نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۳۸، بهـار ۱۴۰۲
ص‌ص: ۸۷~۹۸

بررسی تنوع ژنتیکی گاوهای بومی ایران و هلشتاین با استفاده از اطلاعات ژنومی

پریسا بیابانی[۱]، حسن مهربانی یگانه[۱]، حسین مرادی شهربابک*[۱]، مهدی مخبر[۲]
۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران.
۲- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه.

تاریخ دریافت : دی ۱۴۰۰ تاریخ پذیرش : تیر ۱۴۰۱
شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۳۳۹۱۵۳۰۶
Email: hmoradis@ut.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI):10.22092/ ASJ.2022.357456.2201

چکیده

در مطالعه‌ی حاضر، از اطلاعات ژنومی ۵۹۰ رأس گاو شامل گاوهای بومی سرابی، کرمانی، کردی، تالشی، سیستانی، نجدی، مازندرانی و توده نژادی پارس، آمیخته‌های بومی شمال غرب کشور، هلشتاین ایران، هلشتاین فرانسه و هلشتاین ایرلند استفاده شد. کنترل کیفی و غربالگری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Plink انجام شد. به‌طوری‌که جایگاه‌ها و افراد با بیش از ۵ درصد ژنوتیپ ازدست‌رفته، نشانگرهای SNP با MAF کمتر از ۱ درصد و نیز نشانگرهای SNP که بر اساس تصحیح بنفرونی خارج از تعادل هاردی – واینبرگ بودند، حذف شدند. درنهایت تعداد ۵۰۹ رأس حیوان با تعداد ۱۳۵۱۲ نشانگر SNP برای مطالعات ساختار جمعیت مورداستفاده قرار گرفت. بررسی و شناسایی گروه‌های ژنتیکی با استفاده از آنالیز تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) و توسط پکیج آماری GenABEL انجام شد. اطلاعات مربوط به آنالیز PCA و اختلاط جمعیتی نشان داد که جمعیت‌های موردمطالعه در چهار گروه مجزا شامل گاوهای سرابی خالص در گروه اول، آمیخته‌های بومی شمال غرب کشور در گروه دوم، جمعیت‌های اصیل هلشتاین در گروه سوم و نژادهای بومی ایران در گروه چهارم قرار دارند. همچنین نتایج آنالیز شاخص تمایز جمعیتی (F_{ST}) نشان‌دهنده دامنه‌ی وسیعی از تمایز بین جمعیت‌ها از ۰/۱۸۰ بین نژادهای سیستانی و کردی تا ۰/۰۰۷ و ۰/۰۰٤ در بین نژادهای هلشتاین ایران و ایرلند با هلشتاین فرانسه بود. بررسی تمایز جمعیتی دام‌های بومی با هلشتاین اصیل حاکی از آن بود که نژاد سیستانی بالاترین تمایز را با نژادهای مختلف هلشتاین (۰/۱۲۸ تا ۰/۱۳۸) دارد و با اختلاف اندک نسبت به سایر نژادها، نژاد کردی و مازندرانی کمترین تمایز ژنتیکی را با جمعیت‌های هلشتاین موردمطالعه داشتند.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، تمایز جمعیتی، گاو هلشتاین، آمیخته‌های بومی.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 138 pp: 87-98

Investigating the genetic diversity of Iranian native and Holstein cattle breeds using genomic data

By: Parisa Biabani[1], Hassan Mehrabani Yeganeh[1], Hossein Moradi Shahrbabak[1], Mahdi Mokhber[2]

1- Department of Animal Science, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Iran.

Corresponding author E-mail: hmoradis@ut.ac.ir

Received: January 2022 **Accepted: July 2022**

In this study, genomic data of 590 cattle were used including native breeds of Sarabi, Kermani, Kurdi, Talashi, Sistani, Najdi, Mazandarani and Pars, crossbred from northwest of Iran, Holstein populations from Iran, France and Ireland. Quality control and data filtration were performed using Plink 1.9 software. After this quality control, individuals and SNPs with call rate below 0.95%, SNP makers with minor allele frequency (MAF) > 0.01%, divergence from Hardy-Weinberg Equilibrium were excluded. This procedure yielded 509 individuals with 13512 SNP marker. Then filtered data were used to genetic diversity and clustering analysis. Identification of genetic groups were performed using PCA analysis data by GenABEL software. PCA and ADMIXTURE analysis showed that studied populations are in 4 separate categories including purebred Sarabi population in the first group, crossbred from northwest of Iran in the second group, purebred Holstein populations in the third group and native breeds of Iran were in the fourth group. Further details of demographic differentiation were identified by Weir and Cockerham's fixation index. The range of differentiation in the present study varied from 0.180 between Sistani and Kurdish breeds to 0.007 to 0.004 between the Iran Holstein breed and Ireland with France Holstein breeds. The results showed that the highest difference between indigenous and Holstein breeds related to Sistani breed that had the highest difference with different Holstein breeds (0.128 to 0.138). With slight differences from other Iranian indigenous breeds, the Kurdish and Mazandaran breeds had the smallest genetic differences with the studied Holstein populations.

Key words: Genetic Diversity, Fixation Index, Holstein Cattle, Indigenous Crossbred

مقدمه

گاو گونه‌ای است که در سراسر جهان گسترش‌یافته و با دامنه‌ی وسیعی از شرایط آب و هوایی سازش پیداکرده است و از زمان اهلی شدن به مهم‌ترین گونه‌ی اهلی برای تأمین نیروی کار و غذا تبدیل شده است (Papachristou و همکاران، ۲۰۲۰). مطالعات نشان می‌دهد که اهلی شدن گاوهای بوس تاروس یا تایورین (Bos taurus) و بوس ایندیکوس یا زیبو کوهان‌دار (Bos indicus) در حدود ۸ الی ۱۰ هزار سال قبل بوده است (Qanbari و همکاران، ۲۰۱۱). شواهد مطالعات مولکولی نشان می‌دهد که دو رویداد اهلی شدن برای گاوهای تایورین و زیبو کوهان‌دار به‌طور کاملاً مجزا صورت گرفته است (Pitt و همکاران، ۲۰۱۸). داده‌های باستان‌شناسی نشان می‌دهد که گاوهای تایورین در فاصله زمانی ۱۰۳۰۰ تا ۱۰۸۰۰ سال قبل در هلال حاصلخیز و به‌احتمال زیادتر در مرز غربی ترکیه و سوریه اهلی‌شده‌اند (Zeder و همکاران، ۲۰۰۶). حدود ۲ هزار سال بعد از اهلی شدن گاو تایورین، گاو زیبو در دره سند (Indus Valley) در اطراف صحرای هند اهلی شد. بقایای یافت شده مربوط به اهلی شدن گاو زیبو مربوط به ۸ هزار سال قبل است (Jarrige و همکاران، ۲۰۰۶). نتایج مطالعات مولکولی نیز با نتایج بررسی‌های باستان‌شناسی مطابقت داشته و نشان می‌دهد که گاوهای تایورین در منطقه بین‌النهرین به‌عنوان محل اولیه اهلی

شده و گاوهای زیبو کوهان‌دار در دره سند اهلی‌شده‌اند (Bollongino و همکاران، ۲۰۱۲؛ Rothammer و همکاران، ۲۰۱۳). نتایج همچنین حاکی از این است که تاکنون چندین گونه‌ی گاو اهلی‌شده‌اند ولی از بین تمام آن‌ها، گاوهای تایورین و زیبو تقریباً اجداد همه گاوهای اهلی دنیا را تشکیل می‌دهند (Cornélis و همکاران، ۲۰۱۴). همچنین مطالعات نشان می‌دهد این دو گونه‌ی گاو حدود ۲۵۰ هزار سال قبل از جد مشترکشان اورخوس (Bos primigenius) پدید آمده‌اند (Pitt و همکاران، ۲۰۱۸).

طبق گزارش فائو (FAO) جمعیت گاوهای دنیا حدود ۱/۵ میلیارد رأس برآورد شده است (FAO، ۲۰۱۸) که در قالب بیش از ۱۰۰۰ نژاد ثبت‌شده گاو وجود دارد که ازنظر جغرافیایی در کشورهای مختلف سراسر جهان پراکنده هستند (Upadhyay و همکاران، ۲۰۱۹). از میان ۱۰۱۹ نژاد ثبت‌شده محلی، ۲۰۵ نژاد فرا منطقه‌ای بوده و در نقاط مختلف دنیا پراکنده شده‌اند. این در حالی است که گزارش‌ها نشان می‌دهد بیش از ۱۸۰ نژاد گاو تا سال ۲۰۱۴ منقرض‌شده‌اند (Upadhyay و همکاران، ۲۰۱۹). مطابق آخرین گزارش‌های جهاد کشاورزی (آمارنامه ۱۳۹۸ جهاد کشاورزی) تعداد گاوهای ایران در سال ۱۳۹۸ بیش از ۸ میلیون رأس برآورد شده است. از این میان تعداد ۱/۲۶ میلیون رأس (۱۶ درصد)، ۴/۷۵ میلیون رأس (۵۹ درصد) و ۲/۰۴ میلیون رأس (۲۵ درصد) به ترتیب مربوط به گاوهای اصیل، آمیخته (نژادهای بومی تلاقی شده با نژادهای اصیل دنیا که در ایران عمدتاً مربوط به هلشتاین است) و بومی هستند. بررسی گاوهای بومی می‌تواند اطلاعات ارزشمندی در خصوص اهلی شدن گاو فراهم آورد (Hole، ۲۰۰۴). در دهه‌های اخیر و همزمان با ورود نژادهای پرتولید اروپایی نظیر هلشتاین به کشور، ترویج تلاقی‌گری دام‌های بومی با هلشتاین، جهت بالا بردن تولید، در دستور کار مسئولین این صنعت قرار گرفت. متأسفانه نبود برنامه مناسب جهت انجام این تلاقی‌ها، خلوص نژادهای داخلی را به‌شدت تحت تأثیر قرار داده است. البته عدم توان رقابتی گاوهای بومی در مقایسه با هلشتاین، بخصوص در زمینه‌ی تولید شیر، موجب کاهش تمایل روستائیان به نگهداری این نژادها شد. از سوی دیگر، حفظ منابع ژنتیکی بومی با توجه به خصوصیات منحصر به فرد دام‌های بومی در سازگاری با محیط زندگی‌شان و نیز پاسخ به تنش‌های محیطی ازجمله مقاومت به انگل‌ها، مقاومت به گرما، ارزشمند است (Soma و همکاران، ۲۰۱۲). برخی از نژادهای گاو بومی کشور مانند نژاد گلپایگانی منقرض‌شده و یا در حال انقراض هستند و سایر نژادها نیز به علت کاهش شدید جمعیت، با خطر جدی کاهش تنوع ژنتیکی مواجه هستند (Karimi و همکاران، a ۲۰۱۶). در شرایطی که اطلاعاتی مانند شجره حیوانات، سطوح تفاوت‌های ژنتیکی داخل و بین جمعیت‌ها و میزان خلوص و یا آمیختگی آن‌ها در دسترس نیست، استفاده از فناوری‌های نوین ژنتیک مولکولی همچون آرایه‌های SNP در سرتاسر ژنوم می‌تواند به شناسایی خصوصیات ژنتیکی این جمعیت‌ها و برنامه‌ریزی جهت حفاظت از آن‌ها کمک شایان توجهی کند. علیرغم اقدامات صورت گرفته در زمینه‌ی اصلاح نژاد گاو با روش‌های معمول انتخاب، خواسته‌های اصلاحگران تأمین نشده و نیاز به استفاده از روش‌های ارزیابی مولکولی کاملاً مشهود است. خوشبختانه هم‌اکنون با پیشرفت ابزارها و روش‌های ژنومیکی این امکان برای اصلاحگران فراهم‌شده است تا عقب‌افتادگی‌هایی که در خصوص اصلاح نژاد حیوانات وجود داشته را تا حدودی جبران کرده و برنامه‌های اصلاح نژادی گاو را بهبود بخشند.

پرورش و عملیات و برنامه‌های اصلاحی نژادهای بومی متفاوت از نژادهای اصیل پر تولید است. این تفاوت‌ها ناشی از شرایط حاکم بر محیط پرورش آن‌ها است از قبیل ۱- تمایز اندکی بین نژادهای بومی وجود دارد و انتخاب مؤثری روی آن‌ها صورت نگرفته است. ۲- اغلب رکوردهای شجره کامل نیست یا اصلاً وجود ندارد. ۳- انجمن‌های اصلاح نژادی ندارند و یا اینکه تشکل‌هایی فقط برای اهداف حفظ نژادی ایجادشده است. ۴- هیچ استانداردی برای تمایز نژاد وجود ندارد و یک نژاد بسته به خواستگاه و محل پراکنش آن نام‌گذاری می‌شود. ۵- رکوردهای سیستماتیک و استاندارد برای صفات وجود ندارد. ۶- بستر موردنیاز برای ثبت رکورد سیستماتیک نیز وجود ندارد و یا

ناکارآمد است (Bett و همکاران، ۲۰۱۳). طی سال‌های اخیر مطالعات متعددی روی نژادهای گاوهای اهلی انجام‌شده است (Gautier و همکاران، ۲۰۱۰؛ Kukučková و همکاران، ۲۰۱۷؛ Mastrangelo و همکاران، ۲۰۱۸). افزایش اطلاعات در خصوص ساختار و تنوع ژنتیکی نژادهای بومی جهت استفاده‌ی کارآمد از این نژادها در دام‌پروری و کشاورزی پایدار، شرایط پرورشی سخت و توسعه‌نیافته و نیز حفاظت ژنتیکی دام‌ها، اهمیت حیاتی دارد (Groeneveld و همکاران، ۲۰۱۰). ازآنجایی‌که نژادهای بومی قابلیت سازگاری بالایی به محیط زندگی‌شان دارند و طول عمرشان به‌طور قابل‌توجهی طولانی‌تر است، مخزن ژنی نژادهای انتخاب‌نشده‌ی بومی، منبع ژنتیکی باارزشی به‌حساب می‌آیند (Medugorac و همکاران، ۲۰۰۹). شناخت تنوع ژنتیکی گونه‌های اهلی در کارآمدی استراتژی‌های مدیریتی و حفاظت ژنتیکی، اهمیت دارد (Wultsch و همکاران، ۲۰۱۶). خوشبختانه پیشرفت‌های اخیر درزمینه‌ی توالی‌یابی ژنوم و متعاقب آن در دسترس بودن اطلاعات ژنومی با تراکم بالا، بررسی و استنتاج تنوع و ساختارهای ژنتیکی جمعیت‌ها را تسهیل کرده است (Decker و همکاران، ۲۰۱۴). در این راستا، پارامترهایی از قبیل گروه‌بندی‌ها و فواصل ژنتیکی و نیز اختلاط جمعیتی ازجمله پارامترهایی هستند که در شناسایی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت‌ها استفاده می‌شوند (Al-Mamun و همکاران، ۲۰۱۵). لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی ساختار جمعیتی گاوهای بومی ایران در کنار گاو اصیل هلشتاین (به‌عنوان نژاد اصیل غالب در کشور) است. نتایج به‌دست‌آمده از این بررسی می‌تواند در تحلیل تفاوت‌های بین نژادهای گاو مورد مطالعه قرارگرفته و در برنامه‌ریزی‌های اصلاح نژادی مفید باشد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور انجام مطالعه حاضر، از اطلاعات ژنومی ۵۹۰ رأس گاو شامل گاوهای بومی سرابی (۱۱۳ رأس از دو منشاء داده متفاوت)، کرمانی، کردی، تالشی، سیستانی، نجدی، مازندرانی و توده نژادی پارس (فارس) (هرکدام به تعداد ۱۰ رأس)، آمیخته‌های بومی منطقه شمال غرب کشور (۱۲۰ رأس)، هلشتاین ایران (۷۳ رأس)، هلشتاین فرانسه (۶۰ رأس)، هلشتاین ایرلند (۱۵۴ رأس) استفاده شد. بخشی از اطلاعات مربوط به توالی‌های ژنومی دام‌های موردمطالعه با توالی‌یابی و بخشی دیگر از پایگاه‌های اطلاعاتی تهیه شدند. اطلاعات ژنومی مربوط به گاوهای بومی سرابی (۹۳ رأس) و آمیخته‌های بومی منطقه‌ی شمال غرب کشور (۱۲۰ رأس) باهمکاری شرکت سایناگستر البرز توالی‌یابی شدند. این نمونه‌ها با ریزآرایه‌های GeneSeek Genomic Profiler (GGP) bovine 40K یابی شدند (Illumina, Inc, San Diego, CA, USA). اطلاعات ژنومی ۹۰ رأس گاو بومی ایرانی شامل نژادهای سرابی، کرمانی، کردی، تالشی، سیستانی، نجدی، مازندرانی و توده نژادی پارس از پایگاه داده‌ی Dryad (doi_10.5061_dryad.nq189__v1.zip) تهیه شد (Karimi، ۲۰۱۷). این دام‌ها با آرایه‌های ژنومی BovineHD SNP chip (Illumina, Inc, San Diego, CA, USA) توالی‌یابی شده بودند. اطلاعات ژنومی مربوط به جمعیت‌های گاو نژاد هلشتاین ایران (۷۳ رأس) با حمایت مالی شرکت زیست‌فناوری به‌نژادی دامی ایرانیان توالی‌یابی شدند. این نمونه‌ها با ریزآرایه‌های 50K شرکت ایلومینا توالی‌یابی شدند.

هلشتاین فرانسه (۶۰ رأس) از پایگاه داده WIDDE (http://widde.toulouse.inra.fr/widde/widde/main.do;jsessionid=1DDE4ECBC7809DD4448A9768E60AA7A6?module=cattle) و هلشتاین ایرلند (۱۵۴ رأس) از پایگاه داده Dryad (doi:10.5061/ dryad.519bm) تهیه شد. هردوی این نمونه‌ها با آرایه‌های ژنومی Illumina BovineHD توالی‌یابی شده بودند. درمجموع اطلاعات ژنومی تعداد ۵۹۰ رأس گاو متعلق به گروه‌های مختلف ژنتیکی با یکدیگر تجمیع و جهت انجام بررسی‌های تنوع جمعیتی، کنترل کیفی شدند. با توجه به اینکه نمونه‌های مورد استفاده در مطالعه حاضر با استفاده از آرایه‌های ژنومی متفاوتی توالی‌یابی شده بودند، داده‌های فیلتر شده باهم ادغام شدند و بعد از به دست آمدن اطلاعات ژنومی مشترک، داده‌ها دوباره برای حذف نشانگرهای SNP با داده‌های گمشده‌ی بالا فیلتر شدند. کنترل کیفی و غربالگری داده‌های باکیفیت پایین و داده‌های غیرمفید با استفاده از نرم‌افزار Plink انجام گرفت

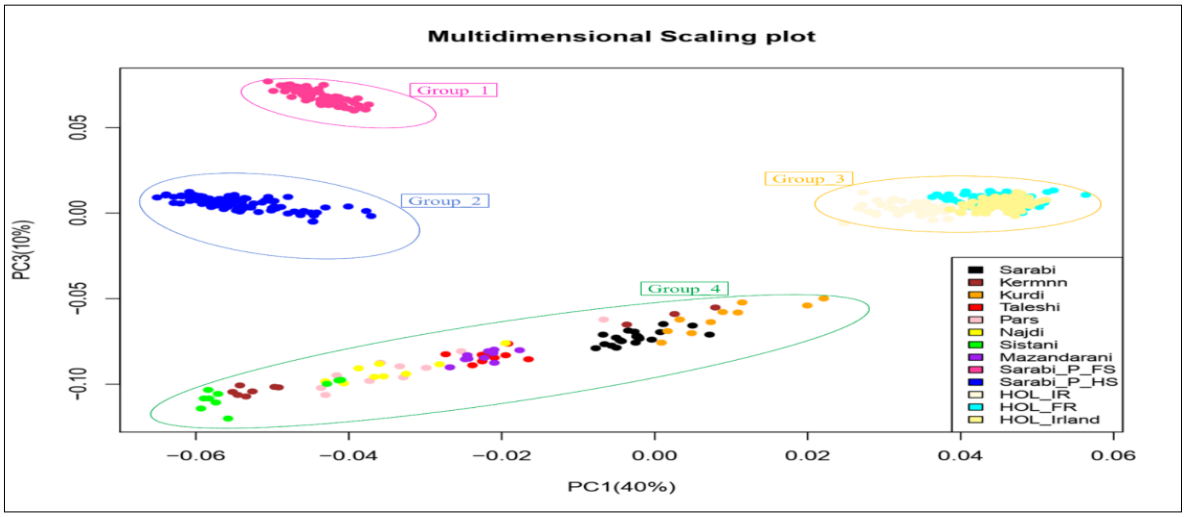
(Purcell و همکاران، ۲۰۰۷). جایگاه‌ها و افراد با بیش از ۵ درصد ژنوتیپ ازدست‌رفته، نشانگرهای SNP با MAF کمتر از ۱ درصد و نیز نشانگرهای SNP که بر اساس تصحیح بنفرونی خارج از تعادل هاردی – واینبرگ بودند، حذف شدند که مقدار عددی آن بسته به تعداد SNP متغیر بود و از تقسیم عدد آلفا (۰/۰۵) بر تعداد اسنیپ ها تعیین شد. این عدد بسته به تعداد SNP از $۱/۲۵*۱۰^{-۶}$ برای آرایه های ۴۰K تا $۶/۴۹*۱۰^{-۸}$ برای آرایه های ۷۰۰K متغیر بود. درنهایت تعداد ۵۰۹ رأس حیوان با تعداد ۱۳۵۱۲ نشانگر SNP برای مطالعات ساختار جمعیت باقی ماندند. سپس مطالعات آنالیز PCA روی این داده‌ها جهت بررسی تنوع ژنتیکی و تعیین گروه‌های نژادی، انجام شد (Price و همکاران، ۲۰۰۶). روش PCA ازجمله روش‌های چند متغیره‌ای است که به‌طور معمول در تجزیه‌وتحلیل‌های ژنتیکی، بررسی تمایز و گروه‌بندی جمعیت‌ها، مورداستفاده قرار می‌گیرد (Kijas و همکاران، ۲۰۱۳؛ Uzzaman و همکاران، ۲۰۱۴). این روش بدون نیاز به لحاظ کردن فرض اولیه در مورد مدل ژنتیکی جمعیت‌ها قادر به شناسایی ساختار ژنتیکی جمعیت‌هاست (Ringner، ۲۰۰۸؛ Jombart و همکاران، ۲۰۱۰). در این آنالیز، ساختار جمعیت بر مبنای میزان روابط ژنتیکی افراد جمعیت محاسبه و ترسیم می‌گردد. به‌عبارت‌دیگر، نتایج حاصل از آنالیز PCA نشان‌دهنده‌ی قرابت ژنتیکی میان افراد موردمطالعه بر اساس ماتریس خویشاوندی ژنومی است. درنهایت دام‌ها بر اساس اطلاعات خویشاوندی در کنار و یا دور از افراد دیگر قرار می‌گیرند. بررسی و شناسایی گروه‌های ژنتیکی با استفاده از اطلاعات آنالیز PCA، توسط پکیج GenABEL (Alexander و همکاران، ۲۰۰۹) در محیط R انجام گرفت. همچنین برای بررسی آمیختگی بین جمعیت‌ها، آنالیز اختلاط جمعیتی با استفاده از ترم‌افزار Admixture در محیط لینوکس انجام شد (Alexander و Lange، ۲۰۱۱). جزئیات بیشتر تمایز جمعیتی با آنالیزهای شاخص تمایز جمعیتی ویر و کوکرهام (F_{ST}) مشخص شد (Weir و Cockerham، ۱۹۸۴). برای بررسی بصری اطلاعات تمایز جمعیتی، نمودار درخت فیلوژنی رسم شد .رسم نمودارها و شکل‌های مربوط به نتایج آنالیزهای مختلف در محیط R (۲۰۲۰) انجام گرفت.

نتایج و بحث

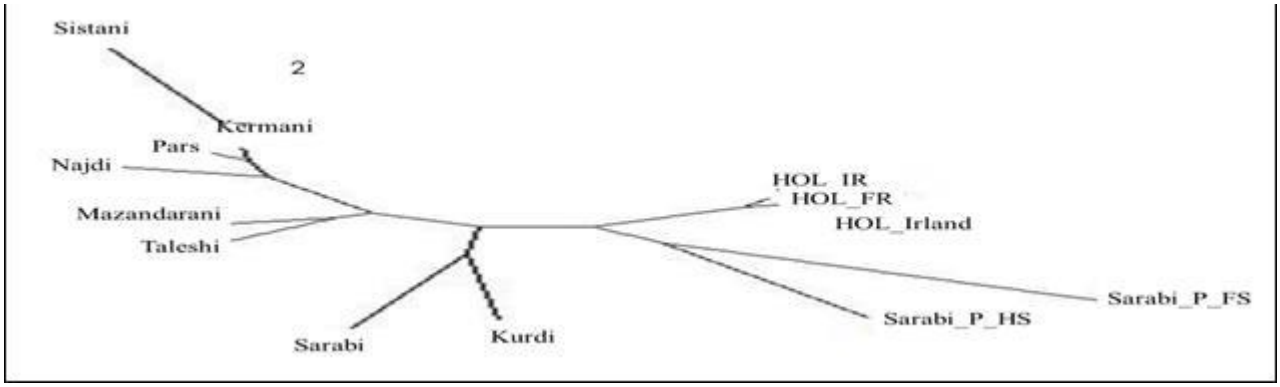
پس از مراحل مختلف غربالگری درنهایت تعداد ۵۰۹ رأس حیوان با تعداد ۱۳۵۱۲ نشانگر SNP برای مطالعات ساختار جمعیت باقی ماندند. نتایج حاصل از آنالیز PCA نشان داد که با استفاده از اطلاعات دو تا از مؤلفه‌های با اطلاعات بالا (PC1 و PC3) که بخش نسبتاً زیادی از واریانس بین نمونه‌ها را توجیه می‌کنند، می‌توان روابط بین افراد را به‌صورت دوبعدی ترسیم کرد و در صورت تمایز بین گروه‌های ژنتیکی، گروه‌های ژنتیکی را تعیین کرد. روش تحلیل افتراقی مؤلفه‌های اصلی (DAPC) روش دیگری است که در این راستا کاربرد دارد. در این روش برخلاف روش PCA که از هر دو جزء واریانس بین و درون گروه‌ها استفاده می‌کند، در روش افتراقی تفاوت بین گروهی بهینه‌شده و اختلافات بین گروه‌ها تا حد ممکن نشان داده می‌شود ولی واریانس داخل گروه‌ها حداقل می‌شود. دو روش PCA و F_{ST} پیش‌تر توسط Karimi و همکاران (۲۰۱۶b) و DPAC توسط Karimi (۲۰۱۷) در آنالیز تنوع ژنتیکی ۹۰ رأس حیوان متعلق به ۸ نژاد گاوهای بومی ایران انجام‌شده است. نتایج مربوط به آنالیز PCA در شکل ۱ آورده شده است. همان‌طور که در شکل ۱ مشخص‌شده است دو مؤلفه‌ی اول و سوم ۵۰ درصد از واریانس بین داده‌ها را توجیه می‌کند. ۴۰ درصد از این واریانس مربوط به مؤلفه‌ی اول است. با این میزان واریانس توجیهی، جمعیت‌های موردمطالعه شامل گاوهای سرابی خالص در گروه اول، آمیخته-های بومی شمال غرب کشور در گروه دوم، جمعیت‌های اصیل هلشتاین از کشورهای ایران، فرانسه و ایرلند در گروه سوم و نژادهای بومی ایران (توالی‌های مطالعه Karimi و همکاران، ۲۰۱۶b) شامل سرابی، نجدی، کردی، تالشی، مازندرانی، کرمانی، سیستانی و توده نژادی پارس در گروه چهارم قرار گرفتند (شکل ۱).

جزئیات بیشتر تمایز جمعیتی با آنالیزهای شاخص تمایز جمعیتی ویر و کوکرهام (F_{ST}) مشخص شد (Weir و Cockerham،

۱۹۸۴). نتایج مربوط به آنالیز تمایز جمعیتی در جدول ۱ آورده شده است. همان‌طور که در جدول ۱ قابل‌مشاهده است، اطلاعات تمایز ژنتیکی مربوط به ۸ گروه ژنتیکی گاوهای بومی از مطالعه Karimi و همکاران (۲۰۱۶b)، ۲ گروه ژنتیکی سرابی خالص و آمیخته‌های شمال غرب ایران و ۳ گروه ژنتیکی مربوط به هلشتاین از کشورهای ایران، فرانسه و ایرلند آورده شده است. نتایج این آنالیز مؤید دامنه‌ی وسیعی از تمایز بین جمعیت‌ها است. دامنه‌ی تمایز جمعیتی در مطالعه‌ی حاضر از ۰/۱۸۰ بین نژادهای سیستانی و کردی تا ۰/۰۰۷ و ۰/۰۰۴ در بین نژادهای هلشتاین ایران و ایرلند با هلشتاین فرانسه متغیر بود. برای بررسی بصری اطلاعات تمایز جمعیتی، نمودار درخت فیلوژنی استخراج‌شده از بخش تمایز جمعیتی در شکل ۲ ارائه‌شده است.



شکل ۱: گروه‌بندی نژادهای گاو موردمطالعه با استفاده از اطلاعات آنالیز PCA . در این شکل گروه‌های رنگی سیاه تا بنفش همان‌طور که در نمودار مشخص‌شده است به ترتیب مربوط به نژادهای سرابی (سیاه)، کرمانی (قهوه‌ای)، کردی (نارنجی)، تالشی (قرمز)، توده نژادی پارس (صورتی)، نجدی (زرد)، سیستانی (سبز) و مازندرانی (بنفش) که توالی آن‌ها از مطالعات Karimi و همکاران (۲۰۱۶) به‌دست‌آمده است، می‌باشد. موارد بعدی به ترتیب عبارت‌اند از سرابی خالص (صورتی پررنگ)، آمیخته‌های بومی شمال غرب کشور که ترکیبی از نژادهای سرابی و سایر گاوهای بومی پرورش‌یافته در منطقه و نیز نژادهای وارداتی هستند(آبی) و موارد بعدی شامل هلشتاین ایران (کرمی)، هلشتاین فرانسوی (فیروزه‌ای) و نیز هلشتاین ایرلند (زرد کم‌رنگ) هستند.



شکل ۲: درخت فیلوژنی جمعیت‌های موردمطالعه با توجه به اطلاعات شاخص تمایز ویر و کوکرهام

جدول ۱- اطلاعات تمایز ژنتیکی جمعیت‌های موردمطالعه با استفاده از آماره شاخص تمایز ویر و کوکرهام (تتا)[1]

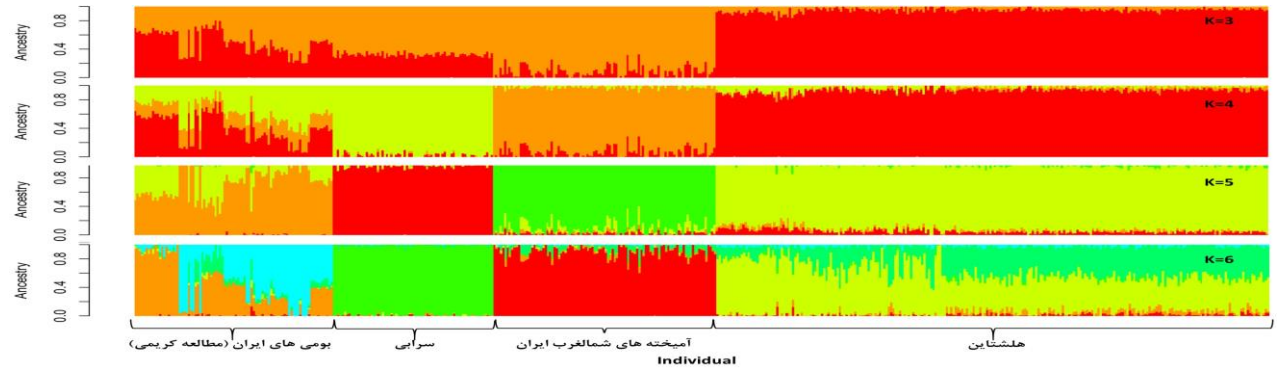
	Sarabi	Kerman	Kurdi	Taleshi	Pars	Najdi	Sistani	Mazandarani	Sarabi_P_FS	North-West Indigenous	HOL_IR	HOL_FR	HOL_Ireland
Sarabi	NA	0.106	0.074	0.088	0.103	0.105	0.166	0.084	0.135	0.119	0.088	0.090	0.083
Kerman	NA	NA	0.107	0.062	0.018	0.029	0.033	0.048	0.111	0.101	0.083	0.092	0.090
Kurdi	NA	NA	NA	0.079	0.100	0.106	0.180	0.078	0.142	0.118	0.077	0.077	0.069
Taleshi	NA	NA	NA	NA	0.059	0.069	0.117	0.036	0.122	0.107	0.084	0.088	0.083
Pars	NA	NA	NA	NA	NA	0.037	0.055	0.049	0.115	0.101	0.081	0.090	0.087
Najdi	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.070	0.053	0.119	0.107	0.088	0.095	0.092
Sistani	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.097	0.150	0.139	0.128	0.138	0.135
Mazandarani	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.114	0.101	0.077	0.082	0.078
Sarabi_P_FS	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.099	0.090	0.092	0.090
North-West Indigenous	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.079	0.082	0.080
Hol_IR	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.007	0.014
HOL_FR	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.004
HOL_Ireland	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

NA: Not Available

همان‌طور که اشاره‌شده، ۱۳ گروه ژنتیکی موردمطالعه در ۴ گروه مجزا قرار گرفتند. یکی از موارد قابل‌بحث، دام‌های بومی مربوط به گروه چهارم بودند که در مقایسه با سایر گروه‌ها در یک گروه مجزا قرارگرفته‌اند. در این گروه، نژادهای سرابی و کردی در یک سوی گروه و نزدیک به نژاد هلشتاین قرار دارند (شکل ۱). نژادهای مازندرانی و تالشی باهم قرابت داشته و در میانه و نزدیک به توده نژادی پارس و نجدی در گروه چهارم جای گرفته‌اند و در انتهای دیگر این گروه نژادهای سیستانی و کرمانی قرارگرفته‌اند. بااین‌حال آثاری از اختلاط نژادی نیز دیده می‌شود و افرادی از نژادهای کرمانی و توده نژادی پارس در میان سرابی‌ها و کرمانی‌ها حضور دارند. احتمالاً این موارد مربوط به دام‌هایی هستند که به‌طور کنترل نشده با نژادهای بومی خارج از جغرافیای پرورشی خودشان و یا نژادهای خارجی تلاقی داده‌شده‌اند و احتمال اختلاط این نژادها با نژادهای بومی بیشتر است.Karimi و همکاران (۲۰۱۶b) آثاری از وجود جریان ژنی از کردی و سرابی به سمت سایر نژادهای بومی به‌جز سرابی را ارائه دادند. درهرصورت به دلیل تلاقی‌های کنترل نشده‌ی توده نژادی پارس و نژاد کرمانی با نژادهای خارجی و عدم تمایز ظاهری این دام‌ها با نژاد اصیل، احتمال خطا در تعیین دام‌های خالص با آمیخته وجود دارد. مورد بعدی در خصوص گروه چهارم نزدیکی نژادهای سرابی و کردی به نژاد خارجی هلشتاین (بوس تاروس) است که می‌تواند به پس-زمینه‌ی ژنتیکی این نژادها مربوط باشد و این نژادها مشابه هلشتاین زمینه بوس تاروس دارند. درحالی‌که نژادهای سوی دیگر گروه چهارم (کرمانی و سیستانی) زمینه‌ی بوس ایندیکوس یا زیبو دارند. Karimi و همکاران (۲۰۱۶b) در مطالعه خود عنوان کردند که نژادهای سرابی و کردی بیشترین زمینه بوس تاروس را دارند و در سوی دیگر نژادهای کرمانی، نجدی و توده نژادی پارس مربوط به مناطق جنوب کشور تحت تأثیر نژاد سیستانی هستند و قرابت ژنتیکی بالایی دارند. آنالیز توأم نژادهای بومی در کنار گروه‌های خارج نژادی هلشتاین به‌عنوان نژاد شاخص بوس تاروس و نژاد برهمن به‌عنوان نژاد شاخص بوس ایندیکوس نشان داد که نژادهای بومی جنوب کشور شامل سیستانی، کرمانی، توده نژادی

[1] Weir and Cockerham (Tetha)

پارس و نژاد نجدی به ترتیب بیشترین شباهت را با بوس ایندیکوس دارند و به نظر می‌رسد نژادهای جنوب کشور بیشتر زمینه بوس ایندیکوس دارند. در مقابل سرابی و کردی کمترین شباهت را در بین نژادهای بومی کشور به بوس ایندیکوس دارند (Karimi، ۲۰۱۷). تمایز ژنتیکی نژادهای با زمینه‌ی بوس تاروس و بوس ایندیکوس به‌عنوان یک شاخص در تقسیم‌بندی نژادهای گاوهای دنیا، کاربرد دارد (Ben Jemaa و همکاران، ۲۰۱۵؛ Deckers و همکاران، ۲۰۱۴). درهرصورت با و بدون لحاظ زمینه‌ی ژنتیکی این نژادها، به نظر می‌رسد یکی از فاکتورهای اساسی در تمایز نژادی دام‌های بومی مربوط به پراکنش جغرافیایی است. چراکه تمایز ژنتیکی بین گروه‌ها با پراکنش جغرافیایی و اقلیم‌های متفاوت مناطق پرورشی ارتباط دارد.



شکل ۳: آنالیز ADMIXTURE جمعیت های مورد مطالعه. هر خوشه با رنگ‌های مختلفی بیان می‌شود و هر فرد توسط خطوط عمودی به K بخش رنگی با ارتفاع متناسب با سهم ژنوتیپ در خوشه‌ها تقسیم شده است.

نتایج آنالیز ADMIXTURE نشان داد که چهار گروهی که با آنالیز PCA از هم جدا شدند در اینجا نیز به خوبی از هم تفکیک شدند (شکل ۳) ولی در گاوهای بومی از مطالعه Karimi و همکاران (۲۰۱۶b) سطح بالایی از آمیختگی مشاهده شد که با یافته‌های Karimi و همکاران (۲۰۱۶b) منطبق بود. نتایج به‌دست‌آمده برای سری داده‌های بومی توالی‌یابی شده با تراکم بالا (مستخرج از Karimi و همکاران، ۲۰۱۶) که در آنالیزهای PCA در گروه چهارم واقع‌شده بودند، نشان داد که نتایج آنالیز F_{ST} تقریباً مشابه نتایج فواصل ژنتیکی بر اساس فرمول‌های ارائه‌شده توسط Nei (۱۹۷۲) و Reynolds (۱۹۸۳) است که توسط Karimi (۲۰۱۷) و Karimi و همکاران (۲۰۱۶b) گزارش‌شده است. اگر صرفاً داده‌های درون گروه چهار را در نظر بگیریم، بیشترین تمایز بین نژادی مربوط به تفاوت سیستانی با کردی (۰/۱۸۰) و سیستانی و سرابی (۰/۱۶۶) است. در داخل همین گروه کمترین تمایز مربوط به تفاوت پارس و کرمانی (۰/۰۱۸) است. تمامی فواصل نسبی مربوط به نژادهای بومی گروه چهارم با یافته‌های Karimi و همکاران (۲۰۱۶b) و Karimi (۲۰۱۷) منطبق بود و تنها تفاوت مربوط به مقادیر عددی آن‌هاست. به‌طوری‌که بیشترین فاصله ژنتیکی در مطالعه‌ی مذکور مربوط به نژادهای سیستانی و کردی با ارزش‌های عددی ۰/۱۵۸ و ۰/۱۶۲ به ترتیب برای فواصل ژنتیکی نئی و رینالدز بود. همان‌طور که در تصویر فیلوژنی (شکل ۲) مشخص است، نژادهای سیستانی، کرمانی، نجدی و توده نژادی پارس روابط ژنتیکی نزدیکی دارند و در سمت مقابل آن‌ها نژادهای سرابی و کردی قرار دارند. دو نژاد تالشی و مازندرانی نیز ارتباط نزدیکی باهم دارند و در قسمت میانی نمودار قرارگرفته‌اند. این نتایج با نتایج Karimi (۲۰۱۷) منطبق است. در بررسی جزئیات تمایز جمعیتی گروه سوم (جمعیت‌های هلشتاین ایران، ایرلند و فرانسه) با دام‌های گروه چهارم یعنی دام‌های بومی ایران نتایج نشان داد که نژاد سیستانی بالاترین تمایز را با نژادهای مختلف هلشتاین (۰/۱۲۸ تا ۰/۱۳۸)

داشت. با اختلاف اندک نسبت به سایر نژادها، نژادهای کردی و مازندرانی کمترین تمایز ژنتیکی را با جمعیت‌های هلشتاین موردمطالعه داشتند. هرچند نسبت‌های تمایز بین نژادهای بومی از دو منشاء مختلف (گروه‌های ۲ تا ۴) با گروه جمعیت‌های هلشتاین (گروه ۱) با نتایج Karimi و همکاران (۲۰۱۶b) مطابقت داشت ولی با مقادیر عددی تمایز ژنتیکی مطالعه مذکور مغایرت داشت. به‌طوری‌که در مطالعه حاضر دامنه تمایز ژنتیکی دام‌های بومی با هلشتاین از ۰/۰۶۹ در کردی تا ۰/۱۳۸ در سیستانی متغیر بود (جدول ۱). درحالی‌که این مقادیر در مطالعه Karimi و همکاران (۲۰۱۶b) از ۰/۱۲۹ در کردی تا ۰/۳۳۲ در سیستانی متغیر بود. با توجه به مشابه بودن آماره‌ی مورداستفاده (شاخص تمایز ویر و کوکرهام)، تفاوت موجود احتمالاً مربوط به سری نشانگرهای متفاوت مورداستفاده و منشاء متفاوت جمعیت هلشتاین باشد. البته دامنه تمایزی نژادهای بومی موردمطالعه با جمعیت‌های هلشتاین در مطالعه‌ی حاضر در برخی مواقع حتی پایین‌تر از تمایز بین نژادهای بومی است. این نتیجه حاکی از آن است که نتایج Karimi و همکاران (۲۰۱۶b) در این خصوص منطقی‌تر به نظر می‌رسد. درهرصورت دامنه‌ی تمایزی گروه‌های اول (سرابی خالص از منشاء داده‌های توالی‌یابی شده با آرایه‌های با تراکم ۴۰K) و دوم (آمیخته‌های آذربایجان شرقی از منشاء داده‌های توالی‌یابی شده با آرایه‌های با تراکم ۴۰K) با دامنه تمایزی نژاد سرابی از گروه چهارم با گروه اول مطابقت داشت. و در هر دو مورد تمایز سرابی و آمیخته‌های بومی با جمعیت‌های هلشتاین در بازه ۰/۰۸۰ تا ۰/۰۹۰ قرار داشت (جدول ۱). نکته‌ی قابل‌توجه دیگر به بررسی تمایز جمعیتی بین سرابی‌های گروه اول با سرابی‌های گروه چهارم از دو منشاء توالی‌یابی مختلف، مربوط می‌شود. نتایج این بخش دور از انتظار بود و میزان تمایز بین این دو سری داده بسیار بالاتر از حد انتظار بود و حتی این تمایز بیشتر از تفاوت بین سرابی‌ها با سایر نژادهای بومی است. این در شرایطی است که تفاوت سرابی‌ها با آمیخته‌های گروهای ۲، گروه ۳ و با سایر نژادهای بومی گروه ۴ تمایز قابل‌قبولی دارد. به‌عبارت‌دیگر تمایز حدود ۰/۱۳۵ برای سرابی‌های گروه ۴ با سرابی‌های خالص (گروه اول) و ۰/۱۱۹ با آمیخته‌های بومی شمال غرب ایران که بخشی از ژنوم‌شان احتمالاً سرابی است، مشاهده می‌گردد. درهرصورت این نتیجه علیرغم ادغام داده‌های مربوط به دام‌های سرابی خالص گروه اول و آمیخته‌های بومی شمال غرب ایران با داده‌های توالی‌یابی نژادهای بومی (doi_10.5061_dryad.nq189__v1.zip) که با آرایه‌های با تراکم بیشتری توالی‌یابی شده بودند، و استفاده از سری مشترک داده‌ها، نتایج قدری دور از انتظار بود.

نتیجه‌گیری

با توجه به آنالیزهای متعدد صورت گرفته و بررسی ماهیت داده‌های موردمطالعه، دو مورد یا مشکل اساسی قابل‌توجه بود. یکی از این موارد تنوع در کیفیت توالی‌یابی مربوط به گاوهای کشور است، که در برخی موارد بسیار پایین بودند. در کنار کیفیت پایین داده‌ها، بخش عمده‌ای از اطلاعات توالی‌یابی به دلیل پلی‌مورفیسم پایین مربوط به برخی جایگاه‌ها، در کنترل کیفی داده‌ها حذف می‌شوند. این مورد بسیار بارز است و مشکلی از این حیث در ارتباط با داده‌های توالی‌یابی شده‌ی هلشتاین‌های ایران وجود ندارد. این ادعا از انطباق توالی‌های قابل‌قبول هلشتاین ایران با جمعیت‌های هلشتاین ایرلند و فرانسه مشهود بود (شکل‌های ۱ و ۲ و جدول ۱)، هرچند که این داده‌ها با استفاده از آرایه‌های با تراکم مختلف توالی‌یابی شده بودند. با توجه به اینکه کیفیت توالی‌یابی در آنالیز سری‌های داده‌های بومی نسبت به حتی هلشتاین‌های ایران بسیار پایین‌تر بود و نسبت داده‌های گمشده در آن‌ها بالا بود، به نظر می‌رسد باید یک رویکرد جدیدی در استفاده از آرایه‌های ژنومی در توالی‌یابی دام‌های بومی کشور اتخاذ شود. به‌نحوی‌که برای حل اساسی مشکل مطرح‌شده به سمت طراحی و ساخت یا حداقل سفارش آرایه‌های اختصاصی برای دام‌های بومی کشور، قدم برداشته شود. این مورد برخلاف تصور، می‌تواند حتی منجر به کاهش هزینه‌های توالی‌یابی نیز بشود. مشکل عمده‌ی دیگر زمانی رخ می‌دهد که در کشور هنوز به وحدت رویه در استفاده از یک آرایه‌ی اختصاصی، قدمی برداشته نشده و هر گروه تحقیقاتی و یا بنگاه اقتصادی از یکی از پلتفرم‌های موجود در بازار استفاده می‌کند و حتی فایل ارائه‌شده به سایر ارگان‌ها جهت استفاده

به‌نحوی‌که کدگذاری می‌شود که قابل‌استفاده برای سایرین نباشد. به نظر می‌رسد رصد و انتخاب یک پلتفرم واحد در توالی‌یابی، طیف وسیعی از مشکلات موجود را رفع خواهد کرد. حداقل اینکه در ادغام داده‌های با پلتفرم‌های مختلف، اجباری برای حذف بخش عمده‌ای از داده‌ها وجود نداشته باشد. با توجه به نتایج این پژوهش در کنار اهمیت دادن به تنوع ژنتیکی گاوهای بومی، به‌عنوان نتیجه‌ی جانبی، پیشنهاد می‌شود در شرایطی که امکان طراحی و ساخت آرایه‌های اختصاصی وجود ندارد، حداقل بایستی سیاست‌گذاری کشور در جهتی باشد که از بین آرایه‌های طراحی‌شده‌ی موجود، بهترین آن‌ها شناسایی و دام‌های توالی‌یابی شده با یک نوع آرایه و بهترین آن‌ها توالی‌یابی شود تا سرمایه‌های کشور اتلاف نشود و نتایج مطالعات این حوزه قابل استنادتر باشد.

منابع

Alexander, D.H., Lange, K. (2011). Enhancements to the ADMIXTURE algorithm for individual ancestry estimation. BMC Bioinformatics 12:246.

Alexander, D.H., Novembre, J. and Lange, K. (2009). Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Research*. 19: 1655–1664.

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*(1): 1-14.

Ben Jemaa, S., Boussaha, M., Ben Mehdi, M., Lee, J.H. and Lee, S.H. (2015). Genome-wide insights into population structure and genetic history of tunisian local cattle using the illumina bovinesnp50 beadchip. *BMC Genomics*. 16: 67.7.

Bett, R.C., Okeyo, M.A., Malmfors, B., Johansson, K., Agaba, M., Kugonza, D.R., Bhuiyan, A.K.F.H., Mariante, A.S., Mujibi, F.D. and Philipsson, J. (2013). Cattle breeds: extinction or quasi-extant? *Resources*. 2(3): 335-357.

Bollongino, R., Burger, J., Powell, A., Mashkour, M., Vigne, J.D. and Thomas, MG. (2012). Modern taurine cattle descended from small number of Near-Eastern founders. *Molecular Biology and Evolution*. 29: 2101–2104.

Cornélis, D., Melletti, M., Korte, L., Ryan, S. J., Mirabile, M., Prin, T. and Prin, H.H.T. (2014). Ecology, Evolution and Behaviour of Wild Cattle. Implications for Conservation. Cambridge University Press Publication. Cambridge. UK. pp: 326-372.

Decker, J.E., McKay, S.D., Rolf, M.M., Kim, J., Molina Alcala, A., Sonstegard, T.S. and et al. (2014). Worldwide patterns of ancestry, divergence, and admixture in domesticated cattle. *PLoS Genetics*. 10: e1004254.

FAO. (2018). Food and agriculture and organization of the united nations. Retrieved from www.fao.org/home/en

history of French cattle from dense SNP data on 47 worldwide breeds. *PloS one*. 5(9), p.e13038.

Groeneveld, L.F., Lenstra, J.A., Eding, H., Toro, M.A., Scherf, B., Pilling, D. ET AL. (2010). Genetic diversity in farm animals: A review. *Animal Genetics*. 41: 6–31.

Hole, F. (2004). Neolithic Age in Iran. In: Encyclopaedia Iranica. onlineth ed. New York: Columbia University.

Jarrige, J.F. Mehrgarh Neolithic. In Proceedings of the International Seminar on the "First Farmers in Global Perspective", Lucknow, India, 18–20 January 2006; pp. 135–154.

Jombart, T., Devillard, S. and Balloux, F. (2010). Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics*.11: 1-15.

Karimi, K. (2017). Investigation of the Population Structure in Iranian Native Cattle using Discriminant Analysis of Principal Components. *Research on Animal Production*. 8 (17):184-193.

Karimi, K., Koshkoiyeh, A.E., Fozi, M.A., Porto-Neto, L.R. and Gondro, C. (2016a). Prioritization for conservation of Iranian native cattle breeds based on genome-wide SNP data. *Conservation Genetics*. 17(1): 77-89.

Karimi, K., Strucken, E. M., Moghaddar, N., Ferdosi, M. H., Esmailizadeh, A. and Gondro, C. (2016b). Local and global patterns of admixture and population structure in Iranian native cattle. *BMC genetics. 17*(1): 1-14.

Kijas, J.W., Ortiz, J.S., McCulloch, R., James, A., Brice, B., Swain, B. and et al. (2013). Genetic diversity and investigation of polledness in divergent goat populations using 52 088 SNPs. *Animal Genetics*. *44*(3): 325-335.

Kukučková, V., Moravčíková, N., Ferenčaković, M., Simčič, M., Mészáros, G., Sölkner, J., Trakovická, A., Kadlečík, O., Curik, I. and Kasarda, R. (2017). Genomic characterization of Pinzgau cattle: genetic conservation and breeding perspectives. *Conservation Genetics*, 18(4): 893-910.

Mastrangelo, S., Sardina, M.T., Tolone, M., Di Gerlando, R., Sutera, A.M., Fontanesi, L. and Portolano, B. (2018). Genome-wide identification of runs of homozygosity islands and associated genes in local dairy cattle breeds. *Animal*. 12(12): 2480-2488.

Medugorac, I., Medugorac, A., Russ, I., Veit-Kensch, C.E., Taberlet, P., Luntz, B. ET AL. (2009). Genetic diversity of European cattle breeds highlights the conservation value of traditional unselected breeds with high effective population size. *Molecular Ecology*. 18: 3394–3410.

Nei, M. (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from small number of individuals. *Genetics*. 89: 583–90.

Papachristou, D., Koutsouli, P., Laliotis, G.P., Kunz, E., Upadhyay, M., Seichter, D., Russ, I., Gjoko, B., Kostaras, N., Bizelis, I. and Medugorac, I. (2020). Genomic diversity and population structure of the indigenous Greek and Cypriot cattle populations. *Genetics Selection Evolution. 52(1): 1-23.*

Pitt, D., Sevane, N., Nicolazzi, E.L., MacHugh, D.E., Park, S., Colli, L., Martinez, R., Bruford, M.W. and Orozco-terWengel, P. (2018). Domestication of cattle: Two or threeevents? *Evolutionary applications*, 12 (1), 123–136.

Price, A.L., Patterson, N.J., Plenge, R.M., Weinblatt, M.E., Shadick, N.A. and Reich, D. (2006). Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nature genetics*. *38*(8): 904-909.

Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M.A.R., Bender, D. and 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.G., Tetens, J., Thaller, G., Lichtner, P., Sharifi, A.R. and Simianer, H., (2011). A genome-wide scan for signatures of recent selection in Holstein cattle. *Animal genetics*. 41(4): 377-389.

R Core Team (2020) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Available at URL: http://www.r-project.org/index.html

Reynolds, J., Weir, B.S. and Cockerham, C.C. (1983) Estimation of the coancestry coefficient basis for a short-term genetic distance. *Genetics*. 105: 767–779.

Ringner, M. (2008). What is principal component analysis? *Nature Biotechnology*. 26: 303-304.

Rothammer, S., Seichter, D., Förster, M. and Medugorac, I. (2013). A genome-wide scan for signatures of differential artificial selection in ten cattle breeds. *BMC genomics*. 14(1): 1-17.

Soma, P., Kotze, A., Grobler, J.P. and vanWyk, J.B. (2012). South African sheep breeds: population genetic structure and conservation implications. *Small Ruminant Research.* 103(2–3):112–119.

Upadhyay, M., Bortoluzzi, C., Barbato, M., Ajmonemarsan, P., Colli, L., Ginja, C. et al. (2019). Deciphering the patterns of genetic admixture and diversity in southern European cattle using genome-wide SNPs. *Evolutionary applications*. 12(5): 951-963.

Uzzaman, M.R., Zewdu Edea, M., Bhuiyan, S.A., Walker, J., Bhuiyan, A.K.F.H. and Kim, K. S. (2014). Genome-wide single nucleotide polymorphism analyses reveal genetic diversity and structure of wild and domestic cattle in Bangladesh. *Asian-Australasian journal of animal sciences*. 27(10): 1381.

Weir, B.S., and Cockerham, C.C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution.* 1358-1370.

Wultsch, C., Waits, L.P. and Kelly, M.J. (2016). A comparative analysis of genetic diversity and structure in jaguars (Panthera onca), pumas (Puma concolor), and ocelots (Leopardus pardalis) in fragmented landscapes of a critical Mesoamerican linkage zone. *PloS one*. 11(3).

Zeder, M.A., Emshwiller, E., Smith, B.D. and Bradley, D.G. (2006). Documenting domestication: the intersection of genetics and archaeology. *TRENDS in Genetics.* 22(3): 139-155.