Archive of

Shahid Bahonar University of Kerman
Agricultural Biotechnology Journal
Iranian Biotechnology Society
Print ISSN: 2228-6705 Online ISSN: 2228-6500

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 Esmailizadeh

*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

www.SID.ir

Archive of SID

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

www.SID.ir

Archive of SID

شناسایی تنوع ژنوم در مرغ مرندی با استفاده از روش توالی یابی کل ژنوم

رسول اکبری

دانش آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد دام، بخش مهندسی علوم دامی، دانشکدهٔ 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، دانشکدهٔ 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، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران و عضو انجمن پژوهشگران جوان، دانشگاه شهید باهنر کرمان. تلفن: ۰۹۳۶۲۸۸۹۶۲۹، ایمیل: z_amiri60@yahoo.cm

احمد ایت اللهی مهرجردی

دانشیار بخش مهندسی علوم دامی، دانشکدهٔ 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 مرندی با استفاده از تکنیک توالی‌یابی کل ژنوم بررسی شد.

www.SID.ir

Archive of SID

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 برنامهٔ BWA با ژنوم مرجع (Gallus_gallus-5.0/galGal5) همردیف شدند. چندریختی‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNPs) و حذف و اضافه‌های کوچک ژنوم با برنامهٔ GATK شناسایی شدند. مستندسازی چند-ریختی‌های تک نوکلئوتیدی و حذف و اضافه‌های کوچک ژنوم با برنامهٔ 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 ۷X بود. در این پژوهش ۸۶۷۹۹۹۰ چندریختی تک نوکلئوتیدی 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 تک نوکلئوتیدی شناسایی شده برای ژنوم چهار مرغ به ترتیب ۰/۳۳ و ۰/۳۵ بود.

نتیجه‌گیری: نتایج مستندسازی نشان داد که درصد چندریختی‌های تک نوکلئوتیدی خاموش (۷۴/۶۴ درصد) بیشتر از درصد چندریختی‌های تک نوکلئوتیدی غیرمترادف (بد معنی و بی معنی، ۲۵/۳۶ 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.

واژه های کلیدی: توالی‌یابی کل ژنوم، چند ریختی‌های 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 باستان شناسی 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، منشائ این نژاد شهرستان مرند در استان

www.SID.ir

Archive of SID

آذربایجان شرقی است. SNPs فراوان‌ترین منبع تنوع ژنتیکی داخل ژنوم هستند و با تفاوت‌های ارثی 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. 2020., Nosrati et al. 2019) 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[1] 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. 1978; Lin et al. 2010; Ryman et al. 1995). 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. 2016; Moazeni et al. 2016a; Moazeni et al. 2016b)، اما تا کنون تنوع ژنومی در مرغ مرندی 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 مرندی است.

مواد و روش‌ها

از چهار مرغ نژاد مرندی در استان آذربیجان 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-

[1]. Dwarf Chicken

Agricultural Biotechnology Journal; Printing ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

www.SID.ir

Archive of SID

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-5.0/galGal5) از الگوریتم MEM در برنامه BWA-0.7.17[۳] (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 پایهٔ موقعیت ژنگانی مرتب و ایندکس[۶] شدند. کیفیت BAM فایل‌ها توسط دو پارامتر درصد همردیفی Short read باژنوم 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) وحذف و اضافه‌های کوچک (Indels Small) توسط برنامه GATK3.4-46-gbc02625[۹] (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 مرندی به منظور مطالعه و شناسایی چندریختی‌های تک نوکلوتیدی وحذف واضافه‌های کوچک توالی‌یابی گردید. نتایج کنترل کیفیت داده‌ها نشان داد که Short Reads دارایی 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/lnfo/Index) بود. میزان پوشش‌دهی توالی‌های کوتاه باژنوم مرجع از X ۶/۲۸ تا ۷/۵۷X متغییر است (جدول ۱).

---

۱. Alignment
۲. Genome Reference
۳. Burrows-Wheeler Aligner
۴. Sequence Alingnment MA
۵. Binary Alingnment MA
٦. Index
۷. Coverage
۸. Mark duplicates
۹. Genome Analysis Toolkit
۱۰ Annotation

Agricultural Biotechnology Journal; Printing ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

www.SID.ir

جدول ۱. خروجی توالی‌یابی برای چهار نمونه

Table 1. Sequencing output for four samples

نام نمونه Sample name	تعداد توالی‌های کوتاه Number of short reads	طول توالی‌های کوتاه Short reads length	درصد همردیفی Alignment Percent	میانگین عمق Mean depth
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 تعداد۸/۷ میلیون چندریختی تک‌نوکلئوتیدی ازچهار ژنوم مرغ مرندی بدست آمد (جدول ۲). تعداد چند ریختی‌های تک نوکلئوتیدی هتروزیگوس بیشتر از تعدادچندریختی‌های تک نوکلئوتیدی هموزیگوس درنمونه‌ها 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 Sample name	تعداد SNPs قبل از فیلتر کردن Number of raw SNPs	تعداد SNPs بعد از فیلتر کردن Number of filtered SNP	تعداد INDELs Number of Indels
Marandi 49S	6966231	6026921	698197
Marandi 50S	7003139	6083366	715145
Marandi 51S	6729058	5852211	691528
Marandi 52S	6736580	5860997	692070
Total	10416121	8679990	911095

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳. شمار خالصی و ناخالصی

Table 3. Number of homozygous and hetrozygous

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

نسبت جهش‌های انتقالی[1] به متقاطع[2] در چندریختی‌های تک نوکلئوتیدی از۲/۳۷۲ تا۳۷۶/ متغییر است (جدول ۴). به علت مکانیسم‌های مولکولی ایجاد کننده جهش‌ها در مولکول DNA، تعداد چند ریختی‌های تک‌نوکلئوتیدی 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 می شود) 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[3]) 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 تک‌نوکلئوتیدی است.

نتایج مستندسازی چند ریختی‌های تک نوکلئوتیدی نشان دادند که بیشتر چند ریختی‌های تک نوکلئوتیدی در نواحی بین ژنی واینترون واقع شده اند. ازتعدادکل چندریختی‌های تک نوکلئوتیدی۲۹/۲۹، ۴۹/۰۲، ۱/۷۸، ۰/۷۶۱، ۹/۷۱، ۹/۴۹، ۰/۴۲۵، ۰/۰۸۴درصد از آنها به ترتیب درنواحی بین ژنی، اینترون، اگزون، ترنسکریپت، بالادست، پایین دست، 3' UTR و 5' UTR

[1]. Transition
[2]. Transversio
[3]. False positive ratio

www.SID.ir

Archive of SID

قرارگرفتند (جدول۵). همچنین تعدادکل جهش‌های مترادف[1] (چندریختی‌های تک نوکلئوتیدی خاموش یاSilent) بیش تر ازتعدادکل جهش‌های غیر مترادف[2] (چند ریختی‌های تک نوکلئوتیدی بدمعنی وبی‌معنی) است (جدول ۶). تعداد کل ۹۱۱۰۹۵ حذف واضافه کوچک درسراسرکل ژنوم نمونه‌ها شناسایی شد (جدول ۲). نتایج مستندسازی حذف واضافه‌های کوچک نشان داد که بیشترحذف و اضافه‌های کوچک در نواحی بین ژنی و اینترون واقع شده‌اند و ازتعدادکل حذف واضافه‌های کوچک ۲۹/۵۶۲، ۵۱/۲۱۲، ۰/۹۰۹، ۰/۰۰۱، ۸/۴۱، ۹/۰۷۱، ۰/۵۴۸، ۰/۰۴۴درصد ازآنها در نواحی بین‌ژنی، اینترون، اگزون، ترنسکریپت، 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 مرندی 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 می توان اشاره کرد.

جدول ٤. شمار جهش‌های انتقالی و متقاطع در چند ریختی‌های تک نوکلئوتیدی

Table 4. Number of transition and transversion mutations in SNPs

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

[1]. synonymous
[2] nonsynonymous

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵. شمار اثر گذاری‌های چندریختی‌های تک نوکلئوتیدی وحذف و اضافه‌های 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 اضافه‌های کوچک Indels	چند ریختی‌های تک نوکلئوتیدی SNPs	نوع Type
149955 (9.071٪)	1462166 (9.496٪)	پایین دست Downstream
15020 (0.909٪)	274595 (1.7 83٪)	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

Agricultural Biotechnology Journal; Printing ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

www.SID.ir

جدول ٦. شمار اثر گذاری‌های چندریختی تک نوکلئوتیدی با دسته عملکردی

Table 6. Number of SNP effects by functional class

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

جدول ۷. مقادیر تنوع ژنتیکی محاسبه شده برای چندریختی‌های تک نوکلئوتیدی

Table 7. Calculated genetic diversity values for SNPs

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

نتیجه‌گیری: ژنوم چهار قطعه مرغ از نژاد مرندی با استفاده از تکنیک توالی‌یابی کل ژنوم با میانگین عمق پوشش ۷X ، برای اولین بار توالی‌یابی شد. تعداد ۸/۷ میلیون چندریختی‌تک‌نوکلئوتیدی و ۹/۱ میلیون حذف و اضافه کوچک از ژنوم چهار قطعه مرغ مرندی استخراج شد. بسیاری از این واریانت‌های ژنومی با صفات اقتصادی مرتبط هستند که می‌توانند در پروژه‌های بعدی شناسایی، و در برنامه‌های اصلاح نژادی طیور بکار روند.

www.SID.ir

Archive of SID

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 توالی‌یابی 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، سفلایی 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 Fozi 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 Fozi 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. Genomics112, 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.

www.SID.ir

Archive of SID

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.

www.SID.ir

Archive of SID

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.

www.SID.ir

Archive of SID

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, Ezzatkhah M, Esmailizadeh AK (2014) Typing of Toxigenic Isolates of Clostridium Perfringens by Multiplex PCR in Ostrich. Iran J Appl Anim Sci 4, 509-514.

www.SID.ir

Archive of SID

Agricultural Biotechnology Journal; Printing ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

www.SID.ir