برای انتخاب و همچنین ارزیابی مجدد ژن‌های کاندیدای قبلی در مقایسه با تنوع ژنتیکی ژنوم را فراهم می‌کنند (Sabeti *et al.,* 2006). انتخاب در موجودات زنده می‌تواند به دلیل عوامل طبیعی به عنوان پاسخ به شرایط محیطی یا مصنوعی باشد، مانند آنچه در دام اتفاق می‌افتد که در آن، انسان تعیین می‌کند کدام یک از صفات مطلوب‌تر هستند و افراد دارای صفات مطلوب بیشتر در نسل‌های بعدی شرکت داده شوند. همچنین استفاده از اطلاعات ژنومی جهت شناخت و حفظ پایه تنوع ژنتیکی دام‌های بومی از اهمیت زیادی برخوردار است، زیرا نژادهای بومی در یک سیستم کشاورزی پایدار و سازگار با محیط زیست، ارزش اقتصادی، اجتماعی و محیطی را به ویژه برای مردم کشورهای کم درآمد فراهم می‌کنند (Azizpour *et al.,* 2020).

طی دهه‌های اخیر، تمایل به شناسایی ژن‌ها و نواحی ژنومی که هدف انتخاب بوده‌اند رو به افزایش بوده است. شناسایی نشانه‌های انتخاب می‌تواند دیدگاه‌های ارزشمندی در مورد ژن‌ها و یا مناطق ژنومی که زیر فشار انتخاب بوده و یا هستند فراهم کند که به نوبه خود منجر به درک بهتر ارتباط ژنوتیپ و فنوتیپ می‌شود. چنانچه یک جهش جدید باعث افزایش شایستگی افراد حامل آن نسبت به سایر افراد جامعه شود، انتخاب باعث می‌شود افرادی که دارای شایستگی بیشتری هستند در تشکیل نسل بعد مشارکت بیشتری داشته باشند. بنابراین تفاوت به نسبت زیاد در فراوانی آللی بین جمعیت‌ها نیز می‌تواند به عنوان نشانه‌ای از انتخاب مثبت در جایگاه‌های ژنی مربوط به شمار آید (Asadollahpour Nanaei *et al.,* 2022). به عبارت دیگر، هنگامی که انتخاب مثبت به سمت افزایش فراوانی آلل مطلوب پیش می‌رود، جایگاه‌های نزدیک به این جایگاه اگر هم اثرشان خنثی باشد به علت پیوسته بودن با آلل مطلوب، تحت تأثیر قرار می‌گیرند که در نتیجه این پدیده، الگوی تنوع ژنتیکی و عدم تعادل پیوستگی (LD) در جایگاه‌های اطراف این جهش انتخابی تغییر خواهد کرد، به‌طوری که هر چه به این آلل جدید نزدیک می‌شویم میزان تنوع ژنتیکی کاهش و LD افزایش پیدا می‌کند. به این الگوها نشانه‌های انتخاب یا ردپای انتخاب گفته می‌شود (Rostamzadeh Mahdabi *et al.,* 2021).

شناسایی نشانه‌های انتخاب از دو دیدگاه مهم است: اول اینکه، این نشانه‌ها حاوی اطلاعات ارزشمندی در خصوص تکامل و ساز و کارهای مؤثر بر تکامل را فراهم می‌کنند. دوم اینکه، جایگاه‌های ژنی شناخته شده و تنوع ژنتیکی صفات کمّی آشکار می‌شود. از طرفی دیگر، اهلی‌سازی و انتخاب به شدت در ویژگی‌های ظاهری و رفتاری حیوانات اهلی امروزی تغییر ایجاد کرده است. در این مسیر، انتخاب-های انجام شده به وسیله انسان، نشانه‌های قابل شناسایی را در ژنوم گوسفندان امروزی بر جای گذاشته که آشکار نمودن این نشانه‌ها می‌تواند به اصلاح و بهبود ژنتیکی صفات مهم اقتصادی در این دام‌ها کمک کند (Leroy *et al.,* 2018).

تشخیص معماری ژنتیکی سازگاری در دام‌های اهلی، یکی از سؤالات اصلی در ژنتیک جمعیت است. روش شناسایی نشانه‌های انتخاب با مقایسه بین گروه‌های نژادی این پتانسیل را دارد که مناطق ژنومی را که مؤثر بر صفات کمّی هستند را بدون نیاز به جمع‌آوری رکوردهای فنوتیپی مورد مطالعه قرار داده و به شناسایی ژن‌های کاندیدا و درک ساز و کارهای زیستی کنترل صفات کمّی کمک کند (Mohammadi *et al.,* 2022). تعداد نتاج متولد شده در هر زایش، یکی از مهمترین صفت اقتصادی در صنعت پرورش گوسفند است. در واقع یکی از اجزای زیستی در تولید، صفات تولیدمثلی هستند، لذا بازده پرورش گوسفند به مقدار زیادی تابع توان تولیدمثلی میش‌ها است. به عبارت دیگر، افزایش تعداد بره‌های متولد شده به ازای هر میش در یک سال سبب افزایش بازده تولید در پرورش گوسفند می‌شود (Khaltabadi Farahani *et al.,* 2020).

از روش شناسایی نشانه‌های انتخاب جهت شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات تولیدمثلی و سازگاری در نژادهای مختلف گوسفند استفاده شده است. در یک بررسی که با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفت تعداد بره در هر نوبت زایش در دو نژاد گوسفندان Hetian و Cele Black انجام شده بود، ژن‌های کاندیدای *PAK1*، *GNAQ*، *LHCGR*، *GHR*، *LIF* و *BMPR2* گزارش شده بود (Zhang *et al.,* 2022). گوسفند زندی یکی از نژادهای

متوسط وزن و ممتاز کشور از نظر صفات تولیدی است. چربی زیرپوستی در این نژاد در مقایسه با بسیاری از نژادهای گوسفند دیگر ایرانی کمتر است. مقاومت در برابر سرما و گرما (از ۲۰- درجه سلسیوس در زمستان تا ۴۰ درجه سلسیوس در تابستان)، شرایط سخت تغذیه‌ای و مراتع ضعیف و هوای بارانی و برفی در این گوسفند بسیار شایان توجه است. همچنین گوسفندان نژاد مصری بارکی و راهمنی جزء سه نژاد اصلی پرورشی در کشور مصر هستند و نژادهای مقاوم به شرایط آب و هوایی گرم و خشک محسوب می‌شوند (Khalifa *et al.,* 2013).

مطالعات مختلفی در مورد شناسایی نشانه‌های انتخاب در گونه‌های مختلف مانند گاو (Saravanan *et al.,* 2021)، مرغ (Rostamzadeh Mahdabi *et al.,* 2021)، گوسفند (Kijas *et al.,* 2012; Patiabadi *et al.*, 2023) و بز (Chen *et al.,* 2020) انجام شده است که بر اساس آماره F_{ST} بوده است. اگر جمعیت‌های نمونه دارای اندازه مؤثر نابرابر یا دارای ساختار سلسله مراتبی باشند، کاوش ژنومی بر اساس مقادیر F_{ST} معمول می‌تواند نتیجه‌گیری اریب به همراه داشته باشد. برای تصحیح اثر رانش و کوواریانس هنگام تشخیص مکان‌های مورد انتخاب، آماره FLK ارائه شد (Bonhomme *et al.,* 2010) و چند سال بعد نیز روش hapFLK معرفی شد (Fariello *et al.,* 2013) که هاپلوتیپ‌های مورد انتخاب را بر اساس آزمون FLK شناسایی کرده و اریب ناشی از ساختار سلسله مراتبی جمعیت‌ها را برطرف می‌کند.

به‌طور کلی، مناطقی از ژنوم که مورد انتخاب هستند باید اهمیت شایستگی و عملکردی داشته باشند، در غیر این صورت، انتخاب آنها را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد. با توجه به مطالب بیان شده، این مناطق ژنومی عمدتاً با ژن‌های عمده اثر و صفات مهم اقتصادی همراه هستند و دارای اهمیت زیادی هستند. بنابراین هدف از پژوهش حاضر، شناسایی نشانه‌های انتخاب مرتبط با سازگاری و تعداد بره متولد شده در مقایسه بین نژادهای گوسفند بومی (زندی) یا نژادهای مصری (بارکی و راهمنی) یا استفاده از روش hapFLK بود.

مواد و روش‌ها

از ۲۰۰ رأس گوسفند نژاد زندی حاضر در دو گله مرکز اصلاح نژاد خجیر واقع در تهران وابسته به سازمان جهاد کشاورزی استان تهران، مقدار ۷-۵ سی‌سی خون استحصال و همراه با ۰/۵ میلی لیتر EDTA در لوله‌های خلاء با pH بین ۵ تا ۷/۸ نگهداری شد. از میان نمونه‌های اخذ شده پس از تجزیه شجره، حیواناتی که کمترین رابطه خویشاوندی را با هم داشته باشند به تعداد ۹۶ رأس انتخاب شدند. استخراج DNA با استفاده از روش بهینه یافته استخراج نمکی از خون کامل انجام شد. پس از اطمینان از کمیت و کیفیت بالای نمونه‌ها، غلظت آنها تا ۵۰ ng/µL جهت تعیین ژنوتیپ، رقیق شد. ژنوتیپ نمونه‌ها در کمپانی Neogen (http://genomics.neogen.com) در کشور آمریکا با استفاده از آرایه‌های Illumina OvineSNP50K BeadChip با بکارگیری پروتکل استاندارد شرکت ایلومینا (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) تعیین ژنوتیپ شدند. این آرایه‌ها امکان تعیین ژنوتیپ همزمان ۵۴۲۴۱ جایگاه نشانگری با میانگین فاصله بین نشانگرها ۵۰/۹ کیلوباز را فراهم می‌کنند (Illumina OvineSNP50 BeadChip Datasheet).

همچنین در پژوهش حاضر از اطلاعات ژنوتیپی مجموع ۱۰۷ رأس گوسفندان غیرخویشاوند مصری مربوط به نژادهای بارکی (۵۹ رأس) و راهمنی (۴۸ رأس) استفاده شد. لازم به ذکر است تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها در مرکز بین-المللی تحقیقات کشاورزی مناطق خشک کشور مصر انجام شده بود. تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها در کمپانی Neogen GeneSeek در کشور آمریکا با استفاده از آرایه‌های Illumina OvineSNP50K BeadChip با بکارگیری پروتکل استاندارد شرکت ایلومینا انجام شده بودند. داده‌های مورد استفاده در این پژوهش در پایگاه برخط Dryad (https://dryad.com/articles/dataset) به شماره‌های دسترسی k83b3 و 8m1v1 در دسترس هستند.

برای فیلتراسیون داده‌های ژنومی از معیارهای فراوانی نمونه‌های تعیین ژنوتیپ شده، نرخ تعیین ژنوتیپ نشانگرها در هر نمونه و فراوانی آلل نادر (MAF) استفاده شد. در ابتدا، نمونه‌هایی که فراوانی تعیین ژنوتیپ در آنها کمتر از ۹۰ درصد بود، شناسایی و حذف شدند. در مرحله بعد، نشانگرهایی که فراونی آلل نادر در آنها کمتر از پنج درصد بود حذف شدند. سپس، نشانگرهایی که نرخ تعیین ژنوتیپ آنها در نمونه‌ها کمتر از ۹۵ درصد بود شناسایی و حذف شدند. در نهایت و برای SNPهای باقیمانده، آنهایی که در تعادل هاردی-واینبرگ قرار نداشتند به عنوان معیاری از خطای تعیین ژنوتیپ کنار گذاشته شدند. بدین منظور سطح احتمال برابر با 10^{-6} در نظر گرفته شد. مراحل

مختلف فیلتراسیون با استفاده از نرم افزار PLINK (نسخه ۱/۹۰) انجام شد (Chang *et al.,* 2015).

تجزیه مؤلفه‌های اصلی (PCA) پس از گذراندن مراحل کنترل کیفیت داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار PLINK V1.9 محاسبه و گراف مربوطه با برنامه R نسخه ۴/۲/۲ ترسیم شد تا علاوه بر تفکیک نژادها، دام‌هایی که خارج از توده نژادی خود قرار دارند، برای حذف شناسایی شوند.

جهت بررسی الگوی انتخاب مثبت در سطح ژنوم از روش hapFLK نرم افزار hapFLK V1.4 (Fariello *et al.,* 2013) استفاده شد. جهت تعیین فازهای هاپلوتیپی برای کل ژنوم هر یک از جمعیت‌های مورد مطالعه از نرم افزار fastPHASE V.1.2.3 استفاده شد. در این برنامه از روش حداکثر درستنمایی برای تخمین ژنوتیپ‌های گمشده (امپیوت) و بازسازی هاپلوتیپ‌ها استفاده می‌شود (Scheet and Stephens, 2006). فایل‌های ورودی برای نرم افزار hapFLK شامل دو فایل داده برای فازهای هاپلوتیپی که برای هر رأس دام تعیین شده و فایل نقشه‌های SNPهای مورد استفاده است. شناسایی نشانه‌های انتخاب بین نژاد بومی زندی با نژادهای بومی مصر (بارکی و راهمنی) انجام شد، و تنها ۰/۱ درصد حد بالای ارزش hapFLK به عنوان نشانه انتخاب در نظر گرفته شد (Waineina *et al.,* 2022). سپس، گراف منهتن پلات ارزش‌های hapFLK با بسته نرم-افزاری ggplot در برنامه R به‌دست آمد.

بررسی ژن‌های گزارش شده در مناطق کاندیدا و ۵۰۰ کیلو جفت‌باز اطراف آنها از پایگاه اطلاعاتی برخط Genes 109 Database Ensembl به وسیله BioMart (www.ensembl.org/biomart) مورد بررسی قرار گرفت. جهت تعیین طبقات عملکردی ژنی و مسیرهای متابولیکی ژن‌های شناسایی شده از پایگاه اطلاعاتی PANTHER (http://www.pantherdb.org) استفاده شد. همچنین برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های به‌دست آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی برخط GeneCards (http://www.genecards.org) و UniProtKB (http://www.uniprot.org) استفاده شد. در نهایت، برای بررسی اینکه آیا مناطق مورد نظر با QTLهای شناسایی شده همپوشانی دارند یا خیر، از مرکز اطلاعاتی برخط QTL (http://i.animalgenome.org/jbrowse/) بر اساس آخرین نسخه ژنومی گوسفند استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به مراحل مختلف ویرایش داده‌های تعیین ژنوتیپ در جدول ۱ ارائه شده است. تعداد یک حیوان با داشتن IBS حدود ۰/۹۹ تا ۱ با احتمال تکراری بودن نمونه‌ها و تعیین ژنوتیپ چند باره یک حیوان و همچنین حیوانات خارج از توده نژادی خود در تجزیه PCA به منظور جلوگیری از ایجاد اریبی در محاسبات حذف شد (جدول ۱). پس از حذف داده‌های حیوانات حذف شده، داده‌های نژاد بومی با نژادهای گوسفند مصری ترکیب شدند که دارای ۳۵۷۹۸ نشانگر SNP مشترک بودند که پس از مرحله کنترل کیفیت در سطح SNP در نهایت، تعداد ۳۳۴۲۲ نشانگر SNP باقی ماندند که شامل اطلاعات ۲۷ جفت کروموزوم گوسفند بودند (جدول ۲).

به منظور بررسی نحوه قرار گرفتن حیوانات در گروه‌های نژادی، تجزیه و تحلیل PCA با استفاده از اطلاعات تعیین ژنوتیپی بین نژاد بومی زندی و نژادهای بارکی و راهمنی مصری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج تجزیه PCA بر اساس PC1 و PC2 نشان داد که این سه نژاد در گروه‌های کاملاً مجزا قرار دارند و در هیچ نقطه‌ای نیز همپوشانی ندارند. این PCA در مجموع حدود ۷/۹٪ واریانس (۴/۲٪ برای ویژه بردار ۱ و ۳/۷٪ برای ویژه بردار ۲) را توجیه می-کنند. در نژادهای مختلف دیگر گوسفند، حیوانات فقط بر پایه ویژه بردارهای ۱ و ۲ بر اساس نژاد و منطقه جغرافیایی دسته‌بندی شده‌اند (Kijas *et al.,* 2012; Waineina *et al.,* 2022). در مطالعه‌ای که به وسیله Kijas *et al.* (2012) روی جمعیت‌های گوسفند دنیا انجام شده بود، PC1 و PC2 به ترتیب ۲/۹۸٪ و ۱/۴۴٪ واریانس را توجیه می‌کردند. در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب مرتبط با صفات ذخیره بدن در سه نژاد گوسفندان بومی چینی (Han، Altay و Tibetan)، حیوانات بر پایه PC1 و PC2 کاملاً از یکدیگر تفکیک شده و هر کدام از ویژه بردارهای ۱ و ۲ به ترتیب ۳/۳٪ و ۲/۷٪ از واریانس را توجیه می‌کردند (Zhao *et al.,* 2020). همچنین نتایج تجزیه PCA نشان داد که با PC1، نژاد زندی و با PC2، نژادهای بارکی و راهمنی مصری به خوبی از یکدیگر تفکیک و جدا شدند و در هیچ نقطه‌ای با هم همپوشانی ندارند. نژادهای مصری به خوبی توده‌های متراکم و مجزایی را تشکیل دادند (شکل ۱).

جدول ۱- توصیف مراحل کنترل کیفیت داده‌های مربوط به نژادهای مختلف مورد بررسی در سطح افراد

Table 1. Description of the quality control steps in different studied breeds at the level of individuals

Item	Zandi	Barki	Rahmani
Number of animals	96	59	48
Excluding animals with call rate<0.90	0	3	2
Excluding animals with IBS>0.99	0	0	1
Excluding animals that were clustered outside of their population mass in PCA analysis	2	0	0
Remaining animals	94	56	45

جدول ۲- خلاصه مراحل مختلف کنترل کیفیت نشانگرهای SNP برای تجزیه‌های hapFLK

Table 2. Summary of quality control steps for SNP markers used for hapFLK analysis

Quality control filters	SNP number
SNP number before quality control	35798
Excluding SNPs ≤5% minor allele frequency over all animals	1284
Excluding SNPs ≤95% call rate over all animals	986
Excluding SNPs with deviation from HW (<0.000001)	106
Remaining SNPs	33422

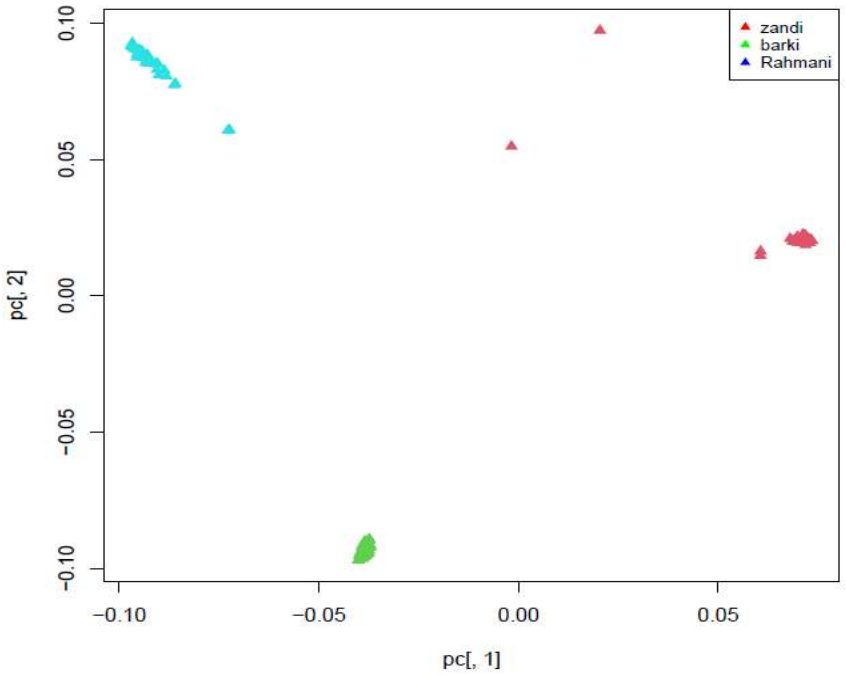

Fig. 1. Animals clustered on the basis of principal components analysis (PCA) using genotyping information of all animals

شکل ۱- خوشه‌بندی حیوانات بر اساس تجزیه PCA با استفاده از اطلاعات ژنوتیپی تمام حیوانات

آماره hapFLK که مبتنی بر عدم تعادل پیوستگی و طول هاپلوتیپی است جهت شناسایی نواحی ژنومی مورد انتخاب مثبت مورد استفاده قرار گرفت. این روش، مناطق ژنگانی مورد انتخاب را به وسیله فازهای هاپلوتیپی تشخیص می-دهد. برای شناسایی دقیق‌تر مناطق مورد انتخاب مثبت از آستانه ۰/۱ درصد ارزش hapFLK بالای جمعیت استفاده شد (شکل ۲).

حدود ۰/۱ درصد نشانگرهای SNP مورد مطالعه به عنوان نشانه انتخاب، تعیین شدند. آستانه تعیین شده سختگیرانه بوده و فقط مناطقی از ژنوم که بیشترین تمایز جمعیتی را در بین نژادها نشان می‌دهند انتخاب شدند. این حد آستانه

در مطالعات مختلف از ۰/۰۱ درصد (Zhao *et al.,* 2020) تا ۲/۵ درصد (Qanbari *et al.,* 2012) متغیر بوده است.

مناطقی‌که دارای ارزش بالای hapFLK هستند می‌توانند نشان‌دهنده مناطقی از ژنوم باشند که در گروه‌های نژادی به‌صورت متمایز هدف انتخاب قرار گرفته و می‌توانند به عنوان کاندیدا برای صفات مهم اقتصادی در جمعیت‌های مورد مطالعه باشند. نتایج به‌دست آمده در این جمعیت‌ها نشان داد هفت ناحیه ژنومی روی کروموزوم‌های یک، دو (سه منطقه)، ۱۰، ۲۵ و ۲۶، تفرق جمعیتی بالایی داشته و دارای ارزش hapFLK بالاتر ۰/۱ درصد هستند (شکل ۲). از روش نشانه‌های انتخاب و آماره hapFLK تاکنون جهت شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات عملکردی و بیماری‌ها در نژادهای مختلف گوسفند و بز بومی و تجاری استفاده شده است. پژوهشی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب با ذخیره چربی بدن در گوسفندان بومی چینی انجام شده است. نتایج این تحقیق نشان داد که ۲۵ ناحیه ژنومی حاوی نشانه‌های انتخاب هستند و ژن‌های کاندیدای *WDR92*، *TBX12*، *WARS2*، *BMP2*، *VEGFA*، *PDGFD*، *HOXA10*، *ALX4* و *ETAA1* گزارش شدند (Zhao *et al.,* 2020). همچنین در پژوهشی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب مرتبط با سازگاری و پاسخ سیستم ایمنی، تولید و تولیدمثل در نژادهای مختلف بز با استفاده از آماره hapFLK انجام شده بود. نتایج این تحقیق نشان داد نواحی ژنومی روی کروموزوم‌های ۳، ۴، ۱۰، ۱۵، ۲۲ و ۲۶ دارای نشانه‌های انتخاب هستند. این مناطق ژنومی شامل ژن‌های کاندیدای *HYAL1*، *PDE4B*، *MST1* و *PCK* بودند که نقش کلیدی در سازگاری، سیستم ایمنی و تولید شیر داشتند (Waineina *et al.,* 2022).

پس از شناسایی نواحی ژنومی مورد انتخاب، ژن‌های موجود در این مناطق، شناسایی و عملکرد زیستی آن‌ها بررسی شدند. اطلاعات مربوط به این ژن‌ها در جدول ۳ ارائه شده است. در این بخش، برخی از ژن‌ها که احتمالاً مورد انتخاب مثبت مرتبط با سیستم ایمنی، سازگاری، تولیدمثل و سوخت و ساز اسیدهای چرب و عضلات بوده‌اند مورد بحث و تحلیل قرار می‌گیرند. شماری از ژن‌ها که در این بررسی به عنوان نشانه‌های انتخاب گزارش شده‌اند با بررسی‌های پیشین همخوانی دارند.

گوسفند نژاد زندی یکی از نژادهای بومی ایران است که در مناطق مرکزی ایران از جمله استان‌های تهران، قم و مرکزی پرورش داده می‌شود. از خصوصیات بارز این نژاد می‌توان سازگاری به شرایط سخت تغذیه‌ای، مراتع ضعیف و عوامل نامساعد محیطی اشاره نمود. بنابراین، با توجه به خصوصیات نژادی گوسفند زندی انتظار می‌رود ژن‌هایی که در مسیر متابولیکی مرتبط با سازگاری به شرایط محیطی و ایمنی باشند، تحت تأثیر انتخاب مثبت قرار گرفته باشند. از جمله جایگاه‌های ژنی مرتبط با سازگاری شرایط محیطی شناسایی شده در این مطالعه می‌توان به ژن‌های *DNAJB4* و *HSPA4L* اشاره کرد.

ژن *DNAJB4* (DnaJ Heat Shock Protein Family Member B4 (Hsp40)) در ناحیه بین ۵۳/۸۲ و ۵۳/۸۳ مگا جفت باز روی کروموزوم ۱ گوسفندی قرار گرفته است و ژن پروتئین مرتبط با تنش گرمایی را کد می‌کند. این ژن جزء خانواده پروتئین‌های شوک حرارتی است به‌طوری که ژن DNAJB4 هومولوگ HSP40 زیر گروه B است که نقش کلیدی در پاسخ به تنش‌های دمایی دارند (https://www.genecards.org). پروتئین کد کننده این ژن نقش چاپرونی خانواده HSP40 داشته که می‌تواند آثار ترکیبی روی عملکردهای زیستی داشته باشد (https://www.uniprot.org). زمانی که موجود با تنش گرمایی مواجه می‌شود، سلول‌های آسیب دیده پروتئین-هایی تولید می‌کنند که از آنها در مقابل آسیب محافظت می‌کنند. یکی از پاسخ‌های حمایتی، تولید پروتئین‌های شوک حرارتی (HSP) است. این خانواده ژنی از شش زیرگروه به نام‌های HSP40، HSP60، HSP70، HSP90، HSP100 و HSPB تشکیل شده است. یک ژن از همین خانواده با نام DNAJA1 به‌طور مستقیم از آپوپتوسیز (مرگ برنامه‌ریزی شده سلول) جلوگیری می‌کند و به دلیل نقش آپوپتوسیزی، این ترکیب می‌تواند نقش مهمی در تردی گوشت در گاوهای گوشتی داشته باشد (Isabelle and Picard, 2016). همچنین، ژن *FNDC3B* روی کروموزوم شماره ۱ گوسفند قرار دارد. ژن *FNDC3B* نقش تنظیمی مثبت در تکثیر فیبروبلاست‌ها و تشکیل بافت چربی داشته و در تمایز سلول‌های استخوانی دارای نقش کلیدی است. در مطالعه پویش کل ژنومی که با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با تولید و ترکیبات شیر در گاوهای هلشتاین انجام شده بود، ژن کاندیدای *FNDC3B* مرتبط با صفات تولید و درصد چربی شیر و مؤثر بر سوخت

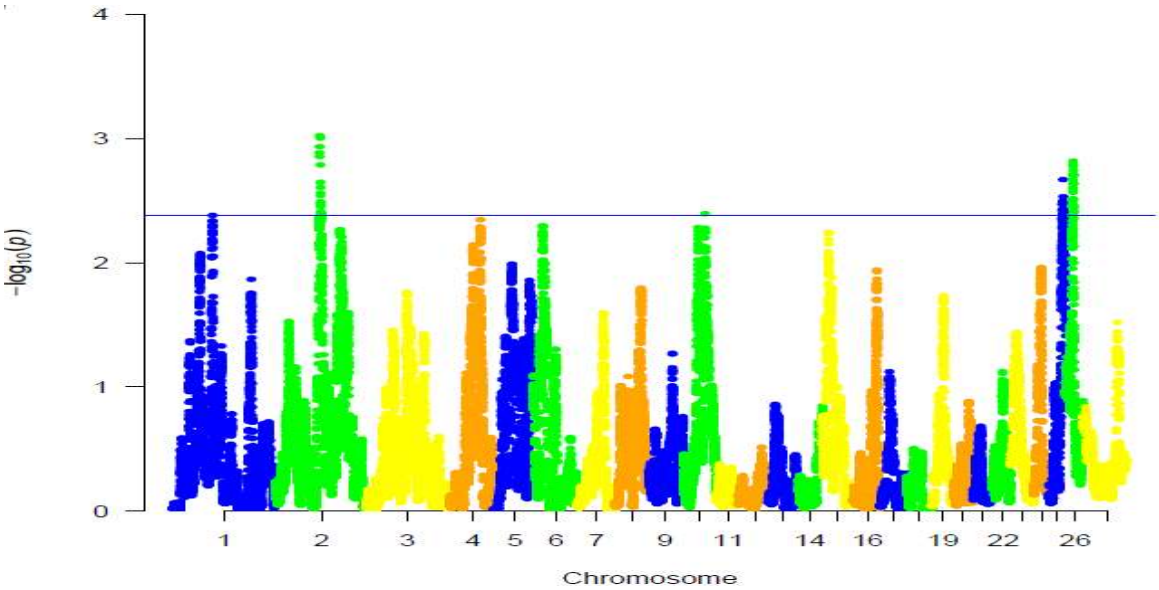

Fig. 2. Distribution of hapFLK values between native breed (Zandi) and Egyptian breeds (Barki, Rahmani). The drawn line shows the 0.1 % of high value of hapFLK among the populations

شکل ۲- توزیع ارزش‌های hapFLK بین نژاد بومی (زندی) و نژادهای مصری (بارکی و راهمنی). خط ترسیم شده نمایانگر ۰/۱ درصد بالای ارزش hapFLK در بین جمعیت‌ها است

و ساز اسیدهای چرب گزارش شده است (Wang *et al.,* 2022). همچنین ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی ژن *FNDC3B* با پاسخ به تنش اکسیداتیو در انسان با بیماری سرطان گزارش شده است (Han *et al.,* 2020). ژن‌های کاندیدای *DNAJB4* و*FNDC3B* را می‌توان به عنوان ژن-های کاندیدای مکانی در نظر گرفت زیرا در ناحیه‌ای از کروموزوم ۱ قرار گرفته است که قبلاً QTLهای مرتبط با سیستم ایمنی (سطح ایمونوگلوبولین A) در گوسفند گزارش شده است (Gutiérrez-Gil *et al.,* 2009).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد ژن‌های کاندیدای *GULP1* و *ACVR1* مرتبط با تعداد نتاج متولد شده در هر زایش شناسایی شدند. ژن کاندیدای *GULP1* در ناحیه بین ۱۳۰/۶۷ و ۱۳۱/۰۰ مگا جفت باز روی کروموزوم ۲ گوسفندی قرار گرفته است. نشان داده شده است که این ژن با طول دوره لوتئال در گاو در ارتباط است (Tenghe *et al.,* 2016). همچنین این ژن تنظیم‌کننده کلیدی سیگنال‌دهی عامل رشد تغییردهنده بتا (TGF-B) با میانجی‌گری *LRP1* به‌شمار می‌رود و نقش مؤثری در تنظیم سیگنال‌های TGF-B در سلول‌های تخمدان دارد.

ژن کاندیدای *ACVR1* در ناحیه بین ۱۶۳/۸۷ و ۱۶۳/۹۴ مگا جفت باز روی کروموزوم ۲ گوسفندی قرار گرفته است. ژن *ACVR1* به علت مؤثر بودن آن در مسیرهای پاسخ BMP در طول رشد فولیکولی نقش کلیدی دارد (Giacopelli *et al.,* 2013). *ACVR1* از اعضا و گیرنده‌های ابر خانواده TGF به عنوان تنظیم‌کننده‌های مهم توسعه سیستم تولیدمثل و هموستاز گزارش شده است (Zhang *et al.,* 2017). در طول رشد فولیکول گوسفند، FSH و استرادیول، ACVR1 را تنظیم می‌کنند و سیگنال‌دهی BMP7 از مسیر ACVR1/ACVR2A در سلول‌های گرانولوزا نقش مهمی در رشد فولیکول دارند. علاوه بر این، سطح ACVR1 در سلول‌های گرانولوزا با اندازه فولیکول افزایش می‌یابد (Shimizu *et al.,* 2006). ارتباط ژن *ACVR1* با تعداد بره متولد شده در نژاد گوسفند بومی چین گزارش شده است (McBride *et al.,* 2012).

همچنین، ژن کاندیدای *FGF9* روی کروموزوم ۱۰ در ناحیه بین ۳۷/۳۶ تا ۳۷/۳۸ مگا جفت بازی گوسفند واقع شده است و از خانواده ژنی عامل رشد فیبروبلاستی یا FGF شامل ۲۲ ژن است (GeneCards). این خانواده ژنی در بسیاری از فرآیندهای سلولی نظیر تمایز و رشد سلول‌های جنینی، بازیابی بافت، تقسیمات سلولی و سوخت و ساز انرژی دخالت دارند (UniProtKB Gene). ژن FGF9 در فرآیندهای زیستی توسعه سیستم عضلات اسکلتی جنین و

تفرق استئوبلاست نقش دارد. در مطالعه Wang *et al.* (2016)، در بررسی نشانه‌های انتخاب هشت نژاد بز، ژن *FGF9* در ارتباط با تولید کشمیر گزارش شد. ژن *FGF9* در ناحیه‌ای از کروموزوم ۱۰ گوسفند قرار گرفته است که قبلاً QTLهای مرتبط با صفات تولیدمثلی شامل تعداد بره متولد شده در هر زایش گزارش شده است (El-Halawany *et al.,* 2016).

نتیجه‌گیری کلی

در این مطالعه، برای شناسایی نشانه‌های انتخاب از آماره hapFLK استفاده شد و نشانه‌های انتخاب در بخش‌هایی از ژنوم شناسایی شد که برخی از این مناطق در بررسی‌های پیشین در انسان و دام‌های اهلی دیگر نیز تأیید شده بودند. بررسی ژن‌ها در نواحی مورد انتخاب نشان داد ژن‌های موجود در این مناطق با سیستم ایمنی، سازگاری، پاسخ به تنش اکسیداتیو، تعداد نتاج متولد شده، رشد عضلات و اسیدهای چرب مرتبط هستند. در مجموع، نتایج این تحقیق می‌تواند منبع اطلاعاتی با ارزش در جهت شناسایی ژن‌های کنترل‌کننده سازگاری و تولیدی ارائه دهد و آغازی برای بررسی‌های بیشتر در این زمینه و استفاده از اطلاعات به‌دست آمده در شناسایی ویژگی‌های ژنتیکی صفات مهم اقتصادی در صنعت پروش گوسفند باشد.

جدول ۳- نواحی ژنومی مورد انتخاب و ژن‌های شناسایی شده در این مناطق ژنومی مرتبط با صفات مهم اقتصادی

Table 3. Genomic regions containing selection signatures and genes reported in these genomic regions related to economic important traits

Chromosome number	Genomic position (bp)	Reported genes in the region	Related QTL in the region	ID PubMed
1	53477993:54477993	*FPGT, TNNI3K,* ***DNAJB4,*** *SPATA16,* ***FNDC3B****, ECT2*	Immunoglobulin A level	19863786
2	125562913:126112913	*U1, U6*	fat weight in carcass	20846385
2	129999743:130999743	*COL5A2 ,* ***GULP1***	Body weight (slaughter)	20846385
2	163083612:164083612	***ACVR1****, PKP4, CCDC148, UPP2*	Milk fat percentage	19397522
10	42019363:42569363	*PCDH9 ,* ***FGF9***	Total lambs born	27062642
25	42933872:50000	*BMPR1A, 5S_rRNA*	body weight	26523551
26	21486327:21586327	*VPS37A, CNOT7, ZDHHC2*	Average daily gain	23051556

فهرست منابع

Asadollahpour Nanaei, H., Kharrati-Koopaee, H., & Esmailizadeh A. (2022). Genetic diversity and signatures of selection for heat tolerance and immune response in Iranian native chickens. *BMC Genomics,* 23(1): 224. doi: 10.1186/s12864-022-08434-7

Azizpour, N., Khaltabadi Farahani, A. H., Moradi, M., & Mohammadi, H. (2020). Genome-wide association study based on gene-set enrichment analysis associated with milk yield in Holstein cattle. *Journal of Animal Science Research, 30*(1), 79-92. doi: 10.22034/AS.2021.46637.1621 [In Persian]

Bonhomme, M., Chevalet, C., Servin, B., Boitard, S., Abdallah, J., Blott, S., & SanCristobal M. (2010). Detecting selection in population trees: the Lewontin and Krakauer test extended. *Genetics, 186*(1), 241-262. doi: 10.1534/genetics.104.117275

Chang, C. C., Chow, C. C., Tellier, L. C., Vattikuti, S., Purcell, S. M., & Lee, J. J. (2015). Second-Generation PLINK: Rising to the challenge of larger and richer datasets. *Gigascience, 4*, 7. doi: 10.1186/s13742-015-0047-8

Chen, Q., Wang, Z., Sun, J., Huang, Y., Hanif, Q., Liao, Y., & Lei, C. (2020). Identification of genomic characteristics and selective signals in a Du'an goat flock. *Animals (Basel), 10*(6), 994. doi: 10.3390/ani10060994

El-Halawany, N., Zhou, X., Al-Tohamy, A. F., El-Sayd, Y. A., Shawky, A. E., Michal, J. J., & Jiang, Z. (2016). Genome-wide screening of candidate genes for improving fertility in Egyptian native Rahmani sheep. *Animal Genetics, 47*(4), 513. doi: 10.1111/age.12437

Fariello, M. I., Boitard, S., Naya, H., SanCristobal, M., & Servin, B. (2013). Detecting signatures of selection through haplotype differentiation among hierarchically structured populations. *Genetics, 193*(3), 929-941. doi: 10.1534/genetics.112.147231.

Giacopelli, F., Cappato, S., Tonachini, L., Mura, M., Di Lascio, S., Fornasari, D., Ravazzolo, R., & Bocciardi, R. (2013). Identification and characterization of regulatory elements in the promoter of ACVR1, the gene mutated in Fibrodysplasia Ossificans Progressiva. Orphanet *Journal of Rare Diseases, 8*, 145. doi: 10.1186/1750-1172-8-145

Gutiérrez-Gil, B., Pérez, J., Alvarez, L., Martínez-Valladares, M., de la Fuente, L. F., Bayón, Y., Meana, A., San Primitivo, F., Rojo-Vázquez, F. A., & Arranz, J. J. (2009). Quantitative trait loci for resistance to trichostrongylid infection in Spanish Churra sheep. *Genetics Selection Evolution, 41*(1), 46. doi: 10.1186/1297-9686-41-46

Han, B., Wang, H., Zhang, J., & Tian, J. (2020). FNDC3B is associated with ER stress and poor prognosis in cervical cancer. *Oncology Letters*, *19*(1), 406-414. doi: 10.3892/ol.2019.11098

Isabelle, C. M., & Picard, B. (2016). Expression marker-based strategy to improve beef quality. *The Scientific World Journal, 3*, 1-11. doi: 10.1155/2016/2185323

Khalifa, E. I., Ahmed, M. E., Hafez, Y. H., El-Zolaky, O. A., Bahera, K. M., & Abido, A. A. (2013). Age at puberty and fertility of Rahmani sheep fed on biological inoculated corn silage. *Annals of Agricultural Sciences*, *58*(2), 163-172. doi.org/10.1016/j.aoas.2013.07.003

Khaltabadi Farahani, A. H., Mohammadi, H., & Moradi, H. (2020). Gene set enrichment analysis using genome-wide association study to identify genes and pathways associated with litter size in various sheep breeds. *Animal Production, 22*(3), 325-335. doi:10.22059/jap.2020.292715.623468 [In Persian]

Kijas, J. W., Lenstra, J. A., Hayes, B., Boitard, S., Porto Neto, L. R., San Cristobal, M., Servin, B., McCulloch, R., Whan, V., McEwan, J., & Dalrymple, B. (2012). International Sheep Genomics Consortium Members. Genome-wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection. *PLoS Biology, 10*(2), e1001258. doi: 10.1371/journal.pbio.1001258

Leroy, G., Baumung, R., Boettcher, P., Besbes, B., From, T., & Hoffmann, I. (2018). Animal genetic resources diversity and ecosystem services. *Global Food Security, 17*, 84-91. doi: 10.1002/ecy.3745

McBride, D., Carré, W., Sontakke, S. D., Hogg, C. O., & Law, A. (2012). Identification of miRNAs associated with the follicular-luteal transition in the ruminant ovary. *Reproduction, 144*, 221-233. doi: 10.1530/REP-12-0025

Mohammadi, H., Khaltabadi Farahani, H. K., Moradi, M. H., Mastrangelo, S., Di Gerlando, R., Sardina, M. T., Scatassa, M. L., Portolano, B., & Tolone, M. (2022). Weighted single-step genome-wide association study uncovers known and novel candidate genomic regions for milk production traits and somatic cell score in Valle del Belice dairy sheep. *Animals (Basel), 12*(9), 1155. doi: 10.3390/ani12091155

Patiabadi, Z., Razmkabir, M., Esmailizadeh Koshkoiyeh, A., Moradi, M. H., & Rashidi, A. (2023). Genomic scanning of selection signature in Iranian skin and wool sheep using FST unbiased estimator and hapFLK methods. *Animal Production Research*, *12*(2), 85-103. doi: 10.22124/ar.2023.22903.1721 [In Persian]

Rostamzadeh Mahdabi, E., Esmailizadeh, A., Ayatollahi Mehrgardi, A., & Asadi Fozi, M. (2021). A genome-wide scan to identify signatures of selection in two Iranian indigenous chicken ecotypes. *Genetics Selection Evolution, 53*(1), 72. doi: 10.1186/s12711-021-00664-9

Sabeti, P. C., Schaffner, S. F., Fry, B., Lohmueller, J., Varilly, P., Shamovsky, O., & Lander, E. (2006). Positive natural selection in the human lineage. *Science, 312*(5780), 1614-1620**.** doi: 10.1126/science.1124309

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

Shimizu, T., Jayawardana, B. C., Nishimoto, H., Kaneko, E., Tetsuka, M., & Miyamoto, A. (2006). Involvement of the bone morphogenetic protein/receptor system during follicle development in the bovine ovary: hormonal regulation of the expression of bone morphogenetic protein 7 (BMP-7) and its receptors (ACTRI and ALK-2). *Molecular and Cellular Endocrinology, 249*, 78-83. doi: 10.1016/j.mce.2006.01.015

Tenghe, A. M. M., Bouwman, A. C., Berglund, B., Strandberg, E., de Koning, D. J., & Veerkamp, R. F. (2016). Genome wide association study for endocrine fertility traits using single nucleotide polymorphism arrays and sequence variants in dairy cattle. *Journal of Dairy Science, 99*(7), 5470-5485. doi: 10.3168/jds.2015-10533

Wang, X., Liu, J., Zhou, G., Guo, J., Yan, H., Niu, Y., Li, Y., Yuan, C., Geng, R., Lan, X., An, X., Tian, X., Zhou, H., Song, J., Jiang, Y., & Chen, Y. (2016). Whole-genome sequencing of eight goat populations for the

detection of selection signatures underlying production and adaptive traits. *Scientific Reports, 6*, 38932. doi: 10.1038/srep38932

Waineina, R. W., Okeno, T. O., Ilatsia, E. D., & Ngeno, K. (2022). Selection signature analyses revealed genes associated with adaptation, production, and reproduction in selected goat breeds in Kenya. *Frontiers in Genetics, 13*, 858923. doi: 10.3389/fgene.2022.858923

Wang, P., Li, X., Zhu, Y., Wei, J., Zhang, C., Kong, Q., Nie, X., Zhang, Q., & Wang, Z. (2022). Genome-wide association analysis of milk production, somatic cell score, and body conformation traits in Holstein cows. *Frontiers in Veterinary Science*, *9*, 932034. doi: 10.3389/fvets.2022.932034

Yurchenko, A. A., Daetwyler, H. D., Yudin, N., Schnabel, R. D., Vander Jagt, C. J., Soloshenko, V., Lhasaranov, B., Popov, R., Taylor, J. F., & Larkin, D. M. (2018). Scans for signatures of selection in Russian cattle breed genomes reveal new candidate genes for environmental adaptation and acclimation. *Scientific Reports*, *8*(1), 12984. doi: 10.1038/s41598-018-31304-w

Zhang, Y. E. (2017). Non-Smad signaling pathways of the TGF- family. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *9*, 56-71. doi: 10.1101/cshperspect.a02212

Zhang, Z., Sui, Z., Zhang, J., Li, Q., Zhang, Y., Wang, C., Li, X., & Xing, F. (2022). Identification of signatures of selection for litter size and pubertal initiation in two sheep populations. *Animals (Basel), 12*(19), 2520. doi: 10.3390/ani12192520

Zhao, F., Deng, T., Shi, L., Wang, W., Zhang, Q., Du, L., & Wang, L. (2020). Genomic scan for selection signature reveals fat deposition in Chinese indigenous sheep with extreme tail types. *Animals (Basel), 10*(5), 773. doi: 10.3390/ani10050773