



Identification of genomic regions associated with the litter size in Murcia-Granadina goats based on selection signature

Hossein Mohammadi¹ | Amir Hossein Khaltabadi Farahani²

1. Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran. E-mail: H-mohammadi64@araku.ac.ir
2. Corresponding Author, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran. E-mail: a-farahani@araku.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:

Received 27 April 2024
Received in revised form
30 November 2024
Accepted 1 December 2024
Published online 2 February 2025

ABSTRACT

Objective: Over the last decade, interest in 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. The aim of this study was to identify candidate genes and genomic region related to litter size trait in Murcia-Granadina goats using the selective sweep methods.

Material and Methods: In this study, data from 643 Murcia-Granadina goat genotyped using Caprine 50 K BeadChip were used. Quality control measures were performed in Plink by setting animal call rate of 0.90, SNP call rate of 0.90 and SNPs with minor allele frequencies (MAF) lower than 0.01. To identify the signatures of selection, two statistical methods of F_{ST} and hapFLK were used. Candidate genes were identified by SNPs located at 1% upper range of F_{ST} and hapFLK. Finally, GeneCards and UniProtKB databases were also used to interpret the function of the obtained genes.

Results and Discussion: Using F_{ST} approach, we identified nine genomic regions on chromosomes 4, 5, 6, 8, 12, 13, 14, 15, and 22 chromosomes. The identified candidate genes associated with litter size trait in these genomic regions included *KMT2E*, *CAMK2D*, *CTNNAL*, *DACH1*, *DNMT3B*, *STK3*. Some of the genes located in identified regions under selection were associated with the oocyte growth, development and differentiation of ovarian follicles, fertility and growth and development of granulosa cells, which can be directly and indirectly related to the trait of the litter size. Also, survey on extracted QTLs was shown that these QTLs in cow orthologous associated sperm count and calf size. The results of hapFLK statistics in this research led to the identification of four genomic regions on chromosomes 1, 2, 5, and 11. The identified candidate genes associated with the litter size trait in these genomic regions included *EDA2R*, *KCNH7* and *CNOT11*. It was determined that they had different functions in folliculogenesis and spermatogenesis. Also, survey on extracted QTLs was shown in cow orthologous associated calving interval.

Conclusion: By the way, various genes that were founded within these regions can be considered as candidates under selection based on function. However, will be necessary to carry out more association and functional studies to demonstrate the implication of genes obtained from association analyses. Finally, the results of our research can be used to understand the genetic mechanism controlling litter size trait.

Keywords:

Candidate gene
Fertility
 F_{ST} statistics
Goat
hap FLK statistics

Cite this article: Mohammadi, H., & Khaltabadi Farahani, A. H. (2025). Identification of genomic regions associated with the litter size in Murcia-Granadina goats based on selection signature. *Journal of Animal Production*, 26 (4), 405-417. DOI: <https://doi.org/10.22059/jap.2024.375737.623793>





شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با تعداد نتاج متولدشده در بزهای نژاد مورسیانو-گرانادینا بر پایه روش نشانه‌های انتخاب

حسین محمدی^۱ | امیرحسین خلت‌آبادی فراهانی^{۲*}

۱. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک، اراک، ایران. رایانامه: H-mohammadi64@araku.ac.ir
 ۲. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک، اراک، ایران. رایانامه: a-farahani@araku.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۰۸	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۹/۱۰	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۱۱	
تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۱۱/۱۴	
کلیدواژه‌ها: آزمون hapFLK آماره F_{ST} باروری بز ژن کاندیدا	<p>هدف: طی دهه‌های اخیر تمایل به شناسایی مناطق ژنومی که حاوی ژن‌های کاندیدی که هدف انتخاب بوده‌اند، رو به افزایش بوده است. شناسایی نشانه‌های انتخاب می‌تواند دیدگاه‌های ارزشمندی در مورد ژن‌ها و یا مناطق ژنومی که تحت انتخاب مثبت بوده و یا هستند فراهم کند که به نوبه خود منجر به درک بهتر ارتباط ژنوتیپ با فنوتیپ می‌شود. هدف از این مطالعه، شناسایی ژن‌های کاندیدی و مناطق ژنومی تحت انتخاب مثبت مرتبط با صفت تعداد نتاج متولدشده در بزهای نژاد مورسیانو-گرانادینا از طریق روش‌های شناسایی ردپای انتخاب بود.</p> <p>روش پژوهش: در این پژوهش اطلاعات ژنوتیپی مربوط به ۶۴۳ رأس بزهای غیر خویشاوند نژاد مورسیانو-گرانادینا تعیین ژنوتیپ‌شده با آرایه‌های 50K استفاده شد. ابتدا جهت اطمینان از کیفیت داده‌های تعیین ژنوتیپ، مراحل مختلف کنترل کیفیت روی داده‌های اولیه تعیین ژنوتیپ‌شده انجام شد. برای فیلتراسیون داده‌های ژنوتیپ‌شده، ابتدا نمونه‌هایی که فراوانی نرخ تعیین ژنوتیپ آن‌ها کم‌تر از ۹۰ درصد بود، شناسایی و حذف شد. در مرحله بعد نشانگرهایی که حداقل فراوانی آللی در آن‌ها کم‌تر از یک درصد بود حذف شدند. سپس نشانگرهایی که نرخ تعیین ژنوتیپ آن‌ها در نمونه‌ها کم‌تر از ۹۰ درصد بود شناسایی و حذف شدند. برای شناسایی نواحی ژنومی تحت انتخاب از دو آزمون آماری برآوردگر ناریب بالای این دو آزمون واقع شده بودند، شناسایی شدند. در نهایت، برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های به‌دست‌آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی آنلاین UniProtKB و GeneCards استفاده شد.</p> <p>یافته‌ها: نتایج حاصل از آماره تتا در این پژوهش منجر به شناسایی نه منطقه ژنومی روی کروموزوم-های مختلف گردید که شامل ژن‌های <i>DNMT3B</i>, <i>DACHI</i>, <i>CTNNAL</i>, <i>CAMK2D</i>, <i>KMT2E</i> و <i>STK3</i> با عملکردهای متفاوتی در رشد اووسیت، توسعه و تفرق فولیکول‌های تخمدانی، اسپرماتوژنیز، باروری، رشد و توسعه سلول‌های گرانولوزا بودند. همچنین با بررسی QTL‌های گزارش شده در مناطق ژنومی ارتولوگوس گاو، مرتبط با تعداد اسپرم و اندازه گوساله بودند. همچنین نتایج حاصل از آماره hapFLK در این پژوهش منجر به شناسایی چهار منطقه ژنومی روی کروموزوم‌های یک، دو، پنج و ۱۱ شد و ژن‌های کاندیدی شامل <i>CNOT11</i> و <i>KCNH7</i> مرتبط با فولیکوژن و اسپرماتوژنیز بودند. بررسی QTL‌های گزارش شده در مناطق انتخابی با مرتبط فاصله گوساله‌زایی قرار داشتند.</p> <p>نتیجه‌گیری: ژن‌هایی که در نواحی ژنومی شناسایی شدند، می‌توانند براساس عملکرد به‌عنوان کاندیداهای تحت انتخاب مثبت مطرح باشند. در هر حال نیاز به بررسی‌های پیوستگی و عملکردی بیش‌تری جهت شناسایی عملکرد ژن‌ها است. همچنین نتایج این پژوهش می‌تواند در درک سازوکار ژنتیکی کنترل‌کننده صفت تعداد نتاج متولدشده در بز مورد استفاده قرار گیرد.</p>

استناد: محمدی، حسین و خلت‌آبادی فراهانی، امیرحسین (۱۴۰۳). شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با تعداد نتاج متولدشده در بزهای نژاد مورسیانو-گرانادینا بر پایه روش نشانه‌های انتخاب. نشریه تولیدات دامی، ۲۶ (۴)، ۴۰۵-۴۱۷. DOI: <https://doi.org/10.22059/jap.2024.375737.623793>



۱. مقدمه

بازده تولیدمثل یکی از عوامل مؤثر بر میزان سودآوری حاصل از پرورش بز در گله‌های متمرکز و نیمه‌متمرکز است. تعداد بزغاله متولدشده در هر زایش با وراثت‌پذیری پایین، به‌عنوان یک هدف تولیدمثلی در برنامه‌های مختلف اصلاح نژادی گنجانده می‌شود (Sun et al., 2023). تعداد نتاج متولدشده در هر زایش یک صفت پیچیده و درگیر با چند فرایند زیستی از جمله ترشح هورمون، رشد فولیکول، تخمک‌ریزی، لقاح، باروری و رشد جنین است.

تشخیص معماری ژنتیکی سازگاری در دام‌های اهلی یکی از سوالات 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 کمی هستند بدون نیاز به جمع‌آوری رکوردهای فنوتیپی مورد مطالعه قرار داده و به شناسایی ژن‌های کاندیدا و درک مکانیسم‌های بیولوژیکی کنترل صفات کمی کمک کند. تعداد نتاج متولدشده در هر زایش یکی از مهم‌ترین صفات اقتصادی در صنعت پرورش بز است. در واقع یکی از اجزای بیولوژیکی در تولید، صفات تولیدمثلی می‌باشد، لذا بازده پرورش بز به مقدار زیادی تابع توان تولیدمثلی بزها می‌باشد. به‌عبارت دیگر افزایش تعداد بزغاله‌های متولدشده به‌ازای هر بز در یک سال سبب افزایش بازده تولید در پرورش بز می‌شود (Sun et al., 2023).

از طرف دیگر 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 تحت فشار انتخاب بوده و یا هستند فراهم کند که به‌نوبه 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 به‌عنوان نشانه‌ای از انتخاب مثبت در جایگاه‌های ژنی مربوط به‌شمار آید. به‌عبارت دیگر، هنگامی که انتخاب مثبت به سمت افزایش فراوانی آلل مطلوب پیش می‌رود، جایگاه‌های نزدیک به این جایگاه اگر هم اثرشان خنثی باشد به‌علت پیوسته بودن با آلل مطلوب، تحت تأثیر قرار می‌گیرد که در نتیجه این پدیده، الگوی تنوع ژنتیکی و عدم تعادل پیوستگی (LD) در جایگاه‌های اطراف این جهش انتخابی تغییر خواهد کرد، به‌طوری‌که هرچه 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.

۲. پیشینه پژوهش

از روش شناسایی نشانه‌های انتخاب جهت شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات تولیدمثلی و سازگاری در نژادهای مختلف بز استفاده شده است. در یک بررسی با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات آدپتاسیون و عملکردی در بزهای نژاد Jianchang Black انجام شده بود، ژن‌های کاندیدای *MYO9A*، *STIM1*، *KIT*، *IL7*، *IL2* و *KHDRBS2* گزارش شده است (Sun et al., 2022). همچنین طی پژوهشی روی بزهای نژاد Youzhou Dark با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب مرتبط با صفت تعداد نتاج متولدشده انجام شده بود. نتایج این پژوهش ۱۰ منطقه ژنومی روی کروموزوم‌های مختلف را گزارش کردند که شامل ژن‌های کاندیدا *DACH1*، *PIBF1*، *CENPF*، *ANGPT4*، *TSHR*، *CHST1* و *DNMT3B* با عملکرد تولیدمثلی مرتبط بودند (Sun et al., 2023). مطالعه ژنومی با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات تولیدی و تولیدمثلی در نژادهای مختلف بز مصری از آماره hapFLK استفاده شده بود. نتایج آن‌ها منجر به شناسایی ژن‌های کاندیدای *KIT* و *KDR*، *MC1R*، *SOX15*، *TCF25*، *SPATA2L*، *MC1R*، *SOX15*، *TCF25*، *SPATA2L* گردید و بررسی

بیوانفورماتیکی این مناطق نشان داد که ژن‌های موجود در این مناطق با پاسخ ایمنی و تولید شیر تولیدمثل می‌باشند (Sallam *et al.*, 2023). در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب در بزهای نژاد Dazu Black انجام شده بود، ژن‌های کاندیدای *SPCS2*، *XRR1*، *CELF4*، *NTM*، *TMEM45B*، *ATE1* و *FGFR2* مرتبط با صفات ساختاری پستان گزارش شده است (Fang *et al.*, 2023).

مطالعه‌ای با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات مهم اقتصادی در بزهای نژاد بی‌گیت اتیوپی با استفاده از آماره F_{ST} انجام شده بود، ژن‌های کاندیدای *GLYCAM1* و *SRC* مرتبط با تولید شیر و ژن‌های کاندیدای *MAPK13*، *MAPK14*، *SCN7A*، *IL12A* و *EST1* و *DEFB119* مرتبط با سیستم ایمنی گزارش شد (Gebreselase *et al.*, 2024). همچنین در مطالعه پویش ژنومی در بزهای نژاد بومی چینی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب مثبت، ژن کاندیدای *EPHA6* مرتبط با صفت تعداد نتاج متولدشده و ژن‌های کاندیدای *CDKAL1* و *POMC* مرتبط با سازگاری گزارش شد (Huang *et al.*, 2024).

مطالعات مختلفی در مورد شناسایی نشانه‌های انتخاب در گونه بز (Chen *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2020) انجام شده بود که براساس آماره F_{ST} بود. اگر جمعیت‌های نمونه دارای اندازه مؤثر نابرابر یا دارای ساختار سلسله مراتبی باشند، کاوش ژنومی براساس مقادیر F_{ST} معمول می‌تواند نتیجه‌گیری اریب به‌همراه داشته باشد. برای تصحیح اثر رانش و کوواریانس هنگام تشخیص مکان‌های تحت انتخاب، آماره FLK ارائه شد و چند سال بعد روش hapFLK معرفی گردید (Fariello *et al.*, 2013) که هاپلوتیپ‌های تخت انتخاب را براساس آزمون FLK شناسایی کرده و اریب ناشی از ساختار سلسله مراتبی جمعیت‌ها را برطرف می‌کند.

به‌طور کلی مناطقی از ژنوم که تحت انتخاب هستند باید اهمیت شایستگی و عملکردی داشته باشند، در غیر این صورت انتخاب آن‌ها را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد. با توجه به مطالب بیان‌شده، این مناطق ژنومی به‌طور عمده با ژن‌های عمده اثر و صفات مهم اقتصادی همراه هستند و دارای اهمیت زیادی می‌باشند. بنابراین هدف از پژوهش حاضر، شناسایی نشانه‌های انتخاب مرتبط با تعداد نتاج متولدشده در هر زایش بزهای نژاد مورسیانو-گرانادینا یا استفاده از روش‌های ناریب F_{ST} و hapFLK بود.

۳. روش‌شناسی پژوهش

در پژوهش حاضر از اطلاعات ژنوتیپی مجموع ۶۴۳ رأس بزهای با حداقل رابطه خویشاوندی مربوط به نژاد مورسیانو-گرانادینا در ۱۵ گله مختلف تحت رکوردبرداری استفاده شد. لازم به ذکر است تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها در دانشگاه بارسلونای کشور اسپانیا انجام شده بود. ژنوتیپ نمونه‌ها در کمپانی Neogen GeneSeek در کشور آمریکا با استفاده از آرایه‌های Illumina OvineSNP50K BeadChip با به‌کارگیری پروتکل استاندارد شرکت ایلومینا انجام شده بودند. داده‌های مورداستفاده در این پژوهش در پایگاه برخط figshare (<https://doi.org/10.6084/m9.figshare.21389>) (v1.۲۱۳۸۹۰۱۳) در دسترس می‌باشد.

جهت اطمینان از کیفیت داده‌های تعیین ژنوتیپ مراحل مختلف کنترل کیفیت روی داده‌های اولیه تعیین ژنوتیپ‌شده قبل از آنالیزهای ژنومی انجام شد. برای فیلتراسیون داده‌های تعیین ژنوتیپ‌شده، ابتدا نمونه‌هایی که فراوانی نرخ تعیین ژنوتیپ آن‌ها کمتر از ۹۰ درصد بود، شناسایی و حذف شد. در مرحله بعد نشانگرهایی که حداقل فراوانی آلی در آن‌ها کمتر از ۱ درصد بود حذف شدند. سپس نشانگرهایی که نرخ تعیین ژنوتیپ آن‌ها در نمونه‌ها کمتر از ۹۰ درصد بود شناسایی و حذف شدند. در نهایت برای SNP‌های باقیمانده آن‌هایی که در تعادل هاردی-واینبرگ قرار نداشتند کنار

گذاشته شدند. بدین منظور سطح احتمال 10^{-6} در نظر گرفته شد. مراحل مختلف فیلتراسیون با استفاده از نرم‌افزار PLINK (v1.90; <http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink>) انجام شد (Purcell *et al.*, 2007). از مجموع ۵۳۳۲۵ نشانگر SNP به‌کاررفته در این پژوهش، تعداد ۱۴۴۶ و ۱۰۷۰ نشانگر به‌ترتیب به‌علت نرخ تعیین ژنوتیپ کمتر از ۹۰ درصد و حداقل فراوانی آلی کم‌تر ۱ درصد حذف شدند، همچنین تعداد ۴۶۹ و ۲۶۴۱ نشانگر به‌ترتیب به‌علت عدم تعادل هاردی-واینبرگ با سطح معنی‌داری تعیین شده و قرارگرفتن روی کروموزوم جنسی حذف شدند و در نهایت تعداد ۴۷۶۹۹ نشانگر توانستند مراحل مختلف کنترل کیفیت را بگذرانند.

۳.۱. روش‌های آماری شناسایی نشانه‌های انتخاب

برای شناسایی نواحی موردانتخاب، ابتدا پس از بررسی صفت تعداد بزغاله متولدشده به‌ازای هر زایش، بزهایی که دو قلوزا یا چندقلوزا بودند در گروه موردی و بزهایی که تک قلوزا بودند در گروه شاهد قرار گرفتند. ۴۳۱ نمونه تک قلوزا بودند که در گروه شاهد قرار گرفتند و ۲۱۲ نمونه چندقلوزا بودند در گروه موردی قرار گرفتند.

برای شناسایی نواحی ژنومی تحت انتخاب از دو آزمون تمایز جمعیتی F_{ST} و hapFLK استفاده شد. آزمون تمایز جمعیتی F_{ST} به دو روش رایب و روش برآوردگر ناریب تتا (θ) محاسبه می‌شود. یکی از مشکلات اصلی روش محاسبه همخوانی رایب، عدم در نظر گرفتن خطای نمونه‌گیری بود که این مشکل توسط ویر و کوکرهام با ارائه روش تتا تصحیح شد که مستقل از شمار گروه‌های نمونه‌گیری شده و تعداد افراد داخل هر گروه است. ارزش‌های عددی به‌دست‌آمده از این روش‌ها بین صفر تا یک متغیر است. محاسبه‌های مربوط به دو روش رایب و تتا در محیط R برنامه‌نویسی شد. F_{ST} استفاده از رابطه (۱) برآورد شد (MacEachern *et al.*, 2009).

$$F_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_S} \quad \text{رابطه (۱)}$$

که در این رابطه، H_S و H_T به‌ترتیب هتروزیگوسیتی موردانتظار در کل جمعیت و هتروزیگوسیتی داخل زیر جمعیت‌ها است. F_{ST} یک روش ارزیابی تفرق جمعیتی بر پایه داده‌های چند شکلی ژنتیکی است، که ارزش‌های به‌دست‌آمده از تجزیه و تحلیل این آماره می‌توانند بین صفر (بدون تفاوت) تا یک (تفاوت کامل) متغیر باشند. تنها ۰/۱ درصد مناطقی از ژنوم که در آن تمام نشانگرهای مجاور ارزش F_{ST} بالایی داشتند، به‌عنوان نشانه‌های انتخاب شناسایی و تعیین شدند. در این پژوهش، برای ترسیم گراف ارزش‌های به‌دست‌آمده در مقابل موقعیت ژنومی از بسته نرم‌افزاری ggplot2 در برنامه R (نسخه ۴/۲/۰) استفاده شد.

برای شناسایی نشانه‌های انتخاب از آماره‌های تفرق جمعیتی F_{ST} رایب و برآوردگر ناریب تتا استفاده شد که نتایج حاصل نشان داد که همبستگی بالایی ($r^2=0/99$) بین نتایج دو آماره وجود دارد. همبستگی بالای این دو آماره نشان می‌دهد که تفاوت در تعداد نمونه مورداستفاده در دو گروه تأثیری روی نتایج حاصل ایجاد نمی‌کند، به همین خاطر در ادامه این مطالعه تنها نتایج حاصل از روش ناریب تتا گزارش شده است.

جهت بررسی الگوی انتخاب مثبت در سطح ژنوم از روش hapFLK نرم‌افزار hapFLK (Fariello *et al.*, 2013) (نسخه ۱/۲/۱) استفاده شد. جهت تعیین فازهای هاپلوپتیپی برای کل ژنوم هر یک از جمعیت‌های مورد مطالعه، از نرم‌افزار fastPHASE (نسخه ۱/۴) استفاده شد. در این برنامه از روش حداکثر درست‌نمایی برای تخمین ژنوتیپ‌های گمشده (امپیوت) و بازسازی هاپلوپتیپ‌ها استفاده می‌شود. فایل‌های ورودی برای نرم‌افزار hapFLK شامل دو فایل داده برای فازهای هاپلوپتیپی که برای هر رأس دام تعیین شده و فایل نقشه‌های SNP‌های مورد استفاده است. برای محاسبه اثرات رانش ژنتیکی و کوواریانس در جمعیت‌ها توسعه‌ای، از آزمون کلاسیکی به‌نام FLK استفاده

می‌گردد (Bonhomme *et al.*, 2010). در این آماره ساختار سلسله مراتبی جمعیت از طریق یک ماتریس خویشاوندی لحاظ می‌شود که برای مدل‌سازی ماتریس کوواریانس فراوانی‌های آللی جمعیت استفاده می‌شود. آماره hapFLK براساس آماره اصلی FLK است که فقط به‌جای محاسبه برای SNP منفرد برای خوشه‌های هاپلوتیپی یک فرد ارزش hapFLK محاسبه می‌شود. در آنالیز hapFLK مقادیر ارزش P- باید محاسبه شود. در مطالعه حاضر مقادیر اولیه hapFLK در کل ژنوم از توزیع نرمال پیروی کردند، بنابراین جهت محاسبه ارزش‌های P مقادیر hapFLK با استفاده از رابطه (۲) نرمال شدند:

$$hapFLK_{adj} = \frac{raw\ hapFLK - mean\ (raw\ hapFLK)}{SD\ (raw\ hapFLK)} \quad \text{رابطه (۲)}$$

که در این رابطه، $raw\ hapFLK$ ، $mean\ (raw\ hapFLK)$ و $SD\ (raw\ hapFLK)$ به‌ترتیب ارزش اولیه، میانگین و خطای استاندارد همه مقادیر hapFLK در کل ژنوم است. تنها ۰/۱ درصد حد بالای ارزش hapFLK به‌عنوان نشانه انتخاب در نظر گرفته شد (Waaineina *et al.*, 2022). سپس توسط بسته نرم‌افزاری ggplot2 در برنامه R (نسخه ۴/۲/۰) گراف منهتن پلات ارزش‌های hapFLK به‌دست آمد.

برای بررسی ژن‌های گزارش‌شده در این مناطق و ۵۰۰ کیلو جفت‌باز اطراف آن‌ها از پایگاه اطلاعاتی برخط Genes Database Ensemble 111 به‌وسیله BioMart (www.ensembl.org/biomart) موردبررسی قرار گرفت. برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های به‌دست‌آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی آنالاین GeneCards (<http://www.genecards.org>) و UniProtKB (<http://www.uniprot.org>) استفاده شد.

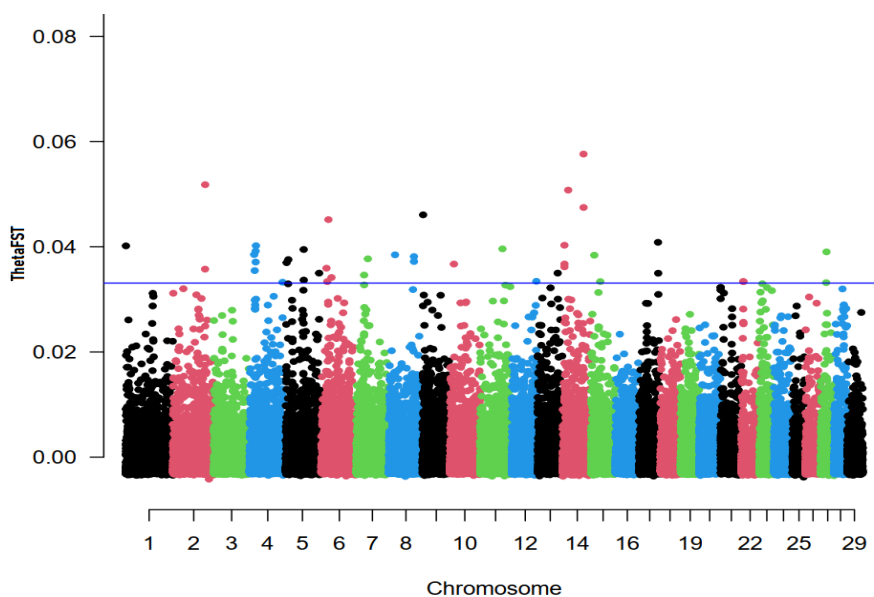
با توجه به این‌که تفسیر عملکردی (Annotation) ژنوم بز هنوز تکمیل نشده است، پایگاه‌هایی که برای توصیف مکانیسم‌های بیوشیمیایی و شبکه ژنی و شناسایی QTL موجود هستند، گونه بز را قبول نمی‌کنند. لذا از ژنوم گاو جهت بررسی این‌که مناطق ژنومی شناسایی‌شده حاوی ژن خاصی هستند، در مناطق ارتولوگوس ژنوم گاو با استفاده از جستجو در پایگاه اطلاعاتی آنالاین Genes Database Ensemble 111 BioMart (www.ensembl.org/biomart) موردبررسی قرار گرفت. در نهایت برای بررسی این‌که آیا مناطق موردنظر با QTL‌های شناسایی‌شده همپوشانی دارد یا خیر، مرکز اطلاعاتی آنالاین QTL (<http://i.animalgenome.org/jbrowse/>) موردبررسی قرار گرفت.

۴. یافته‌های پژوهش

۴.۱. نشانه‌های انتخاب شناسایی شده با استفاده از روش ناریب FST (تنا)

تنها ۰/۱ درصد مناطقی از ژنوم که در آن تمام نشانگرهای مجاور دارای ارزش بالایی باشند، به‌عنوان نشانه‌های انتخاب شناسایی و تعیین شدند (شکل ۱). آستانه تعیین‌شده سخت‌گیرانه بوده و فقط مناطقی از ژنوم که بیش‌ترین تمایز جمعیتی را در بین دو گروه موردی-شاهد را نشان می‌دهند، انتخاب شدند این حد آستانه در مطالعات مختلف از ۰/۱ درصد (Zhao *et al.*, 2020) تا ۵ درصد (Hu *et al.*, 2023) متغیر بوده است.

بخش‌هایی از ژنوم که ارزش F_{ST} بالایی دارند، نشان‌دهنده تمایز بین دو گروه موردبررسی در آن مناطق ژنومی در اثر انتخاب مثبت هستند که به‌دنبال انتخاب‌های طبیعی و مصنوعی در طی نسل‌های مختلف برای جایگاه‌های موردنظر به‌وجود آمده است. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که در چندین منطقه ژنومی SNP‌های مجاور تفرق جمعیتی بالایی داشتند که شامل نه ناحیه ژنومی که به‌طور اختصاصی با صفت تولیدمثلی مرتبط بودند بر روی کروموزوم‌های چهارم، پنجم، ششم، هفتم، هشتم، نهم، دهم، یازدهم، شانزدهم، و در صدک ۹۹/۹ کل ارزش‌های تنا قرار داشتند و معنی‌دار بودند (شکل ۱).



شکل ۱. توزیع ارزش‌های آماره F_{ST} (تتا) در سطح ژنومی جمعیت بزهای نژاد مورسیانو-گرانادینا: با موقعیت کروموزومی SNPها بر روی محور X و ارزش‌های F_{ST} (تتا) آن‌ها بر روی محور Y نمایش داده شده است. خط ترسیم شده نشان‌دهنده صدک ۹۹/۹۹ کل ارزش‌های تتا می‌باشد.

پس از شناسایی نواحی ژنومی تحت انتخاب، ژن‌های موجود در این مناطق شناسایی و عملکرد بیوشیمیایی آن‌ها بررسی شدند، در مجموع ۷۷ ژن که در ارتباط با منطقه انتخابی بودند از این طریق تعیین شدند (جدول ۱). این ژن‌ها عملکردهای متفاوتی در رشد اووسیت، توسعه و تفرق فولیکول‌های تخمدانی، اسپرماتوژنیزس، باروری و رشد و توسعه سلول‌های گرانولوزا داشتند که می‌توانند به‌طور مستقیم و غیرمستقیم با صفت تعداد نتاج متولدشده در هر زایش مرتبط باشند.

اولین منطقه ژنومی شناسایی شده مرتبط با تعداد نتاج متولدشده در هر زایش روی کروموزوم شماره چهار در ناحیه ۷۴/۷۰-۷۳/۶۹ مگابازی قرار داشت. از بین ژن‌های موجود در این ناحیه، ژن کاندیدای *KMT2E* بیش‌ترین ارتباط با صفت مورد مطالعه داشت. ژن *KMT2E* نقش مهمی در رشد اووسیت و توسعه فولیکول‌های تخمدانی در پستانداران دارد (Heuser et al., 2009). ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی در ژن کاندیدای *KMT2E* با ناباروری گزارش شده است (Yap et al., 2011).

دومین منطقه ژنومی شناسایی شده در پژوهش حاضر در ناحیه ۱۲/۸۵-۱۱/۸۵ مگابازی کروموزوم شماره شش قرار داشت. از بین ژن‌های موجود در این ناحیه، ژن کاندیدای *CAMK2D* بیش‌ترین ارتباط با صفت تعداد نتاج متولدشده را داشت. این ژن در سلول‌های اسپرماتوگونی بیان بالایی داشته و در فرایندهای مرتبط با باروری و بالغ‌شدن سلول اسپرم فعال، یک عامل بسیار مهم تلقی می‌شود (<http://www.uniprot.org>). ارتباط معنی‌داری بین ژن کاندیدای *CAMK2D* با صفات مهم تولیدمثلی شامل تعداد تلقیح مصنوعی و تکنیک‌های باروری گزارش شده است (Salilew-Wondim et al., 2010).

سومین ناحیه ژنومی شناسایی شده بر روی کروموزوم شماره هشت در ناحیه ۹۹/۰۰-۹۸/۰۰ مگابازی قرار داشت. از بین ژن‌های موجود در این منطقه، ژن کاندیدای *CTNNA1* بیش‌ترین ارتباط با تعداد نتاج در هر زایش داشت. این ژن نقش کلیدی در تکامل سلول تخم و همچنین بر مقدار تولید LH دارد. همچنین در فرایندهای تولیدمثلی مهم شامل آزادسازی فولیکول، رشد فولیکول‌های تخمدان و بالغ‌شدن اووسیت‌ها نقش دارند (<http://www.uniprot.org>). ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی موجود در ژن کاندیدای *CTNNA1* با صفت تعداد توله متولدشده در نژادهای مختلف خوک گزارش شده است (Tao et al., 2013).

جدول ۱. نواحی ژنومی تحت انتخاب و ژن‌های شناسایی شده در این مناطق ژنومی مرتبط با صفت تعداد نتاج متولدشده با استفاده از

آماره ناریب F_{ST}

شماره کروموزوم	موقعیت ژنومی	ژن‌های موجود در منطقه ژنومی	گزارش شده در منطقه ژنومی	کد دسترسی به مقاله
۴	۷۳۷۰۶۸۲۵-۷۴۷۰۶۸۲۵	LHFPL3, PUS7, SRPK2, KMT2E, HIBADH	آسان‌زایی گوساله	۲۱۱۸۳۰۵۹
۵	۵۹۸۶۹۸۱۴-۶۰۸۶۹۸۱۴	CCDC59, PRAF2, CCDC120, TFE3, GRIPAP1, GPRASP2	صفت باروری ماده	۲۶۳۶۹۳۳۷
۶	۱۱۸۵۶۷۹۰-۱۲۸۵۶۷۹۰	CAMK2D, ANK2, C1QTNF2, PWWP2A, FABP6, SLU7, CCNJL, EDIL3, ATP10B	-	-
۸	۹۸۰۰۸۶۷۶-۹۹۰۰۸۶۷۶	ABITRAM, ACTL7A, EPB41L4B, ACTL7B, CTNNA1, FRRS1L, PTPN3, ELPI1, TMEM245	تعداد اسپرم	۲۶۰۵۱۳۱۷
۱۲	۳۹۵۶۹۵۲-۴۰۵۶۹۵۲	DACHI, SUSDS, ATP10C, PTTG1, bta-mir-32	اندازه گوساله	۲۲۸۸۸۹۱۴
۱۳	۶۱۱۶۷۵۰۲-۶۲۱۶۷۵۰۲	DNMT3B, BPIFA2B, BPIFA2A, SUN5, BPIFB4, COMMD7, BPIFB6, MAPRE1, BPIFB3, ASXL1, NOL4L, BPIFB2	-	-
۱۴	۱۶۱۳۱۳۳۸-۱۷۱۳۱۳۳۸	KCNS2, STK3, NIPAL2, POPL1, OSR2	-	-
۱۵	۳۰۷۸۱۱۸-۳۱۷۸۱۱۸	bta-mir-139, NUMA1, ACAD8, FOLR2, THYNI, THYNI, PDE2A, TOMT, VPS26B, PHOX2A, LRRCS1, FOLR3, GLB1L3, ANAPC15, CLPB	-	-
۲۲	۶۷۴۵۴۵۱-۷۷۴۵۴۵۱	CNOT10, CMTM6, FBXL2, GLB1, CLASP2, TRIM71, CCR4, CRTAP, UBPI1, CMTM7, DYNCL1L1	-	-

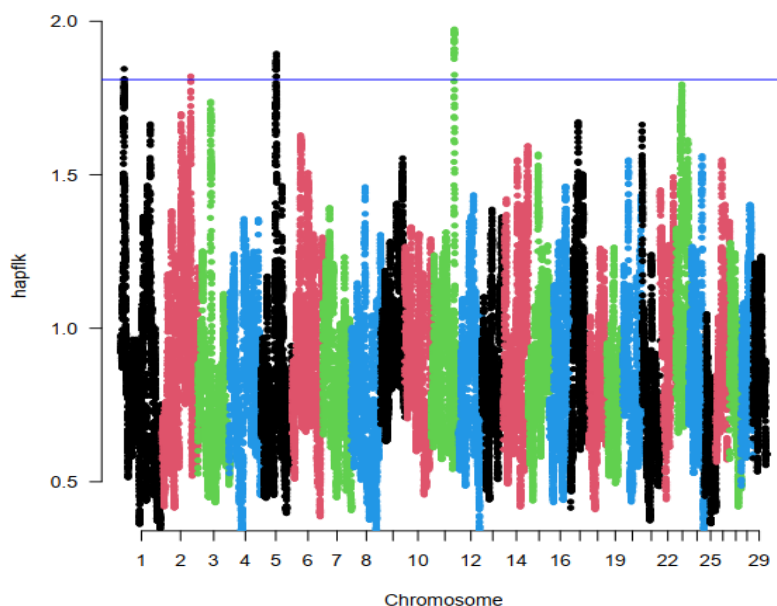
مناطق ژنومی بعدی روی کروموزوم شماره ۱۲ در نواحی ۳۹/۵۶-۴۰/۵۶ مگابازی شناسایی شد. از بین ژن‌های موجود در این ناحیه، ژن کاندیدای *DACHI* بیش‌ترین ارتباط را با صفت مورد مطالعه داشت. این ژن به‌عنوان تنظیم‌کننده مهم توسعه سیستم تولیدمثلی و هموستازی گلوکز نقش دارد. سطح بیان این ژن در سلول‌های گرانولوزا با اندازه فولیکول افزایش می‌یابد (<http://www.uniprot.org>). در مطالعه پویش کل ژنومی با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفات تولیدمثل در گوسفندان گوشتی Luzhong ژن کاندیدای *DACHI* گزارش شده است (Tao et al., 2021).

منطقه ژنومی دیگر مرتبط با تعداد نتاج متولدشده در ناحیه ۶۱/۱۶-۶۲/۱۶ مگابازی از کروموزوم شماره ۱۳ شناسایی شد. ژن کاندیدای *DNMT3B* در این ناحیه قرار داشت. این ژن در حفظ عملکرد میتوکندریایی نقش کلیدی دارد. این ژن باعث تغییر شکل میتوکندری شده و آن را فشرده می‌کند، که این فشرده‌سازی میتوکندری برای فرایند اسپرماتوژنز ضروری بوده و برای تأمین انرژی اسپرم در حال حرکت ضروری است (<http://www.uniprot.org>). ارتباط معنی‌داری بین ایندل موجود در ژن *DNMT3B* با تعداد بزغاله متولدشده در شکم اول زایش در بز گزارش شده است (Hui et al., 2020).

از مناطق ژنومی مهم دیگری که در پژوهش حاضر مرتبط با تعداد نتاج متولدشده شناسایی شد در ناحیه ۱۷/۱۳-۱۶/۱۳ مگابازی از کروموزوم شماره ۱۴ بود که شامل ژن کاندیدای *STK3* بود. این ژن در تخمدان، رحم و بیضه به میزان بالایی بیان شده و در برخی از اعضای این خانواده ژنی در رشد جنین، اسپرماتوژنز و تفرق سلولی نقش دارند (<http://www.uniprot.org>). هم‌چنین ژن کاندیدای *STK3* نقش کلیدی در رشد و توسعه فولیکول‌های تخمدانی در مرغ گزارش شده است (Lyu et al., 2016).

۴.۲. شناسایی نشانه‌های انتخاب با استفاده از روش hapFLK

در شکل (۲)، نمودار منهن براساس ضرایب hapFLK در هر جایگاه نشانگری ارائه شده است. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که در چندین منطقه ژنومی SNP‌های مجاور تفرق جمعیتی بالایی داشتند که شامل چهار ناحیه ژنومی بر روی کروموزوم‌های یک، دو، پنج و ۱۱ بودند و در صدک ۹۹/۹ کل ارزش‌های hapFLK قرار داشتند و معنی‌دار بودند (شکل ۲).



شکل ۲. توزیع ارزش‌های hapFLK در سطح ژنومی جمعیت بزهای نژاد مورسیانو-گرانادینا: با موقعیت کروموزومی SNPها بر روی محور X و ارزش‌های hapFLK آن‌ها بر روی محور Y نمایش داده شده است. خط ترسیم‌شده نشان‌دهنده صدک ۹۹/۹۹ کل ارزش‌های تنا می‌باشد.

پس از شناسایی نواحی ژنومی تحت انتخاب، ژن‌های موجود در این مناطق شناسایی و عملکرد بیوشیمیایی آن‌ها بررسی شدند، در مجموع ۳۲ ژن که در ارتباط با منطقه انتخابی بودند از این طریق تعیین شدند (جدول ۲). اولین منطقه ژنومی شناسایی‌شده مرتبط با تعداد نتاج متولدشده در هر زایش روی کروموزوم شماره یک در ناحیه ۱۸/۱۱-۱۹/۱۱ مگابازی قرار داشت. از بین ژن‌های موجود در این ناحیه، ژن کاندیدای *EDA2R* بیش‌ترین ارتباط با صفت مورد مطالعه داشت. این ژن عضو یکی از خانواده اسیدهای آمینه حلقوی است که به میزان بالا در تخمدان بیان می‌شود. به طوری که فعالیت بالای این ژن در سلول‌های گرانولوزا و تیکا شناسایی شده و نقش مهمی در فولیکول‌ژنز دارد (<http://www.uniprot.org>). ارتباط معنی‌داری بین ژن کاندیدای *EDA2R* با باروری و رشد جنین گزارش شده است (Podzus et al., 2017).

دومین منطقه ژنومی شناسایی‌شده در پژوهش حاضر در ناحیه ۱۰۲/۸۲-۱۲/۸۲ مگابازی کروموزوم شماره دو قرار داشت. از بین ژن‌های موجود در این ناحیه، ژن کاندیدای *KCNH7* بیش‌ترین ارتباط با صفت تعداد نتاج متولدشده را داشت. ارتباط معنی‌داری بین ژن کاندیدای *KCNH7* با صفات تولیدمثلی گزارش شده است، به طوری که در فرایند نرمال اسپرما توژنیزس ضروری است. در مطالعه پویش کل ژنومی مرتبط با تعداد نتاج متولدشده در بزهای نژاد جینینگ خاکستری به‌عنوان ژن کاندیدا گزارش شد (Wang et al., 2020).

سومین ناحیه ژنومی شناسایی‌شده بر روی کروموزوم شماره ۱۱ در ناحیه ۵/۷۸-۶/۷۸ مگابازی قرار داشت. از بین ژن‌های موجود در این منطقه، ژن کاندیدای *CNOT11* بیش‌ترین ارتباط با تعداد نتاج در هر زایش داشت. این ژن جزوی از خانواده ژنی CNOT بوده و در جابه‌جایی وزیکولی بین غشای پلازما و بسیاری از اندام‌های بدن به‌ویژه سیستم تولیدمثلی ضروری می‌باشد (Sozoniuk et al., 2022). در مطالعه پویش کل ژنومی گوسفندان نژاد کاتاهدین با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با درصد باروری، ژن کاندیدای *CNOT11* گزارش شد. سطح بیان ژن *CNOT11* در دوران بارداری در رحم و لایه‌های جفت به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (Sánchez-Ramos et al., 2023).

جدول ۲. نواحی ژنومی تحت انتخاب و ژن‌های شناسایی شده در این مناطق ژنومی مرتبط با صف تعداد نتاج متولدشده با استفاده از آماره hapFLK

شماره کروموزوم	موقعیت ژنومی	ژن‌های موجود در منطقه ژنومی	QTL‌های گزارش شده در منطقه ژنومی	کد دسترسی به مقاله
۱	۱۸۱۱۲۵۰۳-۱۹۱۱۲۵۰۳	<i>CXADR, MIRLET7C, bta-mir-125b-2, bta-mir-125b-2, EDA2R, RPL31</i>	فاصله گوساله‌زایی	۲۶۱۹۳۸۸۸
۲	۱۰۱۸۲۶۵۹۴-۱۰۲۸۲۶۵۹۴	<i>FAP, IFIH1, GCA, U6, KCNH7</i>	-	-
۵	۵۷۱۳۹۷۲۰-۵۸۱۳۹۷۲۰	<i>OR6C2F, OR6C278, OR6C268, OR6C76, OR6C75, OR6C1Q, OR6C1, OR6C5H, OR6C5, OR6C1S, OR6C1N, OR6C74</i>	-	-
۱۱	۵۷۸۷۴۴۶-۶۷۸۷۴۴۶	<i>NPAS2, TBC1D8, CNOT11, SNORD89, CREG2, RFX8, MAP4K4, IL1R2, GCG</i>	-	-

از روش نشانه‌های انتخاب و آماره ناریب تتا تاکنون جهت شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات مهم اقتصادی مختلف در دام‌های اهلی استفاده شده است. پژوهشی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب با ذخیره چربی بدن در گوسفندان بومی چینی انجام شده است. نتایج این پژوهش نشان داد که ۲۵ ناحیه ژنومی حاوی نشانه‌های انتخاب هستند و ژن‌های کاندیدای *ETAA1* و *ALX4*، *HOXA10*، *PDGFD*، *VEGFA*، *BMP2*، *WARS2*، *TBX12*، *WDR92* شدند (Zhao et al., 2020). هم‌چنین از روش نشانه‌های انتخاب و روش hapFLK تاکنون جهت شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات مهم اقتصادی مختلف در دام‌های اهلی استفاده شده است. در پژوهشی با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب مرتبط با آدپتاسیون 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 سه، چهار، ده، ۱۵، ۲۲ و ۲۶ دارای نشانه‌های انتخاب هستند. این مناطق ژنومی شامل ژن‌های کاندیدای *PCK* و *MST1*، *PDE4B*، *HYALI* و *PCK* بودند که نقش کلیدی در آدپتاسیون، سیستم ایمنی و تولید شیر داشتند (Waiveina et al., 2022).

با بررسی منابع انجام‌شده، پژوهش حاضر اولین مطالعه شناسایی نشانه‌های انتخاب برپایه دو رویکرد متفاوت مرتبط با صفت تعداد نتاج متولدشده در بزهای نژاد مورسیانو-گرانادینا بوده است. یکی از آزمون‌های پر کاربرد آماری شناسایی نشانه‌های انتخاب، آماره تمایز جمعیتی یا شاخص تثبیت (F_{ST}) می‌باشد. از مشکلات اصلی این روش لحاظ‌نکردن خطای نمونه‌گیری است که این مورد با استفاده از روش ناریب تتا (θ) تصحیح شده است. هم‌چنین آماره hapFLK که مبتنی بر عدم تعادل پیوستگی و طول هاپلوتیپی است، در این روش مناطق ژنومی تحت انتخاب به‌وسیله فازهای هاپلوتیپی تشخیص داده می‌شوند. یکی از مشکلات اصلی در آماره hapFLK که منجر به شناسایی مناطق ژنومی کم‌تر از آماره‌های دیگر می‌گردد به به‌علت ماهیت این آماره در شناسایی مناطق ژنومی حاصل از مهاجرت و گلوگاه جمعیتی (Fariello et al., 2013) بوده و نتایج آن تحت تأثیر اندازه نمونه می‌باشد (Bertolini et al., 2018). از طرف دیگر، در مطالعات ژنومی که با هدف شناسایی نشانه‌های انتخاب مثبت از آرایه‌های ژنومی عمومی توسط شرکت ایلومینا استفاده می‌شوند، در معرض آریبی‌هایی مانند خطاهای تعیین ژنوتیپ و نمونه‌گیری هستند که می‌تواند منجر به نتایج مثبت کاذب شود. یکی از راه‌حل‌های توصیه شده برای جلوگیری از خطاهای ذکرشده جهت شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب استفاده از آستانه‌های سخت‌گیرانه برای مناطق ژنومی کاندیدا می‌باشد. در پژوهش حاضر برای شناسایی دقیق‌تر مناطق تحت انتخاب مثبت از آستانه ۰/۱ درصد ارزش‌های هر دو آماره F_{ST} و hapFLK بالای جمعیت استفاده گردید که دامنه سخت‌گیرانه‌ای بود و دامنه آن از ۰/۱ درصد (Waiveina et al., 2022) تا پنج درصد (Hu et al., 2023) در مطالعات مختلف گزارش شده است. هم‌چنین از دلایل دیگر متفاوت‌بودن مناطق ژنومی شناسایی شده در پژوهش حاضر با سایر

پژوهش‌ها می‌توان به اندازه مختلف نمونه، تعداد و نوع نژادهای موردبررسی و روش‌های آماری متفاوت برای شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب مثبت اشاره کرد.

در پژوهش حاضر تعدادی از ژن‌های مرتبط با صفات تولیدمثلی که در مطالعات قبلی ارتباط آن‌ها با صفات تولیدمثلی از جمله صفت تعداد نتاج متولدشده معنی‌دار گزارش شده بود، شناسایی شد. ژن کاندیدای *KMT2E* که در مسیر زیستی پاسخ دفاعی هم می‌باشد، دارای نقش مهم و ثابت‌شده‌ای در فرایند تخمک‌اندازی دارد. پروتئین‌های این مسیر با ایجاد فرایند مشابه به التهاب، سبب جداشدن تخمک و برخی از سلول‌های اطراف آن از فولیکول بالغ می‌شوند. همچنین ژن‌های دیگری که در این پژوهش شناسایی شدند به‌طورعمده در ارتباط با چسبندگی سلولی و ارتباط بین سلول‌های فولیکول و تخمک بودند و با توجه به وجود لایه‌های مختلف سلولی اطراف تخمک و لزوم انتقال مواد از این سلول‌ها به تخمک، معنی‌داری این مسیر منطقی به نظر می‌رسد. مسیر اتصال سلولی به‌واسطه پروتئین‌های کانکسین دارای عملکرد گسترده در انتقال متابولیت‌ها و سیگنال‌ها از اطراف سلول‌های گرانولوزا به تخمک است که ژن کاندیدای *CNOT11* در این مسیر قرار داشت. همچنین ژن کاندیدای *CAMK2D* بیش‌ترین ارتباط با مسیرهای زیستی اسپرماتوژنز در بدن داشته و در فرایندهای مرتبط با باروری و بالغ‌شدن سلول اسپرم فعال، یک عامل بسیار مهم تلقی می‌شود. با توجه به این که در طی سال‌های گذشته افزایش تعداد نتاج متولدشده در هر زایش جزو برنامه‌های اصلاح نژادی در برخی از کشورها از جمله کشور ایران است، این افزایش تعداد نتاج تأثیر مناسبی بر افزایش بهره‌وری و سودآوری در طول عمر اقتصادی دام خواهد داشت، در نتیجه باعث ترغیب‌شدن بیش‌تر پرورش‌دهندگان دام سبک در کشور خواهد شد.

در این پژوهش برخی از ژن‌ها و جایگاه‌های ژنومی یافت‌شده در بز جدید می‌باشند. با توجه به عملکرد بیولوژیکی ژن‌های کاندیدای شناسایی‌شده در این پژوهش که منطبق با گزارش‌های پویس ژنومی پیشین در گونه‌های دیگر می‌باشد، می‌توان بروز فنوتیپی صفت مورد مطالعه را توجیه کرد. می‌توان با ادغام داده‌های پژوهش‌های مشابه جدید و استفاده از آنالیزهای آماری جامع‌تر برای تأیید نتایج پژوهش حاضر استفاده کرد. از طرفی در این پژوهش به دلیل عدم دسترسی به رکوردهای فنوتیپی و اطلاعات ژنوتیپی مرتبط با صفات مورد مطالعه پژوهش حاضر در بزهای بومی کشور، از اطلاعات فنوتیپی و ژنوتیپی بزهای مورسیانو-گرانادینا استفاده شد. لذا استفاده از نتایج این تحقیق در جمعیت‌های بزهای بومی کشور نیاز به مطالعات بیش‌تر دارد تا در این جمعیت‌ها نیز تأیید شوند. بررسی بیش‌تر نواحی مهم ژنومی شناسایی‌شده، به‌ویژه مناطقی که شامل ژن‌های کاندیدا با اثر مستقیم بر تعداد نتاج متولدشده هستند، با استفاده از آزمون‌های آزمایشگاهی مختلف (بررسی چندشکلی در ژن‌های کاندیدا و یا بیان ژن) می‌تواند در تأیید نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش مؤثر باشند.

۵. نتیجه‌گیری و پیشنهادها

در مجموع، نتایج پژوهش حاضر با استفاده از اطلاعات ژنومی بزهای نژاد مورسیانو-گرانادینا، ضمن پوشش‌دادن محدودیت پژوهش‌های قبلی مانند تعداد کم نمونه رویکرد جدیدی را برای استنتاج نشانه‌های انتخاب مرتبط با صفت تعداد نتاج متولدشده در ژنوم بز ارائه می‌دهد. نتایج این پژوهش می‌تواند منبع اطلاعاتی باارزشی در جهت شناسایی مناطق ژنومی، مسیرهای بیولوژیکی و درک سازوکارهای مولکولی دخیل در صفت تعداد نتاج متولدشده در هر زایش را فراهم آورد. بررسی هر یک از این جایگاه‌های ژنومی شناسایی‌شده در نژادهای مستقل بومی دارای رکوردهای فنوتیپی دقیق در پژوهش‌های بعدی، می‌تواند در تأیید ارتباط این مناطق کاندیدا با صفت تعداد نتاج متولدشده در هر زایش و یا روشن‌شدن ماهیت فنوتیپی هر یک از جایگاه‌های ژنومی دیگر نقش مهمی داشته باشد. با توجه به اهمیت پرورش بز در

ایران و جهان افزایش اطلاعات در این زمینه تأثیر مناسبی بر طراحی برنامه‌های اصلاح نژادی و افزایش بهره‌وری جمعیت بزهای کشور خواهد داشت. همچنین از اطلاعات این پژوهش می‌توان در پژوهش‌های مرتبط با طراحی سیستم‌های آمیزشی با هدف افزایش تعداد نتاج متولدشده در هر زایش استفاده نمود.

۶. ملاحظات اخلاقی

نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این پژوهش علمی رعایت نموده‌اند و این موضوع مورد تأیید همه آن‌هاست.

۷. مشارکت نویسندگان

حسین محمدی: تهیه و آماده‌سازی نمونه‌ها، تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی و تهیه پیش‌نویس مقاله؛ امیرحسین خلت‌آبادی فراهانی: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و مطالعه، بازبینی و نهایی‌سازی مقاله؛ نویسنده دوم.

۸. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۹. تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دانشگاه اراک به دلیل در اختیار گذاشتن سرورهای محاسبات سریع، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۱۰. منابع

- Bertolini, F., Servin, B., Servin, B., Talenti, A., Rochat, E., & Kim E.S. (2018). Signatures of selection and environmental adaptation across the goat genome post-domestication. *Genetic Selection Evolution*, 50, 1-24. <https://doi:10.1186/s12711-018-0421-y>.
- 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. <https://doi:10.1534/genetics.104.117275>
- 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. <https://doi:10.3390/ani10060994>
- Fang, X., Gu, B., Chen, M., Sun, R., Zhang, J., Zhao, L., & Zhao, Y. (2023). Genome-wide association study of the reproductive traits of the Dazu black goat (*Capra hircus*) using whole-genome resequencing. *Genes*, 14, 1960. <https://doi:10.3390/genes14101960>
- 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. <https://doi:10.1534/genetics.112.147231>
- Gebreselase, H.B., Nigussie, H., Wang, C., & Luo, C. (2024). Genetic diversity, population structure and selection signature in Begait goats revealed by whole-genome sequencing. *Animals*, 14, 307. <https://doi:10.3390/ani14020307>
- Heuser, M., Yap, D.B., Leung, M., De Algora, T.R., Tafach, A., & Mckinney, S. (2009). Loss of MLL5 results in pleiotropic hematopoietic defects, reduced neutrophil immune function, and extreme sensitivity to DNA demethylation. *Blood*, 113, 1432-1443. <https://doi:10.1182/blood-2008-06-162263>
- Huang, C., Zhao, Q., Chen, Q., Su, Y., Ma, Y., Ye, S., & Zhao, Q. (2024). Runs of homozygosity detection and selection signature analysis for local goat breeds in Yunnan, China. *Genes*, 15, 313. <https://doi:10.3390/genes15030313>

- Hu, M., Jiang, H., Lai, W., Shi, L., Yi, W., Sun, H., Chen, C., Yuan, B., Yan, S., & Zhang, J. (2023). Assessing genomic diversity and signatures of selection in Chinese Red Steppe Cattle using high-density SNP array. *Animals*, 13, 1717. <https://doi:10.3390/ani13101717>
- Hui, Y., Zhang, Y., Wang, K., Pan, C., Chen, H., Qu, L., Song, X., & Lan, X. (2020). Goat DNMT3B: An indel mutation detection, association analysis with litter size and mRNA expression in gonads. *Theriogenology*, 147, 108-115. <https://doi:10.1016/j.theriogenology.2020.02.025>
- Lyu, Z., Qin, N., Tyasi, T.L., Zhu, H., Liu, D., Yuan, S., & Xu, R. (2016). The Hippo/MST pathway member SAV1 plays a suppressive role in development of the prehierarchical follicles in hen ovary. *PLoS ONE*, 11(8), e0160896. <https://doi:10.1371/journal.pone.0160896>
- Podzus, J., Kowalczyk-Quintas, C., Schuepbach-Mallepell, S., Willen, L., Staehlin, G., Vigolo, M., Tardivel, A., Headon, D., Kirby, N., Mikkola, M.L., Schneider, H., & Schneider, P. (2017). Ectodysplasin A in biological fluids and diagnosis of ectodermal dysplasia. *Journal of Dental Research*, 96(2), 217-224. <https://doi:10.1177/0022034516673562>
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M.A., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P.I., Daly, M.J., & Sham, P.C. (2007). PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American Journal of Human Genetics*, 81(3), 559-575. <https://doi:10.1086/519795>
- Sallam, A.M., Reyer, H., & Wimmers, K. (2023). Genome-wide landscape of runs of homozygosity and differentiation across Egyptian goat breeds. *BMC Genomics*, 24, 573. <https://doi:10.1186/s12864-023-09679-6>
- Salilew-Wondim, D., Holker, M., Rings, F., Ulas-Cinar, M., Peippo, J., Tholen, E., Looft, C., Schellander, K., & Tesfaye, D. (2010). Bovine pretransfer endometrium and embryo transcriptome fingerprints as 2 predictors of pregnancy success after embryo transfer. *Physiol Genomics*, 11, 137-145. <https://doi:10.1152/physiolgenomics.00047.2010>
- Sánchez-Ramos, R., Trujano-Chavez, M.Z., Gallegos-Sánchez, J., Becerril-Pérez, C.M., Cadena-Villegas, S., & Cortez-Romero, C. (2023). Detection of candidate genes associated with fecundity through genome-wide selection signatures of Katahdin ewes. *Animals*, 13, 272. <https://doi:10.3390/ani13020272>
- Sun, X., Guo, J., Li, L., Zhong, T., Wang, L., Zhan, S., Lu, J., Wang, D., Dai, D., & Liu, G.E. (2022). Genetic diversity and selection signatures in Jianchang Black Goats revealed by whole-genome sequencing data. *Animals*, 12, 2365. <https://doi:10.3390/ani12182365>
- Sun, X., Niu, Q., Jiang, J., Wang, G., Zhou, P., Li, J., Chen, C., Liu, L., Xu, L., & Ren, H. (2023). Identifying candidate genes for litter size and three morphological traits in Youzhou Dark Goats based on genome-wide SNP markers. *Genes*, 14, 1183. <https://doi:10.3390/genes14061183>
- Sozoniuk, M., Jamio, M., Kankofer, M., & Kowalczyk, K. (2022). Reference gene selection in bovine caruncular epithelial cells under pregnancy-associated hormones exposure. *Research Square*, 12, 12742. <https://doi:10.1038/s41598-022-17069-3>
- Tao, L., He, X., Jiang, Y., Liu, Y., Ouyang, Y., Shen, Y., Hong, Q., & Chu, M. (2021). Genome-wide analyses reveal genetic convergence of prolificacy between Goats and Sheep. *Genes*, 12, 480. <https://doi:10.3390/genes12040480>
- Tao, H., Mei, S., Sun, X., Peng, X., Zhang, X., Ma, C., Wang, L., Hua, L., & Li, F. (2013). Associations of *TCF12*, *CTNNA1* and *WNT10B* gene polymorphisms with litter size in pigs. *Animal Reproduction Science*, 140(3-4), 189-194. <https://doi:10.1016/j.anireprosci.2013.05.013>
- Waiteina, 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. <https://doi:10.3389/fgene.2022.858923>
- Wang, J.J., Zhang, T., Chen, Q.M., Zhang, R.Q., Li, L., Cheng, S.F., Shen, W., & Lei, C.Z. (2020). Genomic signatures of selection associated with litter size trait in Jining Gray Goat. *Frontiers in Genetics*, 11, 286. <https://doi:10.3389/fgene.2020.00286>
- Yap, D.B., Walker, D.C., Prentice, L.M., McKinney, S., Turashvili, G., & MooslehnerAllen, K. (2011). Mll5 is required for normal spermatogenesis. *PLoS ONE*, 6, e27127. <https://doi:10.1371/journal.pone.0027127>
- 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. <https://doi:10.3390/ani10050773>