Archive of SID

پژوهش‌های علوم دامی
Animal Science Researches

مقاله علمی پژوهشی/نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۳۰ شماره ۲/ سال۱۳۹۹/ صفحات ۴۱ تا ۴۹

مقایسه بیان ژن میوستاتین در گوسفند عربی و آمیخته‌های عربی×رومانوف

زهره منجزی[۱]، جمال فیاضی[۲*]، محسن ساری[۲] و بهزاد ناصحی[۲]

تاریخ دریافت: ۹۸/۸/۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۲/۲۳

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
[۲] دانشیار دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
* مسئول مکاتبه: Email: j_fayazi@asnrukh.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: هدف از پژوهش حاضر، مقایسه بیان ژن میوستاتین در بره‌های نژاد خالص عربی و آمیخته‌های آن با رومانوف بود. **روش کار:** در این مطالعه از ۱۶ راس بره عربی و دورگه در قالب طرح کاملا تصادفی با دو تیمار و هشت تکرار استفاده شد. میش‌های همسن با میانگین وزنی ۲/۵±۵۴ کیلوگرم با استفاده از روش لاپارا سکوپی با اسپرم قوچ رومانوف پس از همزمان سازی فحلی تلقیح مصنوعی شدند. بره‌ها پس از تولد در شرایط یکسان پرورش داده شدند و در سن شش ماهگی کشتار شدند. بلافاصله پس از کشتار، نمونه‌گیری از قسمت ماهیچه لانگیسموس لومبروم از سمت راست دام انجام شد. پس از استخراج RNA کل، کیفیت و کمیت آن بررسی شد و برای تولید cDNA مورد استفاده قرار گرفت. ژن گلیسر آلدئید ۳ فسفات دهیدروژناز به عنوان ژن خانه‌دار جهت نرمال نمودن داده‌ها استفاده شد. در نهایت بیان ژن میوستاتین به کمک Real-time qPCR ارزیابی شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌های وزن و بیان ژن بترتیب از نرم افزار SAS و REST استفاده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که آمیخته‌گری در این آزمایش سبب کاهش معنی‌دار بیان ژن میوستاتین در گروه آمیخته‌های عربی×رومانوف شده است. میزان بیان ژن میوستاتین در بره‌های عربی ۱/۴ برابر بیش‌تر از گروه آمیخته بود ($P<0/05$). با توجه به اینکه بیان ژن بیشتر میوستاتین با جلوگیری از تکثیر میوبلاست‌ها، رشد عضلانی را کاهش می‌دهد، می‌تواند یکی از دلایل اختلاف معنی‌دار وزن نهایی بره‌ها در دو گروه باشد. میانگین وزن نهایی بره‌های عربی و آمیخته‌ها به ترتیب ۱/۱۸±۳۸/۵۲ و ۲/۶۲±۵۶/۱۷ کیلوگرم ثبت شد. وزن نهایی در بره‌های آمیخته نسبت به بره‌های عربی افزایش ۱/۴۶ برابری داشت. با توجه به کاهش بیان ژن میوستاتین در آمیخته‌های عربی × رومانوف، می‌توان نتیجه گرفت که کنترل بیان این ژن می‌تواند راهکار مناسبی در کنترل رشد بره‌ها باشد.

واژگان کلیدی: آمیخته عربی×رومانوف، بیان ژن، میوستاتین، Real-time qPCR

مقدمه

پرورش گوسفند و بز در کشورهای در حال توسعه به علت سازگاری خوب با شرایط تغذیه ضعیف رو به افزایش است (اوداباساوقلو و همکاران ۲۰۰۹). به همین دلیل است که پرورش گوسفند و بز فعالیت مهمی از پرورش دام را در مراتعی با کیفیت کم تشکیل می‌دهد (انزمینگر ۲۰۰۱ و اوداباساوقلو و همکاران ۲۰۰۹). از برنامه‌های آمیخته‌گری می‌توان برای بهره‌برداری تفاوت در نژاد، افزایش هتروزیس، مطابقت ژنتیکی و منابع زیست محیطی و تولیدات کارآمد استفاده کرد. در پرورش گوسفند، آمیخته‌گری بیش از سایر دام‌های پستاندار متداول است (فیلیپس و همکاران ۲۰۰۵). نژادهای زیادی وجود دارند که از نظر صفات مهم اقتصادی با هم متفاوت بوده و آمیخته‌گری اغلب به

www.SID.ir

Archive of SID

عنوان سریع‌ترین روش برای بهبود بازده تولید گوسفند مطرح می‌باشد و پرورش دهندگان بطور مداوم سعی می‌کنند که صفات مطلوب نژادهای مختلف را با استفاده از روش آمیخته‌گری ترکیب نمایند (سید شریفی و حمزه زاده ۲۰۱۵). در پژوهشی، آمیخته‌گری میش‌های زندی با قوچ‌های رومانوف باعث به وجود آمدن بره‌های دورگه-ای شد که نسبت به بره‌های زندی از قدرت زنده‌مانی و سرعت رشد قبل از شیرگیری بالایی برخوردار بودند (خجسته‌کی و همکاران ۲۰۱۶).

ژن میوستاتین در عضلات اسکلتی و در حال رشد بیان شده و برای تنظیم عملکرد تعدادی از فیبرهای عضلانی عمل می‌کند (لیو و همکاران ۲۰۱۶). این ژن دارای ۳ اگزون، ۲ اینترون و ۳۷۶ اسید آمینه است و روی کروموزوم شماره ۲ گوسفند قرار دارد و با میانجی‌گری بیان ژن در کنترل شکل فیبری ماهیچه و جلوگیری از تکثیر میوبلاست‌ها رشد عضلانی را متوقف می‌کند (فرهادیان و همکاران ۲۰۱۱). میوستاتین با کنترل دقیق رشد عضله اسکلتی، نقش مهمی در تنظیم توده عضله بازی می‌کند. با این وجود، سازوکارهایی که تولید میوستاتین عضلانی را تنظیم می‌کنند، به خوبی روشن نیست (جانسون و همکاران ۲۰۰۵). میوستاتین عضوی از خانواده فاکتورهای رشد تغییر دهنده می‌باشد که جهش در آن باعث تغییر نقش مهاری آن و افزایش عضله موش، سگ، گوسفند، گاو و انسان می‌شود (کلاپ و همکاران ۲۰۰۶). در مقابل، عدم کارایی میوستاتین در موش باعث کاهش تولید و ترشح لپتین و ضعیف شدن تاندون‌ها می‌شود (کلاپ و همکاران ۲۰۰۶). علاوه بر این، ژن میوستاتین می‌تواند در تنظیم توده چربی نقش داشته باشد (کلاپ و همکاران ۲۰۰۶).

با توجه به نقش ژن میو ستاتین در فرآیند ر شد هرگونه تغییری در بیان ژن آن می‌تواند مو جب تغییر میزان و الگوی رشد شود . لذا با توجه به اینکه تا کنون مطالعه‌ای در خصـــوص بیان ژن میوســـتاتین در آمیخته های عربی×رومانوف انجام نگرفته اســـت، مطالعه پیش‌رو با هدف ارزیابی بیان ژن میوستاتین در عضله لانگیسموس لومبروم در دو گروه بومی و آمیخته به کمک روش PCR در زمان واقعی انجام شـد. فرضـیات این پژوهش بر احتمال تفاوت بیان ژن میوســـتاتین و رشـــد متفاوت بره‌های عربی و آمیخته‌های عربی× رومانوف اســـتوار است.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در فروردین ماه سال ۱۳۹۵ در ایستگاه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه خوزستان انجام شد. میش‌های همسن با میانگین وزنی ۲/۵±۵۴ با استفاده از روش لاپاراسکوپی با اسپرم قوچ رومانوف، حدود ۱۴ روز پس از سیدر گذاری و وقوع فحلی همزمان‌سازی شده ، تلقیح مصنوعی شدند. بره‌های متولد شده در شرایط یکسان پرورش داده شدند. جهت بررسی روند رشد، وزن‌کشی بره‌ها هر ۱۴ روز یک‌بار قبل از تغذیه صبح با اعمال ۱۲ ساعت گرسنگی انجام شد. در این تحقیق از ۱۶ راس بره نر عربی و دورگه (عربی×رومانف) در قالب طرح کاملا تصادفی با دو تیمار و هشت تکرار استفاده شد. در سن شش ماهگی بره‌ها کشتار شدند. بلافاصله پس از کشتار نمونه‌گیری از قسمت ماهیچه لانگیسموس لومبروم[1] از سمت راست دام انجام گرفت. استخراج RNA با استفاده از Trizol (Easy Blue) انجام گرفت. کمیت و کیفیت RNA استخراج شده با استفاده از اسپکتوفتومتر (Thermo Scientific ،Nanodrop ،USA ،2000C) نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ و ژل آگارز ۱ درصد (۲۰ دقیقه با ولتاژ ۱۰۰) تعیین شدند. با توجه به کمیت و کیفیت RNAهای به دست آمده، سنتز cDNA با استفاده از کیت ساخت cDNA (Gene all) ساخت کشور کره و مطابق دستورالعمل شرکت سازنده ساخته شدند. طراحی آغازگرهای مستقیم و معکوس برای ژن هدف میوستاتین و ژن مرجع گلیسر آلدئید ۳ فسفات دهیدروژناز با استفاده از برنامه Primer Quest در سایت IDT (Integrated DNA Technologies) انجام گرفت. طول قطعات، دمای اتصال مناسب و عدم تشکیل ساختارهای ثانویه در طراحی آغازگرها مدنظر قرار

[1] Longissimus lumborum

www.SID.ir

Archive of SID

گرفت (جدول ۱). برای به دست آوردن دمای مناسب اتصال آغازگرها از گرادیان دمایی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۲۵ میکرولیتری که حاوی ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR 10x، ۱ میکرولیتر Mgcl2، ۰/۵ میکرولیتر dNTPs، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم Taq پلیمراز و ۲ میکرولیتر cDNA بودند، استفاده شد. این واکنش با استفاده از برنامه استاندارد PCR انجام شد که شامل ۵ دقیقه جداسازی آغازین زنجیره‌های الگو در دمای ۹۵ درجه سلسیوس، ۳۵ سیکل شامل ۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس، ۳۰ ثانیه در دماهای متفاوت گرادیان دمایی و ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس و در نهایت تکثیر نهایی زنجیره الگو به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس بود. محصولات PCR روی ژل آگارز ۲ درصد به مدت ۴۵ دقیقه با ولتاژ ۱۰۰ الکتروفورز شدند. تمام آزمایشات در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام شد. در نهایت، خصوصیات محصول PCR پس از واکنش qRT-PCR با تحلیل منحنی ذوب بررسی شد.

برای انجام واکنش qRT-PCR از دستگاه Step One Plus Real Time PCR System شرکت ABI و کیت RealQ Plus 2X Master Mix Green High ROX™ ساخت کشور دانمارک (شرکت آمپلیکون) استفاده شد. بررسی تغییرات بیان ژن در این پژوهش به کمک ΔΔCT (آستانه مقایسه‌ای) و نسبت به بیان ژن گلیسرآلدئید ۳ فسفات دهیدروژناز بود. در این روش برای هر نمونه تیمار شده و نمونه کنترل ΔCT محاسبه شد. پس از انجام واکنش Real Time PCR در دو تکرار برای هر نمونه cDNA، نتیجه به دست آمده مرتب شده و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نرم افزار Rest برای آنالیز داده‌های بیان ژن، و تجزیه و تحلیل آماری سایر داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS (رویه GLM) انجام شد.

مدل آماری برای اثر آمیخته گری بصورت ذیل بود:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + e_{ij}$$

که در آن Y_{ij}: مقدار هر مشاهده آزمایش، μ: میانگین کل ، G_i: اثر گروه ژنتیکی i ام و e_{ij}: اثر باقیمانده است.

Table 1- The sequences and annealing temperature of Myostatin and Glyceraldehyd 3-phosphate dehydrogenase primers

Gene	Primer	Sequences	Annealing Temperature (c°)	Length of Amplified fragments (bp)
Myostatin	F	5′- CCAGGCAGAGAACGGGAAG-3′	58	81
	R	3′-GCCTTCTCCATGGTAGTGAAG-5′		
Glyceraldehyde3-Phosphate dehydrogenase	F	5′-AGGCTGAATGGCTGATGTTAT- 3′	60	144
	R	3′- TGCACCTGAAGAAAGGAGAAA -5′		

www.SID.ir

Archive of SID

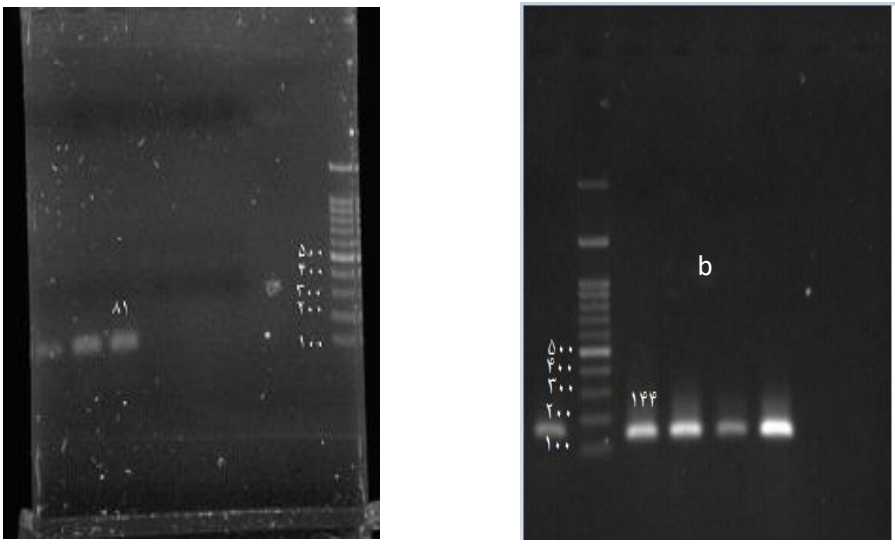

Figure 1- Amplified fragments using primers along with 100 bp ladder. a) Amplified fragment of myostatin gene and b) amplified fragment of Glyceraldehyd 3-phosphate dehydrogenase gene

نتایج و بحث

غلظت RNA استخراج شده در حدود ۱۰۰ الی ۴۰۰ نانوگرم در میکرولیتر بود. این نسبت در تمام RNAهای استخراج شده در این پژوهش بین ۲-۱/۹ بود. پس از تکثیر موفق قطعه‌های مورد نظر از ژن‌های میوستاتین و گلیسر آلدئید ۳ فسفات دهیدروژناز (جدول ۱)، مشاهده محصولات در ژل آگارز همراه با نشان‌گر، صحت اندازه قطعه ها را تایید کرد. همچنین، اندازه قطعه های تکثیر شده برای ژن میو ستاتین و ژن گلیسر آلدئید ۳ فسفات دهیدروژناز به ترتیب ۸۱ و ۱۴۴ جفت باز بود (شکل ۱).

نتایج میانگین حداقل مربعات (جدول ۲) برای بیان ژن میوستاتین نشان داد که به طور متوسط بیش‌ترین میانگین حداقل مربعات ژن هدف (میوستاتین) مربوط به نژاد عربی و کم‌ترین مربوط به گروه آمیخته بود و اختلاف بین گروه عربی و آمیخته در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). نتایج بررسی بیان ژن میوستاتین در گروه آمیخته و نژاد عربی نشان داد که آمیخته‌گری باعث کاهش بیان ژن میوستاتین شده است. همچنین نتایج وزن کشی بره‌های دو گروه ژنتیکی نشان می‌دهد که وزن نهایی (۱۸۰ روزگی) در بره‌های آمیخته بالاتر از بره‌های عربی می‌باشد (P<۰/۰۵).

Table 2- The mean comparison of experimental groups for Myostatin gene expression and lamb final weight

	Cross bred Arabi×Romanow	Arabi
Myostatin	14.71±0.61[a]	10.18±0.4 [b]
Final weight(day 180)	56.17±2.62[a] kg	38.52±1.18[b]kg

Different letters in each row indicates significant difference (P<0.05)

مقایسه ΔCT نشان می‌دهد که بیان ژن میو ستاتین در آمیخته‌های عربی-رومانوف نسبت به نژاد عربی کم‌تر بود. بیان ژن میوستاتین در آمیخته‌ها نسبت به نژاد عربی ۱/۴ واحد کاهش یافت، همچنین وزن نهایی در بره‌های آمیخته نسبت به بره‌های عربی افزایشی حدود ۱/۵ برابری داشته است. در این پژوهش به موازات کاهش بیان ژن میوستاتین، افزایش در وزن نهایی مشاهده شد. یکی از دلایل مهم برتری دام‌های آمیخته در مقایسه با والدین آن‌ها به اثرات هتروزیس در نتاج دورگ مربوط می‌شود. منابع علمی مختلف بروز اثرات هتروزیس و تاثیر مثبت این اثرات بر صفات رشد دام‌های آمیخته را گزارش کرده‌اند (پتروویچ و همکاران ۲۰۱۵، فرانک و همکاران ۲۰۰۵، هرناندز و همکاران ۲۰۰۹ و ویبر ۲۰۱۵).

www.SID.ir

Archive of SID

تاثیر بیان ژن میوستاتین بر عملکرد ماهیچه در چندین پژوهش بررسی شده است. برای مثال، آلل جهش یافته میوستاتین رابطه معنی‌داری با سرعت رشد دارد، چون باعث افزایش سرعت رشد و کاهش چربی لاشه می‌شود (کاساس و همکاران ۲۰۰۴). همچنین موتاسیون در این ژن باعث افزایش تعداد فیبر ماهیچه و تحریک هایپرتروفی فیبر در موش و گاو می‌شود (ساکوما و همکاران ۲۰۰۰، مکفرون و همکاران ۱۹۹۷). اگرچه برخی یافته‌ها حکایت از تفاوت سطح بیان میوستاتین در عضلات مختلف دارد. بدین معنی که بیان ژن مذکور در ماهیچه های سریع[۱] کمتر از ماهیچه های آهسته[۲] می‌باشد (ساکوما و همکاران ۲۰۰۵). مطالعات مک فرون و لی (۱۹۹۷) نشان داد که عضلات حیوانات با میوستاتین جهش یافته ۲ الی ۳ برابر بیش‌تر از حیوانات نوع موتاسیون وحشی است و به نظر می‌رسد این افزایش توده ناشی از ترکیب هیپرپلازی و هایپرتروفی سلول‌های عضلانی است. یافته‌های مطالعات بر سلول‌های عضلانی مرغ کاملا متفاوت با گونه‌های دیگر است و بین سطوح بیان ژن میوستاتین در عضلات سریع و آهسته تفاوت معنی‌داری وجود ندارد و سطح بیان میوستاتین در زمان تکثیر و تمایز میوبلاست ثابت باقی می‌ماند (کوبولاک و گوکزا ۲۰۰۲). برخی تحقیقات نشان داده‌اند که ژن میوستاتین نه تنها در ماهیچه بلکه در عضله قلب، مغز و غدد پستانی بیان شده است (کوکامیس و همکاران ۲۰۰۱).

ژن‌های زیادی هستند که علاوه‌بر میوستاتین بر کیفیت و مقدار گوشت تاثیر می‌گذارند که می‌توان به کالپاستاتین، لپتین، هورمون رشد، پرولاکتین که به طور مستقیم یا اثر بر هورمون‌های دیگر بر کمیت و کیفیت گوشت تاثیر می‌گذارند، اشاره کرد (ساکسینا و همکاران ۲۰۰۹). اما ژن میوستاتین در بین آنها مورد توجه ویژه قرار گرفته است. با افزایش سطح میوستاتین، تکثیر میوبلاست کاهش می‌یابد (توماس و همکاران ۲۰۰۰). میوستاتین از پیشرفت میوبلاست‌ها از مرحله G1 به فاز S چرخه سلولی جلوگیری می‌کند (توماس و همکاران ۲۰۰۰). تغییر در ژن میوستاتین با تولید گوشت در گوسفند نیوزیلندی رامنی، رشد ماهیچه اسکلتی، نرخ رشد عضلات پا، و سایر صفات لاشه در گوسفندان مرتبط است (بومن و واگ ۲۰۰۹). میوستاتین پس از سنتز در عضله اسکلتی وارد خون می‌شود و سپس در سطح سلول‌های عضلانی به گیرنده آکتیوین نوع IIB پیوند می‌خورد (جولیا اکازا و و کابلو ۲۰۰۷). تغییر در وزن نهایی بره‌های دو گروه عربی و آمیخته عربی×رومانوف موافق با نتایج مطالعات پارساد و همکاران (۱۹۹۱)، کرمی (۲۰۱۹) و خجسته کی و همکاران(۲۰۱۶) است که نشان دادند، گوسفندان آمیخته رشد بهتری نسبت به خالص‌ها دارند. کرمی (۲۰۱۹) در پژوهش خود دریافت که وزن نهایی پروار بره‌های لری از آمیخته‌های آن با رومانف کمتر است. خجسته‌کی و همکاران (۲۰۱۶) نیز گزارش دادند که سرعت رشد قبل از شیرگیری و وزن شیرگیری بره‌های آمیخته زندی-رومانف بیشتر از زندی بود. استفاده از نژادهای بارور نظیر رومانوف به منظور آمیخته‌گری با میش‌های بومی باعث افزایش سرعت رشد بره‌های دورگه رومانوف با بره‌های بومی شده و سن بلوغ آن‌ها را کاهش داده است (فهمی ۱۹۹۶). همچنین مطالعه شاکر و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد که استفاده از آمیخته‌گری بین میش‌های آواسی با نژادهای رومانوف و شاروله باعث بهبود سرعت رشد و بازده مصرف خوراک در بره‌های دورگ نسبت به بره‌های خالص آواسی گردید که این موضوع ممکن است به سبب وجود هتروزیس در آمیخته‌های نسل اول باشد.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به تاثیر ژن میوستاتین در کارکرد عضلات، کاهش بیان ژن میوستاتین با افزایش در وزن نهایی همراه بوده است. بنابراین نتایج نشان داد که آمیخته‌گری می‌تواند تاثیر بسزایی بر بیان ژن میوستاتین نسبت به

[۱] Extensor digitorum longus, tibialis anterior, gastrocnemius and diaphragm

[۲] Soleus

www.SID.ir

Archive of SID

گروه خالص داشته باشد. این مطالعه به درک بیش‌تر تاثیر آمیخته‌گری بر عمل‌کرد دام کمک می‌کند.

تقدیر و تشکر

از معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به خاطر حمایت مالی و معنوی تقدیر و تشکر می‌شود. از حوزه معاونت محترم بهبود تولیدات دامی استان خوزستان به ویژه آقایان مهندس زرگر و مهندس قاسمی و از آقای مهندس غانمی کارشناس بازنشسته جهاد کشاورزی استان خوزستان بخاطر فراهم نمودن شرایط تلقیح و لاپاراسکوپی، از جناب آقای دکتر مرتضی چاجی، آقای دکتر محمد هادی صادقی و خانم مهندس پروین علی میرزایی و پرسنل ایستگاه دامپروری دانشگاه به خاطر همکاری وراهنمایی در دوره پرواربندی قدردانی می-گردد. پیشنهادات آقای دکتر علی رضا شافعی نیا در بخش آزمایشگاهی راهگشا بوده و شایان تقدیر است.

منابع مورد استفاده

Boman IA and Våge DI, 2009. An insertion in the coding region of the myostatin (MSTN) gene affects carcass conformation and fatness in the Norwegian Spaelsau (Ovis aries). BMC Research Notes 2: 98.

Casas E, Bennett GL, Smith TPL and Cundiff LV, 2004. Association of myostatin on early calf mortality, growth, and carcass composition traits in crossbred cattle 1 2. Journal of Animal Science 82(10): 2913-2918.

Clop A, Marcq F, Takeda H, Pirottin D, Tordoir X, Bibé B and Larzul C, 2006. A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep. Nature Genetics 38(7): 813-818.

Ensminger ME. 2001. Sheep & Goat Science. Prentice Hall, 643 pages.

Fahmy MH. 1996. The Romanov Prolific Sheep. CAB International, Wallingford, UK. 47-72.

Farhadian M, Hashemi A, Mardani K, Darvish zadeh R and Ranjbary M, 2011. Allelic polymorphism of Makoei sheep myostatin gene identified by polymerase chain reaction and single strand conformation polymorphism. African Journal of Biotechnology 10(50): 10083-10086.

Franke DE, DeRouen SM, Williams AR and Wyatt WE. 2005. Direct and maternal breed additive and heterosis genetic effects for reproductive, preweaning, and carcass traits. Proc. of Symposium on Tropically Adapted Breeds, American Society of Animal Science, Arkansas. Pages 204-209.

Hernández-Cruz L, Ramírez-Bribiesca JE, Guerrero-Legarreta, MI, Hernández-Mendo O, Crosby-Galvan MM and Hernández-Calva LM, 2009. Effects of crossbreeding on carcass and meat quality of Mexican lambs. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 61(2): 475-483.

Iason GR and Matecon AR, 1991. Seasonal variation in voluntary food intake and post weaning growth in lambs: A comparison of genotype. Journal of Animal Production 52: 272-285.

Johnson PL, McEwan JC, Dodds KG, Purchas RW and Blair HT, 2005. A directed search in the region of GDF8 for quantitative trait loci affecting carcass traits in Texel sheep. Journal of Animal Science 83(9): 1988-2000.

Joulia-Ekaza D and Cabello G, 2007. The myostatin gene: physiology and pharmacological relevance. Current Opinion in Pharmacology 7(3): 310-315.

Karami S. 2019. Growth and reproductive traits of crossbred lambs from Romanov ram with native Lori Ewe. Msc thesis, Agricultural sciences and Natural Resource University of Khuzestan.

Khojastehkey MS, Yeganehparast M and Kalantar Neyestanaki M, 2016. Investigation the crossbreeding of Zandi ewes with Romanov rams and comparison the performance of crossbred with pure Zandi lambs up to weaning age. Journal of Ruminant Research 4(2):133-144 (In Persian).

Kobolak J and Gocza E, 2002. The role of the myostatin protein in meat quality-a review. Archives Animal Breeding 45(2): 159-170.

Kocamis H, McFarland DC and Killefer J, 2001. Temporal expression of growth factor genes during myogenesis of satellite cells derived from the biceps femoris and pectoralis major muscles of the chicken. Journal of Cellular Physiology 186: 146-152.

www.SID.ir

Archive of SID

Liu LX, Dou TF, Li QH, Rong H, Tong HQ, Xu ZQ, Huang Y, Gu DH, Chen XB, Ge CR and Jia JJ, 2016. Myostatin mRNA expression and its association with body weight and carcass traits in Yunnan Wuding chicken. Genetics and Molecular Research: GMR, 15(4).

McPherron AC, Lawler AM and Lee SJ. 1997. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-p superfamily member. Nature 387: 83-90.

McPherron AC and Lee SJ, 1997. Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 94(230):12457-12461.

Odabasoğluö F, Küçük M and Yilmaz o, 2009. Investigation of Mohair production, clean yield and fibre characteristics in colored Mohair goat and F1 cross-bred kids of Angora goat×Colored Mohairgoat. Turkish Journal of Veterinary and Animal Science, 33(1): 7-13.

Parasad RDD, Chatyulu, EK, Rao TM and Munirathnam D, 1991. Growth performance of Nellore and Nellore ×Dorset ram lamb under Feedlots. Livestock Adviser, 16(4): 8-10.

Petrović VC, Petrovic MP, Ružić-Muslić D, Maksimović N, Selionova M.I, Aybazov MM and Malyukova MA. 2015. Genotype, sex and interaction effect on lamb growth traits. Biotech. Animal Husbandry, 31(1): 37-44.

Phillips WA, Brown MA, Dolezal HG and Fitch GQ, 2005. Feedlot performance and carcass characteristics of lambs sired by Texel, Romanov, St. Croix or Dorset rams from Polypay and St. Croix ewes. Publications from USDA-ARS/UNL Faculty, 423.

Sakuma K, Watanabe K, Sano M, Uramoto I and Totsuka T, 2005. Differential adaptation of GDF8/myostatin, FGF and leukemia inhibitory factor in overloaded, regenerating and denervated rat muscles. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research 1497(1): 77-88.

Saxena VK, Sachdev AK, Gopal R and Pramod AB, 2009. Roles of important candidate genes on broiler meat quality. World's Poultry Science Journal 65 (1): 37-50.

Seyedsharifi R, Hamzehzadeh A, 2015. Evaluation of Slaughtered Lambs Results from Varamini Ewes Crossing with Shal, Afshar, Moghani and Varamini Rams. Iranian Journal of Animal Science Research 8(1): 174-184. (In Persian).

Shaker M, Kridli RT, Abdullah AY, Malinova M, Sanogo S, Šadai I and Lukesova D. 2010. Effect of crossbreeding european sheep breeds with Awassi sheep on growth efficiency of lambs in Jordan. Agricultura Tropica et Subtropic 43(2):127-133.

Thomas M, Langley B, Berry C, Sharma M, Kirk S, Bass J and Kambadur R, 2000. Myostatin, a negative regulator of muscle growth, functions by inhibiting myoblast proliferation. Journal of Biological Chemistry, 275: 40235-40243.

Weaber RL. 2015. Crossbreeding strategies: Including terminal vs. maternal crosses. Proceedings of the range beef cow symposium XXIV, Loveland, Colorado.

www.SID.ir

Archive of SID

Comparison of Myostatin gene expression in Arabi and Arabi ×Romanov cross bred lambs

Z Monjezi[1], J Fayazi[2*], M Sari[2] and B Nasehi[2]

Received: October 23, 2019 Accepted: March 14, 2020

[1]MSc Student, Department of Animal Science, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran
[2]Associate Professor, Faculty of Animal Science and Food technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran
[*]Corresponding author email: j_fayazi@asnrukh.ac.ir

پژوهش‌های علوم دامی Animal Science Researches

Journal of Animal Science/vol.30 No.2/ 2020/pp 41-49
https://animalscience.tabrizu.ac.ir

OPEN ACCESS

© 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/)

Introduction Expressed Myostatin gene in the muscles is a member of the TGF-β family. It extends skeletal muscle and regulates the activity of muscle fibers. The Myostatin gene (GDF-8) works as a negative regulator of the skeletal muscle growth. Mutation in the Myostatin sequence changes its regulating function and results in the growth and hypertrophy of the muscles. Mutation in Myostatin has been found in various species. This gene has three exons and two introns in all species. Mutant alleles are significantly correlated with the growth rate and desired carcass traits and increase the ratio of muscle to fat and bone. Cross breeding is a common method of exploiting the genetic differences between different breeds and increasing the ability of individuals which is often considered as the quickest way to improve the sheep production efficiency**.** This study was conducted to investigate the effect of cross breeding on the Myostatin genes in Arabi lambs and its cross with Romanov.

Materials and methods: At the beginning of the experiment, the similar ewes were artificially inseminated with Romanove ram sperm by laparoscopy method after estrous synchronization. Born lambs were kept in similar conditions. For this purpose, 16 Arabi and hybrid lambs were used in a completely randomized design with two treatments and eight replicates. After slaughter, the meat samples were immediately collected from right side of *longissimus lumborum* muscle and transferred to the lab in liquid nitrogen and stored at -80 °C. RNA extraction was performed using the Trizol (Easy Blue) method. The quantity and quality of the extracted RNA were determined using a spectrophotometer (Thermo Scientific, Nanodrop, 2000C, USA) from 260 to 280 and 1% agarose gel (20 minutes at 100 volts). Total RNA quality was checked after extraction and used to produce cDNA. Synthesis of cDNA was made using the (Gene All) cDNA build kit in accordance with the manufacturer's instructions. The designing of the forward and reverse primers for the Myostatin gene and the reference one of Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase was performed using the Primer Quest program on the IDT site (Integrated DNA Technologies). Finally, the expression of Myostatin gene was evaluated by Real-time qPCR. Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase gene as housekeeping one was used to normalize the data. SAS and REST softwares were used to analyze the final weight and gene expression data, respectively.

Results and discussion cDNA synthesis was accomplished after extracting the RNA and measuring its purity. After the cDNA synthesis and dilution, the PCR reaction was performed. Following the successful replication of the desired fragments of Myostatin genes and Glyceraldehyd 3-phosphate dehydrogenase, the observation of the products in the agarose gel with the ladder confirmed the correctness of the fragments size. The size of the replicated fragments for the Myostatin and Glyceraldehyd 3-phosphate dehydrogenase genes are 81 and 144 bp, respectively. After ensuring the

www.SID.ir

Archive of SID

efficiency of the designed primers, the Real Time PCR reaction was performed in two replicates for each cDNA sample. The information obtained was sorted and analyzed. Results indicated that the highest mean of the target gene in Arabi breed and the lowest one in the crossbred group. The difference between the Arabi and crossbred group was significant ($P<0.05$). The results indicated that the crossbreeding caused a significant reduction in the Myostatin gene expression. The expression of Myostatin gene in Arabi race was 1.4 fold greater than that in the cross bred group. This was in concordance with the final lamb weights which were significantly different for the two groups. The final weight in the cross bred lambs were higher than the Arabi counterparts.

Conclusion Based on the obtained data, the current investigation was the first study in the field of Myostatin gene expression in Arabi×Romanove cross breeding. In overall, the results showed that the cross breeding can significantly affect the expression of the studied gene. Regarding the effect of Myostatin gene on the muscle function, decreased Myostatin gene expression may influence the final weight gain. As this study showed the effect of crossbreeding on Myostatin gene expression, it is necessary to consider the consequences of crossbreeding on the native sheep breeding programs. This study could help in more understanding the cross breeding effects on the livestock performance.

Keywords: Cross breeding, Gene expression, Myostatin, Real- time qPCR

www.SID.ir