دوفصلنامه ترویجی
علوم و فنون دامپروری
شماره ۴۵، بهار و تابستان ۱۴۰۳
ص‌ص: ۵۱~۶۲

استفاده از فنآوری تعیین ژنوتیپ و مطالعات ژنومی جهت حفظ ذخایر ژنتیکی و تنوع نژادی

* جواد رحمانی‌نیا[1*]، عاطفه سیددخت دهبار[2]
۱- مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
۲- بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت : خرداد ۱۴۰۳ تاریخ پذیرش : مرداد ۱۴۰۳
شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۵۱۰۱۹۵۲۱
Email: Javad_rahmaninia@yahoo.com

شناسه دیجیتال (DOI):10.22092/ AASRJ.2022.358288.1245

چکیده

بشر امروز شاهد انقراض بسیاری از گونه‌های گیاهی و جانوری و یا از میان رفتن تنوع ژنتیکی آنهاست و لذا همه دست‌اندرکاران و متولیان چه در حوزه‌های کشاورزی و دامپروری و چه در بخش محیط‌زیست توجه ویژه خود را به وضعیت تنوع ژنتیکی و حفظ آن معطوف داشته‌اند. در حوزه دام نیز در سالهای اخیر و با گسترش نژادهای اصلاح شده، شدت انتخاب زیاد شده و شاهد کاهش اندازه مؤثر جمعیت در بسیاری از نژادها هستیم که چنین رخدادی سبب کاهش یافتن تنوع ژنتیکی می‌شود. پیش از این محققین از شجره برای برآورد پارامترهای تنوع ژنتیکی استفاده می‌کردند اما در طول دهه‌های گذشته، توسعه نشانگرهای ژنومی نیز در این امر به یاری آنها آمده به‌گونه‌ای که تنوع ژنتیکی با دقت بیشتر برآورد شده و انتخاب و همچنین اولویت‌بندی دام‌ها برای حفظ منابع ژنتیکی بهبود یافته است. این مقاله، به بررسی فرآیند تکامل نشانگرهای ژنومی در دامپروری پرداخته و سپس فن‌آوری‌هایی را که بر مبنای مطالعه ژنوم، امکان برآورد و حفظ تنوع ژنتیکی دام را فراهم می‌نمایند، معرفی خواهد نمود.

واژه‌های کلیدی: نشانگرهای ژنتیکی، تنوع، حفاظت نژادی

بیان مسأله

بخش قابل توجهی از جمعیت جهان به دام وابسته هستند، اما بسیاری از نژادهای بومی دام در خطر انقراض قرار دارند (عزیزی و همکاران، ۱۴۰۰). این نژادها به‌سرعت با نژادهای اصلاح شده وارداتی جایگزین می‌شوند. در پاسخ به این چالش، برخی کشورها کمیسیون‌هایی برای مدیریت پایدار تنوع ژنتیکی دامی و مقابله با مسائل جهانی مانند تغییرات آب و هوایی و بیماری‌های نوظهور ایجاد کرده‌اند. تنوع ژنتیکی به تفاوت‌های ژنتیکی بین گونه‌ها و نژادها اشاره دارد که در فنوتیپ حیوانات مشاهده می‌شود (رحمانی نیا، ۱۳۹۴؛ عزیزی و همکاران، ۱۴۰۰). حفظ این تنوع برای جلوگیری از اثرات بوم‌شناختی و اقتصادی فاجعه‌بار ضروری است. بررسی تنوع ژنتیکی به درک رویدادهای ژنتیکی و شناخت اجداد، مهاجرت، اختلاط جمعیتی و انزوای ژنتیکی کمک می‌کند و برای حفاظت از منابع ژنتیکی و نژادهای بومی اهمیت دارد (رحمانی نیا، ۱۳۹۴؛ عزیزی و همکاران، ۱۴۰۰). مولفه‌های تنوع ژنتیکی مانند ضریب همخونی و ضریب همتباری که قبلاً از طریق شجره محاسبه می‌شدند (Jansson and Laikre, 2018)، در نژادهای بومی به دلیل محدودیت‌ها اغلب قابل استفاده نیستند. شجره فرض می‌کند که حیوانات بنیان‌گذار غیرخویشاوند هستند، اما این فرض همیشه صحیح نیست و عدم وجود شجره در جمعیت‌های منشعب تخمین روابط ژنتیکی را دشوار می‌کند. باوجود این محدودیت‌ها، شجره همچنان ابزار مهمی برای تجزیه و تحلیل ژنتیکی، بررسی نقشه ژنی، و ارزیابی ساختار جمعیت پیش از تعیین ژنوتیپ است (Cortés et al., 2019).

این مطالعه به بررسی تاریخچه و سیر تکامل ابزارهای ژنومی می‌پردازد و سپس معیارهای مختلف اندازه‌گیری تنوع ژنومی، از جمله هتروزیگوسیتی، عدم تعادل پیوستگی و رشته‌های هموزیگوت ژنومی را تحلیل می‌کند. در نهایت، استراتژی‌های اندازه‌گیری تنوع ژنومی را بر اساس توالی‌یابی نسل بعدی و ویرایش ژنوم مورد بحث قرار می‌دهد.

بررسی منابع علمی

۱-مرور مطالعات مربوط به تاریخچه تعیین ژنوتیپ و آشکارسازی ژنوم و بررسی تنوع در سطح ژنوم

ژنوم یوکاریوت‌ها دارای تنوع زیادی در توالی DNA است که به چندشکلی‌ها معروف است. بررسی چندشکلی‌ها برای درک تاریخچه و تکامل جوامع ضروری است. پیشرفت‌های ژنتیک مولکولی منجر به توسعه فناوری‌های متعددی برای مطالعه ساختار جوامع با استفاده از نشانگرهای ژنتیکی شده است. دسترسی به تعداد زیادی از این نشانگرها برای کشف ساختار جامعه و شناسایی QTLهای مؤثر بر صفات اقتصادی اهمیت دارد. در این میان، ریزماهواره‌ها وSNP ها رایج‌ترین نشانگرهای DNA هستند.

پیشرفت‌های ژنتیک مولکولی امکان مطالعه مستقیم و کمی‌سازی تنوع ژنومی را بدون نیاز به شجره فراهم کرده است. این روش‌ها دقت بیشتری در برآورد تغییرات ژنتیکی بین و درون نژادها و جمعیت‌ها دارند. نشانگرهای ژنتیکی به عنوان ابزارهای قدرتمند، امکان ارتباط بین تنوع ژنومی و صفات قابل توارث را فراهم کرده و در تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی و بررسی منشأ و تاریخچه جوامع دامی اهمیت دارند (Fernández et al., 2013).

۱-۱-آشنایی با مفهوم نشانگرهای ژنتیکی

تنوع بین موجودات زنده ناشی از تنوع در توالی‌های DNA و تأثیرات محیطی است. هر فرد از یک گونه، به جز دوقلوهای مونوزیگوت، دارای توالی DNA منحصر به فردی است. این تنوع می‌تواند به تغییرات نوکلئوتیدی (SNP) و تغییرات ساختاری مانند الحاق یا حذف قطعات DNA تقسیم شود. تنوع ژنتیکی به دو دسته خنثی و عملکردی تقسیم می‌شود. جهش‌ها در توالی‌های کدکننده می‌توانند ترکیب اسیدآمینه پروتئین‌ها را تغییر دهند و بر کارآیی متابولیک تأثیر بگذارند. همچنین، جهش‌ها در نواحی تنظیمی می‌توانند الگوهای بیان ژن را تغییر دهند. رمزگشایی توالی DNA برای تحقیقات بیولوژیکی ضروری است. با پیشرفت تکنیک‌های توالی‌یابی مانند الکتروفورز موئین،

اطلاعات ژنتیکی به‌دست آمده، اما محدودیت‌هایی در سرعت و دقت وجود دارد که نیاز به فناوری‌های جدید را آشکار می‌سازد. شناخت و استفاده از ریزماهواره‌ها در دهه ۹۰ میلادی به‌طور گسترده‌ای در بررسی انساب، تشخیص هویت و تخصیص نژادی در دامپروری و مطالعات تنوع ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفت. توسعه نقشه‌های موقعیت ژنتیکی این نشانگرها، امکان برآورد اثرات ژنتیکی افزایشی و شناسایی مکان ژنی کمّی (QTL) را در گونه‌های دام فراهم کرد و به پیشرفت در بررسی تنوع ژنتیکی منجر شد (Erickson et al., 2004). با وجود مزایای ریزماهواره‌ها، از جمله چندشکلی بالا و پراکنش مناسب در ژنوم، نتایج به‌دست‌آمده از آزمایشگاه‌های مختلف به دلیل اشتباهات در تعیین اندازه و فراخوانی آلل‌ها قابل مقایسه نیستند. همچنین، تجزیه‌وتحلیل ریزماهواره‌ها، حتی با وجود نرم‌افزارهای موجود، زمان‌بر است (Fernández et al., 2013) (جدول۱).

روش توالی‌یابی نسل بعدی (NGS) به‌طور قابل توجهی در استخراج اطلاعات ژنتیکی از موجودات زنده، آشکارسازی ژنوم، ترانسکریپتوم و اپیژنوم تأثیر گذاشته و پیشرفت‌های زیادی را در زیست‌فناوری و علوم تکاملی ایجاد کرده است (Seo et al., 2014). این فناوری با پردازش موازی میلیون‌ها قطعهDNA ، امکان توالی‌یابی سریع و کارآمد را فراهم می‌کند و می‌تواند چندین گیگابایت اطلاعات را در یک بار توالی‌یابی تولید کند.در این روش، DNAژنومی به قطعات کوچک تقسیم می‌شود که به‌طور یکنواخت در میلیون‌ها واکنش توالی‌یابی می‌شوند. سپس این خوانش‌ها با استفاده از یک ژنوم مرجع یا به‌صورت دی نوو، دوباره مونتاژ می‌شوند تا توالی کامل هر کروموزوم آشکار شود (Niedringhaus et al., 2011). امروزه داده‌های خروجی توالی‌یابی نسل بعدی (NGS) به‌طور قابل توجهی افزایش یافته و ابزارهای مقیاس‌پذیر این فناوری به محققان این امکان را می‌دهد که با توجه به نیاز خود، حجم کمتری از اطلاعات را برای مطالعات خاص دریافت کنند. اصطلاح "پوشانندگی" به متوسط تعداد خوانش‌های توالی که برای هر باز در نمونه DNA هم‌تراز می‌شوند، اشاره دارد. به‌عنوان مثال، پوشانندگی ۳۰X به این معناست که به‌طور متوسط هر باز در ژنوم با ۳۰ خوانش پوشانده شده است. پوشانندگی‌های بسیار بالا، مانند X ۱۰۰۰ ، برای شناسایی جهش‌های با فراوانی پایین مفید هستند (Hung and Hua, 2014).

پیشرفت‌های اخیر در توالی‌یابیDNA، تراشه‌های نشانگری، نرم‌افزارهای مرتبط و علم بیوانفورماتیک، استفاده از چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) را رایج کرده است. اگرچهSNPها به دلیل دو آللی بودن نسبت به ریزماهواره‌ها از نظر اطلاعات ژنتیکی ضعیف‌تر هستند و برای دستیابی به دقت مشابه به ۲ تا ۶ برابر نشانگر بیشتر نیاز دارند (Morin et al., 2004)، اما مزایای قابل توجهی دارند. این مزایا شامل فراوانی بیشتر، پایداری ژنتیکی در پستانداران، نام‌گذاری آسان و مناسب بودن برای تجزیه‌وتحلیل‌های خودکار و تفسیر نتایج است (جدول۱).

جدول ۱- مقایسه روش‌های اولیه و نوظهور تعیین توالی و استخراج اطلاعات ژنتیکی از موجودات زنده

روش	نشانگر پرکاربرد	مزایا	معایب
الکتروفورز موئین	ریزماهواره‌ها	-چندشکلی زیاد -آگاهی دهندگی مناسب نسبت به ژنوم -داشتن پراکنش مناسب در سراسر ژنوم	-اشتباهات در تعیین اندازه و فراخوانی اندازه آللی -غیر قابل مقایسه بودن نتایج در حالتی که تعداد یا زیرمجموعه‌های متفاوت ریزماهواره‌ها تعیین ژنوتیپ شده باشند -تجزیه‌وتحلیل زمان‌بر و طولانی
توالی یابی نسل بعدی (NGS)	چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی	-مقیاس‌پذیر بودن (به لحاظ منطقه‌ای خاص از ژنوم یا وضوح آن) -فراوانی بیشتر و به‌طور گسترده‌تر در سرتاسر ژنوم در دسترس هستند -پایداری ژنتیکی آن در پستانداران -نام‌گذاری آسان -سهولت تجزیه‌وتحلیل‌های خودکار -سهولت تفسیر نتایج	- دقت کمتر نسبت به ریزماهواره‌ها به دلیل دو آللی بودن

۱-۲-نژادها به عنوان واحدهای حفاظت

ظهور علم اصلاح نژاد در گیاهان و دامپروری و ثبت عملکرد و شجره، منجر به توسعه جمعیت‌های همگن‌تر و شناسایی اهداف اصلاحی مشخص در جمعیت‌های جغرافیایی جدا شده شد. این فرآیند نه تنها به تثبیت صفات خاص مانند رنگ پوشش بدن کمک کرد، بلکه میانگین صفات تولیدی را نیز افزایش داد. این تحولات باعث شکل‌گیری نژادهای متعدد با اهداف و کارکردهای مختلف و سطوح عملکردی متفاوت گردید.گونه‌های دام اهلی‌شده به زیرگروه‌های متمایز یا "نژادها" تبدیل شده‌اند که اساس حفاظت از تنوع ژنتیکی را تشکیل می‌دهند. نژاد به‌عنوان زیرگروهی از دام‌های اهلی با ویژگی‌های ظاهری مشخص و قابل شناسایی تعریف می‌شود و همچنین به‌عنوان گروهی که جدایی جغرافیایی یا فنوتیپی خاصی دارد، شناخته می‌شود. در زمینه تنوع، نژاد به‌عنوان واحدی برای حفاظت ژنتیکی در نظر گرفته می‌شود.

۲-آشنایی با معیارهای مختلف اندازه‌گیری تنوع ژنومی

۲-۱- آشنایی با مفهوم هتروزیگوسیتی (به عنوان برآوردگر تنوع ژنتیکی)

هتروزیگوسیتی مشاهده شده، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و تنوع آللی از جمله معیارهای اصلی تنوع ژنتیکی هستند که با استفاده از اطلاعات مولکولی برآورد می‌شوند. در این میان، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) که توسط Nei در سال ۱۹۷۳ معرفی شد، بیشتر مورد استفاده قرار گرفته است. هتروزیگوسیتی مورد انتظار به دو صورت تعریف می‌شود. الف؛ احتمال متفاوت بودن دو آلل تصادفی انتخاب شده از یک جمعیت و ب؛ نسبت افراد هتروزیگوت در جمعیتی که در تعادل هاردی-واینبرگ است، با همان فراوانی‌های آللی مشاهده شده در جمعیت واقعی. این پارامتر به محققان کمک می‌کند تا تنوع ژنتیکی را در جمعیت‌ها ارزیابی کنند.

$$H_E = 1 - \sum p^2$$

که در آن، p عبارتست از فراوانی همه آلل‌های متعلق به آن مکان ژنی است.

جمعیت‌هایی با هتروزیگوسیتی مورد انتظار بیشتر، به‌طور کلی از نظر ژنتیکی متنوع‌تر هستند و توانایی بیشتری برای سازگاری با تغییرات و پاسخ به انتخاب دارند. هتروزیگوسیتی مشاهده شده (HO) به فراوانی هتروزیگوت‌ها در یک جمعیت اشاره دارد و افت ناشی از همخونی به کاهش عملکرد یک صفت به دلیل ظهور آلل‌های مغلوب مضر در افراد هموزیگوت گفته می‌شود. بین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و افت ناشی از همخونی همبستگی منفی وجود دارد (Poyato-Bonilla et al., 2020). به‌طور معمول، جمعیت‌های طبیعی به دلیل محدودیت تعداد، در تعادل هاردی-واینبرگ نیستند، بنابراین روابط بین هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده می‌تواند کاهش هتروزیگوسیتی را نشان دهد. برای برآورد همخونی، می‌توان از ضریب همخونی (F_{IS}) استفاده کرد که با تفریق هتروزیگوسیتی مورد انتظار از هتروزیگوسیتی مشاهده شده و تقسیم آن بر هتروزیگوسیتی مورد انتظار محاسبه می‌شود.ریزماهواره‌ها و نشانگرهای SNP برای برآورد تنوع و روابط ژنتیکی بین نژادها به کار می‌روند. یکی از معایب اصلی ریزماهواره‌ها، دشواری در مقایسه نتایج زمانی است که تعداد یا زیرمجموعه‌های متفاوتی از ریزماهواره‌ها تعیین ژنوتیپ شده‌اند. این مشکل با توسعه نشانگرها و افزایش تعداد آنها در دام‌های اهلی کاهش یافته است.

نشانگرهای SNP به تدریج جایگزین ریزماهواره‌ها شدند، زیرا این نشانگرها به‌طور گسترده‌تری در سرتاسر ژنوم در دسترس هستند و ارزیابی دقیق‌تری از تنوع ژنتیکی ارائه می‌دهند (Roques et al., 2019). شناسایی مناطق خاص با تنوع بیشتر یا کمتر بر اساس SNP های منفرد یا میانگین پارامترهای تنوع در کل ژنوم ممکن است دشوار باشد. برای این منظور، می‌توان هتروزیگوسیتی مورد انتظار را با استفاده از پنجره‌های خزنده (sliding windows) که شامل تعداد مشخصی از نشانگرها هستند، برآورد کرد (D'ambrosio et al., 2019). این روش به شناسایی نقاطی که برای حفاظت ژنتیکی اهمیت دارند، مانند مناطقی با تنوع کاهش یافته یا در حال از بین رفتن، کمک می‌کند. همچنین، این رویکرد قادر به تمایز بین مناطق مرتبط با تنوع صفات و تنوع غیرعملکردی است و می‌تواند برای انتخاب حیواناتی که باید در بانک‌های ژن حفظ شوند، مورد استفاده قرار گیرد.

اگرچه اکثر SNP ها در مناطق غیرکدکننده قرار دارند، برخی از آنها در مناطقی واقع شده‌اند که بر صفات مورد نظر تأثیر می‌گذارند. این ویژگی می‌تواند به‌عنوان معیاری برای تنوع ژنتیکی غیرخنثی استفاده شود. این اطلاعات را می‌توان در برنامه‌های حفاظتی برای حفظ تنوع ژنتیکی و بهبود عملکرد در صفات مرتبط با شایستگی و بقای جمعیت به کار برد.تنوع ژنتیکی معمولاً با استفاده از شجره و بر اساس ضریب همخونی و خویشاوندی برآورد می‌شود؛ در این روش، حیواناتی که کمترین ارتباط شجره‌ای دارند برای اهداف حفاظتی انتخاب می‌شوند و این رویکرد به عنوان "روش مشارکت بهینه" شناخته می‌شود (Wellmann, 2019). با این حال، اطلاعات شجره معایبی مانند صحت پایین و عدم در نظرگیری تنوع نمونه‌گیری مندلی دارند. توسعه تراشه‌های SNP امکان ژنوتیپ‌کردن تعداد زیادی از تفاوت‌های تک نوکلئوتیدی را فراهم کرده و برآوردهای دقیق‌تری از تنوع ژنتیکی در کل ژنوم ارائه می‌دهد. تفاوت کلیدی بین تنوع مبتنی بر شجره و نشانگر مولکولی در این است که در شجره، همه آلل‌ها به عنوان غیر یکسان اجدادی فرض می‌شوند، در حالی که در نشانگرهای مولکولی، آلل‌های یکسان از نظر جایگاه (IBS) به عنوان یکسان اجدادی (IBD) در نظر گرفته می‌شوند.

تنوع مبتنی بر شجره تنها از اجداد اخیر و ثبت‌شده منعکس می‌شود، در حالی که تنوع مبتنی بر نشانگر با مقیاس‌های متفاوتی برآورد می‌شود. ترکیب منابع مختلف اطلاعات در برنامه‌های حفاظتی بسیار مفید است. در صورت دسترسی به اطلاعات شجره، ابتدا حیواناتی که کمترین ارتباط را دارند شناسایی می‌شوند. سپس، با تعیین ژنوتیپ آن‌ها از طریق تراشه‌های SNP با چگالی بالا و تجزیه و تحلیل سهم بهینه، می‌توان حیواناتی که بیشترین

سهم را در تنوع ژنتیکی جمعیت دارند، شناسایی کرد.از آنجایی کهSNPها نماینده‌ای از کل ژنوم هستند، می‌توان حیوانات منتخب را برای شناسایی آلل‌های مطلوب مرتبط با صفات مدنظر یا آلل‌های غیرعملکردی توالی‌یابی کرد (جدول۲).

جدول۲- مقایسه برآورد تنوع ژنتیکی با استفاده از شجره و با استفاده از نشانگرهای ژنتیکی

روش	*نتیجه*
شجره	-در این روش حیواناتی که کمترین ارتباط شجره‌ای را دارا باشند، برای اهداف حفاظتی انتخاب می‌شوند. - صحت اندک -عدم درنظرگیری تنوع نمونه‌گیری مندلی -همه آلل ها به عنوان غیر یکسان اجدادی (IBD) فرض می‌شوند -تنوع را فقط با استفاده از اجداد اخیر و اجدادی که ثبت شده باشند منعکس می‌کند
نشانگر	-برآوردهای جدید و دقیق‌تری از تنوع موجود در کل ژنوم با استفاده از مناطق ژنومی خاصی -شناسایی تفاوت‌ها در تنوع برای مناطق خاصی از کروموزوم -همه آلل‌هایی که از نظر جایگاه یکسان هستند (IBS)، یکسان اجدادی (IBD) فرض می‌شوند -اندازه گیری تنوع ژنتیکی غیرخنثی بوسیله SNPهای یافت شده در مناطقی که بر صفات مدنظر تأثیر می‌گذارند -انتخاب دقیق حیوانات برای حفظ تنوع در بانک ژن -لحاظ کردن جمعیت های بنیانگذار

۲-۲- مفهوم عدم تعادل پیوستگی

عدم تعادل پیوستگی (LD) به ارتباط غیرتصادفی بین آلل‌ها در جایگاه‌های ژنی مختلف اشاره دارد که منجر به فراوانی بیشتر هاپلوتیپ‌های خاص می‌شود. LD ، نتیجه پدیده‌های ژنتیکی مانند انتخاب، جهش، رانش و آمیزش غیرتصادفی است و می‌تواند به دلایل غیرژنتیکی نیز ایجاد شود. میزان LD معمولاً با برآورد |'D| و r^2 اندازه‌گیری می‌شود و در نمونه‌های کوچک، |'D| ممکن است بیش از حد برآورد شود. r^2، همبستگی بین دو جایگاه ژنی است و در مطالعات ارتباطی بین صفت و نشانگر استفاده می‌شود. تحقیقات نشان داده‌اند که LD در جمعیت‌های دامی به دلیل اندازه جمعیت کوچک‌تر و انتخاب جهت‌دار قوی‌تر نسبت به جمعیت‌های انسانی بیشتر است (Bohmanova et al., 2010). وجود تراشه‌های SNP به تجزیه و تحلیل الگوهای LD در سراسر ژنوم کمک کرده و نرخ LD تحت انتخاب متعادل ممکن است در طول زمان کاهش یابد. این اطلاعات برای پایش انتخاب ژنومی، مطالعات GWAS و نقشه‌برداری QTL برای صفات پیچیده مفید هستند. انتخاب مثبت می‌تواند ساختار هاپلوتیپی قابل تشخیصی را حفظ کند و روش‌های آماری متعددی برای تشخیص انتخاب بر اساس الگوهای LD توسعه یافته‌اند(Uffelmann et al., 2021). تداوم فاز پیوستگی می‌تواند توضیح دهد که چرا پیوستگی بین یک نشانگر و یک QTLدر یک جمعیت شناسایی شده، همیشه در جمعیت دیگری تأیید نمی‌شود. همبستگی بین نشانگرهای SNP در فاصله یکسان می‌تواند با فرض یکسان بودن فاصله تا QTL برابر باشد، و این همبستگی اثرات نشانگر بین جمعیت‌ها را نشان می‌دهد (Biegelmeyer et al., 2016).

مطالعات نشان می‌دهند که با افزایش فاصله بین نشانگرها، عدم تعادل پیوستگی (LD) در بین آنها کاهش می‌یابد. الگوهای LD بین گونه‌ها نیز تفاوت‌های قابل توجهی دارند؛ به‌طور خاص، در

گوسفند و بز سطوح LD پایین‌تری نسبت به گاو مشاهده می‌شود (Mészáros, 2018) که احتمالاً به دلیل شدت انتخاب کمتر در این گونه‌ها است.عوامل متعددی مانند فراوانی آلل نشانگر، تاریخچه انتخاب، ساختار جمعیت، اندازه مؤثر، نوع و تراکم نشانگر، و معیار LD مورد استفاده بر الگوها و مقیاس LD تأثیر می‌گذارند. بنابراین، برای مقایسه مناسب بین مطالعات، باید روش‌های مورد استفاده و این عوامل را در نظر گرفت.اخیراً، الگوهای LD و اندازه مؤثر جمعیت (Ne) به دلیل ارتباط آنها با فرآیندهای جمعیتی مانند مهاجرت و اختلاط جمعیتی و تأثیرات آنها بر درک معماری ژنوم و اهداف حفاظتی مورد توجه قرار گرفته‌اند. روش‌های مختلف برای ارتباط بین LD و Ne و اندازه نمونه می‌توانند به‌طور قابل‌توجهی بر برآورد Ne تأثیر بگذارند و این نکته باید مد نظر قرار گیرد (Rahimmadar et al., 2021; Waples et al., 2016).

۲-۳-آشنایی با رشته های هموزیگوت ژنومی[1] (ROH) بعنوان معیاری جهت اندازه‌گیری همخونی

نتیجه آمیزش‌های فامیلی منجر به افزایش تشابه قطعات ژنومی در فرزندان به‌عنوان مناطق ژنومی یکسان اجدادی (IBD) می‌شود. نوترکیبی باعث قطع شدن قطعات بزرگ کروموزوم می‌شود، بنابراین طول این بخش‌های یکسان با نزدیک‌ترین اجداد مشترک مرتبط است. انتظار می‌رود که بخش‌های طولانی ژنومی یکسان از اجداد نزدیک‌تری نشأت گرفته باشند، در حالی که بخش‌های کوتاه‌تر از اجداد دورتر.استفاده از نشانگرهای ریزماهواره متراکم‌تر، شناسایی ژنوتیپ‌های هموزیگوت با رشته‌های طولانی را تسهیل کرده است. تراشه‌های SNP با تراکم بالا نیز امکان مطالعه الگوهای "رشته‌های پیوسته هموزیگوت (ROH) "را در سراسر ژنوم فراهم کرده‌اند. در جمعیت‌های غیرخویشاوند، تعداد ROHبا اندازه مؤثر جمعیت مرتبط است؛ جمعیت‌های کوچکتر دارای ROH بیشتری هستند، در حالی که جمعیت‌های بزرگتر ROHکمتری دارند. پس از وقوع گلوگاه جمعیتی، تعداد ROHافزایش و طول آنها کاهش می‌یابد.مطالعات متعددی برای بررسی تاریخچه جمعیتی و پیشنهاد استراتژی‌های مدیریت حفاظت نژادی، الگوی توزیع ROH در جمعیت‌های دام انجام شده است (Addo et al., 2021; Peripolli et al., 2018).

استفاده از داده‌های SNP برای حفظ ماده ژنتیکی و بررسی همزمان عدم تعادل پیوستگی (LD) و رشته‌های پیوسته هموزیگوت (ROH) می‌تواند به توسعه استراتژی‌های مدیریت نژادهای مختلف دامی کمک کند. با تحلیل این داده‌ها، نشانه‌های انتخاب در گاو، بز و گوسفند شناسایی می‌شود، زیرا انتخاب ژنتیکی به کاهش تنوع هاپلوتیپ‌ها منجر می‌شود و الگوهای ROHامکان شناسایی نواحی ژنومی در معرض انتخاب را فراهم می‌کند.تحلیل غنی‌سازی در این نواحی می‌تواند به شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفات اقتصادی در جمعیت‌های مختلف دام کمک کند (Chen et al., 2018; Wang et al., 2020). افزایش فراوانی افراد هموزیگوت به دلیل افزایش همخونی در جمعیت، می‌تواند اثرات مضر ژن‌های کشنده مغلوب را نشان دهد که به افت ناشی از همخونی معروف است و بر شایستگی جمعیت و صفات اقتصادی تأثیر می‌گذارد.برآورد ضریب همخونی (F) برای استراتژی‌های اصلاح نژادی بسیار مهم است. در حالی که معمولاً این ضریب با استفاده از داده‌های شجره برآورد می‌شود، برآوردهای حاصل از نشانگرهای SNP دقیق‌تر و با اریبی کمتر هستند. به همین دلیل، ROH به‌عنوان روشی کارآمد برای برآورد ضریب همخونی (F_{ROH}) پیشنهاد شده است، که به‌عنوان نسبتی از ژنوم درون این قطعات تعریف می‌شود و از اطلاعات مولکولی مبتنی بر هموزیگوسیتی مشاهده شده به‌دست می‌آید (Doekes et al., 2019; Makanjuola et al., 2020).

بر اساس گزارشات، همخونی اخیر در صفات تولید شیر نسبت به همخونی قدیمی مضرتر است (Doekes et al., 2018). با انتخاب و خالص‌سازی، فراوانی آلل‌های مضر کاهش می‌یابد، اما مطالعات نشان می‌دهند که رابطه بین طول ROH (رشته‌های پیوسته هموزیگوت) و افت ناشی از همخونی نتایج متفاوتی را ارائه می‌دهد (Ferenčaković et al., 2017). در حالی که برخی

1 - Runs of homozygosity = ROH

مطالعات در جمعیت‌های انسانی پیش‌بینی می‌کنند که ROH بلندتر تنوع‌های مضر بیشتری دارند (Szpiech et al., 2013)، در نژادهای گاو، ROHکوتاه و متوسط با ژن‌های مضر مرتبط هستند (Zhang et al., 2015). دقت برآوردهای ROH تحت تأثیر پارامترهای مختلفی قرار دارد، از جمله حداقل طول و تعدادSNP ، که تأثیر زیادی بر مقادیر F_{ROH} دارند. همچنین، چگالیSNP ها و نرخ نوترکیبی در ژنوم نیز بر تحلیل‌ها تأثیر می‌گذارند (Zhang et al., 2015). به‌طور کلی، مشاهده ROHدر مناطق با نرخ نوترکیبی متفاوت می‌تواند تاریخچه همخونی متفاوتی را نمایان کند، در حالی که به‌عنوان برآوردهای F_{ROH} برابر در نظر گرفته می‌شوند.

۳-آشنایی با روش های جدید اندازه‌گیری تنوع ژنومی

۳-۱-ظهور نسل جدید توالی یابی (NGS)

فن‌آوری‌های نسل جدید توالی‌یابی (NGS) امکان تحلیل جامع و نااریب پارامترهای تنوع ژنتیکی را فراهم می‌آورند و به‌جای تراشه‌هایSNP ، اطلاعات کاملی از ژنوم از جمله مکان‌های ژنی خنثی و مناطق کدکننده ارائه می‌دهند. این فناوری به برآورد دقیق‌تر پارامترهای جمعیتی مرتبط با انتخاب و سازگاری کمک می‌کند و علاوه بر تنوع نوکلئوتیدی، امکان شناسایی انواع دیگر پلی‌مورفیسم‌ها مانند تنوع تعداد تکرار (CNV) و جهش‌های سببی جدید مرتبط با صفات دام را فراهم می‌کند (Gross et al., 2018; Koboldt, 2020). تنوع‌های کمیاب ژنتیکی، که منبع مهمی از تغییرات ژنتیکی هستند، تحت تأثیر رانش ژنتیکی و انتخاب طبیعی یا مصنوعی ممکن است از بین بروند. با این حال، توجه کمی به حفاظت از این تنوع‌ها معطوف شده است. انتخاب حیوانات برای اهداف اصلاحی معمولاً بر اساس روابط ژنتیکی و ضرایب همخونی انجام می‌شود و حذف آلل‌های با فراوانی کمتر از ۵ درصد می‌تواند تأثیر قابل‌توجهی بر برآوردهای روابط ژنتیکی داشته باشد (Eynard et al., 2016). استفاده از روش‌هایی که به تنوع‌های نادر اهمیت می‌دهند، برای حفظ این تنوع‌ها ضروری است. کیفیت داده‌های توالی‌یابی و عمق توالی‌یابی بر دقت شناسایی تنوع‌های ژنتیکی تأثیر دارد و نسبت‌های خاصی برای ارزیابی کیفیتSNP ها از داده‌های توالی‌یابی استفاده می‌شود. هرچه این نسبت بزرگ‌تر باشد، دقتSNP های به‌دست‌آمده بالاتر خواهد بود.

توالی‌یابی کامل ژنوم و توسعه فن‌آوری‌های نسل جدید، امکان مطالعه ژنومی گونه‌های منقرض‌شده و نمونه‌های باستانی نژادهای فعلی دام را فراهم می‌کند. این فناوری همچنین به ردیابی فرآیند اهلی‌سازی دام‌هایی مانند اسب، بز و طیور از طریق تغییرات عملکردی ژن‌های مرتبط کمک می‌کند و به بررسی انحطاط و تخریب DNA باستانی در طول زمان می‌پردازد.تغییرات اپیژنتیکی و میکروبیوم‌ها نیز در تاریخچه تکاملی گونه‌ها مورد توجه قرار گرفته‌اند (Eynard et al., 2016). با پیشرفت و کاهش هزینه‌های دسترسی به فن‌آوری‌های تعیین ژنوتیپ، دیدگاه‌های جدیدی در حفظ تنوع ژنتیکی ارائه شده است. در توالی‌یابی کامل ژنومی(WGS)، تمام چندشکلی‌های موجود در ژنوم شناسایی می‌شود و اریبی که در تراشه‌های SNP به دلیل استفاده از نژادهای تجاری ایجاد می‌شود، کاهش می‌یابد. WGS، شامل اطلاعاتی درباره تنوع‌های نادر و جهش‌های مرتبط با آنهاست و نواحی ژنومی تحت فشار انتخاب را مشخص می‌کند (Bomba et al., 2017). در حالی که تراشه‌های SNP معمولاً تنوع‌های رایج را نمایان می‌سازند و قادر به حفظ واریانت‌های کمیاب نیستند، داده‌های WGS می‌توانند هر دو نوع تنوع را شناسایی کنند و فرصت‌های جدیدی برای برنامه‌های حفاظت از تنوع ژنتیکی، به ویژه در مورد تنوع‌های نادر، فراهم می‌آورند (Eynard et al., 2016).

جدول ۳- مقایسه دوروش نسل جدید توالی یابی (NGS) و توالی‌یابی کامل ژنومی (WGS)

روش	ویژگی یا محدودیت
NGS	- استفاده از تراشه‌های تجاری با قابلیت تعیین ژنوتیپ برای تعداد بی‌شماری نشانگر SNP - برای طراحی این تراشه‌ها از نژادهای شناخته شده تجاری استفاده می‌شود که سبب مقداری اریبی در نتایج حاصل در استفاده از این تراشه ها برای نژادهای بومی می‌شود - تراشه‌های SNP عموماً نمایانگر تنوع های رایج هستند و لذا حفظ تنوع‌ها و واریانت‌های کمیاب با این روش ممکن نیست
WGS	-در این روش تمام چندشکلی‌های موجود در ژنوم مشخص می‌شود لذا کاربرد آن در هر نوع نژادی (صرفنظر از بومی یا تجاری بودن) ناکارآمد خواهد بود. - حاوی اطلاعاتی در مورد تنوع‌های نادر و جهش‌های حاصل شده از آنهاست و مناطق ژنومی را که به شدت تحت تاثیر فشار انتخاب قرار گرفته‌اند، مشخص می کند

۳-۲-ظهور توانایی ویرایش ژنوم، عصر نوینی برای بهبود تنوع ژنتیکی

امروزه، مهندسی ژنتیک یا ویرایش ژنوم به بشر این امکان را می‌دهد که تغییرات غیرتصادفی در ژنوم موجودات زنده ایجاد کند. این فرآیند شامل جایگزینی، درج یا حذف توالی‌های ژنومی با استفاده از آنزیم‌های محدودکننده مصنوعی است و اگر در سلول‌های زایا انجام شود، تغییرات دائمی و قابل توارث خواهند بود. در گذشته، اصلاح ژن با انتخاب مکان‌های ژنتیکی مرتبط آغاز شد و سپس از تشعشعات و جهش‌زاهای شیمیایی برای افزایش احتمال جهش‌های ژنتیکی استفاده شد.تکنیک‌های جدید مانند CRISPR/Cas9 به سرعت امکان ویرایش هدفمند ژنوم را فراهم کرده و به تولید موجودات زنده اصلاح‌شده کمک می‌کند. این روش‌ها در تولید حیوانات تراریخته، تجزیه و تحلیل عملکردی ژن‌ها و توسعه مدل‌های بیماری کاربرد دارند (Rieblinger et al., 2021; Sharma et al., 2021). علاوه بر این، ویرایش ژنوم می‌تواند برای احیای تنوع ژنتیکی از دست رفته یا افزودن تنوع‌های جدید به کار رود.با این حال، چالش‌های اخلاقی و اجتماعی در مورد پذیرش این فناوری و بررسی هزینه‌ها و مزایای آن وجود دارد. در نتیجه، استفاده از روش‌های ویرایش ژنوم به‌عنوان ابزاری برای بهبود تنوع ژنتیکی در برنامه‌های اصلاحی مورد توجه قرار گرفته است

نتیجه‌گیری و پیشنهادات

تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های جانوری و گیاهی تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند مهاجرت، جهش و اختلاط جمعیت‌ها ایجاد می‌شود و این تنوع نشان‌دهنده اثرات رانش تصادفی و انتخاب است. ظهور فن‌آوری‌های توالی‌یابی نسل جدید، به‌ویژه توالی‌یابی کل ژنوم (WGS)، امکان شناسایی جهش‌های منفرد (SNP) در مناطق کدکننده و غیرکدکننده را فراهم کرده است و به بررسی تنوع ژنتیکی خنثی و عملکردی کمک می‌کند. توسعه دستگاه‌های تعیین ژنوتیپ و وجود تراشه‌های تجاری با تعداد زیادیSNP، کاربرد این ابزارها را در مطالعات ژنتیکی دام افزایش داده است. با این حال، طراحی این تراشه‌ها معمولاً بر اساس نژادهای تجاری انجام می‌شود که می‌تواند منجر به اریبی در نتایج برای نژادهای بومی شود. به‌روزرسانی مداوم ژنوم مرجع و تراشه‌های SNP تجاری می‌تواند این مشکل را کاهش دهد، اما توالی‌یابی کامل ژنومی می‌تواند به‌طور مؤثرتری به شناسایی تنوع ژنتیکی کمک کند.

نتیجه ترویجی

۱- تنوع ژنتیکی، عامل بقا و پیشرفت ژنتیکی و حفظ جوامع مختلف در برابر عوامل گوناگون است و لذا حفظ و پایش آن اهمیت دارد.

۲- تنوع حاصل از شجره می‌تواند بدلایل مختلف از جمله نقص یا عمق نداشتن شجره، دقیق نباشد و باید از روش‌های دقیقی که امروزه در دسترس هستند و با نشانگرهای ژنتیکی آن را رصد نمود.

۳- برآورد تنوع ژنتیکی به کمک نشانگرهای ژنتیکی بالاخص چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدیSNP هم سبب برآورد دقیق‌تر پارامترهای نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی می‌شود و هم با استفاده از آنها می‌توان پارامترهای دیگری از قبیل عدم تعادل پیوستگی را که برای محاسبه اندازه مؤثر جمعیت یا به حداقل رساندن همخونی و همتباری در جمعیت منتخب نیاز است، را با دقت برآورد نمود.

۴- روش‌های جدید ویرایش ژنوم در آینده می‌تواند در رسیدن به تعادل در تنوع ژنتیکی کاربرد داشته باشند چراکه ژنتیک کلاسیک به دنبال کشف مبنای ژنتیکی برای یک فنوتیپ یا صفت است، اما امروزه دانشمندان به دنبال یافتن این هستند که چه فنوتیپ‌هایی به دلیل یک توالی ژنتیکی خاص رخ می‌دهند (ژنتیک معکوس).

منابع

رحمانی نیا. ج. (۱۳۹۴). بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی توده‌های گاومیش ایران با استفاده از نشانگرهای متراکم SNP، رساله دکتری، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.

عزیزی. ز.، عباسی. م، کاظمی. ع، محمدنظری. ب، طاهری یگانه. ا و حسنی بافرانی. ع. (۱۳۹۹). مروری بر وضعیت و استراتژی‌های حفاظت از گاوهای بومی ایران. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، جلد ۱۲ شماره ۴ صفحات ۱۴۲ تا ۱۶۶. doi: 10.22103/jab.2020.14869.1178

Addo, S., Klingel, S., Thaller, G., and Hinrichs, D. (2021). Genetic diversity and the application of runs of homozygosity-based methods for inbreeding estimation in German White-headed Mutton sheep. PloS one 16, e0250608.

Biegelmeyer, P., Gulias-Gomes, C. C., Caetano, A. R., Steibel, J. P., and Cardoso, F. F. (2016). Linkage disequilibrium, persistence of phase and effective population size estimates in Hereford and Braford cattle. BMC genetics 17, 1-12.

Bohmanova, J., Sargolzaei, M., and Schenkel, F. S. (2010). Characteristics of linkage disequilibrium in North American Holsteins. BMC genomics 11, 1-11.

Bomba, L., Walter, K., and Soranzo, N. (2017). The impact of rare and low-frequency genetic variants in common disease. Genome biology 18, 1-17.

Chen, M., Wang, J., Wang, Y ,.Wu, Y., Fu, J., and Liu, J.-f. (2018). Genome-wide detection of selection signatures in Chinese indigenous Laiwu pigs revealed candidate genes regulating fat deposition in muscle. BMC genetics 19, 1-9.

Cortés, O., Eusebi, P., Dunner, S., Sevane, N., and Cañón, J. (2019). Comparison of diversity parameters from SNP, microsatellites and pedigree records in the Lidia cattle breed. Livestock science 219, 80-85.

D'ambrosio, J., Phocas, F., Haffray, P., Bestin, A., Brard-Fudulea, S., Poncet, C., Quillet, E., Dechamp, N., Fraslin, C., and Charles, M. (2019). Genome-wide estimates of genetic diversity, inbreeding and effective size of experimental and commercial rainbow trout lines undergoing selective breeding. Genetics Selection Evolution 51, 1-15.

Doekes, H. P., Veerkamp, R. F., Bijma, P., de Jong, G., Hiemstra, S. J., and Windig, J. J. (2019). Inbreeding depression due to recent and ancient inbreeding in Dutch Holstein–Friesian dairy cattle. Genetics Selection Evolution 51, 1-16.

Makanjuola, B. O., Maltecca, C., Miglior, F., Schenkel, F. S., and Baes, C. F. (2020). Effect of recent and ancient inbreeding on production and fertility traits in Canadian Holsteins. BMC genomics 21, 1-15.

Mészáros, G. (2018). Genomic descriptors of biodiversity–A review. Die Bodenkultur: Journal of Land Management, Food and Environment 69, 73-83.

Morin, P. A., Luikart, G., and Wayne, R. K. (2004). SNPs in ecology, evolution and conservation. Trends in ecology & evolution 19, 208-216.

Niedringhaus, T. P., Milanova, D., Kerby, M. B., Snyder, M. P., and Barron, A. E. (2011). Landscape of next-generation sequencing technologies. Analytical chemistry 83, 4327-4341.

Peripolli, E., Stafuzza, N. B., Munari, D. P., Lima, A. L. F., Irgang, R., Machado, M. A., Panetto, J. C. d. C., Ventura, R. V., Baldi, F., and da Silva, M. V. G. B. (2018). Assessment of runs of homozygosity islands and estimates of genomic inbreeding in Gyr (Bos indicus) dairy cattle. BMC genomics 19, 1-13.

Poyato-Bonilla, J., Perdomo-González, D. I., Sánchez-Guerrero, M. J., Varona, L., Molina, A., Casellas, J., and Valera, M. (2020). Genetic inbreeding depression load for morphological traits and defects in the Pura Raza Española horse. Genetics Selection Evolution 52, 1-12.

Rahimmadar, S., Ghaffari, M., Mokhber, M., and Williams, J. L. (2021). Linkage Disequilibrium and Effective Population Size of Buffalo Populations of Iran, Turkey, Pakistan, and Egypt Using a Medium Density SNP Array. Frontiers in genetics 12, 608186-608186.

Rieblinger, B., Sid, H., Duda, D., Bozoglu, T., Klinger, R., Schlickenrieder, A., Lengyel, K., Flisikowski, K., Flisikowska, T., and Simm, N. (2021). Cas9-expressing chickens and pigs as resources for genome editing in livestock. Proceedings of the National Academy of Sciences 118.

Roques, S., Chancerel, E., Boury, C., Pierre, Doekes, H. P., Veerkamp, R. F., Bijma ,P., Hiemstra, S. J., and Windig, J. J. (2018). Trends in genome-wide and region-specific genetic diversity in the Dutch-Flemish Holstein–Friesian breeding program from 1986 to 2015. Genetics Selection Evolution 50, 1-16.

Erickson, D. L., Fenster, C. B ,.Stenøien, H. K., and Price, D. (2004). Quantitative trait locus analyses and the study of evolutionary process. Molecular ecology 13, 2505-2522.

Eynard, S. E., Windig, J. J., Hiemstra, S. J., and Calus, M. P. (2016). Whole-genome sequence data uncover loss of genetic diversity due to selection. Genetics Selection Evolution 48, 1-13.

Ferenčaković, M., Sölkner, J., Kapš, M., and Curik, I. (2017). Genome-wide mapping and estimation of inbreeding depression of semen quality traits in a cattle population. Journal of Dairy Science 100, 4721-4730.

Fernández, M .E., Goszczynski, D. E., Lirón, J. P., Villegas-Castagnasso, E. E., Carino, M. H., Ripoli, M. V., Rogberg-Muñoz, A., Posik, D. M., Peral-García, P., and Giovambattista, G. (2013). Comparison of the effectiveness of microsatellites and SNP panels for genetic identification, traceability and assessment of parentage in an inbred Angus herd. Genetics and molecular biology 36, 185-191.

Gross, A. M., Ajay, S. S., Rajan, V., Brown, C., Bluske, K., Burns, N., Chawla ,A., Coffey, A. J., Malhotra, A., and Scocchia, A. (2018). Copy number variants in clinical WGS: deployment and interpretation for rare and undiagnosed disease. bioRxiv, 245100.

Hung ,C.-L., and Hua, G.-J. (2014). Local alignment tool based on Hadoop framework and GPU architecture. BioMed research international 2014.

Jansson, M., and Laikre, L. (2018). Pedigree data indicate rapid inbreeding and loss of genetic diversity within populations of native, traditional dog breeds of conservation concern. Plos one 13, e0202849.

Koboldt ,D. C. (2020). Best practices for variant calling in clinical sequencing. Genome Medicine 12, 1-13.

H. C., Lappalainen, T., and Posthuma, D. (2021). Genome-wide association studies. Nature Reviews Methods Primers 1, 1-21.

Wang, Y., Niu, Z., Zeng, Z., Jiang, Y., Jiang, Y., Ding, Y., Tang, S., Shi, H., and Ding, X. (2020). Using High-Density SNP Array to Reveal Selection Signatures Related to Prolificacy in Chinese and Kazakhstan Sheep Breeds. Animals 10, 1633.

Waples, R. K., Larson, W. A., and Waples, R. S. (2016). Estimating contemporary effective population size in non-model species using linkage disequilibrium across thousands of loci. Heredity 117, 233-240.

Wellmann, R. (2019). Optimum contribution selection for animal breeding and conservation: the R package optiSel. BMC bioinformatics 20, 1-13.

Zhang, Q., Guldbrandtsen, B., Bosse, M., Lund, M. S., and Sahana, G. (2015). Runs of homozygosity and distribution of functional variants in the cattle genome .BMC genomics 16, 1-16.

M., and Acolas, M. L. (2019). From microsatellites to single nucleotide polymorphisms for the genetic monitoring of a critically endangered sturgeon. Ecology and evolution 9, 7017-7029.

Seo, S. B., Zeng, X., Assidi, M., LaRue, B., King, J., Sajantila, A., and Budowle, B. (2014). High throughput whole mitochondrial genome sequencing by two platforms of massively parallel sequencing. BMC Genomics 15, P7-P7.

Sharma, P., Sharma, B. S., and Verma, R. J. (2021). CRISPR-based genome editing of zebrafish. In "Progress in molecular biology and translational science", Vol. 180, pp. 69-84. Elsevier.

Szpiech, Z. A., Xu, J., Pemberton, T. J., Peng, W., Zöllner, S., Rosenberg, N. A., and Li, J. Z. (2013). Long runs of homozygosity are enriched for deleterious variation. The American Journal of Human Genetics 93, 90-102.

Uffelmann, E., Huang, Q. Q., Munung, N. S., de Vries ,J., Okada, Y., Martin, A. R., Martin,