Animal Production Research

Vol. 12, No. 1, 2023 (65-78)
doi: 10.22124/AR.2023.20946.1657
eISSN: 2538-6107 pISSN: 2252-0872

University of Guilan

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Genome-wide association study based on gene-set enrichment analysis of economically important traits in Japanese quail

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

1. Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran
2. Associate Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran

(Received: 28-10-2022 – Revised: 06-02-2023 – Accepted: 22-02-2023 – Available online: 22-02-2023)

Introduction: Identifying genes with large effects on economically important traits, has been one of the important goals in sheep breeding. A method to identify new loci and confirm existing quantitative trait loci (QTL) is through genome-wide association studies (GWAS). QTL-assisted selection and genomic regions affecting the production traits have been considered to increase the efficiency of selection and improve production performance. GWAS typically focuses on genetic markers with the strongest evidence of association. However, single markers often explain only a small component of the genetic variance and hence offer a limited understanding of the trait under study. A solution to tackle the aforementioned problems, and deepen the understanding of the genetic background of complex traits, is to move up the analysis from the single nucleotide polymorphism (SNP) to the gene and gene-set levels. In a gene-set analysis, a group of related genes that harbor significant SNP previously identified in GWAS is tested for over-representation in a specific pathway. The present study aimed to conduct a GWAS based on gene-set enrichment analysis for identifying the loci associated with economic traits using the high-density SNPs.

Materials and methods: In this research, to identify genes and biological pathways associated with some economic traits, GWAS based on gene-set enrichment analysis was conducted in a F_2 population derived from a reciprocal cross by using Illumina iSelect 4K Japanese quail SNP Bead chip. For each bird, traits including body weight gain, feed intake, feed conversion ratio, tibia ash, and foot ash were measured. The SNPs that were associated with traits were identified based on mixed linear models using GCTA software and no correction was made to adjust the error rate. The gene-set analysis consisted of three different steps: (1) the assignment of SNPs to genes, (2) the assignment of genes to functional categories, and (3) the association analysis between each functional category and the phenotype of interest. In brief, for each trait, nominal $P<0.005$ from the GWAS analyses were used to identify significant SNPs. Using the biomaRt R package, the SNPs were assigned to genes if they were within the genomic sequence of the gene or a flanking region of 15 kb up- and downstream of the gene, to include SNP located in regulatory regions. For the assignment of the genes to functional categories, the Gene Ontology and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathway databases were used. The GO database designates biological descriptors to genes based on attributes of their encoded products and it is further partitioned into three components: biological process, molecular function, and cellular component. The KEGG pathway database contains metabolic and regulatory pathways, representing the actual knowledge of molecular interactions and reaction networks. Finally, a Fisher's exact test was performed to test for overrepresentation of the significant genes for each gene set. The gene enrichment analysis was performed with the goseq R package. In the next step, bioinformatics analysis was implemented to identify the biological pathways performed in BioMart, Panther, DAVID, and GeneCards databases.

Results and discussion: Gene-set enrichment analysis has proven to be a great complement to GWAS. Among available gene set databases, GO is probably the most popular, whereas KEGG is a relatively new tool that is gaining ground in livestock genomics. We hypothesized that the use of gene-set information could improve

* Corresponding author: H-mohammadi64@araku.ac.ir

prediction. It is likely that a better understanding of the biology underlying meat production specifically, plus an advance in the annotation of the quail genome, can provide new opportunities for predicting production using gene-set information. 11 SNPs on chromosomes 2, 3, 4, 5, 10, 18, 20, 24, and 27 located in *NPY*, *DRD2*, *PTPRN2*, *BMPR1B*, *MYF5*, *IGF2BP1, MYO1E, FGF2, LDB2, BMP4, ACOX1, PCK1, PLCB4, PLCB,* and *PLCG1* genes were identified. According to gene-set enrichment analysis, 23 categories from gene ontology and the KEGG pathway were associated with the traits (P<0.05). Among those categories, Protein glycosylation, Myoblast differentiation, Positive regulation of muscle cell differentiation and Biological MAPK signaling pathway, and Calcium signaling pathway have a significant association with skeletal muscle fiber, feed intake, and availability utilization.

Conclusions: This study supported previous results from GWAS and revealed additional regions associated with these economically important traits. Using the findings of this study could potentially be useful for genetic selection to improve production in Japanese quail.

Keywords: Body weight gain, Japanese quail, Genome scan, Feed conversion ratio, Feed intake

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

Funding: This work was supported by a grant from the Iran National Science Foundation (grant no. 4000380).

How to cite this article:

Mohammadi, H., Khaltabadi Farahani, A. H., & Moradi, M. H. (2023). Genome-wide association study based on gene-set enrichment analysis of economically important traits in Japanese quail. *Animal Production Research*, *12*(1), 65-78. doi: 10.22124/AR.2023.20946.1657

تحقیقات تولیدات دامی

سال دوازدهم/شماره اول/بهار ۱۴۰۲ (۷۸-۶۵)

Animal Production Research

دانشگاه گیلان

مقاله پژوهشی

مطالعه پویش کل ژنوم بر پایه غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی صفات مهم اقتصادی در بلدرچین ژاپنی

حسین محمّدی[1*]، امیر حسین خلت آبادی فراهانی[2]، محمد حسین مرادی[2]

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

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

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۰۶ – تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۱/۱۷ – تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۰۳)

چکیده

در این پژوهش، به منظور شناسایی ژن‌ها و مسیرهای مرتبط با برخی صفات اقتصادی، مطالعه پویش کل ژنوم بر مبنای تجزیه غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی با استفاده از یک تراشه چندشکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) ژنوم بلدرچین ژاپنی (Illumina iSelect 4K) در یک جمعیت F_2 حاصل از تلاقی دوطرفه انجام شد. به ازای هر پرنده، صفات میزان خوراک مصرفی، افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل خوراک، خاکستر استخوان درشت‌نی و پا اندازه‌گیری شد. با استفاده از نرم‌افزار GCTA و بر اساس مدل خطی مختلط ارتباط هر یک از SNPها با هر یک از صفات بررسی شد. تجزیه غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی با بسته نرم‌افزاری goseq برنامه R با هدف شناسایی طبقات عملکردی و مسیرهای زیستی ژن‌های نزدیک در مناطق ژنومی کاندیدا انجام شد و در نهایت برای تجزیه بیوانفورماتیکی از پایگاه‌های برخط DAVID و PANTHER استفاده شد. در این پژوهش، تعداد ۱۱ نشانگر SNP واقع روی کروموزوم‌های ۲، ۳، ۴، ۵، ۱۰، ۱۸، ۲۰، ۲۴ و ۲۷ شناسایی شدند که با ژن‌های *NPY*، *DRD2*، *PTPRN2*، *BMPR1B*، *MYF5*، *IGF2BP1*، *MYO1E*، *FGF2*، *LDB2*، *BMP4*، *ACOX1*، *PCK1*، *PLCB4*، *PLCB1* و *PLCG1* مرتبط بودند. در تجزیه غنی‌سازی مجموعه ژنی، تعداد ۲۳ طبقات هستی‌شناسی و مسیرهای بیوشیمیایی KEGG با صفات مورد بررسی شناسایی شد ($P<۰/۰۵$). از این بین، طبقات هستی‌شناسی Protein glycosylation، Myoblast differentiation، Positive regulation of muscle cell differentiation، مسیرهای بیوشیمیایی MAPK signaling pathway و Calcium signaling pathway نقش مهمی در توسعه الیاف عضلانی اسکلتی، مصرف خوراک و قابلیت جذب داشتند. با توجه به تأیید مناطق قبلی پویش ژنومی و شناسایی مناطق ژنومی جدید، استفاده از یافته‌های این پژوهش می‌تواند در انتخاب ژنتیکی با هدف بهبود تولید، مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: افزایش وزن بدن، بلدرچین ژاپنی، پویش ژنوم، ضریب تبدیل خوراک، مصرف خوراک

* نویسندهٔ مسئول: H-mohammadi64@araku.ac.ir

doi: 10.22124/AR.2023.20946.1657

مقدمه

رشد حیوان که شامل فرآیندهای فیزیولوژیکی است، یکی از عوامل بسیار مهم و تاثیرگذار در علم پرورش دام و طیور است (Najafi *et al.,* 2020). در سال‌های اخیر، بلدرچین به عنوان یک پرنده اقتصادی در کشورهای مختلف پرورش داده می‌شود. سودآوری در صنعت تولید و پرورش بلدرچین ژاپنی به هزینه‌های ورودی و خروجی بستگی دارد. بازدهی خوراک در پرورش حیوانات از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است زیرا هزینه خوراک حدود ۷۰٪ از کل هزینه تولید را شامل می‌شود (Emrani *et al.,* 2020). بنابراین، بهبود بازده خوراک، مقدار غذای مورد نیاز برای رشد، هزینه تولید و مقدار ضایعات نیتروژنی را کاهش خواهد داد. یکی از عوامل اصلی در توسعه پرورش بلدرچین، بهبود ضریب تبدیل خوراک است (Mahmoudi Zarandi *et al.,* 2020).

ضریب تبدیل خوراک شاخص متداولی است که در صنعت طیور جهت ارزیابی عملکرد نسبی خوراک مورد استفاده پرورش‌دهندگان قرار می‌گیرد. ضریب تبدیل خوراک از نسبت مصرف خوراک (FI) به افزایش وزن بدن (BWG) به‌دست می‌آید. انتخاب برای ضریب تبدیل خوراک، صفات دیگر را به شیوه‌ای غیرمستقیم تحت تأثیر قرار می‌دهد، به‌طوری که انتخاب برای بهبود ضریب تبدیل خوراک می‌تواند باعث افزایش رشد یا کاهش خوراک مصرفی و یا هر دو شود. در حال حاضر، ضریب تبدیل خوراک در بلدرچین ژاپنی به‌طور متوسط برای رشد، ۳/۲ است که در مقایسه با مقدار ۱/۸ در جوجه گوشتی چندان مطلوب نیست (Aarabi *et al.,* 2016). بنابراین بهبود ضریب تبدیل خوراک نقش بسیار مؤثری در کاهش قیمت گوشت تولیدی داشته و باعث افزایش تقاضا برای این محصول خواهد شد. یکی از مؤثرترین راه‌های بهبود ضریب تبدیل غذایی، اصلاح این پرنده در جهت افزایش رشد، کاهش مصرف خوراک و در نتیجه بهبود ضریب تبدیل غذایی است. با پیشرفت‌های اخیر در تهیه تراشه‌های SNP طیور و استفاده از چندشکلی در تک نوکلئوتیدی‌ها به عنوان نشانگر، امکان پوشش کامل ژنوم و نقشه‌یابی با وضوح بالاتر که با روش‌های پیشین از قبیل نشانگرهای ریزماهواره و یا سایر نشانگرهای زیستی مقدور نبود، امکان‌پذیر شده است که بهبود صحت مکان‌یابی QTLها و نواحی ژنومی مؤثر بر صفات تولیدی را در پی داشته است. در مطالعات پویش کل ژنوم (GWAS) از وجود تعداد زیادی چندشکلی در سطح ژنوم به همراه فنوتیپ و اطلاعات شجره جهت تجزیه همبستگی بین ژنوتیپ و فنوتیپ استفاده می‌شود و ژن‌ها و عناصر تنظیم‌کننده مرتبط با صفات مهم اقتصادی شناسایی می‌شود (Mohammadi *et al.,* 2020).

مطابق یافته‌های مقالات مختلف، مشکل موجود در مطالعات پویش کل ژنومی مبتنی بر مدل‌های خطی و غیرخطی، بالا بودن نرخ خطای نوع اول و بیش برآورد اثر نشانگرهای SNP است. به عبارت دیگر، یکی از ایرادات تحقیقات مطالعات پویش ژنومی در نظر گرفتن آستانه معنی‌داری برای جلوگیری از بروز خطای نوع اول است. در حالی که پرهیز از خطای نوع اول سبب افزایش خطای نوع دوم یعنی در نظر نگرفتن SNPهای دارای اثر معنی‌دار پایین‌تر از آستانه در نظر گرفته شده می‌شود (Peñagaricano *et al.,* 2013). در نتیجه، یک جایگزین مناسب برای حل این مشکل، انجام مطالعات پویش کل ژنومی بر مبنای مسیر و با استفاده از تجزیه و تحلیل مجموعه‌های ژنی است. در واقع در این روش به‌جای انجام تجزیه برای یک SNP یا یک ژن، ارتباط بین صفت مورد مطالعه و واریانت‌های ژنتیکی را در یک دسته یا گروه ژنی که به‌طور عملکردی با هم مرتبط هستند بررسی می‌کنند. به عبارت دیگر، تجزیه پیوستگی بین یک مجموعه ژنی معنی‌دار زیستی با فنوتیپ، مورد آزمون قرار می‌گیرد (Wang *et al.,* 2011).

برای اولین بار، Peñagaricano *et al.* (2013) نشان دادند که تجزیه و تحلیل پویش ژنومی بر مبنای مسیر، دقت شناسایی مناطق ژنومی مؤثر بر صفت نرخ باروری گاوهای نر را بالا برده است، زیرا با استفاده از این روش، تمامی نشانگرهای معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ تجزیه می‌شوند و در نتیجه، میزان خطای نوع اول و بیش برآوردها کاهش پیدا می‌کند. در یک تحقیق دیگر، مطالعه پویش ژنومی بر مبنای مسیر با استفاده از تجزیه غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی روی خصوصیات لخته‌شدگی شیر، تولید پنیر و استحکام دَلمه انجام شد. بر اساس نتایج، تجزیه بر اساس مسیر، منجر به شناسایی ۲۱ طبقات مختلف عملکردی هستی‌شناسی ژن و ۱۷ مسیر بیوشیمیایی KEGG معنی‌دار مرتبط با این صفات شد (Dadousis *et al.,* 2017). همچنین در مطالعه‌ای که با استفاده از داده‌های مرتبط با صفات لاشه از یک جمعیت گاو هانفو انجام شده بود، روش پویش ژنومی بر

مبنای مسیر، کارآیی بهتری برای یافتن مناطق ژنومی، درک بهتر ساز و کار و معماری ژنتیکی داشت (Srikanth *et al.*, 2020).

اخیراً مطالعه پویش کل ژنومی بر پایه تجزیه مسیر جهت شناسایی جایگاه‌های ژنی مؤثر بر وزن بدن در چهار نژاد مرغ چوآ، سیلک، لنگشن و بیرد انجام شده است و مسیرهای anatomical، cytoskeletal protein binding structure development و Tricarboxylic acid cycle که شامل ژن‌های کاندیدای *ABCG1*، *MYOD1*، *MYH10*، *MYH11*، *MYO1B*، *MYO1C*، *MYO1E*، *MYL1*، *MYL2*، *MYL3*، *SLC2A8*، *ACACA*، *ACOX1*، *ACOX2* و *PNPLA2* بودند را گزارش کرده‌اند (Khaltabadi Farahani *et al.*, 2020).

با توجه به اینکه مطالعات پویش کل ژنومی روی بلدرچین ژاپنی به منظور شناسایی نواحی ژنومی مؤثر بر صفات مهم اقتصادی به‌طور بسیار معدودی انجام گرفته، لذا هدف پژوهش حاضر تجزیه و تحلیل مجموعه‌های ژنی و مسیرهای زیستی مرتبط با صفات مهم اقتصادی در بلدرچین ژاپنی بر اساس پویش کل ژنومی بود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از اطلاعات فنوتیپی مرتبط با برخی صفات مهم اقتصادی حاصل از ۹۲۰ قطعه بلدرچین ژاپنی که به وسیله دانشگاه Hohenheim آلمان تعیین ژنوتیپ شده بودند، استفاده شد (Vollmar *et al.*, 2020). برای دستیابی به اطلاعات رکوردهای فنوتیپی و ژنوتیپی از وب‌گاه https://osf.io/57nty/ استفاده شد.

پویش کل ژنوم را می‌توان در جوامع تصادفی انجام داد، ولی مطالعات نشان داده است که طراحی یک جامعه F_2 به منظور انجام پویش ژنومی در مقایسه با یک جامعه تصادفی باعث کاهش میزان کشف اشتباه و افزایش دقت نقشه‌یابی می‌شود (Ledur *et al.*, 2009). بدین منظور برای ایجاد نسل F_1 از آمیزش دوطرفه استفاده شد. از آمیزش ۱۲ پرنده نر از لاین A با ۱۲ پرنده ماده از لاین B به‌صورت دو طرفه، نسل F_1 ایجاد شد. تعداد ۳۴ پرنده ماده با رعایت کمترین رابطه خویشاوندی به همراه ۱۷ پرنده نر انتخابی جهت ایجاد نسل دوم (یک نر به ازای هر دو ماده) انتخاب شدند، به این ترتیب، تعداد ۹۲۰ پرنده طی دوازده دوره جوجه-کشی، نسل F_2 را ایجاد کردند. صفات مورد مطالعه شامل افزایش وزن بدن ، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی بین روزهای ۱۰ تا ۱۵، خاکستر استخوان درشت‌نی و خاکستر استخوان پا در سن ۱۵ روزگی بودند، آمار توصیفی صفات مورد بررسی در جدول ۱ ارائه شده است. پس از اطمینان از کمیت و کیفیت بالای DNA استخراج شده، نمونه‌ها با استفاده از آرایه‌های شرکت ایلومینا با آرایه‌های iSelect 4K تعیین ژنوتیپ شدند. جهت اطمینان از کیفیت داده‌های تعیین ژنوتیپ، مراحل مختلف کنترل کیفیت روی داده‌های اولیه تعیین ژنوتیپ شده قبل از تجزیه پیوستگی انجام شد.

برای فیلتراسیون داده‌های تعیین ژنوتیپ شده، ابتدا نمونه-هایی که فراوانی نرخ تعیین ژنوتیپ آنها کمتر از ۹۰٪ بود، شناسایی و حذف شدند. در مرحله بعد، نشانگرهایی که کمترین فراونی آللی در آنها کمتر از ۳٪ بود حذف شدند. سپس نشانگرهایی که نرخ تعیین ژنوتیپ آنها در نمونه‌ها کمتر از ۹۰٪ بود شناسایی و حذف شدند. همچنین نشانگرهایی که روی کروموزوم‌های جنسی و دو گروه لینکاژی (LG) بودند کنار گذاشته شدند. مراحل مختلف فیلتراسیون با استفاده از نرم افزار PLINK (v1.90; http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink) انجام شد (Purcell *et al.*, 2007). از مجموع ۵۳۸۸ نشانگر استفاده شده در این تحقیق، ۳۹۷۶ نشانگر و ۸۸۸ پرنده توانستند مراحل مختلف کنترل کیفیت را بگذرانند.

جدول ۱- آمار توصیفی مربوط به پنج صفت مورد بررسی در بلدرچین ژاپنی

Table 1. Descriptive statistics of five studied traits in Japanese quail

Traits	Unit	Minimum	Maximum	Mean
Feed intake[1]	g	16.11	62.35	42.65
Body weight gain	g	5.80	37.85	24.50
Feed conversion ratio	g/g	1.21	3.92	1.78
Tibia ash	mg	19.20	83.50	45.82
Foot ash	mg	19.60	83.60	44.76

[1] From days 10-15 of life.

تجزیه پویش کل ژنومی بر اساس غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی: جهت بررسی ارتباط فنوتیپ‌ها با ژنوتیپ‌ها از نرم افزار GCTA نسخه ۱/۹۲ (Yang *et al.*, 2011) استفاده شد. مدل مورد استفاده بر پایه مدل خطی مختلط تک صفته به شکل زیر بود:

$$\boldsymbol{y} = \boldsymbol{W\alpha} + \boldsymbol{X\beta} + \boldsymbol{u} + \boldsymbol{e}$$

در این مدل، **y**= بردار ارزش‌های فنوتیپی، **W**= ماتریس ضرایب ارتباط‌دهنده با آثار ثابت، $\boldsymbol{\alpha}$= بردار آثار ثابت شامل اثر جنس و دوره جوجه‌کشی، $\boldsymbol{X}$= اثر ژنوتیپ نشانگرها، $\boldsymbol{\beta}$= ضرایب ارتباط‌دهنده نشانگرها، **u**= بردار آثار تصادفی پلی-ژنیک و **e** بردار اثر تصادفی باقیمانده.

اساساً تجزیه پویش ژنومی بر پایه تجزیه و تحلیل مجموعه-های ژنی در سه مرحله انجام می‌شود:

۱) تعیین مکان SNPهای معنی‌دار که مقدار *P*-value آنها کمتر از ۰/۰۵ بود. سپس این SNPها با استفاده از بسته نرم افزاری *biomaRt2* (Durinck *et al.*, 2009) در محیط R و با استفاده از ژنوم مرجع بلدرچین ژاپنی نسخه (*Coturnix_japonica_2.0*) به ژن‌هایی که نشانگر SNP مورد نظر در داخل آن ژن و یا kb ۳۰۰ بالادست یا پایین دست آن ژن قرار داشت، ارتباط داده شدند. با توجه به اینکه تفسیر عملکردی ژنوم بلدرچین ژاپنی هنوز به‌طور کامل تکمیل نشده است، لذا مناطق اورتولوگوس ژنوم مرغ نیز با استفاده از جستجو در پایگاه اطلاعاتی برخط Ensembl Genes 104 Database مورد بررسی قرار گرفت.

۲) ارتباط ژن‌ها به طبقات عملکردی و مسیرهای بیوسیمیایی از پایگاه‌های اطلاعاتی شامل هستی‌شناسی ژن (GO, /http://www.geneontology.org)، مسیرهای بیوشیمیایی (KEGG, /http://www.genome.jp/kegg)، Panther (http://www.pantherdb.org)، Metacyc (http://www.metacyc.org) و Reactome (http://www.reactome.org).

۳) پویش کل ژنومی بر پایه تجزیه مسیر با استفاده از توزیع فوق هندسی و آماره Fisher's exact test مورد آزمون قرار گرفت. تجزیه غنی‌سازی مجموعه ژنی با استفاده از بسته نرم افزاری *goseq* (Young *et al.*, 2010) در محیط نرم افزار R انجام شد. برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های به‌دست آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی برخط GeneCards (http://www.genecards.org) و UniProtKB (http://www.uniprot.org) استفاده شد.

نتایج و بحث

در این پژوهش، مطالعه پویش کل ژنومی با تجزیه و تحلیل غنی‌سازی و مجموعه ژنی جهت شناسایی طبقات عملکردی و ساز و کارهای مولکولی مرتبط با صفات مهم اقتصادی در بلدرچین ژاپنی انجام شد. نمودار منهتن مرتبط با صفات مورد بررسی در شکل ۱ ارائه شده است.

تعداد مجموعه‌های ژنی حاصل از پایگاه‌های داده‌ای مختلف شامل ۲۱۹ طبقات هستی‌شناسی و مسیر بیوشیمیایی PANTHER و مسیر KEGG بود. همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود تعداد ۲۳ طبقه عملکردی در هستی-شناسی فرآیندهای زیستی و مسیر KEGG، با صفات خوراک مصرفی، افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی، خاکستر استخوان درشت‌نی و خاکستر استخوان پا دارای ارتباط معنی‌دار هستند ($P<۰/۰۵$).

از مسیرهای هستی‌شناسی معنی‌دار مرتبط با خوراک مصرفی، مسیر Protein glycosylation به‌دست آمد که جزء فرآیندهای زیستی است. از میان ژن‌های کاندیدای موجود در این مسیر، ژن‌های *NPY* و *DRD2* دارای بیشترین ارتباط با خوراک مصرفی بودند.

نوروپپتید Y (NPY) یک نوروموداتور است که در غلظت بالا در هیپوتالاموس وجود دارد و یکی از فراوان‌ترین پپتیدهای مغز در منطقه پاراونتریکولار است که تأثیر آن در تنظیم رفتار غذا خوردن، تعادل انرژی و ترشح غدد شناخته شده است (GeneCards). میزان ترشح نوروپپتیدهای مرکزی تحت تأثیر پیام‌های دریافت شده از محیط و سیگنال‌های عصبی ناحیه هیپوتالاموس کنترل می‌شود تا میزان مصرف انرژی و غذا تنظیم شود. ژن *NPY* یکی از مهمترین عوامل مؤثر بر اشتها است و در زمان گرسنگی به میزان بیشتری ترشح می‌شود و از مهمترین آثار آن، تحریک اشتها است (Yuan *et al.*, 2009). در پژوهشی با تجزیه و تحلیل ترنسکریپتوم هیپوتالاموس که با استفاده از داده‌های RNA-Seq جهت شناسایی ژن‌های درگیر با صفات رشد انجام شد، تجزیه بیان تفرقی ژن‌ها نشان داد که افزایش بیان ژن *NPY* موجب کاهش خوراک مصرفی در جوجه خروس‌ها در سن سه هفتگی شده است (Piórkowska *et al.*, 2020). همچنین در مطالعه پویش

کل ژنومی با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای عمده اثر مرتبط با صفات تولید گوشت (افزایش وزن بدن و خوراک مصرفی) در جوجه‌های گوشتی، ژن کاندیدای *DRD2* گزارش شده است (Yang *et al.,* 2021). کاهش بیان ژن گیرنده‌های *DRD2* منجر به افزایش خوراک مصرفی و افزایش وزن می‌شود. از آنجا که ژن‌های شناسایی شده در این مسیر به‌طور مستقیم با میزان خوراک مصرفی، رفتار غذا خوردن و اشتها ارتباط دارند و به‌طور غیرمستقیم نیز در رشد و توسعه عضلات اسکلتی و رشد و نمو اندام‌های بدن نقش بازی می‌کنند، نقش و عملکرد آنها باید به میزان بیشتری از راه مطالعات آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گیرد. از دیگر فرآیند زیستی معنی‌دار مرتبط با خوراک مصرفی می‌توان به مسیر Glycoprotein biosynthetic process و مسیر بیوشیمیایی MAPK signaling pathway اشاره کرد. از بین ژن‌های معنی‌دار در این مسیرها، *BMPR1B* و *PTPRN2* در مطالعات قبلی با خوراک مصرفی مرتبط بوده‌اند.

ژن کاندیدای *BMPR1B* جزئی از اعضای خانواده ژنی TGF-β بوده و بر توسعه جنین، هوموستازی، تعمیر و اصلاح الگوهای بافتی مختلف، تمایز سلولی و مرگ برنامه‌ریزی شده سلول نقش دارند (UniProtKB). مطالعه پویش ژنومی در مرغان نژادهای گوشتی کورنیش و تخم‌گذار سفید روسی با هدف شناسایی مناطق ژنومی مورد انتخاب مثبت انجام شده است و ژن کاندیدای *BMPR1B* مرتبط با خوراک مصرفی در نژاد کورنیش گزارش شد (Abdelmanova *et al.,* 2021). همچنین در مطالعه‌ای با بررسی چندشکلی ژن کاندیدای *BMPRIB* با صفات رشد، ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی اگزون شش (287A→G) با وزن بدن در سنین دو تا پنج هفتگی مرغان نژاد Fayoumi and RIR گزارش شده است (Awad and El-Tarabany, 2015).

در مطالعه پویش کل ژنومی با هدف بررسی معماری ژنتیکی صفت بازدهی خوراک مصرفی در مرغ، ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های ژن کاندیدای *PTPRN2* با میزان خوراک مصرفی گزارش شده است (Marchesi *et al.,* 2021). ژن کاندیدای *PTPRN2* نقش کلیدی در تنظیم ترشح انسولین در پاسخ به گلوکز دارد و به عنوان یک نوروترانسمیتر دوپامین و سرتونین در مغز عمل می‌کند (UniProtKB). در این پژوهش، با توجه به قرار گرفتن نشانگر معنی‌دار id02004 در داخل ژن *PTPRN2* روی کروموزوم شماره ۲ می‌توان با اطمینان بالایی این نشانگر را از عوامل ایجاد تنوع در این ژن و در نهایت مؤثر بر صفت بازدهی خوراک مصرفی در بلدرچین ژاپنی دانست.

از مسیرهای زیستی مهم و معنی‌دار مرتبط با افزایش وزن بدن می‌توان به مسیرهای Skeletal muscle tissue development و Myoblast differentiation اشاره کرد که از بین ژن‌های معنی‌دار در این مسیرها، ژن‌های کاندیدای *MYF5* و *IGF2BP1* دارای نقش مستقیمی در رشد و توسعه سلول‌های عضله اسکلتی هستند (GeneCards).

با بررسی چندشکلی‌های (C238T و G264A) موجود در اگزون یک ژن کاندیدای *MYF5* مرتبط با صفات رشد، ارتباط معنی‌داری بین ژن *MYF5* با صفات وزن بدن از هچ تا چهار هفتگی در مرغ گزارش شده است (Wei *et al.,* 2016). خانواده ژنی MyoD در چهار ساختار ژنی مربوط به ژن‌های *MYF3*، *MYF5*، *MYF6* و *MYOG* است. فاکتورهای میوژنیک ۵ و ۶ در شروع و توسعه ماهیچه‌های اسکلتی نقش کلیدی دارند. در طول تشکیل جنین، ژن *MYF5* در توسعه سلول‌های ماهیچه اسکلتی دخالت داشته و نقش مؤثری در تکثیر میوبلاست در طول شکل‌گیری الیاف دارد (Rescan, 2001).

با توجه به نقش گسترده میوژن‌ها در بافت، ژن *MYF5* می‌تواند بر فرآیند رشد و توسعه عضلات اسکلتی تأثیر گذار باشد. در مطالعه‌ای که اخیراً روی صفات رشد در گاوهای Qinchuan چینی انجام شد، گزارش شده است چندشکلی‌های موجود در اگزون شماره ۳ ژن *MYF5* با صفت وزن بدن ارتباط معنی‌داری دارند (Zhao *et al.,* 2020). همچنین مطالعه پویش کل ژنومی در مرغان نسل دوم Gushi-Anka با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات رشد شامل وزن بدن و وزن لاشه انجام شده است و ارتباط معنی‌داری بین ژن کاندیدای *IGF2BP1* با صفت وزن بدن چهار تا شش هفتگی گزارش شد (Zhang *et al.,* 2021).

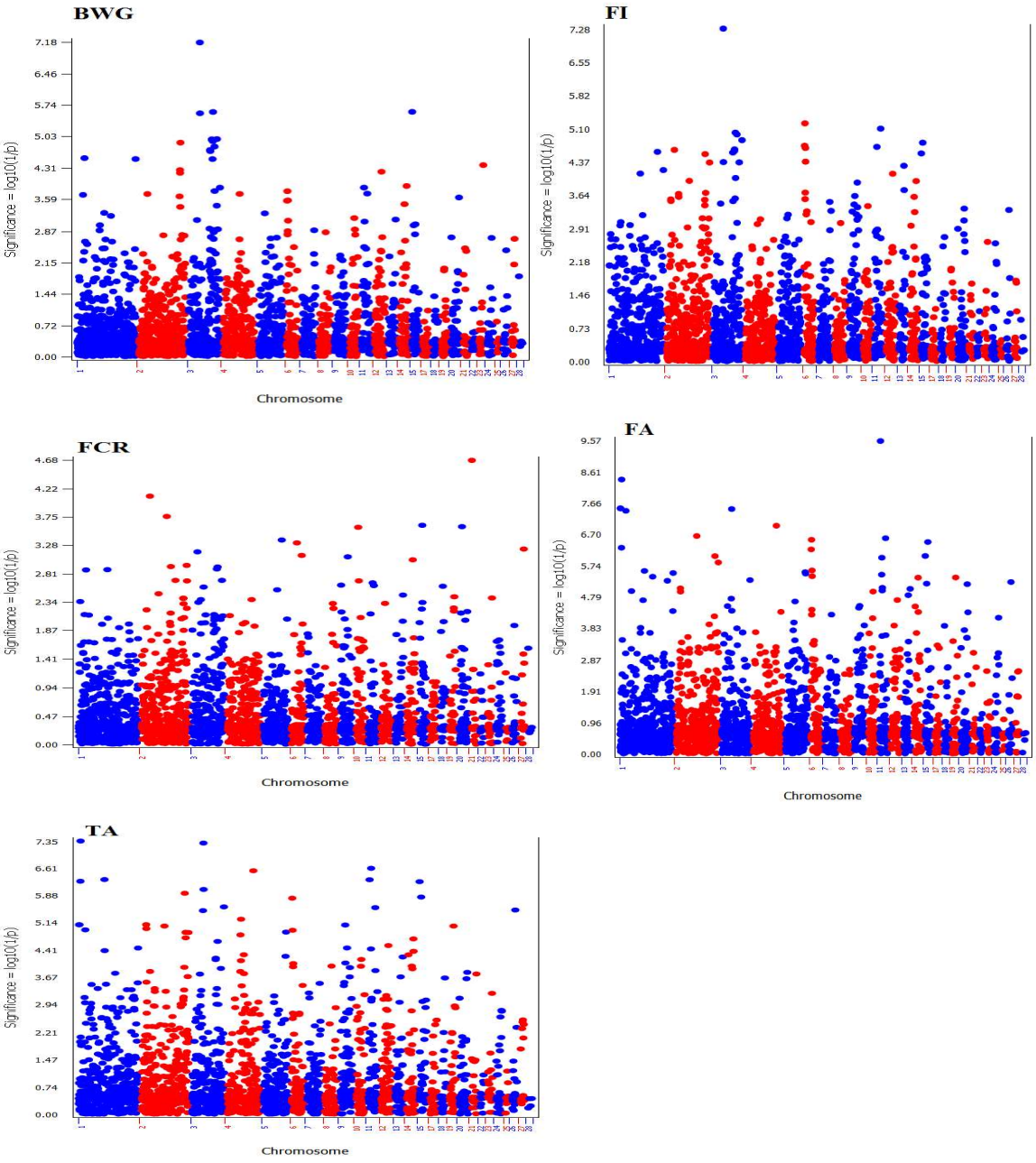

Fig. 1. Manhattan plot for body weight gain (BWG), feed intake (FI), feed conversion ratio (FCR), foot ash (FA), and tibia ash (TA)

شکل ۱- نمودار منهتن برای صفات افزایش وزن بدن (BWG)، خوراک مصرفی (FI)، ضریب تبدیل خوراک (FCR)، خاکستر پا (FA) و خاکستر درشت‌نی (TA)

شاید بتوان مسیر Regulation of protein processing که جزء هستی‌شناسی فرآیندهای زیستی است را یکی از مهمترین مسیرهای مؤثر بر فرآیند وزن بدن دانست. با تجزیه و تحلیل پروفایل ترنسکریپتوم ماهیچه پای جوجه-های گوشتی Jinghai Yellow در مرحله رشد اولیه (چهار هفتگی)، تجزیه تفرقی بیان ژن، اختلاف معنی‌دار بیان افزایشی ژن کاندیدای *FGF2* در گروه با وزن بالا گزارش

شده است (Xue *et al.,* 2017). ژن کاندیدای *FGF2* جزئی از خانواده ژنی فاکتورهای رشد فیبروبلاست (FGF) بوده که در رشد، تمایز و مهاجرت طیف گسترده‌ای از انواع سلول‌ها نقش دارد. ژن *FGF2* نقش مؤثری در هوموستازی و محافظت در غضروف مفصلی دارد. در سلول‌های غضروف مفصلی، *FGF2* باعث تغییر نسبت بین کلاژن نوع II و نوع I می‌شود و به‌طور بالقوه باعث تشکیل فیبروکارتیلاژ برای غضروف می‌شود (Xue *et al.,* 2017). همچنین بیان ژن *FGF2* در سلول‌های مایوبلاست جنین موش‌های در حال تکامل مشاهده شده است که نشان‌دهنده نقش آنها در ارتباط سلول-سلول پیش‌سازهای ماهیچه است که فرآیندی مهم در ساخت عضله محسوب می‌شود (Jiao *et al.,* 2013). با توجه به عملکرد ژن *FGF2* می‌توان بیان داشت که احتمالاً برخی واریانت‌های این ژن می‌توانند تأثیر بیشتری در فرآیند رشد، تمایز و تکامل بافت عضله داشته باشند و از این راه، بلدرچین‌های با وزن بالاتری به‌دست آورد.

از دیگر مسیرهای زیستی معنی‌دار مرتبط با وزن بدن می‌توان به مسیرهای Regulation of MAP kinase activity و Anatomical structure homeostasis اشاره کرد که جزء مسیرهای فرآیندهای زیستی مرتبط با تولید هستند. ژن‌های کاندیدای *LDB2* و *BMP4* دارای نقش زیستی مستقیمی با صفات مرتبط با افزایش وزن بدن هستند. ژن

جدول ۲- تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی معنی‌دار (P<۰/۰۵) مرتبط با صفات اقتصادی

Table 2. Gene-set enrichment analysis significantly (P<0.05) associated with economic traits

GO ID	Term (GO hierarchy level)	No. genes in the GO term	Candidate genes	FDR
Biological process				
GO:0006486	protein glycosylation	19	DRD2, NPY	0.0034
GO:0009101	glycoprotein biosynthetic process	22	BMPR1B, PDK1, PDK4	0.026
GO:0006631	fatty acid metabolic process	19	ACOX1, ACOX2	0.028
GO:0043405	regulation of MAP kinase activity	26	BMP4	0.023
GO:0070613	regulation of protein processing	8	FGF2	0.001
GO:0050812	regulation of acyl-CoA biosynthetic process	3	PCK1, PDK3	0.029
GO:0055074	calcium ion homeostasis	27	ANXA5, ANXA7, EDN1	0.040
GO:0009755	hormone-mediated signaling pathway	11	PLCB4, ESR1	0.043
GO:0007519	skeletal muscle tissue development	11	MYF5, MYF6	0.029
GO:0031503	protein complex localization	8	TCF21, ACOX1	0.045
GO:0051149	positive regulation of muscle cell differentiation	6	MYO1E, MYO1A	0.048
GO:0060538	skeletal muscle organ development	11	MYF5, MYF6	0.015
GO:0045445	myoblast differentiation	7	ASB2, IGF2BP1	0.031
GO:0060249	anatomical structure homeostasis	26	ACACA, LDB2	0.0015
GO:0006633	fatty acid biosynthetic process	14	ACLY, ELOVL3	0.001
GO:0001958	endochondral ossification	4	DLX5, CBS	0.003
GO:0045778	Positive regulation of ossification	14	TMEM135	0.045
GO:0007204	Positive regulation of cytosolic calcium ion concentration	6	EDN1	0.023
Cellular component				
GO:0030054	Cell junction	6	CDH13, P2RX4	0.006
GO:0034703	Cation channel complex	8	BMP4, PDGFB	0.0007
KEGG Pathways				
gga04912	GnRH signaling pathway	11	CGNRH-R, MMP2	0.0018
gga04010	MAPK signaling pathway	21	PTPRN2, MAP4K4	0.0006
gga04020	Calcium signaling pathway	27	PLCB1, PLCG1	0.012

کاندیدای *LDB2* دارای نقش اساسی در انتقال گلوگز به داخل سلول‌ها و تنظیم هموستازی گلوکز است (UniProtKB). با مطالعه پویش کل ژنومی در مرغان بومی کره جنوبی، ژن کاندیدای *LDB2* مرتبط با وزن بدن در سن هشت هفتگی گزارش شده است (Cha *et al.,* 2021). مطالعه‌ای با هدف بررسی تفرق بیان ژن *BMP4* در بافت مغز استخوان در جوجه‌های گوشتی و تخم‌گذار انجام شده است و بیان افزایشی ژنوتیپ AA ژن *BMP4* با نرخ سرعت رشد بالا در سنین پایین (یک و ۱۴ روزگی) گزارش شد (Divya *et al.,* 2018).

با توجه به بررسی‌های انجام شده می‌توان بیان داشت ژن *BMP4* نقش مهمی در فرآیند عضله‌سازی داشته و به‌طور مشخص بر افزایش وزن بدن مرغ مؤثر است. لذا یافتن جهش‌های مؤثر که سبب بیان بیشتر این ژن در بلدرچین شود می‌تواند بر صفات مرتبط با وزن بدن مؤثر باشد.

از مسیرهای مهم معنی‌دار مرتبط با ضریب تبدیل غذایی می‌توان به Fatty acid metabolic process، Regulation of acyl-CoA biosynthetic، Hormone-mediated signaling pathway و Positive regulation of muscle cell differentiation اشاره کرد که حاوی ژن‌های کاندیدای *ACOX1*، *PCK1*، *MYO1E* و *PLCB4* بودند.

در یک پژوهش، تجزیه و تحلیل ترنسکریپتوم بافت دئودنوم در دو گروه با باقیمانده خوراک مصرفی بالا و پایین جهت شناسایی ژن‌های کاندیدا و مسیرهای سیگنال‌دهی مرتبط با بازدهی خوراک در مرغ Xiayan انجام شد و بیان افزایشی ژن کاندیدای *ACOX1* دارای همبستگی منفی با باقیمانده خوراک مصرفی گزارش شد (Xiao *et al.,* 2021).

همچنین در مطالعه تجزیه و تحلیل ترنسکریپتوم با استفاده از داده‌های RNA-Seq با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدا و مسیرهای سیگنال‌دهی مرتبط با بازدهی خوراک در مرغ، بیان افزایشی ژن کاندیدای *PCK1* با باقیمانده خوراک مصرفی کمتر و افزایش بازدهی خوراک گزارش شده است (Xiao *et al.,* 2021). بیان ژن *PCK1* به وسیله ترشح انسولین، گلوکوکورتیکوئید، گلوکاگون و آدنوزین مونوفسفات حلقه‌ای و رژیم غذایی، تنظیم می‌شود (UniProtKB).

با تجزیه و تحلیل پروفایل ترنسکریپتوم در مرغ با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌های با سرعت رشد کند، بیان افزایشی ژن‌های کاندیدای *MYO1E* و *MYO1A* با بازدهی بالاتر خوراک مصرفی گزارش شده است. بیان ژن‌های میوزین در بخش دئودنوم، نقش کلیدی در هضم روده‌ای و عملکرد جذب مواد مغذی دارند (Sinpru *et al.,* 2021).

در مطالعه‌ای با توالی‌یابی مجدد کل ژنوم مرغان تجاری با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با باقیمانده خوراک مصرفی، مشخص شد بیان افزایشی ژن کاندیدای *PLCB4* در هیپوتالاموس نقش کلیدی در تنظیم باقیمانده خوراک مصرفی بیشتر در نژاد تجاری مورد مطالعه دارد (Liu *et al.,* 2018).

مسیرهای زیستی Positive regulation of ossification و Positive regulation of cytosolic calcium ion concentration از مسیرهایی مهمی بودند که در ارتباط با خاکستر استخوان درشت‌نی و پا شناسایی شدند. مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی جایگاه‌های ژنی مرتبط با صفات توسعه سیستم اسکلتی در استخوان درشت‌نی در تلاقی بین نژادهای گوشتی و تخم‌گذار ژن *EDN1* گزارش شده است (Faveri *et al.,* 2019). همچنین با مطالعه پویش کل ژنومی در جمعیت F_2 حاصل از تلاقی بین لاین آرین با مرغ بومی آذربایجان، ژن *TMEM135* به عنوان ژن مرتبط با طول شانک گزارش شد (Emrani *et al.,* 2020).

تحلیل مسیرهای زیستی KEGG نشان‌دهنده این است که ژن‌های *PLCB1* و *PLCG1* به‌طور معنی‌داری با مسیر Calcium signaling pathway در ارتباط هستند. این مسیر زیستی نقش مهمی در رشد و توسعه استخوان دارد. در شکل ۲ مسیر سیگنالی کلسیم و ژن‌های مربوطه شناسایی شده از پایگاه برخط KEGG نشان داده شده است. ژن‌های کاندیدای *PLCB1* (فسفولیپاز C، β۱) و *PLCG1* (فسفولیپاز C، گاما۱) بخشی از خانواده پروتئینی فسفولیپازها بوده و نقش کاتالیزوری در تشکیل اینوزیتول تری فسفات (IP3) از فسفات دی‌اینوزیتول بی‌فسفات (PIP2) دارند. حضور یون کلسیم جهت انجام این واکنش ضروری است و نقش محوری در بسیاری از سیگنال‌های خارج سلولی دارد (Liang *et al.,* 2021). گزارش شده است ژن کاندیدای *PLCB1* نقش کلیدی در تفرق و تمایز میوبلاست دارد (Faenza *et al.,* 2004).

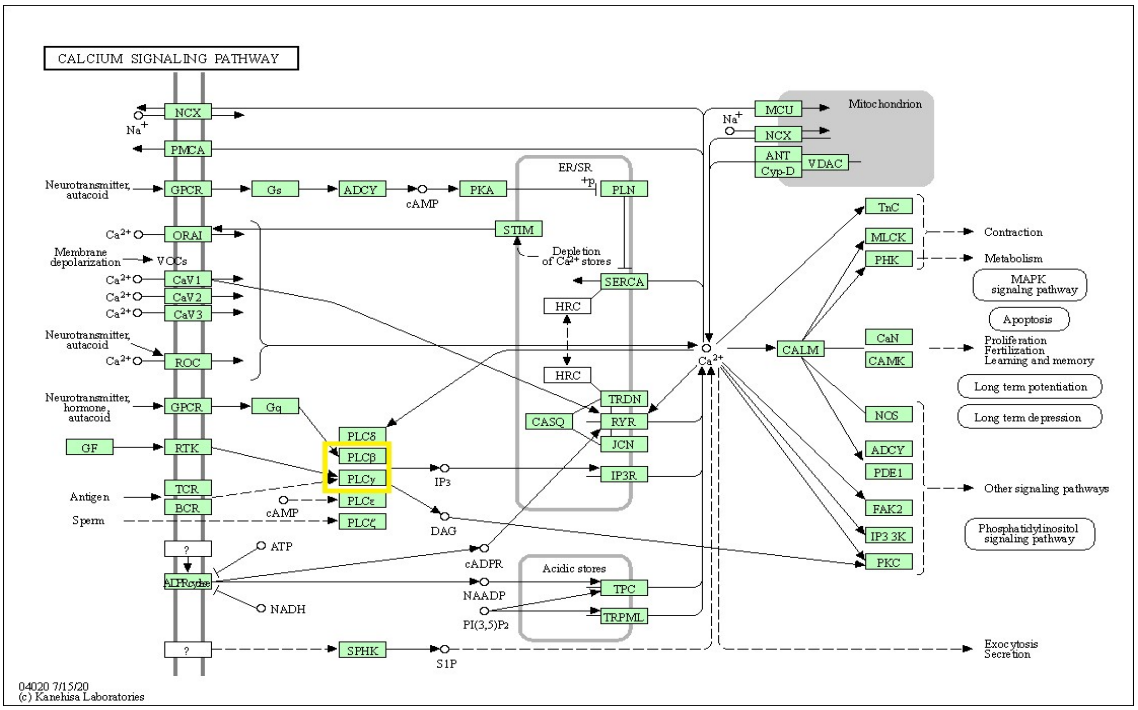

Fig. 2. Calcium signaling pathway and candidate genes related to bone traits (KEGG database)

شکل ۲- مسیر سیگنالی کلسیم و ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفات استخوان (پایگاه داده KEGG)

در مطالعه ژنومی با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با پوکی استخوان، ژن *PLCG1* به عنوان ژن کاندیدا گزارش شده است (Guo *et al.*, 2019). همچنین با مطالعه پویش کل ژنومی با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با قابلیت جذب فسفر، ژن *PLCB1* گزارش شده است (Vollmar *et al.*, 2021).

در این تحقیق، بیشتر ژن‌ها و جایگاه‌های ژنومی یافت شده در بلدرچین ژاپنی جدید هستند و هیچ‌گونه تحقیقی روی این ژن‌ها در بلدرچین ژاپنی انجام نشده است. با توجه به عملکرد زیستی ژن‌های کاندیدای شناسایی شده در این تحقیق که منطبق با گزارشات پویش ژنومی پیشین مخصوصاً در گونه مرغ است، می‌توان بروز فنوتیپی هر یک از صفات مورد مطالعه را توجیه کرد. البته باید توجه کرد که یکی از محدودیت‌های اجرای مطالعات پویش ژنومی، کافی نبودن تعداد رکوردهای فنوتیپی و جمعیت غیرخویشاوند برای تجزیه پیوستگی است که منجر به افزایش خطای نوع اول یا به عبارتی، شناسایی نشانگرهای معنی‌دار مثبت کاذب می‌شود (Seabury *et al.*, 2017). با توجه به تعداد کم نمونه مورد استفاده در پژوهش حاضر نیز باید در استفاده از ژن‌های کاندیدای شناسایی شده مرتبط با صفات مهم اقتصادی همچون وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک در برنامه‌های اصلاحی با احتیاط عمل کرد. البته می‌توان با ادغام داده‌های تحقیقات مشابه جدید و استفاده از تجزیه‌های آماری جامع‌تر جهت تأیید نتایج پژوهش حاضر استفاده کرد. از طرفی در این تحقیق به دلیل عدم دسترسی به رکوردهای فنوتیپی و اطلاعات ژنوتیپی مرتبط با صفات مورد مطالعه در بلدرچین‌های کشور، از اطلاعات فنوتیپی و ژنوتیپی لاین‌های بلدرچین ژاپنی کشور آلمان استفاده شد. لذا استفاده از نتایج این تحقیق در جمعیت-های بلدرچین کشور نیاز به مطالعات بیشتر دارد تا در این جمعیت‌ها نیز تأیید شوند. استفاده از ژن‌های عمده اثر شناسایی شده در پژوهش حاضر و سایر پژوهش‌های مرتبط می‌تواند در این زمینه کاربردی باشد. همچنین رکوردهای فنوتیپی اندازه‌گیری شده در تحقیق حاضر مربوط به سنین ۱۰ تا ۱۵ روزگی بود که نیاز است در سنین بعدی هم مورد مطالعه قرار گرفته تا تأثیر و نقش ژن‌های کاندیدای شناسایی شده بر صفات رشد در سنین بالاتر هم مشخص شود.

نتیجه‌گیری کلی

با بررسی منابع انجام شده، پژوهش حاضر اولین مطالعه پویش کل ژنومی بر پایه تجزیه مسیر مرتبط با صفات مهم اقتصادی در بلدرچین ژاپنی است. بنابراین در تجزیه و تحلیل‌ها تلاش شد از آزمون‌های پرکاربرد و سخت‌گیرانه برای شناسایی مسیرهای زیستی معنی‌دار استفاده شود. بررسی مناطق ژنومی شناسایی شده روی کروموزوم‌های ۲، ۳، ۴، ۵، ۱۰، ۱۸، ۲۰، ۲۴ و ۲۷ با استفاده از پایگاه داده نشان داد که این مناطق با صفات مهم اقتصادی مرتبط هستند. با توجه به عملکرد ژن‌های کاندیدای شناسایی شده در مسیرهای زیستی این پژوهش، به نظر می‌رسد می‌توان کارآیی روش تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مجموعه ژنی برای پویش ژنومی صفات تولیدی اقتصادی را نیز مورد تأیید قرار داد. به‌طور کلی مسیرهای شناسایی شده در این تحقیق می‌تواند محققان را به سمت ژن‌های مؤثر بر صفات هدایت کند و بررسی بیشتر نواحی مهم ژنومی شناسایی شده با استفاده از آزمون‌های آزمایشگاهی مختلف می‌تواند در تأیید نتایج حاصل از این پژوهش مؤثر باشند. استفاده از ژن‌های عمده اثر شناسایی شده در پژوهش حاضر و سایر پژوهش-های مرتبط می‌تواند در این زمینه کاربردی باشد.

تشکر و قدردانی

این اثر با حمایت مادی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF)، برگرفته شده از طرح شماره ۴۰۰۰۳۸۰، انجام شده است.

فهرست منابع

Abdelmanova, A. S., Dotsev, A. V., Romanov, M. N., Stanishevskaya, O. I., Gladyr, E. A., Rodionov, A. N., Vetokh, A. N., Volkova, N. A., Fedorova, E. S., Gusev, I. V., Griffin, D. K., Brem, G., & Zinovieva, N. A. (2021). Unveiling comparative genomic trajectories of selection and key candidate genes in egg-type Russian White and Meat-Type White Cornish chickens. *Biology (Basel)*, *10*(9), 876.

Ambo, M., Moura, A. S. A. M. T., Ledur, M. C., & Pinto, L. F. B. (2009). Quantitative trait loci for performance traits in a broiler x layer cross. *Animal Genetics*, *40*, 200-208.

Aarabi, H., Moradi Shahrbabak, M., Pakdel, A., Moradi Shahrbabak, H., & Esmailizadeh koshkoiyeh, A. (2016). Identification of novel SNP in promoter of Insulin-Like Growth Factor-I (IGF1) gene in Japanese quail by PCR-SSCP assay'. *Iranian Journal of Animal Science*, *47*(2), 303-312. [In Persian]

Awad, A., & El-Tarabany, M. S. (2015). Association of single nucleotide polymorphism in bone morphogenetic protein receptor 1B (BMPR-1B) gene with growth traits in chicken. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, *11*, 1-6.

Cha, J., Choo, H., Srikanth, K., Lee, S. H., Son, J. W., Park, M. R., Kim, N., Jang, G. W., & Park, J. E. (2021). Genome-wide association study identifies 12 loci associated with body weight at age 8 weeks in Korean native chickens. *Genes (Basel)*, *12*(8), 1170.

Dadousis, C., Pegolo, S., Rosa, G. J. M., Gianola, D., Bittante, G., & Cecchinato, A. (2017). Pathway-based genome-wide association analysis of milk coagulation properties, curd firmness, cheese yield, and curd nutrient recovery in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, *100*, 1223-1231.

Divya, D., Prakash, M. G., Chatterjee, R. N., Reddy, V. R., Reddy, Y. N., & Bhattacharya, T. K. (2018). Relative expression profile of AA genotype of BMP4 gene in broiler and layer chicken. *Journal of Animal Research*, *8*, 549-554.

Durinck, S., Spellman, P. T., Birney, E., & Huber, W. (2009). Mapping identifiers for the integration of genomic datasets with the R/bioconductor package biomaRt. *Nature Protocols*, *4*, 1184-1191.

Emrani, H., Masoudi, A. A., Vaez Torshizi, R., & Ehsani A. (2020). Genome-wide association study of shank length and diameter at different developmental stages in chicken F_2 resource population. *Animal Genetics*, *51*(5), 722-730.

Faenza, I., Bavelloni, A., & Fiume, R. (2004). Expression of phospholipase C beta family isoenzymes in C2C12 myoblasts during terminal differentiation. *Journal of Cell Physiology*, *200*, 291-296.

Faveri, J. C., Pinto, L. F. B., de Camargo, G. M. F., Pedrosa, V. B., Peixoto, J. O., Marchesi, J. A. P., Kawski, V. L., Coutinho, L. L., & Ledur, M. C. (2019). Quantitative trait loci for morphometric and mineral composition traits of the tibia bone in a broiler × layer cross. *Animal*, *13*(8), 1563-1569.

Guo, L., Han, J., Guo, H., Lv, D., & Wang, Y. (2019). Pathway and network analysis of genes related to osteoporosis. *Molecular Medicine Reports*, *20*(2), 985-994.

Jiao, J., Dang, Y., Yang, Y., Gao, R., Zhang, Y., Kou, Z., Sun, X. F., & Gao, S. (2013). Promoting reprogramming by FGF_2 reveals that the extracellular matrix is a barrier for reprogramming fibroblasts to pluripotency. *Stem Cells*, *31*(4), 729-740.

Khaltabadi Farahani, A. H., Mohammadi, H., Moradi, M. H., Ghasemi, H. A., & Hajkhodadadi, I. (2020). Gene set enrichment analysis to identify genes and biological pathways associated with body weight in chicken. *Animal Production Research*, *9*(3), 47-57. [In Persian]

Liang, S., Guo, H., Ma, K., Li, X., Wu, D., Wang, Y., Wang, W., Zhang, S., Cui, Y., Liu, Y., Sun, L., Zhang, B., Xin, M., Zhang, N., Zhou, H., Liu, Y., Wang, J., & Liu, L. (2021). A PLCB1-PI3K-AKT signaling axis activates EMT to promote cholangiocarcinoma progression. *Cancer Research*, *81*(23), 5889-5903.

Liu, J., Liu, R., Wang, J., Zhang, Y., Xing, S., Zheng, M., Cui, H., Li, Q., Li, P., Cui, X., Li, W., Zhao, G., & Wen, J. (2018). Exploring Genomic Variants Related to residual feed intake in local and commercial chickens by whole genomic resequencing. *Genes (Basel)*, *9*(2), 57.

Marchesi, J. A. P., Ono, R. K., Cantão, M. E., Ibelli, A. M. G., Peixoto, J. O., Moreira, G. C. M., Godoy, T. F., Coutinho, L. L., Munari, D. P., & Ledur, M. C. (2021). Exploring the genetic architecture of feed efficiency traits in chickens. *Scientific Reports*, *11*(1), 4622.

Mohammadi, H., Rafat, S. A., Moradi Shahrbabak, H., Shodja, J., & Moradi, M. H. (2020). Genome-wide association study and gene ontology for growth and wool characteristics in Zandi sheep. *Journal of Livestock Science and Technologies*, *8*(2), 45-55.

Mahmoudi Zarandi, M., Rokouei, M., Vafaei Valleh, M., & Maghsoudi, A. (2020). Estimation of genetic parameters for body weight gain and feed efficiency traits in Japanese quail. *Animal Production*, *22*(1), 9-22. [In Persian]

Najafi, M. H., Mohammadi, Y., Najafi, A., Shamsolahi, M., & Mohammadi, H. (2020). Lairage time effect on carcass traits, meat quality parameters and sensory properties of Mehraban fat-tailed lambs subjected to short distance transportation. *Small Ruminant Research*, *18*, 106122.

Peñagaricano, F., Weigel, K. A., Rosa, G. J., & Khatib, H. (2013). Inferring quantitative trait pathways associated with bull fertility from a genome-wide association study. *Frontiers in Genetics*, *3*, 307-314.

Piórkowska, K., Żukowski, K., Połtowicz, K., Nowak, J., Ropka-Molik, K., Derebecka, N., Wesoły, J., & Wojtysiak, D. (2020). Identification of candidate genes and regulatory factors related to growth rate through hypothalamus transcriptome analyses in broiler chickens. *BMC Genomics*, *21*(1), 509.

Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A. R., & Bender, D. (2007). PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *The American Journal of Human Genetics*, *81*, 559-575.

Rescan, P. Y. (2001). Regulation and functions of myogenic regulatory factors in lower vertebrates. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry & Molecular Biology*, *130*, 1-12.

Seabury, C. M., Oldeschulte, D. L., Saatchi, M., Beever, J. E., Decker, J. E., Halley, Y. A., Bhattarai, E. K., Molaei, M., Freetly, H. C., Hansen, S. L., Yampara-Iquise, H., Johnson, K. A., Kerley, M. S, Kim, J., Loy, D. D., Marques, E., Neibergs, H. L., Schnabel, R. D., Shike, D. W., Spangler, M. L., Weaber, R. L., Garrick, D. J,. & Taylor, J. F. (2017). Genome-wide association study for feed efficiency and growth traits in U.S. beef cattle. *BMC Genomics*, *18*(1), 386-396.

Srikanth, K., Lee, S. H., Chung, K. Y., Park, J. E., Jang, G. W., Park, M. R., Kim, N. Y., Kim, T. H., Chai, H. H., Park, W. C., & Lim, D. (2020). A gene-set enrichment and protein-protein interaction network-based GWAS with regulatory SNPs identifies candidate genes and pathways associated with carcass traits in Hanwoo cattle. *Genes (Basel)*, *11*(3), 316.

Sinpru, P., Riou, C., Kubota, S., Poompramun, C., Molee, W., & Molee, A. (2021). Jejunal Transcriptomic Profiling for Differences in Feed Conversion Ratio in Slow-Growing Chickens. *Animals (Basel)*, *11*(9), 2606.

Vollmar, S., Haas, V., Schmid, M., Preuß, S., Joshi, R., Rodehutscord, M., & Bennewitz, J. (2021). Mapping genes for phosphorus utilization and correlated traits using a 4k SNP linkage map in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Animal Genetics*, *52*(1), 90-98.

Wei, Y., Zhang, G. X., Zhang, T., Wang, J. Y., Fan, Q. C., Tang, Y., Ding, F. X., & Zhang, L. (2016). Myf5 and MyoG gene SNPs associated with Bian chicken growth trait. *Genetics and Molecular Research*, *15*(3), gmr.15037043.

Xiao, C., Deng, J., Zeng, L., Sun, T., Yang, Z., & Yang, X. (2021). Transcriptome Analysis Identifies Candidate Genes and Signaling Pathways Associated With Feed Efficiency in Xiayan Chicken. *Frontiers in Genetics*, *12*, 607719.

Xue, Q., Zhang, G., Li, T., Ling, J., Zhang, X., & Wang, J. (2017). Transcriptomic profile of leg muscle during early growth in chicken. *PLoS One*, *12*(3), e0173824.

Yang, J., Lee, S. H., Goddard, M. E., & Visscher, P. M. (2011). GCTA: a tool for genome-wide complex trait analysis. *American Journal of Human Genetics*, 88, 76-82.

Yang, X., Sun, J., Zhao, G., Li, W., Tan, X., Zheng, M., Feng, F., Liu, D., Wen, J., & Liu, R. (2021). Identification of major loci and candidate genes for meat production-related traits in broilers. *Frontiers in Genetics*, *12*, 645107.

Young, M. D., Wakefield, M. J., Smyth, G. K., & Oshlack, A. (2010). Method gene ontology analysis for RNA-seq: Accounting for selection bias. *Genome Biology*, *11*, 14-23.

Yuan, L., Ni, Y., Barth, S., Wang, Y., Grossmann, R., & Zhao, R. (2009). Layer and broiler chicks exhibit similar hypothalamic expression of orexigenic neuropeptides but distinct expression of genes related to energy homeostasis and obesity. *Brain Research*, *1273*, 18-28.

Zhang, Y., Wang, Y., Li, Y., Wu, J., Wang, X., Bian, C., Tian, Y., Sun, G., Han, R., Liu, X., Jiang, R., Wang, Y., Li, G., Li, W., Hu, X., & Kang, X. (2021). Genome-wide association study reveals the genetic determinism of growth traits in a Gushi-Anka F_2 chicken population. *Heredity*, *126*, 293-307.

Zhao, C., Raza, S. H. A., Khan, R., Sabek, A., Khan, S., Ullah, I., Memon, S., El-Aziz, A. H. A., Shah, M. A., Shijun, L., Wang, L., Liu, X., Zhang, Y., Gui, L., & Zan, L. (2020). Genetic variants in MYF5 affected growth traits and beef quality traits in Chinese Qinchuan cattle. *Genomics*, *112*(4), 2804-2812.