

شناسایی نواحی تحت انتخاب مثبت در ژنگان اسب‌های کرد و عرب ایرانی با استفاده از روش مبتنی بر نامتعادلی پیوستگی ژنی

صابر محمد مقصودی^۱، حسن مهربانی یگانه^{۲*} و اردشیر نجاتی جواری^۳
۱، ۲ و ۳. دانشجوی دکتری، دانشیار و استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۵/۱۲)

چکیده

اسب‌های عرب به داشتن عملکرد خوب در مسابقه‌های استقامتی، پرش و زیبایی شهرت دارند. اسب‌های کرد بومی منطقه‌های کوهستانی غرب ایران، مناسب مسابقه‌های چوگان هستند. اسب‌های کرد، قد کوتاه‌تر و وزن سنگین‌تری نسبت به اسب‌های عرب دارند. در این بررسی آماره XP-EHH که مبتنی بر نامتعادلی پیوستگی ژنی (لینکاژی) است برای شناسایی قطعه‌های کروموزومی تحت انتخاب در ژنگان (ژنوم) اسب‌های کرد و عرب ایرانی استفاده شد. برای این منظور، از نمونه خون و مو ۳۸ اسب عرب و ۵۸ اسب کرد DNA ژنگانی استخراج شد. همه نمونه‌ها DNA توسط آرایه Axiom MNEC670 تعیین نژادگان (ژنوتیپ) شدند. پس از پالایش داده‌ها آماره XP-EHH محاسبه شد. در اسب‌های عرب ۵۱ جایگاه (۸۵ ژن) و در اسب‌های کرد ۷ جایگاه (۱۳ ژن) تحت انتخاب شناسایی شد. نواحی تحت انتخاب در اسب‌های عرب با مسیرهای درگیر در سامانه ایمنی، تشکیل پروتئین شیر، رشد و نمو و سوخت‌وساز (متابولیسم) ماهیچه، بینایی، شبکه عصبی و اندازه بدن مرتبط بودند در حالی که در اسب‌های کرد با مسیر گیرنده جفت‌شونده با پروتئین G، رشد و بلوغ فیبرهای ماهیچه، تنظیم خون بندآوری (هموستازی) اکسیژن یاخته‌ای، رنگدانه‌سازی در پوست و مو ارتباط داشتند.

واژه‌های کلیدی: اسب عرب ایرانی، نژاد اسب کرد، XP-EHH، نشانه‌های انتخاب.

Identification of positive selection signatures in Iranian Kurdish and Arabian horses by linkage disequilibrium-based method

Saber Mohammad Maghsoodi¹, Hassan Mehrbani Yeganeh^{2*} and Ardeshir Nejati Javaremi³

1, 2, 3. Ph.D. Candidate, Associate Professor and Professor, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

(Received: May 30, 2018 - Accepted: Aug. 3, 2018)

ABSTRACT

The Arab horses are famous for endurance riding, jumping and beauty. Kurdish horses are native to hilly regions of west of Iran and they are suitable for Polo tournament. Kurdish horses are shorter and heavier than Arabian horses. In this study, we use the linkage disequilibrium-based method, XP-EHH statistic, for Identification of regions that have undergone selection in the genome of Arabian and Kurdish horses. For this purpose, genomic DNA from blood and hair samples from 38 Arabian and 58 Kurdish horses were extracted. All DNA samples genotyped by the Axiom MNEC670 array. After data pruning, XP-EHH statistic was calculated. We identified 51 genomic regions (85 genes) in Iranian Arab horses and 7 genomic regions (13 genes) in Kurdish horses showing signatures of selection. We found positively selected genomic regions in the Iranian Arab horses associated with immune system related pathways, milk protein formation, muscle growth and development, vision, nervous system and body size whereas in the Kurdish horses associated with G protein-coupled receptors, growth and maturation of muscle fibers, cellular oxygen homeostasis and skin and hair pigmentation.

Keywords: Iranian Arab horse, Kurdish horse, selection signatures, XP-EHH.

* Corresponding author E-mail: hmehrbani@ut.ac.ir

مقدمه

اهلی‌سازی تأثیر قابل توجهی در ظاهر و رفتار گونه‌ها و نژادهای اهلی‌شده حیوان‌ها داشته است. در مرحله‌های اولیه اهلی‌سازی، انتخاب به‌طور ناخودآگاه روی صفات مرتبط با اهلی شدن حیوان‌ها بوده و پس از این مرحله یک انتخاب نظام‌مند روی صفات تولیدی و عملکردی بر مبنای هدف‌های اصلاحی انجام می‌شود (Diamond, 2002). همانند دیگر حیوان‌های اهلی‌شده که همواره تحت انتخاب هستند، اجداد وحشی اسب‌های امروزی نیز به‌طور طبیعی برای سرعت و توانایی انتقال در فاصله‌های طولانی تحت انتخاب بوده‌اند (Gu *et al.*, 2009).

انتخاب باعث می‌شود بخشی از ژنگان (ژنوم) که باعث افزایش سازگاری محیطی و یا افزایش تولید (در انتخاب مصنوعی) می‌شود به شکل ترجیحی در جمعیت باقی بماند و فراوانی آن درون جمعیت افزایش پیدا کند. افزون بر آلل (همردیف ژنی) مطلوب، جایگاه‌های خنثی که در همسایگی آلل مطلوب قرار دارند، نیز به همراه آلل مطلوب در ژنگان ابقا می‌شوند و در نتیجه فراوانی یک تک‌جور (هاپلوتایپ) خاص در یک ناحیه افزایش و تنوع هاپلوتیپی در آن ناحیه کاهش یافته است (Sabeti *et al.*, 2006). بنابراین نواحی تحت انتخاب را می‌توان با کاهش تنوع تک‌جوری و ساختار نامتعادلی پیوستگی ژنی (لینکاژی)^۱ متفاوت آن‌ها از نواحی اطراف آن شناسایی کرد (Hayes *et al.*, 2009). برای شناسایی کاهش تنوع تک‌جوری و ساختار نامتعادلی پیوستگی ژنی متفاوت نواحی تحت انتخاب روش‌های مختلفی وجود دارد که یکی از آن‌ها استفاده از آماره ناخالصی (هموزیگوسیتی) تک‌جور توسعه‌یافته بین جمعیت‌ها یا XP-EHH است. دیدگاه پایه‌ای محاسبه XP-EHH این است که با مقایسه عدد ناخالصی تک‌جور توسعه‌یافته در دو جمعیت برای یک SNP هسته‌ای خاص، جایگاه‌هایی را که در یک جمعیت خالص (هموزیگوس) اند، ولی در جمعیت دیگر چندشکلی (پلی‌مورفیک) هستند را مشخص کنیم (Sabeti *et al.*, 2007).

نتایج بررسی‌ها نشان داد، نژاد اسب‌های عرب ایرانی یکی از نخستین نژادهای اسب بوده که اهلی شده است (Gharahveysi & Irani, 2011). این نژاد حدود ۲۰۰۰ سال پیش از میلاد مسیح به وجود آمده است. اسب‌های عرب ایرانی برای مسابقه‌های سرعتی، استقامتی و پرش و همچنین زیبایی استفاده می‌شود و ریشه مکانی این نژاد در ایران، استان خوزستان است (Gharahveysi & Irani, 2011). در سراسر جهان اسب‌های عرب را به‌عنوان اسب‌های برتر برای مسابقه‌های استقامتی شناخته می‌شوند (Petersen *et al.*, 2013). محل به وجود آمدن و تکامل اسب‌های کرد در ایران بیشتر در منطقه‌های کوهستانی غرب ایران است (Moridi *et al.*, 2013). نژاد اسب کرد یکی از نژادهای توصیه‌شده برای استفاده در مسابقه‌های چوگان است (Vafaei Sayah & Mehrannezhad, 2005). اسب‌های کرد، قد کوتاه‌تر، جثه کوچک‌تر و وزن بیشتری نسبت به اسب‌های عرب دارند (Mosapour Kaleibar *et al.*, 2007). بررسی پیشین در اسب‌های کرد و عرب برای شناسایی جایگاه‌های تحت انتخاب با کمک آماره Fst نشان داد، انتخاب در این دو نژاد در ژن‌های مسیر سیگنالینگ کلسیم و اندوسیتوز و همچنین ژن‌های مرتبط با ساخت و سوخت‌وساز ماهیچه، باروری و شبکه عصبی انجام شده است (Maghsoodi *et al.*, 2017). به‌رغم اینکه چندین بررسی روی ساختار ژنتیکی و نشانه‌های انتخاب اسب‌های بومی کشور انجام شده است (Rafeie *et al.*, 2011; Zandi *et al.*, 2014; Maghsoodi, 2018) تا به حال بررسی در رابطه با شناسایی ناحیه‌های تحت انتخاب مثبت در ژنگان اسب‌های کرد و عرب ایرانی به‌صورت جداگانه با استفاده از روش مبتنی بر نامتعادلی پیوستگی انجام نشده است، لذا هدف از این بررسی، یافتن نشانه‌های انتخاب در ژنگان اسب‌های نژاد عرب و کرد به کمک آماره XP-EHH (مبتنی بر مقایسه میزان نامتعادلی در ژنگان این دو نژاد است) است تا افزون بر تعیین ژن‌ها و مسیرهای مرتبط با تکامل اسب‌های مدرن برخی ژن‌های مهم مرتبط با صفات اقتصادی نیز برای بررسی‌های بیشتر شناسایی شوند.

مواد و روش‌ها

برای نمونه‌گیری از نژاد اسب کرد در آغاز بر پایه پرسشنامه‌های تکمیل‌شده توسط شمار زیادی از کارشناسان خبره، ویژگی‌های ظاهری مورد پذیرش بیشترین کارشناسان تعیین شد. آنگاه به کمک این ویژگی‌ها از استان‌های کرمانشاه، کردستان و آذربایجان غربی و تهران از ۹۱ رأس اسب که بیشترین هماهنگی را با ویژگی‌های ظاهری مورد پذیرش بیشتر کارشناسان داشتند، نمونه خون یا نمونه مو دم اخذ شد. در ادامه از کل نمونه‌های اسب کرد پس از بررسی شجره، شمار ۵۸ رأس اسب (۱۵ مادبان و ۴۳ نریان) با کمترین خویشاوندی به‌عنوان اسب‌های نژاد کرد انتخاب شدند. برای نمونه‌گیری اسب نژاد عرب در آغاز از ۵۹ رأس اسب دارای شناسنامه از استان‌های خوزستان و تهران نمونه خون یا نمونه مو دم برداشت شد و پس از بررسی شجره آن‌ها ۳۸ رأس اسب که کمترین ارتباط خویشاوندی با هم داشتند به‌عنوان نمونه اسب عرب برگزیده شدند (Yousefi Mashouf, 2016). از نمونه‌ها به روش فنول-کلروفورم DNA استخراج و برای تعیین نژادگان (ژنوتیپ) به آزمایشگاه Neogen GeneSeek® در ایالات متحده ارسال و نژادگان نمونه‌ها توسط آرایه تعیین نژادگان ۶۷۰ هزار بازی شرکت Axiom تعیین شد.

پس از تعیین نژادگان، داده‌ها به کمک نرم‌افزار Plink پالایش شد. نرخ تعیین نژادگان همه نمونه‌ها بیشتر از ۹۰ درصد بودند، لذا هیچ نمونه‌ای به دلیل نرخ تعیین نژادگان حذف نشد. آلل‌ها با فراوانی نادر (کمتر از ۰/۰۱ درصد)، نرخ تعیین نژادگان کمتر از ۹۵ درصد و در نامتعادلی هاردی واینبرگ ($p < 10^{-4}$) حذف شدند.

برای حذف افراد خویشاوند آماره $\hat{\pi}$ که نشان‌دهنده نسبت IBID بین افراد است، برای همه افراد نمونه محاسبه شد تا یکی از دو فردی که $\hat{\pi}$ بیشتر از ۰/۲۵ دارد، حذف شوند (Petersen et al., 2013). برای محاسبه $\hat{\pi}$ در نرم‌افزار Plink در آغاز نشانگر SNP‌هایی که در نامتعادلی پیوستگی ژنی بودند حذف و با نشانگر SNP‌هایی که در تعادل پیوستگی ژنی هستند آماره $\hat{\pi}$ محاسبه شد (همه مقایسه‌های جفتی کمتر از ۰/۲۵ بود لذا هیچ فردی حذف نشد).

در نهایت هیچ فردی از ادامه محاسبه‌ها حذف نشد و شمار ۸۲۳۲۱ نشانگر SNP به دلیل آلل‌ها با فراوانی نادر، شمار ۸۰۸۳۷ نشانگر SNP به دلیل نرخ تعیین نژادگان کمتر از ۹۵ درصد و شمار ۷۰۰۹ نشانگر SNP به دلیل اینکه به شدت در نامتعادلی هاردی واینبرگ بودند ($p < 10^{-4}$) حذف شدند.

پس از پالایش داده‌ها، از نرم‌افزار FastPHASE 1.4.8 و فراسنجه‌های استاندارد برای ساخت تک‌جورها و برآورد نژادگان‌های از دست‌رفته در هر کروموزوم استفاده شد. روش‌های برآورد این نرم‌افزار بر پایه مدل خوشه‌ای است که فراسنجه‌های آن در آغاز بر پایه الگوریتم EM (Expectation-Maximization) برآورد می‌شود و آنگاه بر پایه این فراسنجه‌ها نژادگان‌های از دست‌رفته و تک‌جورها برآورد می‌شود (Scheet & Stephens, 2006).

پس از ساخت تک‌جورها با استفاده از بسته نرم‌افزاری *rehh* (Gautier & Vitalis, 2012) در نرم‌افزار R آماره XP-EHH برای هر نشانگر SNP محاسبه شد.

برای محاسبه آماره ناخالصی تک‌جور توسعه‌یافته بین جمعیت‌ها (XP-EHH) در آغاز باید برای هر جمعیت ناخالصی تک‌جور توسعه‌یافته (EHH) محاسبه شود که عبارت است از احتمال اینکه دو تک‌جور توسعه‌یافته انتخاب‌شده به روش تصادفی که یک هسته تک‌جور معین دارند، هموزیگوت باشند (Ma et al., 2014). ناخالصی تک‌جور توسعه‌یافته با رابطه زیر محاسبه می‌شود:

$$EHH_t = \frac{\sum_{i=1}^s \binom{e_{ti}}{2}}{\binom{c_t}{2}}$$

در این رابطه c_t شمار نمونه یک هسته تک‌جور خاص t است، e_{ti} شمار نمونه‌های یک هسته تک‌جور توسعه‌یافته خاص i است که بر پایه یک هسته تک‌جور خاص t است و s شمار تک‌جورهای توسعه‌یافته منحصر به فرد است (Ma et al., 2014).

پس از محاسبه EHH آماره XP-EHH توسط رابطه زیر محاسبه می‌شود:

$$XP EHH_{scores} = \ln \left(\frac{I_A}{I_B} \right)$$

که در آن I_A انتگرال EHH با توجه به فاصله

Retrieved April 10,) (<http://pantherdb.org>) (2018) انجام شد.

نتایج و بحث

پس از محاسبه آماره XP-EHH اگر این آماره منفی باشد، نشان‌دهنده انتخاب در جمعیت کرد است و در غیر این صورت انتخاب در جمعیت اسب عرب رخ داده است. آماره XP-EHH برای شناسایی جایگاه‌هایی که به‌طور تقریبی یا کامل به تثبیت رسیده‌اند توان بالایی دارد (Sabeti *et al.*, 2007). از دیگر برتری‌های استفاده از آماره XP-EHH برای شناسایی جایگاه‌های تحت انتخاب، بدون نیاز به مشخص کردن آلل‌های اجدادی در این روش است (Rothhammer *et al.*, 2013; Utsunomiya *et al.*, 2015). آزمون XP-EHH که ناخالصی تک‌جور توسعه‌یافته بین جمعیت‌ها را مقایسه می‌کند و مبتنی بر نامتعادلی لینکاژی است. به کمک روش‌های مبتنی بر نامتعادلی لینکاژی می‌توان انتخابی که در زمان نزدیک‌تر انجام شده را شناسایی کرد (Oleksyk *et al.*, 2010; Utsunomiya *et al.*, 2013).

همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌کنید در اسب‌های عرب در ۵۱ نشانگر SNP نشانه انتخاب مشاهده شد که در ناحیه ۱۵۰ هزار بازی پیش و پس از این نشانگرهای SNP (یک ناحیه 300-kb که نشانگر SNP تحت انتخاب در مرکز آن قرار دارد) با XP-EHH بیشینه، ۸۵ ژن شناسایی شد. جدول ۲ نشان می‌دهد، در اسب‌های کرد تنها در ۷ نشانگر SNP نشانه انتخاب مشاهده شد که در ناحیه ۱۵۰ هزار بازی پیش و پس از نشانگر SNP با XP-EHH بیشینه، شمار ۱۳ ژن شناسایی شد. قدرمطلق آماره XP-EHH در جایگاه‌های تحت انتخاب در اسب‌های نژاد عرب بالاتر بود که این نتایج می‌تواند نشان‌دهنده این باشد، اسب‌های عرب نسبت به اسب‌های کرد تحت انتخاب شدیدتری بوده‌اند. تحلیل مسیرهای زیستی با نرم‌افزار KEGG نشان داد، از کل ژن‌های تحت انتخاب در اسب‌های عرب، مسیرهای زیستی که بیشترین ژن، از ژن‌های تحت انتخاب را دارند شامل مسیر تعامل سایتوکین-گیرنده سایتوکین، مسیر سیگنالینگ کموکین (Chemokine Signaling Pathway) و مسیر سیگنالینگ گیرنده‌های

ژنتیکی در جمعیت A است و I_B انتگرال EHH با توجه به فاصله ژنتیکی در جمعیت B است. برای تعیین جایگاه‌های تحت انتخاب با آماره XP-EHH پس از محاسبه این آماره به کمک بسته نرم‌افزاری *rehh*، کل ژنگان به پنجره‌های 500-kb (هزار باز) غیر همپوشان تقسیم شد. پس از آن در هر پنجره 500-kb مقدار بیشینه قدرمطلق آماره XP-EHH به‌عنوان آماره آزمون انتخاب شد (Chen *et al.*, 2009; Pickrell *et al.*, 2016). پنجره‌ها بر پایه شمار نشانگر SNP موجود در آن‌ها گروه‌بندی شدند به این صورت که به ازای هر ۲۰ نشانگر SNP که در یک پنجره قرار دارند، یک گروه تشکیل شد به‌طور مثال پنجره‌های 500-kb که بین ۲۱ تا ۴۰ نشانگر SNP دارند، در یک گروه قرار گرفتند. P-value تجربی برای هر پنجره به این شکل محاسبه شد که درون هر گروه شماری از پنجره‌ها که مقدار قدر مطلق آماره XP-EHH آن‌ها بیشتر از پنجره مورد نظر هستند بر شمار کل پنجره‌ها در این گروه تقسیم شد. پنجره‌هایی که P-value آن‌ها کمتر از ۱ درصد است به‌عنوان پنجره‌های تحت انتخاب در نظر گرفته شدند (Chen *et al.*, 2016; Pickrell *et al.*, 2009). ناحیه ۱۵۰ هزار بازی پیش و پس از نشانگر SNP با XP-EHH حداکثر به‌عنوان ناحیه تحت انتخاب در نظر گرفته شد (Kader *et al.*, 2015).

پس از شناسایی نواحی کروموزومی تحت انتخاب، ژن‌های نامزد موجود در آن‌ها با استفاده از مقایسه طول پنجره با توالی ژنگان EquCab2.0 Assembly استخراج شدند برای این کار از ابزار تحت وب Biomart وبسایت <https://www.ensembl.org/biomart> (Retrieved April 10, 2018) استفاده شد.

تحلیل عملکردی ژن‌های موجود در جایگاه‌های تحت انتخاب با استفاده از ابزارهای حاشیه‌نویسی عملکردی و خوشه‌بندی ژن‌ها در نرم‌افزار بر خط DAVID (Dennis *et al.*, 2003) و ابزار جستجوی مسیرهای زیستی در نرم‌افزار تحت وب KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) همچنین از روش تجزیه لیست ژن‌های PANTHER (Mi *et al.*, 2013) به کمک وبسایت

بیشترین ژن‌های تحت انتخاب را داشتند، مرتبط با سمانه ایمنی هستند. نتایج بررسی‌ها نشان داده است، ژن‌های درگیر در سمانه ایمنی بدن به‌ویژه ژن‌های دخیل در شناسایی عامل‌های بیماری‌زا و ژن‌های مؤثر در اثر متقابل بین میزبان و عامل‌های بیماری‌زا برای تحت انتخاب قرار گرفتن مستعد هستند (Areal *et al.*, 2011).

همسان تول (Toll-Like Receptor Signaling Pathway) و اتصال‌های محکم (Tight Junction) هستند. سه مسیر اول هرکدام چهار ژن و مسیر آخر، سه ژن از ژن‌های تحت انتخاب در آن‌ها دخیل هستند. با توجه به نتایج این بررسی در اسب‌های عرب بیشتر روی ژن‌های مربوط به سیستم ایمنی انتخاب انجام شده است، چون سه مسیری نخست که

جدول ۱. ژن‌ها شناسایی شده در جایگاه‌های تحت انتخاب در اسب‌های عرب
Table 1. Detected genes in the regions under selection in Arabian horses

Chromosome	Position (Mbp)	Genes	Maximum XP-EHH
1	9.1-9.4	CPXM2, GPR26	5.4
1	10.5-10.8	HTRA1, PLEKHA1, BTBD16, TACC2	5.4
1	13.3-13.6	EIF3A, RF00413, CACUL1	6.6
1	15.9-16.2	ATRNL1	5.8
2	54.6-54.9	EBF2	5.5
2	69.6-69.9	TMEM192	6.4
3	60.1-60.4	CXCL11, CXCL10, CXCL9, SDAD1, NAAA, PPEF2, USO1	5
3	64.5-64.8	CABS1, CSN3, ODAM	5.9
4	17.4-17.7	RF00108, TNS3	5.6
4	69.2-69.5	LRRN3	6.7
5	11-11.3	RF00565, COP1	8.4
5	11.4-11.7	COP1	6.1
6	9.1-9.4	INHA, STK11IP, SLC4A3	5.9
6	13.5-13.8	DOCK10	5.3
6	24.6-24.9	-	5.8
6	43.8-44.1	LMO3	4.9
6	46.7-47	-	5
6	48.2-48.5	ST8SIA1, C2CD5	4.8
9	29.7-30	-	5
9	45.4-45.7	VPS13B	4.8
9	73.3-73.6	LRRC6, TMEM71, TG	5.9
10	72.1-72.4	RNF217, TPD52L1, HDDC2	6.2
11	12.8-13.1	AXIN2, RF00100, CEP112	6
11	60.9-61.2	USP22, DHRS7B, TMEM11, NATD1, MAP2K3	3.4
14	0.5-0.8	-	4.9
14	50.4-50.7	CEP120, PRDM6, PPIC	4.6
15	21.9-22.2	-	5
16	69.8-70.1	AMOTL2, CEP63, KY	5.1
16	70.7-71	-	5
17	3-3.3	-	5.5
17	4.7-5	-	5.7
17	7.6-7.9	PDX1, FLT3, PAN3	5.4
18	2.1-2.4	-	5.9
18	2.8-3.1	SAP130, AMMECR1L, POLR2D, WDR33	6.3
18	3.1-3.4	WDR33, LIMS2, GPR17, MYO7B, IWS1	5.7
18	28.6-28.9	-	5.3
20	0.3-0.6	-	3.9
20	51.9-52.2	-	4.7
21	0.9-1.2	-	3.3
21	45.2-45.5	ANKH, OTULIN	5.2
23	0.3-0.6	CTSV, ZNF782	4.4
23	16.7-17	-	7
25	13-13.3	RAD23B, KLF4	5.7
26	8.7-9	-	5.4
29	4-4.3	PAR3	5.6
29	11-11.3	GPR158	5.5
31	12.4-12.7	TFB1M, CLDN20, TIAM2, RF00100	5.3
X	9.5-9.8	OFD1, GPM6B, GEMIN8	4.9
X	78.7-79	PCDH19, TNMD, TSPAN6, SRPX2	4.6
X	115.8-116.1	-	3.2
X	115.9-116.2	-	3.6

خونی و همچنین ماتریکس خارج یاخته‌ای به ترمیم ماهیچه کمک می‌کند (Kim *et al.*, 2013). در بررسی روی مسیرهایی که میزان بیان ژن‌های آن‌ها در نتیجه تمرین‌های بدنی در خون و ماهیچه‌های کالبدی (اسکلتی) اسب‌ها تغییر می‌کند مشخص شد که بیان ژن‌های مرتبط با مسیره‌های سمانه ایمنی از جمله مسیر سیگنالینگ کمکوئین و مسیر سیگنالینگ گیرنده‌های همسان Toll به‌طور معنی‌داری تغییر می‌کنند (Kim *et al.*, 2013).

مسیر دیگری که ژن‌های آن تحت انتخاب بود مسیر اتصال‌های محکم است. اتصال‌های محکم، خون بندآوری فیزیولوژیک را با مهار برخی حمل‌ونقل‌های خاص و ایجاد بازرنده‌های فیزیکی مهار می‌کند و برخی از بیماری‌های معمول اسب‌ها مانند کولیک، سرطان پوست و بیماری نیل غربی با تخریب اتصال‌های محکم مرتبط است (Kang *et al.*, 2016). در مقایسه گاوهای نژاد آنگوس با دو نژاد جرسی و هان‌وو برای شناسایی نشانه‌های انتخاب، همبستگی بین مسیر اتصال‌های محکم و بازده تغذیه در گاوهای گوشتی شناخته شده است (Taye *et al.*, 2018).

برخی از ژن‌هایی که تحت انتخاب بودند، جزء ژن‌های مهمی هستند که عملکرد آن‌ها شناخته شده است. یکی از ژن‌های تحت انتخاب در اسب‌های عرب در کروموزوم شماره ۳، ژن CSN3 است که مسئول تولید یک نوع پروتئین از چهار نوع پروتئین کازئین شیر در اسب‌ها است (Brinkmann *et al.*, 2016). انواع پروتئین کازئین شیر به خاطر توانایی تشکیل میسل‌ها نقش مهمی در تأمین کلسیم، فسفات و اسیدآمینه برای نوزادان پستانداران دارند (-Uniacke, Lowe *et al.*, 2010). وجود تنوع ژنتیکی در این ژن بیشتر در بین نژادهای مختلف اسب گزارش شده بود (Brinkmann *et al.*, 2016) و نشانه‌های انتخاب در این ژن در گاو بیشتر در چند بررسی گزارش شده است (Rothammer *et al.*, 2013; Taye *et al.*, 2017b).

برخی از ژن‌های تحت انتخاب در اسب نژاد عرب مرتبط با رشد و نمو یا سوخت‌وساز ماهیچه بودند، همانند ژن ATRNL1 که مرتبط با سوخت‌وساز انرژی در ماهیچه، دستگاه تنفس و رفتار است و پیش‌ازاین

مسیر تعامل سایتوکین-گیرنده سایتوکین به‌طور مستقیم مرتبط با سیستم دفاعی بدن است. سایتوکین‌ها و گیرنده‌های آن‌ها کلید تنظیم یاخته‌هایی هستند که در آغاز با تطبیق پاسخ ایمنی درگیرند (Daub *et al.*, 2013). مسیر سیگنالینگ کمکوئین نیز اهمیت زیادی در آغاز و هدایت یاخته‌های سمانه ایمنی در زمان رویارویی با عفونت، زخم و تورم دارند (Sokol & Luster, 2015). مسیر سیگنالینگ گیرنده‌های همسان Toll هم همانند دو مسیر پیشین در سمانه ایمنی بدن دخیل هستند. گیرنده‌های همسان Toll مولکول‌های پایه‌ای حسگر (سنسور)های آغازگر سمانه ایمنی میزبان هستند که اثر مولکولی طیف گسترده‌ای از بیمارگر (پاتوژن)های میکروبی را شناسایی کرده و با استفاده از روش‌های متفاوتی منجر به پاسخ سمانه ایمنی می‌شود (Lester & Li, 2014).

انتخاب در ژن‌های مسیره‌های مرتبط با سیستم ایمنی در اسب‌های عرب می‌تواند به دلایل مختلفی رخ داده باشد. یکی از این دلایل می‌تواند انتخاب اسب‌های عرب برای مسابقه‌های استقامتی باشد. از آنجایی که تمرین‌های بدنی یک چالشی برای خون بندآوری (هموستازی) همه بدن ایجاد می‌کند، سمانه ایمنی در نتیجه تمرین‌های بدنی دچار اختلال می‌شود (Clarkson & Sayers, 1999). تمرین‌های بدنی منجر به تغییرهایی در فیزیولوژی بدن همانند افزایش جریان خون، تغییر در سطوح هورمونی، ساخت پروتئین‌های تکانه (شوگ) گرمایی، تنش اکسایشی (اکسیداتیو) و تولید اینترلوکین‌ها و گیرنده‌های آن همراه با مواد دیگری که تولید تورم می‌کنند می‌شود (Capomaccio *et al.*, 2010). تورم نشان‌دهنده مجموعه‌ای از رخدادهاست که به‌طور معمول با آسیب بافت آغاز شده و با ترمیم بافت به پایان می‌رسد. آسیب ماهیچه در نتیجه تمرین یک رخداد شناخته شده است که منجر به تورم ماهیچه می‌شود (Clarkson & Sayers, 1999). پس تمرین‌های بدنی منجر به فعال شدن سمانه ایمنی در پاسخ به تورم ماهیچه شده که در نهایت سمانه ایمنی با کمک به از بین بردن بافت‌های مرده یا بقایای یاخته‌ای و در نهایت ترمیم ماهیچه آسیب‌دیده، فیبرهای عصبی، رگ‌های

بیشتر در پوست و شبکه عصبی و بافت‌های مشتق از آن بیان می‌شود (Liu *et al.*, 2010). نشان داده شده، این ژن نقش مهمی در مرحله‌های اولیه تشکیل مغز در ماهی قزل‌آلا دارد و جهش در این ژن در انسان باعث بروز صرع می‌شود (Emond *et al.*, 2009) در بررسی روی ژن‌های مرتبط با اهلی شدن گربه‌ها جزء ژن‌هایی بود که به شدت تحت انتخاب قرار داشت (Montague *et al.*, 2014). در بررسی روی دام‌ها اهلی مشخص شده است که ژن PCDH19 در گوسفند تحت انتخاب بوده است و این ژن به‌عنوان ژن نامزد انتخاب در این بررسی معرفی شده است (Zhu *et al.*, 2015). ژن دیگر مرتبط با شبکه عصبی ژن SRPX2 است که در انسان مرتبط با توانایی صحبت کردن است (Roll *et al.*, 2006). این ژن به‌عنوان ژن نامزد انتخاب در کروموزوم X گوسفند معرفی شده است (Zhu *et al.*, 2015).

بررسی پیشین برای شناسایی جایگاه‌های تحت انتخاب روی این دو نژاد به کمک آماره Fst (Maghsoodi *et al.*, 2017) و مقایسه نتایج آن با این بررسی نشان می‌دهد، به‌جز ناحیه ۹/۵-۹/۶۱ Mbp از کروموزوم X (در اسب‌های عرب)، بین نتایج این دو بررسی همپوشانی مشاهده نمی‌شود، که می‌تواند به دلیل مقیاس زمانی متفاوتی باشد که این دو روش نشانه‌های انتخاب را در آن شناسایی می‌کنند. به کمک آماره Fst می‌توان انتخابی که بیشتر در ۳۰۰۰ نسل پیش انجام شده را شناسایی کرد در حالی که روش XP-EHH می‌تواند انتخابی که در کمتر از ۱۲۰۰ نسل پیش انجام شده را شناسایی کند (Oleksyk *et al.*, 2010). در بررسی نشانه‌های انتخاب در گاو نیز همپوشانی کمی بین دو روش Fst و XP-EHH مشاهده شد (Chen *et al.*, 2015). در ناحیه ۹/۵-۹/۶۱ Mbp روی کروموزوم X در اسب عرب که به‌عنوان جایگاه تحت انتخاب هم به روش XP-EHH (Maghsoodi *et al.*, 2017) و هم به روش XP-EHH به‌عنوان ناحیه تحت انتخاب شناسایی شده سه ژن OFD1، GPM6B و GEMIN8 وجود دارند. در بررسی نشانه‌های انتخاب در کروموزوم X اسب‌های پونی چینی نیز این سه ژن، در ناحیه شناسایی شده توسط

در بررسی جایگاه‌های تحت انتخاب در اسب‌های کوارتر انتخاب‌شده برای کاتینگ به‌عنوان ژن تحت انتخاب گزارش شده است (Beltrán *et al.*, 2015). ژن MAP2K3 جزء ژن‌های سیگنالینگ MAPK (Mitogen-activated protein kinase) است. این مسیر یکی از مسیرهای سیگنالینگ درون‌یاخته‌ای است که نقش مهمی در تشکیل ماهیچه دارد (Wu *et al.*, 2010) و همچنین با کیفیت گوشت پس از کشتار مرتبط است (Ponsuksili *et al.*, 2009). ارتباط بین ژن MAP2K3 با ماهیچه ناحیه کمر و صفت چربی در خوک‌ها شناخته شده است که به دلیل نقش این ژن در رشد و تمایز ماهیچه است (Wu *et al.*, 2010). در این بررسی روی گاو نیز ارتباط ژن MAP2K3 با کیفیت گوشت گزارش شده است (Taye *et al.*, 2017a).

برخی ژن‌های تحت انتخاب در اسب عرب مرتبط با بینایی بودند همانند ژن PPEF2 که مرتبط با گیرنده‌های نوری در چشم هستند بیشتر به‌عنوان ژن نامزد انتخاب در انسان گزارش شده است (Kimura *et al.*, 2007). پروتئینی تولیدی ژن PLEKHA1 در تشکیل سامانه‌های سیگنالینگ در غشای پلازما نقش دارد. همبستگی معنی‌دار ژن PLEKHA1 با تخریب ماکولار (چشم، ناشی از افزایش سن، شناخته شده است (Conley *et al.*, 2006; Yu *et al.*, 2013).

یکی از ژن‌های تحت انتخاب ژن ANKH است که همسانی (همولوگ) انسانی ژن آنکلیوسیس پیشرفته (Progressive Ankylosis Gene) در موش است. میزان بیان این ژن در مرحله‌های مختلف جنینی اسب تغییر می‌کند (Klein & Troedsson, 2011) و همچنین میزان بیان آن با بلوغ غضروف مفصل پس از تولد اسب همبستگی دارد (Mienaltowski *et al.*, 2008). این ژن پیش‌ازاین نیز در بررسی‌های نشانه‌های انتخاب در اسب‌های تروبرد (Gu *et al.*, 2009) و مرغ تخم‌گذار (Qanbari *et al.*, 2012) به‌عنوان ژن تحت انتخاب شناسایی شده بود.

برخی ژن‌های تحت انتخاب مرتبط با شبکه عصبی بودند. پیش‌ازاین نیز انتخاب در ژن‌های مرتبط با شبکه عصبی در اسب گزارش شده است (Beltrán *et al.*, 2015). ژن پروتکلادیرین ۱۹ (Protocadherin 19) که

و نگه‌داری ماهیچه‌های کالبدی دخیل هستند و همچنین می‌توانند با تحریک انتخابی ساخت پروتئین یا با جلوگیری از تغییر و تبدیل پروتئین وابسته به سایتوکین در رشد و بلوغ لیف‌های ماهیچه دخالت کنند (Guttridge, 2011).

بررسی ژن‌های تحت انتخاب در اسب نژاد کرد نشان‌دهنده اهمیت بالای برخی از این ژن‌ها است. یکی از ژن‌های مهم تحت انتخاب در اسب نژاد کرد که نقش آن با توجه به نتایج بررسی مسیرهای زیستی به کمک نرم‌افزار تحت وب KEGG در بسیاری از مسیرهای زیستی نقش دارد، ژن SDHA است. ژن SDHA یکی از زیرشاخه‌های آنزیم سوکسینات دهیدروژناز (SDH) را تولید می‌کند و بزرگ‌ترین ژن و پروتئین، آنزیم سوکسینات دهیدروژناز است (Hensen & Bayley, 2011) که اکسایش (اکسیداسیون) سوکسینات به فومارات را کاتالیز می‌کند (Her et al., 2015). این ژن به احتمال در تنظیم خون بندآوری اکسیژن یاخته‌ای در انسان نقش دارد (Baysal et al., 2007).

ژن دیگر مهم ژن RGS19 است که تنظیم‌کننده پروتئین ۱۹ است که ارتباط بین این ژن و رنگدانه‌سازی در پوست و موی انسان (Chen et al., 2010) و موش (McGowan et al., 2008) شناخته شده است. بیشتر نشانه‌های انتخاب در این ژن در انسان گزارش شده است (Hider et al., 2013; Pickrell et al., 2009).

برای شناخت بهتر ژن‌های تحت انتخاب در نژاد عرب و کرد، ژن‌های موجود در پنجره‌های تحت انتخاب به روش PANTHER برای فرآیندهای زیست‌شناختی طبقه‌بندی شد که نتایج آن در جدول ۳ آمده است.

هر دو روش *di* (بر پایه Fst) و XP-EHH به‌عنوان جایگاه تحت انتخاب حضور داشتند و این بررسی پیشنهاد داده است که احتمال دارد این سه ژن با صفت قد در اسب‌ها همبستگی داشته است (Liu et al., 2018). بررسی بین‌گونه‌ای روی ژن OFD1 که بر رشد استخوان تأثیر دارد (Bimonte et al., 2011) نشان داده است، این ژن در گونه اسب به‌شدت تحت انتخاب بوده است (Chang et al., 2011). در بررسی صفات مرتبط با اندازه بدن شامل قد، توان، عمق بدن و عرض کفل در گاوهای هلشتاین، نشانگر SNP‌های روی ژن‌های GPM6B و GEMIN8 همبستگی بسیار معنی‌داری با این صفات داشتند (Cole et al., 2011) گزارش شده که هر سه ژن OFD1، GPM6B و GEMIN8 در هنگام اهلی‌سازی گربه (Montague et al., 2014) نیز تحت انتخاب بوده‌اند. در این بررسی با توجه به اینکه اسب عرب به‌طور معنی‌داری قدبلندتری از اسب کرد دارد (Mosapour Kaleibar et al., 2007) و با توجه به دیگر بررسی‌های انجام شده احتمال دارد این سه ژن با ترکیب بدنی اسب‌ها همبستگی داشته و برای بررسی‌های بیشتر پیشنهاد می‌شود.

مسیرهای زیستی که ژن‌های تحت انتخاب در اسب نژاد کرد به کمک نرم‌افزار تحت وب DAVID 6.7 بررسی شد. این بررسی نشان داد، در یک مسیر زیستی دو ژن و در دیگر مسیرهای زیستی تنها یک ژن، از ژن‌های تحت انتخاب دخیل هستند. یکی از مسیرهای زیستی که در آن دو ژن (NPBWR2, OPRL1) تحت انتخاب درگیر بود، مسیر گیرنده‌های جفت‌شونده با پروتئین G (G protein-coupled receptors) است. نتایج بررسی‌ها نشان داده است، فعال شدن گیرنده جفت‌شونده با پروتئین G در حفظ

جدول ۲. ژن‌های شناسایی‌شده در جایگاه‌های تحت انتخاب در اسب‌های کرد

Table 2. Detected genes in the regions under selection in Kurdish horses

Chromosome	Position (Mbp)	Genes	Maximum XP-EHH
4	67.8-68.1	-	5.4
8	2.3-2.6	-	3.4
21	57.5-57.7	EXOC3, AHRR, PDCD6, SDHA, CCDC127, LRRC14B	3.7
22	49.6-49.9	DNAJC5, ZNF512B, PRPF6, TCEA2, RGS19, OPRL1, NPBWR2	3.7
29	0.1-0.4	-	3.7
X	2.6-2.9	-	3.8
X	46.5-46.8	-	3.9

جدول ۳. حاشیه‌نویسی عملکردی به روش PANTHER ژن‌های تحت انتخاب

Table 3. Functional annotation of under selection genes using PANTHER gene list analysis

PANTHER gene ontology terms	Arabian horses (%)	Kurdish horses (%)
Cellular process (GO:0009987)	26.5	30.4
Metabolic process (GO:0008152)	14.6	21.7
Cellular component organization or biogenesis (GO:0071840)	11	4.3
Biological regulation (GO:0065007)	9.6	8.8
Developmental process (GO:0032502)	9.6	4.4
Localization (GO:0051179)	7.4	13
Multicellular organismal process (GO:0032501)	7.4	-
Response to stimulus (GO:0050896)	6.6	17.4
Reproduction (GO:0000003)	2.8	-
Biological adhesion (GO:0022610)	1.5	-
Locomotion (GO:0040011)	1.5	-
Immune system process (GO:0002376)	1.5	-

درصد)، فرآیندهای متابولیک (۱۴/۷ درصد) و سازمان‌دهی محتوای یاخته‌ای (۱۱ درصد) هستند. بنابر نتایج این بررسی در برخی از کروموزوم‌های ناحیه‌های تحت انتخابی وجود دارد که هنوز هیچ ژنی در آن‌ها شناسایی نشده است. نتایج بررسی‌های پیشین نشان داده، ناحیه‌های بدون کدکننده، می‌توانند در تعیین میزان بیان ژن‌ها نقش داشته باشند (Maurano *et al.*, 2012; Vernot *et al.*, 2012)، بنابراین این ناحیه‌ها نیز ممکن است در میزان بیان برخی ژن‌ها تأثیر داشته باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این بررسی نشان داد، از حدود ۱۲۰۰ نسل پیش تا زمان حال در اسب‌های عرب بیشتر مسیرهای مرتبط با آغاز پاسخ سمانه ایمنی و در اسب‌های کرد بیشتر مسیر گیرنده‌های جفت‌شونده با پروتئین G تحت انتخاب بوده‌اند همچنین ژن‌های مهم تحت انتخاب در اسب‌های کرد با رشد و بلوغ لیف‌های ماهیچه، تنظیم خون بندآوری اکسیژن یاخته‌ای و رنگدانه‌سازی در پوست و مو و در اسب‌های عرب با سمانه ایمنی، تشکیل پروتئین شیر، رشد و نمو و سوخت‌وساز ماهیچه، بینایی، شبکه عصبی و اندازه بدن مرتبط بودند. شناسایی جایگاه‌های تحت انتخاب افزون بر آسانگری درک چگونگی عمل انتخاب طبیعی و مصنوعی روی این دو نژاد، می‌تواند به شناسایی QTLها و ناحیه‌های مرتبط با صفات اقتصادی مهم کمک کند.

نتیجه این بررسی نشان داد، از ژن‌هایی که نشانه‌های انتخاب در نژاد عرب مشاهده شد، سه فرآیندی که بیشترین سهم از ژن‌های تحت انتخاب داشتند به ترتیب شامل فرآیندهای یاخته‌ای (GO:0009987)، فرآیندهای سوخت‌وسازی یا متابولیک (GO:0008152) و سازمان‌دهی محتوای یاخته‌ای (GO:0071840) هستند و در نژاد کرد سه فرآیند اصلی شامل به فرآیندهای یاخته‌ای (GO:0009987)، فرآیندهای متابولیک (GO:0008152) و پاسخ به محرک (GO:0050896) بودند.

نتایج این بررسی با نتایج تحقیق Metzger *et al.* (2015) که نشانه‌های انتخاب را به کمک ROH (Runs of Homozygosity) در نژادهای مختلف اسب بررسی کردند، در سه فرآیند اصلی تحت انتخاب همسان ولی ترتیب آن‌ها متفاوت بود. در آن بررسی روی اسب‌های عرب نتایج طبقه‌بندی ژن‌های تحت انتخاب به روش PANTHER برای فرآیندهای زیست‌شناختی، سه فرآیندی که بیشترین سهم را از ژن‌های تحت انتخاب این نژاد داشتند به ترتیب شامل حدود ۲۶/۳ درصد ژن‌ها مربوط به فرآیندهای سوخت‌وسازی، ۱۹/۳ درصد مربوط به فرآیندهای یاخته‌ای و ۱۰/۶ درصد ژن‌ها مرتبط با استقرار و نگهداری محتوای یاخته‌ای بودند (Metzger *et al.*, 2015). درحالی‌که در این بررسی سه فرآیندی که بیشترین سهم را از ژن‌های تحت انتخاب در اسب‌های عرب داشتند به ترتیب شامل فرآیندهای یاخته‌ای (۲۶/۵

REFERENCES

- Ala Amjadi, M., Mehrabani Yeganheh, H. & Sadeghi, M. (2018). A study of genetic diversity of Kurdish horse population in Iran using Micro-satellite indicators. In: Proceedings of 10th International Congress On Genetics Applied To Livestock Production, 11-16 Feb., Aotea Centre, Auckland, New Zealand, pp. 799.

2. Areal, H., Abrantes, J. & Esteves, P. J. (2011). Signatures of positive selection in Toll-like receptor (TLR) genes in mammals. *BMC Evolutionary Biology*, 11, 368.
3. Baysal, B. E., Lawrence, E. C. & Ferrell, R. E. (2007). Sequence variation in human succinate dehydrogenase genes: evidence for long-term balancing selection on SDHA. *BMC Biology*, 5, 12.
4. Beltrán, N. A. R., Meira, C. T., de Oliveira, H. N., Pereira, G. L., Silva, J. A. I. V., da Mota, M. D. S. & Curi, R. A. (2015). Prospection of genomic regions divergently selected in cutting line of Quarter Horses in relation to racing line. *Livestock Science*, 174 (Supplement C), 1-9.
5. Bimonte, S., De Angelis, A., Quagliata, L., Giusti, F., Tammaro, R., Dallai, R., Ascenzi, M.-G., Diez-Roux, G. & Franco, B. (2011). Odf1 is required in limb bud patterning and endochondral bone development. *Developmental Biology*, 349(2), 179-191.
6. Brinkmann, J., Jagannathan, V., Drogemuller, C., Rieder, S., Leeb, T., Thaller, G. & Tetens, J. (2016). Genetic variability of the equine casein genes. *Journal of Dairy Science*, 99(7), 5486-5497.
7. Capomaccio, S., Cappelli, K., Barrey, E., Felicetti, M., Silvestrelli, M. & Verini-Supplizi, A. (2010). Microarray analysis after strenuous exercise in peripheral blood mononuclear cells of endurance horses. *Animal Genetics*, 41 Suppl 2, 166-175.
8. Chang, T. C., Klabnik, J. L. & Liu, W. S. (2011). Regional selection acting on the OFD1 gene family. *PLoS One*, 6(10), e26195.
9. Chen, H., Patterson, N. & Reich, D. (2010). Population differentiation as a test for selective sweeps. *Genome Research*, 20(3), 393-402.
10. Chen, M., Pan, D., Ren, H., Fu, J., Li, J., Su, G., Wang, A., Jiang, L., Zhang, Q. & Liu, J. F. (2016). Identification of selective sweeps reveals divergent selection between Chinese Holstein and Simmental cattle populations. *Genetics Selection Evolution*, 48(1), 76.
11. Clarkson, P. M. & Sayers, S. P. (1999). Etiology of exercise-induced muscle damage. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 24(3), 234-248.
12. Cole, J. B., Wiggans, G. R., Ma, L., Sonstegard, T. S., Lawlor, T. J., Jr., Crooker, B. A., Van Tassell, C. P., Yang, J., Wang, S., Matukumalli, L. K. & Da, Y. (2011). Genome-wide association analysis of thirty-one production, health, reproduction and body conformation traits in contemporary U.S. Holstein cows. *BMC Genomics*, 12, 408.
13. Conley, Y. P., Jakobsdottir, J., Mah, T., Weeks, D. E., Klein, R., Kuller, L., Ferrell, R. E. & Gorin, M. B. (2006). CFH, ELOVL4, PLEKHA1 and LOC387715 genes and susceptibility to age-related maculopathy: AREDS and CHS cohorts and meta-analyses. *Human Molecular Genetics*, 15(21), 3206-3218.
14. Daub, J. T., Hofer, T., Cutivet, E., Dupanloup, I., Quintana-Murci, L., Robinson-Rechavi, M. & Excoffier, L. (2013). Evidence for polygenic adaptation to pathogens in the human genome. *Molecular Biology and Evolution*, 30(7), 1544-1558.
15. Dennis, G., Jr., Sherman, B. T., Hosack, D. A., Yang, J., Gao, W., Lane, H. C. & Lempicki, R. A. (2003). DAVID: Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery. *Genome Biology*, 4(5), P3.
16. Diamond, J. (2002). Evolution, consequences and future of plant and animal domestication. *Nature*, 418(6898), 700-707.
17. Emond, M. R., Biswas, S. & Jontes, J. D. (2009). Protocadherin-19 is essential for early steps in brain morphogenesis. *Developmental Biology*, 334(1), 72-83.
18. Gautier, M. & Vitalis, R. (2012). rehh: an R package to detect footprints of selection in genome-wide SNP data from haplotype structure. *Bioinformatics*, 28(8), 1176-1177.
19. Gharahveysi, S. & Irani, M. (2011). Inbreeding Study on the Iranian Arab Horse Population. *World Journal of Zoology*, 6(1), 1-6.
20. Gu, J., Orr, N., Park, S. D., Katz, L. M., Sulimova, G., MacHugh, D. E. & Hill, E. W. (2009). A genome scan for positive selection in thoroughbred horses. *PLoS One*, 4(6), e5767.
21. Guttridge, D. C. (2011). Making muscles grow by g protein-coupled receptor signaling. *Sci Signal*, 4(201), pe45.
22. Hayes, B. J., Chamberlain, A. J., Maceachern, S., Savin, K., McPartlan, H., MacLeod, I., Sethuraman, L. & Goddard, M. E. (2009). A genome map of divergent artificial selection between *Bos taurus* dairy cattle and *Bos taurus* beef cattle. *Animal Genetics*, 40(2), 176-184.
23. Hensen, E. F. & Bayley, J. P. (2011). Recent advances in the genetics of SDH-related paraganglioma and pheochromocytoma. *Familial Cancer*, 10(2), 355-363.
24. Her, Y. F., Nelson-Holte, M. & Maher, L. J., 3rd. (2015). Oxygen concentration controls epigenetic effects in models of familial paraganglioma. *PLoS One*, 10(5), e0127471.
25. Hider, J. L., Gittelman, R. M., Shah, T., Edwards, M., Rosenbloom, A., Akey, J. M. & Parra, E. J. (2013). Exploring signatures of positive selection in pigmentation candidate genes in populations of East Asian ancestry. *BMC Evolutionary Biology*, 13, 150.

26. Kader, A., Li, Y., Dong, K., Irwin, D. M., Zhao, Q., He, X., Liu, J., Pu, Y., Gorkhali, N. A., Liu, X., Jiang, L., Li, X., Guan, W., Zhang, Y., Wu, D. D. & Ma, Y. (2016). Population Variation Reveals Independent Selection toward Small Body Size in Chinese Debao Pony. *Genome Biology and Evolution*, 8(1), 42-50.
27. Kang, H. Y., Lee, B., Lee, D. O., Kim, K., Jung, J. M., Ahn, C. & Jeung, E.-B. (2016). Equine Tight Junctions: Tissue-Specific Localization and Expression of Junction Adhesion Molecule-A, Zona Occludens-1, and Occludin. *Journal of Equine Veterinary Science*, 46, 7-14.
28. Kim, H., Lee, T., Park, W., Lee, J. W., Kim, J., Lee, B. Y., Ahn, H., Moon, S., Cho, S., Do, K. T., Kim, H. S., Lee, H. K., Lee, C. K., Kong, H. S., Yang, Y. M., Park, J., Kim, H. M., Kim, B. C., Hwang, S., Bhak, J., Burt, D., Park, K. D., Cho, B. W. & Kim, H. (2013). Peeling back the evolutionary layers of molecular mechanisms responsive to exercise-stress in the skeletal muscle of the racing horse. *DNA Research*, 20(3), 287-298.
29. Kimura, R., Fujimoto, A., Tokunaga, K. & Ohashi, J. (2007). A practical genome scan for population-specific strong selective sweeps that have reached fixation. *PLoS One*, 2(3), e286.
30. Klein, C. & Troedsson, M. H. (2011). Transcriptional profiling of equine conceptuses reveals new aspects of embryo-maternal communication in the horse. *Biology of Reproduction*, 84(5), 872-885.
31. Lester, S. N. & Li, K. (2014). Toll-like receptors in antiviral innate immunity. *Journal of Molecular Biology*, 426(6), 1246-1264.
32. Liu, Q., Chen, Y., Kubota, F., Pan, J. J. & Murakami, T. (2010). Expression of protocadherin-19 in the nervous system of the embryonic zebrafish. *International Journal of Developmental Biology*, 54(5), 905-911.
33. Liu, X. X., Pan, J. F., Zhao, Q. J., He, X. H., Pu, Y. B., Han, J. L., Ma, Y. H. & Jiang, L. (2018). Detecting selection signatures on the X chromosome of the Chinese Debao pony. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 135(1), 84-92.
34. Ma, Y., Zhang, H., Zhang, Q. & Ding, X. (2014). Identification of selection footprints on the X chromosome in pig. *PLoS One*, 9(4), e94911.
35. Maghsoodi, S. M., Mehrabani Yeganheh, H., Nejati Javaremi, A. & Yousefi Mashouf, N. (2017). Investigating population structure and identifying signatures of selection in Iranian Kurdish and Arabian horses. *Iranian Journal of Animal Science*, 48(3), 429-438. (in Farsi)
36. Maurano, M. T., Humbert, R., Rynes, E., Thurman, R. E., Haugen, E., Wang, H., Reynolds, A. P., Sandstrom, R., Qu, H., Brody, J., Shafer, A., Neri, F., Lee, K., Kutayavin, T., Stehling-Sun, S., Johnson, A. K., Canfield, T. K., Giste, E., Diegel, M., Bates, D., Hansen, R. S., Neph, S., Sabo, P. J., Heimfeld, S., Raubitschek, A., Ziegler, S., Cotsapas, C., Sotoodehnia, N., Glass, I., Sunyaev, S. R., Kaul, R. & Stamatoyannopoulos, J. A. (2012). Systematic localization of common disease-associated variation in regulatory DNA. *Science*, 337(6099), 1190-1195.
37. McGowan, K. A., Li, J. Z., Park, C. Y., Beaudry, V., Tabor, H. K., Sabnis, A. J., Zhang, W., Fuchs, H., de Angelis, M. H., Myers, R. M., Attardi, L. D. & Barsh, G. S. (2008). Ribosomal mutations cause p53-mediated dark skin and pleiotropic effects. *Nature Genetics*, 40(8), 963-970.
38. Metzger, J., Karwath, M., Tonda, R., Beltran, S., Agueda, L., Gut, M., Gut, I. G. & Distl, O. (2015). Runs of homozygosity reveal signatures of positive selection for reproduction traits in breed and non-breed horses. *BMC Genomics*, 16, 764.
39. Mi, H., Muruganujan, A. & Thomas, P. D. (2013). PANTHER in 2013: modeling the evolution of gene function, and other gene attributes, in the context of phylogenetic trees. *Nucleic Acids Research*, 41(Database issue), D377-386.
40. Mienaltowski, M. J., Huang, L., Stromberg, A. J. & MacLeod, J. N. (2008). Differential gene expression associated with postnatal equine articular cartilage maturation. *BMC Musculoskeletal Disord*, 9, 149.
41. Montague, M. J., Li, G., Gandolfi, B., Khan, R., Aken, B. L., Searle, S. M., Minx, P., Hillier, L. W., Koboldt, D. C., Davis, B. W., Driscoll, C. A., Barr, C. S., Blackistone, K., Quilez, J., Lorente-Galdos, B., Marques-Bonet, T., Alkan, C., Thomas, G. W., Hahn, M. W., Menotti-Raymond, M., O'Brien, S. J., Wilson, R. K., Lyons, L. A., Murphy, W. J. & Warren, W. C. (2014). Comparative analysis of the domestic cat genome reveals genetic signatures underlying feline biology and domestication. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111(48), 17230-17235.
42. Moridi, M., Masoudi, A. A., Vaez Torshizi, R. & Hill, E. W. (2013). Mitochondrial DNA D-loop sequence variation in maternal lineages of Iranian native horses. *Anim Genet*, 44(2), 209-213.
43. Mosapour Kaleibar, P., Aghazade, A. M., Hassanpour, A., Mahpeikar, H. A. & Ebrahimi Hamed, M. (2007). A study on some phenotypic characteristics of the Karabakh horse in comparison with the Kurdish and Arabian horses. *J. Spe Vet Sci Islam Azad Uni Tabriz*, 1(1), 27-33. (in Farsi)
44. Oleksyk, T. K., Smith, M. W. & O'Brien, S. J. (2010). Genome-wide scans for footprints of natural selection. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 365(1537), 185-205.

45. Petersen, J. L., Mickelson, J. R., Rendahl, A. K., Valberg, S. J., Andersson, L. S., Axelsson, J., Bailey, E., Bannasch, D., Binns, M. M., Borges, A. S., Brama, P., da Camara Machado, A., Capomaccio, S., Cappelli, K., Cothran, E. G., Distl, O., Fox-Clipsham, L., Graves, K. T., Guerin, G., Haase, B., Hasegawa, T., Hemmann, K., Hill, E. W., Leeb, T., Lindgren, G., Lohi, H., Lopes, M. S., McGivney, B. A., Mikko, S., Orr, N., Penedo, M. C., Piercy, R. J., Raekallio, M., Rieder, S., Roed, K. H., Swinburne, J., Tozaki, T., Vaudin, M., Wade, C. M. & McCue, M. E. (2013). Genome-wide analysis reveals selection for important traits in domestic horse breeds. *PLoS Genet*, 9(1), e1003211.
46. Pickrell, J. K., Coop, G., Novembre, J., Kudaravalli, S., Li, J. Z., Absher, D., Srinivasan, B. S., Barsh, G. S., Myers, R. M., Feldman, M. W. & Pritchard, J. K. (2009). Signals of recent positive selection in a worldwide sample of human populations. *Genome Research*, 19(5), 826-837.
47. Ponsuksili, S., Murani, E., Phatsara, C., Schwerin, M., Schellander, K. & Wimmers, K. (2009). Porcine muscle sensory attributes associate with major changes in gene networks involving CAPZB, ANKRD1, and CTBP2. *Funct Integr Genomics*, 9(4), 455-471.
48. Qanbari, S., Strom, T. M., Haberer, G., Weigend, S., Gheyas, A. A., Turner, F., Burt, D. W., Preisinger, R., Gianola, D. & Simianer, H. (2012). A high resolution genome-wide scan for significant selective sweeps: an application to pooled sequence data in laying chickens. *PLoS One*, 7(11), e49525.
49. Rafeie, F., Amirinia, C., Nejati Javaremi, A., Mirhoseini, S. Z. & Amirmozafari, N. (2011). A study of patrilineal genetic diversity in Iranian indigenous horse breeds. *African Journal of Biotechnology*, 10(75), 17347-17352.
50. Roll, P., Rudolf, G., Pereira, S., Royer, B., Scheffer, I. E., Massacrier, A., Valenti, M. P., Roeckel-Trevisiol, N., Jamali, S., Beclin, C., Seegmuller, C., Metz-Lutz, M. N., Lemainque, A., Delepine, M., Caloustian, C., de Saint Martin, A., Bruneau, N., Depetris, D., Mattei, M. G., Flori, E., Robaglia-Schlupp, A., Levy, N., Neubauer, B. A., Ravid, R., Marescaux, C., Berkovic, S. F., Hirsch, E., Lathrop, M., Cau, P. & Szepetowski, P. (2006). SRPX2 mutations in disorders of language cortex and cognition. *Human Molecular Genetics*, 15(7), 1195-1207.
51. Rothhammer, S., Seichter, D., Forster, M. & Medugorac, I. (2013). A genome-wide scan for signatures of differential artificial selection in ten cattle breeds. *BMC Genomics*, 14, 908.
52. Sabeti, P. C., Schaffner, S. F., Fry, B., Lohmueller, J., Varilly, P., Shamovsky, O., Palma, A., Mikkelsen, T. S., Altshuler, D. & Lander, E. S. (2006). Positive natural selection in the human lineage. *Science*, 312(5780), 1614-1620.
53. Sabeti, P. C., Varilly, P., Fry, B., Lohmueller, J., Hostetter, E., Cotsapas, C., Xie, X., Byrne, E. H., McCarroll, S. A., Gaudet, R., Schaffner, S. F., Lander, E. S., International HapMap, C., Frazer, K. A., Ballinger, D. G., Cox, D. R., Hinds, D. A., Stuve, L. L., Gibbs, R. A., Belmont, J. W., Boudreau, A., Hardenbol, P., Leal, S. M., Pasternak, S., Wheeler, D. A., Willis, T. D., Yu, F., Yang, H., Zeng, C., Gao, Y., Hu, H., Hu, W., Li, C., Lin, W., Liu, S., Pan, H., Tang, X., Wang, J., Wang, W., Yu, J., Zhang, B., Zhang, Q., Zhao, H., Zhao, H., Zhou, J., Gabriel, S. B., Barry, R., Blumenstiel, B., Camargo, A., Defelice, M., Faggart, M., Goyette, M., Gupta, S., Moore, J., Nguyen, H., Onofrio, R. C., Parkin, M., Roy, J., Stahl, E., Winchester, E., Ziaugra, L., Altshuler, D., Shen, Y., Yao, Z., Huang, W., Chu, X., He, Y., Jin, L., Liu, Y., Shen, Y., Sun, W., Wang, H., Wang, Y., Wang, Y., Xiong, X., Xu, L., Wayne, M. M., Tsui, S. K., Xue, H., Wong, J. T., Galver, L. M., Fan, J. B., Gunderson, K., Murray, S. S., Oliphant, A. R., Chee, M. S., Montpetit, A., Chagnon, F., Ferretti, V., Leboeuf, M., Olivier, J. F., Phillips, M. S., Roumy, S., Sallee, C., Verner, A., Hudson, T. J., Kwok, P. Y., Cai, D., Koboldt, D. C., Miller, R. D., Pawlikowska, L., Taillon-Miller, P., Xiao, M., Tsui, L. C., Mak, W., Song, Y. Q., Tam, P. K., Nakamura, Y., Kawaguchi, T., Kitamoto, T., Morizono, T., Nagashima, A., Ohnishi, Y., Sekine, A., Tanaka, T., Tsunoda, T., Deloukas, P., Bird, C. P., Delgado, M., Dermitzakis, E. T., Gwilliam, R., Hunt, S., Morrison, J., Powell, D., Stranger, B. E., Whittaker, P., Bentley, D. R., Daly, M. J., de Bakker, P. I., Barrett, J., Chretien, Y. R., Maller, J., McCarroll, S., Patterson, N., Pe'er, I., Price, A., Purcell, S., Richter, D. J., Sabeti, P., Saxena, R., Schaffner, S. F., Sham, P. C., Varilly, P., Altshuler, D., Stein, L. D., Krishnan, L., Smith, A. V., Tello-Ruiz, M. K., Thorisson, G. A., Chakravarti, A., Chen, P. E., Cutler, D. J., Kashuk, C. S., Lin, S., Abecasis, G. R., Guan, W., Li, Y., Munro, H. M., Qin, Z. S., Thomas, D. J., McVean, G., Auton, A., Bottolo, L., Cardin, N., Eyheramendy, S., Freeman, C., Marchini, J., Myers, S., Spencer, C., Stephens, M., Donnelly, P., Cardon, L. R., Clarke, G., Evans, D. M., Morris, A. P., Weir, B. S., Tsunoda, T., Johnson, T. A., Mullikin, J. C., Sherry, S. T., Feolo, M., Skol, A., Zhang, H., Zeng, C., Zhao, H., Matsuda, I., Fukushima, Y., Macer, D. R., Suda, E., Rotimi, C. N., Adebamowo, C. A., Ajayi, I., Aniagwu, T., Marshall, P. A., Nkwodimmah, C., Royal, C. D., Leppert, M. F., Dixon, M., Peiffer, A., Qiu, R., Kent, A., Kato, K., Niikawa, N., Adewole, I. F., Knoppers, B. M., Foster, M. W., Clayton, E. W., Watkin, J., Gibbs, R. A., Belmont, J. W., Muzny, D., Nazareth, L., Sodergren, E., Weinstock, G. M., Wheeler, D. A., Yakub, I., Gabriel, S. B., Onofrio, R. C., Richter, D. J., Ziaugra, L., Birren, B. W., Daly, M. J., Altshuler, D., Wilson, R. K., Fulton, L. L., Rogers, J., Burton, J., Carter, N. P., Clee, C. M., Griffiths, M., Jones, M. C., McLay, K., Plumb, R. W., Ross, M. T., Sims, S. K., Willey, D. L., Chen, Z., Han, H., Kang, L., Godbout, M., Wallenburg, J. C., L'Archeveque, P., Bellemare, G., Saeki, K., Wang, H., An, D., Fu, H., Li, Q., Wang, Z., Wang, R., Holden, A. L., Brooks, L. D., McEwen, J. E., Guyer, M. S., Wang, V. O., Peterson, J. L., Shi, M., Spiegel, J., Sung, L. M., Zacharia, L. F., Collins, F. S., Kennedy, K., Jamieson, R. & Stewart, J. (2007). Genome-wide detection and characterization of positive selection in human populations. *Nature*, 449(7164), 913-918.

54. Scheet, P. & Stephens, M. (2006). A fast and flexible statistical model for large-scale population genotype data: applications to inferring missing genotypes and haplotypic phase. *The American Journal of Human Genetics*, 78(4), 629-644.
55. Sokol, C. L. & Luster, A. D. (2015). The chemokine system in innate immunity. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(5), a016303.
56. Taye, M., Kim, J., Yoon, S. H., Lee, W., Hanotte, O., Dessie, T., Kemp, S., Mwai, O. A., Caetano-Anolles, K., Cho, S., Oh, S. J., Lee, H. K. & Kim, H. (2017a). Whole genome scan reveals the genetic signature of African Ankole cattle breed and potential for higher quality beef. *BMC Genet*, 18(1), 11.
57. Taye, M., Lee, W., Jeon, S., Yoon, J., Dessie, T., Hanotte, O., Mwai, O. A., Kemp, S., Cho, S., Oh, S. J., Lee, H. K. & Kim, H. (2017b). Exploring evidence of positive selection signatures in cattle breeds selected for different traits. *Mamm Genome*, 28(11-12), 528-541.
58. Taye, M., Yoon, J., Dessie, T., Cho, S., Oh, S. J., Lee, H.-K. & Kim, H. (2018). Deciphering signature of selection affecting beef quality traits in Angus cattle. *Genes & Genomics*, 40(1), 63-75.
59. Uniacke-Lowe, T., Huppertz, T. & Fox, P. F. (2010). Equine milk proteins: Chemistry, structure and nutritional significance. *International Dairy Journal*, 20(9), 609-629.
60. Utsunomiya, Y. T., Perez O'Brien, A. M., Sonstegard, T. S., Solkner, J. & Garcia, J. F. (2015). Genomic data as the "hitchhiker's guide" to cattle adaptation: tracking the milestones of past selection in the bovine genome. *Frontiers in genetics*, 6, 36.
61. Utsunomiya, Y. T., Perez O'Brien, A. M., Sonstegard, T. S., Van Tassell, C. P., do Carmo, A. S., Meszaros, G., Solkner, J. & Garcia, J. F. (2013). Detecting loci under recent positive selection in dairy and beef cattle by combining different genome-wide scan methods. *PLoS One*, 8(5), e64280.
62. Vafaei Sayah, G. & Mehrannezhad, R. (2005). Cytogenetical study of Kurd horse. *Pajouhesh & Sazandegi*, 66, 75-79. (in Farsi)
63. Vernot, B., Stergachis, A. B., Maurano, M. T., Vierstra, J., Neph, S., Thurman, R. E., Stamatoyannopoulos, J. A. & Akey, J. M. (2012). Personal and population genomics of human regulatory variation. *Genome Res*, 22(9), 1689-1697.
64. Wu, H., Zhao, S. & Fan, B. (2010). Investigation of effects of the MKK3 and MKK6 genes on meat production traits in the pig (Brief Report). *Archiv Tierzucht*, 53(2), 242-245.
65. Yousefi Mashouf, N. (2016). *Phenotypic and genetic characterization of the Iranian Kurdish horse*. Master of Science Thesis, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Iran.
66. Yu, W., Dong, S., Zhao, C., Wang, H., Dai, F. & Yang, J. (2013). Cumulative association between age-related macular degeneration and less studied genetic variants in PLEKHA1/ARMS2/HTRA1: a meta and gene-cluster analysis. *Molecular Biology Reports*, 40(10), 5551-5561.
67. Zandi, A., Nejati-Javaremi, A. & Pakdel, A. (2014). Detecting selective sweeps using Equine 70k SNP array in two native Iranian horse breeds. In: *Proceedings of the 34th International Society for Animal Genetics Conference*, 27-1 Aug., Xi'an, China.
68. Zhu, C., Fan, H., Yuan, Z., Hu, S., Zhang, L., Wei, C., Zhang, Q., Zhao, F. & Du, L. (2015). Detection of Selection Signatures on the X Chromosome in Three Sheep Breeds. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(9), 20360-20374.