

## بررسی ژنومی ساختار جمعیتی و عدم تعادل پیوستگی در برخی از نژادهای گوسفند بومی ایران

• زهره یوسفی

دانشجوی دکتری ژنتیک و اصلاح نژاد دام و استاد، گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

• محمد تقی بیگی نصیری (نویسنده مسئول)

استاد، گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

• محمد حسین مرادی

استادیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه اراک

• رستم عبداللهی آرپناهی

استادیار، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران

• مسعود شیرعلی

پژوهشگر مرکز علوم بالینی مغز، دانشگاه ادینبرو، انگلستان

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۷

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۶۱۱۸۴۸۶۹

Email: mt\_nassiri@yahoo.com

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2018.120574.1639

### چکیده

فن آوری‌های ژنومی مانند تعیین ژنوتیپ با کارایی بالا بر اساس آرایه‌های SNP، پتانسیل بالایی برای رمزگشایی معماری ژنتیکی صفات پیچیده دارد و اطلاعات زمینه‌ای در مورد ساختار ژنوم در حیوانات اهلی، از قبیل میزان عدم تعادل پیوستگی (LD) فراهم می‌کند. در این پژوهش، از آرایه ژنومی Illumina Ovine SNP50K BeadChip برای تخمین و مقایسه عدم تعادل پیوستگی، اندازه مؤثر جمعیت ( $N_e$ ) و هتروزیگوسیتی در سه جمعیت گوسفند ایرانی شامل گوسفند افشاری (۴۱ رأس)، مغانی (۳۵ رأس) و قزل (۳۵ رأس) استفاده شد. میانگین LD (اندازه‌گیری شده توسط  $r^2$ ) بین SNPهای مجاور با میانگین فاصله ۵۸، ۵۶ و ۵۶ کیلو باز برای همه کروموزوم‌ها به ترتیب  $0.151 \pm 0.207$ ،  $0.131 \pm 0.190$  برای نژاد مغانی و  $0.121 \pm 0.184$  برای نژاد قزل بود. کروموزوم ۲ در نژاد افشاری و قزل و ۱۲ در نژاد مغانی بیشترین میانگین  $r^2$  را در کروموزوم‌های اتوزوم هر نژاد داشتند. نژاد قزل بالاترین مقدار تنوع ژنتیکی را بر اساس اندازه مؤثر جمعیت و هتروزیگوسیتی نشان داد، در حالی که کمترین مقدار تنوع ژنتیکی در نژاد افشاری مشاهده شد. با توجه به مقادیر پایین عدم تعادل پیوستگی در این بررسی، نتایج مشخص کرد برای به دست آمدن صحت ۸۵ درصدی در بررسی‌های انتخاب ژنومی و مطالعات پویش پیوستگی ژنومی به آرایه‌های با تراکم نشانگری بالاتر از 50Kb نیاز خواهد بود.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 121 pp: 241-252

### Genomic study of population structure and linkage disequilibrium in some Iranian indigenous sheep breeds

By: Zohreh Yousefi<sup>1</sup>, Mohammad Taghi Beige Nasiri<sup>\*2</sup>, Mohammad Hossein Moradi<sup>3</sup>, Rostam Abdollahi Arpanahi<sup>4</sup> and Masoud Shirali<sup>5</sup>

1. Ph.D. Student, Department of Animal Science, Ramin Agricultural and Natural Resources University, Iran

2. Professor, Department of Animal Science, Ramin Agricultural and Natural Resources University, Iran

3. Assistant Professor, Department of Animal Science, College of Agricultural and Natural Resources, Arak University, Iran

4. Assistant Professor, Department of Animal Science, Aburaihan campus University of Tehran, Iran

5. Research Fellow Centre for Clinical Brain Sciences, University of Edinburgh, UK

Received: February 2018

Accepted: April 2018

Genomic technologies, such as high-throughput genotyping based on SNP arrays, have great potential to decipher the genetic architecture of complex traits and provide background information concerning genome structure in domestic animals, including the extent of linkage disequilibrium (LD). In this study, Illumina OvineSNP50 BeadChip array was used to estimate and compare LD, effective population size ( $N_e$ ) and heterozygosity in three Iranian sheep populations consisting Afshari ( $N=41$ ), Moghani ( $N=35$ ) and Qezel ( $N=35$ ) breeds. The average LD (measured by  $r^2$ ) estimated for all pairwise combinations of SNPs with average distance 58, 56 and 56 Kb were  $0.151 \pm 0.207$  for Afshari,  $0.131 \pm 0.190$  for Moghani and  $0.121 \pm 0.148$  for Qezel breeds, respectively. The highest averages of  $r^2$  on autosomes were obtained for chromosome 2 in Afshari and Qezel and chromosome 12 in Moghani breeds. The Qezel breed showed highest genetic diversity based on effective population size and heterozygosity, whereas the lowest value was found in Afshari breed. Due to low LD values estimated in this study, the results showed to achieve the genomic prediction accuracy of 85% in genomic selection and association studies, the density of marker must be higher than 50K SNPChip.

**Key words:** Linkage disequilibrium, sheep, Effective population size, Heterozygosity, Genome structure

#### مقدمه

ویژگی‌های تولیدی و انطباقی، کنار آمدن با شرایط محیطی جدید، تغییرات در تقاضای بازار، شیوه‌های پرورش و چالش‌های بیماری را تضمین می‌کند (Boettcher و همکاران، 2010). یکی از پیامدهای نامطلوب برنامه‌های اصلاح‌نژادی از بین رفتن تنوع ژنتیکی عمدتاً به دلیل افزایش میزان همخونی و حذف آلل‌های جمعیت پایه از طریق انتخاب و رانش است (VoZZi و همکاران، 2007).

در سال‌های اخیر استفاده از فن‌آوری ژنومی از قبیل آرایه‌های

انواع نشخوارکنندگان کوچک بومی، نقش مهمی در زندگی بخش قابل توجهی از جمعیت انسانی به‌خصوص در مناطق استوایی، بازی می‌کنند. آن‌ها عمدتاً تحت سیستم‌های تولید کم بهره توسط پرورش‌دهندگان محلی نگهداری می‌شوند و به خوبی با خشکی و شرایط آب و هوایی سخت که در مناطق استوایی شایع است، سازگار هستند (Kosgey and Okeyo, 2007). در نژادهای بومی، حفظ تنوع ژنتیکی نیاز مهمی برای استراتژی‌های پرورش حیوانات است؛ این امر پاسخ انتخاب به بهبود

2003). در بیشتر موارد، جوامع دامی بومی کشورهای در حال توسعه اطلاعات شجره قابل اعتمادی ندارند و جمع آوری اطلاعات جمعیت‌شناسی<sup>۴</sup> کافی برای محاسبه مستقیم  $N_e$  در چنین جوامعی دشوار است. در غیاب اطلاعات شجره‌ای، از طریق آرایه‌های SNP با تراکم بالا، تنوع ژنتیکی را می‌توان با دقت بالا تخمین زد (Li و همکاران، 2011).

دسترسی به تراشه‌های SNP ژنومی گوسفند اطلاعات ارزشمندی برای مطالعه ساختار ژنوم، آنالیز مطالعات ارتباطی ژنوم، انتخاب ژنومی و همچنین مدیریت منابع ژنتیکی در جمعیت گوسفندان ایرانی فراهم می‌آورد. بنابراین، هدف از این پژوهش توصیف و مقایسه الگوی عدم تعادل پیوستگی، سطح تنوع و ساختار ژنتیکی سه نژاد مهم گوسفندان بومی ایران شامل افشاری، مغانی و قزل است.

### مواد و روش‌ها

در این مطالعه برای تعیین LD، آنالیز تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت در گوسفندان بومی ایران از اطلاعات ژنوتیپی نژادهای افشاری (۴۱ رأس)، مغانی (۳۵ رأس) و قزل (۳۵ رأس) موجود در پروژه Hap Map گوسفندی استفاده شد. این پروژه شامل اطلاعات ژنوتیپی ۲۸۱۹ حیوان از ۷۴ نژاد با منشأ متنوع در سراسر جهان است که منابع قابل توجهی برای رمزگشایی اساس ژنتیکی تنوع فنوتیپی در گوسفند فراهم می‌کند. تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها با استفاده از آرایه‌های Ovine SNP 50K BeadChip شرکت Illumina انجام شد. برای اطمینان از کیفیت داده‌های حاصل از تعیین ژنوتیپ در آنالیزهای پایانی، مراحل ویرایش روی داده‌های اولیه اعمال شد. مراحل ویرایش داده‌های ژنومی با استفاده از نرم افزار PLINK نسخه ۱/۹ انجام شد (Purcell و همکاران، 2007). ابتدا حیوانات با بیش از پنج درصد ژنوتیپ از دست رفته از آنالیزهای بعدی حذف شدند. سپس SNP‌هایی که حداقل فراوانی آللی<sup>۵</sup> (MAF) آن‌ها در جامعه حیوانات مورد استفاده کمتر از پنج درصد بود، شناسایی و از آنالیزهای بعدی کنار گذاشته شدند. در مرحله بعد، از بین SNP‌های باقیمانده آن‌هایی که از تعادل هاردی-واینبرگ انحراف داشتند، به عنوان معیاری از

چندشکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) با تراکم بالا توسعه یافته است. کاربرد این آرایه‌ها پتانسیل بسیار بالایی برای افزایش درک معماری ژنتیکی صفات پیچیده، بهبود کارایی انتخاب در حیوانات اهلی از طریق انتخاب ژنومی (Garcia-Gamez و همکاران، 2012) و انجام مطالعات پویس کل ژنومی (Karlsson و همکاران، 2007) دارد. با این حال، آگاهی از میزان عدم تعادل پیوستگی<sup>۱</sup> (LD)، ارتباط غیرتصادفی آلل‌ها در موقعیت‌های مختلف در ژنوم، برای طراحی مطلوب مطالعات ارتباطی کل ژنوم بسیار مهم است. در واقع، میزان LD اغلب برای تعیین تعداد مطلوب نشانگرهای مورد نیاز برای نقشه‌یابی ژنتیکی از جایگاه صفات کمی<sup>۲</sup> (QTL) (Meuwissen and Goddard, 2000)، انتخاب ژنومی (Meuwissen و همکاران، 2001) و درک تاریخ تکاملی جمعیت‌ها (Hayes و همکاران، 2003) استفاده می‌شود. با توجه به این نکته، تعیین مقدار LD در بین نژاد-های مختلف که احتمالاً بر موفقیت آزمایشات نقشه‌یابی ژن‌ها تأثیر دارد، مهم می‌باشد (Meadows و همکاران، 2008). آگاهی از میزان تنوع ژنتیکی، همچنین سطح هم‌خونی و ساختار جمعیت برای هر یک از این برنامه‌ها، حیاتی می‌باشد (Kijas و همکاران، 2009). مقایسه میزان LD بین نژادها در مورد سطح تنوع ژنومی در گونه حاوی اطلاعات مفیدی است و می‌تواند به درک الگو-های انتخابی که نژادهای مختلف تحت آن قرار گرفته‌اند، کمک کند. با توجه به اهمیت موضوع، مطالعات مختلفی در انواع گونه-های دامی به عنوان مثال گاو (Espigolan و همکاران، 2013؛ Porto-Neto و همکاران، 2014)، خوک (Uimari and Tapio, 2011)، اسب (Corbin و همکاران، 2010)، مرغ (Rao و همکاران، 2008) و گوسفند (Kijas و همکاران، 2014؛ Meadows و همکاران، 2008؛ Garcia-Gamez و همکاران، 2012) انجام شده است. علاوه بر این، اندازه مؤثر جمعیت<sup>۳</sup> ( $N_e$ ) نیز پارامتر مهمی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در جمعیت دام اهلی و توسعه آن در طول زمان می‌باشد. اگر اطلاعات شجره در دسترس نباشد، آنالیز LD ممکن است دیدگاه جایگزینی برای تخمین  $N_e$  ارائه دهد (Hayes و همکاران،

<sup>4</sup> Demography

<sup>5</sup> Minor allele frequency

<sup>1</sup> Linkage disequilibrium

<sup>2</sup> Quantitative trait locus

<sup>3</sup> Effective population size

محاسبه شد (Purcell و همکاران، 2007). همچنین برای تخمین اندازه مؤثر جمعیت برای هر نژاد در ۵ نسل قبل از بسته SNeP نسخه ۱/۱ استفاده شد (Barbato و همکاران، 2015).

### نتایج و بحث

پس از مرحله ویرایش داده‌ها، در نهایت ۴۳۱۱۳ SNP از ۳۷ نمونه نژاد افشاری، ۴۳۹۹۲ SNP از ۳۴ نمونه نژاد مغانی و ۴۴۴۲۸ SNP از ۳۵ نمونه نژاد قزل روی کروموزوم اتوزوم برای تجزیه و تحلیل‌های بعدی انتخاب شدند. مراحل مختلف ویرایش داده‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. مقدار LD در ابتدا برای هر جفت SNP مجاور مورد بررسی قرار گرفت. مقدار  $r^2$  به عنوان معیاری از LD استفاده شد، زیرا مناسب‌ترین مقدار از LD برای نشانگر-های دو آللی می‌باشد (Zhao و همکاران، 2007) و نسبت به دیگر آماره‌ها به فراوانی آللی وابستگی کمی دارد (Khatkar و همکاران، 2008). میانگین فاصله فیزیکی بین جفت SNP‌های مجاور برای کل ژنوم اتوزومی حدود ۵۸Kb برای نژاد افشاری و ۵۶Kb برای نژادهای مغانی و قزل بود (جدول ۲). دامنه  $r^2$  از ۰/۱۶۵ ± ۰/۱۱۰ در کروموزوم ۱۳ تا ۰/۱۵۶ ± ۰/۲۱۶ در کروموزوم ۱۲ برای نژاد مغانی و ۰/۰۹۹ ± ۰/۱۵۵ در کروموزوم ۱۹ تا ۰/۱۴۹ ± ۰/۲۱۳ در کروموزوم ۲ برای نژاد قزل بود، در حالی که بالاترین مقدار  $r^2$  در میان کروموزوم‌ها در نژاد افشاری در دامنه ۰/۱۹۳ ± ۰/۱۳۰ در کروموزوم ۱۷ تا ۰/۱۸۳ ± ۰/۲۳۷ در کروموزوم ۲ مشاهده شد (جدول ۲). در بررسی بارانی و همکاران (1396) کروموزوم‌های ۲۴ و ۲۵ در نژاد بلوچی، کروموزوم ۹ و ۲۱ در نژاد لری بختیاری و کروموزوم ۲۳ و ۲۴ در نژاد زل بیشترین میانگین  $r^2$  را نشان دادند. همچنین در مطالعه‌ای روی گوسفندان استرالیایی بالاترین میانگین LD بین SNP‌های مجاور در کروموزوم ۱۰ مشاهده شد (Al-Mamun و همکاران، 2015). در پژوهش حاضر، میانگین LD در سطح کروموزوم بین نژادها و بین کروموزوم‌ها متفاوت بود (جدول ۲). تفاوت در مقدار LD مابین کروموزوم‌ها در گوسفند (Mastrangelo و همکاران، 2014؛ Garcia-Gamez و همکاران، 2012) و همچنین در گاو (Qanbari و همکاران، 2010) قبلاً گزارش شده است.

خطای تعیین ژنوتیپ (Teo و همکاران، 2007) حذف شدند. برای این منظور سطح احتمال معنی‌داری خطای تعیین ژنوتیپ<sup>۶</sup>  $P < 10^{-6}$  که با استفاده از تصحیح بن‌فرونی<sup>۶</sup> به دست می‌آید، در نظر گرفته شد. در نهایت نشانگرهایی که دارای ژنوتیپ از دست رفته بودند، توسط نرم افزار BEAGLE نسخه ۳ جایگذاری<sup>۷</sup> شدند (Browning and Browning, 2009). به طور کلی در مراحل مختلف ویرایش داده‌ها در مطالعات ساختار ژنتیکی، نشانگرهای موجود در کروموزوم جنسی X به خاطر الگوی متفاوت توارثی در محاسبات وارد نمی‌شوند. در میان آماره‌های پیشنهاد شده برای تخمین LD در جمعیت،  $D'$  (Lewontin, 1964) و  $r^2$  (Hill, 1974) دو پارامتر آماری هستند که به طور گسترده برای اندازه‌گیری مقدار LD استفاده می‌شوند.  $r^2$  به علت حساسیت کمتر به اختلاف در اندازه نمونه و فراوانی آللی به عنوان آماره قوی‌تر شناخته شده است (Du و همکاران، 2007). مقدار LD بین دو SNP با استفاده از  $r^2$  تعریف شده به عنوان ضریب همبستگی بین جفت SNP‌ها بر اساس معادله زیر ارزیابی شد (Hill and Weir, 1994):

$$r^2 = \frac{(freqAB * freqab - freqAb * freqaB)^2}{(freqA * freqa * freqB * freqb)}$$

در معادله فوق،  $freqA$ ،  $freqa$ ،  $freqB$  و  $freqb$  به ترتیب فراوانی آلل‌های A، a، B و b و  $freqAB$ ،  $freqab$ ،  $freqAb$  و  $freqaB$  به ترتیب فراوانی هاپلو تیپ‌های AB، ab، aB و Ab در جمعیت هستند. مقدار  $r^2$  برای تمام جفت نشانگرهای هر کروموزوم با استفاده از بسته Synbreed در محیط R نسخه ۳/۰/۳ محاسبه شد (Wimmer و همکاران، 2012). برای داشتن دیدگاه کلی در خصوص ساختار جمعیتی نمونه‌های مورد آنالیز، تجزیه مؤلفه‌های اصلی<sup>۸</sup> (PCA) بر اساس ماتریس خوشاوندی ژنومی با استفاده از بسته نرم‌افزاری GeneABEL در محیط R برای شناسایی حیوانات خارج گروه‌های نژادی، انجام شد. برای ارزیابی تنوع ژنتیکی دو آماره هتروزیگوسیتی مشاهده شده<sup>۹</sup> (Ho) و مورد انتظار<sup>۱۰</sup> (He) توسط نرم افزار PLINK نسخه ۱/۹

<sup>6</sup> Bonferroni correction

<sup>7</sup> Impute

<sup>8</sup> Principal Component Analysis

<sup>9</sup> Observed heterozygosity

<sup>10</sup> Expected heterozygosity

جدول ۱- توصیف مراحل کنترل کیفیت داده‌های حاصل از تعیین ژنوتیپ مربوط به هر نژاد

افشاری	مغانی	قزل
۴۱	۳۵	۳۵
۴	-۱	-۱
۴۹۰۱۸	۴۹۰۱۸	۴۹۰۱۸
۴۶۶۰	۳۷۰۶	۳۲۴۹
۱	۳۶۰	۷۲۸
۲۰۴	۲۱۳	۲۱۶
۱۰۳۹	۷۴۷	۳۹۷
۴۳۱۱۳	۴۳۹۹۲	۴۴۴۲۸

تعداد کل حیوانات تعیین ژنوتیپ شده

حیوانات حذف شده با  $Call Rate \leq 95\%$

تعداد کل SNP های اولیه

SNP های حذف شده با  $MAF \leq 5\%$  در مجموع نمونه‌ها

SNP های حذف شده خارج از تعادل هاردی-واینبرگ ( $P < 1 \times 10^{-6}$ )

SNP های حذف شده با موقعیت کروموزومی نامشخص

SNP های حذف شده با موقعیت کروموزومی X

تعداد کل SNP ها بعد از کنترل کیفیت

۰/۰۷۵، ۰/۰۵۰ و ۰/۰۳۸ در فاصله ۲۰۰-۵۰۰ Kb برآورد شد. مقایسه سطوح LD به دست آمده در مطالعات مختلف به دلیل تفاوت در عوامل مختلفی از قبیل اندازه نمونه، نوع اندازه‌گیری LD ( $r^2$  یا  $D'$ )، انواع نشانگر (ریز ماهاواره یا SNP)، تراکم و توزیع نشانگر و دموگرافی جمعیت، ساده نیست (Qanbari و همکاران، 2010). کاهش مقدار LD در ژنوم، قدرت تشخیص QTL را در مطالعات نقشه‌یابی پیوستگی مشخص می‌کند و به تعیین تعداد نشانگر مورد نیاز برای نقشه‌یابی ارتباطی و انتخاب ژنومی موفق کمک می‌کند (Mastrangelo و همکاران، 2014).

میانگین مقدار  $r^2$  در نشانگرهای مجاور برای همه کروموزوم‌های اتوزوم محاسبه و به صورت پلات به‌عنوان تابعی از فاصله فیزیکی بین نشانگرها نشان داده شد (شکل ۱). سطوح LD جفتی با افزایش فاصله بین SNP ها همانطور که در شکل ۱ نشان داده شد، کاهش می‌یابد. چنانچه پیداست نرخ کاهش LD در نژاد افشاری نسبت به نژاد مغانی و قزل پایین‌تر است. این نتایج می‌تواند به دلیل نرخ نوترکیبی متغیر بین و درون کروموزوم‌ها، تفاوت در طول کروموزوم، هتروزیگوسیتی، رانش ژنتیکی و اثر انتخاب بین کروموزوم‌ها و نژادها باشد (Qanbari و همکاران، 2010). اثر انتخاب بر LD به جهت، شدت، مدت زمان و پایداری انتخاب در طول زمان بستگی دارد. عدم تعادل پیوستگی در سطح ژنوم گوسفند اسپانیایی دارای میانگین  $r^2$  برابر ۰/۰۶۱ در فاصله ۲۰۰-۵۰۰ Kb بود (Garcia-Gamez و همکاران، 2012)، در حالی که این میزان در گوسفندان شیری سیسیلی نژاد والد دل-بلیس<sup>۱۱</sup>، کامیسانا<sup>۱۲</sup> و پینزیریتا<sup>۱۳</sup> در فاصله ۲۰۰-۵۰۰ Kb به ترتیب برابر ۰/۰۷۴، ۰/۰۶۷ و ۰/۰۴۱ گزارش شده است (Mastrangelo و همکاران، 2014). قلی‌زاده و همکاران (1393) میانگین  $r^2$  را در گوسفندان نژاد بلوچی ۰/۰۸۶ برای نشانگرهای با فاصله ۲۰۰ تا ۵۰۰ کیلو باز گزارش کردند. در مطالعه حاضر، میانگین  $r^2$  برای نژاد افشاری، مغانی و قزل به ترتیب

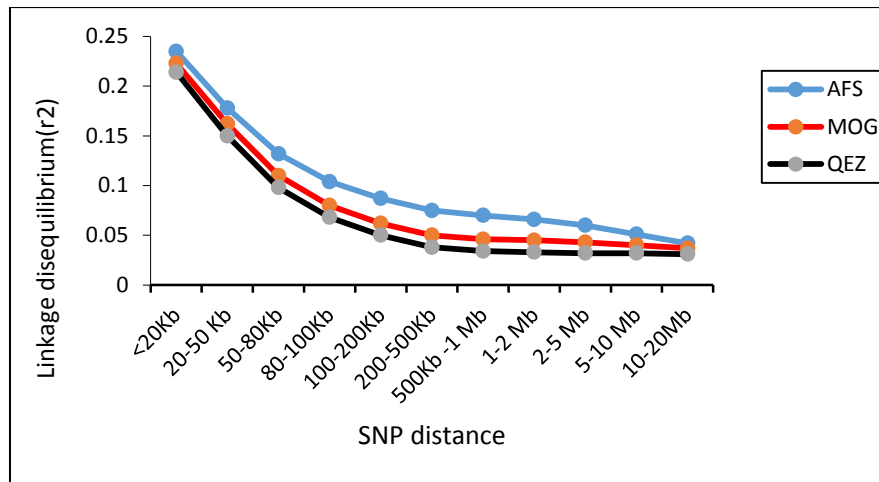
<sup>11</sup> Valle del Belice

<sup>12</sup> Comisana

<sup>13</sup> Pinzirita

جدول ۲ - میانگین فاصله (bp)، عدم تعادل پیوستگی ( $r^2$ ) و انحراف استاندارد (s.d.) بین چندشکلی های تک نوکلئوتیدی مجاور (SNPs) در هر کروموزوم در نژادهای گوسفند ایرانی

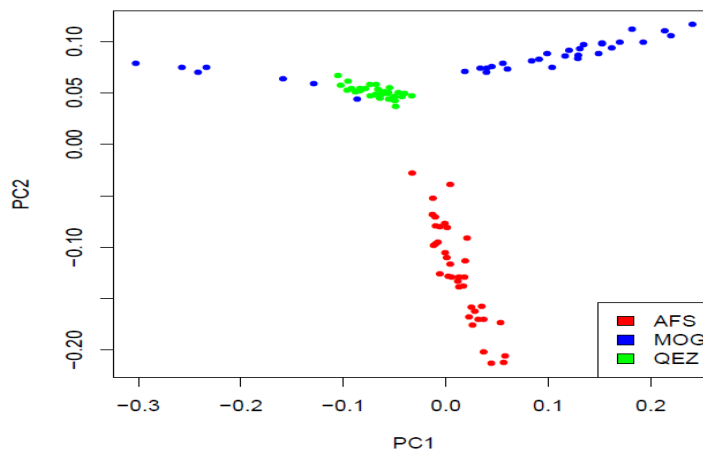
افشاری		مغانی		قزل		کروموزوم
$r^2 \pm s.d.$	میانگین فاصله	$r^2 \pm s.d.$	میانگین فاصله	$r^2 \pm s.d.$	میانگین فاصله	
۰/۱۵۷±۰/۲۰۹	۵۶۷۶۶/۱۸	۰/۱۳۷±۰/۱۹۵	۵۶۲۶۷/۵۲	۰/۱۲۵±۰/۱۸۸	۵۵۵۹۷/۴	۱
۰/۱۸۳±۰/۲۳۷	۵۷۶۲۰/۲۳	۰/۱۵۴±۰/۲۲۰	۵۵۹۸۳/۷۳	۰/۱۴۹±۰/۲۱۳	۵۵۲۱۷/۸۲	۲
۰/۱۴۹±۰/۲۰۶	۶۳۰۷۸/۷	۰/۱۱۸±۰/۱۷۸	۶۰۸۶۸/۲۲	۰/۱۱۱±۰/۱۶۹	۶۰۸۰۷/۸۹	۳
۰/۱۵۲±۰/۲۰۴	۵۶۰۴۶/۵۶	۰/۱۳۱±۰/۱۸۳	۵۴۹۸۹/۸۲	۰/۱۱۷±۰/۱۸۱	۵۳۹۳۵/۲۲	۴
۰/۱۶۲±۰/۲۲۳	۵۹۲۸۲/۷۳	۰/۱۴۱±۰/۲۱۰	۵۷۱۵۸/۱۹	۰/۱۳۱±۰/۲۰۰	۵۶۸۰۵/۸۵	۵
۰/۱۴۳±۰/۲۰۱	۶۵۵۲۰/۵۴	۰/۱۱۸±۰/۱۷۷	۶۳۱۳۷/۹۷	۰/۱۱۱±۰/۱۷۷	۶۳۲۰۱/۸۱	۶
۰/۱۵۴±۰/۲۰۷	۵۷۶۰۱	۰/۱۳۸±۰/۱۹۸	۵۶۹۰۵/۰۴	۰/۱۲۳±۰/۱۸۷	۵۶۲۲۵/۷	۷
۰/۱۴۱±۰/۲۰۰	۵۵۳۰۵/۱۸	۰/۱۱۸±۰/۱۷۲	۵۴۶۹۵/۷۵	۰/۱۱۹±۰/۱۷۶	۵۴۰۰۸/۳۲	۸
۰/۱۵۴±۰/۲۰۹	۶۰۲۴۱/۶۹	۰/۱۳۲±۰/۱۹۳	۵۹۴۴۶/۴۲	۰/۱۱۵±۰/۱۸۲	۵۸۷۱۹/۶۹	۹
۰/۱۵۵±۰/۲۰۷	۵۷۹۵۵/۰۶	۰/۱۳۰±۰/۱۸۵	۵۵۶۰۴/۷۵	۰/۱۲۱±۰/۱۷۹	۵۵۵۱۳/۲۲	۱۰
۰/۱۶۰±۰/۲۱۹	۵۸۵۵۱/۲۳	۰/۱۳۵±۰/۱۹۸	۵۷۳۷۶/۸۵	۰/۱۲۲±۰/۱۸۲	۵۷۲۶۷/۴۶	۱۱
۰/۱۷۳±۰/۲۲۵	۵۴۲۶۶/۸۲	۰/۱۵۶±۰/۲۱۶	۵۳۳۴۷/۰۵	۰/۱۴۵±۰/۲۱۱	۵۲۴۸۰/۰۷	۱۲
۰/۱۳۴±۰/۱۸۳	۵۶۹۳۲/۴۹	۰/۱۱۰±۰/۱۶۵	۵۴۹۵۸/۶۷	۰/۱۰۸±۰/۱۷۲	۵۵۱۶۱/۷۵	۱۳
۰/۱۳۹±۰/۱۹۲	۶۹۰۶۸/۱۴	۰/۱۱۹±۰/۱۷۶	۶۸۴۰۴/۰۳	۰/۱۰۶±۰/۱۷۴	۶۷۳۸۵/۸۳	۱۴
۰/۱۶۵±۰/۲۲۰	۵۶۷۵۰/۲۹	۰/۱۳۲±۰/۱۹۴	۵۳۷۳۴/۸۶	۰/۱۱۴±۰/۱۸۰	۵۳۸۵۵/۲۵	۱۵
۰/۱۴۱±۰/۱۸۷	۶۶۳۰۱/۵۴	۰/۱۱۶±۰/۱۷۰	۶۵۱۸۶/۰۶	۰/۱۰۸±۰/۱۶۲	۶۴۲۴۰/۳۶	۱۶
۰/۱۳۰±۰/۱۹۳	۶۷۶۳۱/۹۶	۰/۱۱۸±۰/۱۸۲	۶۶۴۵۲/۹۶	۰/۱۰۶±۰/۱۷۰	۶۶۸۷۶/۹	۱۷
۰/۱۳۱±۰/۱۸۸	۵۳۹۴۳/۲۲	۰/۱۲۱±۰/۱۸۳	۵۳۳۹۴/۰۷	۰/۱۱۱±۰/۱۶۹	۵۲۷۴۸/۶۷	۱۸
۰/۱۵۴±۰/۲۰۳	۵۸۵۲۸/۳۹	۰/۱۱۸±۰/۱۶۸	۵۷۱۵۴/۸۴	۰/۰۹۹±۰/۱۵۵	۵۵۸۴۴/۲۹	۱۹
۰/۱۷۱±۰/۲۱۹	۵۴۹۸۸/۳۹	۰/۱۴۷±۰/۲۰۴	۵۴۰۳۳/۴۵	۰/۱۳۹±۰/۱۹۹	۵۳۳۶۴/۱۵	۲۰
۰/۱۶۴±۰/۲۱۵	۵۲۶۱۶/۰۵	۰/۱۴۵±۰/۲۰۴	۵۱۹۱۷/۹۵	۰/۱۳۶±۰/۱۹۸	۵۱۷۴۶/۷۴	۲۱
۰/۱۴۴±۰/۱۹۸	۵۴۰۹۰/۳۱	۰/۱۳۴±۰/۱۹۱	۵۳۶۳۳/۲۳	۰/۱۴۸±۰/۲۱۳	۵۵۲۱۷/۸۲	۲۲
۰/۱۵۰±۰/۲۰۲	۵۴۰۳۸/۳۵	۰/۱۳۹±۰/۱۹۶	۵۳۵۱۵/۴	۰/۱۲۵±۰/۱۸۸	۵۵۵۹۷/۴	۲۳
۰/۱۶۴±۰/۲۱۸	۵۴۷۷۶/۸۹	۰/۱۳۹±۰/۲۰۲	۵۲۵۷۷/۷۱	۰/۱۲۳±۰/۱۹۰	۵۲۰۸۲/۴۷	۲۴
۰/۱۵۷±۰/۲۰۸	۵۲۹۱۲/۳۷	۰/۱۳۶±۰/۱۹۱	۵۱۱۲۰/۷۶	۰/۱۲۱±۰/۱۸۴	۵۰۸۳۳/۸۸	۲۵
۰/۱۵۹±۰/۲۰۹	۵۳۶۵۸/۳۵	۰/۱۳۳±۰/۱۹۳	۵۲۸۷۴/۱۳	۰/۱۲۶±۰/۱۸۶	۵۱۹۸۹/۸۶	۲۶
۰/۱۵۱±۰/۲۰۷	۵۸۰۱۸/۱۷	۰/۱۳۱±۰/۱۹۰	۵۶۷۲۰/۷۴	۰/۱۲۱±۰/۱۸۴	۵۶۴۱۲/۵۳	میانگین



شکل ۱- عدم تعادل پیوستگی در سراسر ژنوم به عنوان تابعی از فاصله فیزیکی. نژاد افشاری (AFS)، نژاد مغانی (MOG) و نژاد قزل (QEZ).

ارتباطی و بازده انتخاب ژنومی در برنامه‌های اصلاحی آینده برای گوسفندان نژاد ایرانی به ویژه نژاد قزل، نتایج این تحقیق از نیاز به استفاده از پانل‌های SNP با تراکم بیشتر حمایت می‌کند. در این تحقیق، ساختار جمعیتی نژادهای گوسفند افشاری، مغانی و قزل بررسی شد. برای بررسی نحوه قرار گرفتن حیوانات در گروه-های نژادی، تجزیه و تحلیل PCA با استفاده از اطلاعات تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها انجام شد. نتایج نشان داد با استفاده از دو مولفه PC1 و PC2 این سه نژاد به خوبی در گروه‌های کاملاً مجزا قرار گرفتند و در هیچ نقطه‌ای همپوشانی ندارند (شکل ۲).

Meuwissen و همکاران (2001) در شبیه‌سازی پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی ژنومی توسط نشانگرهای متراکم در سراسر ژنوم با صحت‌های بالای ۰/۸۵، سطح  $r^2$  مورد نیاز را ۰/۲ برآورد نمودند. Qanbari و همکاران (2010) آستانه  $r^2$  را ۰/۲۵ به عنوان مقدار LD مناسب برای مطالعات پویا پیوستگی ژنومی در نظر گرفتند. با توجه به سطح LD در جمعیت‌های مورد مطالعه، تقریباً هر ۲۰ Kb بایستی یک نشانگر وجود داشته باشد تا بتوان به میانگین  $r^2$  برابر ۰/۲ رسید. در واقع، در گونه‌هایی با LD گسترده نسبت به آن‌هایی که سطوح پایینی از LD دارند، نشانگرهای کمتری نیاز خواهد بود. بنابراین، برای توان بالای نقشه‌یابی



شکل ۲- تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) برای اختلافات ژنتیکی بین نژادهای گوسفند ایرانی با استفاده از PC1 و PC2. AFS: نژاد افشاری، MOG: نژاد مغانی و QEZ: نژاد قزل.

توجه بوده است. به خصوص در سال‌های اخیر این نژاد به شدت در مناطق مختلف جهت پرواربندی و گاه‌آمیخته‌گری با سایر نژادها مورد استفاده قرار گرفته است (مرادی و همکاران، ۱۳۹۶). نتایج حاصل از این تحقیق نیز با کم بودن  $N_e$  این نژاد در طی نسل‌های حاضر این موضوع را نشان می‌دهد. همچنین به نظر می‌رسد پایین بودن مقدار LD نسبت به آنچه در نژادهای گاو گزارش شده است به طور عمده به اندازه مؤثر جمعیت مربوط می‌شود که در گوسفندان پایین‌تر است (قلی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۳).

### نتیجه‌گیری

نتایج آنالیز PCA به خوبی سه نژاد را در خوشه‌های مختلف دسته‌بندی کرد. نژاد قزل کمترین میزان LD ( $r^2=0/12$ ) و بیشترین مقدار اندازه مؤثر ( $N_e=90$ ) را داشت. در مجموع با توجه به میزان اندازه مؤثر به دست آمده برای سه نژاد، به نظر می‌رسد نژادهای افشاری و مغانی بیشتر در خطر عوارض ناشی از کاهش تنوع ژنتیکی و افزایش هم‌خونی قرار دارند. بنابراین برای حفظ این نژادها باید در کنترل آمیزش‌ها و افزایش اندازه جمعیت مؤثر تمهیداتی اندیشیده شود. آماره‌های تنوع ژنتیکی در تطابق با آماره‌های ساختار ژنوم دلالت بر بالا بودن تنوع ژنتیکی در نژاد قزل نسبت به دو نژاد افشاری و مغانی داشتند.

شاخص‌های پایه تنوع ژنتیکی ( $N_e$  و  $H_e$ ) در داخل نژاد برای مقایسه سطوح ناهمگنی بین نژادهای ایرانی استفاده شد. در کل میانگین و انحراف استاندارد MAF برای نژاد افشاری  $0/261 \pm 0/145$ ، برای نژاد مغانی  $0/273 \pm 0/140$  و برای نژاد قزل  $0/276 \pm 0/138$  بود (جدول ۳). نژاد قزل بالاترین تنوع ژنی ( $H_e=0/361 \pm 0/138$ ) را نشان داد، در حالی که کمترین مقدار در نژاد افشاری ( $H_e=0/343 \pm 0/150$ ) شناسایی شد (جدول ۳). دامنه هتروزیگوستی مورد انتظار در گوسفندان استرالیایی بین  $0/3$  تا  $0/38$  گزارش شد (Al-Mamun و همکاران، ۲۰۱۵).

اندازه مؤثر جمعیت ( $N_e$ ) شاخص کلی برای جمعیت‌های در معرض خطر انقراض که حاوی اطلاعات مربوط به کنترل تنوع ژنتیکی می‌باشد و به توضیح چگونگی تکامل جمعیت کمک می‌کند (Tenesa و همکاران، ۲۰۰۷). به منظور حفظ تنوع ژنتیکی و جلوگیری افت ناشی از هم‌خونی در جمعیت‌های مختلف اندازه مؤثر در کوتاه مدت (۵ نسل قبل) باید از ۱۰۰ فرد بیشتر باشد (Frankham و همکاران، ۲۰۱۴). بالاترین مقدار  $N_e$  در ۵ نسل قبل برای نژاد قزل ( $N_e=90$ )، و کمترین مقدار برای نژاد افشاری ( $N_e=56$ ) مشاهده شد (جدول ۳). بنابراین پایین بودن سطح عدم تعادل پیوستگی نژاد قزل نسبت به نژاد افشاری می‌تواند ناشی از اندازه مؤثر بالای آن باشد. Kim و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه‌ای برای بررسی تنوع ژنتیکی، میزان  $N_e$  را در پنج نسل قبل برای گوسفندان نژادهای برکی<sup>۱۴</sup>، رامنی<sup>۱۵</sup>، تسل<sup>۱۶</sup> و کوریدال<sup>۱۷</sup> به ترتیب ۱۳۰، ۴۵، ۲۱ و ۳۰ فرد گزارش کردند. در واقع  $N_e$  بالا با تنوع ژنتیکی بالا و مقادیر پایین LD همراه است. بعلاوه، یادآوری این مطلب مهم است که مقادیر LD و همچنین  $N_e$  با شدت انتخاب و سیستم‌های آمیزشی مرتبط است. در واقع، فشار انتخاب بالا و استفاده از تلقیح مصنوعی دلایل اصلی برای مقادیر پایین  $N_e$  هستند (Mastrangelo و همکاران، ۲۰۱۴). بررسی‌ها نشان می‌دهد نژاد افشاری به عنوان یکی از نژادهای گوشتی با افزایش وزن روزانه مناسب در طی سال‌های مختلف و همچنین یکی از نژادهای مطلوب جهت پرورش در بین دامداران در ایران مورد

<sup>14</sup> Barki

<sup>15</sup> Romney

<sup>16</sup> Texel

<sup>17</sup> Corriedale



جدول ۳- برآورد شاخص‌های تنوع ژنتیکی در گوسفندان نژاد ایرانی

نژاد	MAF $\pm$ s.d.	Ho $\pm$ s.d.	He $\pm$ s.d.	$N_e$ (5)*
افشاری	۰/۲۶۱ $\pm$ ۰/۱۴۵	۰/۳۵۴ $\pm$ ۰/۱۶۷	۰/۳۴۳ $\pm$ ۰/۱۵۰	۵۶
مغانی	۰/۲۷۳ $\pm$ ۰/۱۴۰	۰/۳۵۶ $\pm$ ۰/۱۶۲	۰/۳۵۷ $\pm$ ۰/۱۴۱	۷۲
قزل	۰/۲۷۶ $\pm$ ۰/۱۳۸	۰/۳۵۳ $\pm$ ۰/۱۵۸	۰/۳۶۱ $\pm$ ۰/۱۳۸	۹۰

MAF، حداقل فراوانی آللی، Ho، هتروزیگوسیتی مشاهده شده، He، هتروزیگوسیتی مورد انتظار،  $N_e$ ، اندازه مؤثر جمعیت (۵ نسل قبل).

### منابع

- Barbato, M., Orozco-terWengel, P., Tapio, M. and Bruford, M.W. (2015). SNeP: a tool to estimate trends in recent effective population size trajectories using genome-wide SNP data. *Frontiers in Genetics*. 6: 109.
- Boettcher, P.J., Tixier-Boichard, M., Toro, M.A., Simianer, H., Eding, H., Gandini, G. et al. (2010). Objectives, criteria and methods for using molecular genetic data in priority setting for conservation of animal genetic resources. *The Journal of Animal Genetics*. 41: 64–77.
- Browning, B.L. and Browning, S.R. (2009). A unified approach to genotype imputation and haplotype-phase inference for large data sets of trios and unrelated individuals. *American Journal of Human Genetics*. 84: 210–223.
- Corbin, L.J., Blott, S.C., Swinburne, J.E., Vaudin, M., Bishop, S.C. and Woolliams, J.A. (2010). Linkage disequilibrium and historical effective population size in the thoroughbred horse. *The Journal of Animal Genetics*. 41: 8–15.
- بارانی، س.، مرادی شهرابک، م.، نجاتی جوارمی، ا.، مرادی، م. ح.، قلی‌زاده، م. و خان سفید، م. (1396). بررسی الگوی عدم تعادل پیوستگی در سه نژاد از گوسفندان بومی ایران. *مجله علوم دامی ایران*. دوره ۴۸: شماره ۱، صص ۱۱–۱۸.
- قلی‌زاده، م.، رحیمی میانجی، ق. و نجاتی جوارمی، ا. (1393). بررسی الگوی عدم تعادل لینکاژی و مطالعه ارتباط ژنومی هاپلوتیپی جهت شناسایی مناطق ژنومی مؤثر بر دو قلو زایی در گوسفندان نژاد بلوچی. *مجله پژوهش‌های تولیدات دامی*. دوره ۵: شماره ۱۰، صص ۱۷۸–۱۶۶.
- مرادی، م. ح.، خلت‌آبادی‌فراهانی، ا. ح. و نجاتی جوارمی، ا. (1396). ارزیابی ژنگانی اندازه مؤثر جمعیت برخی از نژادهای گوسفند ایرانی با استفاده از اطلاعات عدم تعادل پیوستگی. *مجله علوم دامی ایران*. دوره ۴۸: شماره ۱، صص ۳۹–۴۹.
- Al-Mamun, H.A., Clark, S.A., Kwan, P. and Gondro, C. (2015). Genome-wide linkage disequilibrium and genetic diversity in five populations of Australian domestic sheep. *Genetics Selection Evolution*. 47: 90.

- Du, F.X., Clutter, A.C. and Lohuis, M.M. (2007). Characterizing linkage disequilibrium in pig populations. *International Journal of Biological Science*. 3: 166–78.
- Espigolan, R., Baldi, F., Boligon, A.A., Souza, F.R., Gordo, D.G., Tonussi, R.L. et al. (2013). Study of whole genome linkage disequilibrium in Nelore cattle. *BMC Genomics*. 14: 305.
- Frankham, R., Corey, J.A.B. and Barry, W.B. (2014). Genetics in conservation management: Revised recommendations for the 50/500 rules, Red List criteria and population viability analyses. *Biological Conservation*. 170: 56-63.
- Garcia-Gamez, E., Sahana, G., Gutierrez-Gil, B. and Arranz, J.J. (2012). Linkage disequilibrium and inbreeding estimation in Spanish Churra sheep. *BMC Genetics*. 13: 43.
- Hayes, B.J., Visscher, P.M., McPartlan, H.C. and Goddard, M.E. (2003). Novel multilocus measure of linkage disequilibrium to estimate past effective population size. *Genome Research*. 13: 635–643.
- Hill, W.G. (1974). Estimation of linkage disequilibrium in randomly mating populations. *Heredity*. 33: 229–39.
- Hill, W.G. and Weir, B.S. (1994). Maximum likelihood estimation of gene location by linkage disequilibrium. *The American Journal of Human Genetics*. 54: 705–14.
- Karlsson, E.K., Baranowska, I., Wade, C.M., Salmon Hillbertz, N.H.C., Zody, M.C., Anderson, N. et al. (2007). Efficient mapping of mendelian traits in dogs through genome-wide association. *Nature Genetics*. 39: 1321–1328.
- Khatkar M.S., Nicholas, F.W., Collins, A.R., Zenger, K.R., Cavanagh, J.A., Berris, W. et al. (2008). Extent of genome-wide linkage disequilibrium in Australian Holstein-Friesian cattle based on a high-density SNP panel. *BMC Genomics*. 9: 187.
- Kijas, J.W., Lenstra, J.A., Hayes, B., Boitard, S., Porto Neto, L.R. et al. (2012). Genome wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection. *PLoS Biology*. 10: e1001258.
- Kijas, J.W., Porto-Neto, L., Dominik, S., Reverter, A., Bunch, R., McCulloch, R. et al. (2014). Linkage disequilibrium over short physical distances measured in sheep using a high-density SNP chip. *The Journal of Animal Genetics*. 45: 754–757.
- Kijas, J.W., Townley, D., Dalrymple, B.P., Heaton, M.P., Maddox, J.F. et al. (2009). A genome wide survey of SNP variation reveals the genetic structure of sheep breeds. *PLoS One*. 4: e4668.
- Kim, E.S., Elbeltagy, A.R., Aboul-Naga, A.M., Rischkowsky, B., Sayre, B., Mwacharo, J. M. and Rothschild, M.F. (2016). Multiple genomic signatures of selection in goats and sheep indigenous to a hot arid environment. *Heredity*. 116: 255–264.
- Kosgey, I.S. and Okeyo, A.M. (2007). Genetic improvement of small ruminants in low-input, smallholder production systems: technical and infrastructural issues. *Small Ruminant Research*. 70: 76-88.

- Lewontin, R.C. (1964). The interaction of selection and linkage. i. general considerations; heterotic models. *Genetics and Molecular Biology*. 49: 49–67.
- Li, M.H., Strandén, I., Tiirikka, T., Sevón-Aimonen, M.L. and Kantanen, J. (2011). A comparison of approaches to estimate the inbreeding coefficient and pairwise relatedness using genomic and pedigree data in a sheep population. *PLoS ONE*. 6: e26256.
- Mastrangelo, S., Gerlando, R.D., Tolone, M., Tortorici, L. Sardina, M.T., Portolano, B. and International Sheep Genomics Consortium. (2014). Genome wide linkage disequilibrium and genetic structure in Sicilian dairy sheep breeds. *BMC Genetics*. 15: 108.
- Meadows, J.R.S., Chan, E.K.F. and Kijas, J.W. (2008). Linkage disequilibrium compared between five populations of domestic sheep. *BMC Genetics*. 9: 61.
- Meuwissen T.H.E. and Goddard, M.E. (2000). Fine mapping of quantitative trait loci using linkage disequilibrium with closely linked marker loci. *Genetics*. 155: 421–430.
- Meuwissen T.H.E., Hayes, B.J. and Goddard, M.E. (2001). Prediction of total genetic value using genome wide dense marker maps. *Genetics*. 155: 945–959.
- Porto-Neto, L.R., Kijas, J.W. and Reverter, A. (2014). The extent of linkage disequilibrium in beef cattle breeds using high-density SNP genotypes. *Genetics Selection Evolution*. 46: 22.
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M.A.R., Bender, D. et al. (2007). PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *The American Journal of Human Genetics*. 81: 559–575.
- Qanbari, S., Pimentel, E.C., Tetens, J., Thaller, G., Lichtner, P., Sharifi, A.R. and Simianer, H. (2010). The pattern of linkage disequilibrium in German Holstein cattle. *The Journal of Animal Genetics*. 41: 346–356.
- Rao, Y.S., Liang, Y., Xia, M.N., Shen, X., Du, Y.J., Luo, C.G. et al. (2008). Extent of linkage disequilibrium in wild and domestic chicken populations. *Hereditas*. 145: 251–257.
- Tenesa, A., Navarro, P., Hayes, B.J., Duffy, D.L., Clarke, G.M., Goddard, M.E. and Visscher, P.M. (2007). Recent human effective population size estimated from linkage disequilibrium. *Genome Research*. 17: 520–526.
- Teo, Y.Y., Fry, A.E., Clark, T.G., Tai, E.S. and Seielstad, M. (2007). On the usage of HWE for identifying genotyping errors. *Annals of Human Genetics*. 71: 701–703.
- Uimari, P. and Tapio, M. (2011). Extent of linkage disequilibrium and effective population size in Finnish Landrace and Finnish Yorkshire pig breeds. *The Journal of Animal Science*. 89: 609–614.
- Vozzi, P.A., Marcondes, C.R., Bezerra, L.A.F. and Lobo, R.B. (2007). Pedigree Analyses in the Breeding Program for Nellore Cattle. *Genetics and Molecular Research*. 29: 482–485.

