(DOI): 10.22034/AEJ.2020.122285

بررسی چندشکلی ژن میوستاتین (MSTN) در اسب‌های عرب ایران

- **مریم جدحاج**: گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران
- **سیامک یوسفی‌سیاه‌کلرودی***: گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، پیشوا، ایران
- **شهره زارع‌کاریزی**: گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

تاریخ دریافت: مهر ١٣٩٨ تاریخ پذیرش: دی ١٣٩٨

چکیده

اسب عرب از قدیمی‌ترین نژادهای اسب جهان است. این نژاد عملکرد بسیار خوبی در مسابقات استقامتی و به‌طورکلی عملکرد ورزشی داشته و در تشکیل برخی نژادهای مهم جهان نقش داشته است. در این تحقیق وجود چندشکلی در دو جمعیت اسب‌های عرب (اصیل و غیر اصیل) خوزستان با استفاده از روش RFLP مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور، خونگیری از ٢٠ رأس اسب نژاد عرب ایران (١٠ نمونه اول از اسب عرب اصیل و ١٠ نمونه بعدی از اسب عرب غیراصیل) انجام شد. از نمونهٔ خون‌های گرفته شده، DNA استخراج گردید و سپس واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای تکثیر ژن میوستاتین انجام شد. محصول PCR تحت تاثیرآنزیم، در واکنش PCR-RFLP برای تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که متوسط هتروزیگوسیته مشاهده شده ٠/٤٧٧ و متوسط هتروزیگوسیته مورد انتظار نیز ٠/٤٧٧ در جمعیت اسب عرب اصیل بود و متوسط هتروزیگوسیته مشاهده شده ٠/٤٩٦ و متوسط هتروزیگوسیته مورد انتظار ٠/٤٨٢ در جمعیت اسب عرب غیراصیل بود. هم‌چنین میانگین تعداد آلل‌های موثر ١/٩١٨ در جمعیت اسب عرب اصیل و ١/٩٣٤ در جمعیت اسب عرب غیراصیل بود. هم‌چنین بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار شاخص شانون در جمعیت اسب عرب اصیل ٠/٦٩٣ و ٠/٥٠٠ بود و بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار شاخص شانون در جمعیت اسب عرب غیراصیل ٠/٦٩٣ و ٠/٥٦٢ بود. تحقیق حاضر نشان داد که در جایگاه‌های ژن میوستاتین در هر دو جمعیت، چندشکلی وجود دارد. از چندشکلی‌های این ژن می‌توان به‌عنوان یک شاخص درشناسایی تفاوت‌های‌موجود در پتانسیل ژنتیکی جمعیت‌های‌مختلف اسب عرب استفاده کرد.

کلمات کلیدی: چندشکلی، ژن میوستاتین (MSTN)، اسب‌های نژاد عرب ایران، RFLP

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: siamak.yousefi1@gmail.com

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.122285

مقدمه

از حدود ۵۰۰۰ تا ۶۰۰۰ سال پیش انسان برای تأمین نیاز خود، آمیزش اسب‌ها را براساس اهداف خود انجام داده است. این امر که به انتخاب مصنوعی معروف است سبب تغییر ژنتیکی در جوامع اسب‌ها و در نتیجه، تولید حیواناتی با توانایی‌های مورد انتظار بوده است (مریدی و همکاران،۱۳۹۱). امروزه نژادهای مختلفی از اسب در جهان وجود دارد که از نظر فعالیت، تیپ، رنگ، وزن و شکل با یکدیگر تفاوت دارند (گلشن و رجبی، ۱۳۸۴). نژادهای بومی در هر کشور به‌عنوان سرمایه ملی تلقی گشته و حفظ و تکثیر آن‌ها ارزش و اهمیت زیادی دارد. سرزمین پهناور ایران به‌علت شرایط جغرافیایی دارای اقلیم‌های متنوعی است، در چنین شرایطی انتخاب‌های طبیعی و مصنوعی موجب شده که نژادهای مختلف حیوانات اهلی با استعدادهای متنوع در این کشور به‌وجود آید (بهروزی‌نیا و همکاران، ۱۳۹۰). اسب عرب ایران که به‌خاطر خصوصیات ویژه آن مورد توجه علاقمندان در سراسر جهان است،درخوزستان، تهران و اکثر نقاط ایران پرورش‌داده می‌شود (خلیلی، ۱۳۸۷).جمعیت این اسب‌طبق آخرین‌آمارگیری‌حدود یکصد هزار رأس می‌باشد. محدوده‌پراکنش اسب اصیل عرب متعلق به تمامی نقاط اسب‌خیز دنیاست. میزان اختلاط اسب عرب با اسب کرد زیاد و با اسب تاربرد و ترکمنی بسیار کم است. مهم‌ترین نکته در مورد اسب عرب ایران آن است که اسب عرب ایران هیچ تفاوتی با اسب عرب مصر ندارد (پورجعفری و همکاران، ۱۳۹۸). میوستاتین فاکتور رشدی است که اندازه عضلات را در ابتدای شروع رشد جنین تنظیم می‌کند. ژن میوستاتین دارای ۳ اگزون و ۲ اینترون می‌باشد (Dall olio و همکاران، ۲۰۱۰). این پروتئین از دو واحد یکسان تشکیل شده و هر مجموعه حاوی ۱۱۰ اسید آمینه است. ژن میوستاتین عضو جدید خانواده بزرگ TGf -β (Transforming growth factor beta) است که به‌صورت تنظیم‌کننده منفی توده عضله اسکلتی عمل می‌کند و در طول تکامل بین گونه‌های مختلف، ساختار و عملکرد خود را حفظ کرده است. از زمان شناسایی تاکنون مطالعات زیادی در ابعاد مختلف در مورد این فاکتور رشد انجام گرفته است، به‌طوری‌که در حال حاضر یکی از مسیرهای احتمالی افزایش قدرت و توده عضلانی بر اثر تمرینات مقاومتی به‌شمار می‌رود (ساعدی و همکاران، ۱۳۹۴). ژن میوستاتین پپتید GDF-8 (Growth and diffrentional factor 8) پروتئینی است‌که توسط ژن میوستاتین کدگذاری می‌شوددرست مثل اعضای خانواده بزرگ فاکتور رشد بتا، به‌صورت یک پروتئین پیش‌ساز ۳۷۶ اسیدامینه‌ای حاوی یک توالی سیگنالی، یک ناحیه N- انتهایی یک ناحیه c - انتهایی سنتز می‌شود که لیگاند فعالی است که پس از شناسایی کارکرد بیولوژیک آن به‌کار گرفته شد. ازجمله اختلالات ژن میوستاتین، بامختل کردن بلوغ آن منجر به تولید دائمی وفعال میوستاتین وبیش‌بیان ژنی آن می‌شود. میوستاتین عمده‌ترین محصول سلول‌های اسکلتی می‌باشد که به گیرنده‌های بافت ماهیچه‌ای به‌نام Activin typell اتصال برقرار می‌کند. حیواناتی که فاقد این پروتئین هستند از طریق درمان توسط مهارکننده میوستاتین فاقد این پروتئین شده‌اند و دارای عضله قابل توجهی می‌باشند. این روش برای شرکت‌های دامداری می‌تواند یک روش اقتصادی مناسب باشد (شریعت‌زاده و همکاران، ۱۳۹۳). جهش‌های طبیعی که در ژن کد کننده میوستاتین در طول تکامل نژادها رخ داده است دارای حجم و رشد عضله را نشان می‌دهد. این جهش به دو صورت، تخریب ژن میوستاتین و یا کاهش سطح رونوشت آن موجب ایجاد فنوتیپ عضله مضاعف در برخی از نژادهای گاو، گوسفند و سگ می‌شوند که با استفاده از تکنیک‌های زیست فن‌آوری برای تخریب ژن میوستاتین، می‌توان فنوتیپ عضله مضاعف را در دیگر نژادهای حیوانات مزرعه‌ای و ازجمله نژادهای بومی کشور ایجاد نماید (Alexandra و همکاران، ۱۹۹۷). افراز و همکاران (۱۳۸۱) با بررسی چندشکلی پروتئین آلبومین، پیش آلبومین، فرا آلبومین، استرازوترانسفرین در دو جمعیت اسب عرب و اسبچه خزر ایران نشان دادند که همه جایگاه‌های بررسی شده در این پژوهش به‌صورت چندشکلی بوده و فنوتیپ‌های متنوعی را سبب گشته‌اند. هم‌چنین آن‌ها نتیجه گرفتند که چندشکلی پروتئین‌های بررسی شده در اسبچه خزر نسبت به اسب عرب بیش‌تر می‌باشد و همین امر افزایش متوسط هتروزیگوسیتی و تعداد آلل‌های موثر بر هر جایگاه را در پی داشت‌که سبب تغییرپذیری‌ژنتیکی بالادر نژاداسبچه‌خزر گشته است. زارع و همکاران (۱۳۹۲) در مطالعه خود تحت عنوان عدم وقوع چندشکلی آللی در دو جایگاه مختلف ژن میوستاتین، از تعداد۱۵۰ راس اسب نژاد کاسپین خونگیری به‌عمل آمد. تمایز اندازه الل‌ها به منظور شناسایی چندشکلی در ناحیه پروموتور (۵-utr) با توجه به حذف و یا اضافه شدن یک قطعه ۲۲۷جفت بازی (bp-۲۲۷-indels) در ناحیه تکثیری برای هر یک از نمونه‌ها با استفاده از ژل آگارز ۱٪ انجام شد و نیز بررسی چندشکلی در ناحیه پروموتور (۵-utr) فقط توسط الل ۲۲۷dp del شناسایی شد. در نهایت نتایج نشان داد که ژنوتیپ تمام نمونه‌ها یکسان بوده و به‌صورت مونومورف بودند. ایشان نتیجه گرفتند که اسب کاسپین از دسته اسب‌های استقامتی است و برای مسابقات با مسافت‌های بالا ایده‌آل می‌باشد. ساعدی و همکاران (۱۳۹۵) به‌منظور بررسی چندشکلی ژن میوستاتین در اسب‌های ترکمن تحقیقاتی انجام داد. در این تحقیق که بر روی ۱۰۳ راس اسب ترکمن انجام شد، استخراج DNA با استفاده از خون صورت گرفت و نتایج PCR نشان داد که ژن میوستاتین در این اسب‌ها، مونومورف بوده‌و فاقد چندشکلی می‌باشد.سلیمانی و همکاران (۱۳۹۸)

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.122285

شناسایی جهش در ۳utr ژن میوستاتین گوسفند تکسل، در ۲۰رأس گوسفند نژاد دالاق و زل مورد بررسی قرار دادند. طول کامل utr ۳ ژن میوستاتین این نژادها دارای ۲۱۸۰ جفت باز با استفاده از واکنش زنجیره پلی‌مراز برای تعیین چندشکلی تک نوکلئوتیدی آلل A تکثیر و ارزیابی شد. با مقایسه توالی مرجع با توالی ۳utr ژن میوستاتین گوسفندان زال و دالاق مشخص گردید این توالی‌ها دارای شباهت بالایی هستند و تنها تفاوت آن‌ها در این جهش است و کلیه نمونه‌ها دارای آلل g+673G بودند و جهش مورد نظر یعنی g+6723G>A در این نژادها مشاهده نشد. نوشری و لواف (۱۳۹۵) تحقیقاتی بر روی چندشکلی پروموتور ژن‌میوستاتین با تکنیک PCR RFlP و ارتباط آن با برخی صفات ریخت‌شناسی در برخی از نژادهای اسب را انجام دادند. در این تحقیق پس از استخراج DNA واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای تکثیر قطعه ۲۰۴ جفت بازی از پروموتور ژن میوستاتین انجام شد. محصول PCR تحت آنزیم Sspl در واکنش PCR RFIP برای تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق حضور دو ژنوتیپ TT و CT و الل C و T را برای جایگاه پروموتور ژن میوستاتین در نمونه‌ها نشان داد. نتایج این تحقیق نشان داد که برای هیچ‌یک از صفات عرض سینه، ارتفاع قد از جدوگاه، عرض و طول گردن در دو نژاد تروبرد و اسب کاسپین برای ژنوتیپ TT به‌ترتیب برابر ۱۱۴/۲۶، ۸۷/۵۹ سانتی‌متر و برای ژنوتیپ CT برابر ۱۰۹/۸۷, ۸۱/۳۸ سانتی‌متر و تفاوت‌های غیرمعنی‌دار بوده است. در این تحقیق که بر روی اسب‌های نژادعرب‌ایران انجام‌شدسعی گردید مشخص شود که آیا ژن میوستاتین در نژاد مذکور دارای چندشکلی است یا خیر، ضمن این‌که فراوانی آللی ژن میوستاتین در جمعیت اسب نژاد عرب ایران نیز مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه خون: به‌منظور انجام این تحقیق، خونگیری از ۲۰ رأس اسب نژاد عرب ایران انجام شد. نمونه‌ها از استان خوزستان (اهواز) از باشگاه‌های سوارکاری تحت نظارت سازمان آب و برق خوزستان گردآوری شد. خونگیری به این صورت انجام شد که ۱۰ نمونه اول از اسب عرب اصیل و ۱۰ نمونه بعدی از اسب عرب غیراصیل گرفته شد. خونگیری از رگ سمت چپ با روش‌های رایج و در تیوب که حاوی ماده ضدانعقاد EDTA شد. سپس نمونه‌ها درون فلاسک حاوی یخ مصنوعی به آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران منتقل گردید و تا شروع تحقیق در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

استخراج DNA و تعیین کیفیت، غلظت و خلوص آن: استخراج DNA توسط کیت (MBST) انجام شد. سپس تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر صورت گرفت (ساعدی و همکاران، ۱۳۹۴).

آغازگرها: در این آزمایش که برای بررسی چندشکلی ژن میوستاتین در اسب اصیل عرب ایرانی مورد بررسی قرار گرفت از یک جفت آغازگر که توسط Clop و همکاران (۲۰۰۶) طراحی شده بود استفاده گردید. این آغازگر یک قطعه دارای ۶۰۰ جفت باز از ژن میوستاتین در اسب است که شامل ناحیه ۳ ترجمه نشده (۳UTR) بود. آغازگرها به‌صورت لیوفیلیزه خریداری و با توجه به دستورالعمل هر آغازگر مقدار مناسبی آب به آن‌ها افزوده شد و پس از رقیق ساختن در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. آغازگرها توسط شرکت سیناژن سنتز شدو قطعه‌ای به‌طول ۶۰۰ جفت بازی از ژن میوستاتین تکثیر گردید. در این تحقیق جهت تکثیر ناحیه پلی‌مورفیک ژن اسب اصیل عرب به طول ۶۰۰ جفت بازی از آغازگرهای اختصاصی با توالی زیر استفاده گردید(جدول ۱).

واکنش PCR در میکروتیوب‌های ۰/۵ میلی‌لیتر و ۰/۲ میلی‌لیتر بسته به نوع دستگاه انجام گرفت. حجم نهایی هر لوله با اضافه کردن ملزومات PCR به هر لوله به ۲۰ میکرولیتر رسید. در تمام مراحل کار، میکروتیوب‌ها روی یخ قرار داشته و قبل از انجام واکنش PCR عوامل شرکت‌کننده در واکنش بر روی یخ کاملاً ذوب شدند در غیراین‌صورت ذوب شدن متفاوت اجزاء باعث می‌شود که مواد با غلظت صحیح در PCR به‌کار نروند. پس از ذوب شدن مواد ورتکس شدند وسپس هر کدام از واکنش‌گرها درحجم‌های مناسب به میکروتیوپ‌ها اضافه‌شدند تا طی برنامه PCR تکثیر DNA ژنومی توسط آغازگرهای مربوطه انجام گیرد. پس از اسپین نهایی در دستگاه ترموسایکلر که از قبل برنامه مورد نظر به آن داده شده بود قرار گرفت. مواد بعد از پایان کار دوباره‌به دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد برگردانده شد. چرخه‌های همانند سازی در PCR دارای سه مرحله بود: الف- مرحله واسرشته‌سازی (Denaturation): در این مرحله‌درجه حرارت بر روی ۹۵درجه‌سانتی‌گراد تنظیم‌شدکه در این‌درجه‌حرارت‌هامولکول‌های دو رشته‌ای DNA از هم باز شده و به‌صورت تک رشته‌ای در می‌آیند، در این زمان است که اجزاء واکنش فعالیت خود را آغاز می‌نمایند. ب- مرحله اتصال آغازگرها (Annealing): دمای مورد نیاز برای این مرحله ۵۸ درجه سانتی‌گراد بود (با توجه به دمای ذوب آغازگر تنظیم می‌شود) این دما باعث اتصال آغازگر به DNA تک رشته‌ای می‌شود. ج- مرحله بسط آغازگرها (Extention): در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بسط آغازگرها با حضور DNA پلی‌مراز مقاوم به حرارت (Taq DNA Polymerase) روی می‌دهد. در دمای ۷۲درجه‌سانتی‌گراد این آنزیم بهترین عملکرد را نشان می‌دهد (جدول ۲).

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.122285

جدول ۱: مشخصات آغازگرها

Name	Seq (5-3)	MW	OD (1000µl)	Nmol	Water/tube(µl)	TM	CG%	Mer
MYs_F	ATCAGCTCACCCTTGACTGTAAC	۶۹۴۳,۵	۳,۵	۱۶۰۶۳	۱۶۶,۳۴	۶۰,۶۵	۴۸	۲۳
MYs_R	TCATCTCTCTGGACATCGTACTG	۶۹۶۵,۵	۳,۵	۱۶,۶۳	۱۶۵,۸۲	۶۰,۶۵	۴۸	۲۳

جدول ۲: سیکل حرارتی مورد استفاده جهت تکثیر ژن میوستاتین اسب

مراحل چرخه PCR	درجه حرارت (سانتی‌گراد)	مدت زمان لازم
واسرشته سازی کلی	۹۵	۳ دقیقه
واسرشته سازی	۹۵	۱ دقیقه
اتصال آغازگرها	۸۵	۱ دقیقه
بسط اولیه	۷۲	۱ دقیقه
بسط نهایی	۷۲	۷ دقیقه

تعداد سیکل‌های لازم برای تکثیر ژن میوستاتین اسب ۳۰ سیکل برای مراحل ۲ تا ۴ درنظر گرفته شد. بعد از این که واکنش PCR با موفقیت انجام شد. برای تشخیص باندهای تکثیر شده، تعیین وزن مولکولی آن‌ها از الکتروفورز ژل آگارز استفاده شد. پس از انجام واکنش PCR برای اطمینان از عمل تکثیر و صحت و میزان DNA تکثیر شده در واکنش، الکتروفورز تیوب‌های خارج شده از دستگاه ترموسایکلر انجام گرفت. جهت رنگ‌آمیزی، ژل مورد نظر را به‌مدت ۱۵ دقیقه در محلول اتیدیوم بروماید ۱۰ میکروگرم/میکرولیتر قرار داده و پس از شستشو با آب مقطر جهت مشاهده در معرض پرتوی ماوراء بنفش قرار داده شد.

برش آنزیمی محصولات PCR: در روش PCR-RFLP پس از انجام PCR و تکثیر قطعه مورد نظر، این قطعه توسط آنزیم‌های کاملاً اختصاصی برش داده می‌شود و اساس تعیین ژنوتیپ در این روش بدین صورت است که در یک آلل برای آنزیم محدودالاثر جایگاه برشی وجود دارد و آنزیم قادر به شناسایی و برش این جایگاه می‌باشد در حالی که در آلل دیگر به‌دلیل وجود جهش نقطه‌ای و تغییر نوکلئوتید، آنزیم قادر به شناسایی و برش جایگاه مورد نظر نمی‌باشد. جهت تعیین ژنوتیپ، نمونه‌ها بعد از هضم بر روی ژل آگارز ۲/۵ درصد با ولتاژ ۱۰۰ ولت الکتروفورز تفکیک می‌شوند. البته لازم به‌ذکر است که باید شرایط را برای هضم آنزیمی بهینه کرد، بدین منظور باید شرایط مختلف از قبیل غلظت‌های متفاوت آنزیم، غلظت‌های متفاوت محصول PCR، آب و بافر و مدت زمان لازم جهت انکوبه کردن آنزیم مورد نظر با آزمون و خطا مورد آزمایش قرار می‌گیرد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها و مشاهدات

تعیین ژنوتیپ: محصول PCR تحت تاثیر آنزیم برشی SspI در واکنش PCR-RFLP برای تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

بعد از عمل هضم آنزیمی نمونه‌ها، برای مشاهده باندها از ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده شد که بر روی ژل آلل‌ها به‌طور مستقیم مشاهده و نام‌گذاری شدند و تعیین ژنوتیپ با توجه به حضور و یا عدم حضور باندها تعیین شد.

بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت مورد مطالعه: برای تخمین فراوانی آللی و ژنوتیپی در این جامعه و هم‌چنین محاسبه تعادل هاردی- واینبرگ از آزمون کای‌اسکور (Chi-Squre) استفاده شد. در این مطالعه احتمال برقراری تعارل هاردی-واینبرگ با استفاده از معیار کای‌اسکور با استفاده از نرم‌افزار Pop Gene 32 مورد آنالیز قرارگرفت (Yeh و همکاران، ۱۹۹۹).

برآورد میزان وفور ژنی وژنوتیپی:

$$P_j = \frac{2f(A_jA_j) + \sum_{i \neq j}}{2N} \quad P_i = \frac{2f(A_iA_i) + \sum_{i \neq j}}{2N}$$

که در این روابط: P_i= وفور آلل i ام، P_j= وفور آلل j ام، f= تعداد افراد تعیین ژنوتیپ شده، N= تعداد کل افراد در جامعه

برای بررسی وجود یا عدم وجود تعادل هاردی- واینبرگ از فرمول زیر استفاده می‌شود:

$$X^2=\sum_{i=1}^{m}\sum_{j=1}^{i}\left(\frac{(O_{ij}-E_{ij})^2}{E_{ij}}\right)$$

که در این رابطه: X^2= شاخص آماری کای‌اسکور، m= تعدادآلل‌ها در جایگاه مورد نظر، O_{ij}= وفور مشاهده شده برای ژنوتیپ A_iA_j، E_{ij}= وفور مورد انتظار برای ژنوتیپ A_iA_j

وفور مورد انتظار با استفاده از رابطه ذیل برآورد می‌گردد:

$$E_{ij}=\begin{cases}2NP_iP_j & if\ i \neq j\\ NP_i^2 & if\ i=j\end{cases}$$

در این رابطه : E_{ij}= وفور مورد انتظار برای ژنوتیپ A_iA_j، P_i= وفور آلل i ام در جایگاه مورد نظر، P_j= وفور آلل j ام در جایگاه مورد نظر، N= تعداد کل افراد در جامعه

برآورد تعداد آلل مؤثر:

$$N_e=\frac{1}{H_i}=\frac{1}{\sum_{i=1}^{n}P_i^2}$$

که در این رابطه : N_e= تعداد آلل های مؤثر، H_i= هموزیگوسیتی درهر لکوس، P_i= فراوانی آلل i ام

شاخص تنوع شانون به‌عنوان سنجه‌ای از تنوع گونه‌ای محاسبه شد:

I= Σ -pilnpi

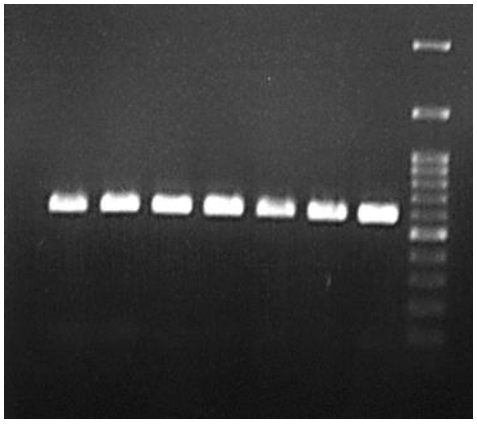
pi فراوانی آلل i در یک جایگاه معین است

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.122285

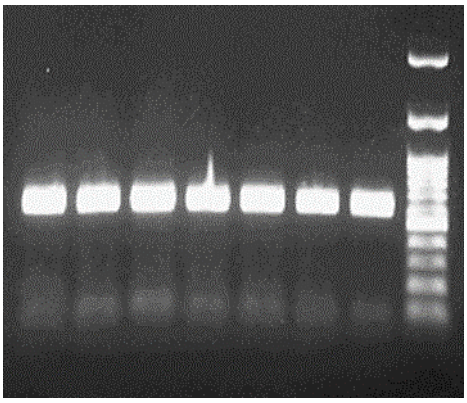
نتایج

نتایج حاصل از الکتروفورز DNA استخراج شده بر روی ژل آگارز ۱٪: کیفیت DNA استخراج‌شده بااستفاده از کیت استخراج DNA شرکت سینا ژن در حد مطلوبی قرار داشت و نمونه‌ها فاقد هرگونه آلودگی بودند. تراکم زیاد باندها دلیل بر حجم زیاد و غلظت بالای DNA استخراجی است (شکل ۱).

نتایج حاصل از الکتروفورز محصول PCR برروی ژل آگارز: پس از انجام واکنش PCR جهت اطمینان یافتن از انجام صحیح واکنش و تکثیر صحیح قطعه مورد نظر از ژن میوستاتین انجام الکتروفورز ضروری می‌باشد. در این تحقیق نیز بلافاصله پس از اتمام PCR تعدادی از نمونه‌ها به‌صورت تصادفی انتخاب و بر روی ژل آگارز مورد بررسی قرارگرفتند که همان‌طورکه مشاهده می‌شود باند حاصل از تکثیر قطعه مورد نظر از ژن میوستاتین با توجه به پرایمر اختصاصی در نمونه‌ها به روی ژل تشکیل شد (شکل ۲).



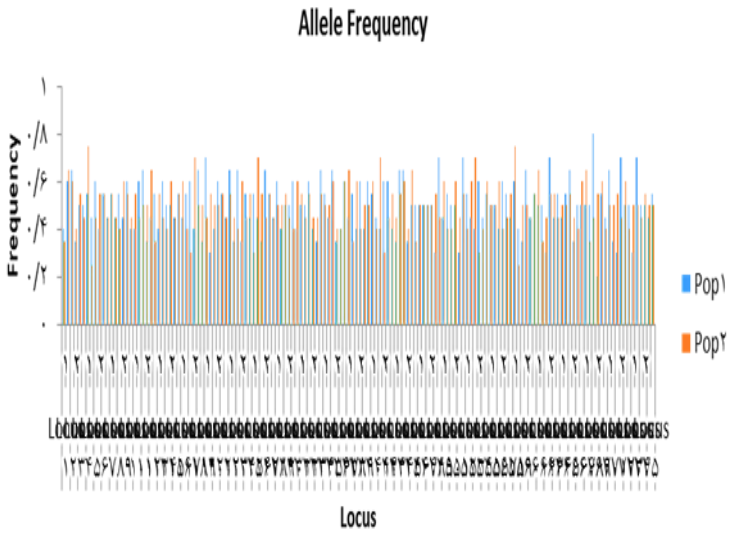
شکل ۱: نتیجه کیفیت استخراج DNA ژنومیک



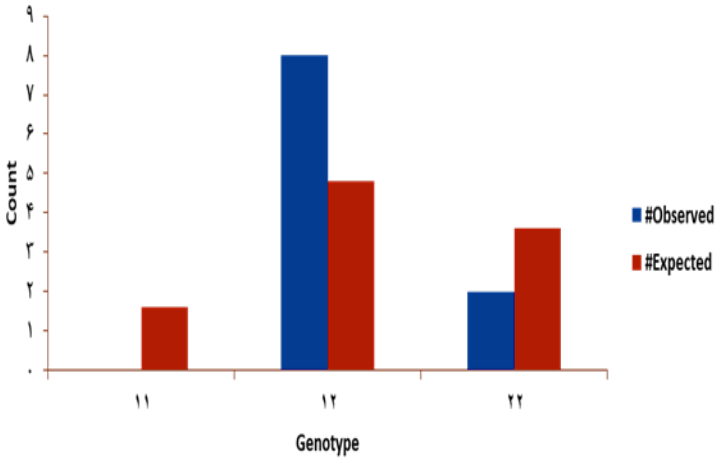
شکل ۲: تکثیر قطعه ۴۰۶ جفت بازی از ژن میوستاتین

از مجموع ۵۲۷ جایگاه مورد مطالعه، پس از حذف فواصل و داده‌های از دست رفته ۴۷۱ جایگاه مورد بررسی قرار گرفت که از این تعداد ۴۰۰ جایگاه مونومورف بودند و در ۷۱ جایگاه پلی‌مورف (چندشکل) دیده شد.

تجزیه وتحلیل آماری ومحاسبه تعادل هاردی واینبرگ: فراوانی‌های ژنی و ژنوتیپی برای ۲۰ نمونه از اسب‌های‌موردبررسی و هم‌چنین تعادل هاردی-واینبرگ به‌همراه آزمون کای‌اسکور برای ژن میوستاتین مورد آزمون قرار گرفت. همان‌طوری‌که ملاحظه می‌شود مطالعه‌بر روی ۷۵ لوکوس‌در هر دو جمعیت انجام شده است و نتایج آن در جدول ۳ آمده است. براساس نتایج به‌دست آمده تنها سه جایگاه در دو جمعیت از تعادل هاردی- واینبرگ انحراف معنی‌دار نشان دادند ($p<0/05$). فراوانی آللی در دو جمعیت مطالعه شده و در ۷۵ لوکوس مورد بررسی قرار گرفت و نشان داد نسبت به هم هم‌بارزند (شکل ۳).

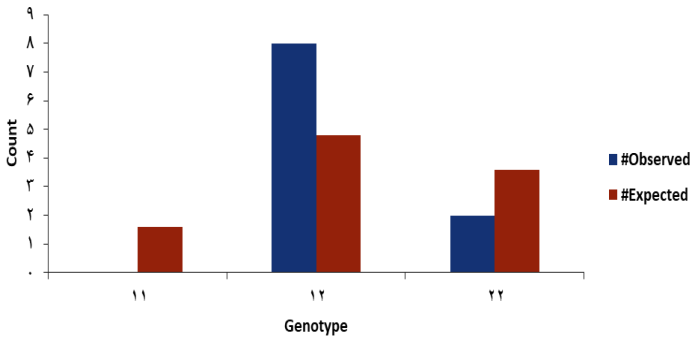


شکل ۳: نمودار فراوانی آللی در دو جمعیت مورد بررسی

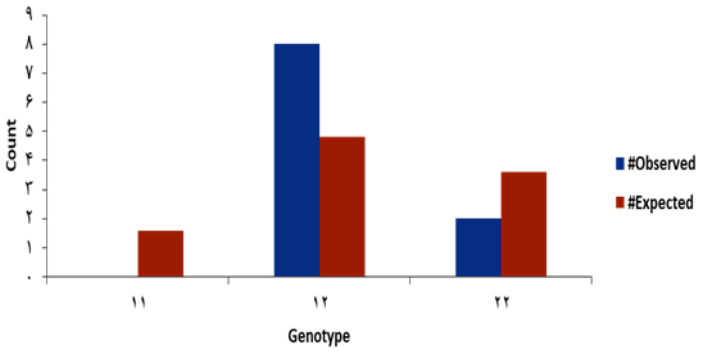


شکل۴: نمودار ژنوتیپ مشاهده شده در مقایسه با مورد انتظار در Locus۱۰ در جمعیت اول

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.122285



شکل ۵: نمودار ژنوتیپ مشاهده شده در مقایسه با مورد انتظار در Locus۲۰ در جمعیت اول



شکل ۶: نمودار ژنوتیپ مشاهده شده در مقایسه با مورد انتظار در Locus۲۳ در جمعیت دوم

جدول۳: نتایج آزمون کای‌اسکور جهت تعادل هاردی واینبرگ

لوکوس‌های	کای اسکور		درجه آزادی		احتمال		معنی‌داری	
مورد بررسی	جمعیت ۱	جمعیت ۲	جمعیت۱	جمعیت ۲	جمعیت۱	جمعیت ۲	جمعیت۱	جمعیت۲
Locus10	۴/۴۴۴	۱/۷۱۵	۱	۱	۰/۰۳۵	۰/۱۹۰	*	ns
Locus20	۴/۴۴۴	۰/۴۰۰	۱	۱	۰/۰۳۵	۰/۵۲۷	*	ns
Locus23	۱/۱۶۰	۴/۴۴۴	۱	۱	۰/۲۸۱	۰/۰۳۵	ns	*

* ns : غیرمعنی‌دار P<۰/۰۵

جدول ۴: میانگین و خطای معیار در مجموع لوکوس‌ها برای هر جمعیت اسب عرب مورد بررسی

جمعیت		اندازه نمونه	تعداد آل‌ها	اندازه آل‌های موثر	شاخص شانون	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	هتروزیگوسیتی مورد انتظار	هتروزیگوسیتی مورد انتظار نااریب	شاخص تثبیت
جمعیت ۱	میانگین	۱۰/۰۰۰	۲/۰۰۰	۱/۹۱۸	۰/۶۷۰	۰/۴۷۷	۰/۴۷۷	۰/۵۰۲	۰/۰۰۰
	خطای معیار	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۱۱	۰/۰۰۴	۰/۰۱۹	۰/۰۰۳	۰/۰۰۴	۰/۰۳۸
جمعیت ۲	میانگین	۱۰/۰۰۰	۲/۰۰۰	۱/۹۳۴	۰/۶۷۵	۰/۴۹۶	۰/۴۸۲	۰/۵۰۷	-۰/۰۲۹
	خطای معیار	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۱۰	۰/۰۰۳	۰/۰۱۸	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۳۷

جدول ۵: میانگین کل و خطای معیار در مجموع لوکوس‌ها و جمعیت‌های اسب عرب مورد بررسی

	اندازه نمونه	تعداد آل‌ها	اندازه آل‌های موثر	شاخص شانون	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	هتروزیگوسیتی مورد انتظار	هتروزیگوسیتی مورد انتظار نااریب	شاخص تثبیت
میانگین	۱۰/۰۰۰	۲/۰۰۰	۱/۹۲۶	۰/۶۷۲	۰/۴۸۷	۰/۴۷۹	۰/۵۰۵	-۰/۰۱۵
خطای معیار	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۸	۰/۰۰۲	۰/۰۱۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۲۷

بحث

استخراج DNA توسط کیت MBST، مقادیرمناسبی از DNA ژنومی را حاصل کرد که‌در کنار DNA λ به‌راحتی قابل ارزیابی‌می‌باشد. همان‌طوری‌که انتظار می‌رفت یک قطعه از ژن میوستاتین تکثیر شده است. هضم محصولات PCR، چندشکلی را در ناحیه مورد بررسی در دو جمعیت اسب عرب نشان داد که وجود دو آلل که به‌صورت هم‌بارز عمل می‌کنند وجود دارد. نتیجه حاصل از این تحقیق نشان داد که ژن میوستاتین در دو جمعیت اسب عرب دارای چندشکلی بود. وجود تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت مورد مطالعه دلیلی بر صحت نمونه‌گیری بوده و از طرف دیگر بیانگر عدم انتخاب ژنتیکی در راستای اصلاح نژاد برای ژن میوستاتین در دو جمعیت از اسب عرب می‌باشد. به‌دلیل این‌که در این تحقیق فقط چندشکلی موجود، مورد مطالعه بوده و ارتباط این چندشکلی با صفات دیگر بررسی نشده است، لذا هیچ‌گونه نظری در مورد مطلوب بودن آلل‌ها نمی‌توان ابراز داشت و تنها می‌توان به نتایج حاصل از مطالعات قبلی اکتفا نمود. ژنوتیپ

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.122285

مشاهده شده در مقایسه با ژنوتیپ مورد انتظار در جمعیت اسب‌های اصیل عرب در جایگاه‌های ۱۰ و ۲۰ با سایر جایگاه‌ها اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ($p<0/05$). هم‌چنین ژنوتیپ مشاهده شده در مقایسه با مورد انتظار در جمعیت اسب‌های عرب غیراصیل در جایگاه ۲۳ با سایر جایگاه‌ها تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($p<0/05$). تعداد کم نمونه‌های مورد بررسی ممکن است دلیل اصلی این اختلافات می‌باشد. زارع و همکاران (۱۳۹۲) در تحقیقی که بر روی ۱۵۰ نمونه اسب کاسپین انجام دادند نشان دادند که چندشکلی آللی در ژن میوستاتین در اسب‌هایی که مطالعه کرده بودند وجود نداشت. درحالی‌که در این تحقیق چندشکلی در دو جمعیت اسب عرب دیده شد که این اختلاف ممکن است به‌علت تفاوت در نژاد و یا روش و تکنیک عملیات ژنتیکی انجام شده باشد. نوشری و لواف (۱۳۹۵) چندشکلی ژن میوستاتین را در ۱۲۰ اسب از نژادهای الدنبرگ، ترکمن، اسب کاسپین و تروبرد، مورد مطالعه قرار دادند و نشان دادند که چندشکلی ژن مذکور در همه نژادها وجود داشت و جامعه در تعادل هادی- واینبرگ بود. نتایج مطالعات آن‌ها با تحقیق اخیر هم‌خوانی داشت. ساعدی و همکاران (۱۳۹۵) به بررسی چندشکلی ژن میوستاتین در اسب‌های نژاد ترکمن پرداختند. این تحقیق که بر روی ۱۰۳ راس اسب ترکمن انجام شد، نمایانگر عدم چندشکلی و مونومورف بودن حیوانات به‌لحاظ این جایگاه بود. در صورتی‌که در این تحقیق چندشکلی در دو جمعیت اسب عرب دیده شد که این اختلاف ممکن است به‌علت تفاوت در نژادهای مطالعه شده باشد. بناءآبادی و همکاران (۱۳۹۶) با مطالعه تنوع ژنتیکی اسب‌های عرب و کاسپین با استفاده از مارکرهای ریزماهواره نشان دادند که متوسط هتروزیگوسیته مشاهده شده ۰/۷۶۱ در اسب عرب و ۰/۷۹۹ در اسب کاسپین و هم‌چنین متوسط هتروزیگوسیته مورد انتظار ۰/۷۹۹ در اسب عرب و ۰/۸۴ در اسب کاسپین بود. درحالی‌که در مطالعه اخیر متوسط هتروزیگوسیته مشاهده شده ۰/۴۷۷ و متوسط هتروزیگوسیته مورد انتظار نیز ۰/۴۷۷ در جمعیت اسب عرب اصیل بود و متوسط هتروزیگوسیته مشاهده شده ۰/۴۹۶ و متوسط هتروزیگوسیته مورد انتظار ۰/۴۸۲ در جمعیت اسب عرب غیراصیل بود. دلیل این اختلافات احتمالاً ناشی از ناکافی‌بودن تعداد نمونه‌ها و تفاوت در نژادهای مورد مطالعه، بود. البته مطالعات بناءآبادی و همکاران (۱۳۹۶) نشانگر وجود پلی‌مورفیسم در نمونه‌ها بود که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی داشت. علامجدی و همکاران (۱۳۹۶) به بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت اسب کرد ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره پرداختند. آن‌ها نتیجه گرفتند که جایگاه‌های مورد بررسی در جمعیت اسب کرد، چندشکلی بالایی را نشان دادند. در تحقیق اخیر نیز با این که چندشکلی دیده شد ولی تفاوت در میزان چندشکلی می‌تواند تابع تفاوت در نژادهای مورد مطالعه و ناکافی‌بودن تعداد نمونه‌ها باشد.

سموزاد و همکاران (۱۳۹۱) با بررسی تنوع ژنتیکی در اسب اصیل ترکمن ایران با استفاده از ۴ جایگاه ریزماهواره نشان دادند که بیش‌ترین مقدار هتروزیگوسیتی ۰/۸۸۴۷ و کم‌ترین مقدار این معیار ۰/۸۰۳۹ بود. هم‌چنین بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار شاخص شانون ۲/۲۶۱۷ و ۲/۰۵۳۲ بود. ضمناً نتایج نشان دادند که جایگاه‌های مطالعه شده چندشکلی بالایی دارند. درحالی‌که در مطالعه اخیر حداکثر هتروزیگوسیتی مشاهده شده در هر دو جمعیت مورد بررسی ۰/۸۰۰۰ و کم‌ترین مقدار این معیار ۰/۲۰۰۰ بود. هم‌چنین بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار شاخص شانون در جمعیت اسب عرب اصیل ۰/۶۹۳ و ۰/۵۰۰ بود و بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار شاخص شانون در جمعیت اسب عرب غیراصیل ۰/۶۹۳ و ۰/۵۶۲ بود. از آن‌جایی‌که مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار برای یک جمعیت خاص که در تعادل هاردی-واینبرگ نشان‌دهنده کل ژنوتیپ‌ها (مجموع فراوانی نسبی هموزیگوت‌ها و هتروزیگوت‌ها) است و معیاری برای اندازه‌گیری تنوع است و هم‌چنین شاخص تنوع شانون نیز به‌عنوان سنجه‌ای از تنوع گونه‌ای مطرح می‌باشد، لذا اختلاف نژادها موجب تفاوت به‌وجود آمده در مطالعات ذکر شده، به‌شمار می‌آید.

مریدی و همکاران (۱۳۹۱) به مطالعه ساختار ژنتیکی اسب‌های بومی ایران با استفاده از توالی D-loop ژنوم میتوکندریایی پرداختند و نتیجه گرفتند که تنوع ژنتیکی بالا و شباهت ژنتیکی در برخی از جمعیت‌های مورد مطالعه وجود دارند. هم‌چنین در این مطالعه مشخص شد که اکثر جمعیت‌ها با هم تفاوت نسبی را دارا می‌باشند که با نتایج حاصل از این تغییر مطابقت ندارد که علت آن تفاوت در نوع و تعداد جمعیت نژادهای مورد مطالعه و نوع تکنیک انجام آزمایش‌های مولکولی است. سهرابی و همکاران (۱۳۸۴) با بررسی چندشکلی ژنتیکی در نمونه‌ای از جمعیت اسبچه خزر با استفاده از نشانگرهای RAPD نشان دادند که متوسط هتروزیگوسیتی و تعداد آلل‌های موثر جمعیت به‌ترتیب ۰/۲۱۶۱ و ۱/۳۷۲ بود. درحالی‌که در مطالعه اخیر متوسط هتروزیگوسیته مشاهده شده ۰/۴۷۷ در جمعیت اسب عرب اصیل بود و متوسط هتروزیگوسیته مشاهده شده ۰/۴۹۶ در جمعیت اسب عرب غیراصیل بود هم‌چنین میانگین تعداد آلل‌های موثر ۱/۹۱۸ در جمعیت اسب عرب اصیل و ۱/۹۳۴ در جمعیت اسب عرب غیراصیل بود. اختلاف بین نژادهای مورد بررسی موجب تفاوت به‌وجود آمده در مطالعات ذکر شده، به‌شمار می‌آید. کم بودن فاصله ژنتیکی بین این دو جمعیت اسب عرب اصیل و اسب عرب غیراصیل می‌تواند به‌دلیل بنیان ژنتیکی مشترک و منشأ نژادی یکسان آن‌ها باشد. ضمناً با توجه به این که دو جمعیت مورد مطالعه از تنوع ژنتیکی کمی برخوردار می‌باشند و با عنایت به اهمیت وجود تنوع ژنتیکی در حفظ و بقاء نژادهای بومی می‌توان با افزایش اندازه مؤثر جمعیت و کنترل آمیزش‌ها از کاهش بیش‌تر تنوع و افزایش هم‌خونی این جوامع با ارزش جلوگیری به‌عمل آورد.

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.122285

منابع

۱. **اعلامجدی، م.؛ مهربانی‌یگانه، ح. و صادقی، م.، ۱۳۹۶.** بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت اسب کرد ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. مجله علوم دامی ایران. دوره ۴۸، شماره ۳، صفحات ۳۳۵ تا ۳۴۲.

۲. **افراز، ف.ا.؛ اسماعیل‌خانیان، س.؛ رستگاری، ا. و امینی، ف.، ۱۳۸۱.** بررسی نشانگرهای ژنتیکی خون در جمعیت‌های مختلف اسبان ایران: چندشکلی پروتئین آلبومین، پیش آلبومین، فرا آلبومین، استرازوترانسفرین در دو جمعیت اسب عرب و اسپچه خزر ایران. مجله پژوهش و سازندگی. شماره ۵۴، صفحات ۴۰ تا ۴۴.

۳. **بناءآبادی، ح.؛ مشایخی، م.ر.؛ حسن‌پور، ع. و ایوبی، م.ر.، ۱۳۹۶.** مطالعه تنوع ژنتیکی اسب‌های عرب و کاسپین با استفاده از مارکرهای ریزماهواره. مجله‌پژوهش‌های علوم دامی. دوره ۲۷، شماره ۳، صفحات ۱۷۵ تا ۱۸۳.

۴. **بهروزی‌نیا، ب.؛ میرحسینی، س.ض.؛ افراز، ف.؛ سهرابی، ع.؛ محمدی، س.ا.؛ شهبازی، ص. و دلیرصفت، س.ب.، ۱۳۹۰.** توصیف ژنتیکی دو جمعیت اسب ترکمن ایرانی مناطق ترکمن صحرا و جرگلان با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره . نشریه پژوهش‌های علوم دامی ایران. جلد ۳، شماره ۱، صفحات ۶۳ تا ۶۶.

۵. **پورجعفری، ف.؛ شجاعی، ب. و شریفی، ح.، ۱۳۹۸.** ارزیابی بیومتریک ناحیه‌ی سر اسب عرب اصل ایرانی. مجله دامپزشکی ایران، دوره ۱۵، شماره ۱، صفحات ۲۵ تا ۳۳.

۶. **خلیلی، م.، ۱۳۸۷.** اسب و آن‌چه من می‌دانم. انتشارات ذره. ۶۹۰ صفحه.

۷. **زارع، م.؛ رحیمی، ق.؛ نجاتی‌جوارمی، ا. و شکری، ح. ۱۳۹۲.** عدم وقوع چند شکلی آللی در دو جایگاه مختلف ژن میوستاتین، موثر بر سرعت در اسب نژاد کاسپین. همایش ملی پدافند غیر عامل در بخش کشاورزی. جزیره قشم.

۸. **ساعدی، ا.؛ آهنی‌آذری، م.؛ حسنی، س. و حسنی‌بافرانی، ع.ر. ۱۳۹۴.** بررسی چندشکلی ژن میوستاتین (MSTN) در اسب‌های ترکمن ایران. کنفرانس جهانی رویکردهای نوین در کشاورزی و محیط‌زیست در راستای توسعه پایدار و تولید ایمن.

۹. **سلیمانی، س.؛ سخاوتی، م.ه. و جوادمنش، ع.، ۱۳۹۸.** توالی یابی و بررسی بیوانفورماتیکی ایجاد توالی هدف ریز RNA های سرکوب‌گر در '3 UTR ژن میوستاتین برخی گوسفندان بومی ایران. نشریه پژوهش‌های علوم دامی ایران. جلد ۱۱، شماره ۱، صفحات ۱۱۱ تا ۱۱۹.

۱۰. **سموزاد، م.؛ نصیری، م.ر.؛ اسلمی‌نژاد، ع.ا.؛ طهمورث‌پور، م.؛ دوستی، م.؛ غیادی، ع. و قوتی‌رودسری، ش.، ۱۳۹۱.** بررسی تنوع ژنتیکی در اسب اصیل ترکمن ایران با استفاده از ۴ جایگاه ریزماهواره. مجله پژوهش‌های علوم دامی ایران. دوره ۴، شماره ۴، صفحات ۳۴۵ تا ۳۵۱.

۱۱. **سهرابی، ع.ر.، میرحسینی، س.ض.؛ افراز، ف. و اسماعیل خانیان، س.، ۱۳۸۴.** بررسی چندشکلی ژنتیکی در نمونه‌ای از جمعیت اسبچه خزر با استفاده از نشانگرهای RAPD. مجله پژوهش و سازندگی. شماره ۶۹، صفحات ۳۶ تا ۴۰.

۱۲. **شریعت‌زاده، س.م.؛ قاضی‌خانی‌شاد، ع.؛ خدایی‌مطلق، م. و مهدیه، م.، ۱۳۹۳.** ارزیابی چند شکلی ژن میوستاتین در گوسفند نژاد فراهانی با استفاده از روشPCR-RFLP. مجله سلول و بافت. دوره ۵، شماره ۲، صفحات ۱۵۷ تا ۱۶۳.

۱۳. **گلشن، ع. و رجبی، س.، ۱۳۸۴.** معرفی اسب ترکمن در ایران. ناشر پژواک کیوان. تهران. ۲۲۰ صفحه.

۱۴. **مریدی، م.؛ مسعودی، ع.ا. و واعظ‌ترشیزی، ر.، ۱۳۹۱.** مطالعه ساختار ژنتیکی اسب‌های بومی با استفاده از توالیD-LOOP ژنوم میتوکندری. نشریه پژوهش‌های علوم دامی ایران. جلد۴۳، شماره ۲، صفحات ۱۷۳ تا ۱۸۲.

۱۵. **نوشری، ع.ر. و لواف، ا.، ۱۳۹۵.** شناسایی چندشکلی پروموتر ژن میوستاتین با تکنیک RFLP-PCR و ارتباط آن با برخی صفات ریخت‌شناسی در برخی نژادهای اسب. تحقیقات تولیدات دامی. دوره ۵، شماره ۴، صفحات ۵۸ تا ۶۹.

۱۶. **Alexandra, C.; Pherron, Mc. and Se-Jin, L., 1997.** Double muscling in cattle due to mutation in the myostatin gene. Proceedings of the National Academy of Sciences. USA. Vol. 94, pp: 12457-12461.

۱۷. **Clop, A.; Marcq, F.; Takeda, H.; Pirottin, D.; Tordoir, X.; Bibe, B.; Bouix, J.; Caiment, F.; Elsen, J.M.; Eychenne, F.; Larzul, C.; Laville, E.; Meish, F.; Milenkovic, D.; Tobin, J. and Charlier, C.M., 2006.** A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep. Nature Genetics. Vol. 38, pp: 813-818.

۱۸. **Dall Olio, S.; Fontanesi, L.; Costa, L.; Tassinari, N.; Minieri, M. and Falaschini, A., 2010.** Analysis of horse myostatin gene and identification of single nucleotide polymorphism inbreed of different morphological types. J Biomedical Technology. Vol. 10, pp: 1155-1165.

۱۹. **Yeh, F.C.; Yang, R. and Boyle, T., 1999.** POPGENE version 1.31, Microsoft windows based free ware for population genetic analysis, University of Alberta. Edmonton. Canada.

(DOI): 10.22034/AEJ.2020.122285

Scientific Research Journal of Animal Environment Vol. 12, No. 4, Winter 2020

Study on MSTN Gene Polymorphism in Iranian Arab Horses

- **Maryam Jadhaj:** Department of Genetics and Biotechnology, Faculty of Biological Science, Varamin- Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
- **Siamak Yousefi Siahkalroodi*:** Department of Biology, Faculty of Biological Science, Varamin- Pishva Branch, Islamic Azad University, Pishva, Iran
- **Shohreh Zare Karizi:** Department of Genetics and Biotechnology, Faculty of Biological Science, Varamin- Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

Received: October 2019 Accepted: January 2020

Keywords: Polymorphism, Myostatin Gene (MSTN), Iranian Arabian Horses, RFLP

Abstract

The Arabian horse is one of the oldest horse breeds in the world. This race has performed well in endurance races and in general athletic performance and has been instrumental in the formation of some of the world's leading races. In this case, polymorphism was investigated in two Arab (original and non-authentic) Khuzestan regions using RFLP method. For this purpose, blood samples were taken from 20 Iranian Arabian horses (the first 10 samples of the original Arabian horse and the next 10 samples of the non-native Arabian horse). DNA was extracted from blood samples and then the polymerase chain reaction was performed to amplify the myostatin gene. The PCR product is affected by the enzyme in the PCR-RFLP reaction. Samples were analyzed for genotyping. The results showed that the average heterozygosity observed was 0.477 and the expected heterozygosity average was 0.477 in the genuine Arabian horse population. The effective allele number was 1.918 in the genuine Arabian horse population and 1.934 in the non-native Arabian horse population. The highest and lowest values of Shannon index in genuine Arabian horse population were 0.693 and 0.500, respectively. The present study showed that there are polymorphisms in myostatin gene loci in both populations. Polymorphisms of this gene can be used as a candidate to identify differences in the genetic potential of different Arabian horse populations.

* Corresponding Author's email: siamak.yousefi1@gmail.com