نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۶، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۳، ص. ۳۸۰-۳۷۴

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 6, No. 4, Winter 2015, p. 374-380

مطالعه چندشکلی ژن میواستاتین وتأثیر آن بر صفات رشد در گوسفند لری

فاطمه بهرام زاده[۱]- غلامرضا داشاب[۲*]- مسعود علی پناه[۳]- محمد رکوعی[۴]- صادق اسداللهی[۵]

تاریخ دریافت:۱۳۹۲/۷/۱۵
تاریخ پذیرش:۱۳۹۳/۹/۲

چکیده

ژن میواستاتین یا فاکتور ۸ رشد و تمایز، روی توسعه و بلوغ ماهیچه‌های اسکلتی اثر مهارکنندگی دارد و اگر جهشی در آن رخ بدهد، باعث تغییر در اندازه ماهیچه‌ها می‌گردد. از طرفی گوسفند لری مهمترین نژاد گوسفند گوشتی بومی ایران است، که دارای توانایی ژنتیکی بالایی برای تولید گوشت می‌باشد. لذا، بررسی ژن‌های مؤثر بر تولید گوشت در این نژاد می‌تواند در انتخاب و اصلاح آن اهمیت داشته باشد. بنابراین، برای شناخت بهتر جایگاه ژن میواستاتین در گوسفند لری و ارتباط ژنوتیپ‌های شناسایی گردیده با صفات وزن تولد، ازشیرگیری و ۶ ماهگی، تعداد ۵۰ رأس گوسفند لری به طور تصادفی انتخاب و خونگیری از ورید گردنی انجام گرفت. استخراج DNA با استفاده از کیت دنازیست صورت گرفت و برای بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراجی از روش اسپکتوفتومتری و الکتروفورز استفاده شد. به منظور ارزیابی وجود چندشکلی پرایمرهای اختصاصی طراحی و نواحی مورد نظر تکثیر شدند. پس از تأیید قطعه مورد نظر ۳۷۳bp روی ژل آگارز به وسیله آنزیم برشی *HaeIII* تعیین ژنوتیپ گردید، که تنها حیوانات با ژنوتیپ Mm و mm در جایگاه ژن میوستاتین در جمعیت گوسفند لری مشاهده شدند. فراوانی آلل‌های M و m به ترتیب ۸/۷۵٪ و ۹۱/۲۵٪ محاسبه شد. همچنین، بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌های شناسایی گردیده درگوسفند لری با صفات رشد در جایگاه ژن میواستاتین به جز برای وزن تولد غیر معنی‌دار بود. بنابراین، آلل‌های جایگاه ژن میواستاتین تثبیت گردیده و نشانگر مناسبی در مطالعات ژنتیکی و پیوستگی با صفات رشدمحسوب نمی گردد.

کلمات کلیدی:میواستاتین، گوسفند لری، چندشکلی، هتروزیگوسیتی.

مقدمه

افزایش جمعیت و بهبود قدرت خرید خانوارها از مهمترین عواملی هستندکه می‌تواند در آینده تقاضای برای مصرف مواد پروتئینی را افزایش دهند. روش‌های متعددی جهت افزایش تولید گوشت در دام‌ها به خصوص در گاو و گوسفند وجود دارد که انتخاب دام‌های برتر از نظر ژنتیکی، یکی از مهمترین روش‌ها است. رشد چشمگیر در توسعه مطالعات بیولوژیکی و به ویژه ژنتیک مولکولی، تعیین توالی نوکلئوتیدها و شناسایی مستقیم ژن‌ها بر روی اکثر گونه‌های دامی، تمایل محققین در انجام مطالعات مولکولی در سطح DNA را افزایش داده است. یکی از ژن‌های شناسایی شده جهت افزایش رشد، تولید گوشت و بهبود کیفیت لاشه، ژن میواستاتین (ماهیچه مضاعف) است که در گاو و گوسفند بر روی کروموزوم ۲ واقع شده است (۱۷). مطالعات برای یافتن ژن‌های به وجود آورنده عضله مضاعف در گاو-های گوشتی منجر به کشف ژن میواستاتین شد، که به عنوان ژن کاندیدا برای صفت تولید گوشت مورد بررسی قرار گرفته و نقش آن در نژادهای مختلف دام وطیور وحتی انسان شناخته شده است. مطالعات مولکولی ژن میواستاتین نشان داد چندشکلی در بین دام‌ها وجود دارد (۴). اولین اسناد و نوشته‌ها درباره ماهیچه مضاعف در گاو به دهه ۱۸۰۷ میلادی برمی‌گردد (۱۳). گزارشاتی مبنی بر این وجود دارد که ۹ جهش در ناحیه کدکننده ژن میواستاتین منجر به تغییرات غیرمشابهی در ژنوتیپ دام‌ها می‌گردد که ۳ تا از آنها موتاسیون‌های بی‌معنی هستند. از این تعداد، دو موتاسیون در اگزون ۱ و موتاسیون دیگر در اگزون ۲ این ژن واقع شده است. شش موتاسیون باقیمانده که در اگزون‌های ۲ و۳ قراردارند، منجر به ایجاد رمز پایان زودرس می‌گردد و مسئول فنوتیپ ماهیچه مضاعف هستند. از علائم مختلفی برای این جایگاه (فنوتیپ ماهیچه مضاعف و حیوانات طبیعی از جمله، *DM* یا *N*،*n* یا *DM* یا *dm*، *C*یا*N* یا *c*، *A*یا*n* یا *a* و *mh*) مورد استفاده قرارگرفته است (۶). ژن میواستاتین یک تنظیم کننده منفی جهت

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه زابل،
۲- استادیار گروه علوم دامی دانشگاه زابل،
۳- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه زابل،
۴- استادیار گروه علوم دامی دانشگاه زابل
۵- مربی سازمان جهاد کشاورزی استان لرستان.
(*-نویسنده مسئول: (Email: dashab@uoz.ac.ir

رشد ماهیچه‌های اسکلتی است که اگر جهشی در ناحیه کد کننده این ژن اتفاق بیفتد، باعث تغییر نقش تنظیم کنندگی این ژن شده و افزایش عضله را سبب می‌گردد. این امر در گاو از طریق سنتز پروتئین گزارش شده است(۷، ۱۱ و ۱۲). در مطالعه انجام گرفته روی گوسفند تکسل در ناحیه ژن میواستاتین جهت شناسایی ژنهای کاندیدا صفات لاشه از ۸ نشانگر ریزماهواره‌ای جهت تعیین ژنوتیپ دام‌ها استفاده گردید. هیچ مدرکی دال بر ژن کاندیدا در ناحیه مورد مطالعه برای صفات سرعت رشد و لاشه به دست نیامد، اما در مورد صفت چربی و ماهیچه ران وجود ژن کاندیدا برای افراد هتروزیگوت واقع بین نشانگرهای *BM81124* و *BULGE20* ثابت گردید (۱۱). در جمعیت گوسفندان سفید نروژی ۲۰ جهش تک نوکلئوتیدی در ژن میواستاتین گزارش شده است که موجب تغییر در کیفیت لاشه ومیزان چربی می گردد. جهش در نواحی *c.2360 G>A* و *c.960del G* باعث افزایش عملکرد لاشه با چربی کمتر و حجم ماهیچه‌ای بیشتر شده است، اما نحوه اثر و میزان اثر هر کدام از جهش فوق بر عملکرد لاشه متفاوت گزارش شده است که از بین دو جهش فوق *c.2360 G>A* بیشترین اثر را بر عملکرد لاشه دارد (۸). بنابراین، هدف از مطالعه اخیر بررسی چندشکلی ژنی در اگزون ۳ جایگاه میواستاتین و ارتباط آنها با صفات وزن در گوسفند لری می‌باشد.

مواد و روش ها

نمونه‌های مورد استفاده و استخراج DNA

جهت انجام تحقیق حاضر تعداد ۵۰ رأس گوسفند به صورت تصادفی از گله اصلاحی ایستگاه تحقیقات گوسفند لری استان لرستان شهرستان الشتر انتخاب گردید و نمونه‌های خون از سیاهرگ گردنی گوسفندان با استفاده از سرنگ‌های ۵ میلی‌متری گرفته شد، بلافاصله وارد لوله‌های خلاء ۲/۵ میلی‌متری حاوی ماده ضد انعقاد *EDTA* (۰/۵ درصد) گردید و جهت حفاظت نمونه در داخل یخ قرار گرفت و به پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه زابل، بخش آزمایشگاه ژنتیک مولکولی انتقال داده شدند. استخراج DNA از نمونه‌های خون با استفاده از کیت دنا زیست (DenaZyst Co.) انجام گرفت و برای تعیین کیفیت و غلظت DNA استخراج شده با استفاده از روش الکترفورز مقایسه‌ای بر روی ژل آگارز ۱ درصد با ولتاژ ۹۰ استفاده گردید.

تکثیر جایگاه ژن میواستاتین و هضم آنزیمی با *HaeIII*

تکثیر قطعه ۳۷۳جفت باز از ناحیه 3' UTR ژن میواستاتین با استفاده از یک جفت پرایمر اختصاصی که بر اساس توالی ژنومی در گوسفند و نرم افزار Primer primier5.0(۱۴) طراحی گردیده توسط واکنش *PCR* (*Sinagen Co.*) انجام گرفت. واکنش تکثیر در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام گرفت، که شامل ۲ میکرولیتر بافر PCR (10X)، ۶ میکرومول dNTP، ۲۰ میکرومول Mgcl2، یک واحد آنزیم *Taq*، ۱۰پیکومول پرایمر رفت، ۱۰پیکومول پرایمر برگشت، ۱۰۰ نانوگرم از DNA استخراج شده می‌باشد و حجم نهایی با آب مقطر دو بار تقطیر به ۲۰ میکرولیتر تنظیم گردید (جدول ۱). واکنش شامل یک برنامه حرارتی $95^{o}c$ برای واسرشته‌سازی اولیه به مدت ۱۰ دقیقه و در ادامه ۴۰ سیکل با دماهای $95^{o}c$ برای واسرشته‌سازی ثانویه به مدت ۴۵ ثانیه، دمای $58^{o}c$ به منظور اتصال آغازگرها به مدت ۵۵ ثانیه و دمای $72^{o}c$ برای بسط آغازگرها به مدت ۴۵ ثانیه و نهایتا آخرین مرحله بسط نهایی در دمای $72^{o}c$ به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه ترموسایکلر مدل اپندرف انجام گرفت. جهت تأیید محصولات PCR از الکتروفورز ژل آگارز ۲ درصد با ولتاژ ۸۰ به مدت ۴۵ دقیقه استفاده گردید. سپس ۶ میکرولیتر از محصول PCR در محیط بافری شامل ۲ میکرولیتر بافر 10X و در حضور ۰/۵ میکرولیترآنزیم برشی *HaeIII* در حجم ۲۰ میکرولیتردر دمای $37^{o}c$ و به مدت ۱۶ ساعت مورد هضم آنزیمی قرار گرفت و نهایتا" جهت متوقف کردن فعالیت آنزیمی به مدت ۲۰ دقیقه در دمای $80^{o}c$ درداخل بن ماری قرارداده شد. نتایج هضم آنزیمی بر روی ژل آگارز ۲ ٪ با ولتاژ ۷۰ به مدت ۲ ساعت الکتروفورز گردید.

جدول ۱-غلظت‌های مورد استفاده از مواد برای انجام واکنش PCR

نام ماده	غلظت ذخیره اصلی	مقدار مورد استفاده	غلظت نهایی
Mgcl2	25 Mm/µL	0.8 µL	1Mm/µL
PCR buffer	10 X	2 µL	1 X
dNTPs	10 Mm/µL	0.6 µL	0.3 Mm/µL
Primer (Forward)	20 pm/µL	0.5 µL	0.5 pm/µL
Primer (Reverse)	20 pm/µL	0.5 µL	0.5 pm/µL
*Taq*DNA Polymerase	5 unit/ µL	0.2 µL	0.05 unit/ µL
DNA Template	50 ng/µL	2 µL	5ng/µL
dH2o	-	13.4 µL	-
حجم نهایی		20 µL	

پرایمرهای مورد استفاده به شرح ذیل هستند:

5’-CCGGAGAGACTTTGGGCTTGA-3’

5’-TCATGAGCACCCACAGCGGTC-3’

تجزیه معیارهای جمعیتی شامل آلل‌های مشاهده شده و مؤثر، هتروزیگوسیتی، شاخص نئی و شانن، آماره F در درون جمعیت و نهایتا" بررسی تعادل یا عدم تعادل در جایگاه مورد مطالعه با نرم افزار POPGENE3.2(۱۹) انجام گرفت.

تجزیه آماری ارتباط ژنوتیپ های جایگاه میواستاتین با صفات وزن

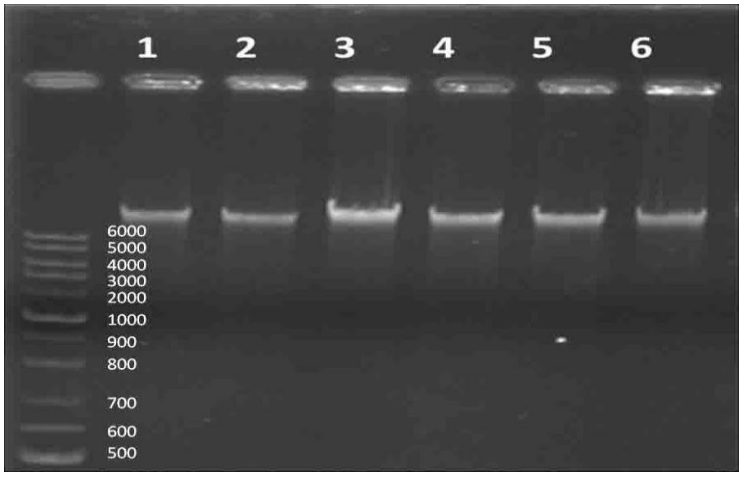
برای بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌های جایگاه ژن میواستاتین با صفات وزن تولد، ۳ ماهگی و ۶ ماهگی از مدل‌های خطی ثابت و رویه GLM با نرم افزار SAS (۲۰۰۹) انجام گرفت، که مدل عبارتست از:

$$Y_{ijkl}= \mu + Sex_i + BT_j + G_k + Sex_i*BT_j + e_{ijkl}$$

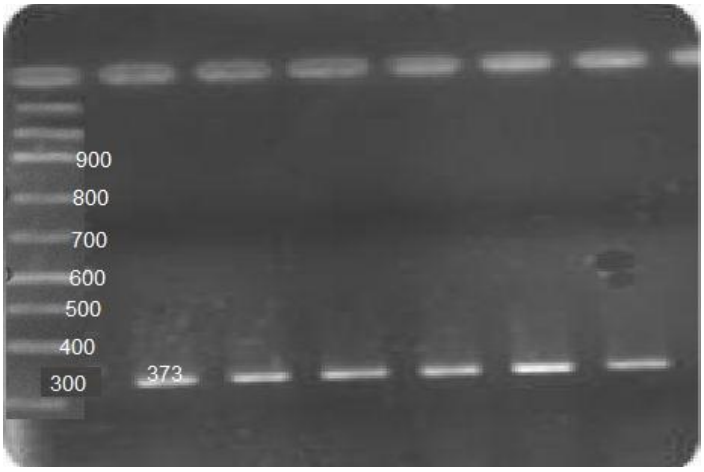
که در معادله بالا Y_{ijkl} بردار هر یک از صفات وزن، Sex_i اثر ثابت جنس، BT_j اثر ثابت تیپ تولد، G_k اثر ثابت ژنوتیپ حیوان و e_{ijkl} خطای باقی مانده است. مقایسات میانگین گروههای ژنوتیپی، تیپ تولد و جنس حیوان با روش توکی کرامر انجام گرفت.

نتایج و بحث

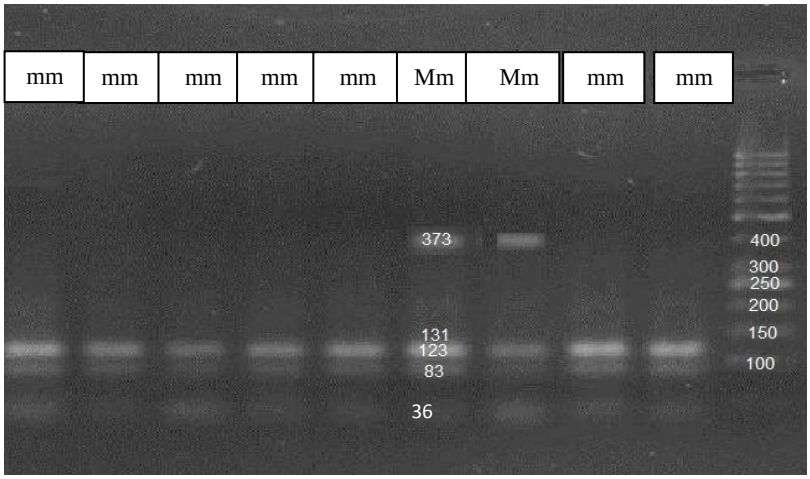
نتایج استفاده از روش استخراج از خون کامل با کیت دنا زیست برای استخراج DNA از لحاظ کمیت و کیفیت DNA و صرف زمان لازم در استحصال DNA برتری خوبی را نشان داد (شکل ۱). قطعه۳۷۳جفت باز از ژن میواستاتین با واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از آغازگرهای اختصاصی، برنامه حرارتی مناسب بدون قطعات غیراختصاصی تکثیر گردید، که با نتایج تیموتی و همکاران(۱۷) بر روی انسان، گاو، گوسفند و بز مطابقت داشت (شکل ۲) .



شکل ۱-کیفیت DNA استخراج شده روی ژل آگارز ۱٪ (چاهک اول:M100Ladder و سایر چاهک ها مربوط به ۶ نمونه)



شکل ۲- محصول PCR برای جفت پرایمر MSTN (قطعه ۳۷۳جفت بازی) بر روی ژل آگاروز ۲٪



شکل ۳–الکتروفورز محصولات حاصل از هضم توسط آنزیم *HaeIII* و ژنوتیپ حیوانات در جایگاه ژن میواستاتین

پس از هضم محصول PCR توسط آنزیم *HaeIII* محصولات هضم روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز گردید و قطعات حاصل از هضم آنزیم برشی نمایان گردیدکه از بین ۳ ژنوتیپ MM، Mm و mm تنها دو ژنوتیپ Mm و mm در این مطالعه مشاهده گردید(شکل ۳).

آنزیم *HaeIII* در قطعه ۳۷۳ جفت بازی اگزون ۳ جایگاه ژن میوستاتین دارای سه منطقه برشی اختصاصی میباشد، شامل ناحیه ۱۳۱ جفت بازی، ناحیه۲۵۴ جفت بازی و منطقه ۳۷۳ جفت بازی می-باشد. در صورت جهش در هر یک از مناطق مذکور باعث می‌گردد تا از دسترس آنزیم خارج گردند. برش در هر سه منطقه منجر به تولید قطعات ۱۳۱، ۱۲۳، ۸۳ و ۳۶ جفت باز می‌گردد. نمونه‌هایی که بر روی ژل آگارز فقط یک باند ۳۷۳ جفت بازی را نشان دهند دارای ژنوتیپ هموزیگوت MM، نمونه‌هایی که دارای باندهای ۳۷۳، ۱۳۱، ۱۲۳، ۸۳ و ۳۶ جفت بازی بر روی ژل آگارز باشند دارای ژنوتیپ هتروزیگوت Mm و نهایتا" نمونه‌هایی که فقط دارای باندهای ۱۳۱، ۱۲۳، ۸۳ و ۳۶ جفت بازی باشند با ژنوتیپ هموزیگوتmm تعیین گردید. شاخص‌های جمعیتی و ژنتیکی شامل فراوانی آلل‌ها، هتروزیگوسیتی، آماره F و عدم تعادل با نرم افزار POPGENE برآوردگردید، که نتایج در جدول ۲ آورده شده است. آللm دارای بیشترین فراوانی (۹۱/۲۵٪) و آلل M دارای کمترین فراوانی (۸/۷۵ ٪) و متناسب با آنها بیشترین فراوانی ژنوتیپی مربوط به ژنوتیپ mm(۸۲/۵٪) و کمترین ژنوتیپ مربوط به Mm (۱۷/۵٪) بودند. صوفی (۲) در مطالعه جایگاه ژن میواستاتین در نژاد گوسفند سنجابی فراوانی ژنوتیپ‌های مشاهده شده را به ترتیب ۱/۳۳٪ =Mm، ۲٪=MM و۹۶/۷۶٪=mm گزارش نمود، که آلل‌های m و M به ترتیب دارای فراوانی ۰/۹۷ و ۰/۰۳ بودند. همانگونه که مشاهده می‌گردد در گوسفند سنجابی بیشترین فراوانی مربوط به ژنوتیپ mm می‌باشد، مقایسه فراوانی آللی نشان می‌دهد، که نتیجه حاصل از تحقیق اخیر با نتیجه صوفی (۲) مطابقت دارد، اما در تحقیق صوفی (۲) هر سه ژنوتیپ گزارش شده است. مطالعه انجام گرفته در نژاد قره‌گل در جایگاه ژن میواستاتین هیچ جهشی در اگزون ۳ ژن نشان نداد (۱۸). نهایتا" نتیجه بررسی چندشکلی جایگاه ژن میواستاتین در نژاد های ماکویی و زل فاقد تنوع گزارش گردید (۱۵).

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت گوسفند لری ایستگاه تحقیقاتی لرستان در جایگاه ژن میواستاتین پارامترهایی همچون، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و هتروزیگوسیتی مشاهده شده محاسبه گردید، که در جدول۲ آورده شده است. در مطالعه اخیر هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده به ترتیب برابر با ۱۶ و ۱۷/۵درصد برآورد گردید. اسماعیل خانیان و همکاران (۱) متوسط هتروزیگوسیتی گله بلوچی ایستگاه عباس آباد را در جایگاه ژن میواستاتین ۰/۶۹ گزارش نمودند. مولائی و همکاران (۵) متوسط هتروزیگوسیتی مشاهده شده در شش نژاد بومی ایران را در جایگاه ژن میواستاتین ۰/۶۴ گزارش کردند. شاخص اطلاعات شانن (I) درکل جمعیت، محاسبه گردید، که برابر با ۰/۳ می باشد، که دلالت بر پایین بودن میزان تنوع ژنتیکی در کل جمعیت دارد. همچنین، شاخص نئی جایگاه ژن میواستاتین در جمعیت لری ۰/۱۶ محاسبه شد، که نشان می‌دهد گله دارای فاصله ژنتیکی کمی هستند و ممکن است به دلیل آمیزش‌های خویشاوندی باشد، که هر ساله در درون گله رخ می‌دهد. محتوای اطلاعات چند شکلی در جایگاه ژن میواستاتین نیز برابر با ۰/۱۴۶ محاسبه گردید. لذا جایگاه مورد مطالعه نشانگر مناسب در مطالعات پیوستگی و مکان یابی محسوب نمی‌گردد (جدول ۲).

نتایج تحقیق با استفاده از آزمون مربع کا نشان می‌دهد، که جمعیت گوسفند لری در تعادل هاردی واینبرگ برای این جایگاه ژنی قرار ندارد، که با نتایج مطالعه صوفی (۲) بر روی نژاد گوسفند سنجابی

مغایرت داشت. عدم تعادل هاردی واینبرگ در جمعیت مورد مطالعه ممکن است به واسطه انتخاب، پایین بودن میزان جهش در جایگاه مورد مطالعه و آمیزش‌های خویشاوندی باشد. انحراف از تعادل هاردی– واینبرگ در سایر مطالعات روی نژادهای ایرانی نیز مشاهده شده است (۱ و ۵). همچنین، با نتایج مطالعه قنبری (۳) در مطالعه تنوع ژنتیکی گوسفند بلوچی، که این جمعیت را در انحراف از تعادل هاردی– واینبرگ گزارش کردند، مطابقت داشت.

جدول ۲–شاخص‌های جمعیتی و ژنتیکی جایگاه ژن میواستاتین در جمعیت لری

معیارهای ژنتیکی		مقادیر برآورد شده
آلل های مشاهده شده (تعداد)		۲
آلل های مؤثر (تعداد)		۱/۹
فراوانی آللی (٪)		
	M	۸/۷۵
	m	۹۱/۲۵
فراوانی ژنوتیپی (٪)		
	Mm	۱۷/۵
	mm	۸۲/۵
	MM	۰/۰
شاخص شانن		۰/۳
محتوای اطلاعات چند شکلی		۰/۱۴۶
شاخص نئی		۰/۱۶
هموزیگوسیتی مورد انتظار (٪)		۸۳/۸۳
هموزیگوسیتی مشاهده شده (٪)		۸۲/۵
هتروزیگوسیتی مورد انتظار (٪)		۱۶/۱۷
هتروزیگوسیتی مشاهده شده (٪)		۱۷/۵

نتایج تجزیه واریانس اثرات ثابت تیپ تولد، جنس حیوان و ژنوتیپ‌های جایگاه مورد مطالعه بر روی ژن میواستاتین بر صفات وزنی در جدول ۳ ارائه گردیده است. ژنوتیپ اثر معنی‌دار بر روی هیچ یک از صفات وزن (وزن تولد، وزن از شیرگیری و وزن ۶ ماهگی) نداشت، البته برای وزن تولد نزدیک به معنی‌داری بود (P<۰/۰۷). لذا ژنوتیپ‌هایmm و Mm عملکرد مشابهی بر صفات وزن دارند، البته فراوانی ژنوتیپ هتروزیگوت در جمعیت بسیار پایین و آلل m تقریبا در جمعیت تثبیت گردیده است. ژنوتیپ MM منجر به بروز هیپرتروفی در ماهیچه‌ها و بزرگ شدن آن می‌گردد، که در جمعیت مورد مطالعه مشاهده نگردید. میانگین حداقل مربعات گروههای ژنوتیپی جایگاه مورد مطالعه و سایر اثرات ثابت در مدل آماری بر صفات وزنی در جدول۴ ارائه گردیده است. نتایج نشان داد، که افراد دارای ژنوتیپ هتروزیگوتMm دارای وزن تولد بالاتر از ژنوتیپ mm هستند (P<۰/۰۵). در سایر وزن‌ها هر چند که میانگین هتروزیگوت‌ها بالاتر از افراد هموزیگوت بودند، اما از لحاظ آماری معنی‌دار نیستند(P>۰/۰۵). در مطالعه ارتباط ژنوتیپ‌های جایگاه ژن میواستاتین با صفات رشد در گوسفندان بومی اندونزی گزارش گردید، که تمام جمعیت مورد آزمایش دارای ژنوتیپ MM هستند، که با تظاهر هیپرتروفی همراه هستند (۱۶)، که با نتایج مطالعه اخیر مغایرت داشت. مطالعه ژن میواستاتین در بره‌های شارولز نشان داد، که حیوانات با ژنوتیپ MM به طور معنی‌داری ماهیچه‌های بزرگ‌تری نسبت به ژنوتیپ‌هایMm و mm دارند، در حالی که اختلاف بین ژنوتیپهایMm و mm معنی‌دار نیست (۹). هک فورد و همکاران (۱۰) در مطالعه جایگاه ژن میواستاتین در نژاد گوسفند رامنی گزارش کردند، که ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های ژن میواستاتین و صفات وزن تولد و وزن از شیرگیری وجود ندارد.

جدول۳–تجزیه واریانس اثرات مختلف فیزیولوژیکی و ژنوتیپ‌های جایگاه ژن میواستاتین بر صفات وزنی در گوسفند لری

	وزن تولد		وزن از شیرگیری		وزن ٦ ماهگی	
منابع تغییرات	میانگین مربعات	Pr>F*	میانگین مربعات	Pr>F	میانگین مربعات	Pr>F
ژنوتیپ	۰/۵۱۲	۰/۰۷۹	۰/۰۰۱۴	۰/۹۹۲	۲۷/۷۵۱	۰/۳۰
تیپ تولد	۰/۲۹۶	۰/۰۸۴	۱۵/۹۱۲	۰/۳۳۴	۱/۷۱۲	۰/۷۹۶
جنس	۰/۱۳۷	۰/۲۰۹	۲۰/۳۷۰	۰/۲۷۵	۱۹/۹۶۷	۰/۳۸۲

* سطح احتمال معنی داری می باشد

نتیجه گیری

هر چند مطالعه جایگاه‌های ژنی می‌تواند دقت انتخاب و سرعت پیشرفت ژنتیکی را افزایش دهند، اما نتایج مطالعه بر روی اگزون ۳ جایگاه میواستاتین در نژاد لری چندشکلی نشان نداد و نشانگر مناسب در مطالعات پیوستگی ژنتیکی و انتخاب به واسطه اطلاعات نشانگر محسوب نمی‌گردد و می‌بایست در مطالعات آینده مکان‌های دیگری از جایگاه میواستاتین یا سایر ژن‌ها بررسی گردند.

جدول٤- میانگین حداقل مربعات بعلاوه خطای استاندارد اثرات ثابت بر صفات وزن تولد، از شیرگیری و شش ماهگی در گوسفند لری.

ژنوتیپ	وزن تولد	وزن از شیر گیری	وزن ٦ ماهگی
Mm	[a]۳/۱۱±۰/۰۴۸	[a]۱۹/۶۳±۰/۶۷۷	[a]۴۴/۳۳±۰/۸۴
mm	[b]۲/۷۹±۰/۰۰۹	[a]۲۰/۳۳±۰/۱۳۵	[a]۴۱/۵۵±۰/۱۶۸
تیپ تولد			
۱قلو	[a]۲/۹۱±۰/۰۱۱	[a]۲۰/۲۸۸±۰/۱۵۶	[a]۴۲/۳۳۱±۰/۱۹۳
۲قلو	[b]۲/۶۸±۰/۰۲۸	[a]۱۸/۳۵۰±۰/۴۰۶	[a]۴۱/۴۵۰±۰/۵۰۴
جنس			
نر	[a]۲/۹±۰/۰۱۷	[a]۲۰/۲۸±۰/۲۱۴	[a]۴۲/۷۹۴±۰/۲۹۶
ماده	[a]۲/۸±۰/۰۱۵	[a]۱۹/۱۴±۰/۲۳۹	[a]۴۱/۳۱۶±۰/۲۶۵

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می باشند($P<0/05$).

منابع

۱- اسماعیل خانیان، س.، ا. نجاتی جورامی.، پ. دانشیار.، و ص. قنبری.۱۳۸۶. بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت گوسفند بلوچی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. مجله علوم وفنون کشاورزی ومنابع طبیعی. ۱۱ (۴۱): صفحه ۳۷۳-۳۸۰.

۲- صوفی، ب. ۱۳۸۶. پلی‌مورفیسم ژن میواستاتین با استفاده از مارکرهای مولکولی در گوسفند سنجابی. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی. دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل. صفحه ۶۹-۸۵.

۳- قنبری، ص. ۱۳۸۱.بررسی مولکولی و تعیین پلی مورفیسم ۱۰ نشانگر میکروساتلایت در گوسفند بلوچی. پایان نامه دوره کارشناسی ارشد دانشگاه زنجان. صفحه ۸۳-۹۰.

۴- مسعودی، ع.، ح. عمرانی.، ع. عباسی.، ا. نجاتی جوارمی.، خ. فرهنگ.، س. اسماعیل خانیان.، و ف. ضیایی. ۱۳۸۴. استفاده از تکنیک-*PCR SSCP* جهت بررسی چند شکلی های ژن میوستاتین و ارتباط آن با صفات تولیدی در گوسفند بلوچی. چهارمین همایش ملی بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران. ص ۱۹-۱.

۵- مولائی، و.، ر. عصفوری.، م. پ. اسکندری نسب.، ص. قنبری.، و م. نیکمرد. ۱۳۸۹. تنوع میکروساتلایت در شش گوسفند نژاد ایرانی. نشریه پژوهش‌های علوم دامی ایران. جلد۲. شماره۲. ص۱۷۸-۱۸۳.

6- Arthur, P. F., M. Makarechian., R. K. Salmon., and M. A. Price. 1990. Plasma growth hormone and insulin concentration in double muscled and normal bull calvs . *Journal of Animal Science*, 68 : 1609 -1615.

7- Belling, R. H. S., D. A. Liberles., S. P. A. Laschi., P. A. O. Brien., and G. H. Tay. 2005. Myostatin and its implications on Animal breeding: a review of *Animal Genetics*. 36 : 1-6.

8- Boman, A., G. Klemetsdal., O. Nafstad., T. Blichfeldt., and D. I. Våge. 2010. Impact of two myostatin (MSTN) mutations on weight gain and lamb carass classification in Norwegian White Sheep (Ovis aries).*Genetics Selection Evolution*, 42 : 4-5.

9- Hadjipavlou, G., O. Matika., A. Clop., and S. C. Bishop. 2008. Two single nucleotide polymorphisms in the myostatin (GDF8) gene have significant association with muscle depth of commercial Charollais sheep. *Animal Genetics*, 39 : 346-353.

10- Hickford, R. H., H. Forrest., Q. Zhou., J. Fang., C. Han., M. Frampton., and A. L. Horrell. 2009. Polymorphisms in the ovine myostatin gene (MSTN) and their association with growth and carcass traits in NewZealand Romney sheep. Immunogenetics, Molecular Genetics and Functional Genomics, doi: 10.1111/j.1365-2052.2009.01.

11- Jahnson, P. l., J. C. Mcewant., K. G. Dodds., R. W. Purchas., and H. T. Blari. 2005.A directed search in the region of GDF8 for quantitative trait loci affecting carcass trait in Texel sheep. *Journal of Animal Science*. 83 : 1998-2000.

12- Kinghorn, B. D. and B. F. Clarke. 1997. Genetic evaluation at individual QTL. *Animal Biotechnology*. 8 : 63-68.

13- Kobolak, J., and E. Gocza. 2002. The role of the myostatin protein in meat quality. A review. *Arch. Tierz. Dummest prf*, 45 : 159-170.

14- Lalitha S. 2000. Primer Premier 5.0. Biotech Software and Internet Report. *The Computer Software Journal for Scientists*, 1: 270–272.

15- Moradi-ShahrBaback, H. 2009. Association polymorphism of Calpastatin gene, Myostatin, Leptin and Potassium genes with economic important trait, Blood metabolite and carcass traits in Persian Makoui, Lori-Bakhtiari and Zel sheep breed. Thesis, Department of Animal Sciences, Faculty ofAgriculture, Tehran University. Tehran, Iran.

16- Sumantri, C., M. Jakaria., H. Yamin., S. Nuraini., and E. Andreas. 2012. Identification of Myostatin Gene

C.960delg locus polymorphism in Indonesian local Sheep by using pcr-sscp method. *Faculty of Animal Science, Bogor Agricultural University*. 36 (3) : 145-151.

17- Timoty, P.L., N. L. Lopez-Corrales., S. M. Kappes., and T. S. Sonstegard. 1997. Myostatin Maps to The interval containing the bovine Mh Locus. *Mammalian Genome*. 8:742-744.

18- Wheeler, T.L., S. D. Shackelford., E. Casas., L. V. Cundiff., and M. Koohmavaie. 2001. The effects of piedomontese inheritance and myostatine genotype on the palatability oflongissimus thoracis, gluteus medius semimembranosus, and biceps femoris. *Journal of animal science*. 79 : 3096 – 3074.

19- Yeh F.C., R. C. Yang., T. B. J. Boyle., Z. H. Ye., and J. X. Mao. 1999. PoPGENE version 3.3, the User-Friendly Shareware for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada. (http://www.ualberta.ca/~fyeh/fyeh).