

مقاله پژوهشی:

کاوش ژنومی نشانه‌های انتخاب در نژادهای گاو بومی (سرابی، نجدی و تالشی) و هلشتاین با استفاده از روش hapFLK

مهدی فرضی^۱، محمد مرادی شهربابک^{۲*}، حسین مرادی شهر بابک^۳، محمد باقر زندی باغچه مریم^۴
۱، ۲ و ۳. دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد و استادیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
۴. استادیار، گروه علوم دامی دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱/۲۲ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۵/۱۴)

چکیده

به منظور شناسایی نشانه‌های انتخاب بین گاوهای نژادهای بومی با نژاد هلشتاین از اطلاعات ژنومی ۱۵۳ رأس گاو بومی (شامل ۶۳ رأس سرابی، ۴۴ رأس نجدی و ۴۶ رأس تالشی) و ۶۰ رأس گاو هلشتاین با در نظر گرفتن ۴۶ رأس گاو نژاد برهمن به عنوان نژاد خارج گروهی استفاده شد. جهت تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها از تراشه‌های Illumina Bead Chip 40K (برای نژادهای بومی) و Illumina Bead Chip 770K (برای نژاد هلشتاین و برهمن) استفاده شده بود. اطلاعات ژنومی نژادهای خارجی از پایگاه داده WIDDE استخراج گردید. پس از اجرای مراحل مختلف کنترل کیفیت داده‌ها، برای شناسایی نشانه‌های انتخاب از روش آماری hapFLK با نرم‌افزار hapFLK v1.4 استفاده شد و با در نظر گرفتن ۰/۱ درصد بالای ارزش hapFLK، نشانه‌های انتخاب روی کروموزوم ۲۵ با استفاده از ابزار Ensembl Biomart شناسایی شدند که شامل ۵۷ ژن بودند. سپس با استفاده از پایگاه اطلاعاتی PANTHER عملکرد بیولوژیکی کلی ژن‌ها بررسی شده و QTL‌های موجود در ناحیه مورد انتخاب با استفاده از پایگاه داده Animalgenome استخراج شدند و ژن‌ها با تحقیقات دیگر نیز مقایسه شدند. نتایج حاصل نشان داد این ژن‌ها با مسیرهای بیولوژیکی مختلف مانند فعالیت وابسته به ATP، اتصال، فعالیت کاتالیزوری، فعالیت آداپتور مولکولی، تنظیم‌کننده عملکرد مولکولی، فعالیت مبدل مولکولی، فعالیت تنظیم‌کننده رونویسی و فعالیت انتقالی در ارتباط بودند. QTL‌های گزارش شده در این نواحی نیز با صفات قد و ارتفاع جدوگاه، میزان شیر و محتویات شیر، میزان آهن عضلانی، صفات مربوط به وزن بدن و آسان‌زایی ارتباط داشتند.

واژه‌های کلیدی: پویس ژنومی، گاو بومی، نشانه انتخاب، QTL، hapFLK.

Genomic scan for selection signatures in native (Sarabi, Najdi and Taleshi) and Holstein cattle breeds using hapFLK method

Mahdi Farzi¹, Mohammad Moradi Shahrabak^{2*}, Hosein Moradi Shahrabak³ and Mohammad Bagher Zandi Baghcheh Maryam⁴

1, 2, 3. M.Sc. Student, Professor and Assistant Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

4. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
(Received: Apr. 11, 2022 - Accepted: Aug. 5, 2022)

ABSTRACT

In order to identify the signatures of selection in three Iranian native cattle and Holstein breeds, genomic information of 153 native cattle (including 63 Sarabi, 44 Najdi and 46 Taleshi) and 60 Holstein cattle and 46 Brahma cattle (as an outgroup breed) were used. In order to determine the genotype of the samples, Illumina Bead Chip 40K (for native breeds) and Illumina Bead Chip 770K (for Holstein and Brahman breeds) were used. The genomic information of foreign breeds was extracted from the WIDDE database. After the quality control of the data, hapFLK statistical method with hapFLK v1.4 software was used to identify selection signatures. Considering the high hapFLK value of 0.1%, selection signatures were identified using the Ensembl Biomart tool, which included 57 genes on chromosome 25. Then, using the PANTHER database, the general biological function of the genes was checked, and the QTLs in the selected region were extracted using the Animalgenome database, and the genes were compared with other researches. The results showed that these genes were associated with different biological pathways such as ATP-dependent activity, binding, catalytic activity, molecular adapter activity, molecular function regulator, molecular transducer activity, transcription regulator activity and transporter activity. The QTLs reported in these areas were also related to the traits of stature and withers height, milk yield and contents, muscle iron content, body weight and calving ease traits.

Keywords: Genomic scan, hapFLK, Native cattle, Signature of selection, QTL.

* Corresponding author E-mail: moradim@ut.ac.ir

مقدمه

DNA گیاهان و حیوانات اهلی حاوی اطلاعاتی درباره نحوه اهلی‌سازی، مهاجرت و نحوه پرورش آن‌ها توسط کشاورزان اولیه می‌باشد (Decker *et al.*, 2014). پیشرفت‌های اخیر در زمینه‌ی ژنتیک مولکولی در کنار توسعه روش‌های آماری و محاسباتی و طراحی تراشه‌های SNP با تراکم بالا، این امکان را فراهم آورده است که بتوان کل ژنوم را به طور همزمان مورد بررسی قرار داد. همچنین بیشتر نژادهای تثبیت شده گاو را می‌توان با استفاده از نشانگرهای ژنتیکی تشخیص داد (Kuehn *et al.*, 2011). متخصصین ژنتیک جمعیت و زیست‌شناسان تکاملی علاقه دیرینه‌ای به درک سازوکارهای اکولوژیکی و ژنتیکی دارند که به گونه‌ها اجازه می‌دهند خود را با شرایط محیطی سازگار کنند (Vatsiou *et al.*, 2016). از زمان اهلی‌سازی، بهبود ژنتیکی قابل توجهی برای بسیاری از صفات اقتصادی در گاو، از جمله سازگاری، شکل ظاهری و تولید حاصل شده است. ابزارهای تازه در دسترس، امکان بررسی منظم ژنوم برای یافتن قوی‌ترین مکان کاندیدا برای انتخاب و همچنین ارزیابی مجدد ژن‌های کاندیدای قبلی را در مقایسه با تنوع ژنتیکی ژنوم فراهم می‌کند (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 دخالت انسان مشخص می‌کند کدام یک از صفات مطلوب‌تر هستند و افراد دارای صفات مطلوب بیشتر در نسل‌های بعدی شرکت داده می‌شوند (Gondro, 2015). انتخاب می‌تواند منجر به تغییرات ژنومی شود که به آن‌ها نشانه‌های انتخاب^۱ گفته می‌شود. مطالعات نشانه انتخاب می‌توانند مناطقی را که به طور متفاوت در جمعیت‌های یک گونه انتخاب شده‌اند را شناسایی کنند. اهداف این مطالعات تا حدی شبیه مطالعات پویش پیوستگی در سطح ژنوم^۲ برای شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با یک ویژگی می‌باشد (Gondro, 2015). تشخیص اساس مولکولی سازگاری در گونه‌های طبیعی یکی از سوالات اصلی در ژنتیک جمعیت است (Boitard *et al.*, 2016). مقایسه بین

گروه‌های نژادی این پتانسیل را دارد که مناطق ژنومی را که موثر بر صفات پیچیده هستند بدون نیاز به تجهیزات پیچیده و جمع‌آوری سوابق فنوتیپی، مورد مطالعه قرار داده و به شناسایی ژن‌های کاندید و درک مکانیسم‌های بیولوژیکی کنترل صفات پیچیده کمک کند (Stella *et al.*, 2010). مطالعات مختلفی در مورد شناسایی نشانه‌های انتخاب در گونه‌های مختلف مانند، انسان (Boitard *et al.*, 2016; Sabeti *et al.*، 2006)، گاو (Caetano, 2009; Carvalheira *et al.*, 2014) گوسفند (Kijas, 2014) و بز (Brito *et al.*, 2017) انجام شده است.

اگر جمعیت‌های نمونه دارای اندازه‌های موثر نابرابر یا دارای ساختار سلسله مراتبی باشند، کاوش ژنوم بر اساس مقادیر F_{ST} معمول می‌تواند نتیجه‌گیری اریب به همراه داشته باشد. برای تصحیح اثر رانش و کوواریانس، هنگام تشخیص مکان‌های تحت انتخاب، آمار FLK معرفی شد (Bonhomme *et al.*, 2010) و چند سال بعد روش HapFLK معرفی گردید (Fariello *et al.*, 2013) که هاپلوتیپ‌های تحت انتخاب را بر اساس آزمون FLK شناسایی کرده و اریب ناشی از ساختار سلسله مراتبی جمعیت‌ها را برطرف می‌کند. هدف تحقیق حاضر شناسایی نشانه‌های ژنومی انتخاب در مقایسه بین گاوهای بومی (نژادهای سرایی، نجدی و تالشی) با هلشتاین با استفاده از روش hapFLK بود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری از ۱۱۳ رأس گاو خالص سرایی، در استان آذربایجان شرقی (شهر سراب، ایستگاه اصلاح‌نژاد گاو سرایی)، ۵۶ رأس گاو خالص تالشی در استان گیلان (شهر فومن، ایستگاه اصلاح‌نژادی گاو تالشی) و ۱۴۳ رأس گاو خالص نجدی از استان خوزستان (شهرستان شوشتر، ایستگاه اصلاح نژاد گاو نجدی) توسط شرکت ساینگستر البرز انجام شده بود (Mosavi Kashani *et al.*, 2018). استخراج DNA با استفاده از روش فنل و کلروفورم (Maniatis, 1989) و برای تعیین کیفیت و کمیت نمونه DNA از دو روش ژل آگارز و نانو دراپ استفاده شده بود. در نهایت نمونه‌های مورد مطالعه برای تعیین ژنوتیپ به شرکت Geneseek ارسال و تعیین

1. Signatures of selection
2. GWAS

طول ناحیه منتخب قرار داشتند با استفاده از مجموعه داده Cow genes (ARS-UCD1.2) از سایت Ensemble (<http://www.ensembl.org/biomart>) Biomart Tool شناسایی شدند. سپس با استفاده از پایگاه اطلاعاتی PANTHER (<http://pantherdb.org>) عملکرد بیولوژیکی کلی ژن‌ها بررسی شده و QTL‌های موجود در ناحیه مورد انتخاب با استفاده از پایگاه داده Animalgenome (<https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/>) (BT/index) استخراج شدند.

نتایج و بحث

تعداد هشت حیوان با داشتن IBS حدود ۰/۹۹ الی ۱/۰ با احتمال تکراری بودن نمونه‌ها و تعیین ژنوتیپ چند باره یک حیوان و همچنین حیوانات خارج از توده خود در آنالیز PCA به منظور جلوگیری از ایجاد ارباب در محاسبات حذف شدند (جدول ۱).

پس از حذف داده‌های حیوانات حذف شده، داده‌های نژادهای بومی و خارجی با هم ترکیب شدند که دارای ۲۶۲۶۹ نشانگر SNP مشترک بودند که پس از مرحله کنترل کیفیت در سطح SNP در نهایت، تعداد ۲۲۲۲۷ SNP باقی ماندند که شامل اطلاعات ۲۹ جفت کروموزوم اتوزوم گاوها بودند (جدول ۲).

نتایج آنالیز PCA که برای مطالعه ساختار استفاده شد نشان داد که با PC1 نژاد برهمن و با PC2 نژادهای سرابی و تالشی به خوبی از بقیه نژادها تفکیک شدند. نژادهای سرابی و تالشی به خوبی توده‌های متراکم و مجزایی را تشکیل دادند و گستردگی نژاد نجدی می‌تواند حاکی از تنوع ژنتیکی این نژاد باشد و دام‌هایی از نژاد نجدی که در نزدیکی توده هلشتاین قرار داشتند، احتمالاً دورگ‌های نجدی-هلشتاین بودند که در داده‌های نهایی حذف گردیدند (شکل ۱).

برای شناسایی مناطق تحت انتخاب با روش hapFLK از آستانه ۰/۱ درصد ارزش hapFLK بالای جمعیت استفاده شد. در نهایت ناحیه ۳۴۷۸۷۶۱۰ تا ۳۶۶۱۵۴۶۶ جفت باز کروموزوم ۲۵ در آستانه مشخص شده دارای نشانه‌های انتخاب بود، که این ناحیه برای شناسایی ژن‌ها در مرحله بعدی استفاده شد.

ژنوتیپ با استفاده از تراشه Illumina Bead Chip 40K انجام شده بود (Mosavi Kashani *et al.*, 2018). داده‌های مربوط به ۶۰ حیوان از نژاد هلشتاین و ۴۶ حیوان از نژاد برهمن که با استفاده از تراشه Illumina Bead Chip 770K تعیین ژنوتیپ شده بودند نیز از پایگاه داده WIDDE (<http://widde.toulouse.inra.fr>) استخراج شدند (Sempéré *et al.*, 2015). پس از ترکیب کردن^۲ داده‌های ژنومی سه نژاد بومی، یکسانی بر اساس موقعیت افراد (IBS)^۳ با نرم‌افزار PLINK v1.9 (Purcell *et al.*, 2007) محاسبه شد تا افرادی که رابطه خویشاوندی زیادی با یکدیگر دارند، شناسایی و حذف شوند. به منظور حصول کیفیت مطلوب برای آنالیز شناسایی نشانه‌های انتخاب، نمونه‌ها توسط نرم‌افزار PLINK v1.9 مراحل کنترل کیفیت را گذراندند و SNP‌های با نرخ فراخونی^۴ کم‌تر از ۰/۱۰۰، P-value کم‌تر از ۱۰^{-۶} (خارج از تعادل هاردی-واینبرگ (HWE) و فراوانی آلل نادر^۵ کم‌تر از دو درصد (Mokhber *et al.*, 2018) حذف شدند (جدول ۲).

آنالیز مؤلفه اصلی (PCA) پس از گذراندن مراحل کنترل کیفیت داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار PLINK v1.9 و Excel محاسبه و گراف PCA توسط نرم‌افزار R v4.0 رسم شد تا علاوه بر تفکیک نژادها، دام‌هایی که خارج از توده نژادی خود قرار دارند، برای حذف شناسایی شوند. برای آنالیز hapFLK از نرم‌افزار hapFLK v1.4 (Fariello *et al.*, 2013) به منظور شناسایی نشانه‌های انتخاب استفاده شد. شناسایی نشانه‌های انتخاب بین نژادهای بومی (گاوه‌های سرابی، نجدی، تالشی) و هلشتاین با در نظر گرفتن نژاد برهمن به عنوان نژاد خارج گروهی انجام شد و تنها ۰/۱ درصد حد بالای ارزش hapFLK به عنوان نشانه انتخاب در نظر گرفته شد (Kijas, 2014)، سپس توسط نرم‌افزار R v4.0 گراف منتهن پلات ارزش‌های hapFLK بدست آمد (Fariello *et al.*, 2013). سپس ژن‌های کدکننده پروتئینی که در

1. Web-Interfaced next generation Database dedicated to genetic Diversity Exploration
2. Merge
3. Identical by State
4. Call Rate
5. Minor Allele Frequency

جدول ۱. مراحل مختلف کنترل کیفیت نمونه‌ها مربوط به نژادهای مختلف مورد بررسی در تحقیق حاضر در سطح افراد

	Sarabi	Najdi	Taleshi	Holstein	Brahman
Animals	113	143	56	60	46
Animal with call rate<0.97	38	83	11	0	0
IBS>0.99	5	2	1	0	0
Outgroup animals based on PCA	7	14	1	0	0
Remaining animals	63	44	43	60	46

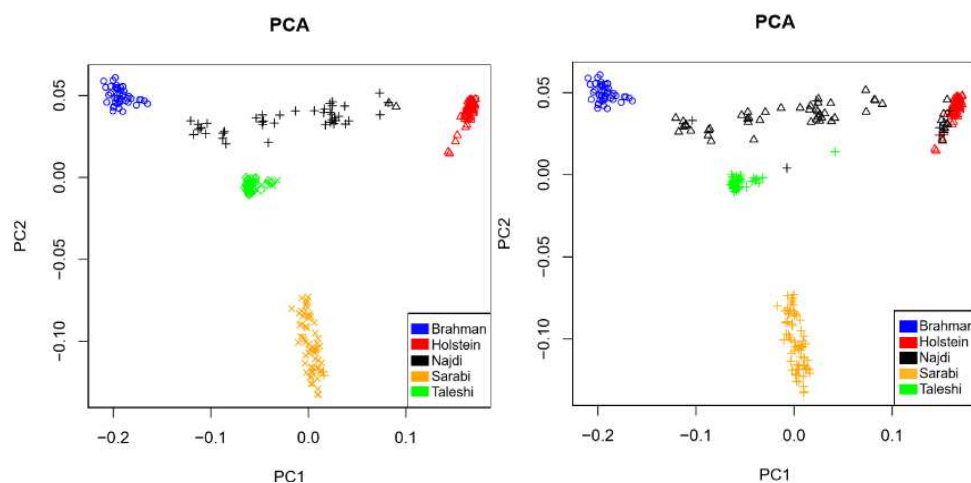
* Outgroup ها شامل حیواناتی بودند که در آنالیز PCA خارج از توده جمعیتی خود قرار داشتند.

* Outgroups included animals that were clustered outside of their population mass in PCA analysis.

جدول ۲. مراحل مختلف کنترل کیفیت نشانگرهای SNP برای آنالیز hapFLK

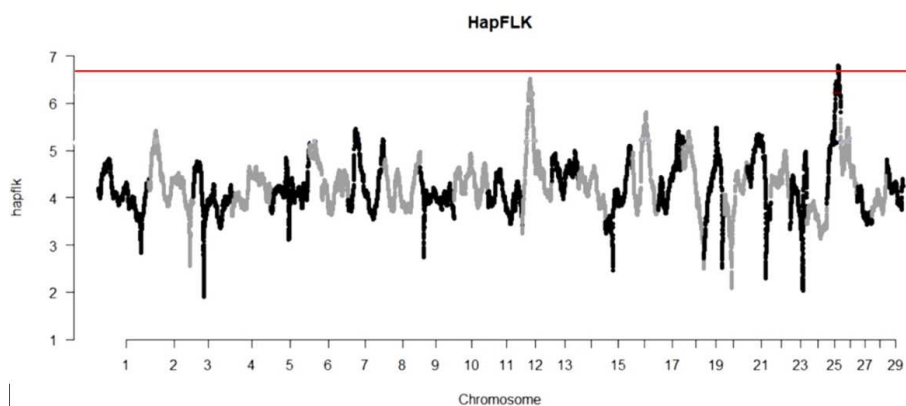
Table 2. Summary table for quality control steps for SNP markers used for hapFLK analysis

QC filters	SNP no.
SNP number before QC	26269
SNP call rate<1.0	2609
P-value<10 ⁻⁶ (HWE)	1350
MAF (Minor allele frequency)<0.02	83
Remaining SNPs	22227



شکل ۱. خوشه‌بندی حیوانات بر اساس آنالیز PCA با استفاده از اطلاعات ژنوتیپی تمام حیوانات (عکس راست) و حیوانات باقیمانده پس از اجرای مراحل مختلف کنترل کیفیت (عکس چپ)

Figure 1. Animals clustered on the basis of principal components analysis (PCA) using genotyping information of all animals (right picture) and the animals passed different quality control steps (left picture)



شکل ۲. توزیع ارزش‌های hapFLK بین نژادهای بومی (سرابی، نجدی و تالشی) با نژاد هلشتاین

* خط رسم شده نمایانگر ۰/۰۰۱ بالای ارزش hapFLK در بین جمعیت‌ها می‌باشد.

Figure 2. Distribution of hapFLK values between native breeds (Sarabi, Najdi and Talshi) and Holstein breeds

* The drawn line shows the 0.001 of high value of hapFLK among the populations.

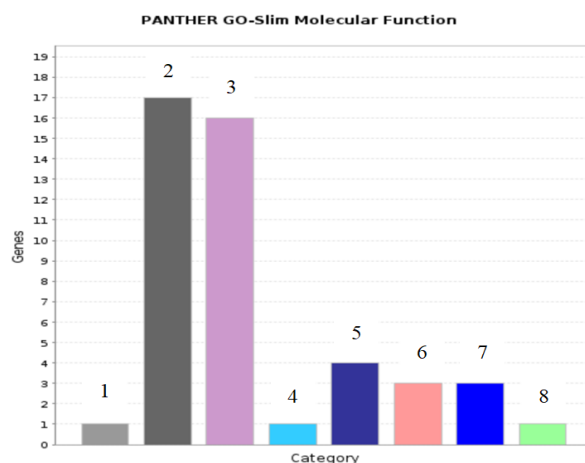
کم مو باعث می‌شود که در محیط‌هایی که حیوانات در معرض گرما، سرما یا آلكالوئیدهای سمی ناشی از استرس زخم قرار دارند، یک کاندیدای سازگار و قوی باشد (Höglund *et al.*, 2012). همچنین این ژن یک کاندید بالقوه برای صفت ورم پستان در گاوهای هلستاین آمریکا می‌باشد (Miles *et al.*, 2021). ژن *FIS1* با نقش داشتن در تکه‌تکه‌شدن میتوکندری در تحمل استرس گرمایی نیز نقش دارد (Chen *et al.*, 2020). اعضای خانواده *MOGAT* دارای اولویت بالایی برای صفات کمی مربوط به جذب چربی در رژیم غذایی و ساخت و ذخیره تری گلیسیرید در حیوانات مرزعه هستند (Winter *et al.*, 2003).

از نظر عملکرد بیولوژیکی ۱۷ ژن در اتصال به مواد مختلف، ۱۶ ژن فعالیت کاتالیزوری و چهار ژن در تنظیم عملکرد مولکولی نقش داشتند و مابقی ژن‌ها دارای عملکردهای دیگری بودند (شکل ۳).

با جست و جوی ناحیه تحت انتخاب در پایگاه Animalgenome تعداد ۲۴ QTL با صفات مختلف شناسایی شدند. شش QTL با ایدی‌های 34605, 34606, 34604, 34251, 34252, 34272 با ژن *CUX1* ارتباط داشتند (جدول ۳).

ناحیه برگزیده بر روی کروموزوم ۲۵ در پایگاه اطلاعاتی Ensemble Biomat بررسی شده و ژن‌های کدکننده پروتئین موجود در این ناحیه شناسایی شدند. این ناحیه شامل ژن‌های *COL26A1*, *MYL10*, *CUX1*, *PLOD3*, *ZNHIT1*, *CLDN15*, *FIS1*, *JFT22*, *ACHE*, *SERPINE1*, *AP1S1*, *VGF*, *MOGAT3*, *ZAN*, *EPHB4*, *SLC12A9*, *TRIP6*, *UFSP1*, *SRRT*, *TFR2*, *ACTL6B*, *GNB2*, *GIGYF1*, *POP7*, *EPO*, *SAP25*, *LRCH4*, *FBXO24*, *PCOLCE*, *MOSPD3*, *PPP1R35*, *C7orf61*, *TSC22D4*, *NYAP1*, *AGFG2*, *STAG3*, *PVRIG*, *PILRA*, *ZCWPW1*, *MEPCE*, *LAMTOR4*, *TRAPPC14*, *GAL3ST4*, *GPC2*, *ZNF3*, *COPS6*, *MCM7*, *AP4MI*, *TAF6*, *CNPY4*, *OR2AE1*, *TRIM4*, *GJC3*, *AZGP1*, *ZKSCAN1* و *CYP3A4* و *CYP3A5* بود.

ژن *CUX1* مرتبط با عمق پستان بوده (Yan *et al.*, 2020) و از آل‌های این ژن می‌توان برای تمایز بین نژاد بزهایی که گوشتی و پشمی هستند استفاده کرد (Cassar-Malek *et al.*, 2017). *CUX1* فنوتیپ‌های پوشش مو را در موش‌ها کنترل می‌کند (Meade *et al.*, 2008) نقش *CUX1* در فنوتیپ‌های



شکل ۳. دسته‌بندی عملکردهای بیولوژیکی ۵۷ ژن توسط پایگاه داده PANTHER

* محور افقی شامل دسته‌بندی‌های بیولوژیکی و محور عمودی نشانگر تعداد ژن‌های مربوط به هر دسته‌بندی می‌باشد.
 ۱: فعالیت وابسته به ATP، ۲: اتصال، ۳: فعالیت کاتالیزوری، ۴: فعالیت آداپتور مولکولی، ۵: تنظیم‌کننده عملکرد مولکولی، ۶: فعالیت مبدل مولکولی، ۷: فعالیت تنظیم‌کننده رونویسی و ۸: فعالیت انتقالی

Figure 3. Classification of biological functions of 60 genes by PANTHER database

* The horizontal axis includes biological categories and the vertical axis shows the number of genes related to each category.
 1: ATP-dependent activity, 2: binding, 3: catalytic activity, 4: molecular adaptor activity, 5: molecular function regulator, 6: molecular transducer activity, 7: transcription regulator activity and 8: transporter activity.

جدول ۳. QTL‌های شناسایی شده در ناحیه بالای آستانه کرموزوم ۲۵
Table 3. QTLs identified in the region above the threshold of chromosome 25

QTL ID	Trait name	QTL Span (Mbp)
154229	Stature	35.9-35.9
20641	Muscle iron content	35.9-35.9
36315	Milk fat yield	34.8-34.8
34605, 34606, 34604, 34251, 34252, 34272	Milk linoleic acid content	35.0-35.0
100651, 100837	Milk fat yield	35.6-35.6
26103	Milk fat yield	35.7-35.7
26720	Milk fat percentage	35.7-35.7
70729, 70730, 70731, 70512	Milk potassium content	35.0-35.0
24767	Body weight (weaning)	34.5-35.4
20975	Average daily gain	35.1-35.1
20497	Body weight	35.5-35.5
20498	Withers height	35.5-35.5
20499	Average daily gain	35.5-35.5
69338	Body weight	36.3-36.3
30563	Calving ease	35.5-36.0

نتیجه‌گیری کلی

مختلف و کاتالیزوری بود. QTL‌های شناسایی شده به طور کلی با صفات قد و وزن، مقدار و محتویات شیر (از جمله چربی شیر) و آسان‌زایی مرتبط بودند که شش QTL مربوط به اسید لینولئیک شیر با ژن *CUX1* در ارتباط بودند. صفات مذکور از مهم‌ترین تفاوت‌های بین گاوهای بومی و اصلاح شده می‌باشند.

در این تحقیق پویش ژنوم جهت شناسایی نشانه‌های انتخاب در مقایسه بین نژادهای گاو بومی (سرای، نجدی و تالشی) با هلاشتاین انجام گرفت. ژن‌های شناسایی شده با مسیرهای بیولوژیکی مختلفی در ارتباط بودند ولی عمده عملکرد این ژن‌ها مربوط به فعالیت اتصال به مواد

REFERENCES

- Boitard, S., Boussaha, M., Capitan, A., Rocha, D., & Servin, B. (2016). Uncovering adaptation from sequence data: lessons from genome resequencing of four cattle breeds. *Genetics*, 203(1), 433-450.
- 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.
- Brito, L. F., Kijas, J. W., Ventura, R. V., Sargolzaei, M., Porto-Neto, L. R., Cánovas, A., Schenkel, F. S. (2017). Genetic diversity and signatures of selection in various goat breeds revealed by genome-wide SNP markers. *BMC genomics*, 18(1), 1-20.
- Caetano, A. R. (2009). Genome-wide survey of SNP variation uncovers the genetic structure of cattle breeds. *Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Artigo em Periódico Indexado (ALICE)*.
- Carvalho, J., Salem, M., Thompson, G., Chen, S., & Beja-Pereira, A. (2014). Genome-wide association study for milk and protein yields in Portuguese Holstein cattle. *MARS*, 131(131.83), 131-183.
- Cassar-Malek, I., Boby, C., Picard, B., Reverter, A., & Hudson, N. J. (2017). Molecular regulation of high muscle mass in developing Blonde d'Aquitaine cattle fetuses. *Biology Open*, 6(10), 1483-1492.
- Chen, K.-L., Wang, H.-L., Jiang, L.-Z., Qian, Y., Yang, C.-X., Chang, W.-W., & Xing, G.-D. (2020). Heat stress induces apoptosis through disruption of dynamic mitochondrial networks in dairy cow mammary epithelial cells. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, 56(4), 322-331.
- Decker, J. E., McKay, S. D., Rolf, M. M., Kim, J., Alcalá, A. M., Sonstegard, T. S., & Praharani, L. (2014). Worldwide patterns of ancestry, divergence, and admixture in domesticated cattle. *PLoS Genet*, 10(3), e1004254.
- 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.
- Gondro, C. (2015). Primer to analysis of genomic data using R: *Springer*.
- Höglund, J. K., Guldbrandtsen, B., Lund, M. S., & Sahana, G. (2012). Analyzes of genome-wide association follow-up study for calving traits in dairy cattle. *BMC Genetics*, 13(1), 1-9.
- Kijas, J. W. (2014). Haplotype-based analysis of selective sweeps in sheep. *Genome*, 57(8), 433-437.
- Kuehn, L., Keele, J., Bennett, G., McDanel, T., Smith, T., Snelling, W., & Thallman, R. (2011). Predicting breed composition using breed frequencies of 50,000 markers from the US Meat Animal Research Center 2,000 Bull Project. *Journal of Animal Science*, 89(6), 1742-1750.

14. Maniatis, T. (1989). *Molecular Cloning: Decontamination of Dilute Solutions of Ethidium Bromide*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
15. Meade, K. G., Gormley, E., O'Farrelly, C., Park, S. D., Costello, E., Keane, J., MacHugh, D. E. (2008). Antigen stimulation of peripheral blood mononuclear cells from *Mycobacterium bovis* infected cattle yields evidence for a novel gene expression program. *BMC Genomics*, 9(1), 1-17.
16. Miles, A. M., Posbergh, C. J., & Huson, H. J. (2021). Direct Phenotyping and Principal Component Analysis of Type Traits Implicate Novel QTL in Bovine Mastitis through Genome-Wide Association. *Animals*, 11(4), 1147.
17. Mokhber, M., Moradi-Shahrbabak, M., Sadeghi, M., Moradi-Shahrbabak, H., Stella, A., Nicolzzi, E., ... & Williams, J. L. (2018). A genome-wide scan for signatures of selection in Azeri and Khuzestani buffalo breeds. *BMC Genomics*, 19(1), 449.
18. Mosavi kashani, M., Rahimi Mianji, Gh., & Moradi Shahrbabak, H. (2018). Genome-Wide Scan for Selection Signatures in Iranian Sarabi and Taleshi Indigenous Breed. *Research on Animal Production*, 9, 88-99
19. Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A., Bender, D., Daly, M. J. (2007). PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American Journal of Human Genetics*, 81(3), 559-575.
20. Sabeti, P. C., Schaffner, S. F., Fry, B., Lohmueller, J., Varily, P., Shamovsky, O., Lander, E. (2006). Positive natural selection in the human lineage. *Science*, 312(5780), 1614-1620.
21. Sempéré, G., Moazami-Goudarzi, K., Eggen, A., Laloë, D., Gautier, M., & Flori, L. (2015). WIDDE: a Web-Interfaced next generation database for genetic diversity exploration, with a first application in cattle. *BMC Genomics*, 16(1), 1-8.
22. Stella, A., Ajmone-Marsan, P., Lazzari, B., & Boettcher, P. (2010). Identification of selection signatures in cattle breeds selected for dairy production. *Genetics*, 185(4), 1451-1461.
23. Vatsiou, A. I., Bazin, E., & Gaggiotti, O. E. (2016). Detection of selective sweeps in structured populations: a comparison of recent methods. *Molecular Ecology*, 25(1), 89-103.
24. Winter, A., Van Eckeveld, M., Bininda-Emonds, O., Habermann, F. A., & Fries, R. (2003). Genomic organization of the DGAT2/MOGAT gene family in cattle (*Bos taurus*) and other mammals. *Cytogenetic and Genome Research*, 102(1-4), 42-47.
25. Yan, Z., Wang, Z., Zhang, Q., Yue, S., Yin, B., Jiang, Y., & Shi, K. (2020). Identification of whole-genome significant single nucleotide polymorphisms in candidate genes associated with body conformation traits in Chinese Holstein cattle. *Animal Genetics*, 51(1), 141.