

Identification of genome diversity in marandi chicken using whole genome sequencing method

Rasol Akbari

MSc. of Animal Breeding, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran and Yang Researchers Society, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran, Tel. +989162457791. Email: r.akbari.via@gmail.com

Ali Esmailzadeh

*Author for correspondence: Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. Tel: +989133958041. E-mail: aliesmaili@uk.ac.ir

Zeinab Amiri Ghanatsaman

Ph.D of Animal Breeding, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran and Yang Researchers Society, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran Tel. +989362889629. E-mail: z_amiri60@yahoo.com

Ahmad Ayatollahi Mehrgardi

Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran, Tel. +989122099501. E-mail: a_ayatmehr@yahoo.com

Abstract

Objective

Evaluation and conservation of native chickens as future genomic resources are essential. In this study, genomic diversity of four Marandi breeds was investigated using whole genome sequencing technique.

Materials and Methods

Blood samples were taken from four chickens in East Azerbaijan province, Iran. Whole genome sequencing (paired end sequencing) was done by Illumina Company (Hiseq

2500). Data quality control was performed by FastQC program. Whole genome sequencing data were aligned with genome reference (*Gallus_gallus-5.0/galGal5*) using MEM algorithm implemented in burrows wheeler aligner program (BWA). Single nucleotide polymorphisms (SNPs) and small insertions and deletions (INDELs) were identified by the GATK program. Annotation of SNPs and Indels was done using SnpEff program. Genetic diversity of 4 chicken genomes was calculated with VCFtools.

Results

The short sequences were compared with the reference genome of over 99% and with the mean depth of 7X coverage. In this study, 8.7 million SNPs and 9.1 Indels were identified with the most counts of them in the intron and intergenic regions. The mean of observed and expected heterozygosity percentages for SNPs in four chicken genomes were 0.33 and 0.35, respectively.

Conclusion

Results from annotation showed that percentage of the silent SNPs (74.64%) is higher than that the nonsynomous SNPs (missense and nonsense) in Marandi chicken genome. The results obtained from this research can be useful for Marandi chicken breeding and conservation programs.

Keywords: Indels, Marandi chicken, SNPs, whole genome sequencing.

Citation: Akbari R, Esmailizadeh A, Amiri ghanatsaman Z, Ayatollahi Mehrgardi A (2020) Identificantion of Genome Diversity in Marandi Chicken Using Whole Genome Sequencing Method. *Agricultural Biotechnology Journal* 12(1), 161-176.

Agricultural Biotechnology Journal 12(1), 161-176.

DOI: 10.22103/jab.2020.15067.1188

Received: December 7, 2019; Accepted: February 26, 2020

©Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society

شناسایی تنوع ژنوم در مرغ مرندي با استفاده از روش توالی‌یابی کل ژنوم

رسول اکبری

دانش آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد دام، بخش مهندسی علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران و عضو انجمن پژوهشگران جوان، دانشگاه شهید باهنر کرمان. تلفن: ۰۹۱۶۲۴۵۷۷۹۱، ایمیل:

r.akbari.via@gmail.com

علی اسمعیلی زاده کشکوئیه

*نویسنده مسئول، استاد بخش مهندسی علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. تلفن:

۰۹۱۳۳۹۵۸۰۴۱، ایمیل: aliesmaili@uk.ac.ir

زینب امیری قنات سامان

دانش آموخته دکتری ژنتیک و اصلاح نژاد دام، بخش مهندسی علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران و عضو انجمن پژوهشگران جوان، دانشگاه شهید باهنر کرمان. تلفن: ۰۹۳۶۲۸۸۹۶۲۹، ایمیل:

z_amiri60@yahoo.com

احمد ایت‌اللهی مهرجردی

دانشیار بخش مهندسی علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. تلفن: ۰۹۱۲۲۰۹۹۵۰۱، ایمیل:

a_ayatmehr@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۰۹، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۰۷

چکیده

هدف: ارزیابی و حفاظت از مرغان بومی به عنوان ذخایر ژنتیکی آینده ضروری است. در این تحقیق تنوع ژنومی چهار قطعه مرغ از نژاد مرندي با استفاده از تکنیک توالی‌یابی کل ژنوم بررسی شد.

مواد و روش‌ها: نمونه خون چهار قطعه مرغ بومی از استان آذربایجان شرقی گرفته شد. توالی‌یابی کل ژنوم به صورت End-paired یا دو سویه توسط شرکت ایلومینا Hiseq 2500 انجام شد. کیفیت داده‌ها توسط برنامه FastQC بررسی شدند. داده‌ها به وسیله الگوریتم MEM به کار برده شده در برنامه BWA با ژنوم مرجع (Gallus_gallus-5.0/galGal5) هم‌ردیف شدند. چندریختی‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNPs) و حذف و اضافه‌های کوچک ژنوم با برنامه GATK شناسایی شدند. مستندسازی چند-ریختی‌های تک‌نوکلئوتیدی و حذف و اضافه‌های کوچک ژنوم با برنامه SnpEff انجام شد. تنوع ژنتیکی ژنوم چهار مرغ با برنامه VCFtools محاسبه شد.

نتایج: درصد هم‌ردیفی توالی‌های کوتاه با ژنوم مرجع بالای ۹۹ درصد بود و میانگین عمق پوشش $7X$ بود. در این پژوهش ۸۶۷۹۹۹۰ چندریختی تک‌نوکلئوتیدی و ۹۱۱۰۹۵ حذف و اضافه کوچک بدست آمد که بیشترین مقدار آن در نواحی اینترون و بین ژنی مشاهده شد. میانگین درصد هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار برای جایگاه‌های چندریختی‌های تک‌نوکلئوتیدی شناسایی شده برای ژنوم چهار مرغ به ترتیب $0/33$ و $0/35$ بود.

نتیجه‌گیری: نتایج مستندسازی نشان داد که درصد چندریختی‌های تک‌نوکلئوتیدی خاموش ($74/64$ درصد) بیشتر از درصد چندریختی‌های تک‌نوکلئوتیدی غیرمترادف (بد معنی و بی معنی، $25/36$ درصد) در ژنوم مرغ است. اطلاعات بدست آمده از این پژوهش، می‌تواند برای برنامه‌های اصلاح نژادی و حفاظتی و نیز بررسی‌های ساختار جمعیتی سودمند واقع شوند.

واژه‌های کلیدی: توالی‌یابی کل ژنوم، چندریختی‌های تک‌نوکلئوتیدی، حذف و اضافه‌های کوچک، مرغ مرندی

مقدمه

پرورش ماکیان در ایران و انتشار آن از طریق این کشور تاریخچه‌ای بسیار کهن دارد. ایران (پرشیا) یک امپراطوری بزرگ از قرن ۵ قبل از میلاد تا تقریباً قرن ۷ میلادی بود و از هند (دهلی) تا دریاهای سیاه و مدیترانه گسترده بود. در آن زمان و بعد از آن، در قرون وسطی ایران در محل تقاطع راه‌ها برای حمل و نقل محصولات، از قبیل ماکیان از شرق به غرب، هم از طریق خشکی و هم از طریق دریا قرار داشت. جنگ‌های زیادی در حوالی ایران و کشورهای همسایه در طی این دوره‌ها نیز توسعه و گسترش جمعیت‌های ماکیان را تسهیل کرد. حفاری‌های باستان‌شناسی حضور ماکیان را در ایران در زمان‌های باستان تأیید کرده است (Mohammadabadi et al., 2010). بر اساس تحقیقات West and Zhou استخوان‌های یافت شده در ایران در سه منطقه وجود داشته‌اند: دو کشف در تپه یحیی (Tepe Yahya) (جنوب شرقی ایران) به ترتیب متعلق به ۳۸۰۰ تا ۳۹۰۰ قبل از میلاد و ۱۰۰۰ قبل از میلاد و دیگری در تخت سلیمان (شمال غربی ایران) متعلق به ۱۰۰۰ قبل از میلاد (Mohammadabadi et al., 2010). نژاد مرندی یکی از نژادهای تخم‌گذار بومی ایران محسوب می‌شود، منشأ این نژاد شهرستان مرند در استان

آذربایجان شرقی است. SNPs فراوانترین منبع تنوع ژنتیکی داخل ژنوم هستند و با تفاوت‌های اثری بین افراد مرتبط هستند و نسبت به مارکرهای دیگر از ثبات بیشتری (به دلیل میزان جهش کمتر) برخوردارند (Gray et al. 2000; Suh and Vijg 2005). مطالعات اخیر از چند ریختی‌های تک نوکلئوتیدی در مطالعات بررسی ساختار جمعیتی (Karimi et al. 2016)، تنوع ژنتیکی (Amiri Ghanatsaman et al. 2016., Li et al. 2019) و بررسی نواحی تحت انتخاب (Asadollahpour et al. 2019., Nosrati et al. 2020.) استفاده کرده‌اند.

حذف و درج (ایندل) یکی از شکل‌های اصلی تنوع ژنتیکی هستند که از نظر وقوع در ژنوم در رتبه دوم بعد از چند ریختی-های تک نوکلئوتیدی قرار دارند. در طیور تعدادی از صفات از قبیل رشد پر و کوتولگی وابسته^۱ به جنس با ایندل‌ها مرتبط هستند (Amiri Ghanatsaman et al. 2019). وجود ژنوم مرجع با کیفیت بالا، امکان هم‌ردیفی توالی‌های ژنومیک افراد با این منبع ژنتیکی و شناسایی تنوع‌های نوکلئوتیدی را فراهم ساخته است (Kerstens et al. 2009; Li and Durbin 2009). مطالعات مختلفی با استفاده از پلت‌فرم‌های NGS برای شناسایی چند ریختی‌های تک نوکلئوتیدی و ایندل‌ها در ژنوم حیوانات و گیاهان انجام شده است (Kilian et al. 2012; Ramos et al. 2009; Stothard et al. 2011; You et al. 2011). اهلی سازی، مهاجرت، انتخاب و سازگاری تنوع بیشماری در نژادهای اهلی ایجاد کرده است. (Groeneveld et al. 2010). چندین مطالعه تنوع ژنتیکی را در گونه‌های مختلف اهلی با استفاده از انواع نشانگرهای مختلف ارزیابی کرده‌اند (Kijowski et al. 1995; Ryman et al. 2010; Lin et al. 1978). مطالعات انجام شده کاهش تنوع به علت فشار انتخاب بالا و کاهش اندازه موثر جمعیت را در مرغ گزارش کرده‌اند (Fulton 2012; Hillel et al. 2007; Sawai et al. 2010). اگر چه مطالعات ملکولی متعددی روی طیور در ایران انجام شده است (Zandi et al. 2014; Mohammadifar et al. 2011; Mohammadifar et al. 2014; Mohammadifar and Mohammadabadi, 2017; Shahdadnejad et al. 2016b; Moazeni et al. 2016a; Moazeni et al. 2016). اما تا کنون تنوع ژنومی در مرغ مرنده با استفاده از روش توالی‌یابی کل ژنوم بررسی نشده است، لذا، نظر به موارد ذکر شده هدف از این مطالعه بررسی تنوع ژنوم و فراهم کردن منبعی برای کار ژنتیکی بعدی از قبیل انتخاب ژنومیک و مطالعات همبستگی در مرغ مرنده است.

مواد و روش‌ها

از چهار مرغ نژاد مرنده در استان آذربایجان شرقی نمونه خون تهیه شد. استخراج DNA از نمونه‌های خون با روش استخراج نمکی انجام شد (Abadi et al. 2009). جهت بررسی کیفیت DNA استخراج شده، از دو روش الکتروفورز با استفاده از ژل آگارز یک درصد به مدت نیم ساعت و همچنین دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. توالی‌یابی کل ژنوم به صورت Paired-

^۱. Dwarf Chicken

End توسط شرکت ایلومینا و دستگاه توالی‌یاب Hiseq2500 در کشور چین انجام شد (www.berrygenomics.com). کیفیت داده‌ها توسط برنامه Fastqc بررسی شد. برای هم‌ردیفی^۱ Short Reads با ژنوم مرجع^۲ (-Gallus_gallus) از الگوریتم MEM در برنامه^۳ BWA-0.7.17 (Li and Durbin, 2009) استفاده شد. SAM^۴ فایل‌های تولید شده با برنامه SAMtools1.9 (Li et al. 2009) به BAM فایل تبدیل شدند. سپس BAM^۵ فایل‌ها بر پایه موقعیت ژنگانی مرتب و ایندکس^۶ شدند. کیفیت BAM فایل‌ها توسط دو پارامتر درصد هم‌ردیفی Short read با ژنوم مرجع و پوشش-دهی^۷ بررسی شدند. خطاهای PCR^۸ با برنامه picard-1.105 (<https://github.com/broadinstitute/picard>) حذف و چند ریختی‌های تک نوکلئوتیدی (SNPs) و حذف و اضافه‌های کوچک (Indels Small) توسط برنامه^۹ GATK3.4-46-9 (Mckenna et al. 2010) شناسایی و بنا بر پیش فرض این برنامه پالایش شدند. از برنامه (version 1.9.6) snpEff (Cingolani et al. 2012) برای مستندسازی^{۱۰} چندریختی‌های تک نوکلئوتیدی و حذف و اضافه‌های کوچک ژنوم استفاده شد. مقادیر تنوع ژنتیکی با استفاده از دستور het- به کار برده شده در برنامه vcftools-0.1.11 (Danecek et al. 2011) محاسبه شدند.

نتایج و بحث

در این مطالعه کل ژنوم چهار قطعه مرغ مرنده به منظور مطالعه و شناسایی چندریختی‌های تک نوکلئوتیدی و حذف و اضافه‌های کوچک توالی‌یابی گردید. نتایج کنترل کیفیت داده‌ها نشان داد که Short Reads دارای کیفیت بالایی و فاقد آلودگی پرایمر بودند. طول Short Reads برای همه داده‌ها ۱۲۵ بود. در صد هم‌ردیفی برای همه داده‌ها بالای ۹۹ درصد بود که نشان دهنده کیفیت بالای هم‌ردیفی داده‌های توالی‌یابی شده با ژنوم مرجع (Gallus_gallus-5.0/galGal5,) (<https://www.ensembl.org/Gallus-gallus/Info/Index>) بود. میزان پوشش‌دهی توالی‌های کوتاه با ژنوم مرجع از X تا ۶/۲۸ تا ۷/۵۷X متغیر است (جدول ۱).

-
1. Alignment
 2. Genome Reference
 3. Burrows-Wheeler Aligner
 4. Sequence Alingment MA
 5. Binary Alingment MA
 ۶. Index
 ۷. Coverage
 ۸. Mark duplicates
 ۹. Genome Analysis Toolkit
 ۱۰. Annotation

جدول ۱. خروجی توالی‌یابی برای چهار نمونه

Table 1. Sequencing output for four samples

نام نمونه	تعداد توالی‌های	طول توالی‌های	درصد هم‌ردیفی	میانگین عمق
Sample name	کوتاه	کوتاه	Alignment Percent	Mean depth
	Number of short reads	Short reads length		
Marandi 49S	74530921	125	99/80	7/57X
Marandi 50 S	72528686	125	99/82	7/36X
Marandi 51S	61899458	125	99/85	6/28X
Marandi 52S	74114086	125	99/85	7/53X

در این مطالعه تعداد ۸/۷ میلیون چندریختی تک‌نوکلئوتیدی از چهار ژنوم مرغ مرنده بدست آمد (جدول ۲). تعداد چند ریختی‌های تک‌نوکلئوتیدی هتروزیگوس بیشتر از تعداد چندریختی‌های تک‌نوکلئوتیدی هموزیگوس در نمونه‌ها است (جدول ۳). نتایج مشابهی در آنالیز ژنوم مرغ بومی فارس بدست آمد (Eskandari et al. 2018).

جدول ۲. شمار چند ریختی‌های تک‌نوکلئوتیدی و حذف و اضافه‌های کوچک برای چهار نمونه پیش و پس از پالایش کردن

Table 2. Number of single nucleotide polymorphisms and small insertions and deletions for 4 samples before and after filtering

نام نمونه	تعداد SNPs قبل از فیلتر کردن	تعداد SNPs بعد از فیلتر کردن	تعداد INDELS
Sample name	کردن	Number of filtered SNP	Number of Indels
	Number of raw SNPs		
Marandi 49S	6966231	6026921	698197
Marandi 50S	7003139	6083366	715145
Marandi 51S	6729058	5852211	691528
Marandi 52S	6736580	5860997	692070
Total	10416121	8679990	911095

جدول ۳. شمار خالصی و ناخالصی

Table 3. Number of homozygous and heterozygous

تعداد ایندل‌های هموزیگوس	تعداد ایندل‌های هتروزیگوس	تعداد چندریختی- های هموزیگوس	تعداد چندریختی- های هتروزیگوس	نام نمونه Sample name
Number of homozygous Indels	Number of heterozygous Indels	Number of homozygous SNPs	Number of heterozygous SNPs	
373094	325103	32751797	3275124	Marandi 49S
355437	359708	2630928	3452438	Marandi 50S
358672	332856	2689737	3162474	Marandi 51S
376451	315619	2819101	3041896	Marandi 52S

نسبت جهش‌های انتقالی^۱ به متقاطع^۲ در چندریختی‌های تک نوکلئوتیدی از ۲/۳۷۲ تا ۲/۳۷۶ متغیر است (جدول ۴). به علت مکانیسم‌های مولکولی ایجاد کننده جهش‌ها در مولکول DNA، تعداد چند ریختی‌های تک نوکلئوتیدی که توسط جهش‌های انتقالی (جهش‌هایی هستند که در آنها یک پورین به پورین دیگر یا پیریمیدین به پیریمیدین دیگر تبدیل می‌شود) تولید می‌شوند، در مقایسه با چند ریختی‌های تک نوکلئوتیدی که توسط جهش‌های متقاطع (پیریمیدین به پورین یا بالعکس تبدیل می‌شود) ایجاد می‌شوند، تقریباً دو برابر است (Collins and Jukes 1994). به طور کلی نسبت جهش‌های انتقالی به متقاطع یک شاخص مفیدی برای نشان دادن میزان خطای مثبت (FPR^۳) شناسایی چندریختی‌های تک نوکلئوتیدی است (McKenna et al. 2010). مطالعات اخیر نشان داده است که نسبت ti/tv برای داده‌های کل ژنوم حدود ۲/۰ ~ ۲/۰۱ است. هر چه این نسبت بیشتر باشد نشانگر دقت بالای شناسایی چندریختی‌های تک نوکلئوتیدی در ژنوم است (Bainbridge et al. 2011; Guo et al. 2012). نسبت‌های بدست آمده در نتایج ما نشان‌دهنده کیفیت مطلوب شناسایی چندریختی‌های تک نوکلئوتیدی است.

نتایج مستندسازی چند ریختی‌های تک نوکلئوتیدی نشان دادند که بیشتر چند ریختی‌های تک نوکلئوتیدی در نواحی بین ژنی و اینترون واقع شده اند. از تعداد کل چندریختی‌های تک نوکلئوتیدی ۲۹/۲۹، ۴۹/۰۲، ۱/۷۸، ۰/۷۶۱، ۹/۷۱، ۹/۴۹، ۰/۴۲۵، ۰/۰۸۴ درصد از آنها به ترتیب در نواحی بین ژنی، اینترون، اگزون، ترنسکرپت، بالادست، پایین دست، 3' UTR و 5' UTR

1. Transition

2. Transversio

3. False positive ratio

قرار گرفتند (جدول ۵). همچنین تعداد کل جهش‌های مترادف^۱ (چندریختی‌های تک نوکلئوتیدی خاموش یا Silent) بیش تر از تعداد کل جهش‌های غیر مترادف^۲ (چند ریختی‌های تک نوکلئوتیدی بدمعنی و بی‌معنی) است (جدول ۶). تعداد کل ۹۱۱۰۹۵ حذف و اضافه کوچک در سراسر کل ژنوم نمونه‌ها شناسایی شد (جدول ۲). نتایج مستندسازی حذف و اضافه‌های کوچک نشان داد که بیشتر حذف و اضافه‌های کوچک در نواحی بین ژنی و اینترون واقع شده‌اند و از تعداد کل حذف و اضافه‌های کوچک ۲۹/۵۶۲، ۵۱/۲۱۲، ۰/۹۰۹، ۰/۰۰۱، ۸/۴۱، ۹/۰۷۱، ۰/۵۴۸، ۰/۰۴۴ درصد از آنها در نواحی بین ژنی، اینترون، اگزون، ترنسکرپت، بالادست، پایین دست، 3' UTR و 5' UTR قرار گرفتند (جدول ۵). نتایج مشابهی با نتایج مستندسازی چند ریختی‌های تک نوکلئوتیدی و ایندل‌ها در گاو (Da Silva et al. 2015)، سگ (amiri ghanatsaman et al. 2016) و مرغ (Eskandari et al. 2018) گزارش شده است. میانگین تنوع ژنتیکی مشاهده و مورد انتظار محاسبه شده برای چند ریختی‌های تک نوکلئوتیدی در ژنوم چهار قطعه مرغ مرنده ۰/۳۳ و ۰/۳۵ بود (جدول ۷). کمتر بودن تنوع ژنتیکی مورد انتظار از تنوع ژنتیکی مشاهده، به وجود نیروهایی مثل همخونی در جمعیت می‌توان اشاره کرد.

جدول ۴. شمار جهش‌های انتقالی و متقاطع در چند ریختی‌های تک نوکلئوتیدی

Table 4. Number of transition and transversion mutations in SNPs

نسبت جهش‌های انتقالی به متقاطع Transition to transversion ratio	تعداد جهش‌های متقاطع Number of transversion mutations	تعداد جهش‌های انتقالی Number of transition mutations	نام نمونه Sample name
2.375	2590509	6151665	Marandi 49S
2.372	2573880	6104144	Marandi 50S
2.376	2526110	5979955	Marandi 51S
2.374	2562139	6081496	Marandi 52S

¹. synonymous

² nonsynonymous

جدول ۵. شمار اثر گذاری های چندریختی های تک نوکلئوتیدی و حذف و اضافه های کوچک در نواحی مختلف ژنوم

Table 5. Number of single nucleotide polymorphisms and small insertions and deletions effects in different regions of genome

حذف و اضافه های کوچک Indels	چند ریختی های تک نوکلئوتیدی SNPs	نوع Type
149955 (9.071%)	1462166 (9.496%)	پایین دست Downstream
15020 (0.909%)	274595 (1.783%)	اگزون Exonic
488676 (29.562%)	4510631 (29.294%)	بین ژنی Intergenic
846565 (51.212%)	7549322 (49.028%)	اینترون Intronic
169 (0.01%)	540 (0.004%)	Splice_site_acceptor
194 (0.01%)	637 (0.004%)	Splice_site_donor
3647 (0.221%)	26486 (0.172%)	Splice_site_region
15 (0.001%)	117332 (0.761%)	Transcript
139024 (8.41%)	1495208 (9.71%)	بالادست Upstream
9052 (0.548%)	65418 (0.452%)	utr '3
735 (0.044%)	12901 (0.084%)	utr '5

جدول ۶. شمار اثر گذاری های چندریختی تک نوکلئوتیدی با دسته عملکردی

Table 6. Number of SNP effects by functional class

خاموش (درصد)	بی معنی (درصد)	بد معنی (درصد)
Silent (%)	Nonsense (%)	Missense(%)
120559	234	40734
(74.637%)	(0.145%)	(25.218%)

جدول ۷. مقادیر تنوع ژنتیکی محاسبه شده برای چندریختی های تک نوکلئوتیدی

Table 7. Calculated genetic diversity values for SNPs

درصد هتروزایگوسیتی مورد انتظار	درصد هتروزایگوسیتی مشاهده شده	ضریب همخوانی	نام نمونه
Expected Heterozygous Sites	Observed Heterozygous Sites	inbreeding coefficient	Sample name
0.354	0.327	0.076	Marandi 49S
0.354	0.340	0.038	Marandi 50S
0.354	0.335	0.052	Marandi 51S
0.354	0.334	0.057	Marandi 52S
0.354	0.334	0.056	Mean

نتیجه گیری: ژنوم چهار قطعه مرغ از نژاد مرندی با استفاده از تکنیک توالی یابی کل ژنوم با میانگین عمق پوشش ۷X، برای اولین بار توالی یابی شد. تعداد ۸/۷ میلیون چندریختی تک نوکلئوتیدی و ۹/۱ میلیون حذف و اضافه کوچک از ژنوم چهار قطعه مرغ مرندی استخراج شد. بسیاری از این واریانت های ژنومی با صفات اقتصادی مرتبط هستند که می توانند در پروژه های بعدی شناسایی، و در برنامه های اصلاح نژادی طیور بکار روند.

منابع

- اسکندری طاهره، اسمعیلی زاده کشکوئیه علی، اسدی فوزی مسعود (۱۳۹۷) شناسایی نشانگرهای تک نوکلئوتیدی در مرغ بومی فارس با استفاده از روش توالی یابی کل ژنوم. مجله بیو تکنولوژی کشاورزی ۱۰ (۱)، ۱۵۱-۱۳۹.
- امیری قنات سامان زینب، اسمعیلی زاده کشکوئیه علی، اسدی فوزی مسعود (۱۳۹۵) بررسی تنوع ساختاری ژنگان سگ و گرگ بومی ایران با روش توالی یابی کل ژنوم. مجله علوم دامی ایران ۴۷ (۲)، ۲۷۱-۲۷۷.
- امیری قنات سامان زینب، اسمعیلی زاده کشکوئیه علی، اسدی فوزی مسعود (۱۳۹۸) شناسایی ایندلها در ژنوم سگ و گرگ بومی ایران با روش توالی یابی کل ژنوم. مجله ژنتیک نوین ۱۴ (۱)، ۸۸-۸۵.
- محمدی فر آمنه، فقیه ایمانی سید علی، محمد آبادی محمد رضا، سفلائی محمد (۱۳۹۲) تاثیر ژن TGFB3 بر ارزشهای فنوتیپی و ارثی صفات وزن بدن در مرغ بومی فارس. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۵ (۴)، ۱۲۵-۱۳۶.

References

- Abadi MRM, Askari N, Baghizadeh A, Esmailizadeh AK (2009) A directed search around caprine candidate loci provided evidence for microsatellites linkage to growth and cashmere yield in Rayini goats. *Small Rumin Res* 81, 146-151.
- Amiri Ghanatsaman Z, Esmailizadeh Koshkoiyeh A, Asadi Foz M (2016) Study of structural diversity of genome Iranian native dog and wolf with the method whole genome sequencing. *Iran J Anim Sci* 47, 271-277 (In Persian).
- Amiri Ghanatsaman Z, Esmailizadeh Koshkoiyeh A, Asadi Foz M (2019) Detection of deletions and insertions in genome of Iranian dogs and wolves with the method whole genome sequencing. *Mod. Genet* 14,85-88 (In Persian).
- Asadollahpour Nanaei H, Dehghani Qanatqestani M, Esmailizadeh A (2020) Whole-genome resequencing reveals selection signatures associated with milk production traits in African Kenana dairy zebu cattle. *Genomics* 112, 880-5.
- Bainbridge MN, Wang M, Wu Y et al. (2011) Targeted enrichment beyond the consensus coding DNA sequence exome reveals exons with higher variant densities. *Genome Biol* 12, 68.
- Cingolani P, Platts A, Wang LL et al. (2012) A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms, snpeff: SNPs in the genome of *Drosophila melanogaster* strain w1118; iso-2; iso-3. *Fly* 6, 80-92.
- Collins DW, Jukes TH (1994) Rates of transition and transversion in coding sequences since the human-rodent divergence. *Genomics* 20, 386-396.

- Da Silva JM, Giachetto PF, da Silva LOC et al. (2015) Genomic variants revealed by invariably missing genotypes in Nelore cattle. *Plos One* 10, 0136035.
- Danecek P, Auton A, Abecasis G et al. (2011). The variant call format and vcftools. *J. Bioinform.* 27, 2156-2158.
- Eskandari T, Esmailizadeh AK, Mohammadabadi MR, Sohrabi S (2018) Identification of single nucleotide polymorphisms in Fars native chicken using whole genome sequencing data. *J. Agric. Biotech* 10, 139-151 (In Persian).
- Fulton JE (2012) Genomic selection for poultry breeding. *Anim Front.* 2, 30-36.
- Gray IC, Campbell DA, Spurr NK (2000) Single nucleotide polymorphisms as tools in human genetics. *Hum. Mol. Genet* 9, 2403-2408.
- Guo Y, Li J, Li CI et al. (2012) The effect of strand bias in Illumina short-read sequencing data. *BMC Genomics* 13, 666.
- Hillel J, Granevitze Z, Twito T et al. (2007) Molecular markers for the assessment of chicken biodiversity. *World Poult SCI J* 63, 33-45.
- Karimi K, Strucken EM, Moghaddar N et al. (2016) Local and global patterns of admixture and population structure in Iranian native cattle. *BMC Genet*, 17,108.
- Kerstens HHD, Crooijmans RPMA, Veenendaal A et al. (2009) Large scale single nucleotide polymorphism discovery in unsequenced genomes using second generation high throughput sequencing technology: applied to turkey. *BMC Genomics*, 10, 479-10.
- Kijowski J, Niewiarowicz A (1978) Emulsifying properties of proteins and meat from broiler breast muscles as affected by their initial pH values. *J Food Technol* 13, 451-459.
- Kilian B, Graner A (2012) NGS technologies for analyzing germplasm diversity in genebanks. *Brief Funct Genomics* 11, 38-50.
- Li D, Li Y, Li M et al. (2019) Population genomics identifies patterns of genetic diversity and selection in chicken. *BMC genomics* 20, 263.
- Li G, Ma L, Song C et al. (2009) The YH database: the first Asian diploid genome database. *Nucleic Acids Res.* 37, 1025-1028.
- Li H, Durbin R (2009) Fast and accurate short read alignment with burrows-wheeler transform. *J. Bioinform* 25, 1754-1760.
- Li H, Handsaker B, Wysoker A et al. (2009) The sequence alignment/map format and sam tools. *J. Bioinform* 25, 2078-2079.
- Lin BZ, Sasazaki S, Mannen H (2018) Genetic diversity and structure in *Bos taurus* and *Bos indicus* populations analyzed by SNP markers. *Ani Sci J* 81, 281-289.

- McKenna A, Hanna M, Banks E et al. (2010) The genome analysis toolkit, a mapreduce frame work for analyzing next-generation dna sequencing data. *Genome Res* 20, 1297-1303.
- Moazeni S, Mohammadabadi MR, Sadeghi M et al. (2016a) Association between UCP Gene Polymorphisms and Growth, Breeding Value of Growth and Reproductive Traits in Mazandaran Indigenous Chicken. *Open J. Anim. Sci* 6, 1-8.
- Moazeni SM, Mohammadabadi MR, Sadeghi M et al. (2016b) Association of the melanocortin-3(MC3R) receptor gene with growth and reproductive traits in Mazandaran indigenous chicken. *J. Livest. Sci. Technol* 4, 51-56.
- Mohammadabadi MR, Nikbakhti M, Mirzaee HR et al. (2010) Genetic variability in three native Iranian chicken populations of the Khorasan province based on microsatellite markers. *Russ J Genet* 46, 505-509.
- Mohammadifar A, Faghih Imani SA, Mohammadabadi MR, Soflaei M (2014) The effect of TGFb3 gene on phenotypic and breeding values of body weight traits in Fars native fowls. *J. Agric. Biotech* 5, 125-136 (In Persian).
- Mohammadifar A, Mohammadabadi MR (2017) The Effect of Uncoupling Protein Polymorphisms on Growth, Breeding Value of Growth and Reproductive Traits in the Fars Indigenous Chicken. *Iran J Appl Anim Sci* 7, 679-685.
- Nosrati M, Asadollahpour Nanaei H, Amiri Ghanatsaman Z, Esmailizadeh A (2019) Whole genome sequence analysis to detect signatures of positive selection for high fecundity in sheep. *Reprod Domest Anim* 54, 358-64.
- Ramos AM, Crooijmans RPMA, Affara NA et al. (2009) Design of a High Density SNP Genotyping Assay in the Pig Using SNPs Identified and Characterized by Next Generation Sequencing Technology. *PLoS One* 4, e6524.
- Ryman N, Utter F, Laikre L (1995) Protection of intraspecific biodiversity of exploited fishes. *Rev Fish Biol Fish* 5, 417-446.
- Sawai H, Kim HL, Kuno K et al. (2010) The Origin and Genetic Variation of Domestic Chickens with Special Reference to Junglefowls *Gallus g. gallus* and *G. varius*. *PLoS One* 5, e10639.
- Shahdadnejad N, Mohammadabadi MR, Shamsadini M (2016) Typing of *Clostridium Perfringens* Isolated from Broiler Chickens Using Multiplex PCR. *Genet the 3rd millennium* 14, 4.
- Stothard P, Choi J-W, Basu U et al. (2011) Whole genome resequencing of black Angus and Holstein cattle for SNP and CNV discovery. *BMC Genomics* 12, 559-570.

- Suh Y, Vijg J (2005) SNP discovery in associating genetic variation with human disease phenotypes. *Mutat Res.* 573, 41-53.
- You F, Huo N, Deal K et al. (2011) Annotation-based genome-wide SNP discovery in the large and complex *Aegilops tauschii* genome using next-generation sequencing without a reference genome sequence. *BMC Genomics* 12, 59.
- Zandi E, Mohammadabadi MR, Ezzatkah M, Esmailizadeh AK (2014) Typing of Toxigenic Isolates of *Clostridium Perfringens* by Multiplex PCR in Ostrich. *Iran J Appl Anim Sci* 4, 509-514.

