

Identification of genetic variants associated with navigation ability using analysis of hippocampus transcriptome data in racing homer and rock dove pigeons

E. Yaghoobi¹, M. Dadpasand^{2*}, H. Kharrati-Koopae³

1. Former MSc Student in Animal Genetics and Breeding, Department of Animal Science, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
2. Associate Professor, Department of Animal Science, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
3. Former Ph.D. Student, Department of Animal Science, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

(Received: 18-05-2024 – Revised: 22-07-2024 – Accepted: 23-07-2024)

Introduction: The racing homer pigeon is one of the most popular ecotypes that have a remarkable navigation ability, compared to the Rock dove pigeon, which has an undesirable navigation ability. Therefore, in this research, these two ecotypes were used for comparative genomics and identification of genetic variants associated with navigation traits and flight ability. Functional examination of related variants and genes can help identify putative genes associated with navigation mechanisms and elaboration of the relevant biological pathways. On the other hand, these pigeons can be used as an animal model to investigate biological processes related to memory and learning ability also identifying key genes and biological processes related to memory and learning processes. This study aimed to identify the genetic variants related to the navigation ability in two ecotypes of pigeons.

Materials and methods: Transcriptome data (eight samples) related to the hippocampus of Rock dove pigeons (weak routing ability) and Racing homer (good routing and long-distance homing ability) were downloaded from the EBI database with the accession number PRJNA532674. The reference genome and all available annotations related to pigeons were downloaded from the Ensembl database (<ftp://ftp.ensembl.org>). Data quality control was performed based on read length, GC content, unread bases, duplicate reads, and Phred index. To identify the variants, the fixed ploidy algorithm, and the following parameters were used. The score of the base variant was 30, the neighbor base score of the variant was 20, and the frequency of the base variant was set at 30%. Quality control of reads, mapping, and identification of different genetic variants between Rock and Homing groups were performed with CLC Genomics workbench software. The functional analysis of different variants was performed by gene ontology analysis by the VEP tool in the Ensembl database with a significance level of 5%. Gene ontology analysis was performed at three levels: molecular function (MF), biological processes (BP), and cellular components (CC).

Results and discussion: Around two million genetic variants, were identified for the eight samples (944325 for Racing homer and 1055277 for Rock dove pigeon), of which 2800 different genetic variants were reported between the two groups. The variants were classified into four categories including single nucleotide polymorphisms (71.1%), multiple nucleotide variants (16.8%), insertions (6.5%), and short deletions (5.5%) for Racing homer pigeons. The frequencies of corresponding variants for the Rock dove pigeon were 73.2%, 12.5%, 7.5%, and 68%, respectively. All reads showed an alignment of above 90% with the reference genome which indicated a good alignment. The results of the gene ontology analysis showed that different variants are related to the *LDHA* gene. This gene is important in the flight power and anaerobic metabolism of cells by coding the lactate dehydrogenase A enzyme. Birds with a mutated version of the *LDHA* gene perform better in competitions for flying power and navigation. Another finding of this study was the association of genetic variants with the *DRD4*

* Corresponding author: dadpasand@shirazu.ac.ir



gene, which is important in controlling behavioral patterns, memory, and learning. Protein metabolism pathways were also one of the important results of this research, due to their essential role in the differentiation of nervous system cells. For example, the Ubiquitin protein acts as a messenger for proteases by marking other proteins and facilitates the digestion of ineffective proteins in the cell. Also, this protein has a regulatory role in the activity of other proteins. One of the results of gene ontology analysis at the molecular function level was related to protein Serine/threonine kinase activity, which confirms the results of biological process analysis. Also, the *PIK3C2A* candidate gene was suggested for this molecular effector. This gene, by encoding Phosphatidylinositol 4-phosphate 3-kinase C2 domain-containing subunit alpha, plays a fundamental role in regulating cell activity such as the transfer of glucose to plasma, the secretion of insulin and the response to UV or other stresses.

Conclusions: The results of this study confirmed that the homing pigeon and rock pigeon ecotypes had different genetic potential in terms of navigation ability. Differences in routing ability between two studied ecotypes should be related to mutations and changes in genomic regions during evolution. However, the identified genetic variants must be confirmed under laboratory conditions using PCR or other techniques. The identified variants can be used as a model for further research into human diseases and the identification of paralog genes related to human memory and learning ability.

Keywords: Navigation ability, Homing pigeon, Rock pigeon, Hippocampus

Ethics statement: This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors.

Data availability statement: The data that support the findings of this study are openly available in the EBI database at <https://www.ebi.ac.uk/>, reference number PRJNA532674.

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

Funding: The authors received no specific funding for this project.

How to cite this article:

Yaghoobi, E., Dadpasand, M., & Kharrati-Koopae, H. (2024). Identification of genetic variants associated with navigation ability using analysis of hippocampus transcriptome data in racing homer and rock dove pigeons. *Animal Production Research*, 13(2), 15-24. doi: 10.22124/ar.2024.27467.1832



شناسایی واریانت‌های ژنتیکی مرتبط با مسیریابی با استفاده از واکاوی داده‌های ترنسکریپتوم هیپوکامپ در کبوترهای پلاکی و چاهی

الهام یعقوبی^۱، محمد دادپسند^{۲*}، حامد خراتی کوپایی^۳

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد دام، بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

۲- دانشیار، بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

۳- دانش‌آموخته دکتری تخصصی، بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۲۹ - تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۵/۰۱ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۰۲)

چکیده

هدف این پژوهش، شناسایی واریانت‌های ژنتیکی مرتبط با مسیریابی در کبوتر بود. داده‌های ترنسکریپتوم (هشت نمونه) مربوط به هیپوکامپ کبوترهای چاهی (دارای توان مسیریابی ضعیف) و پلاکی (دارای توان مسیریابی مطلوب) از پایگاه EBI با شماره دسترسی PRJNA532674 دانلود شد. کنترل کیفیت داده‌ها، نقشه‌گذاری داده‌ها و شناسایی واریانت‌های ژنتیکی متفاوت بین دو گروه چاهی و پلاکی با نرم‌افزار (12) CLC Genomics workbench انجام شد. حدود دو میلیون واریانت ژنتیکی برای هشت نمونه شناسایی شد، که ۲۸۰۰ واریانت ژنتیکی بین دو گروه متفاوت بود. نقش عملکردی واریانت‌های متفاوت، با تجزیه هستی‌شناسی به‌وسیله ابزار VEP در پایگاه Ensembl در سطح معنی‌داری پنج درصد انجام شد. نتایج تجزیه هستی‌شناسی نشان داد که واریانت‌های متفاوت با ژن *LDHA* در ارتباط هستند. این ژن با کد کردن آنزیم لاکتات دهیدروژناز A در قدرت پروازی و سوخت و ساز بی‌هوازی سلول‌ها دارای اهمیت است. پرندگان با نسخه جهش‌یافته ژن *LDHA* عملکرد بهتری در مسابقات برای قدرت پرواز و مسیریابی دارند. یکی دیگر از نتایج این پژوهش، مرتبط بودن واریانت‌های ژنتیکی با ژن *DRD4* بود که در کنترل الگوهای رفتاری، حافظه و یادگیری حائز اهمیت است. مسیرهای سوخت و ساز پروتئین‌ها نیز یکی از نتایج مهم این پژوهش بود زیرا پروتئین‌ها دارای نقش اساسی در تمایز سلول‌های سیستم عصبی هستند. برای نمونه، پروتئین Ubiquitin با نشان‌دار کردن سایر پروتئین‌ها به‌عنوان پیام‌رسان برای پروتئازها عمل می‌کند و عمل هضم پروتئین‌های ناکارآمد را در سلول تسهیل می‌کند. همچنین، این پروتئین دارای نقش تنظیمی برای فعالیت سایر پروتئین‌ها است.

واژه‌های کلیدی: توانایی مسیریابی، کبوتر پلاکی، کبوتر چاهی، هیپوکامپ

* نویسنده مسئول: dadpasand@shirazu.ac.ir

مقدمه

بیان متفاوتی در هیپوکامپ هستند و دارای نقش کلیدی در کنترل حافظه و جهت‌یابی هستند. علاوه بر این، ژن *GSR* (رمزکننده گلوکوکورتیکون-دی سولفید ردوکتاز) نیز برای توان مسیریابی پیشنهاد شده است. ژن *GSR* به شدت در لایه سلول رنگدانه بصری بیان می‌شود و در شرایط آزمایشگاهی، وجود میدان مغناطیسی باعث افزایش غلظت یون کلسیم در سلول‌های بیان‌کننده *GSR* در کبوتر می‌شود. این یافته‌ها از اهمیت هیپوکامپ (در حافظه و جهت‌یابی) و نقش بالقوه *GSR* در جهت‌یابی مغناطیسی کبوتر حمایت می‌کند (Shapiro et al., 2013). پژوهش دیگری نشان داد که چندشکلی رمزکننده گیرنده دوپامین *D4* (*DRD4*) با عملکرد پروازی کبوترها در ارتباط است (Proskura et al., 2015). در جدیدترین پژوهش برای مطالعه مسیرهای ژنتیکی موثر بر توان مسیریابی کبوترهای خانگی با استفاده از فناوری نسل جدید توالی‌یابی، از اطلاعات ژنومی و ترنسکریپتومی اکوتیپ‌های گوناگون کبوتر که قدرت جهت‌یابی متفاوتی داشتند، استفاده شد. بیان ژن‌ها در بخش‌های مختلف مغز شامل لوب بویایی، هیپوکامپ و لوب بینایی مورد ارزیابی قرار گرفت. بیشترین تعداد ژن‌هایی که دارای بیان ژن افتراقی معنی‌دار بودند در ناحیه هیپوکامپ (۲۳۴ ژن) مشاهده شدند (Shao et al., 2020). هیپوکامپ در لوب‌های گیجگاهی قرار دارد که به-عنوان تنظیم‌کننده حافظه عمل می‌کند، به طوری که خاطرات را برای ذخیره‌سازی طولانی مدت و بازیابی آن‌ها در صورت لزوم، به بخش مناسب ناحیه قشری نیمکره‌های مغز می‌فرستد. تحقیقات نشان داده است که زیرمجموعه‌های مختلف هیپوکامپ، نقش‌های متفاوتی را در حافظه ایفا می‌کنند. از نمونه ژن‌های شناسایی شده در هیپوکامپ می‌توان به *MAPK8IP2* اشاره نمود که در حافظه و یادگیری دارای اهمیت هستند. نتایج واکاوی نشانه‌های انتخاب در بین اکوتیپ‌های گوناگون کبوتر نشان داد که ژن *GSR* بر اساس شاخص F_{st} دارای بیشترین میزان تغییرات و جهش‌ها طی تکامل بوده است. یافته‌ها نشان می‌دهند که این ژن برای جهت‌یابی مغناطیسی در کبوترها حائز اهمیت است (Ritz et al., 2000; Shao et al., 2020). کبوتر پلاکی یکی از محبوب‌ترین اکوتیپ‌ها برای شناسایی مسیر و قدرت

کبوتر خانگی (*Columba livia domestica*) از گذشته‌های دور به‌عنوان پرنده زینتی برای تفریح، مسابقه، نامه‌رسانی و غیره مورد استفاده بوده است (Shcherbakov and Winkelhofer, 1999). نگهداری و پرورش کبوتر برای اهداف گوناگون از دیرباز در ایران وجود داشته است. وجود کبوترخانه یا برج کبوتر، بهترین شاهد تاریخی بر این مدعا است، اما برخی شواهد نشان می‌دهند که پیشینه این سازه‌ها در ایران به ۱۲۰۰ سال قبل باز می‌گردد. علاوه بر تامین نیاز کود و گوشت، نگهداری کبوترهای زینتی و توان مسیریابی کبوترها نیز از ویژگی‌های جذاب برای پرورش‌دهندگان به‌شمار می‌رود (Akherati, 2012). این کبوترها قادر هستند با تشخیص و جهت‌یابی مسیر با طی مسافت‌های طولانی به میدا اولیه یا زادگاه خود برگردند. این نوع از کبوترهای خانگی به دلیل قدرت مسیریابی و یادگیری، همواره برای استفاده‌های گوناگون مورد علاقه بشر بوده‌اند. از طرف دیگر، این پرندگان می‌توانند به‌عنوان یک مدل جانوری برای بررسی فرآیندهای زیستی مرتبط با قدرت مسیریابی جانوران و شناسایی ژن‌های کلیدی در رابطه با حافظه و یادگیری راه‌گشا باشند (Biro et al., 2004). اطلاعات ناچیزی در مورد ژنتیک جهت‌یابی پرندگان وجود دارد (Liedvogel et al., 2010; Delmore and Liedvogel, 2016). آزمایش‌های انجام شده روی پرندگان وحشی نشان می‌دهد که مبنای وراثتی جهت‌گیری در طول دوره‌های مهاجرت اغلب ساده است و با تعداد اندکی از مکان‌های ژنی بزرگ اثر همراه است (Pulido et al., 2003). یکی از اولین نظریه‌ها در ارتباط با قدرت مسیریابی کبوترها بررسی ژن *CASK*، به‌عنوان یک ژن دخیل در تشکیل اتصالات عصبی عضلانی است که طی فرآیند انتخاب طبیعی برای افزایش توانایی ورزشی (برای مثال عضله) و پروازهای طولانی گزارش شده است (Gazda et al., 2018). یافته‌های علمی با استفاده از اطلاعات ژنومی ۹۵ کبوتر از نژادهای مختلف و مقایسه ژنوم‌های جمعیت کبوتر خانگی با ژن‌های سایر نژادها، نشان داد که نشانه‌های انتخاب در رابطه با بسیاری از ژن‌های دخیل در سیستم عصبی مرکزی به‌ویژه یادگیری و حافظه مانند *LRP8* وجود دارند. علاوه بر این، بسیاری از ژن‌های سیستم عصبی دارای

نقشه‌گذاری و شناسایی واریانت‌ها: بعد از انجام کنترل کیفیت و حصول اطمینان از کیفیت خوانش‌ها، نقشه‌گذاری خوانش‌ها در برابر ژنوم مرجع بر اساس فراسنجه‌های زیر انجام شد: جریمه هر باز ناجور، میزان جریمه حذف و یا اضافه سه و میزان تشابه خوانش‌ها در ژنوم رفرنس، ۸۰ درصد در نظر گرفته شد (Doan et al., 2012). برای شناسایی واریانت‌ها از الگوریتم پلوتیدی تثبیت شده و فراسنجه‌های زیر استفاده شد: امتیاز باز واریانت برابر با ۳۰، امتیاز بازهای مجاور واریانت برابر با ۲۰ و فراوانی باز واریانت نیز ۳۰ درصد در نظر گرفته شد.

نتایج

کنترل کیفیت و ویرایش داده‌های توالی‌یابی شده: تمام فایل مربوط به توالی‌یابی RNA-seq کبوترها با فرمت FASTQ برای ارزیابی شاخص‌های کنترل کیفیت مانند طول خوانش‌ها، محتوای GC، بازهای خوانده نشده، خوانش‌های تکراری و شاخص Phred بررسی شدند. نتایج کنترل کیفیت داده‌ها تاییدکننده کیفیت مطلوب خوانش‌ها بود. بنابراین، ویرایشی روی داده‌ها انجام نشد. درصد هم‌ردیفی خوانش‌ها با ژنوم رفرنس برای تمام نمونه بالای ۹۰ درصد بود که نشان دهنده کیفیت بالای هم‌ردیفی با ژنوم مرجع است (جدول ۲).

شناسایی واریانت‌های ژنتیکی و مقایسه آن‌ها: در این پژوهش، ۹۴۴۳۲۵ واریانت ژنتیکی برای گروه کبوتر پلاکی و ۱۰۵۵۲۷۷ واریانت ژنتیکی برای گروه کبوتر چاهی گزارش شد. واریانت‌های گزارش شده در چهار دسته شامل چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی، واریانت‌های چندگانه نوکلئوتیدی، و اضافه و حذف‌های کوتاه قرار گرفتند. شکل ۱ فراوانی هر کدام از واریانت‌ها را در نمونه‌های پلاکی و چاهی نشان می‌دهد. واریانت‌های ژنتیکی شناسایی شده در هر هشت نمونه به صورت دو به دو با یکدیگر مقایسه شدند و ۲۸۰۰ واریانت ژنتیکی متفاوت بین دو گروه پلاکی و چاهی گزارش شدند. شکل ۲ جزئیات فراوانی واریانت‌های متفاوت بین دو گروه را نشان می‌دهد.

جهت‌یابی است. در مقابل، کبوتر چاهی دارای کمترین توان مسیریابی است و قادر به طی مسافت‌های طولانی نیست (Shao et al., 2020). بنابراین، در این پژوهش از دو اکوتیپ پلاکی و چاهی برای مقایسه ژنومی و شناسایی ژن‌های مرتبط با صفات مسیریابی و توان پروازی استفاده شد. بررسی عملکردی واریانت‌ها و ژن‌های مرتبط می‌تواند در شناسایی ژن‌های موثر و توضیح مسیرهای زیستی مربوطه راهگشا باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری داده‌ها، دانلود ژنوم رفرنس و انوتیشن‌ها: داده‌های ترنسکریپتوم هیپوکامپ از کبوتر چاهی (دارای قدرت مسیریابی کم) و کبوتر پلاکی (دارای قدرت مسیریابی مطلوب) (در مجموع هشت نمونه) از پایگاه مسیریابی (EBI) (<https://www.ebi.ac.uk>) با شماره دسترسی PRJNA532674 دانلود شدند. داده‌های RNA-seq مورد استفاده با پلت‌فرم Illumina Hiseq 2000 و با طول خوانش ۱۵۰ جفت باز توالی‌یابی شده بودند (جدول ۱). پژوهشی کلیدی با بررسی ترنسکریپتوم بخش‌های مختلف مغز در اکوتیپ‌های متفاوت کبوتر از نظر توان مسیریابی، نشان داد که بافت هیپوکامپ دارای بیشترین ژن‌هایی است که دارای بیان افتراقی معنی‌دار هستند (Shao et al., 2020). بنابراین، از داده‌های ترنسکریپتوم بافت هیپوکامپ مقاله مذکور برای این پژوهش استفاده شد. ژنوم مرجع و تمامی انوتیشن‌های موجود و مربوط به کبوتر از پایگاه مسیریابی (Ensembl) (<ftp://ftp.ensembl.org>) دانلود شد. واکاوی داده‌های RNA-seq برای کلیه مراحل شناسایی واریانت‌های ژنتیکی با نرم‌افزار CLC Genomics workbench (12) انجام شد.

کنترل کیفیت و ویرایش داده‌ها: کنترل کیفیت داده‌ها بر اساس طول خوانش‌ها، محتوای GC، بازهای خوانده نشده، خوانش‌های تکراری و شاخص Phred انجام گرفت. با توجه به اینکه توالی آداپتورهای داده‌های مورد استفاده به وسیله کمپانی ایلومینا حذف شده بودند، ویرایشی برای حذف آداپتورها انجام نگرفت.

جدول ۱- مشخصات داده‌های جمع‌آوری شده برای شناسایی واریانت‌ها در دو اکوتیپ کبوتر پلاکی و چاهی

Table 1. Characteristics of the data for variant detection in Homing and Rock dove pigeon

Ecotype	Accession Number	Ecotype	Accession Number
Racing homer	SRR10102921	Rock dove	SRR10102952
Racing homer	SRR10102910	Rock dove	SRR10102951
Racing homer	SRR10102899	Rock dove	SRR10102950
Racing homer	SRR10102898	Rock dove	SRR10102949

جدول ۲- نتایج هم‌ردیفی خوانش‌ها در برابر ژنوم رفرنس در کبوترهای پلاکی و چاهی

Table 2. Results of mapping against reference genome for Homing and Rock pigeons

Ecotype	Aligned reads	Read length	Alignment (%)
Racing homer	32585945	150	90.60
Racing homer	33465560	150	90.49
Racing homer	36943766	150	90.46
Racing homer	35001851	150	90.00
Rock dove	34889068	150	89.50
Rock dove	35168145	150	90.85
Rock dove	29130847	150	90.51
Rock dove	34184725	150	90.15

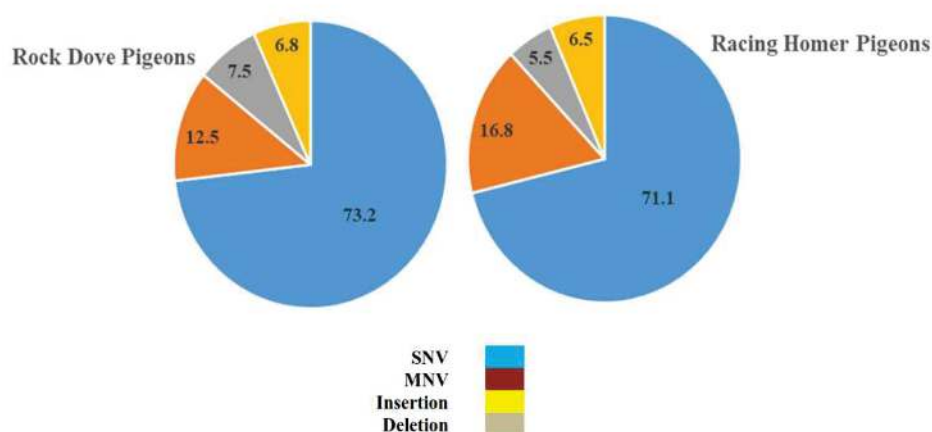


Fig. 1. Frequency of detected genetic variants including SNV, MNV, Insertion, and Deletion

شکل ۱- فراوانی واریانت‌های ژنتیکی شناسایی شده شامل SNV، MNV، Insertion و Deletion

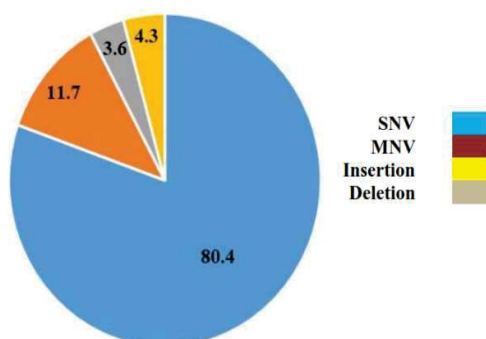


Fig. 2. Frequencies of different genetic variants between rock and homing pigeons including SNV, MNV, Insertion, and Deletion

شکل ۲- فراوانی واریانت‌های ژنتیکی متفاوت بین گروه چاهی و پلاکی به تفکیک شامل SNV، MNV، Insertion و Deletion

که عمدتاً دارای نسخه جهش یافته ژن *LDHA* هستند. پژوهش‌ها نشان دادند پرندگان دارای ژنوتیپ AA و AB (هموزیگوت مغلوب و هتروزیگوت) شکلی از لاکتات دهیدروژناز تولید می‌کنند که توانایی استفاده و یا مدیریت سطوح لاکتات در سلول‌های عضلانی را در طول فعالیت‌های شدید در مقایسه با فرم غیرجهش یافته موجود (ژنوتیپ BB) بهبود می‌بخشد. بنابراین، عملکرد بالاتر کبوترهای AA و AB در مقایسه با کبوترهای BB، ارزش آن‌ها را در رقابت و برای پرورش افزایش می‌دهد (Kolvenbag *et al.*, 2022). همچنین، در پژوهشی، چندشکلی جایگاه ژن *LDHA* در ۴۴۵ نمونه از کبوترهای مسابقه‌ای و غیرمسابقه‌ای در کشور لهستان بررسی شد. نتایج به دست آمده نشان داد که فراوانی آلل جهش یافته (A) در کبوترهای مسابقه‌ای نسبت به غیرمسابقه‌ای بیشتر است. بنابراین، با توجه به اهمیت این جهش در قدرت پروازی برای طی مسافت‌های طولانی می‌توان بیان نمود که با انتخاب این جهش در نسل‌های متوالی، فراوانی آن در کبوترهای مسابقه‌ای گسترش بیشتری پیدا کرده است (Dybus *et al.*, 2006).

در تایید نتایج پژوهش حاضر، مشخص شده است که عملکرد ژن *LDHA* با استقامت کبوتر برای طی مسافت‌های طولانی در ارتباط است، به نحوی که ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی ژن *LDHA* و صفت ارزش‌های اصلاحی کل مسافت مسابقه‌ای طی شده گزارش شده است. علاوه بر این، پیشنهاد شده است که از این ژن می‌توان در روش انتخاب به کمک نشانگر در برنامه‌های اصلاح نژادی برای بهبود توان پروازی کبوتر سود جست (Ramadan *et al.*, 2018). وجود مسیر Cytosolic calcium ion homeostasis در سطح BP نیز تاییدکننده نتایج مربوط به نقش *LDHA* است. پژوهش‌های متعددی تاییدکننده نقش کلیدی یون کلسیم برای فعالیت انقباضی عضلات هستند (Du *et al.*, 2021; Rall, 2021). برای این مسیر، ژن *TRPC6* گزارش شد. این ژن کدکننده کانالی در غشای سلولی است که ورود و خروج یون‌های کلسیم و سدیم را در سلول تنظیم می‌کند و از این راه، هموستازی یون کلسیم را کنترل می‌نماید (UniProtKB: Q9Y210).

ژن *DRD4* یکی از دیگر از نتایج قابل توجه این پژوهش بود. این ژن دارای نقش کلیدی در الگوهای رفتاری و درک محیطی است. اختلال در عملکرد این ژن عمدتاً در ارتباط

تجزیه هستی‌شناسی، مقایسه واریانت‌های شناسایی شده در بین دو گروه مورد مطالعه نشان داد که ۲۸۰۰ واریانت متفاوت بین دو گروه پلاکی و چاهی وجود دارد. نتایج هستی‌شناسی واریانت‌های متفاوت بین دو گروه چاهی و پلاکی در جدول ۳ خلاصه شده است. قابل ذکر است که تجزیه هستی‌شناسی در سه سطح عملکرد مولکولی (MF)، فرآیندهای زیستی (BP) و اجزای سلولی (CC) انجام شد. نتایج به دست آمده از تجزیه هستی‌شناسی در سطح BP نشان داد که یک واریانت ژنتیکی متفاوت در بین دو گروه کبوتر با ژن لاکتات دهیدروژناز A (*LDHA*) مرتبط است. لاکتات دهیدروژناز A یک آنزیم متابولیک حیاتی متعلق به خانواده‌ای از اکسیدوردوکتازهای ۲-هیدروکسی اسید است که نقش کلیدی در سوخت و ساز بی‌هوازی در سلول‌ها ایفا می‌کند. یکی دیگر از نتایج قابل توجه این پژوهش، نقش ژن *DRD4* بود. گیرنده‌های دوپامین کنترل‌کننده سیگنال-های عصبی هستند که در الگوهای رفتاری و درک محیطی حائز اهمیت هستند. مسیرهای مربوط به سوخت و ساز پروتئین‌ها نیز یکی دیگر از نتایج قابل توجه این پژوهش بود. پروتئین‌ها در تمایز سلول‌های بدن به‌ویژه سیستم عصبی نقش اساسی دارند. برای مثال، مسیر مربوط به کاتابولیسم پروتئین وابسته به Ubiquitin است که این فرآیند زیستی با کمک پروتئینی کوچکی به نام Ubiquitin انجام می‌گیرد. Ubiquitin با نشان‌دار کردن سایر پروتئین‌ها به‌عنوان پیام‌رسان برای پروتئاز عمل می‌کند و عمل هضم پروتئین‌های ناکارآمد را در سلول تسهیل می‌کند. همچنین، Ubiquitin می‌تواند موجب افزایش یا کاهش اثر متقابل بین پروتئین‌ها شود و بدین شکل بر فعالیت آنها تأثیر بگذارد (Mukhopadhyay *et al.*, 2007). نتایج هستی‌شناسی در سطح CC نشان داد که محیط داخل سلول و شبکه انتقال دستگاه گلژی دارای بیشترین فراوانی است. همچنین، ژن *MON2* برای این موقعیت سلولی گزارش شده است.

بحث

یکی از نتایج مهم این پژوهش ارتباط واریانت‌های ژنتیکی با ژن *LDHA* بود. این ژن با کد کردن آنزیم لاکتات دهیدروژناز A دارای نقش کلیدی در سوخت و ساز هوازی سلول است. کبوترهای مسابقه‌ای با قدرت مسیریابی بالا دارای عملکرد بهتری برای بازسازی سریع‌تر عضلات و در نتیجه، مقاومت بیشتر برای طی مسافت‌های طولانی هستند

بخش گسترده‌ای از نتایج به‌دست آمده در نتایج هستی‌شناسی مربوط به سوخت و ساز پروتئین‌ها بود. نشان داده شد که پروتئین‌ها در کنترل ارتباط نوروگلیالی و احتمالاً در حافظه و شکل‌پذیری سیناپسی نقش دارند. بنابراین، واریانتهای مرتبط با پروتئین‌ها می‌توانند در رابطه با حافظه و یادگیری حائز اهمیت باشند. برای نمونه، نتایج نشان دادند که Protein neddylation می‌تواند به‌عنوان یک مسیر زیستی که در رشد، توسعه و حیات سلول‌ها دخیل است، مورد توجه قرار گیرد. در این فرآیند، پروتئین کوچکی

با اختلالات تمرکز و یادگیری است. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که ژن *DRD4* بر عملکرد پس‌سیناپسی دوپامین تأثیر می‌گذارد و در بسیاری از فرآیندهای عصبی نقش دارد. این ژن با گیرنده‌های دوپامین در سیستم عصبی مرکزی حیوانات مرتبط است و در فرآیندهای عصبی مانند انگیزش یا یادگیری نقش دارد. به‌طور مشابه در پژوهشی دیگر، ارتباط چندشکلی چهار جهش تکنوکلتویدی (SNP) در نواحی اگزونی و اینترونی ژن *DRD4* با صفات مسیریابی مورد بررسی قرار گرفت که نشان‌دهنده ارتباط معنی‌دار SNPها و صفات مربوط به مسیریابی بود (Proskura et al., 2015).

جدول ۳- خلاصه نتایج واکاوی هستی‌شناسی در سطوح MF، BF و CC برای واریانتهای ژنتیکی متفاوت در بین دو گروه کبوتر پلاکی و چاهی

Table 3. Summary of the gene ontology enrichment analysis in BF, MF, and CC levels for different genetic variants between Rock and Homing pigeons

Item	Gene Ontology	Gene	Variant
Biological Process	Protein ubiquitination involved in ubiquitin-dependent protein catabolic process	<i>SMURF2</i>	SNV
	Protein neddylation	<i>UBA3</i>	SNV
	stimulates the production of the enzyme lactate dehydrogenase	<i>LDHA</i>	SNV
	Intracellular signal transduction	<i>PRKCZ</i>	SNV
	Phosphatidylinositol 3-kinase cascade	<i>GATA3</i>	Insertion
	Heterophilic cell-cell adhesion	<i>CADM2</i>	SNV
	Membrane organization	<i>SGCG</i>	SNV
	Stress-activated protein kinase signaling	<i>TAOK1</i>	SNV
	Phosphorylation	<i>EPHA7</i>	SNV
	Signal transduction by phosphorylation	<i>STK3</i>	Deletion
	Mesenchymal cell differentiation	<i>TGFBR2</i>	SNV
	Dopamine receptors	<i>DRD4</i>	SNV
	Cytosolic calcium ion homeostasis	<i>TRPC6</i>	SNV
	Membrane fusion	<i>STX18</i>	SNV
	Membrane depolarization involved in regulation of action potential	<i>SCN5A</i>	SNV
	Microtubule-based movement	<i>KIF23</i>	SNV
Molecular Function	ARF guanyl-nucleotide exchange factor activity	<i>MON2</i>	SNV
	Histone binding	<i>NCAPD2</i>	Deletion
	Kinase activity	<i>ATM</i>	SNV
	Nucleocytoplasmic transporter activity	<i>NUP133</i>	SNV
	Protein serine/threonine kinase activity	<i>RPS6KA2</i>	SNV
	Ubiquitin-protein ligase activity	<i>AP4S1</i>	Insertion
	3'-5'-exoribonuclease activity	<i>DIS3L2</i>	SNV
	Store-operated calcium channel activity	<i>TRPC7</i>	SNV
1-phosphatidylinositol-3-kinase activity	<i>TMEM201</i>	SNV	
Cellular Component	Trans-Golgi network	<i>MON2</i>	SNV
	Intracellular	<i>PIK3C2G</i>	Deletion
	Receptor complex	<i>LRP6</i>	SNV
	Cell-cell junction	<i>GPA33</i>	Insertion
	Microtubule cytoskeleton	<i>TACC3</i>	SNV
	SAGA complex	<i>ENY2</i>	SNV
Sarcoglycan complex	<i>SGCZ</i>	SNV	

عضلانی اسکلتی، مصرف خوراک و قابلیت جذب داشتند (Mohammadi *et al.*, 2023).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش تاییدکننده متفاوت بودن پتانسیل ژنتیکی اکوتیپ‌های پلاکی و چاهی در مسیریابی است. به عبارت دیگر در سطح ژنوم، وجود جهش و تغییرات ژنتیکی در ژن‌های کاندیدای موثر بر مسیریابی موجب توانمندی اکوتیپ پلاکی در طی نمودن مسافت‌های طولانی و در نهایت، مسیریابی شده است. اگرچه واریانت‌های ژنتیکی شناسایی شده باید در شرایط آزمایشگاهی به‌وسیله PCR یا سایر روش‌ها تایید شوند، اما نتایج به‌دست آمده در همین سطح نیز نشان‌دهنده پتانسیل ژنتیکی قابل توجه کبوتر پلاکی برای صفت مسیریابی است. بدین ترتیب، استفاده از داده‌های اومیکس می‌تواند تصویر روشن‌تری از ساز و کارهای تعیین قدرت مسیریابی ارائه نماید. علاوه بر این، نتایج این پژوهش قادر به توضیح برخی از مسیرهای مرتبط با مسیریابی در کبوتر است. پیشنهاد می‌شود از نتایج حاصل به‌عنوان یک مدل حیوانی برای بررسی بیماری‌های انسانی مرتبط با اختلال‌های حافظه و یادگیری (آلزایمر) استفاده شود.

به‌نام NEDD8 با اتصال به پروتئین هدف و به‌عنوان یکی از تغییرات پس از ترجمه، باعث بهبود نقش تنظیمی پروتئین‌ها می‌شود (Dharmasiri *et al.*, 2003; Xirodimas 2008). نتایج مشابهی نشان دادند که تجمع مولکول موتانت NEDD8 به‌میزان محدودی می‌تواند بر میزان رشد تاثیرگذار باشد که این امر نشان‌دهنده نقش کلیدی این پروتئین در رشد و حفظ هموستازی سلول‌های عصبی است (Mergner *et al.*, 2017). یکی از نتایج مهم هستی‌شناسی در سطح CC، وجود مسیر مرتبط با شبکه انتقال دستگاه گلزی بود. همچنین، ژن *MON2* برای این موقعیت سلولی گزارش شد که در فرآیندهای آندوسیتوز و بسته‌بندی پروتئین‌ها و انتقال آن‌ها به‌وسیله دستگاه گلزی مشارکت دارد (Uniprot: P48563). در تایید نتایج این تحقیق، پژوهش‌های گوناگونی نشان دادند که شبکه انتقال دستگاه گلزی علاوه بر انتقال، در بیوسنتز برخی پروتئین‌ها نیز مشارکت دارند که از این مسیر می‌تواند بر سوخت و ساز کلی پروتئین‌ها و بهره‌وری بهتر آنها اثرگذار باشد (Groen *et al.*, 2015). در بلدرچین ژاپنی نیز گزارش شد که مسیرهای بیوشیمیایی MAPK signaling pathway و Calcium signaling pathway نقش مهمی در توسعه الیاف

فهرست منابع

- Akherati, A. (2012). Pigeon flying, hostages and analysis of pigeon fancier relationships. *Anthropology Letter*, 10(17), 15-42. [In Persian]
- Biro, D., Meade, J., & Guilford, T. (2004). Familiar route loyalty implies visual pilotage in the homing pigeon. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(50), 17440-17443. doi: 10.1073/pnas.0406984101
- Delmore, K. E., & Liedvogel, M. (2016). Investigating factors that generate and maintain variation in migratory orientation: a primer for recent and future work. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 10, 3. doi: 10.3389/fnbeh.2016.00003
- Dharmasiri, S., Dharmasiri, N., Hellmann, H., & Estelle, M. (2003). The RUB/Nedd8 conjugation pathway is required for early development in Arabidopsis. *The EMBO Journal*, 22(8), 1762-1770. doi: 10.1093/emboj/cdg190
- Doan, R., Cohen, N. D., Sawyer, J., Ghaffari, N., Johnson, D. C., & Dindot, S. V. (2012). Whole-genome sequencing and genetic variant analysis of a Quarter Horse mare. *BMC Genomics*, 13(87), 1471-2164. doi: 10.1186/1471-2164-13-78
- Du, X., Zhi, J., Yang, D., Wang, Q., Luo, X., & Deng, X. (2021). Research progress in the mechanism of calcium ion on contraction and relaxation of airway smooth muscle cells. *Journal of Receptors and Signal Transduction*, 41(2), 117-122. doi: 10.1080/10799893.2020.1806315
- Dybus, A., Pijanka, J., Cheng, Y. H., Sheen, F., Grzesiak, W., & Muszyńska, M. (2006). Polymorphism within the LDHA gene in the homing and non-homing pigeons. *Journal of Applied Genetics*, 47, 63-66. doi: 10.1007/BF03194601
- Gazda, M. A., Andrade, P., Afonso, S., Dilytè, J., Archer, J. P., Lopes, R. J., Faria, R., & Carneiro, M. (2018). Signatures of selection on standing genetic variation underlie athletic and navigational performance in racing pigeons. *Molecular Biology and Evolution*, 35(5), 1176-1189. doi: 10.1093/molbev/msy030

- Groen, B. B., Horstman, A. M., Hamer, H. M., De Haan, M., Van Kranenburg, J., Bierau, J., & Van Loon, L. J. (2015). Post-prandial protein handling: you are what you just ate. *PLoS One*, *10*(11), e0141582. doi: 10.1371/journal.pone.0141582
- Kolvenbag, G., Scott, M., de Kloet, A., & de Kloet, E. Prospective study relating genotype profiles with race performance in racing pigeons. *Journal of Applied Genetics*. 2022 Sep;63(3):563-570. doi: 10.1007/s13353-022-00697-w. Epub 2022 May 4. PMID: 35505002; PMCID: PMC9365715. doi: 10.1007/s13353-022-00697-w
- Liedvogel M., & Mouritsen H. (2010). Cryptochromes—a potential magnetoreceptor: what do we know and what do we want to know? *Journal of the Royal Society Interface*, *7*(2), 147-162. doi: 10.1098/rsif.2009.0411.focus
- Mergner, J., Kuster, B., & Schwechheimer, C. (2017). DENEDDYLASE1 protein counters automodification of neddylation enzymes to maintain NEDD8 protein homeostasis in Arabidopsis. *Journal of Biological Chemistry*, *292*(9), 3854-3865. doi: 10.1074/jbc.M116.767103
- 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), 65-76. doi: 10.22124/AR.2023.20946.1657 [In Persian]
- Mukhopadhyay, D., & Riezman, H. (2007). Proteasome-independent functions of ubiquitin in endocytosis and signaling. *Science*, *315*(5809), 201-205. doi: 10.1126/science.1127085
- Proskura, W. S., Kustos, J., Dybus, A., & Lanckriet, R. (2015). Polymorphism in dopamine receptor D4 gene is associated with pigeon racing performance. *Animal Genetics*, *46*(5), 586-587. doi: 10.1111/age.12328
- Pulido, F., & Berthold, P. (2003). Quantitative genetic analysis of migratory behaviour. In *Avian migration* (pp. 53-77). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. doi: 10.1007/978-3-662-05957-9_4
- Rall, J. A. (2022). Discovery of the regulatory role of calcium ion in muscle contraction and relaxation: Setsuro Ebashi and the international emergence of Japanese muscle research. *Advances in Physiology Education*, *46*(3), 481-490. doi: 10.1152/advan.00108.2022
- Ritz, T., Adem, S., & Schulten, K. (2000). A model for photoreceptor-based magnetoreception in birds. *Biophysical Journal*, *78*(2), 707-718. doi: 10.1016/S0006-3495(00)76629-X
- Ramadan, S., Miyake, T., Yamaura, J., & Inoue-Murayama, M. (2018). LDHA gene is associated with pigeon survivability during racing competitions. *PLoS One*, *13*(5), e0195121. doi: 10.1371/journal.pone.0195121
- Shao, Y., Tian, H. Y., Zhang, J. J., Kharrati-Koopae, H., Guo, X., Zhuang, X. L., Li, M. L., Nanaie, H. A., Dehghani Tafti, E., Shojaei, B., & Reza Namavar, M. (2020). Genomic and phenotypic analyses reveal mechanisms underlying homing ability in pigeon. *Molecular Biology & Evolution*, *37*(1), 134-148. doi: 10.1093/molbev/msz208
- Shapiro, M. D., Kronenberg, Z., Li, C., Domyan, E. T., Pan, H., Campbell, M., Tan, H., Huff, C. D., Hu, H., Vickrey, A. I., & Nielsen, S. C. (2013). Genomic diversity and evolution of the head crest in the rock pigeon. *Science*, *339*(6123), 1063-1067. doi: 10.1126/science.1230422
- Shcherbakov, V. P., & Winklhofer, M. (1999). The osmotic magnetometer: a new model for magnetite-based magnetoreceptors in animals. *European Biophysics Journal*, *28*(5), 380-392. doi: 10.1007/s002490050222
- Xirodimas, D. P. (2008). Novel substrates and functions for the ubiquitin-like molecule NEDD8. *Biochemical Society Transactions*, *36*(5), 802-806. doi: 10.1042/BST0360802