

DOI: 10.22034/AS.2022.48176.1629

بررسی مجموعه‌های ژنی و مسیرهای زیستی مرتبط با برخی صفات بیومتری در گوسفند

حسین محمدی^{۱*} و مینگ‌شینگ چو^۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۷/۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۸

^۱ استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک

^۲ استاد انستیتو علوم دامی، آکادمی علوم کشاورزی چین، پکن، چین

*مسئول مکاتبه: Email: H-mohammadi64@araku.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: شناسایی ژن‌های بزرگ اثر مؤثر بر صفات مهم اقتصادی، یکی از مهم‌ترین اهداف اصلاح نژادی در پرورش گوسفند است. **هدف:** پژوهش حاضر، با هدف مطالعه‌ی پویای ژنومی بر اساس آنالیز مجموعه‌های ژنی، برای شناسایی جایگاه‌های ژنی مؤثر بر وزن تولد و صفات بیومتری، با استفاده از آرایه‌های ژنومی با تراکم بالا است. روش کار: از اطلاعات رکوردهای فنوتیپی و ژنوتیپی مرتبط با وزن تولد (BW)، طول بدن (BL) ارتفاع بدن از جدوگاه (WH) و دور سینه (CG) ۲۷۷ نمونه از گوسفند لوزهانگ استفاده شد. آنالیز پیوستگی برای وزن تولد و صفات بیومتری در نرم‌افزار GEMMA انجام شد، سپس با استفاده از بسته‌ی نرم افزاری *biomaR2* ژن‌های معنی‌داری که در داخل و یا ۲۵ کیلوباز بالا و پایین دست نشانگرهای معنی‌دار قرار داشتند، شناسایی گردید. در نهایت، مجموعه‌ی ژنی با بسته نرم افزاری *goseq* برنامه R با هدف شناسایی عملکرد بیولوژیکی ژن‌های نزدیک به مناطق انتخابی و ژن‌های کاندیدا، از طریق پایگاه‌های GO، KEGG، DAVID و PANTHER تفسیر شدند. **نتایج:** در این پژوهش تعداد ۱۴ نشانگر تک نوکلئوتیدی واقع روی کروموزوم‌های ۲، ۳، ۵، ۷، ۱۱، ۱۳، ۱۷، ۱۹، ۲۰ و ۲۵ شناسایی شدند که با ژن‌های *MYL1*، *MYL3*، *ACACA*، *PLCB1*، *BMPRIA*، *LRPPRC*، *PTBP1*، *TMEM117*، *ADIPOR2*، *SYN3*، *TRAK1* (WH) و *HMGAI*، *PPARG* (CG) مرتبط بودند. در تفسیر مجموعه ژنی، تعداد ۲۱ مسیر هستی شناسی ژنی و بیوشیمیایی با صفات وزن تولد و بیومتری شناسایی شد ($P < 0.05$). از این بین، مسیرهای *muscle structure development*، *carbohydrate derivative metabolic process*، *anatomical structure formation involved in*، *muscle cell proliferation*، *positive regulation of ossification*، *skeletal system development*، *morphogenesis*، *GnRH signaling pathway* عملکردهای مهمی را در ارتباط با رشد و توسعه‌ی عضلات اسکلتی، هموستازی گلوکز، فرآیند استخوان‌سازی، تنظیم یون کلسیم و فعال‌سازی مسیر سیگنال‌دهی MAPK بر عهده داشتند. **نتیجه گیری نهایی:** با توجه به تأیید نتایج حاصل از مطالعه قبلی در زمینه‌ی پویای ژنومی وزن تولد و صفات بیومتری، و شناسایی مناطق ژنومی جدید، استفاده از یافته‌های این تحقیق، می‌تواند در انتخاب ژنتیکی گوسفند مفید باشد.

واژگان کلیدی: آنالیز مسیر، پویای ژنومی، هستی شناسی، ساختار بدنی

صفات بیومتری یا اندازه‌گیری‌های بدنی برای تخمین وزن بدن در گوسفند استفاده می‌شوند (نجفی و همکاران

مقدمه

یک جایگزین مناسب برای حل این مشکل، انجام مطالعات پویش کل ژنومی بر مبنای مسیر^۲ با استفاده از تجزیه و تحلیل مجموعه‌های ژنی است. در واقع در این روش به جای انجام تجزیه برای یک SNP یا یک ژن، ارتباط بین صفت مورد مطالعه و واریانت‌های ژنتیکی در یک دسته یا گروه ژنی که به طور عملکردی با هم مرتبط هستند بررسی می‌شود. به عبارت دیگر پیوستگی بین یک مجموعه ژنی معنی‌دار با فنوتیپ، مورد آزمون قرار می‌گیرد (عزیزپور و همکاران ۲۰۲۰).

برای اولین بار پناکریگانو و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که تجزیه و تحلیل پویش ژنومی بر مبنای مسیر دقت شناسایی مناطق ژنومی مؤثر بر صفت نرخ باروری گاوهای نر را بالا برده است، زیرا با استفاده از این روش تمامی نشانگرهای معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ آنالیز می‌شوند و در نتیجه میزان خطای نوع اول و بیش برآوردها کاهش پیدا می‌کند. همچنین در مطالعه‌ای که با استفاده از داده‌های مرتبط با صفات لاشه از یک جمعیت گاو هانفو انجام شده بود، روش پویش ژنومی بر مبنای مسیر کارآیی بهتری برای یافتن مناطق ژنومی، درک بهتر مکانیسم و معماری ژنتیکی داشت (اسرایکن و همکاران ۲۰۲۰).

گزارش شده است که آنالیز پویش ژنومی بر مبنای مسیر دقت شناسایی مناطق ژنومی مؤثر بر صفات تولیدی شامل مجموع وزن بره‌های متولد شده و از شیرگیری شده در گوسفندان نژاد بلوچی را بالا می‌برد و منجر به شناسایی مسیرهای زیستی مرتبط با میزان خوراک مصرفی، بازدهی خوراک و تولید و ترکیبات شیر، همچنین ژن‌های کاندیدای جدید *VEZT NR2C1*، *FTH1* و *PRLR VIM CUBN RSU1 HSD17B4* شده است (اسماعیلی‌فر و همکاران، ۲۰۲۱). اخیراً مطالعه‌ی پویش ژنومی بر مبنای مسیر با استفاده از آنالیز غنی-سازی مجموعه‌های ژنی روی صفت تولید مثلی تعداد نتاج در نژادهای مختلف گوسفند انجام شده است. نتایج

(۲۰۲۰). این روش، به خصوص در مناطقی که شرایط محیطی و مدیریتی، اجازه اندازه‌گیری آسان وزن را در گوسفندان نمی‌دهد، می‌تواند مناسب باشد. وزن بدن صفت مهم اقتصادی در انتخاب حیوانات و از اهداف اصلی برنامه‌های اصلاح نژادی در کشور می‌باشد. این امر به ویژه در نژادهای گوشتی حائز اهمیت است که در آن‌ها سرعت رشد و تیپ بدن به عنوان شاخص‌های مهم انتخاب در نظر گرفته می‌شوند (محمدی و صادقی ۲۰۱۰ و مندل و همکاران ۲۰۰۸). ضریب وراثت پذیری مرتبط با صفات بیومتری ۰/۱۷ تا ۰/۲۱ گزارش شده است (عباسی و غفوری کسبی ۲۰۱۱) که نشان دهنده ظرفیت اصلاح نژادی جهت بهبود عملکرد حیوانات می‌باشد. هدف از مطالعات پویش ژنومی که به منظور شناسایی ارتباط بین یک نشانگر SNP و یک صفت با استفاده از نشانگرهای با تراکم بالا در سطح ژنوم می‌باشد. این اطلاعات می‌تواند برای انتخاب به کمک نشانگر مفید بوده و به درک مکانیسم مولکولی صفات مورد مطالعه کمک نماید (محمدی و همکاران ۲۰۲۰).

داده‌های مورد استفاده در این پژوهش، در مطالعه قبلی برای وزن بدن و صفات بیومتری در گوسفند نژاد لوزهانگ^۱، مورد آنالیز قرار گرفته‌اند که در آن تحقیق از مدل‌های خطی مختلط تک نشانگری و از تصحیح بنفرونی برای تعیین آستانه‌ی معنی‌داری و جلوگیری از خطای نوع اول استفاده شده است (تاو و همکاران ۲۰۲۰). در یافته‌های مطالعه مورد نظر و مطالعات مشابه (هوانگ و همکاران ۲۰۱۸ و پرتیل و همکاران ۲۰۱۷) مشکل بالا بودن نرخ خطای نوع اول و بیش برآورد اثر نشانگرهای SNP مشاهده می‌گردد. یکی از ایرادات تحقیقات مطالعات پویش ژنومی، در نظر گرفتن آستانه معنی‌داری برای جلوگیری از بروز خطای نوع اول است. در حالی که پرهیز از خطای نوع اول سبب افزایش خطای نوع دوم و در نظر نگرفتن SNP‌های دارای اثر معنی‌دار پایین‌تر از آستانه می‌شود (پن و همکاران ۲۰۱۰).

² pathway-based analysis¹ Luzhong

نشانگرهایی که حداقل فراوانی آلی در آنها کمتر از ۱٪ بود حذف شدند. سپس نشانگرهایی که نرخ تعیین ژنوتیپ آنها در نمونه‌ها کمتر از ۹۵٪ بود شناسایی و حذف شدند. در نهایت برای SNPهای باقی‌مانده، آن‌هایی که در تعادل هاردی-واینبرگ قرار نداشتند به عنوان معیاری از خطای تعیین ژنوتیپ کنار گذاشته شدند. سطح احتمال^۶ ۱۰ در نظر گرفته شد و با استفاده از تصحیح بنفرونی به دست آمد. مراحل مختلف فیلتراسیون با استفاده از نرم افزار PLINK (v1.90;) انجام شد (پورسل و همکاران ۲۰۰۷). از مجموع ۶۳۳۶۱۹ نشانگر به کار رفته در این تحقیق، ۵۱۸۲۰۳ نشانگر توانستند مراحل مختلف کنترل کیفیت را بگذرانند.

همچنین در این تحقیق برای بررسی وجود یا عدم وجود لایه‌بندی جمعیتی با استفاده از دو روش تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA^۱) با تابع prcomp در نرم افزار R و کنترل ژنومیک با استفاده از فاکتور تورم کنترل جمعیتی (λ) در نرم افزار PLINK و ترسیم پلات‌های Q-Q و منهن در نرم افزار SNPEVWin_3.2 (وانگ و همکاران ۲۰۱۲) بررسی شد.

جهت ارتباط فنوتیپ‌ها با ژنوتیپ‌ها از نرم افزار GEMMA (ژو و استیفنز ۲۰۱۲) نسخه ۰/۹۸ استفاده شد. مدل مورد استفاده بر پایه مدل خطی مختلط تک صفتی به شکل زیر بود:

$$y = Wa + x\beta + u + e$$

که y : بردار مشاهدات فنوتیپی، W ماتریس ضرایب مربوط به پنج مؤلفه اصلی با بیشترین واریانس توجیه شده، x : بردار ژنوتیپ‌های نشانگر تحت آزمون، u بردار اثرات پلی‌ژنیک، e بردار اثر باقی‌مانده‌های تصادفی، α و β بردار ضرایب ارتباط دهنده.

به دست آمده از آنالیز مسیر، منجر به شناسایی ۳۰ طبقه مختلف عملکردی هستی‌شناسی ژن و مسیرهای زیستی KEGG معنی‌دار مرتبط شامل TGF- β signaling pathway, Estrogen, Oxytocin signaling pathway, Prolactin signaling pathway و Insulin signaling pathway و ژن‌های کاندیدای *BMP5*, *PLCB1*, *ESR2*, *ESR1*, *BMP1B*, *DHCR24*, *KCNMA1* و *EGFR*, *BMP7*, *PTGS2*, *INSR*, *SMAD2* شده بود (خلت‌آبادی فراهانی و همکاران ۲۰۲۰). هدف از انجام پژوهش حاضر، تجزیه و تحلیل مجموعه‌های ژنی و مسیرهای زیستی مرتبط با وزن تولد و صفات بیومتری در گوسفند با استفاده از تراشه‌های 630K و براساس پویش کل ژنوم بر مبنای مسیر می‌باشد. شناسایی این جایگاه‌ها از دیدگاه علمی و اقتصادی می‌تواند دارای اهمیت زیادی باشد.

مواد و روش

در مجموع از ۲۷۷ نمونه خون گوسفندان گوشتی لوزهانگ آمیخته چینی حاصل از تلاقی بین نژادهای Hu (نژاد با باروری بالا) و Dorper (نژاد با نرخ رشد سریع) از گله تحت رکورد برداری کمپانی Ji'nan استفاده شد. لازم به ذکر است که مدیریت استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ نیز توسط این شرکت انجام شد. در نهایت داده‌های ژنومی حاصله در اختیار تحقیق حاضر قرار گرفتند. پس از اطمینان از کمیت و کیفیت بالای DNA استخراج شده، نمونه‌ها با استفاده از آرایه‌های شرکت افی‌متریکس با آرایه‌های 630K تعیین ژنوتیپ شدند. جهت اطمینان از کیفیت داده‌های تعیین ژنوتیپ مراحل مختلف کنترل کیفیت روی داده‌های اولیه تعیین ژنوتیپ شده قبل از آنالیز پیوستگی انجام شد.

برای فیلتراسیون داده‌های تعیین ژنوتیپ شده، ابتدا نمونه‌هایی که فراوانی نرخ تعیین ژنوتیپ آنها کمتر از ۹۰٪ بود، شناسایی و حذف شد. در مرحله بعد

¹ Principal Component Analysis

آمار توصیفی صفات مورد بررسی در مطالعات پویش کل ژنومی در (جدول ۱) نشان داده شده است. لایه‌بندی جمعیتی که ناشی از تفاوت در فراوانی آللی زیر جمعیت‌ها به دلیل تفاوت ژنتیکی جد مشترک و همچنین میزان خویشاوندی می‌تواند نتایج یک مطالعه ارتباط ژنومی را با مشکل مواجه نماید چرا که در مطالعات پویش ژنومی فرض می‌شود که جامعه مورد مطالعه همگن می‌باشد. علاوه بر این، در نظر گرفتن اثرات خویشاوندی می‌تواند منجر به کاهش نتایج مثبت دروغین شود. پس از انجام PCA مقدار ضعیفی لایه‌بندی جمعیتی مشاهده گردید. در نتیجه برای کنترل اختلاط و ارتباط ژنتیکی بین این حیوانات، SNP‌هایی که در حالت عدم تعادل لینکاژی بالایی با یکدیگر قرار داشتند، با استفاده از برنامه PLINK حذف شدند. بدین منظور در پنجره‌هایی شامل SNP ۵۰ و با حرکت SNP ۵ رو به جلو در هر مرحله، SNP‌های دارای r^2 (معیار عدم تعادل لینکاژی) بیش از ۰/۵ (دستور `--indep-pairwise 50 5 0.5`) با یکدیگر از مجموعه داده‌ها حذف شدند (تاو و همکاران ۲۰۲۰). همچنین برای اطمینان بیشتر آماره لامبدا برای هر ۴ صفت مورد مطالعه محاسبه گردید که برای صفت وزن تولد ۱/۰۱۷، صفت طول بدن ۱/۰۳۲، صفت ارتفاع بدن از جدوگاه ۰/۹۱۷ و صفت دور سینه ۱/۰۲۲ به دست آمد. گزارش شده است اگر مقدار آماره لامبدا کمتر یا مساوی یک باشد، نشان دهنده عدم وجود اثر لایه بندی جمعیتی می‌باشد (هینریکس و همکاران ۲۰۰۹). گراف مربوط به Q-Q در شکل ۱ ارائه شده است. هر گونه انحراف از خط نشان دهنده وجود اثر لایه بندی جمعیتی می‌باشد.

با توجه به همبستگی بالای بین وزن تولد و صفات بیومتری مورد بررسی، اثر وزن تولد برای صفات بیومتری به عنوان کواریت در مدل در نظر گرفته شد. اساساً آنالیز پویش ژنومی بر پایه تجزیه و تحلیل مجموعه‌های ژنی در سه مرحله انجام می‌گردد: ۱) تعیین مکان SNP‌های معنی‌دار که مقدار *P*-value آنها کمتر از ۰/۰۵ بود با استفاده از بسته نرم افزاری *biomaRt2* (دیورینسک و همکاران ۲۰۰۹) در محیط R و با استفاده از ژنوم مرجع گوسفند نسخه (*Oar_3.1*) به ژن‌هایی که نشانگر SNP مورد نظر در داخل آن ژن و یا 25 kb بالادست یا پایین دست آن ژن قرار داشت، ارتباط داده شدند. ۲) ارتباط ژن‌ها به طبقات عملکردی و مسیرهای بیوشیمیایی از پایگاه‌های اطلاعاتی شامل هستی شناسی ژن ([GO](http://www.geneontology.org))، مسیرهای بیوشیمیایی ([KEGG](http://www.genome.jp/kegg))، Panther (<http://www.pantherdb.org>)، Metacyc (<http://www.metacyc.org>) و Reactome (<http://www.reactome.org>) ۳) پویش کل ژنومی بر پایه آنالیز مسیر با استفاده از توزیع فوق هندسی^۱ و آماره Fisher's exact test مورد آزمون قرار گرفت. تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی با استفاده از بسته نرم افزاری *goseq* (یانگ و همکاران ۲۰۱۰) در محیط نرم افزار R انجام گردید. برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های به دست آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی آنالین GeneCards (<http://www.genecards.org>) و UniProtKB (<http://www.uniprot.org>) استفاده شد.

نتایج و بحث

Table 1- Descriptive statistics of birth weight and body conformation traits

Trait (unit)	Number	Mean	SD	CV	Min	Max
Birth weight (kg)	277	4.04	0.67	24.01	2.00	7.70
Withers height (cm)	277	34.16	2.62	7.67	25.90	41.20
Body length (cm)	277	28.45	2.56	9.00	22.30	35.60
Chest girth (cm)	277	35.70	3.36	9.41	28.90	60.20

¹ Hypergeometric

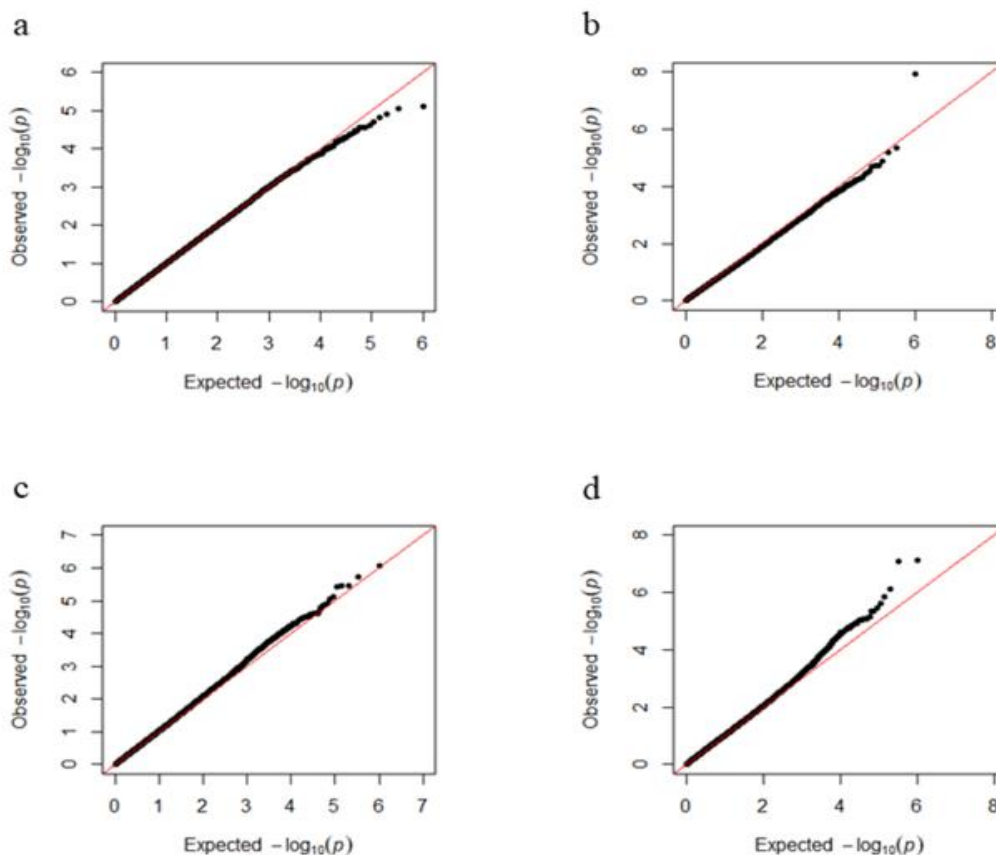


Figure 1- Q-Q plots for birth weight (a), withers height (b), body length (c) and chest girth (d) traits

مرتبط با تولید می‌باشد و ژن‌های کاندیدای *SLC2A8* و *ACACA* دارای نقش بیولوژیکی مستقیمی با صفات مرتبط با وزن بدن داشت که بیشتر بحث خواهد شد. ژن کاندیدای *SLC2A8* دارای نقش اساسی در انتقال گلوکز به داخل سلول‌ها و تنظیم هموستازی گلوکز دارد. ارتباط معنی‌داری در بیان ژن *SLC2A8* در توسعه عضله مرغ گزارش شده است (کودرت و همکاران ۲۰۱۸). ژن *ACACA* آنزیم کلیدی در تنظیم سنتز اسید چرب در بدن است که از طریق افزایش در فعالیت استیل کوآ کربوکسیلاز آلفا، موجب افزایش تولید مالونیل کوآ از طریق کربوکسیله کردن استیل کوآ و در نتیجه افزایش سنتز اسیدهای چرب می‌شود (genecards). ارتباط معنی‌داری بین ژن *ACACA* با وزن لاشه در گاو هانفو گزارش شده است (شین و همکاران ۲۰۱۱).

نتایج حاصل از پویس کل ژنومی برای چهار صفت مورد مطالعه در (شکل ۲) نشان داده شده است. تعداد مجموعه‌های ژنی حاصل از پایگاه‌های داده‌های مختلف شامل ۲۵۶ طبقات هستی‌شناسی (فرایند زیستی، عملکرد مولکولی و اجزای سلولی) و ۳۹ مسیر بیوشیمیایی PANTHER بود. همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، طبقات عملکردی در هستی‌شناسی فرایندهای زیستی، عملکرد مولکولی، اجزای سلولی و مسیرهای PANTHER با صفات مرتبط با وزن تولد و بیومتری دارای ارتباط هستند ($P < 0.05$). مسیرهای بیوشیمیایی که شامل بیش از ۳ ژن و کمتر از ۵۰۰ ژن داشتند گزارش شده‌اند.

از مسیرهای بیولوژیکی معنی‌دار مرتبط با وزن تولد می‌توان به مسیر Carbohydrate derivative metabolic process اشاره کرد که جزء مسیرهای فرآیندهای زیستی

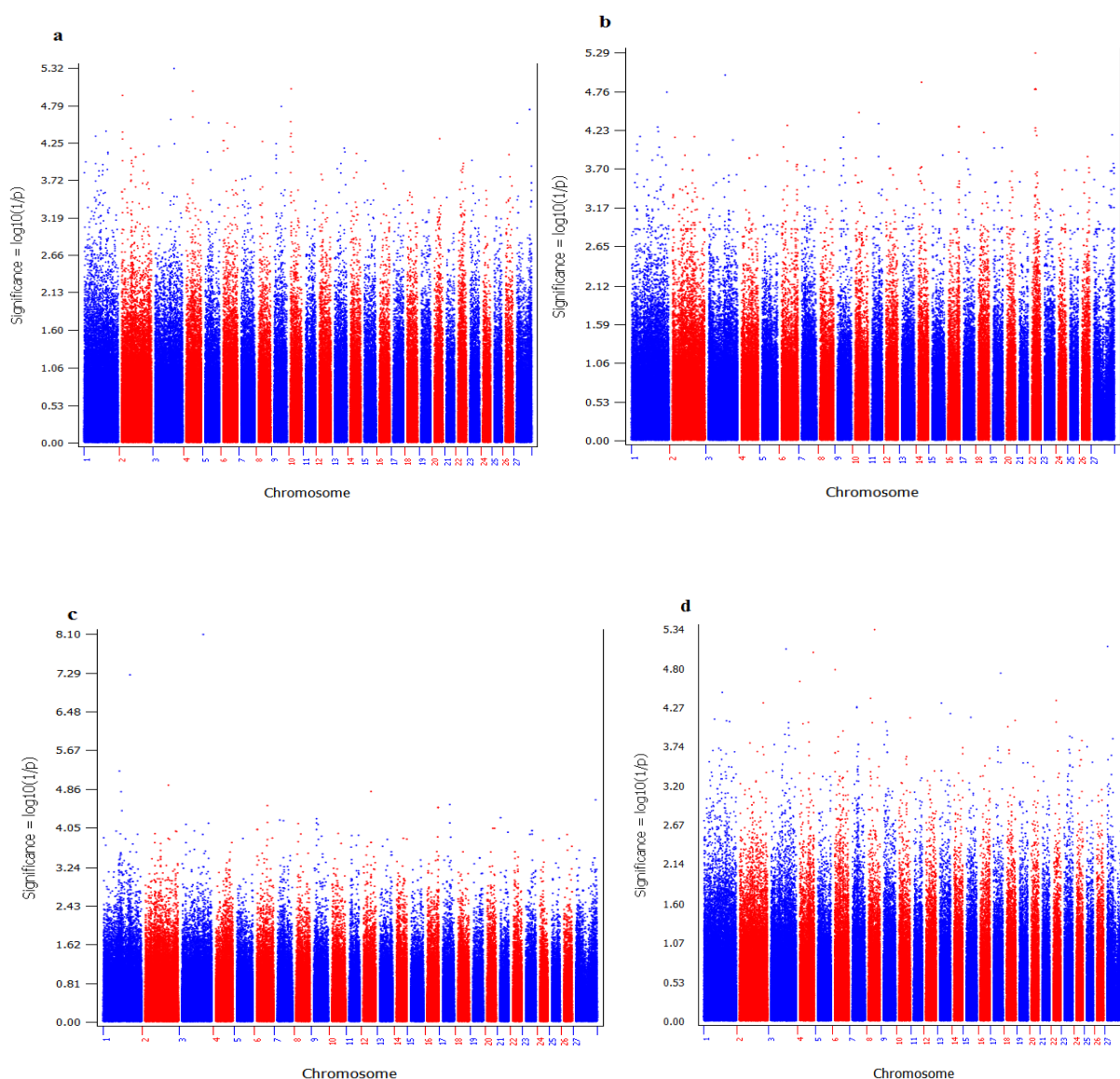


Figure 2- Manhattan plots for birth weight (a) and the body conformation traits withers height (b), body length (c) and chest girth (d)

پروتئوم با تکنیک وسترن بلات عضلات اسکلتی در مرغ، پروتئین‌های کاندیدای *MYL1* و *MYL3* در رشد عضلات اسکلتی در دوران جنینی نقش کلیدی داشتند (اوینگ و همکاران ۲۰۱۷). مسیر دیگر معنی‌دار مرتبط با وزن بدن را می‌توان muscle structure development نام برد که از بین ۱۰ ژن، ژن کاندیدای *MYO18B* در سوخت و ساز لپید و اسیدهای چرب در بدن نقش دارند (رسنیک و همکاران ۲۰۱۵).

از دیگر مسیرهای هستی‌شناسی معنی‌دار مرتبط با وزن تولد، مسیر Fibroblast growth factor receptor signaling pathway بدست آمد که جزء فرآیندهای زیستی می‌باشد. از میان ژن‌های کاندیدای موجود در این مسیر، ژن‌های *MYL1* و *MYL3* بیشترین ارتباط را با وزن بدن نشان دادند. در مطالعه‌ای روی بلدرچین ژاپنی مشخص گردید ژن‌های کاندیدای *MYL1* و *MYL3* نقش کلیدی در متابولیسم کلسیم در تفرق عضله دارند (پارک و همکاران ۲۰۱۸). علاوه بر این، در مطالعه آنالیز

Table 2- Gene set enrichment analysis significantly ($P < 0.05$) associated with birth weight and biometric traits

Category*	Term	No. of genes	Genes ¹	P value	FDR
GO_BP (BW)	GO:0007517: muscle structure development	10	<i>ADADGRB3, EGLN1, ERBB4, GPCPD1, GDF3, MEGF10, MYO18B, CHL3A1, DLL4, EGLN1,</i>	5.01E-04	3.02E-02
	GO:0008543: Fibroblast growth factor receptor signaling pathway	7	<i>DSTYK, FGF12, MYL1, FGF19, FGFR1, SPRY1, MYL3</i>	6.28E-06	4.00E-03
	GO:1901135: Carbohydrate derivative metabolic process	12	<i>CIB1, ENAM, FBN2, FLOT1, ACACA, SLC2A8, FMN1, ENPEP, GJAS5, SLC2A8, GDF3, SASH1</i>	5.28E-03	2.34E-02
GO_BP (BL)	GO:0009653: Anatomical structure formation involved in morphogenesis	8	<i>APOH, ACVR1, CIB1, FBN2, GDF3, GNPAT, PLCB1, PAPP</i>	6.21E-10	6.51E-03
	GO:0048705: Skeletal system development	11	<i>NAB1, ANXA2, BMPRIA, COL5A2, ACD, CHD7, DYM, GRHL2, GDF3, MATN1, PIP4K2A</i>	8.20E-06	4.59E-02
	GO:0007179: Response to transforming growth factor beta	10	<i>SMAD9, SMURF1, TAB1, WNT2, FBN2, LRPPRC, PDE3A, TGFB3, TRIM33, ZEB1</i>	1.48E-06	4.15E-02
	GO:0046622: Positive regulation of organ growth	10	<i>FGFR1, GDF3, PTBPI, ITGA8, NRPI, PDGFRB, RAMP2, TCF4, TGFB3, APP</i>	5.01E-03	2.51E-02
	GO:0045778: Positive regulation of ossification	9	<i>SMAD1, SUCO, ACVR2A, ACVR2B, ANO6, TMEM117, BMPR1B, CYR61, GTF2H4,</i>	8.05E-05	3.75E-02
GO_BP (WH)	GO:0048589: Developmental growth involved in morphogenesis	6	<i>FNI, ITGB1, SYN3, OGN, PLXNA1, PLXNA2</i>	9.32E-07	3.41E-02
	GO:0071559: Response to transforming growth factor beta	10	<i>SMAD2, SMAD9, TAB1, FBN2, NLK, STRAP, TGFB3, TRIM33, ZEB1, ZFH3,</i>	1.48E-06	4.15E-02
	GO:0006816: Calcium ion transport	7	<i>HTR1D, HTR1E, ABL1, CACNA1G, CAPN3, TRAK1 TRPC1</i>	4.02E-05	4.10E-02
GO_BP (CG)	GO:0033002: muscle cell proliferation	7	<i>ANGPT1, ERBB4, MEGF10, NOG, PPARG, PDGFRB, ZFPM2</i>	7.20E-05	1.50E-01
	GO:0007204: Positive regulation of cytosolic calcium ion concentration	6	<i>CAPN3, FFAR4, PTGFR, PTPN6, CASQ2, HMGA1</i>	7.28E-09	2.03E-03
GO_CC	GO:0034704: Calcium channel complex	11	<i>AKAP6, SESTD1, ANXA2, ANXA5, CACNA1C, CACNA1B, CACNA1G, CACNA1H, CCDC109B, SMDT1, TRPC4</i>	1.78E-05	2.10E-02
GO_MF	GO:0005262: Calcium channel activity	6	<i>DENND5A, DENND5B, TRPC1, TRPC3, TRPC4, TPCN2</i>	3.42E-07	1.98E-02

**KEGG
Pathway**

hsa04912: GnRH signaling pathway	8	<i>ADCY1, CACNA1C, CALM3, GNRH1, ITPR2, ADIPOR2, PLA2G4F, PLCB4</i>	3.7E-4	2.17E-02
----------------------------------	---	---	--------	----------

*GO category, GO Term, Number of genes in pathway, P value, FDR value.

از دیگر مسیرهای اصلی معنی‌دار مرتبط با طول بدن می‌توان به مسیر Positive regulation of ossification و Positive regulation of organ growth اشاره کرد. از میان ژن‌های کاندیدای موجود، ژن‌های کاندیدای *PTBP1* و *TMEM117* دارای بیشترین ارتباط معنی‌دار با طول بدن بودند. در مطالعه‌ی پویش ژنومی با هدف شناسایی مناطق ژنومی و ژن‌های کاندیدای مرتبط با اندازه بدن در گاو گوشتی سمیتال، ژن کاندیدای *PTBP1* گزارش شده است (ان و همکاران ۲۰۲۰). علاوه بر این، مطالعه پویش کل ژنومی در گاوهای شیری هلشتاین، ژن کاندیدای *TMEM117* مرتبط با امتیاز وضعیت بدنی گزارش شده است (ویرکمپ و همکاران ۲۰۱۲). در مطالعه‌ی قبلی پویش ژنومی مرتبط با طول بدن که براساس مدل خطی مختلط تک متغیره انجام شده بود، در ناحیه ۱۵۳ Mb روی کروموزوم ۳ در ارتباط با طول بدن معنی‌دار گزارش شده بود (تاو و همکاران ۲۰۲۰) که با منطقه شناسایی شده در پژوهش حاضر همخوانی داشت.

از مسیرهای بیوشیمیایی معنی‌دار KEGG مرتبط با ارتفاع بدن از جدوگاه می‌توان به مسیر GnRH signaling pathway اشاره نمود (شکل ۳). از بین ۸ ژن معنی‌دار در این مسیر ژن کاندیدای *ADIPOR2* در مطالعات قبلی در ارتباط با صفات بیومتری مختلف ارتباط معنی‌داری گزارش شده است. ژن گیرنده آدیپونکتین ۲ (adiponectin receptor 2)، جزئی از اعضای خانواده ژنی آدیپوسایتوکین‌ها می‌باشد. ژن‌های گیرنده آدیپونکتین نقش مهمی در هموستازی انرژی در استخوان از طریق فعال‌سازی مسیر سیگنال‌دهی AMPK¹ دارند. همچنین ژن *ADIPOR2* نقش مهمی در مسیرهای متابولیسمی مانند متابولیسم چربی و گلوکز و

طبقات عملکردی مختلف هستی‌شناسی و مسیرهای PANTHER مرتبط با صفات طول بدن، ارتفاع بدن از جدوگاه و دور سینه در جدول ۲ ارائه شده است. شاید بتوان مسیر Anatomical structure formation involved in morphogenesis را یکی از مهمترین مسیرهای مؤثر بر طول بدن دانست. از بین ژن‌های معنی‌دار در این مسیر مرتبط با طول بدن می‌توان ژن *PLCB1* را نام برد. در مطالعه پویش کل ژنومی در گاوهای هلشتاین مرتبط با صفات بیومتری و عملکرد گوساله‌زایی، ژن کاندیدای *PLCB1* را گزارش کردند (ابو-اسمعیل و همکاران ۲۰۱۷). همچنین با مطالعه پویش کل ژنومی با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با طول بدن و ارتفاع بدن در خوک‌های Large White، ژن کاندیدای *PLCB1* به عنوان ژن کاندیدای مرتبط با طول بدن گزارش شده است (هانگ و همکاران ۲۰۲۱).

مسیرهای بیولوژیکی Skeletal system development و Response to transforming growth factor beta از دیگر مسیرهایی بودند که در ارتباط با طول بدن شناسایی شدند. در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی جایگاه‌های ژنی مرتبط با توسعه سیستم اسکلتی مرتبط با اندازه بدن، ژن کاندیدای *BMPRIA* گزارش شده است (کامیناکیس و همکاران ۲۰۱۷). همچنین مطالعه‌ی پویش کل ژنومی در خوک‌های نژاد دانمارکی، ژن کاندیدای *LRPPRC* مرتبط با صفات ساختاری دست و پا گزارش گردید (لی و همکاران ۲۰۱۷). ژن کاندیدای *LRPPRC* نقش کلیدی در تنظیم فعالیت شبکه سایتواسکتون داشته و دارای نقش ضروری در فرآیند استخوان‌سازی دارد.

¹ mitogen-activated protein kinase signaling pathway

همکاران (۲۰۱۵) با مطالعه پویش کل ژنومی جهت شناسایی نشانه‌های انتخاب در گاوهای آفریقای جنوبی، ژن کاندیدای *ADIPOR2* جزء ژن‌های مرتبط با ارتفاع بدن از کپل گزارش کردند.

التهاب دارد (Genecards). در مطالعه پویش کل ژنومی مرتبط با صفات ساختاری دست و پا در گاوهای هلستاین، ژن کاندیدای *ADIPOR2* گزارش شده است (عبدلا و همکاران ۲۰۲۱). همچنین در مطالعه مکینا و

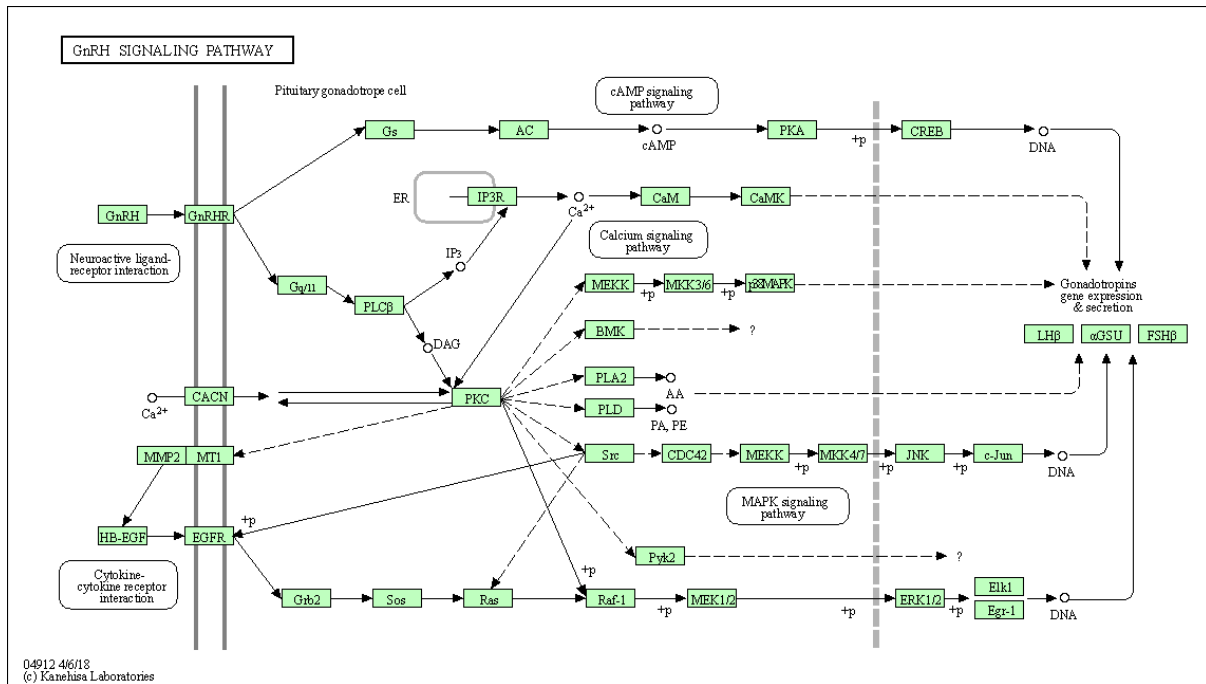


Figure 3- GnRH signaling pathway and candidate genes related to bone traits (KEGG database)

گزارش کردند (ان و همکاران ۲۰۱۹). همچنین در پژوهش حاضر ناحیه معنی‌دار مؤثر روی ارتفاع بدن از جدوگاه در ناحیه ۱۵ مگابازی کروموزوم ۱۹ بدست آمد که ژن کاندیدای *TRAK1* با مطالعه قبلی مشترک بود (تاو و همکاران ۲۰۲۰).

از مسیرهای مهم و معنی‌دار مرتبط با دور سینه می‌توان به مسیر *muscle cell proliferation* اشاره کرد که از بین ژن‌های معنی‌دار در این مسیر، ارتباط معنی‌داری بین ژن کاندیدای *PPARG* در مطالعات قبلی با وزن بدن گزارش شده است. در مطالعه‌ای با آنالیز شبکه هم-بیان ژنی مرتبط با صفات ساختار بدنی، رشد و چاقی در خوک، ژن کاندیدای *PPARγ* گزارش شده است (پوق-اولیورز و همکاران ۲۰۱۴).

مطابق با بررسی منابع انجام شده ژن *PPARG* عضوی از خانواده فعال کننده‌های کمک رونویسی می‌باشد که

از مسیرهای فرآیند زیستی معنی‌دار مرتبط با ارتفاع بدن از جدوگاه می‌توان به مسیرهای *Calcium ion transport* و *Developmental growth involved in morphogenesis* اشاره کرد. از بین ژن‌های معنی‌دار در این مسیر ژن‌های کاندیدای *TRAK1* و *SYN3* در مطالعات قبلی در ارتباط با صفات بیومتری گزارش شده‌اند. ژن-های خانواده *SYN* از جمله *SYN3* در هموستازی فیبرهای ماهیچه‌ای و ماتریکس خارج سلولی نقش مهمی ایفاء می‌نمایند. همچنین گزارش شده است ژن‌های خانواده *SYN* می‌توانند با تخریب بافت‌های همبند و کلاژنی اطراف فیبرهای ماهیچه‌ای موجب بازسازی ماتریکس خارج سلولی فیبرهای ماهیچه‌ای شوند (Genecards). مطالعه پویش کل ژنومی در گاوهای گوشتی *Wagyu* با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفت ارتفاع بدن، ژن کاندیدای *SYN3* را

نتیجه‌گیری

بررسی این مناطق ژنومی با استفاده از پایگاه داده BioMart، GeneCards و UniProtKB نشان داد که این مناطق به طور مستقیم و غیر مستقیم با وزن تولد و صفات بیومتری مرتبط هستند. به طور کلی مسیرهای شناسایی شده در این تحقیق، می‌تواند مسیری برای شناخت ژن‌های مؤثر بر صفات باشد و بررسی بیشتر نواحی مهم ژنومی شناسایی شده با استفاده از آزمون‌های آزمایشگاهی مختلف می‌تواند در تأیید نتایج به دست آمده در این پژوهش مؤثر باشند. از طرفی در این تحقیق به دلیل عدم دسترسی به رکوردهای فنوتیپی و اطلاعات ژنوتیپی مرتبط با صفات وزن تولد و صفات بیومتری گوسفندان بومی کشور، از اطلاعات فنوتیپی و ژنوتیپی گوسفند نژاد گوشتی لوزهانگ چینی استفاده شد. لذا استفاده از نتایج این تحقیق در گوسفندان بومی کشور نیاز به مطالعات بیشتر دارد تا در این جمعیت‌ها نیز تأیید شوند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از همکاری صمیمانه پروفیسور چو به دلیل در اختیار گذاشتن اطلاعات داده‌ها و کمک‌های ارزنده ایشان، کمال تشکر را دارند.

نقش اساسی در تنظیم متابولیسم انرژی ایفا می‌نماید (GeneCards). این ژن در فعال سازی گیرنده‌های مختلف هورمون‌های درون هسته‌ای و همچنین در رونویسی فاکتورهای تنظیمی تعادل انرژی نقش کلیدی دارد. علاوه بر این نقش واسطه‌ای در بیان ژن‌های دخیل در متابولیسم اکسیداسیون و گلوکونئوزن ایفا می‌نماید و دارای بیان بالا در ارگان‌های دارای فعالیت‌های متابولیکی است (UniProtKB).

مسیر معنی‌دار دیگر مرتبط با صفت دور سینه مسیر Positive regulation of cytosolic calcium ion concentration بود و شامل ژن کاندیدای *HMGAI* بود. ژن *HMGAI* در فسفریله کردن گلیکوپروتئین‌ها و تشکیل استخوان در انسان و موش از طریق تفرق سلولهای استئوبلاست نقش کلیدی دارد (GeneCards). مطالعه پویش کل ژنومی با هدف شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با صفات اسکلتی در گاوهای گوشتی، ژن کاندیدای *HMGAI* مرتبط با عرض سینه را گزارش کردند (دویل و همکاران ۲۰۲۰).

منابع مورد استفاده

- Abbasi MA and Ghafouri-Kesbi F, 2011. Genetic co (variance) components for body weight and body measurements in Makoei sheep. *Asian-Australian Journal of Animal Science* 24: 739-743.
- Abdalla IM, Lu X, Nazar M, Fan Y, Zhang Z, Wu X, Xu T and Yang Z, 2021. Genome-Wide Association Study on Reproduction-Related Body-Shape Traits of Chinese Holstein Cows. *Animals (Basel)* 11(7):1927.
- Abo-Ismael MK, Brito LF, Miller SP, Sargolzaei M, Grossi DA, Moore SS, Plastow G, Stothard P, Nayeri S and Schenkel FS, 2017. Genome-wide association studies and genomic prediction of breeding values for calving performance and body conformation traits in Holstein cattle. *Genetic Selection Evolution* 49(1):82.
- An B, Xu L, Xia J, Wang X, Miao J, Chang T, Song M, Ni J, Xu L, Zhang L, Li J and Gao H, 2020. Multiple association analysis of loci and candidate genes that regulate body size at three growth stages in Simmental beef cattle. *BMC Genetics* 21(1):32.
- An B, Xia J, Chang T, Wang X, Xu L, Zhang L, Gao X, Chen Y, Li J and Gao H, 2019. Genome-wide association study reveals candidate genes associated with body measurement traits in Chinese Wagyu beef cattle. *Animal Genetics* 50(4): 386-390.
- Azizpour N, Khalatabadi Farahani AH, Moradi MH and Mohammadi H, 2020. Genome-wide association study based on gene-set enrichment analysis associated with milk yield in Holstein cattle. *Journal of Animal Science Researches* 30(1): 79-91 (In Persian).

- Coudert E, Praud C, Dupont J, Crochet S, Cailleau-Audouin E, Bordeau T, Godet E, Collin A, Berri C, Tesseraud S and Métayer-Coustard S, 2018. Expression of glucose transporters SLC2A1, SLC2A8, and SLC2A12 in different chicken muscles during ontogenesis. *Journal of Animal Science* 96(2): 498-509.
- Doyle JL, Berry DP, Veerkamp RF, Carthy TR, Walsh SW, Evans RD and Purfield DC, 2020. Genomic Regions Associated With Skeletal Type Traits in Beef and Dairy Cattle Are Common to Regions Associated With Carcass Traits, Feed Intake and Calving Difficulty. *Frontiers in Genetics* 11:20.
- Durinck S, Spellman PT, Birney E and Huber W, 2009. Mapping identifiers for the integration of genomic datasets with the R/bioconductor package biomaRt. *Nature Protocols* 4: 1184–1191.
- Esmaeili-Fard SM, Gholizadeh M, Hafezian SH and Abdollahi-Arpanahi R, 2021. Genes and Pathways Affecting Sheep Productivity Traits: Genetic Parameters, Genome-Wide Association Mapping, and Pathway Enrichment Analysis. *Frontiers in Genetics* 12:710613.
- Hong Y, Ye J, Dong L, Li Y, Yan L, Cai G, Liu D, Tan C and Wu Z, 2021. Genome-Wide Association Study for Body Length, Body Height, and Total Teat Number in Large White Pigs. *Frontiers in Genetics* 12:650370.
- Hinrichs AL, Larkin EK and Suarez BK, 2009. Population Stratification and Patterns of Linkage Disequilibrium. *Genetic Epidemiology* 33: 88-92.
- Huang S, He Y and Ye S, 2018. Genome-wide association study on chicken carcass traits using sequence data imputed from SNP array. *Journal of Applied Genetics* 59: 335-344.
- Kominakis A, Hager-Theodorides AL, Zoidis E, Saridaki A, Antonakos G and Tsiamis G, 2017. Combined GWAS and 'guilt by association'-based prioritization analysis identifies functional candidate genes for body size in sheep. *Genetic Selection Evolution* 49(1):41.
- Khaltabadi Farahani AH, Mohammadi and Moradi MH, 2020. Gene set enrichment analysis using genome-wide association study to identify genes and pathways associated with litter size in various sheep breeds. *Animal Production* 22(3):325-335 (In Persian).
- Le TH, Christensen OF, Nielsen B and Sahana G, 2017. Genome-wide association study for conformation traits in three Danish pig breeds. *Genetic Selection Evolution* 49(1):12.
- Makina SO, Muchadeyi FC, Van Marle-Köster E, Taylor JF, Makgahlela ML and Maiwashe A, 2015. Genome-wide scan for selection signatures in six cattle breeds in South Africa. *Genetic Selection Evolution* 47:14.
- Mandal A, Roy R and Rout PK, 2008. Direct and maternal effects for body measurements at birth and weaning in Muzaffarnagari sheep of India. *Small Ruminant Research* 75: 123-127.
- Mohammadi H and Sadeghi M, 2010. Estimation of Genetic Parameters for Growth and Reproduction Traits and Genetic Trends of Growth Traits in Zel Sheep Breed under Rural Production System. *Iranian Journal of Animal Science* 41(3):231-241. (In Persian).
- Mohammadi H, Rafat SA, Moradi Shahrababak H, Shodja J and Moradi MH, 2020. Genome-wide association study and gene ontology for growth and wool characteristics in Zandi sheep. *Journal of Livestock Science and Technologies* 8(2): 45-55.
- Najafi MH, Mohammadi Y, Najafi A, Shamsolahi M and Mohammadi H, 2020. Lairage time effect on carcass traits, meat quality parameters and sensory properties of Mehraban fat-tailed lambs subjected to short distance transportation. *Small Ruminant Research* 188:106122.
- Ouyang H, Wang Z, Chen X, Yu J, Li Z and Nie Q, 2017. Proteomic Analysis of Chicken Skeletal Muscle during Embryonic Development. *Frontiers Physiology* 8: 281-289.
- Peñagaricano F, Weigel KA, Rosa GJ and Khatib H, 2013. Inferring quantitative trait pathways associated with bull fertility from a genome-wide association study. *Frontiers Genetics* 3: 307-314.
- Park JW, Lee JH, Kim SW, Han JS, Kang KS, Kim SJ and Park TS, 2018. Muscle differentiation induced up-regulation of calcium-related gene expression in quail myoblasts. *Asian-Australas Journal of Animal Science* 31(9): 1507-1515.

- Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MAR and Bender D, 2007. PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *The American Journal of Human Genetics* 81: 559-575.
- Peng G, Luo L and Siu H, 2010. Gene and pathway-based second wave analysis of genome-wide association studies. *European Journal of Human Genetics* 18: 111-117.
- Pértille F, Moreira GC and Zanella R, 2017. Genome-wide association study for performance traits in chickens using genotype by sequencing approach. *Scientific Reports* 7:41748.
- Puig-Oliveras A, Ballester M, Corominas J, Revilla M, Estellé J, Fernández AI, Ramayo-Caldas Y and Folch JM, 2014. A co-association network analysis of the genetic determination of pig conformation, growth and fatness. *PLoS One* 9(12):e114862.
- Shin, SC, Heo J and Chung L, 2011. Effect of Single Nucleotide Polymorphisms of Acetyl-CoA Carboxylase α (ACACA) Gene on Carcass Traits in Hanwoo (Korean Cattle). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 24(6): 744-751.
- Srikanth K, Lee SH, Chung KY, Park JE, Jang GW, Park MR, Kim NY, Kim TH, Chai HH, Park WC and Lim D, 2020. A Gene-Set Enrichment and Protein-Protein Interaction Network-Based GWAS with Regulatory SNPs Identifies Candidate Genes and Pathways Associated with Carcass Traits in Hanwoo Cattle. *Genes (Basel)* 11(3):316.
- Resnyk CW, Chen C, Huang H, Wu CH, Simon J, Le Bihan-Duval E, Duclos MJ and Cogburn LA, 2015. RNA-Seq Analysis of Abdominal Fat in Genetically Fat and Lean Chickens Highlights a Divergence in Expression of Genes Controlling Adiposity, Hemostasis, and Lipid Metabolism. *PLoS One* 9(10):e0139549.
- Tao L, He XY, Pan LX, Wang JW, Gan SQ and Chu MX, 2020. Genome-wide association study of body weight and conformation traits in neonatal sheep. *Animal Genetics* 51(2): 336-340.
- Veerkamp RF, Coffey MP, Berry DP, de Haas Y, Strandberg E, Bovenhuis H, Calus MPL and Wall E, 2012. Genome-wide associations for feed utilization complex in primiparous Holstein-Friesian dairy cows from experimental research herds in four European countries. *Animal* 6: 1738-1749.
- Wang L, Jia P and Wolfinger RD, 2011. Gene set analysis of genome-wide association studies: Methodological issues and perspectives. *Genomics* 98: 1-8.
- Wang S, Dvorkin D and Da Y, 2012. SNPEVG: a graphical tool for GWAS graphing with mouse clicks. *BMC Bioinformatics* 13:319.
- Young MD, Wakefield MJ, Smyth GK and Oshlack A, 2010. Method gene ontology analysis for RNA-seq: Accounting for selection bias. *Genome Biology* 11:14-23.
- Zhou X and Stephens M. 2012. Genome-wide efficient mixed-model analysis for association studies. *Nature Genetics* 44:821.

Study of gene-sets and biological pathways associated with some biometric traits in sheep

H Mohammadi^{1*} and M X Chu²

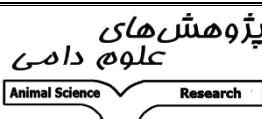

Received: October 26, 2021

Accepted: February 27, 2022.

¹Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Environmental Science, Arak University.

²Professor, Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing, China.

*Corresponding author: E-mail: H-mohammadi64@araku.ac.ir

 <p>پژوهش‌های دامی علوم دامی Animal Science Research</p>	<p>Journal of Animal Science/vol.32 No.3/ 2022/pp 109-122 https://animalscience.tabrizu.ac.ir</p>	
<p>© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/) DOI: 10.22034/AS.2022.48176.1629</p>		

Introduction: Genomic selection has provided the sheep industry a powerful tool to increase genetic gains on economically important traits such as meat production (Taylor et al. 2016). In addition, identifying genes with large effects on economically important traits, has been one of the important goals in sheep breeding. A method to identify new loci and confirm existing QTL is through genome-wide association studies (GWAS). QTL assisted selection and genomic regions affecting the production traits have been considered to increase the efficiency of selection and improve production performance. Genome wide association studies typically focus on genetic markers with the strongest evidence of association. However, single markers often explain only a small component of the genetic variance and hence offer a limited understanding of the trait under study. A solution to tackle the aforementioned problems, and deepen the understanding of the genetic background of complex traits, is to move up the analysis from the SNP to the gene and gene-set levels. In a gene-set analysis, a group of related genes that harbor significant SNP previously identified in GWAS, is tested for overrepresentation in a specific pathway. The present study aimed to conduct a genome wide association studies (GWAS) based on Gene-set enrichment analysis for identifying the loci associated with birth weight and biometric traits using the high-density SNPs.

Materials and methods: Phenotypes records and genotypic data related to birth weight, body length, withers height and chest girth were obtained from 277 Luzhong sheep. The gene set analysis basically consists of three different steps: the assignment of SNPs to genes, the assignment of genes to functional categories, and finally the association analysis between each functional category and the phenotype of interest. Genome wide association study was performed with birth weight and biometric traits using GEMMA software. Using the biomaRt2 R package, the SNP were assigned to genes if they were within the genomic sequence of the gene or within a flanking region of 25 kb up- and downstream of the gene. For the assignment of the genes to functional categories, the Gene Ontology and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathway databases were used. The GO database designates biological descriptors to genes based on attributes of their encoded products and it was further partitioned into three components: biological process, molecular function, and cellular component. The KEGG pathway database contains metabolic and regulatory pathways, representing the actual knowledge on molecular interactions and reaction networks. Finally, a Fisher's exact test was performed to test for overrepresentation of the significant genes for each gene-set. The gene enrichment analysis was performed with the *goseq* R package. In the next step, a bioinformatics

analysis was implemented to identify the biological pathways performed in BioMart, Panther, DAVID and GeneCards databases.

Results and discussion: Gene set enrichment analysis has proven to be a great complement of genome-wide association analysis (Gambra et al. 2013; Abdalla et al. 2016). Among available gene set databases, GO is probably the most popular, whereas KEGG is a relatively new tool that is gaining ground in livestock genomics (Morota et al. 2015, 2016). We had hypothesized that the use of gene set information could improve prediction. However, neither of the gene set SNP classes outperformed the standard whole-genome approach. Gene sets have been primarily developed using data from model organisms, such as mice and flies, so it is possible that some of the genes included in these terms are irrelevant for meat production. A better understanding of the biology underlying meat production specifically, and an advance in the annotation of the ovine genome, can provide new opportunities for predicting production using gene set information. In this research, 14 SNP markers on chromosomes 2, 3, 5, 7, 11, 13, 17, 19, 20 and 25 located in *MYL1*, *MYL3*, *ACACA* (*birth weight*), *PLCB1*, *BMPRIA*, *LRPPRC*, *PTBP1*, *TMEM117* (*body length*), *ADIPOR2*, *SYN3*, *TRAK1* (*withers height*) and *PPARG*, *HMGAI* (*chest girth*) genes were identified. Some of the found genes, are consistent with some of the previous studies related to birth weight and biometric traits. According to pathway analysis, 21 pathways from gene ontology and biological pathways were associated with the birth weight and biometric traits ($P < 0.05$). Among these pathways, muscle structure development, carbohydrate derivative metabolic process, anatomical structure formation involved in morphogenesis, skeletal system development, positive regulation of ossification, muscle cell proliferation and GnRH signaling pathway were detected. These pathways have important functions in development of skeletal muscle, glucose homeostasis, and osteogenesis process, regulation of ion calcium and activation of the MAPK signaling pathway. Finally, it is worth noting that our gene-set enrichment analysis was conducted using a panel of SNP obtained from a single marker regression GWAS, which relies on a simplified theory of the genomic background of traits, without considering the joint effect of SNP. Hence, other approaches (e.g., GWAS exploring SNP by SNP interactions) might provide a better basis for biological pathway analysis. In total, this study supported previous results from GWAS of birth weight and biometric traits, also revealed additional regions in the sheep genome associated with these economically important traits. Using these findings could potentially be useful for genetic selection in the breeding programs.

Keywords: Body conformation, Genome scan, Gene ontology, Pathway-based analysis