بررسی چندشکلی آللی ژن میوستاتین و ارتباط آن با صفات رشد و لاشه در مرغ بومی مازندران

- **حسین عطارچی***: گروه علوم دامی، پردیس بین‌الملل دانشگاه فردوسی مشهد، صندوق پستی: ٦٤٩٥٥
- **مجتبی طهمورث‌پور**: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، صندوق پستی: ٩١٧٧٥
- **مجتبی آهنی‌آذری**: دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ١٥٧٣٩
- **محمدهادی سخاوتی**: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، صندوق پستی: ٩١٧٧٥
- **مختار مهاجر**: سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، صندوق پستی: ٨٥٧٩٩

تاریخ دریافت: تیر ١٣٩٥ تاریخ پذیرش: مهر ١٣٩٥

چکیده

پژوهش حاضر با هدف مطالعه چندشکلی ناحیه پروموتر ژن میوستاتین و ارتباط آن با صفات رشد و لاشه در مرغ بومی مازندران انجام شد. برای این منظور تعداد ٢٠٠ قطعه جوجه خروس از مرغ‌های بومی مازندران پرورش داده شده در شرایط یکسان، در سن ١٢ هفتگی کشتار شدند. صفات مورد بررسی، قبل و بعد از کشتار اندازه‌گیری و ثبت شدند. قبل از کشتار از تمامی پرندگان نمونه خون تهیه و استخراج DNA از نمونه‌ها با استفاده از کیت شرکت سیناژن صورت گرفت. سپس جایگاه مورد نظر ژن میوستاتین با استفاده از آغازگرهای اختصاصی آن تکثیر و تعیین ژنوتیپ توسط روش PCR-RFLP با آنزیم اختصاصی آن انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌های فنوتیپی و ژنوتیپی با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ٩,٢ انجام شد. فراوانی هریک از آلل‌های (+) و (−) در جایگاه مورد نظر ژن میوستاتین به‌ترتیب برابر با ٠/٧٧ و ٠/٢٣ برآورد شد. بررسی تعادل هاردی واینبرگ با استفاده از آزمون کای مربع برای ژن میوستاتین نشان داد که جمعیت مورد مطالعه در جایگاه ژنی مورد نظر در تعادل نمی‌باشد. نتایج نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های ژن میوستاتین با صفات وزن زنده در ١٢ هفتگی، وزن لاشه، وزن قلب و وزن سنگدان وجود دارد (P<٠/٠٥). براساس نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که ژن میوستاتین می‌تواند در جایگاه مورد نظر به‌عنوان کاندید برای صفات رشد و لاشه در برنامه‌های اصلاح نژادی مرغ بومی مازندران مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: میوستاتین، چندشکلی، صفات، مرغ بومی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: hossein_attarchi@yahoo.com

مقدمه

مرغان بومی به‌دلیل مقاومت به شرایط نامناسب محیطی و بیماری‌ها یکی از مهم‌ترین ذخایر ژنتیکی هر کشور محسوب می‌شوند. در بسیاری از کشورهای در حال توسعه، خزانه ژنتیکی مرغان بومی هنوز پایه و اساس اصلاح نژاد در بخش طیور را تشکیل می‌دهند. البته اطلاعات اندکی در رابطه با ظرفیت‌ها و ویژگی‌های تولید و تولیدمثلی مرغان بومی وجود دارد(Ghazikhanishad و همکاران، ۲۰۰۷). بنابراین شناخت دقیق این ذخائر ژنتیکی می‌تواند مبنای دقیق‌تری برای برنامه‌های اصلاح نژادی در آینده و نتیجه‌دهی آن‌ها در زمان کوتاه‌تر و استفاده بهینه از منابع موجود در جهت افزایش تولید گردد (دهقان زاده و همکاران، ۱۳۸۳). صفات مهم اقتصادی توسط تعداد زیادی ژن که اثر برخی از آن‌ها زیاد و اثر برخی دیگر کم می‌باشد کنترل می‌شوند. مدل ژن عمده پیشنهاد می‌کند تعداد کمی ژن می‌تواند سهم عمده‌ای از تنوع ژنتیکی را به‌خود اختصاص دهد. پیشرفت‌های اخیر در ژنتیک مولکولی امکان شناسایی و تعیین توالی این ژن‌ها را فراهم نموده است. هم‌چنین پیشرفت‌های ژنتیکی در طول دهه‌های اخیر، بهبود قابل توجهی را در عملکرد طیور ایجاد نموده است (Havenstein و همکاران، ۲۰۰۳). براساس یافته‌های توالی‌یابی، ژن میوستاتین روی کروموزوم شماره ۷ مرغ قرار گرفته است و bp ۵۴۹۳ طول دارد (Burt و همکاران، ۲۰۱۶). این ژن نقش کلیدی در زمینه کنترل رشد ماهیچه‌ها دارد. میوستاتین پروتئینی از خانواده فاکتور رشد متحول کننده بتا (TGF-beta) محسوب می‌شود که این پروتئین به‌عنوان فاکتور ۸ رشد و تمایز نیز شناخته شده است(Karim و همکاران، ۲۰۰۰). میوستاتین مهار کننده رشد ماهیچه‌های اسکلتی می‌باشد و اگر جهشی در ژن میوستاتین اتفاق افتد، باعث تغییر نقش مهاری آن و افزایش عضله می‌شود (Jahnson و همکاران، ۲۰۰۵). در پژوهشی که محققین بر روی چندشکلی ژن میوستاتین و اثر آن بر صفات رشد در مرغ بومی چین انجام دادند، ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی این ژن با افزایش وزن زنده گزارش نمودند(Zhang و همکاران، ۲۰۱۱). حیوانات ماهیچه مضاعف گوشت ظریف‌تر و تردتری تولید می‌کنند. هم‌چنین گوشت حیوانات ماهیچه مضاعف به‌طور معنی‌داری حاوی مقدار چربی کم‌تری است که این ویژگی‌ها به‌طور زیادی منطبق با استانداردهای سلامتی است (Smet و همکاران، ۲۰۰۰). اگرچه روش انتخاب مرسوم براساس ارزش‌های فنوتیپی طیور به‌طور قابل توجهی سرعت رشد و تولید گوشت را در چند دهه گذشته افزایش داده است ولی به‌دلیل آن‌که انتخاب فنوتیپ برتر همواره به معنای انتخاب ژنوتیپ برتر نیست و بسته به میزان دخالت واریانس محیطی در واریانس فنوتیپی، اختلاف بین فنوتیپ و ژنوتیپ وجود خواهد داشت، دقت انتخاب کاهش می‌یابد (Bai و همکاران، ۲۰۰۶). از سوی دیگر انتخاب براساس ارزش‌های فنوتیپی برای صفات کیفیت گوشت قبل از کشتار امکان‌پذیر نمی‌باشد، لذا امروزه انتخاب به‌کمک نشانگرهای مولکولی برای افزایش بازده انتخاب و بهبود عملکرد تولیدی مدنظر می‌باشد و تلفیقی از روش‌های مرسوم انتخاب و روش‌های جدید مولکولی در آینده اصلاح نژاد طیور ترجیح داده خواهد شد (Emara و Kim، ۲۰۰۳). از آن‌جایی که ناحیه پروموتر هر ژن مسئول تنظیم میزان بیان آن ژن می‌باشد لذا تغییر در توالی ناحیه پروموتر می‌تواند باعث تغییر در میزان بیان ژن گردد. نشانگر RFLP با توجه به تکرارپذیری و دقت بالای آن قادر به‌تشخیص چندشکلی در هر جایگاهی از ژنوم می‌باشد(نقوی و همکاران، ۱۳۸۸). هدف از پژوهش حاضر، شناسایی چندشکلی موجود در ناحیه پروموتر ژن میوستاتین، برآورد میزان فراوانی آللی و ژنوتیپی آن و بررسی رابطه بین چندشکلی این الگوهای ژنوتیپی با صفات رشد و لاشه در مرغ بومی مازندران با استفاده از تکنیک PCR-RFLP می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش با استفاده از روش ارزیابی کلوآک تعداد ۲۰۰ قطعه جوجه خروس تعیین جنسیت شده از مرغ‌های بومی مازندران با وزن اولیه یکسان (۰/۶±۳۷/۸ گرم) انتخاب شدند. تمامی جوجه‌ها در شرایط یکسان پرورش داده شده و در سن ۱۲ هفتگی کشتار شدند. برای اندازه‌گیری صفات مورد مطالعه با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم، وزن زنده پرندگان در سن‌های ۴، ۸ و ۱۲ هفتگی اندازه‌گیری شد و پس از کشتار وزن لاشه، قلب، کبد، سنگدان، طحال و چربی حفره شکمی اندازه‌گیری گردید. نمونه‌های گوشت عضله سینه آن‌ها به‌مدت ۱۰ روز در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد و بعد از انجمادزدایی در دمای محیط، صفات مربوط به کیفیت لاشه شامل pH، ظرفیت نگه‌داری آب و چربی داخل عضله‌ای اندازه‌گیری و ثبت گردید. برای تعیین pH گوشت از دستگاه pHمتر بافتی استفاده شد. ظرفیت نگه‌داری آب با اندازه‌گیری وزن نمونه گوشت قبل و بعد از سانتریفیوژ به‌مدت ۴ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه و سپس قرار دادن آن در آون به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد و مجدد وزن‌کشی آن، با استفاده از فرمول مربوطه محاسبه گردید. برای اندازه‌گیری چربی داخل عضله‌ای از دستگاه سوکسله استفاده شد. قبل از کشتار، از تمام پرندگان به‌مقدار ۲ میلی‌لیتر خون از ورید زیر بال، در تیوب‌های حاوی ماده ضدانعقاد EDTA گرفته و نمونه‌های خون اخذ شده تا زمان استخراج DNA در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری گردید. استخراج DNA از نمونه‌های خون با استفاده از کیت شرکت سیناژن و براساس دستور کار شرکت سازنده

انجام شد. برای تعیین کمیت و کیفیت نمونه‌های DNA استخراج شده از دو روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز روی ژل آگارز استفاده گردید. به‌منظور تکثیر یک قطعه ۶۰۵ جفت بازی از ناحیه پروموتر ژن میوستاتین از آغازگرهای استفاده شده توسط Bharani Kumar و همکاران(۲۰۰۷) استفاده گردید که توالی آن‌ها به‌صورت زیر می‌باشد:

F: 5´-CAAAATGTTTATTCCTGCTCA-3´ و

R: 5´-CTAAACAGATCCGGGACAGC -3

شرایط بهینه PCR با حجم نهایی ۱۲ میکرولیتر شامل ۶ میکرولیتر PCR Master Kite (شرکت سینا کلون)، آغازگرها هرکدام ۱/۵ میکرو لیتر با غلظت ۱۰ پیکومول بر میکرولیتر، ۱/۵ میکرولیتر DNA با غلظت ۵۰ تا ۱۰۰ نانوگرم در میکرولیتر و ۱/۵ میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر بود. تکثیر قطعه مورد نظر با استفاده از یک مرحله ابتدایی واسرشته سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰۰ ثانیه و ۳۵ چرخه شامل واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ثانیه، دمای اتصال آغازگرها ۵۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ثانیه، دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ثانیه و یک دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۶۰۰ ثانیه انجام شد. عمل هضم آنزیمی با حجم ۱۲ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر از محصول PCR، ۲ میکرولیتر بافر ۱۰X، ۱میکرولیتر آنزیم برشی Sca I و ۴ میکرولیتر آب مقطر دوبار تقطیر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و برای ۱۶ ساعت بر روی محصول PCR انجام شد. برای مشاهده قطعات هضم شده و تعیین ژنوتیپ از الکتروفورز با ولتاژ ۱۲۰ و زمان ۴۵ دقیقه بر روی ژل آگارز ۲/۵ درصد و رنگ آمیزی ژل با Safe Stain استفاده شد. برای محاسبه فراوانی آلل‌ها، ژنوتیپ‌ها و آزمون کای مربع از نرم‌افزار Popgene۳۲ استفاده گردید. داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از مدل آماری زیردر نرم‌افزار SAS ۹،۲ موردتجزیه و تحلیل قرار گرفت:

$y_{ijk}=\mu+G_i+d_j+e_{ijk}$ که در این مدل y_{ijk}: بردار مشاهدات مربوط به صفات رشدولاشه، μ: اثر میانگین، G_i: اثر ثابت ژنوتیپ (++، +- و --)، d_j: اثر ثابت روز رکوردگیری و e_{ijk}: اثرات باقی‌مانده می‌باشد. آنالیز واریانس با رویه GLM و مقایسه بین میانگین‌ها با آزمون توکی مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

اندازه قطعه تکثیر شده بعد از انجام واکنش PCR برای ژن میوستاتین برابر ۶۰۵ جفت باز بوده است. در اثر برش آنزیم هضمی Sca I، قطعات ۶۰۵، ۳۲۲ و ۲۸۳ جفت بازی برای جایگاه مورد نظر ژن میوستاتین ایجاد شد(شکل ۱). در این تحقیق برای جایگاه مورد نظر در ژن میوستاتین سه ژنوتیپ ++، +- و -- شناسایی شد که به‌ترتیب دارای فراوانی ۰/۶۳۵، ۰/۲۷ و ۰/۰۹۵ بودند و فراوانی آلل‌های + و – به‌ترتیب ۰/۷۷ و ۰/۲۳ بود. بررسی تعادل هاردی-واینبرگ با استفاده از آزمون کای مربع نشان داد که جمعیت مورد مطالعه در جایگاه ژنی مورد نظر در تعادل نمی‌باشد.

شکل ۱: الگوهای RFLP حاصل از برش با آنزیم Sca I برای ژن میوستاتین

M: نشانگر مولکولی ۱۰۰ جفت بازی. +/+، -/+ و -/- : ژنوتیپ‌ها

مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مختلف ژن میوستاتین برای صفات رشد و لاشه در مرغ بومی در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های ژن میوستاتین با صفات وزن زنده در ۱۲ هفتگی، وزن لاشه، وزن قلب و وزن سنگدان وجود دارد ($P<0/05$). نتایج مقایسات میانگین نشان داد که میانگین وزن زنده در سن ۱۲ هفتگی و وزن لاشه برای ژنوتیپ -/- به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از ژنوتیپ‌های +/- و +/+ بوده است ($P<0/05$) ولی به‌لحاظ آماری بین ژنوتیپ‌های +/- و +/+ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. هم‌چنین میانگین وزن قلب و سنگدان برای ژنوتیپ -/- به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از ژنوتیپ +/+ می‌باشد($P<0/05$) ولی به‌لحاظ آماری با ژنوتیپ +/- تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در بقیه موارد بین ژنوتیپ‌ها و صفات مورد بررسی تفاوتی به‌لحاظ آماری مشاهده نشد (جدول ۱).

بحث

در تحقیق حاضر، برای جایگاه ژن میوستاتین بیش‌ترین فراوانی ژنوتیپی آن مربوط به ژنوتیپ ++ و کم‌ترین مربوط به ژنوتیپ -- بوده و هم‌چنین بیش‌ترین فراوانی آللی آن مربوط به آلل + و کم‌ترین مربوط به آلل - است که با نتایج تحقیقات صورت گرفته بر روی بررسی چندشکلی ژن میوستاتین در مرغ بومی هند مطابقت دارد (Bharani Kumar و همکاران، ۲۰۰۷). عدم تعادل هاردی- واینبرگ در جمعیت مورد مطالعه، مطابق با تحقیق صورت گرفته بر روی چندشکلی ناحیه پروموتر ژن میوستاتین در مرغ‌های نژاد راس ۳۰۸ بوده است (معروفی و همکاران، ۱۳۹۰).

جدول ۱: مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مختلف ژن میوستاتین برای صفات رشد و لاشه (میانگین ± انحراف معیار) در مرغ بومی

صفت	ژنوتیپ		
	+/+	+/-	-/-
وزن زنده هفته ۴ (گرم)	۲۸۳/۶ ± ۱۶/۴	۲۹۱/۲ ± ۱۵/۳	۳۰۶/۲ ± ۱۶/۸
وزن زنده هفته ۸ (گرم)	۸۰۱/۳ ± ۴۵/۴	۸۳۵/۰ ± ۴۵/۷	۸۸۵/۵ ± ۴۷/۱
وزن زنده هفته ۱۲ (گرم)	۱۳۷۶/۶ ± ۷۳/۳ b	۱۴۳۷/۹ ± ۷۰/۹ b	۱۶۲۹/۰ ± ۷۴/۸ a
وزن لاشه (گرم)	۹۹۱/۱ ± ۵۰/۸ b	۱۰۴۹/۶ ± ۴۸/۸ b	۱۲۰۵/۵ ± ۵۲/۶ a
وزن قلب (گرم)	۱۰/۱ ± ۰/۶ b	۱۰/۵ ± ۰/۶ ab	۱۱/۹ ± ./۷ a
وزن کبد (گرم)	۳۵/۶ ± ۲/۱	۳۶/۲ ± ۲/۵	۳۷/۲ ± ۲/۳
وزن سنگدان (گرم)	۳۱/۱ ± ۲/۰ b	۳۲/۷ ± ۲/۱ ab	۳۶/۶ ± ۲/۲ a
وزن طحال (گرم)	۲/۵ ± ۰/۲	۲/۵ ± ۰/۳	۲/۶ ± ۰/۲
وزن چربی حفره شکمی (گرم)	۹/۶ ± ۱/۰	۸/۷ ± ۰/۹	۸/۵ ± ۱/۰
pH گوشت	۶/۲ ± ۰/۴	۶/۲ ± ۰/۳	۶/۰ ± ۰/۳
ظرفیت نگه‌داری آب گوشت (درصد)	۴۵/۹ ± ۲/۴	۴۷/۱ ± ۲/۳	۴۶/۸ ± ۲/۲
چربی داخل عضله‌ای (درصد)	۳/۷ ± ./۳	۳/۶ ± ./۳	۳/۳ ± ./۲

در هر ردیف هر دو میانگین با حروف غیرمشابه، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد

این امر احتمالاً ناشی از کوچک‌بودن اندازه جمعیت مورد بررسی و یا سایر عوامل برهم زننده تعادل مانند انتخاب به‌دلیل اجرای برنامه‌های اصلاحی برای این پرندگان می‌باشد. نتایج پژوهش پیشین نشان‌داد که چندشکلی ژن میوستاتین با میزان رشد و وزن بدن در جوجه گوشتی ارتباط معنی‌داری دارد (Xianghai و همکاران، ۲۰۰۷). در پژوهشی دیگر محققین ارتباط چندشکلی ژن میوستاتین را با افزایش وزن بدن در جوجه گوشتی بررسی و یک رابطه معنی‌دار بین این صفت و ژنوتیپ‌های حاصل از ژن میوستاتین را گزارش نمودند (Dementeva و همکاران، ۲۰۱۶). هم‌چنین محققین موافق با نتایج پژوهش حاضر، ارتباط معنی‌داری را بین چندشکلی ژن میوستاتین با صفات وزن بدن در مرغ‌های لاین جوجه گوشتی و مرغ بومی چین گزارش نمودند (Bhattacharya و همکاران، ۲۰۱۳؛ Zhang و همکاران، ۲۰۱۲). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که چندشکلی جایگاه ژنی مورد نظر در ژن میوستاتین با برخی صفات رشد و لاشه در مرغ بومی مازندران ارتباط معنی‌داری دارد. لذا انتخاب به‌کمک نشانگر می‌تواند به‌عنوان یک گزینه مطلوب برای بهبود برنامه‌های اصلاح نژادی مورد توجه قرار گیرد.

منابع

۱. **دهقان‌زاده، ه.؛ میرحسینی، س.ض. و شادپرور، ع. ۱۳۸۳.** بررسی تنوع ژنتیکی مرغان بومی ایران با استفاده از نشانگرهای RAPD. مجله پژوهش و سازندگی. شماره ۶۲، صفحات ۶ تا ۹.

۲. **معروفی، س.؛ مردانی، ک.؛ هاشمی، ع و قادرزاده، م. ۱۳۹۰.** بررسی چندشکلی ژن میوستاتین در مرغ‌های نژاد راس ۳۰۸ با استفاده از روش PCR-SSCP. اولین کنگره ملی علوم و فناوری‌های نوین کشاورزی.

۳. **نقوی، م.؛ قره‌یاضی، ب. و حسینی‌سالکده، ق. ۱۳۸۸.** نشانگرهای مولکولی (چاپ سوم)، انتشارات دانشگاه تهران. ۴۸ صفحه.

۴. **Bai, J.Y.; Zhang, Q. and Jia, X.P., 2006.** Comparison of different foreground and background selection methods in marker-assisted introgression. Acta Genetica Sinica. Vol. 33, pp: 1073-1080.

۵. **Bharani Kumar, S.T.; Ahlawat, S.P.S.; Tantia, M.S. and Vijh, R.K., 2007.** Genetic relationship among chicken populations of india based on SNP markers of myostatin gene. International J of Poultry Science. Vol. 6, pp: 684-688.

۶. **Bhattacharya, T.K. and Chatterjee, R.N., 2013.** Polymorphism of the myostatin gene and its association with growth traits in chicken. Poultry Science. Vol. 92, pp: 910-915.

۷. **Burt, D.W.; Carrl, W.; Fell, M.; Law, A.S.; Antin, P.B.; Maglott, D.R.; Weber, J.A.; Schmidt, C.J.; Burgess, S.C. and Mccarthy, F.M., 2016.** Gallus gallus isolate RJF #256 breed Red Jungle fowl, inbred line UCD001 chromosome 7, Gallus_gallus-5.0, whole genome shotgun sequence. NCBI Reference Sequence: NC_006094.4.

۸. **Dementeva, N.V.; Mitrofanova, O.V.; Tyshchenko, V.I.; Terletskiy, V.P. and Yakovlev, A.F., 2016.** The rate of weight gains and productivity of chicken broiler cross with various polymorphic types of myostatin gene. Vavilov Journal of Genetics and Breeding. Vol. 20, No. 1, pp: 39-43.

۹. **Emara, M.G. and Kim, H., 2003.** Genetic markers and their application in poultry breeding. Poultry Science. Vol. 82, pp: 952-957.

۱۰. **Ghazikhani Shad, A.; Nejati Javaremi, A. and Mehrabani Yeganeh, H., 2007.** Animal model estimation of genetic parameters for most important economic traits in Iranian native fowls. Journal of Biological Sciences. Vol. 10, No. 16, pp: 2787-2789.

۱۱. **Havenstein, G.B.; Ferket, P.R. and Qureshi, M.A., 2003.** Growth, livability and feed conversion of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. Poultry Science. Vol. 82, pp: 1500-1508.

۱۲. **Jahnson, P.L.; Mcewant, J.C.; Dodds, K.G. and Purchas, R.W., 2005.** A directed search in the region of GDF8 for quantitative trait loci affecting carcass trait in Texel sheep. Journal of Animal Science. Vol. 83, pp:1988-2000.

۱۳. **Karim, L.; Coppieters, W.; Grobet, L.; Valentini, A. and Georges, M., 2000.** Convenient genotyping of six myostatin mutations causing double-muscling in cattle using a multiplex oligonucleotide ligation assay. Anim. Genet. Vol. 31, pp: 396-399.

۱۴. **Smet, S.D.; Webb, E.C.; Claeys, E. and Uytterhaegen, L., 2000;** Effect of dietary energy and protein levels on fatty acid composition of intramuscular fat in double muscled Belgian Blue bulls. Meat Science. Vol. 56, pp: 73-79.

۱۵. **Xianghai, Y.E.; Stewart, R.; Brown, L.; Luiz, L.; Jack, C.M. and Susan, J., 2007.** Associations of myostatin gene polymorphisms with performance and mortality traits in broiler chickens. Genet. Sel. Evol. Vol. 39, pp: 73-89.

۱۶. **Zhang, G.; Dai, G.; Wang, J.; Wei, y.; Ding, F.; Li, Z.; Zhao, X.; Xie, K. and Wang, w., 2012.** Polymorphisms in ۵'-upstream regions of the myostatin gene in four chicken breeds and its relationship with growth traits in the Bian chicken. African Journal of Biotechnology. Vol. 11, No. 40, pp: 9677-9682.

۱۷. **Zhang, G.; Zhao, X.H.; Wang, J.Y.; Ding, F.X. and Zhang, L.; 2011.** Effect of an exon 1 mutation in the myostatin gene on the growth traits of the Bian chicken. Stichting Inter. Foundation for Animal Genetics. Vol. 43, pp: 458-459.