



بررسی ساختار جمعیتی گاومیش‌های ایران و برخی کشورهای منطقه با استفاده از آرایه‌های ژنومی

شیرین رحیم‌مدار^{۱*}، مختار غفاری^۲ و مهدی مخبر^۲

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲. عضو هیأت علمی گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

* ایمیل نویسنده مسئول: shirin rahimmdar@gmail.com

چکیده

هدف از این پژوهش بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی گاومیش‌های ایران، ترکیه، مصر و پاکستان بود. به منظور بررسی تنوع ژنتیکی از اطلاعات ژنومی ۸۶ رأس گاومیش استفاده شد. کنترل کیفی و فیلتراسیون داده‌ها با استفاده از نرم افزار PLINK انجام شد. پس از مراحل کنترل کیفی ۴۹۵۰۱ نشانگر SNP برای مراحل آنالیز بعدی باقی ماند. ساختار جمعیت با استفاده از آنالیز PCA توسط نرم‌افزار GenABEL و نرم افزار Admixture انجام گردید. نتایج حاصل از آنالیز مؤلفه‌های اصلی نشان داد که جمعیت‌های مورد مطالعه در سه دسته‌ی مجزا قرار دارند. گروه اول شامل جمعیت‌های ایرانی (آذری، خوزستانی و مازندرانی) و ترکیه‌ای (آناتولی) بود و نژادهای مصری و پاکستانی در کلاسترهای جدا از هم قرار گرفتند. همچنین نتایج بررسی ساختار جمعیتی با استفاده از Admixture نتایج آنالیز مؤلفه‌های اصلی را تأیید کرد.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، ساختار جمعیتی، گاومیش

مقدمه

گاومیش متعلق به خانواده گاوها بوده و شباهت خیلی زیادی با گاو دارد (Khan et al., 2012). این دام از نظر تولید شیر و گوشت دارای خصوصیات ممتازی است. گاومیش در مناطقی که گاو قادر به زندگی در آن نیست، به خوبی سازش یافته است (Broghese et. al., 2011). گاومیش رودخانه‌ای از نظر اقتصادی گونه‌ی اهلی با اهمیتی در بیشتر کشورهای آسیایی و مدیترانه‌ای است (Othman et. al., 2006). شناسایی ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها امکان بررسی منشأ شکل‌گیری و ارتباط میان جمعیت‌ها را فراهم می‌آورد. مطالعه ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها همگام با دسترسی روز افزون به داده‌های ژنومی تسهیل شده است. نشانگرهای ژنتیکی اطلاعات مفیدی در مورد مقدار و توزیع اختلافات درون و بین جمعیت‌ها فراهم می‌کند (Bellti et. al., 2008). مطالعاتی صورت گرفته بر روی ساختار ژنتیکی گاوهای بومی ایران بر اساس نشانگرهای چند شکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) نشان داد که گاوهای بومی کشور از سه گروه ژنتیکی متفاوت تشکیل شده‌اند (کریمی، ۱۳۹۴) و همچنین مطالعه‌هایی که بر روی گاوهای وحشی بنگلادش با استفاده از آرایه‌های ژنومی 80K گاوی صورت گرفت، نشان داد که نژاد گایال از نژاد بوس ایندیکوس مجزا تشکیل شده است (Uzzaman et. al., 2014). موفقیت برنامه‌های اصلاح نژادی بستگی به میزان تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت دارد و تنوع ژنتیکی ماده اصلی اصلاح دام است. بنابراین مطالعه حاضر به بررسی گاومیش‌های ایران در کنار گاومیش‌های بومی برخی از کشورهای همسایه می‌پردازد. این بررسی بیشتر به خاطر شناسایی و درک روابط ژنتیکی دام‌های کشور با دام‌های منطقه انجام می‌گیرد و در صورت شناسایی روابط ژنتیکی نزدیک بین گاومیش‌های بومی کشور با گاومیش‌های کشورهای همسایه، انجام پروژه‌های ژنومی مشترک با کشورهای مربوطه قابل توصیه خواهد بود.

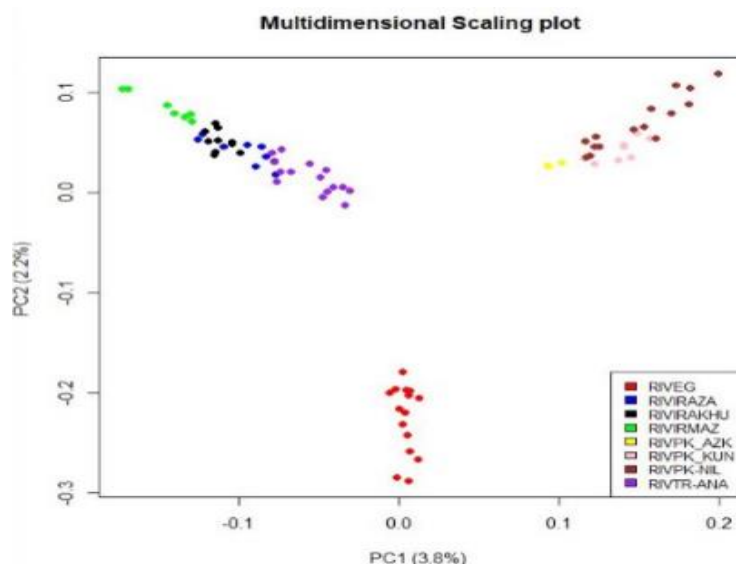
مواد و روش‌ها

در این پژوهش برای بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت از تعداد ۸۶ رأس گاومیش آبی (۹ آذری (Azari)، ۱۰ خوزستانی (Khuzestani)، ۸ مازندرانی (Mazandarani)، از ایران، ۱۵ آناتولی (Anatolian)، ۱۶ مصری (Egyptian) از مصر، ۳ آزاخلی (Aza Kheli)، ۱۰ کوندی (Kundhi)، ۱۵ نیلی-راوی (Nili-Ravi) که با استفاده از آرایه‌ی ژنومی گاومیش (Axiom® Buffalo Genotyping 90K) تعیین

ژنوتیپ شده اند، استفاده شده است (Coli et. al., 2018). کنترل کیفی و فیلتراسیون با استفاده از نرم افزار PLINK انجام گرفته شده است، به طوری که حیوانات با بیش از ۵٪ ژنوتیپ از دست رفته (Call rate) و ژنوتیپ‌های مونومورف و ژنوتیپ‌های دارای حداقل فراوانی آللی (MAF) کمتر از ۵٪ از مراحل بعدی ویرایش کنار گذاشته شده‌اند. چون نمونه‌های با کیفیت پایین با احتمال بیشتری با داده‌های گمشده همراه هستند و منجر به افزایش خطای ژنوتایپ می‌شوند (Barendse et. al., 2009). برای تعیین ساختار ژنتیکی و ساختار جمعیت از آنالیز مولفه‌های اصلی (PCA) در محیط نرم افزار R صورت گرفته شده است. برای بررسی اختلاط میان جمعیت‌ها از نرم افزار Admixture در محیط R انجام شد.

نتایج و بحث

در این پژوهش، که هدف بررسی ما ساختار جمعیت است، تعداد ۸۶ رأس گاو میش در ۵۵۰۳۳ جایگاه تعیین ژنوتیپ شدند (Coli et. al., 2018). کنترل کیفیت داده‌ها براساس حداقل فراوانی (MAF) ۰/۰۵ درصد و نیز ژنوتیپ‌های از دست رفته ۰/۰۵ درصد با استفاده از نرم افزار PLINK 1.07 (Purcell et. al., 2007) انجام گرفت، ورودی نرم افزار PLINK که بصورت فایل باینری بود و فایل حاصل از کنترل کیفیت به صورت دو فایل Map و Ped است، فایل Ped حاوی ژنوتیپ‌های هر فرد در تمامی لوکاس‌های موردنظر و فایل Map شامل محل و موقعیت این نشانگر روی کروموزوم‌ها است. پس از انجام کنترل کیفی بر روی مجموعه داده‌ها تعداد ۴۹۶۰۱ SNP جهت آنالیزهای بعدی مورد انتخاب قرار گرفتند. آنالیز مولفه‌های اصلی (PCA) که ساختار جمعیت را براساس همبستگی ژنتیکی میان افراد بیان می‌کند. PCA که با استفاده از فایل Ped و در محیط R انجام شد. نتایج حاصل از PC1 و PC2 نشان داد که حیوانات از ایران و آناتولی از ترکیه در یک گروه قرار دارند. نتایج حاصل از PCA نشان دهنده ی نزدیکی ژنتیکی میان حیوانات نژاد مازندرانی، آذری و خوزستانی از ایران با نژاد آناتولی از ترکیه است. که به ترتیب به رنگ‌های سبز، آبی و سیاه و بنفش است. بیشترین فاصله را حیوانات از کشور مصر با سایر نژادها دارد. نتایج حاصل از آنالیز این است که میان حیوانات نژادهای ایران و ترکیه هم پوشانی است. پایین بودن واریانس توجیهی نشان دهنده ی این است که در کل جمعیت‌های مورد مطالعه تمایز پایینی دارند.

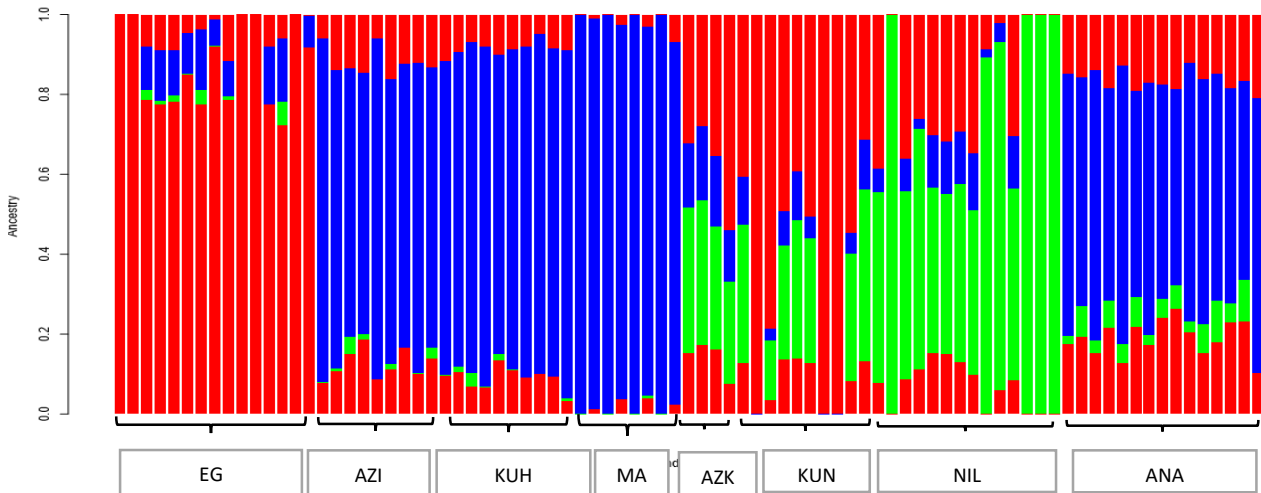
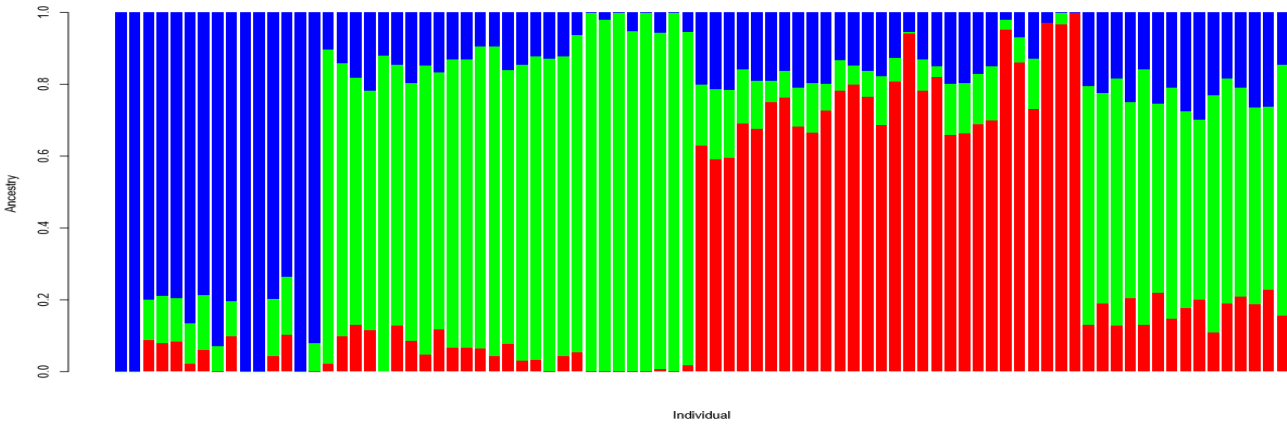
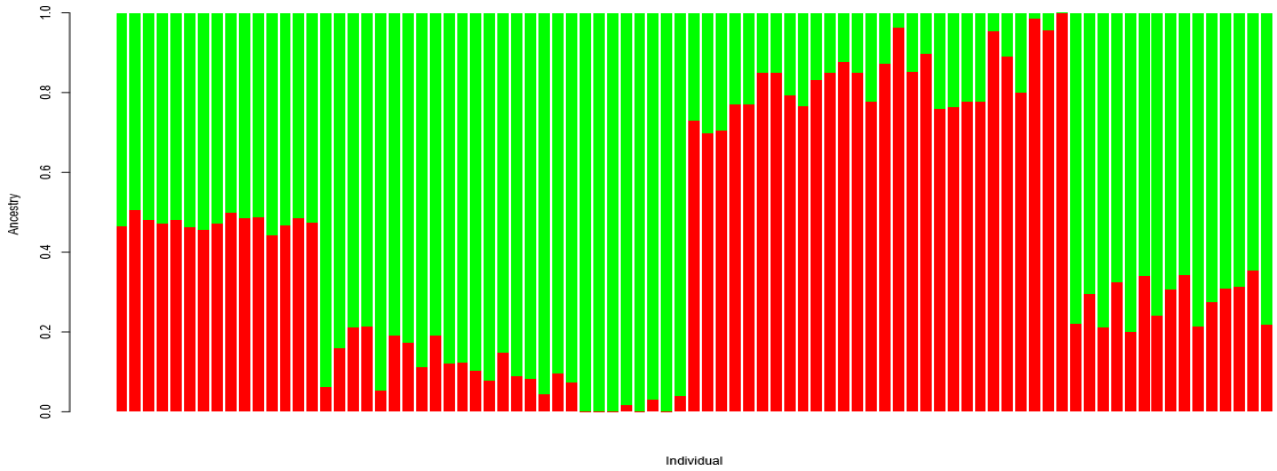


شکل ۱- آنالیز PCA مربوط به نژادهای ترکیه (ANA)، ایران (AZA, MAZ, KHU)، مصر (EG)، پاکستان (AZK, KUN, NIL) با استفاده از نشانگر SNP

در مرحله بعد برای بررسی آمیختگی بین جمعیت‌ها آنالیز اختلاط نژاد با استفاده از نرم افزار Admixture (Alexander et. al, 2009) انجام گرفت. از فرمت داده‌های استاندارد و باینری PLINK به عنوان داده‌های ورودی این نرم افزار استفاده شد و فایل خروجی آن یک فایل متنی بود و گراف مربوط به این فایل خروجی در محیط R رسم شد. فاکتور K به عنوان یک فرض اولیه جهت تعیین تعداد جمعیت‌های



اجدادی از ۱۰ تا ۱۰۰ در نظر گرفته شده است و نتایج ۳ گراف مربوط به فرض های جمعیت های اجدادی از ۲ تا ۴ معتبرتر بوده و گزارش شدند. فرض ۳ جمعیت اجدادی حداکثر درستی مربوط به آزمون cross-validation را نشان داد.



شکل ۲- ساختار Admixture هر فرد توسط خطوط عمودی به k بخش رنگی با ارتفاع متناسب با سهم ژنوتیپ در خوشه ها تقسیم شده است. که نژادهای مصر از فرد شماره ۱ تا ۱۵ و نژادهای ایران از افراد ۱۶ تا ۴۵ و نژادهای پاکستانی ۴۶ تا ۷۰ و آناتوای از ترکیه از ۷۱ تا ۸۶ را شامل می-شوند. هر ستون نشان دهنده ی یک فرد است.



نتایج مربوط به فرض ۲ تا ۴ جمعیت اجدادی به دست آمده از آنالیز اختلاط جمعیتی وجود سه جمعیت ژنتیکی را تایید می کند. نتایج همچنین نشان می دهد که در بین جمعیت های مورد مطالعه اختلاط ژنتیکی وجود دارد (شکل ۲). بررسی جزئیات بیشتر گراف های آنالیز ساختار جمعیتی نشان می دهد که جمعیت های آذری، خوزستانی و مازندرانی از ایران به لحاظ ژنتیکی منشاء مشترکی با جمعیت آناتولی از ترکیه دارند. همچنین نتایج گویای این است که جمعیت های مصری و پاکستانی علاوه بر اختلاط جمعیتی که با جمعیت های ایرانی و ترکیه ای دارند، از این گروه و از همدیگر کاملاً مجزا هستند. در کل، نتایج به دست آمده از مطالعات اختلاط جمعیت با فرض ۳ جمعیت و بیشتر منطبق بر نتایج آنالیز PCA است. بنابراین وجود ۳ گروه جمعیتی در مطالعه حاضر قابل پذیرش است.

منابع

رحمانی نیا، ج. ۱۳۹۴. بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی توده های گاومیش ایران با استفاده از نشانگر متراکم SNP. پایان نامه دکتری تخصصی، دانشگاه تهران. شماره ۴۳۵-۲ک.

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

Barendse, W., Harrison, B.E., Bunch, R.J., Thomas, M. B. and Turner, L. B. 2009. Genome wide signatures of positive selection: the comparison of independent samples and the identification of regions associated to traits. *BMC Genomics*. 10:178.

Belleti, P., Monteleone, L. and Ferrazzini, D. 2008. A population genetic study in a scattered forest species, Wild services tree [*Sorbus torminalia* (L.) crantz], using RAPD markers, *European Journal of Forest Research*, 127: 103-114.

Boettcher, P.J., M. Tixier-Boichard, M.A. Toro, H. Simianer, H. Eding, G. Gandini, S. Joost, D.Garcia, L. Colli, P. Ajmone-Marsan and G. Consortium. 2010. Objectives, criteria and methods for using molecular genetic data in priority setting for conservation of animal genetic resources. *Animal*.

Borghese, A. 2011. Situation and perspectives of buffalo in the world, Europe and Macedonia. *Macedonian Journal of Anim Science*, 1(2): 281-296.

Colli, L., Milanese, M., Vajana, E., Iamartino, D., Bomba, L., Puglisi, F., Del Corvo, M., Nicolazzi, E.L., Ahmed, S.S., Herrera, J.R. and Cruz, L. 2018. New Insights on Water Buffalo Genomic Diversity and Post-Domestication Migration Routes From Medium Density SNP Chip Data. *Frontiers in genetics*, 2; 9:53.

Genetics, 41: 64-77.

Khan, F.A., Das, G. K., Pande, M., Sarkar, M., Mahapatra, R. K. and Shankar, U. 2012. Alterations in follicular fluid estradiol, progesterone and insulin concentrations during ovarian cyclicity in water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Anim. Reprod. Sci*, 130: 27-32.

Othman, O., E. 2006. Restriction fragment length polymorphism and gene mapping of two genes associated with composition in Egyptian river buffalo. *Journal of Dairy Science*, 1(1), 84-92.

Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., De Bakker, P. I. and Daly, M, J. 2007. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American Journal of Human Genetics*, 81:559575.

Uzzaman, M. R., Edea, Z., Bhuiyan, M. S. A., Walker, J., Bhuiyan, A. 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* 27:1381.



Study of population structure of Iranian water buffalos and some country of region using genomic data

Shirin Rahimmmadar¹, Mokhtar Ghaffari^{2*}, Mehdi Mokhber²

1. Department of Animal science, Urmia University, Urmia, Iran

2. Department of Animal science, Urmia University, Urmia, Iran

* Corresponding Author's Email: Shirin rahimmmadar@gmail.com

Abstract

The aim of this study was to investigate of diversity and population structure of Iran, Egypt and Pakistan water buffalo populations. For this purpose, genomic data of 86 genotyped animals were used. Quality control of the data was done by PLINK software. In total, 49501 SNP from 86 genotyped animals were used for further analysis. Principal component analysis (PCA) carried out for population structure analysis by GenABEL software. The PCA result was shown that the studied animals related to three distinct genetic groups. First group includes Iranian (Azeri, Khuzestani and Mazandarani) and Turkey (Anatoli) populations, and Egyptian and Pakistani populations related to distinct groups. Also population structure of studied animals were surveyed by Admixture (Assuming 2 until 4 ancestral populations) and the results were confirmed the PCA clusters.

Keywords: Genetic diversity, population structure, water buffalo