



شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات تولیدمثلی در گوسفند بلوچی با استفاده از نشانگرهای با تراکم بالا

مجید پسندیده^{۱*}، قدرت رحیمی میانجی^۲، محسن قلی زاده^۳، لوکا فونتانزی^۴

- ۱- دانش آموخته دکتری تخصصی ژنتیک و اصلاح نژاد دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
- ۲- استاد بخش ژنتیک و اصلاح نژاد دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
- ۳- استادیار بخش ژنتیک و اصلاح نژاد دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
- ۴- عضو هیات علمی بخش ژنتیک و اصلاح نژاد دام، دانشگاه بلونیا ایتالیا

(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۲/۱۴ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۸/۰۸)

چکیده

در این تحقیق، یک پویش ژنومی برای شناسایی جایگاه‌های مؤثر بر صفات تولیدمثلی در گوسفند بلوچی انجام شد. به این منظور، نمونه‌برداری خون از ۹۶ رأس میش همراه با داده‌های فنوتیپی مربوط به صفات تولیدمثلی شامل مجموع وزن همزادان متولد شده، میانگین وزن همزادان در تولد، مجموع وزن همزادان شیرگیری شده، میانگین وزن همزادان شیرگیری شده و تعداد بره‌های زنده در شش ماهگی در چهار نوبت زایش بدست آورده شد. پس از استخراج DNA، نمونه‌ها با استفاده از تراشه‌های SNP گوسفندی (50K) تعیین ژنوتیپ شدند. تجزیه مطالعه ارتباط ژنومی با استفاده از نرم‌افزار PLINK در مدل‌های رگرسیون خطی و لجستیک شامل اثرات SNPها و عوامل ثابت جنس و نوبت زایش انجام شد. در مجموع، هشت نشانگر معنی‌دار در سطح کروموزومی روی کروموزوم‌های ۱، ۴، ۱۰، ۱۵ و ۱۷ مرتبط با صفات تولیدمثلی مورد مطالعه شناسایی شد ($P < 0.05$). بررسی ژن‌ها و QTLها در این مناطق نیز نشان‌دهنده وجود ژن‌ها و QTLهای مؤثر بر صفات رشد و تولیدمثلی بود. از نتایج این تحقیق می‌توان برای کشف واریانت‌های مسبب صفات تولیدمثلی در برنامه‌های اصلاح نژادی گوسفند استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: جایگاه‌های صفات کمی، صفات تولیدمثلی، گوسفند بلوچی، مطالعه ارتباط ژنومی

مقدمه

هدف اصلی در اصلاح نژاد گوسفند، بهبود ژنتیکی صفات رشد و تولیدمثلی است، به طوری که بازده تولیدی گوسفند به نرخ تولیدمثلی و رشد بره‌ها وابسته است. بخشی از بهبود تولیدمثل در میش از طریق افزایش تعداد بره شیرگیری شده و یا وزن بره‌های شیرگیری شده به ازای هر میش بدست می‌آید (Duguma *et al.*, 2002). کنترل راندمان تولید بره از طریق توان تولیدمثلی، قابلیت مادری و تولید شیر میش امکان‌پذیر است (Snyman *et al.*, 1997). به منظور افزایش تولید بره علاوه بر تعداد بره، توجه به وزن شیرگیری هر کدام از بره‌ها نیز ضروری است. بهبود عملکرد تولیدمثلی بسیار بیشتر از بهبود سرعت رشد یا کاهش ذخیره چربی بدن می‌تواند باعث کاهش هزینه‌های اقتصادی در تولید گوشت باشد. افزایش تعداد و وزن بره‌های پرورش یافته به ازای میش‌های نگهداری شده از طریق افزایش میزان آبستنی، تعداد بره متولد شده در هر زایش، زنده‌مانی بره‌ها تا زمان شیرگیری و رشد بره‌ها باعث بهبود عملکرد تولیدمثلی خواهد شد (Fogarty, 1995).

صفات میانگین وزن همزادان در تولد (LMWL¹)، میانگین وزن همزادان شیرگیری شده (LMWLW²)، تعداد بره‌های زنده در شش ماهگی (NLA6m³) به عنوان صفات پایه‌ای تولیدمثلی و صفات مجموع وزن همزادان متولد شده (TLWB⁴)، مجموع وزن همزادان شیرگیری شده (TLWW⁵) جزء صفات ترکیبی تولیدمثلی تقسیم‌بندی شده‌اند (Vatankhah *et al.*, 2008). صفات ترکیبی تولیدمثلی صفاتی هستند که علاوه بر صفات رشد، صفات تولیدمثلی را نیز شامل می‌شوند. گزارش شده است که در نژادهای گوشتی و دو منظوره (گوشتی-پشمی) مجموع وزن بره‌های از شیرگرفته شده هر میش، معیار مناسبی برای اندازه‌گیری توان تولیدی گله بوده و می‌تواند به عنوان یکی از اهداف اصلاح نژادی مد نظر قرار گیرد (Snyman *et al.*, 1998). این صفت از آن جهت اهمیت دارد که نشان‌دهنده قابلیت کلی تولید میش از نظر وزن بره‌های تولید شده، باروری، چندقلوزایی، زنده‌مانی بره و قدرت مادری

بوده و می‌تواند به عنوان هدف انتخاب استفاده شود (et Rosati *et al.*, 2002).

مفهوم شناسایی ژن‌ها برای صفات پیچیده در سطح گسترده ژنومی به دهه ۱۹۹۰ بر می‌گردد (Zhang *et al.*, 2012). از دهه‌های گذشته دو رویکرد اساسی در نقش‌یابی سنتی QTL استفاده شده‌اند و از این طریق برخی از ژن‌ها (به عنوان مثال ژن مایوستاتین برای عضله مضاعف در گاو) مورد شناسایی قرار گرفته‌اند (Hirschhorn and Daly, 2005). یکی از این رویکردها، ژن کاندیدا است که در آن، ژن‌های کاندیدا بر اساس نقشی که در فیزیولوژی صفت ایفا می‌کنند انتخاب می‌شوند (Hirschhorn and Daly, 2005). اما کاربرد این روش در صفات کمی به علت محدود بودن اطلاعات در مورد زیست‌شناسی صفت مورد نظر مشکل است (Andersson and Georges, 2004). رویکرد دیگر، تجزیه نقش‌یابی پیوستگی است که معمولاً با استفاده از ریزماهوراها انجام می‌شود. محدودیت این روش در تفکیک‌پذیری پایین نقشه و عدم داشتن فاصله اطمینان مناسب برای QTL شناسایی شده است (Schreiweis *et al.*, 2005). بنابراین با استفاده از این اطلاعات نشانگری، شناسایی جهش‌های مسبب ژن‌ها برای صفات هدف دشوار می‌شود و از آنجایی که چالش اصلی در حیوانات اهلی، تشخیص جهش‌های مسبب در QTLها است، باید از روش‌های مناسب‌تری استفاده شود.

مطالعه ارتباط ژنومی از تنوع توالی در کل ژنوم⁶ (به طور عمده نشانگرهای تک‌نوکلئوتیدی یا SNPها) همراه با اطلاعات شجره و فنوتیپی به منظور انجام تجزیه‌های ارتباطی و شناسایی ژن‌ها و عناصر تنظیمی مهم برای صفت هدف استفاده می‌کند. برای یک مطالعه ارتباط ژنومی موفق باید تعداد زیادی نشانگرهای چندشکلی در سراسر ژنوم گسترده شده باشند. این شرط به کمک تراشه‌های SNP⁷ که به طور گسترده برای تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها در GWAS استفاده می‌شوند، فراهم می‌شود (Zhang *et al.*, 2012). مزیت GWAS در مقایسه با نقش‌یابی سنتی QTL، توانایی شناسایی مناطق ژنومی خیلی کوچک در برگزیده واریانت‌های مسبب است (Hirschhorn and Daly, 2005). فرض موجود در تجزیه-های GWAS این است که SNPها در حالت عدم تعادل

1. Litter mean weight per lamb born
2. Litter mean weight of lambs at weaned
3. Number of lambs alive at six months
4. Total litter weight at birth
5. Total litter weight at weaning

6. Genome Wide Association Studies (GWAS)
7. SNP Chips

از ایستگاه اصلاح نژاد عباس آباد مشهد انجام شد. این نمونه‌ها متعلق به ۴۲ خانواده نانتی بودند. در این ایستگاه، حیوانات با سیستم صنعتی مرسوم نگهداری می‌شوند و زمان جفت‌گیری از انتهای تابستان تا اواسط پاییز شامل سه دوره فحلی (۵۱ روز) است. بره‌زایی در اواخر بهمن شروع و در اواخر فروردین پایان می‌پذیرد. تا زمان شیرگیری (سه ماهگی)، بره‌ها به همراه مادر نگهداری می‌شوند. گوسفند بلوچی از نژادهای مهم در شرق و جنوب شرق کشور است. رنگ گوسفند بلوچی معمولاً سفید یک‌دست بوده و در نواحی پوزه و اطراف چشم‌ها و انتهای اندام‌های حرکتی به رنگ سیاه است. گوسفند بلوچی به دلیل کیفیت و کمیت مطلوب پشم جزء نژادهای پشمی محسوب می‌شود ولی به خاطر کوچک بودن دنبه و بالا بودن راندمان تولید گوشت نسبت به ذخیره چربی، این نژاد برای تولید گوشت نیز اهمیت دارد (ضمیری، ۱۳۸۵).

این تحقیق روی صفات تولیدمثلی گوسفند بلوچی شامل: مجموع وزن همزادان متولد شده (TLWB)، میانگین وزن همزادان در تولد (LMWLB)، مجموع وزن همزادان شیرگیری شده (TLWW)، میانگین وزن همزادان شیرگیری شده (LMWLW)، تعداد بره‌های زنده در شش ماهگی (NLA6m) انجام شد. محاسبه صفات برای هر زایش و آنالیزها برای مجموع داده‌های چهار نوبت زایش انجام شد. با در نظر گرفتن تعداد بره‌های متولد شده در هر زایش، صفات مجموع و میانگین وزن همزادان به ترتیب از حاصل جمع وزن بره‌ها و میانگین گرفتن وزن آن‌ها در زمان تولد و شیرگیری بدست آمد (Vatankhah *et al.*, 2008).

تعیین ژنوتیپ و کنترل کیفیت داده‌ها: نمونه‌گیری خون از سیاهرگ وداجی گوسفند و استخراج DNA با روش نمکی بهینه یافته انجام شد (Miller *et al.*, 1988). مراحل تعیین ژنوتیپ و نمونه‌برداری DNA در بخش مولکولی گروه علوم پزشکی دانشگاه آپسالا (سوئد) با استفاده از تراشه 50K گوسفندی محتوی ۵۵۲۴۱ SNP انجام شد. کنترل کیفیت داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار PLINK نسخه ۱/۰۷ (Purcell *et al.*, 2007) و بر اساس معیارهای نرخ خوانش حیوان^۳، فراوانی آلل کمیاب (MAF)^۴، نرخ

پیوستگی (LD)^۱ با جهش‌های مسبب برای صفات هدف هستند. تراکم بالای نشانگرهای SNP در تراشه مورد استفاده در GWAS و LD بین نشانگرهای SNP و جهش‌های مسبب، موفقیت GWAS را ممکن می‌سازد.

در یک مطالعه، ارتباط ژنوتیپ‌ها با تعداد کل بره‌های به دنیا آمده در مجموع کل شکم‌های زایش در گوسفند بلوچی بررسی شد. نتایج این تحقیق، دو نشانگر s71038 و OAR10_4976585 را به ترتیب روی کروموزوم‌های ۱۰ و ۱۵ که در سطح معنی‌داری ژنومی با صفت مورد مطالعه ارتباط دارند، شناسایی نمود (Gholizadeh *et al.*, 2014). در یک تحقیق با هدف بررسی ارتباط ژنومی برای صفات تولیدمثلی در خوک، ۱۰ جایگاه معنی‌دار روی هشت کروموزوم شناسایی شد. در این تحقیق، ژن‌های APN، TEP1، PARP2 و PARP2 به عنوان کاندیداهای اصلی برای صفات مورد مطالعه معرفی شدند (Zhao *et al.*, 2015). در یک پژوهش روی رکوردهای تعداد تولد خوک مرده متولد شده، ارتباط ژنومی ژنوتیپ‌ها با صفات تولیدمثلی بررسی شد. در این تحقیق، ۱۸ نشانگر معنی‌دار با صفت تعداد تولد خوک مرده متولد شده در میان ۱۸ ژن شناسایی شد (Verardo *et al.*, 2016). در تحقیق دیگری عدم وجود ارتباط بین ژنوتیپ‌های PrP با صفات تولیدمثلی در گوسفند مشاهده شد (Vitezica *et al.*, 2006). در مطالعه‌ای ارتباط ژنوتیپ‌های GDF9B^۲ با صفات تولیدمثلی مشخص شد، به طوری که الگوی AC از این ژن با افزایش تعداد بره در هر زایش مرتبط است (Shabir *et al.*, 2013).

مطالعه ارتباط ژنومی راهکاری مناسب برای شناسایی جهش‌های مسبب و یا کشف ژن‌های مؤثر برای صفات اقتصادی از جمله تولیدمثلی در نژادهای گوسفند بومی است. هدف این تحقیق، شناسایی مناطق ژنومی مؤثر بر صفات تولیدمثلی گوسفند بلوچی با استفاده از داده‌های ژنوتیپی تراشه‌های SNP و اطلاعات فنوتیپی تولیدمثلی بود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و صفات مورد مطالعه: این تحقیق با استفاده از نمونه‌برداری خون ۹۶ رأس میش بلوچی، جمع‌آوری شده

3. Animal call rate
4. Minor allele frequency

1. Linkage disequilibrium
2. Growth differentiation factor 9B

بررسی ژن‌ها و QTLها در مناطق کاندید: برای تعیین موقعیت ژنومی نشانگرها در سطح ژنوم گوسفندی از آخرین نسخه ژنومی در دسترس گوسفند یعنی Ovine Genome Assembly version 3.1 استفاده شد (http://www.ensembl.org/Ovis_aries/Info/Index) به دلیل کامل‌تر بودن ژنوم گاو نسبت به گوسفند، بررسی BLAST با استفاده UCSC Genome Browser گاو برای دستیابی به ژن‌های نقشه‌یابی شده در ژنوم گاو انجام شد. برای بررسی وجود QTLهای مرتبط با صفات تولیدمثلی در مناطق شناسایی شده، از داده‌های پایگاه Animal QTLdb بکار گرفته شد (<https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/index>) و برای بررسی ژن‌های موجود در این مناطق (فاصله ۵۰۰kb در اطراف هر SNP) از پایگاه اطلاعاتی UCSC (<http://genome.ucsc.edu>) استفاده شد.

محاسبه واریانس ژنتیکی توجیه شده با SNPهای معنی‌دار: واریانس ژنتیکی توجیه شده با SNPهای معنی‌دار از مجموع واریانس افزایشی (V_A) و غالبیت (V_D) با استفاده از روابط زیر بدست آورده شد (Falconer and Mackay, 1996; Lopes *et al.*, 2014; Al-Mamun *et al.*, 2015):

$$\hat{a} = (BB - AA) / 2$$

$$\hat{d} = AB - (BB + AA) / 2$$

$$\alpha = \hat{a} + (q - p)\hat{d}$$

$$\delta = 2pq\hat{d}$$

$$\sigma_{QTL-a}^2 = 2pq\alpha^2$$

$$\sigma_{QTL-d}^2 = \delta^2$$

$$\sigma_{QTL}^2 = \sigma_{QTL-a}^2 + \sigma_{QTL-d}^2$$

$$\%V_{gi} = 100 \times 2p_iq_i\alpha_i^2 / \sigma_g^2$$

در این روابط، p و q فراوانی‌های آلی، \hat{a} و \hat{d} به ترتیب اثرات افزایشی و غالبیت محاسبه شده از روی اثرات ژنوتیپ‌های (AA، AB و BB) SNP معنی‌دار، α اثر جایگزینی آلی و δ انحراف غلبه هستند. واریانس QTL به دو صورت نسبتی از واریانس ژنتیکی (V_G) و نیز نسبتی از واریانس فنوتیپی (V_P) به دست آمده از مدل بدون وجود اثر SNP، محاسبه شد. از نرم‌افزار WOMBAT برای برآورد واریانس ژنتیکی صفات در یک مدل بدون وجود اثر SNP استفاده شد (Meyer, 2006).

خوانش SNP^۱ و تعادل هاردی-واینبرگ انجام شد. حیوانات با نرخ ژنوتایپینگ کمتر از ۹۵ درصد و نشانگرها با فراوانی آلل کمیاب کمتر از ۵ درصد، نرخ ژنوتایپینگ کمتر از ۹۵ درصد و انحراف از تعادل با شدت $P < 0.001$ حذف شدند. برای بررسی وجود یا عدم وجود لایه‌بندی جمعیتی^۲ از عامل تورم کنترل ژنومی (۸) در PLINK و پلات‌های Q-Q با استفاده از بسته نرم‌افزاری ggplot در محیط R استفاده شد. در پلات‌های Q-Q، محور X و Y به ترتیب ارزش P مورد انتظار و مشاهده شده هستند.

مطالعه ارتباط ژنومی: ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ بررسی شد (SAS institute, 2003). سپس با استفاده از رویه GLM این نرم‌افزار، معنی‌داری عوامل ثابت اثر پدر، سال بره‌زایی، تعداد بره در هر زایش^۳، جنسیت بره‌ها و نوبت زایش میش مورد آزمون قرار گرفت. با استفاده از آزمون بررسی نرمال بودن داده‌های فنوتیپی، توزیع نرمال خطاهای مربوط به صفات مورد مطالعه مشخص شد. بررسی معنی‌داری اثرات ثابت نشان داد که اثرات جنس و نوبت زایش روی صفات مورد مطالعه معنی‌دار هستند ($P < 0.05$). تجزیه ارتباط ژنومی برای صفات LMWLW، TLWW، LMWLB، TLWB و LMWLW با استفاده از نرم‌افزار PLINK در یک مدل رگرسیون خطی شامل اثرات SNPها و عوامل ثابت معنی‌دار انجام شد. همچنین برای بررسی ارتباط ژنومی صفت NLA6m از یک مدل لجستیک به همراه اثرات ثابت معنی‌دار به شکل زیر استفاده شد:

$$y_{ijk} = \mu + \text{Sex}_i + \text{Parity}_j + \text{SNP}_k + e_{ijk}$$

در این مدل: y_{ijk} بردار صفات فنوتیپی، μ میانگین، Sex_i اثر جنس بره‌ها، Parity_j اثر نوبت زایش، SNP_k اثر ژنوتیپ نشانگرها و e_{ijk} اثر خطا است. در نهایت SNPها با ارزش P کمتر از $0.05/n$ (تعداد SNPهای هر کروموزوم در این مطالعه است) به عنوان معنی‌دار در سطح کروموزومی معرفی شدند. از نرم‌افزار Haploview نسخه ۴/۱ برای ترسیم پلات‌های منتهن استفاده شد (Barrett *et al.*, 2004). این پلات‌ها، موقعیت SNPها را در کروموزوم‌های مختلف در مقابل منفی لگاریتم ارزش‌های P نشان می‌دهند.

¹ SNP call rate

² Population stratification

³ Litter size

نتایج و بحث

نشانگر OAR17_74954541 (در داخل ژن HORMAD2) و AR10_70221561 (با فاصله ۱۸۵۱۷۳ جفت باز از ژن GPC6) یافت شدند که در سطح کروموزومی با صفت LMWLB ارتباط معنی‌دار داشتند. در این تحقیق، توالی DNA مناطق حاوی نشانگرهای معنی‌دار از پایگاه اطلاعاتی Sheep biomart ensemble بدست آورده شد و برای شناسایی مناطق ارتولوگوس^۱ با ژنوم گاو اسمبلی Jun. 2014 (Bos_taurus_UMD_3.1.1/bos Tau8) بررسی بلست^۲ انجام شد. جدول ۳ نتایج بلست و ژن‌های شناسایی شده در گاو را نشان می‌دهد. چهار ژن VGLL3، HORMAD2، GPC6 و MTPN به عنوان ژن‌های نزدیک به نشانگرهای معنی‌دار در هر دو گونه گوسفند و گاو شناسایی شدند.

نتایج حاصل از بررسی QTLها در مناطق حاوی نشانگرهای معنی‌دار با استفاده از ژنوم گاو در جدول ۴ ارائه شده‌اند. در مجموع پنج QTL مرتبط با صفات رشد و تولیدمثلی در مناطق نشانگرهای معنی‌دار شناسایی شد. تاکنون در منطقه دو نشانگر OAR10_70221561 و OAR4_105912271 هیچ QTL شناسایی نشده بود. تحقیقات پیشین، QTLهای مرتبط با صفات رشد و تولیدمثلی را در گاو در مناطق ارتولوگ با نواحی حاوی نشانگرهای معنی‌دار این تحقیق گزارش کرده‌اند. یک پویش ژنومی با استفاده از ۴۰۲ نشانگر، برای ۱۴ صفت تولیدی، یک QTL مرتبط با وزن بدن در هنگام بلوغ روی کروموزوم یک گاو شناسایی نمود (McClure et al., 2010). همچنین، با استفاده از ۴۱۶ نشانگر ریزماهوره، یک QTL مرتبط با درمان‌های باروری^۳ روی کروموزوم یک شناسایی شد (Höglund et al., 2009). یک مطالعه دیگر روی سه نژاد گاو شیری فرانسه، یک QTL مرتبط با صفت نرخ آبستنی روی کروموزوم یک شناسایی نمود (Boichard et al., 2003). در مطالعه حاضر، نشانگرهای OAR1_165226865 و s06751 مرتبط با صفات تولیدمثلی روی کروموزوم یک شناسایی شدند که با نتایج مطالعات فوق مشابهت دارد. در این تحقیق، s49501 و OAR17_74954541 روی کروموزوم‌های ۱۵ و ۱۷ مرتبط

اطلاعات مربوط به آماره های توصیفی جمعیت مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه شده است. پس از کنترل کیفیت داده‌های اولیه، تعداد ۴۲۲۴۳ نشانگر SNP توانستند به مرحله تجزیه پویش ژنومی راه یابند. تعداد ۲۱۳ نشانگر به دلیل نرخ خوانش کمتر از ۰/۹۵، ۶۸۶۵ نشانگر به دلیل فراوانی آلل کمیاب کمتر از ۰/۰۵ و ۲۴ نشانگر به دلیل انحراف از تعادل کمتر از ۰/۰۰۱ از ادامه تجزیه حذف شدند. آماره لامبدا و پلات‌های Q-Q نشان‌دهنده عدم وجود لایه‌بندی جمعیتی در داده‌ها بودند. آماره لامبدا، نسبت مقدار میانه مشاهده شده آزمون کای مربع به مقدار مورد انتظار نظری آن (۰/۴۵۵) است. افزایش واریانس توزیع کای مربع، مقدار میانه آن را افزایش خواهد داد و این افزایش در واریانس می‌تواند ناشی از لایه‌بندی جمعیتی باشد. بنابراین در صورت عدم وجود لایه‌بندی جمعیتی، مقدار آماره لامبدا نزدیک به عدد ۱ خواهد بود (Devlin and Roeder, 1999). مقادیر لامبدا برای صفات مورد مطالعه نزدیک به عدد یک (۱/۱) بود که با قرار دادن اثرات ثابت معنی‌دار در مدل، تصحیح شد. نتایج ترسیم پلات‌های Q-Q برای صفات مورد تحقیق نیز، عدم وجود لایه‌بندی جمعیتی را نشان داد (شکل ۱).

گراف‌های منهنن برای صفات مختلف در شکل ۲ نمایش داده شده‌اند. در این مطالعه، در مجموع هشت SNP در سطح معنی‌داری کروموزومی مرتبط با صفات TLWB، LMWLB و TLWW شناسایی شد ($P < 0/05$). هیچ نشانگر معنی‌دار مرتبط با صفات LMWLB و NLA6m شامل جزئیات نشانگرهای معنی‌دار شامل موقعیت آن‌ها در ژنوم گوسفندی، نزدیک‌ترین ژن‌های گوسفندی شناخته شده، فاصله نشانگرها از ژن‌ها و ارزش P خام در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج این تحقیق نشان داد که نشانگرهای معنی‌دار برای صفات TLWB و TLWW تقریباً همبستگی دارند. به طوری که، دو نشانگر OAR1_165226865 (با فاصله 216095 از ژن VGLL3) و s06751 (در داخل ژن CADM2) مرتبط با هر دو صفت TLWB و TLWW شناسایی شدند. دو نشانگر s49501 و OAR4_105912271 در فاصله ۴۶۱۱۶ و ۱۳۰۱ به ترتیب از ژن‌ها LRRC55 و MTPN مرتبط با صفت TLWW شناسایی شدند. همچنین در این مطالعه، دو

1. Orthologous
2. Blast
3. Fertility treatments

جدول ۱- اطلاعات پایه‌ای در مورد صفات مورد مطالعه در گوسفند بلوچی

Table 1. Basic statistical information about the examined traits in Baluchi sheep

Traits	Mean	S.D.	Minimum	Maximum	Coefficient of variation (%)
TLWB (kg)	4.56	1.60	2.00	7.50	35.08
LMWLB (kg)	3.32	0.60	2.00	5.50	18.07
TLWW (kg)	31.66	9.51	12.63	59.53	30.03
LMWLW (kg)	23.09	3.74	12.63	38.64	16.19
NLA6m	1.2	0.40	0	2	33.33

TLWB: Total litter weight at birth; TLWW: Total litter weight at birth; TLWW: Total litter weight at weaning; LMWLB: Litter mean weight per lamb born; LMWLW: Litter mean weight of lambs at weaning; NLA6m: Number of lambs alive at six months

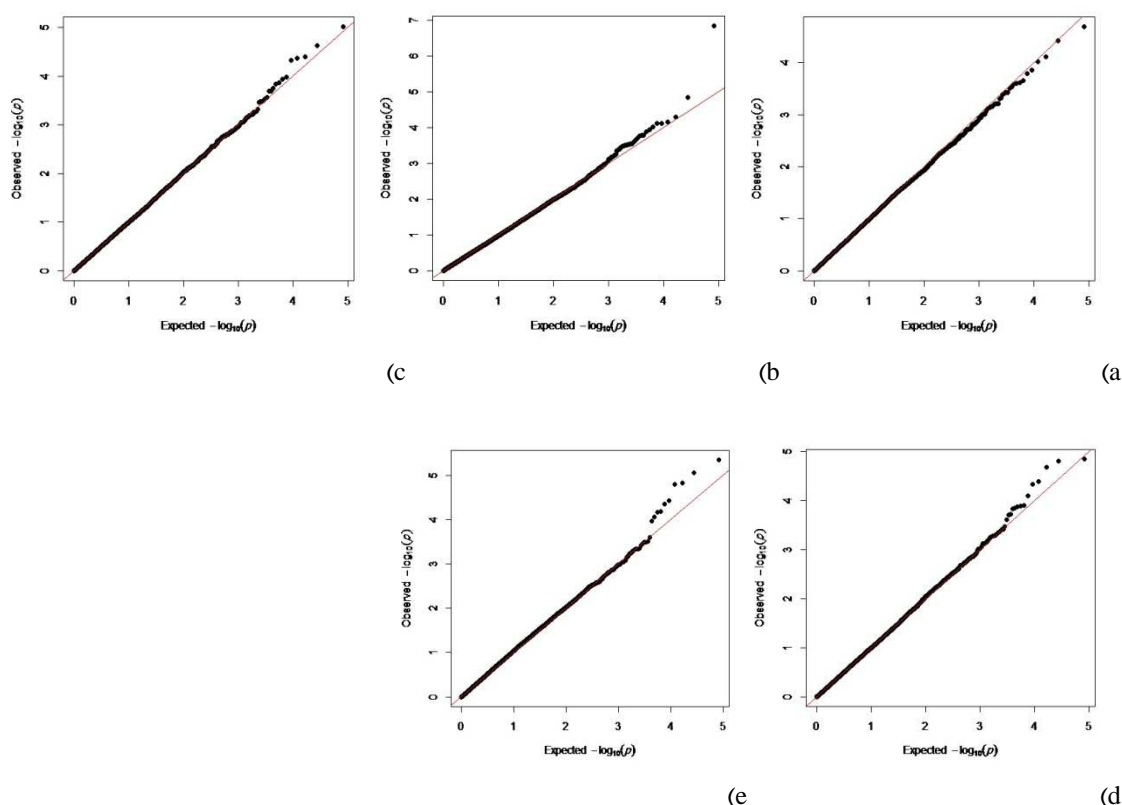


Fig. 1. There was no population stratification based on Q-Q plots for a) TLWB b) LMWLB c) TLWW d) LMWLW e) NLA6m traits ($\lambda=1.1$). In these plots, X and Y axes are the expected P values and the observed P values, respectively

شکل ۱- پلات Q-Q برای صفات (a) TLWB (b) LMWLB (c) TLWW (d) LMWLW (e) و NLA6m عدم وجود لایه‌بندی جمعیتی را نشان می‌دهد ($\lambda=1/1$). در این پلات‌ها محور X و Y به ترتیب ارزش P مورد انتظار و مشاهده شده هستند

مرتبط است (Cousminer *et al.*, 2013). همچنین این پروتئین در موش در کنترل سن بلوغ و مهار تمایز چربی نقش دارد (Halperin *et al.* 2013). تغییرات در سوخت و ساز چربی ممکن است تا حدی باعث تغییر در سن بلوغ شود. نسخه‌های رونویسی *vgl13* در جوندگان با سطوح بیانی مختلف در طول مراحل اولیه استروئیدژنز^۳ در بیضه جنین مرتبط شده است

با صفات تولیدمثلی شناسایی شدند که مطالعه قبل وجود QTL‌های مرتبط با صفات اندازه گوساله و مرده‌زایی را در این نواحی اثبات کرده است (Höglund *et al.*, 2012). نتایج یک تحقیق نشان داد که نشانگر rs7628864 روی کروموزوم شماره سه در نزدیکی ژن *VGLL3*^۱ قرار گرفته است که با سن رسیدن به بلوغ یا پیوبرتی^۲ در انسان

3. Steroidogenesis

1. Vestigial-like protein 3
2. Puberty

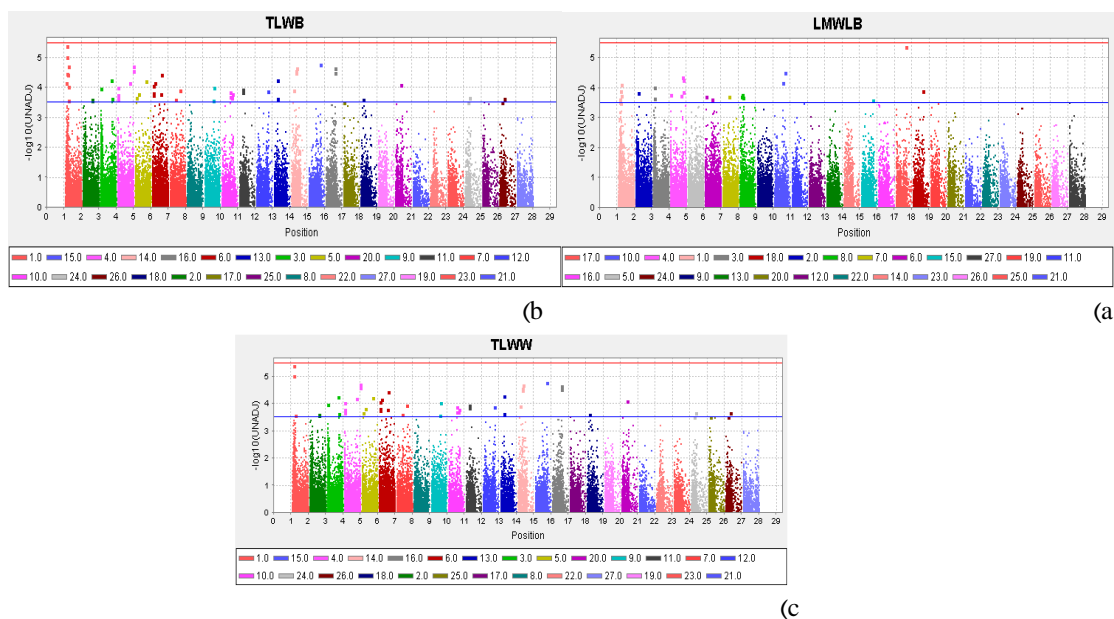


Fig. 2. The Manhattan plots of GWAS for a) TLWB b) LMWLB c) TLWW traits. In these plots, X axe is the position of SNPs in all chromosomes and Y axe is $-\log(P\text{-value})$

شکل ۲- پلات‌های منهن از مطالعه پویش ژنومی برای صفات (a) TLWB (b) LMWLB و (c) TLWW را نشان می‌دهد. در این پلات‌ها روی محور X موقعیت نشانگرها در کروموزوم‌های مختلف و روی محور Y منفی لگاریتم ارزش های P نمایش داده شده است

جدول ۲- نشانگرهای SNP با ارتباط معنی‌دار با صفات تولیدمثلی در گوسفند بلوچی
Table 2. Significant SNPs associated with reproductive traits in Baluchi sheep

Trait*	Chromosome (CHR)	SNP	Position on ovine genome (bp)	The nearest known ovine genes	Distance (bp)**	P value
TLWB	1	OAR1_165226865	153,479,906	VGLL3	-216095	3.97E-06
	1	s06751	152,653,970	CADM2	Within	9.48E-06
LMWLB	17	OAR17_74954541	68,752,719	HORMAD2	Within	4.19E-06
	10	OAR10_70221561	68,005,429	GPC6	-185173	3.14E-05
TLWW	1	OAR1_165226865	153,479,906	VGLL3	-216095	3.97E-06
	1	s06751	152,653,970	CADM2	Within	9.48E-06
	15	s49501	77,572,195	LRRC55	-46116	1.70E-05
	4	OAR4_105912271	99,507,552	MTPN	-1301	1.88E-05
LMWLW	No significant					
NLA6m	No significant					

*TLWB: Total litter weight at birth, LMWLB: Litter mean weight per lamb born, TLWW: Total litter weight at weaning, LMWLW: Litter mean weight of lambs at weaned, NLA6m: Number of lambs alive at six months.

**Positive value denotes the gene located downstream of SNP, negative value denotes the gene located upstream of SNP.

جدول ۳- نتایج بلست توالی حاوی نشانگرهای معنی‌دار در گوسفند با استفاده از ژنوم گاو
Table 3. BLAST results for the significant SNPs in sheep using the cow genome

Trait	SNP	Position on cattle genome (bp)	The nearest known cattle genes	Distance (bp)*
TLWB	OAR1_165226865	1:34,440,906-34,481,609	VGLL3	-176029
	s06751	1:33,569,224-33,610,064	VGLL3	-1047574
LMWLB	OAR17_74954541	17:71,342,471-71,380,761	HORMAD2	Within
	OAR10_70221561	12:67,941,740-68,024,440	GPC6	-207447
	OAR1_165226865	1:34,440,906-34,481,609	VGLL3	-176029
TLWW	s06751	1:33,569,224-33,610,064	VGLL3	-1047574
	s49501	15:81,611,321-81,649,526	APLNR	-85319
	OAR4_105912271	4:100,514,066-100,568,790	MTPN	Within

جدول ۴- نتایج بررسی QTLها در مناطق حاوی نشانگرهای معنی‌دار در گوسفند با استفاده از ژنوم گاو
Table 4. The results of QTL survey for regions with the significant SNPs in sheep using the cow genome

SNP	QTL in cow	Chromosome	QTL Peak Location	QTL reference
OAR1_165226865	Body weight (mature)	1	51.01 (cM)	McClure <i>et al.</i> (2010)
s06751	Fertility treatments	1	53.2 (cM)	Höglund <i>et al.</i> (2009)
	Conception rate	1	76.50 (cM)	Boichard <i>et al.</i> (2003)
OAR17_74954541	Calf size	17	93.35 (cM)	Höglund <i>et al.</i> (2012)
s49501	Stillbirth	15	110.56 (cM)	Höglund <i>et al.</i> (2012)

یک تحقیق نشان داد که بیان ژن HORMAD2^۳ در غدد جنسی نر و ماده در زمان ورود گامت‌ها به مرحله پروفاز میوز، افزایش می‌یابد. پروتئین کد شده به وسیله این ژن در طول میوز در هر دو جنس بیان می‌شود (Wojtasz *et al.*, 2009). یک مطالعه با هدف ژن تارگتینگ روی موش نشان داد که تعداد اووسیت‌ها در میوز جنس ماده با تعداد کپی ژن HORMAD2 مرتبط است (Kogo *et al.*, 2012). با توجه به این شواهد، اثر معنی‌دار نشانگر OAR17_74954541 در داخل ژن HORMAD2 روی صفت LMWLB منطقی به نظر می‌رسد.

ژن GPC6^۴ یک پروتئین گلیپیکان از اعضای خانواده هپارین سولفات پروتئوگلیکان‌ها را کد می‌کند. این

(McDowell *et al.*, 2012)، بنابراین احتمالاً این ژن در بلوغ بیضه مؤثر است. نتایج پویس ژنوم روی ماهی نشان-دهنده اثر تنظیمی سراسری پروتئین vglI3 بر سن بلوغ است (Ayllon *et al.*, 2015). به دلیل نقش ژن VGLL3 بر بلوغ و تغییر در سوخت و ساز چربی در مهره‌داران، اثر آن روی صفات تولیدمثلی ترکیبی TLWB و TLWW منطقی به نظر می‌رسد. ژن CADM2^۱ کد کننده یک مولکول چسبندگی عصبی است که در مغز نمو یافته موش‌های آزمایشگاهی به‌طور گسترده‌ای بیان می‌شود (Thomas *et al.*, 2008). در مطالعه قبل، تنوع در ژن CADM2 با شاخص توده بدنی (BMI)^۲ در انسان مرتبط شده است (Speliotes *et al.*, 2010).

3. HORMA Domain Containing 2
4. Glypican 6

1. Cell Adhesion Molecule 2
2. Body mass index

یافته‌ها، اثر معنی‌دار نشانگر OAR4_105912271 که در فاصله بسیار نزدیک از پایین دست ژن MTPN قرار دارد، منطقی به نظر می‌رسد.

در مجموع در این مطالعه، نشانگرهای SNP شناسایی شده برای صفات تولیدمثلی، درون یا نزدیک شش ژن شناخته شده گوسفندی قرار داشتند. از بین این ژن‌ها، چهار ژن GPC6، HORMAD2، VGLL3، MTPN به‌طور مستقیم در فرآیندهای مربوط به تولیدمثل و رشد ماهیچه نقش دارند. سایر ژن‌های شناسایی شده احتمالاً به‌طور غیرمستقیم مانند تنظیم سیستم ایمنی و عصبی بر صفات تولیدمثلی در گوسفند دخالت دارند. به دلیل این‌که صفات تولیدمثلی مورد مطالعه در این تحقیق از نوع صفات ترکیبی هستند (ترکیب صفات تولیدمثل و رشد) شناسایی ژن‌های دخیل در فرآیندهای رشد منطقی است.

اندازه واریانس ژنتیکی توجیه شده با SNP‌های معنی‌دار در جدول ۵ ارائه شده‌اند. در مجموع، دو SNP مؤثر بر صفت TLWB به اندازه ۴/۷ درصد، دو SNP مؤثر بر صفت LMWLB به اندازه ۳/۲ درصد و چهار SNP مؤثر بر صفت TLWW به اندازه ۴/۶ درصد از واریانس فنوتیپی را کنترل می‌کنند. برای نشانگرهای OAR1_165226865، OAR17_74954541 و s06751 و s49501 میزان واریانس افزایشی بیشتر از غالبیت است. در حالی که برای نشانگر OAR4_105912271 اندازه واریانس غالبیت بیشتر از افزایشی است. قابل ذکر است در مورد دو نشانگر OAR10_70221561 و OAR17_74954541 واریانس غلبه حدود ۰/۰۰۱ بود که به دلیل گرد شدن تا دو رقم اعشار، در جدول به صورت صفر نوشته شده است. نتایج واریانس توجیه شده با SNP‌های معنی‌دار بیانگر این است که اثرات غالبیت در معماری ژنتیکی صفات تولیدمثلی نقش دارند ولی به‌طور مشخص، اثرات افزایشی بیشتر از اثرات غالبیت در واریانس ژنتیکی این صفات دخیل هستند. از این نظر، نتایج این تحقیق با تحقیقات پیشین مطابقت دارد. در یک تحقیق، نشان داده شد که واریانس ژنتیکی افزایشی برای صفت پیشرفت وزن روزانه در خوک به اندازه ۳/۷۳ برابر بیشتر از واریانس ژنتیکی غالبیت است (Su *et al.*, 2012). یک مطالعه دیگر گزارش کرد که سهم اثرات افزایشی در واریانس ژنتیکی برای یک سری صفات خوک به میزان ۳۱-۱۸ درصد بیشتر از سهم اثرات غالبیت است (Nishio *et al.*, 2014). همچنین

پروتئین‌ها در کنترل رشد و تکثیر سلول‌ها نقش دارد. همچنین گلیپیکان‌ها به‌عنوان یک گیرنده سطحی سلولی برای فاکتورهای رشد، پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی، پروتئین‌ها و آنتی-پروتئین‌ها به‌شمار می‌آیند. ممکن است فاکتورهای رشد در کلیه، شش و غدد با حضور پروتئین GPC6 روی سطح سلول فعال شوند (Veugelers *et al.*, 1999).

پروتئین LRRC55^۱ به‌عنوان زیرواحد کانال هادی پتاسیم و کلسیم فعال شده (BK)^۲ است که در سلول‌ها و بافت‌های مختلفی مانند نوروها، ماهیچه صاف و اسکلتی، سلول‌های برون‌ریز و سلول‌های حسی گوش داخلی بیان می‌شود. این پروتئین‌ها با داشتن توالی‌های غنی از لوسین (LRRs) وظایف متعددی مانند ایمنی ذاتی و نمو سیستم عصبی ایفا می‌نمایند (Dolan *et al.*, 2007).

ژن MTPN^۳ پروتئین مایوتروپین را کد می‌نماید. این پروتئین ابتدا از قلب موش‌هایی که به طور ذاتی فشار خون بالا داشتند، استخراج شد (Sen *et al.*, 1990). مایوتروپین یک فاکتور رشد مؤثر در افزایش رشد ماهیچه در شرایط بدنی و آزمایشگاهی است که از ماهیچه اسکلتی خوک خالص‌سازی شده است (Hayashi *et al.*, 1998). مشخص شده است که MTPN و IGF-I توانایی افزایش رشد مایوسیت‌ها در عضله و افزایش مقدار پروتئین‌های اصلی ساختاری ماهیچه، میوزین و اکتین را دارند (Hayashi *et al.*, 2001). به علاوه، MTPN باعث افزایش رشد سلول‌های ماهیچه موش در شرایط بدنی می‌شود (Shiraishi *et al.*, 2006). این شواهد نشان می‌دهد که احتمالاً MTPN مانند IGF-I به‌عنوان فاکتور رشد، نقش مهمی در افزایش رشد ماهیچه اسکلتی ایفا می‌نماید. نتایج RT-PCR یک تحقیق روی خوک نشان داد که بیان ژن MTPN در تعداد زیادی بافت مانند طحال، کبد و رحم بسیار زیاد است. همچنین بیشترین بیان این ژن در جنین، ۶۵ روز بعد از آبستنی است. در طول توسعه عضلانی بعد از تولد، بیان ژن MTPN از ۳ روزگی تا ۱۸۰ روزگی کاهش یافت. نتایج این تحقیق پیشنهاد کرد که ممکن است این ژن برای رشد عضله اسکلتی دارای اهمیت باشد (Wang and Wang, 2012). با توجه به این

1. Leucine Rich Repeat Containing 55
2. Large-conductance, voltage- and calcium-activated potassium channels
3. Myotrophin

خطی و لجستیک بررسی شد. در مجموع، هشت نشانگر با معنی‌داری در سطح کروموزومی با صفات مورد مطالعه شناسایی شد. بررسی‌های بیوانفورماتیکی، وجود ژن‌ها و QTL‌های مؤثر بر صفات رشد و تولیدمثلی در مناطق شناسایی شده را نشان داد. به دلیل اهمیت صفات تولیدمثلی در تولید گوشت گوسفند، این تحقیق نتایج ارزشمندی را برای برنامه‌های اصلاح نژادی و انتخاب به کمک نشانگر فراهم می‌آورد.

تحقیقی دیگر نشان داد که اثرات افزایشی بیشتر از اثرات غالبیت در واریانس فنوتیپی صفت تعداد سرپرستانک پستانی در خوک نقش دارد و این مقدار به ترتیب ۷/۳۷ و ۱/۸۲ درصد از واریانس فنوتیپی را شامل می‌شود (Lopes *et al.*, 2014).

نتیجه‌گیری کلی

در این تحقیق با استفاده از تراشه‌های SNP گوسفندی، مناطق ژنومی مؤثر بر صفات تولیدمثلی در گوسفند بلوچی مورد کاوش قرار گرفت. به این منظور، پنج صفت تولیدمثلی با تعداد ۴۲۴۹۰ نشانگر در مدل رگرسیون

جدول ۵- واریانس ژنتیکی توجیه شده با SNP‌های معنی‌دار برای صفات مورد مطالعه

Table 5. Justified genetic variance of significant SNPs for studied traits

Trait	SNP	V _A	V _D	$\sigma^2_{QTL_a}$	$\sigma^2_{QTL_d}$	$\sigma^2_{QTL}^*$	V _g
TLWB	OAR1_165226865	0.56	0.07	0.024	0.003	0.027	0.01
	s06751	0.43	0.03	0.019	0.001	0.020	0.01
LMWLB	OAR17_74954541	0.02	0	0.022	0.000	0.022	0.004
	OAR10_70221561	0.01	0	0.010	0.000	0.010	0.002
TLWW	OAR1_165226865	7.36	2.9	0.007	0.003	0.010	0.01
	s06751	17.21	1.01	0.016	0.001	0.016	0.03
	s49501	11.1	0.07	0.010	0.000	0.010	0.02
	OAR4_105912271	3.25	7.7	0.003	0.007	0.010	0.01

*Proportion of the total phenotypic variance (σ^2_p) explained by the additive ($\sigma^2_{QTL_a}$) and dominance variances ($\sigma^2_{QTL_d}$). σ^2_{QTL} : The total variance explained by each QTL. V_g shows the proportion of the genetic variance that is explained by each SNP.

فهرست منابع

ضمیری م. ج. ۱۳۸۵. فیزیولوژی تولید مثل، انتشارات حق شناس.

- Al- Mamun H. A., Kwan P., Clark S. A., Ferdosi M. H., Tellam R. and Gondro C. 2015. Genome-wide association study of body weight in Australian Merino sheep reveals an orthologous region on OAR6 to human and bovine genomic regions affecting height and weight. *Genetics Selection Evolution*, 47: 66.
- Andersson L. and Georges M. 2004. Domestic-animal genomics: deciphering the genetics of complex traits. *Nature Reviews Genetics*, 5: 202-212.
- Ayllon F., Kjærner-Semb E., Furmanek T., Wennevik V., Solberg M. F., Dahle G., Taranger G. L., Glover K. A., Almén M. S. and Rubin C. J. 2015. The vgl3 locus controls age at maturity in wild and domesticated Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) males. *PLoS Genetics*, 11: 1-15.
- Barrett J. C., Fry B., Maller J. and Daly M. J. 2004. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*, 21: 263-265.
- Boichard D., Grohs C., Bourgeois F., Cerqueira F., Faugeras R., Neau A., Rupp R., Amigues Y., Boscher M. Y. and Levéziel H. 2003. Detection of genes influencing economic traits in three French dairy cattle breeds. *Genetics Selection Evolution*, 35: 77-102.
- Cousminer D. L., Berry D. J., Timpson N. J., Ang W., Thiering E., Byrne E., Taal H. R., Huikari V., Bradfield J. P. and Kerkhof M. 2013. Genome-wide association and longitudinal analyses reveal genetic loci linking pubertal height growth, pubertal timing, and childhood adiposity. *Human Molecular Genetics*, 22: 2735-2747.
- Devlin B. and Roeder K. 1999. Genomic control for association studies. *Biometrics*, 55: 997-1004.
- Dolan J., Walshe K., Alsbury S., Hokamp K., O'keeffe S., Okafuji T., Miller S. F., Tear G. and Mitchell K. J. 2007. The extracellular leucine-rich repeat superfamily; a comparative survey and analysis of evolutionary relationships and expression patterns. *BMC Genomics*, 8: 1-24.
- Duguma G., Schoeman S., Cloete S. and Jordaan G. 2002. Genetic parameter estimates of early growth traits in the Tygerhoek Merino flock. *South African Journal of Animal Science*, 32: 66-75.

- Ekiz B., Özcan M., Yilmaz A. and Ceyhan A. 2005. Estimates of phenotypic and genetic parameters for ewe productivity traits of Turkish Merino (Karacabey Merino) sheep. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29: 557-564.
- Falconer D. S. and Mackay T. F. C. 1996. *Introduction to Quantitative Genetics*, Ed 4. Longmans Green, Harlow, Essex, UK.
- Fogarty N. 1995. Genetic parameters for live weight, fat and muscle measurements, wool production and reproduction in sheep: a review. *Animal Breeding Abstracts*.
- Gholizadeh M., Rahimi-Mianji G., Nejati-Javaremi A., De Koning D. J. and Jonas E. 2014. Genomewide association study to detect QTL for twinning rate in Baluchi sheep. *Journal of Genetics*, 93: 489-493.
- Halperin D. S., Pan C., Lusi A. J. and Tontonoz P. 2013. Vestigial-like 3 is an inhibitor of adipocyte differentiation. *Journal of Lipid Research*, 54: 473-481.
- Hayashi T., Ogawa T., Sato M., Tsuchida N., Fotovati A., Iwamoto H., Ikeuchi Y., Cassens R. G. and Ito T. 2001. S-myotrophin promotes the hypertrophy of myotube as insulin-like growth factor-I does. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 33: 831-838.
- Hayashi T., Takeshita K., Tsuchida N., Kitano K., Kawabata S.-I., Iwanaga S. and Ito T. 1998. Purification of a novel muscle cell growth factor S-myotrophin from porcine skeletal muscle. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 30: 897-908.
- Hirschhorn J. N. and Daly M. J. 2005. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nature Reviews Genetics*, 6: 95-108.
- Höglund J. K., Buitenhuis A., Guldbandsen B., Su G., Thomsen B. and Lund M. 2009. Overlapping chromosomal regions for fertility traits and production traits in the Danish Holstein population. *Journal of Dairy Science*, 92: 5712-5719.
- Höglund J. K., Guldbandsen B., Lund M. S. and Sahana G. 2012. Analyzes of genome-wide association follow-up study for calving traits in dairy cattle. *BMC Genetics*, 13: 1-9.
- Kogo H., Tsutsumi M., Inagaki H., Ohye T., Kiyonari H. and Kurahashi H. 2012. HORMAD2 is essential for synapsis surveillance during meiotic prophase via the recruitment of ATR activity. *Genes to Cells*, 17: 897-912.
- Lopes M. S., Bastiaansen J. W., Harlizius B., Knol E. F. and Bovenhuis H. 2014. A genome-wide association study reveals dominance effects on number of teats in pigs. *PloS one*, 9: e105867.
- McClure M., Morsci N., Schnabel R., Kim J., Yao P., Rolf M., Mckay S., Gregg S., Chapple R. and Northcutt S. 2010. A genome scan for quantitative trait loci influencing carcass, post-natal growth and reproductive traits in commercial Angus cattle. *Animal Genetics*, 41: 597-607.
- McDowell E. N., Kisielewski A. E., Pike J. W., Franco H. L., Yao H. H. and Johnson K. J. 2012. A transcriptome-wide screen for mRNAs enriched in fetal Leydig cells: CRHR1 agonism stimulates rat and mouse fetal testis steroidogenesis. *PloS one*, 7: e47359.
- Meyer K. 2006. WOMBAT—A program for mixed model analyses by restricted maximum likelihood. User notes. (Animal Genetic and Breeding Unit. University of New England: Armidale) Meyer K, Graser HU, Citeseer.
- Miller S., Dykes D. and Polesky H. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, 16: 1215.
- Nishio M. and Satoh M. 2014. Including dominance effects in the genomic BLUP method for genomic evaluation. *PloS one*, 9: 1-6.
- Purcell S., Neale B., Todd-Brown K., Thomas L., Ferreira M. A., Bender D., Maller J., Sklar P., De Bakker P. I. and Daly M. J. 2007. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American Journal of Human Genetics*, 81: 559-575.
- Rosati A., Mousa E., Van Vleck L. and Young L. 2002. Genetic parameters of reproductive traits in sheep. *Small Ruminant Research*, 43: 65-74.
- Sas S. and Guide S. U. S. 2003. Version 9.1. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Schreiweis M. A., Hester P. Y. and Moody D. E. 2005. Identification of quantitative trait loci associated with bone traits and body weight in an F2 resource population of chickens. *Genetics Selection Evolution*, 37: 1-22.
- Sen S., Kundu G., Mekhail N., Castel J., Misono K. and Healy B. 1990. Myotrophin: purification of a novel peptide from spontaneously hypertensive rat heart that influences myocardial growth. *Journal of Biological Chemistry*, 265: 16635-16643.
- Shabir M., Ganai T., Misra S., Shah R. and Ahmad T. 2013. Polymorphism study of growth differentiation factor 9B (GDF9B) gene and its association with reproductive traits in sheep. *Gene*, 515: 432-438.
- Shiraishi S., Nakamura Y.-N., Iwamoto H., Haruno A., Sato Y., Mori S., Ikeuchi Y., Chikushi J., Hayashi T. and Sato M. 2006. S-myotrophin promotes the hypertrophy of skeletal muscle of mice in vivo. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 38: 1114-1122.

- Snyman M., Olivier J., Erasmus G. and Van Wyk J. 1997. Genetic parameter estimates for total weight of lamb weaned in Afrino and Merino sheep. *Livestock Production Science*, 48: 111-116.
- Speliotes E. K., Willer C. J., Berndt S. I., Monda K. L., Thorleifsson G., Jackson A. U., Allen H. L., Lindgren C. M., Luan J. A. and Mägi R. 2010. Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. *Nature Genetics*, 42: 937-948.
- Su G., Christensen O. F., Ostersen T., Henryon M. and Lund M. S. 2012. Estimating additive and non-additive genetic variances and predicting genetic merits using genome-wide dense single nucleotide polymorphism markers. *PloS one*, 7: 1-7.
- Thomas L. A., Akins M. R. and Biederer T. 2008. Expression and adhesion profiles of SynCAM molecules indicate distinct neuronal functions. *Journal of Comparative Neurology*, 510: 47-67.
- Vatankhah M., Talebi M. and Edriss M. 2008. Estimation of genetic parameters for reproductive traits in Lori-Bakhtiari sheep. *Small Ruminant Research*, 74: 216-220.
- Verardo L. L., Silva F. F., Lopes M. S., Madsen O., Bastiaansen J. W., Knol E. F., Kelly M., Varona L., Lopes P. S. and Guimarães S. E. 2016. Revealing new candidate genes for reproductive traits in pigs: combining Bayesian GWAS and functional pathways. *Genetics Selection Evolution*, 48: 1-9.
- Veugelers M., De Cat B., Ceulemans H., Bruystens A.-M., Coomans C., Dürr J., Vermeesch J., Marynen P. and David G. 1999. Glypican-6, a new member of the glypican family of cell surface heparan sulfate proteoglycans. *Journal of Biological Chemistry*, 274: 26968-26977.
- Vitezica Z., Moreno C., Bodin L., François D., Barillet F., Brunel J. and Elsen J. 2006. No associations between PrP genotypes and reproduction traits in INRA 401 sheep. *Journal of Animal Science*, 84: 1317-1322.
- Wang L. and Wang Y. 2012. Molecular characterization, expression patterns and subcellular localization of Myotrophin (MTPN) gene in porcine skeletal muscle. *Molecular Biology Reports*, 39: 2733-2738.
- Wojtasz L., Daniel K., Roig I., Bolcun-Filas E., Xu H., Boonsanay V., Eckmann C. R., Cooke H. J., Jasin M. and Keeney S. 2009. Mouse HORMAD1 and HORMAD2, two conserved meiotic chromosomal proteins, are depleted from synapsed chromosome axes with the help of TRIP13 AAA-ATPase. *PLoS Genetics*, 5: e1000702.
- Zhang H., Wang Z., Wang S. and Li H. 2012. Progress of genome wide association study in domestic animals. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 3: 1-26.
- Zhao X., Zhao K., Ren J., Zhang F., Jiang C., Hong Y., Jiang K., Yang Q., Wang C. and Ding N. 2015. An imputation-based genome-wide association study on traits related to male reproduction in a White Duroc× Erhualian F2 population. *Animal Science Journal*, 87: 646-654.



Detection of genomic regions affecting reproductive traits in Baluchi sheep using high density markers

M. Pasandideh^{1*}, Gh. Rahimi-Mianji², M. Gholizadeh³, L. Fontanesi⁴

1. Ph.D Graduated Student of Genetics and Animal Breeding Department, Sari Agriculture Science and Natural Resources University (SANRU), Iran

2. Professor, Genetics and Animal Breeding Department, Sari Agriculture Science and Natural Resources University (SANRU), Iran

3. Assistant Professor, Genetics and Animal Breeding Department, Sari Agriculture Science and Natural Resources University (SANRU), Iran

4. Faculty member of Genetics and Animal Breeding Department, ALMA MATER STUDIORUM- University of Bologna, Italy

(Received: 04-05-2017 – Accepted: 30-10-2017)

Abstract

Genetic improvement in reproductive and growth traits is major goal in sheep breeding. In this study, we performed a genome wide association study for detection of quantitative trait loci affecting reproductive traits in Baluchi sheep. For this purpose, blood samples were collected from a total of 96 ewes and data on their reproductive traits including total litter weight at birth (TLWB), litter mean weight per lamb born (LMWLB), total litter weight at weaning (TLWW), litter mean weight of lambs at weaned (LMWLW) and number of lambs alive at six months (NLA6m) in four parity. After DNA extraction, samples were genotyped using the Illumina Ovine SNP 50K BeadChip assay. Using PLINK software, a GWA study was performed in linear (GLM) and logistic regression analyses with a model included SNPs effect and sex and number of parities as fixed effects. A total of eight SNPs were found on chromosomes 1, 4, 10, 15 and 17 at the 5% chromosome-wise significance level ($P < 0.05$) for studied reproductive traits. Also, study of genes and QTLs in these regions showed genes and QTLs affecting growth and reproductive traits. The results of this study could be used for discovery of causative variants for reproductive traits in sheep breeding programs.

Keywords: QTLs, Reproductive traits, Baluchi sheep, GWAS

*Corresponding author: Majidpasandideh@gmail.com