Archive of SID

مجله بیوتکنولوژی کشاورزی
علمی-پژوهشی و ISC

ارتباط چندشکلی اگزون ۳ ژن میوستاتین با صفت دو قلوزایی در بز مرخز

کیوان خانی [۱]، علیرضا عبدالمحمدی*[۲]، صاحب فروتنی فر[۳]، علیرضا زبر جدی [٤]

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی.
[۲]* استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی.
[۳]استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی.
[٤]دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۲/۰۵، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰٤/۳۰

چکیده

هدف این پژوهش بررسی چندشکلی اگزون ۳ ژن میوستاتین و رابطه آن با نرخ دوقلوزایی در نژاد بز مرخز بود. در این پژوهش از ۱۵۰ رأس بز ماده مرخز در ایستگاه تحقیقاتی علوم دامی سنندج خون‌گیری صورت گرفت. پس از استخراج DNA از یک جفت پرایمر اختصاصی جهت تکثیر قطعه ٤۷۵ جفت بازی اگزون ۳ استفاده شد. هضم آنزیمی محصولات PCR، وجود یک جهش T به G در نوکلئوتید ۱٦۹ از این قطعه را تأیید کرد. در این جایگاه فراوانی سه ژنوتیپ TT، TG و GG به ترتیب ۸۱/۳ ٪ ، ۱۲/۷٪ و ٦ ٪ و فراوانی دو آلل T و G، ۰/۸۸ و ۰/۱۲ برآورد شد. آزمون کای اسکور نشان داد که تعادل هاردی-وینبرگ در ژن میوستاتین برقرار نیست (P<۰/۰۱). نسبت احتمالات نرخ دوقلوزایی برای شکم زایش اول نسبت به شکم زایش دوم ۱/۱۰۳۲ (P>۰/۰۵)، و نسبت به شکم زایش سوم ٤/۹٤۹۷ (P<۰/۱) و شکم زایش دوم نسبت به سوم ۵/٤٦۰۵ (P<۰/۱) بود. همچنین برآورد آماره کای اسکور (۵/٦۸) نشان داد که بروز صفت دوقلوزایی در بزهای مرخز به طور معنی داری تحت تأثیر ژنوتیپ ژن میوستاتین قرار می‌گیرد (P<۰/۰۵). نسبت احتمالات برای مقایسه ژنوتیپ‌های مختلف ژن میوستاتین نشان داد که برتری آنها برای این صفت به ترتیب TT>TG> GG می‌باشد. آماره کای اسکور برابر ۲/٦۵ مبین اختلاف معنی دار بین دو گروه ژنوتیپی TT و GG برای بروز دوقلوزایی در این نژاد بود. نتایج این پژوهش حاکی از آن است که ژن میوستاتین می‌تواند بعنوان نشانگری نسبتا مناسب، در برنامه‌های اصلاح نژادی بز مرخز جهت بهبود دوقلوزایی مورد توجه قرار گیرد.

***واژه های کلیدی* : ژن میوستاتین، دوقلوزایی، بز مرخز، *PCR-RFLP*.**

* نویسنده مسئول: علیرضا عبدالمحمدی تلفن: ۰۸۳۱۸۳۲۳۷۲۸ Email: alirezaam@razi.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

برخی صفات اقتصادی مهم که می‌توانند در اهداف اصلاح نژاد بزهای بومی لحاظ شوند شامل صفات رشد، تولیدمثل، گوشت، شیر، الیاف و موهر می‌باشد. در این میان صفات تولیدمثلی، به ویژه دوقلوزایی می‌توانند به عنوان بخشی از اهداف ضروری مورد توجه اصلاح گران قرار گیرد. در حوزه ژنتیک و اصلاح، اطلاع از ساختار ژنتیکی جمعیتها میتواند کمک بزرگی برای برنامه ریزی برای طرح های اصلاح نژادی و از همه مهمتر، حفظ ذخایر ژنتیکی باشد (Alinaghizadeh *et al*., 2010). اخیرا پیشرفت-های قابل توجهی در ژنتیک مولکولی جهت کشف ژن‌های کاندیدا در ارتباط با صفات تولید مثلی صورت گرفته است (Mousavizadeh *et al*., 2009). استفاده از ژنتیک مولکولی کاربردهای زیادی دارد. یکی از آن‌ها تعیین ژنوتیپ افراد برای جایگاه‌های ژنتیکی خاص است. ژن‌هایی که صفات پلی‌ژنیک را تحت تأثیر قرار می‌دهند دقیقا شناسایی نشده‌اند، ولی تعدادی از ژن‌های کاندیدا با اثرات اصلی شناسایی شده‌اند (Mousavizadeh *et al*., 2009)، که یکی از این ژن‌ها، ژن میوستاتین[1] می‌باشد. ژن میوستاتین یا عامل ۸ رشد و تمایز[2] (GDF8) عضوی از خانواده TGFβ[3] می‌باشد که به عنوان ژن کاندیدا برای صفت ماهیچه مضاعف در نژادهای مختلف دام و طیور و حتی انسان شناخته شده است (GU *et al*., 2003). میوستاتین در طی چرخه تکثیر سلول، فاز G_1 و G_2 رشد سلول را بلوکه می‌کند، و نقش تنظیمی منفی و کلیدی در رشد و هوموستاز عضلهٔ اسکلتی دارد (Julianna *et al*., 2002). همچنین به موازات، آن در زمان بلوغ از طریق تنظیم گونادوتروپین ها و GnRH نقش مهمی در فعالیت‌های تولید مثلی دارد. کمبود طولانی مدت سطوح رایج میزان میوستاتین در دسترس هیپوتالاموس، می‌تواند منجر به تأخیر در بلوغ شود (Ma *et al*., 2011). در حقیقت میوستاتین نقش مهمی در تنظیم هورمون‌های ضروری برای سیستم تولیدمثل دام دارد. میوستاتین به همراه هورمون‌های جنسی، با شیوه-های مختلف فرآیندهای تولید مثلی را تنظیم می-کند (An *et al*., 2010; Hua *et al*., 2009). این ژن در ناحیه سانترومری کروموزوم شماره ۲ بز قرار دارد و دارای ۳ اگزون و ۲ اینترون است (Zhang *et al*., 2012). مطالعات متعددی روی این ژن در گاوهای نژاد پیدمونتز[4] و آبی بلژیکی[5] گزارش شده است (Kambadur *et al*., 1997). طی پژوهشی که در گوسفندان نژاد بلوچی ایران صورت گرفت بخشی از اینترون اول و دوم آن بررسی و مشخص شد که این ژن دارای چند شکلی بوده و ژنوتیپ‌های BB و AB آن با ارزش

[2]- Myostatin
[3]- Growth Differentiation Factor-8
[4]- Transforming Growth Factor- β
[5]- Piedomontese
[6]- Belgain Blue

www.SID.ir

Archive of SID

اصلاحی وزن تولد این نژاد همبستگی دارند (Masoudi *et al.*, 2004). همچنین، در گوسفندان نژاد سنجابی ایران نیز وجود چندشکلی در نواحی اینترونی بررسی شد و فراوانی ژنوتیپ-های MM ، Mm و mm در ژن میوستاتین به ترتیب ۲، ۱/۳۳ و ۹٦/٦۷ درصد و فراوانی M و m به ترتیب ۰/۰۳ و۰/۹۷ برآورد گردید (Soufy *et al.*, 2009). با توجه به این که مطالعه تنوع ژنتیکی نژادهای بومی برای حفاظت از منابع ژنتیکی دام‌های بومی ضروری است (Mohammadi *et al.*, 2009) و این که تاکنون مطالعه‌ای در مورد وجود جهش در ناحیه اگزون ۳ ژن میوستاتین در بزهای بومی ایران گزارش نشده است. با توجه به اهمیت نژاد بز مرخز در منطقه و کشور به واسطه ویژگی‌های منحصر به فرد و نیز جمعیت محدود آن، این پژوهش برای اولین بار با هدف بررسی وجود چندشکلی در اگزون ۳ ژن میوستاتین نژاد بز مرخز، تخمین فراوانی آلل‌های مختلف و رابطه آن با صفت دوقلوزایی انجام شد.

مواد و روش‌ها

از تعداد ۱۵۰ رأس بز ماده نژاد مرخز موجود در ایستگاه تحقیقاتی علوم دامی سنندج با استفاده از ونوجکت‌های دارای EDTA از سیاهرگ وداج خون‌گیری شد. نمونه‌های این پژوهش در دو گروه طبقه بندی شدند. در گروه اول بزهایی بودند که در دو یا چند زایش تک قلوزا بودند و در گروه دوم دام‌هایی قرار گرفتند که یک، دو و یا سه بار دوقلوزایی را در زایش‌های خود بروز داده بودند سپس نمونه‌گیری در هر گروه به صورت تصادفی انجام شد. جهت آنالیزهای بعدی، نمونه های خون پس از جمع آوری به دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی منتقل شدند. استخراج DNA با استفاده از کیت Diatom 100 DNA Prepبه روش گوانیدین سیلیکاژل انجام شد. کیفیت DNA استخراجی با الکتروفورز بر روی ژل آگارز یک درصد بررسی گردید.

برای تعیین چند شکلی در ژن میوستاتین از یک جفت آغازگر زیر استفاده شد. این آغازگرها براساس توالی ژنومی (EF591039) بز، جهت تکثیر یک قطعه ٤۷۵ جفت بازی از ناحیه اگزون ۳ ژن میوستاتین و با استفاده از نرم افزار Oligo 5 طراحی شدند. FWD: 5′ -TGG GGA TCT ATT ACT AAC TCT- 3′ و REV: 5′ - ATT GTT GAG GGG AAG AC - 3′. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)[1] در حجم ۲۵ میکرولیتر با محتویات یک میکرولیتر DNA با غلظت ۵۰-۱۰۰ نانوگرم، هر یک از آغازگرها با غلظت۰/۲۵ میکرومولار، ۲/۵ میکرولیتر بافرPCR 1 X، ۰/۲ میلی‌مولار dNTP، ۲/۵ میلی-مولار$MgCl_2$، ۱ واحد آنزیم تک پلی‌مراز (DNA Taq polymerase) و ۱٤/۵۵ میکرولیتر آب انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با برنامه حرارتی زیر به کمک دستگاه ترموسایکلرمدل (Corbett Life Science) انجام شد: حرارت

[1]- Polymerase chain reaction

www.SID.ir

Archive of SID

۹٤°C برای واسرشت سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه و تعداد ۳۵ چرخه در دمای ۹۵ °C برای واسرشته سازی به مدت ۳۰ ثانیه، دمای ۵۸°C به منظور اتصال آغازگرها به مدت ۳۰ ثانیه، دمای ۷۲ °C برای گسترش آغازگرها به مدت ٤۵ ثانیه. گسترش نهایی نیز در دمای ۷۲ °C به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. برای مشاهده محصولات PCR از ژل آگارز ۱ درصد با ولتاژ ۹۲ به مدت ۱ ساعت استفاده شد. رنگ آمیزی ژل به کمک اتیدیوم بروماید به مدت یک ساعت صورت گرفت. جهت تعیین چند شکلی در نمونه‌ها، محصولات PCR به کمک آنزیم برشی (5′-AAGCTT-3′) *Hind III* به مدت زمان ٦ ساعت در دمای ۳۷°C مورد هضم آنزیمی قرار گرفت. برای مشاهده قطعات هضم شده از ژل آگارز ۳ درصد با ولتاژ ۸۵ به مدت یک ساعت و بیست دقیقه استفاده شد. محاسبه فراوانی آللی، ژنوتیپی، تعادل هاردی- وینبرگ و شاخص‌های جمعیتی نیز با نرم افزار Popgene 32 انجام شد. برای بررسی رابطه چندشکلی ژن مورد مطالعه با صفت دو قلوزایی از مدل چند متغیره رگرسیون لجستیک و رویه GENMOD نرم افزار (*SAS 9.1*) استفاده گردید. در این مطالعه اثر شکم زایش و ژنوتیپ‌های ژن میوستاتین به عنوان عوامل ثابت در مدل آماری منظور شدند. در نتیجه مدل زیر برای آنالیز دادها برازش گردید.

$$Y_{ij} = \mu + P_i + G_j + e_{ij}$$

Y_{ij} متغیر وابسته (صفت دو قلوزایی)، μ میانگین صفت در جامعه، Pi اثر iامین شکم زایش، G_j اثر jامین ژنوتیپ و e_{ij} اثر عوامل باقیمانده می‌باشد. از شاخص نسبت احتمالات (ORs)[1] و آماره کای اسکور برای تعیین رابطه اثرات مدل و صفت دوقلوزایی استفاده شد و سطوح معنی داری ۰/۰۵ و ۰/۱ برای بیان اختلاف‌های معنی دار مورد توجه قرار گرفت.

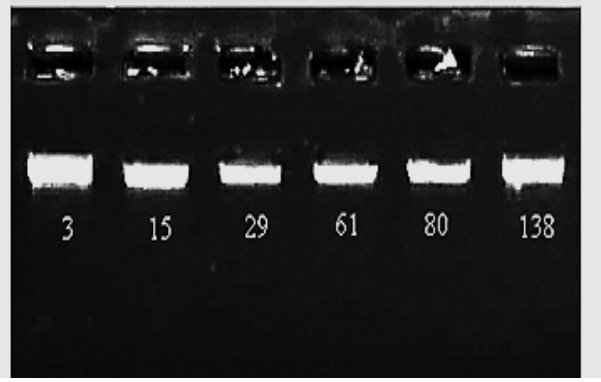
نتایج و بحث

کیفیت مناسب DNA روی ژل آگارز یک درصد در شکل ۱ قابل مشاهده است. اغلب نمونه‌ها دارای باند تیز و بدون کشیدگی بودند. برخی نمونه‌های نامناسب و با کیفیت پایین دوباره مورد استخراج قرار گرفتند. در این پژوهش با استفاده از یک جفت آغازگر اختصاصی طراحی شده، بخشی از اگزون ۳ ژن میوستاتین به طول ٤۷۵ جفت باز با موفقیت تکثیر شد (شکل۲). هضم آنزیمی محصول PCR ژن میوستاتین در این مطالعه، حاکی از وجود این دو نوع آلل T (آلل وحشی) یا G (جهش یافته) در باز ۱٦۹ از این قطعه تکثیر یافته بود. توالی تکثیر شده این آنزیم دارای یک جایگاه برش (AAGCTT) توسط آنزیم برشی *Hind III* بود. در صورتی که در ناحیه شناسایی مورد نظر تغییری ایجاد شود و نوکلئوتید T به G تغییر یابد، آنزیم قادر به برش قطعه نبوده، و تنها یک قطعه به طول ٤۷۵ جفت بازی برای بزهای با ژنوتیپ هموزیگوت GG قابل انتظار است (شکل ۳).

[1]- Odds Ratio

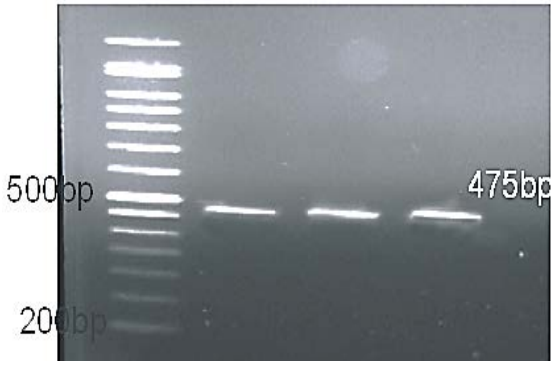
www.SID.ir

Archive of SID



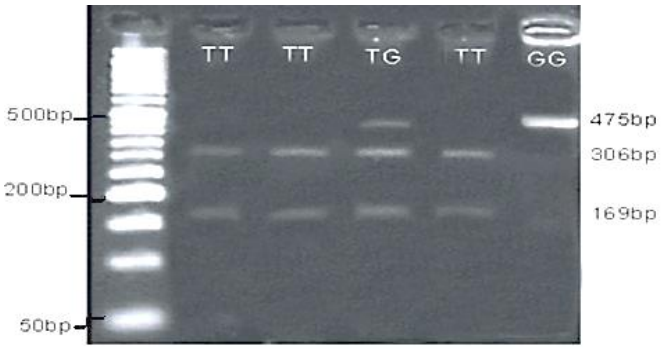
شکل ۱- نمونه‌هایی از DNA های استخراج شده روی ژل آگارز.

Figure 1- Samples of DNAs extracted on agarose gel.



شکل ۲- محصولات PCR اگزون ۳ ژن میوستاتین روی ژل آگارز.

Figure 2- PCR products of myostatin gene exon 3 on agarose gel.



شکل ۳- نتایج هضم آنزیمی محصولات PCR روی ژل آگارز ۳٪.

Figure 3- Enzyme digestion results of the PCR products on 3% agarose gel.

www.SID.ir

Archive of SID

ولی در صورت عدم جهش نوکلئوتید T به G به دلیل هضم آنزیمی دو قطعه ۱٦۹ و ۳۰٦ جفت بازی ایجاد می‌شود. بدین ترتیب پس از هضم آنزیمی برای بزهای با ژنوتیپ هتروزیگوت (TG) سه قطعه ۱٦۹، ۳۰٦ و ٤۷۵ جفت بازی مشاهده شد (شکل۳). در این مطالعه فراوانی ژنوتیپی TT، TG و GG به ترتیب برابر با ۸۱/۳ ٪ ، ۱۲/۷٪ و ٦ ٪ و نیز فراوانی آللیT و G به ترتیب ۰/۸۸ و ۰/۱۲ برآورد گردید (جدول۱). در پژوهشی روی نژاد بزهای چینی (Zhang *et al.*, 2012) با بررسی ناحیه پرموتور ژن میوستاتین فراوانی آللی متفاوتی را در این نژادها برآورد کردند. فراوانی آلل A از ۰/٤۹ تا ۰/۹ و آلل B از ۰/۵۱ تا ۰/۱ در بین نژادها متفاوت بود. همچنین در پژوهشی روی گوسفندان سنجابی ایران فراوانی۰/۰۳ و ۰/۹۷ به ترتیب برای آلل-های M و m محاسبه شد (Soufy *et al.*, 2009). آنها برخلاف این پژوهش بیشترین فراوانی ژنوتیپی را برای ژنوتیپ هموزیگوت مغلوب (mm) گزارش نمودند. در این جمعیت، مقدار شاخص شانون (I) و میانگین هتروزیگوسیتی با استفاده از شاخص نئی[1] برابر با ۰/۳۷۳۵ و ۰/۲۱٦۲ برآورد گردید که نشان دهنده وجود چند شکلی ژنتیکی ژن میوستاتین در این جمعیت می-باشد (جدول۱). آماره کای اسکور (۲٦/٦۲) نشان داد که تعادل هاردی- وینبرگ در این جمعیت برای جایگاه ژن میوستاتین وجود ندارد (۰/۰۱> P)که با نتایج بدست آمده از تحقیقات روی ژن میوستاتین در بزهای نژاد بوئر[2] و بومی چین بود، مطابقت نداشت (Zhang *et al.*, 2012). آنها نشان دادند که تعادل هاردی- وینبرگ در این جمعیت ها وجود دارد. نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج بدست آمده در گوسفندان نژاد لری ایران مطابقت داشت، در آن جمعیت مشخص شد که ژن میوستاتین از تعادل هاردی- وینبرگ انحراف دارد (Sepahvand *et al.*, 2013). از دلایل مؤثر بر وجود تعادل یا انحراف از آن برای یک جایگاه ژنی در جمعیت می‌توان به اندازه جمعیت، نوع جهش، میزان جهش، مهاجرت، انتخاب و نوع آمیزش افراد اشاره نمود. لازم به ذکر است که تا به حال مطالعه‌ای برای بررسی فراوانی آللی و ژنوتیپی در این جایگاه از ژن میوستاتین در بزهای بومی ایران گزارش نشده است. نتایج حاصل از بررسی رابطه شکم زایش و چندشکلی مورد مطالعه با نرخ دوقلوزایی بز مرخز در جدول۲ نشان داده شده است. در این مطالعه شکم زایش رابطه معنی داری با دوقلوزایی نشان داد (۰/۰۵> P). این نتایج با نتایج پژوهشی که بر روی نژاد بزهای چینی بود، مطابقت داشت (Wang *et al*; 2011). هم چنین در پژوهشی که بر روی نژاد گوسفند هان[3] انجام شد، مشخص گردید که شکم زایش رابطه معنی داری با صفت

[1]- Nei Index

[2]- Boer

[1]-Han

www.SID.ir

Archive of SID

دوقلوزایی دارد(Chu *et al.*, 2004). در این مطالعه نسبت احتمالات نرخ دوقلوزایی برای شکم زایش اول نسبت به شکم زایش دوم ۱/۱۰۳۲ (P>۰/۰۵)، و نسبت به شکم زایش سوم ٤/۹٤۹۷ (P<۰/۱) و شکم زایش دوم نسبت به سوم ۵/٤٦۰۵ (P<۰/۱) بود. با توجه به این نتایج می‌توان دریافت که نرخ بروز دوقلوزایی با افزایش شکم زایش در نمونه‌های مورد مطالعه کاهش یافته است که این نتایج با مطالعات گزارش شده توسط Notter & Rao (2000) مطابقت دارد. آنها بیان نمودند که اگر دام‌های یک گله در شکم زایش اول چند قلوزایی بالایی داشته باشند، عواملی مانند استرس در هنگام آبستنی می‌تواند باعث کاهش چند قلوزایی در شکم‌های بعدی شود.

جدول ۱- فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی و تعادل هاردی-وینبرگ برای ژن میوستاتین در نژاد بز مرخز.

Table 1-.Allele and genotype frequencies and Hardy-Weinberg equilibrium for myostatin gene in Markhoz goat breed.

فراوانی ژنوتیپی Genotype frequency		فراوانی آللی Allele frequency		کای اسکور Chi Square	هموزیگوسیتی مورد انتظار Expected Homozygosity	هتروزیگوسیتی مورد انتظار Expected Heterozygosity	میانگین هتروزیگوسیتی Heterozygosity Mean	شاخص شانون Shanon Index
GG	0.06	T	0.88					
TG	0.127	G	0.12	26.627	0.7830	0.2170	0.2162	0.3735
TT	0.813							

اما، گزارش‌هایی نیز مبنی بر افزایش احتمال دوقلوزای با افزایش شکم زایش وجود دارد (Silva del Río *et al.*, 2007). بررسی میزان دوقلوزایی در شکم زایش های مختلف گوسفندان نژاد کارول- ملپورا[1] نشان داد که افزایش شکم زایش دارای رابطه معنی داری با بروز دو قلوزایی است (Mishra *at el.*, 2009). گفته می‌شود علت آن وقوع بیشتر تخمک ریزی چند تایی در شکم‌های بالاتر می‌باشد (Ghavi Hossein-Zadeh *et al*, 2088). هم چنین رابطه معنی دار شکم زایش با صفت دوقلوزایی به دلیل افزایش سن و اثرات مادری نیز گزارش شده است (Maxa *et al.*, 2007; Ligda *et al.*, 2000). در این پژوهش برآورد آماره کای اسکور (۵/٦۸) نشان داد که بروز صفت دوقلوزایی در بزهای مرخز بطور معنی داری تحت تأثیر ژنوتیپ ژن میوستاتین قرار می‌گیرد (P=۰/۰۵). نسبت

[2]- Garole-Malpura

www.SID.ir

Archive of SID

احتمالات بروز دوقلوزایی برآورد شده در این مطالعه برای مقایسه ژنوتیپ‌های مختلف ژن میوستاتین نشان داد که برتری آنها برای این صفت بصورت TT>TG>GG می‌باشد (جدول۲). اگر چه نسبت برآورد شده برای بروز صفت دو قلوزایی در ژنوتیپ‌های TG نسبت به ژنوتیپTT کمتر و برابر با ۰/۷۹ بود، اما آماره کای اسکور (۰/۸۷) نشان داد که این اختلاف از نظر آماری معنی دار نیست. همچنین نتایج نشان داد که بروز دوقلوزایی در ژنوتیپ‌های TG نسبت به ژنوتیپ‌های GG بیشتر و برابر با ۲/۲۷ برابر می‌باشد، اما آماره کای اسکور برابر با ۱/٤٥ بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بین این دو گروه ژنوتیپی بود. در این پژوهش مشاهده شد که ژنوتیپ‌های TT دارای ۲/۸٦ برابر نرخ دوقلوزایی بیشتر نسبت به ژنوتیپ‌های GG ژن میوستاتین می‌باشند و آماره کای اسکور برابر ۲/٦٥ بود که مبین اختلاف معنی دار بین این دو گروه ژنوتیپی در سطح معنی داری ۰/۱ بود (جدول ۲).

جدول ۲- برآورد نسبت احتمالات و آماره‌های کای اسکور مربوط به شکم زایش و ژنوتیپ‌ها مربوط به نرخ دوقلوزایی در بز مرخز.

Table 2- Estimation of Odds Ratios and Chi-Square statistics related to parity and genotypes for twining rate.

متغیر Variables	نسبت احتمالات Odds Ratio	کای اسکور Chi-Square	احتمال معنی داری P > ChiSq
شکم زایش (Parity)		**7.52**	**0.0249****
زایش۱ (Parity 1) زایش۲ (Parity 2)	1.1032	0.41	0.5244
زایش۱ (Parity 1) **زایش۳** (Parity 3)	4.9497	2.80	0.094 *
زایش۲ (Parity 2) **زایش۳** (Parity 3)	5.4605	3.12	0.0771*
ژنوتیپ (Genotype)		**5.68**	**0.05****
TG/GG	2.2747	1.45	0.2286
TG/TT	0.7945	0.87	0.3505
TT/GG	2.8632	2.65	0.099*

** معنی داری در سطح P<۰/۰۵، * معنی داری در سطح P<۰/۱

www.SID.ir

Archive of SID

تا به حال مطالعه‌ای در زمینه بررسی چندشکلی ژن میوستاتین در نژاد بز مرخز در ارتباط با صفات تولید مثلی انجام نگرفته و نقش میوستاتین در تولید مثل به خوبی بررسی نشده است. اما، نتایج دیگر مطالعات نشان داده که نقش ژن میوستاتین تنها به عنوان تنظیم کننده و مهارکننده مستقیم رشد در بافت رگی نیست (Ji *et al*., 1998)، بلکه در باروری و تولید مثل هم نقش موثری دارد (Rios *et al*., 2002). در پژوهشی دیگر نتایج بدست آمده نشان داده که محور هیپوتالاموس–هیپوفیز– تیروئید سبب فعال سازی پروموتور میوستاتین در جهت بیان ژن میوستاتین برای تولیدمثل می‌شود (Ma *et al*., 2001). اثرات متعددی از محور هیپوتالاموس–هیپوفیز بروی اعضای TGF-β گزارش شده، که می‌تواند منجر به بیان بیشتر این ژن‌ها در بروز دوقلوزایی و چند قلوزایی در گوسفند شود (Juengel *et al*., 2002). از طرفی آزمایشی با هدف بررسی این فرضیه که FecB، FecG و FecXو میوستاتین برای رشد فولیکول، نرخ تخمک گذاری و غلظت پروژسترون در پستانداران ارتباط دارد، انجام شد. آنها نشان دادند که وجود ژن‌های FecB وFecx برای فعالیت و رشد طبیعی فولیکول در قبل و بعد از رشد ضروری می‌باشند (McNatty *et al*., 2005). از این رو، فرض بر این است که میوستاتین می تواند همراه با ژن‌های FecB و FecX در دوقلوزایی بزهای بومی نقش ایفا کند (Vaiman *et al*., 1996)، بنابراین با در نظر گرفتن آن در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر (MAS)[1] ممکن است بتوان سبب بهبود این صفت در نژاد بزهای مرخز ایران شد. در این پژوهش اگرچه برای صفت دوقلوزایی بین ژنوتیپ های ژن میوستاتین تفاوت هایی مشاهده شد، اما فقط تفاوت ژنوتیپ‌های TT وGG از نظر آماری و در سطح ۰/۱ معنی دار بود. اما باید توجه نمود که آزمون کای اسکور حساس به تعداد نمونه می‌باشد، با ثابت در نظر گرفتن سایر پارامترها، هرچه تعداد نمونه بالاتر - رود (حتی با ثابت ماندن فراوانی‌های مختلف ژنوتیپی) آماره کای اسکور بزرگتر بوده و احتمال معنی داری آن افزایش می‌یابد. شاید یکی از عوامل کوچک بودن آماره کای اسکور و معنی دار بودن آن درسطح احتمال ۰/۱ در این مطالعه، محدود بودن تعداد نمونه باشد. لذا این احتمال وجود دارد که با افزایش تعداد بیشتر نمونه در مطالعات بعدی روی نژاد بز مرخز و یا دیگر نژادهای بومی ایران، نقش مؤثرتری از ژن میوستاتین در فرآیندهای تولید مثل و دوقلوزایی نمایان گردد. به دلیل پایین بودن وراثت پذیری صفات تولید مثلی نظیر دوقلوزایی، علاوه بر اینکه روش‌های نقشه یابیQTL و یافتن ژن‌های مؤثر می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی این نژاد بسیار مؤثر باشند، بهبود فاکتورهای محیطی و غیر

[1] -Marker-Assisted Selection

www.SID.ir

Archive of SID

ژنتیکی از قبیل اعمال فلاشینگ در تغذیه بزهای مرخز در فصل جفتگیری می‌تواند دوقلوزایی را در این نژاد بهبود بخشیده و سبب ازدیاد جمعیت این نژاد در منطقه و نیز سودآوری بالاتری برای پرورش دهندگان شود.

تشکر و قدردانی

از مسئولین محترم ایستگاه تحقیقاتی علوم دامی سنندج که در انجام این پژوهش ما را یاری دادند تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

Alinaghizadeh H, Mohammad Abadi MR, Zakizadeh S (2010). Exon 2 of BMP15 gene polymorphism in Jabal Barez Red Goat. Agricultural Biotechnology 2: 69-80.

An XP, Hou JX Wang, LX, Li G, Wang JG, Song YX, Zhou GQ, Han D, Ling L, Cao BY (2010). Novel polymorphisms of the growth hormone gene and their effect on growth traits in Chinese goats. Meat Science 86: 758-763.

Arthur PF, Makarechian M, Price MA (1988). Incidence of dystocia an prenatal calf mortality resulting from reciprocal crossing of double-muscled and normal cattle. Canadian Veterinary Journal 29: 163-167.

Chu MM, Li BX, Wang JI, Ye SC, L Fang (2004) Association between PCR-SSCP of growth differentiation factor 9 and genes high prolificacy in small tail Han sheep. Animal Biotechnology 15: 111-120

Fahrankrug SC, Casas E, Keel JW, Smith TD (1999). Direct genotyping of the double-muscling locus Piedmotese and Belgain blue cattle by fluorescent PCR. Journal of Animal Science 77: 2028-2030.

Gerrard DE, Thrasher KH, Grant A, Lemenager RP, Judge MD (1991). Serum-induced myoblast proliferation and gene expression during development of double muscled and normal cattle. Journal of Animal Science 69: 317-322.

Ghavi Hossein-ZadehN, Nejati-Javaremi A, Miraei-Ashtiani SR, Kohram H (2008). An Observational Analysis of Twin Births, Calf Stillbirth, Calf Sex Ratio, and Abortion in Iranian Holsteins. Journal of Dairy Science 91: 4198-4205.

Gu Zh L, Zhu D H, Li N, Li H, Deng X M, Wu Ch X (2003). The single nucleotide polymorphisms of the chicken myostatin gene are associated with skeletal muscle and adipose growth. Science China (Chin Life Science) 33: 273–280.

Hua GH, Chen SL, Yu JN, Cai KL, Wu CJ, Li QL, Zhang CY, Liang AX, Han L, Geng LY, Shen Z, Xu DQ, Yang LG (2009). Polymorphism of The growth hormone gene and its association with growth traits in Boer goat bucks. Meat Science 81: 391–395.

Ji S, Losinski RL, Cornelius SG, Frank GR, Willis GM, Gerrard DE, Depreux FF, Spurlock ME (1998). Myostatin expression in porcine tissues: tissue specificity and developmental and postnatal regulation. American Journal of Physiology 275: R1265-73.

Juengel JL, Hudson NL, Heath DA, Smith P, Reader K, Lawrence SB, O'connell AR, Laitinen M, Cranfield M, Groome NP, Ritvos O, McNatty KP (2002). Growth differentiation factor 9 and bone morphogenetic protein 15 are essential for ovarian follicular development in sheep. Biology of Reproduction 67: 1777-1789.

www.SID.ir

Archive of SID

Julianna K, Gócza E (2002). The role of the myostatin protein in meat quality. Archives Tierzu/ Archives Animal Breeding 45: 159-170.

Kambadur R, Sharma M, Smith TP, Bass JJ (1997). Mutationsin myostatin (GDF-8) in double-muscled Belgian Blue and Piedmontese cattle. Genetics Reaserch 7: 910–916.

Ligda Ch, Gabriilidis G, Papadopoulos Th, Georgou A (2000). Estimation of genetic parameters for production traits of Chios sheep using a multitrait animal model. Livestock Production Science 66: 217 –221.

Ma K, Mallidis C, Artaza J, Taylor W, Gonzalez-Cadavid N, Bhasin (2001). Characterization of 5'-regulatory region of human myostatin gene. American Journal of Physiology and Endocrinology Metabolism 281: E1128-36.

Masoudi A, Aomrani H, Abbasi A, Najatijavarmi A, Farhang KH, KHanians A, Zeyaei F (2003).The using PCR-SSCP method for determination Polymorphism Myostatin Gene and its Relationship whit Economic Traits to the Balochi Sheep. The 4th Nationnal Biotechnology Conference on Islamic Republic of Iran.

Maxa J, Norberg E, Berg P, Pedersen J (2007). Genetic parameters for growth traits and litter size in Danish Texel, Shropshire, Oxford Down and Suffolk. Small Ruminant Research 68: 312-317.

McNatty KP, Juengel JL, Reader KL, Lun S, Myllymaa S, Lawrence SB (2005). Bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 cooperate to regulate granulosa cell function in ruminants. Reproduction 129: 481–487.

Mishra AK, Arora AL, Kumar S, Prince LL (2009). Studies on effect of Booroola (FecB) genotype on lifetime ewes' productivity efficiency, litter size and number of weaned lambs in Garole×Malpura sheep. Animal Reproduction Science 113: 293–298.

Mohammadi A, Nassiry MR, Mosafer J, Mohammadabadi MR, Sulimova GE (2009). Distribution of BoLA-DRB3 allelic frequencies and identification of a new allele in the Iranian cattle breed Sistani (Bos indicus). Russian Journal of Genetics 45: 198-202.

Mousavizadeh A, Mohammad Abadi MR, Torabi A, Nassiry MR, Ghiasi H, AliEsmailizadeh AK (2009). Genetic polymorphism at the growth hormone locus in Iranian Talli goats by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP). Iranian Journal of Biotechnology 7: 51-53.

Rao S, Notter DR (2000). Genetic analysis of litter size in Targhee, Suffolk, and Polypay sheep. Journal of Animal Science 78: 2113–2120.

Rios R, Carneiro I, Arce VM, Devesa J (2002). Myostatin is an inhibitor of myogenic differentiation. American Journal of Physiology Cell Physiollogy 282: C993-9.

Sepahvand F, Beigi nassiri M, fayazi J, khaldari M (2013). Identification of Myostatin gene polymorphism in Lori sheep breed by PCR-SSCP Method. Of 8th Conference on Biotechnology Islamic Republic of Iran and 4th Conference Biosafety. Volume VIII, July. 7, 6, 2013. University Tehran.

Silva del Río N, Stewart S, Rapnicki P, Chang Y, Fricke P (2007). An Observational analysis of twin births, calf sex ratio, and calf mortality in Holstein dairy cattle. Journal of Dairy Science 90: 1255-1264.

Soufy B, Mohammadabadi MR, Shojaeyan K, Baghizadeh A, Ferasaty S, Askari N, Dayani O (2009). Evaluation of myostatin gene polymorphism in Sanjabi sheep by PCR-RFLP method. Journal of Animal Science Researches 19: 81-89.

Vaiman D, Schibler L, Bourgeois F, Oustry A, Amigues Y, Cribiu EP (1996). A genetic linkage map of the male goat genome. Gene 144(1): 27 9-305.

www.SID.ir

Archive of SID

Wang PQ, Deng LM, Zhang BY, Chu MX, Hou JZ (2011). Polymorphisms of the cocaine-amphetamine-regulated transcript (CART) gene and their association with reproductive traits in Chinese goats. Genetics Molecular Research 10(2): 731-738.

Zhang C, Liu Y, Xu D, Wen Q (2012). Polymorphisms of myostatin gene (MSTN) in four goat breeds and their effects on Boer goat growth performance. Molecular Biology Reports 39: 3081-3087.

www.SID.ir

Archive of SID

Association of Myostatin Gene Exon 3 Polymorphism with twining trait in Markhoz Goat

Khani K.[1], Abdolmohammadi A.R.[*2], Foroutanifar S.[3], Zebarjadi A.[4]

[1] MSc Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and natural Resources, Razi University.
[2]Assistant Professor, Department of Animal Science g, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Razi University.
[3] Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Razi University.
[4] Associate Professor ,Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Razi University.

Abstract

The aim of this study was to investigate polymorphism in the exon 3 of myostatin gene and its relationship with twining rate in Markhoz Goat. In this study, blood samples of 150 goats were collected from Animal Science Research Station of Sanandaj province. After DNA extraction, one set of specific primers was designed and used to amplify a 475bp fragment of the myostatin gene exon 3. The enzyme digestion of the PCR products confirmed presence of a mutation from T to G nucleotide in position 169 of the amplified fragment. The genotype frequencies of TT, TG, and GG were estimated 81.3%, 12.7% and 6%, and allele frequencies estimated were 88% and 12% for T and G alleles, respectively. The Chi-Square test showed Hardy-Weinberg equilibrium in myostatin gene ($P<0.01$). The amounts of Odd Ratio estimated for twining rate were 1.1032 for first parity on second parity ($P>0.05$) and 4.9497 on third parity ($P<0.1$), and 5.4605 for second parity on third parity ($P<0.1$). Also, the Chi-Square statistic (5.68) showed that twining rate in Markhoz goat breed is statistically affected by myostatin gene genotypes ($P<0.05$). The Odds Ratios obtained to compare the different genotypes of the myostatin gene showed superiority for twining rate as TT>TG>GG genotypes. The Chi-Square statistics equal to 2.65 demonstrated significant differences between two TT and GG genotype groups for twining rate in Markhoz goat. The results of this research demonstrate that the myostatin gene can be considered as a suitable marker to improve twining rate in breeding programs of Markhoz goat.

Keyword: ***Myostatin gene, Twining, Markhoz goat, PCR-RFLP.***

[*] Corresponding Author: Abdolmohammadi A.R. Tel: 09188318918 Email: alirezaam2006@gmail.com

www.SID.ir