Comparison of the growth performance traits in F1 crossbred lambs between two strains Booroola Merino x Moghani and Booroola Romney x Moghani

Reza Talebi, Mohammad Reza Ghaffari, Stéphane Fabre, Saber Qanbari

▶ **To cite this version:**

Reza Talebi, Mohammad Reza Ghaffari, Stéphane Fabre, Saber Qanbari. Comparison of the growth performance traits in F1 crossbred lambs between two strains Booroola Merino x Moghani and Booroola Romney x Moghani. 12th National And 4th International Biotechnology Congress of Islamic Republic of Iran, Aug 2021, Tehran, Iran. hal-03353831

HAL Id: hal-03353831
https://hal.inrae.fr/hal-03353831

Submitted on 11 Jul 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

مقایسه عملکرد صفات رشد گوسفندان آمیخته‌های نسل اول بورولا مرینو × مغانی و بورولا رامنی × مغانی

رضا طالبی[1]، محمدرضا غفاری[1]، استفان فابره [2]، صابر قنبری[3]

[1] بخش زیست شناسی سامانه‌ها، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
[2] گروه GenPhySE[1] (ژنتیک، فیزیولوژی و سیستم‌های تولیدمثلی)، دانشگاه تولوز، موسسه ملی پژوهش‌های کشاورزی کشور فرانسه INRAe، Castanet Tolosan، فرانسه
[3] انیستیتو زیست شناسی حیوانات مزرعه ای FBN، گروه ژنتیک و بیومتری، دومرستروف، آلمان

ارائه دهنده مقاله: رضا طالبی Talere1986@gmail.com

چکیده

ژن *BMPR1B* به عنوان یکی از ژن‌های بزرگ اثر چندقلوزایی در گوسفند شناخته می شود. وجود یک چندشکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) با اطلاعات OAR6:29382188A > G, NC_019463.1 در این ژن با اثر افزایشی در بهبود چندقلوزایی در گوسفند به عنوان بورولا ($FecB^B$) نامبرده شده است. در این مطالعه در ابتدا ژن بورولا از دو سویه ژنتیکی گوسفندان نیوزلندی از قبیل مرینو (تاملت) و رامنی به روش مصنوعی به میش‌های مغانی تلقیح شدند. در نسل اول (F1) آمیخته‌های بورولا مرینو × مغانی و بورولا رامنی × مغانی تولید شدند. ژنوتیپ نتاج با استفاده از تکثیر قطعه‌ی ژنی 140 جفت بازی (bp) ژن و سپس آزمایش بر مبنای چندشکلی در طول قطعه هضمی (RFLP) با استفاده از آنزیم *AvaII*، همه افراد دارای ژنوتیپ هتروزیگوت ($FecB^{B/+}$) تشخیص داده شدند. نتایج آنالیز آماری بین آمیخته-های دو سویه ژنتیکی حاکی از افزایش معنی دار برای صفات وزن 6 ماهگی، جفتگیری، اختلاف وزن 3 تا 6 ماهگی، 6 تا 10 ماهگی و 10 تا 11 ماهگی، در آمیخته‌های نسل اول (F1) سویه بورولا رامنی × مغانی نسبت به سویه بورولا مرینو × مغانی بود. نرخ رشد، حاکی از افزایش معنی دار در میانگین افزایش وزن روزانه بین سنین 10 تا 11 ماهگی در سویه بورولا رامنی × مغانی نسبت به سویه بورولا مرینو × مغانی بود (230/6 نسبت به 204/4 گرم، $P < 0.05$). یک برتری معنی دار در وزن بلوغ، وزن جفتگیری و میانگین افزایش وزن روزانه در زمان جفتگیری در سویه بورولا رامنی نسبت به سویه بورولا مرینو یافت شد. این نتایج تأثیر بسزایی در تلاقی گری-های بین ایندو سویه به منظور ایجاد یک نژاد سنتز شده جدید با قابلیت بهبود در چندقلوزایی، سرعت رشد مطلوب و وزن جفتگیری بالا، بدون سخت زایی در هنگام تولد بره‌ها را خواهد داشت.

کلید واژه‌ها:
آمیخته گری، گوسفند، بورولا، ژن *BMPR1B*، صفات رشد

مقدمه

آمیخته گری، آمیزش پدران یک نژاد یا ترکیب نژادی با مادران نژاد دیگر یا ترکیب نژادی دیگر است. مهمترین دلایل آمیخته گری اجتناب از آمیزش‌های خویشاوندی، پوشاندن اثر آلل‌های زیان آور و مغلوب، استفاده از هتروزیس و تکمیل کنندگی نژاد و یا ایجاد نژاد جدید با استفاده از تفاوت‌های بین نژادی و ترکیب نقاط قوت آن‌ها برای بهینه سازی برتری ژنتیکی صفات متفاوت تحت شرایط مختلف محیطی می باشند (32). آمیخته گری گام اصلی در سنتز یک نژاد ترکیبی گوسفند است. سنتز نژادهای ترکیبی گوسفند بر اساس ترکیب تنوعی از نژادها با مشخصات مختلف به منظور افزایش باروری، رشد و صفات لاشه، ویژگی‌های پشم و غیره می باشد. لذا آمیخته گری بایستی با دیدگاه و اهداف مشخص و اطلاعات کافی از نژاد خارجی (سویه دهنده[2]) و نژاد بومی (سویه گیرنده[3]) انجام بشود. تاکنون بالغ بر 400 نژاد یا سویه‌های مختلف از گوسفند در دنیا موجود هستند که در 68 کشور طی مراحل سنتز نژادی تولید شده اند (24، 25). امروزه علم ژنتیک مولکولی با استفاده از راهکارهای زیست فنآوری (بیوتکنولوژی) کمک شایانی به علم اصلاح نژاد به منظور سنتز نژادهای گوسفند کرده است.

[1] Génétique Physiologie et Systèmes d'Elevage
[2] donor strain
[3] recipient strain

برای اولین بار تِرنر و یانگ[4] (1969) نشان دادند که گوسفند نژاد بورولا مرینو به میزان 30 درصد بره زایی بیشتری نسبت به گوسفندان نژاد مرینو دارند (31). همین موضوع سبب شد تا آزمایشات بسیاری در نیوزلند و استرالیا به منظور بکارگیری نژاد بورولا مرینو به منظور افزایش باروری در سایر گله‌های گوسفند مرینو و همچنین سایر نژادها صورت بگیرد. اکثر این آزمایش‌ها در دهه 1970 میلادی قبل از شناسایی علت دوقلوزایی در این نژاد انجام شدند (11). سرانجام بر اساس یکسری آزمایش‌ها در گله‌های گوسفندان استرالیا و نیوزلند، حضور یک ژن بزرگ اثر به عنوان کنترل کننده صفت دوقلوزایی در آن‌ها تأیید شد (9، 22). سپس محققان بسیاری نشان دادند که عامل بارور کننده بورولا که به $FecB^B$ معروف شده است، یک جهش ژنتیکی در کروموزوم 6 از ژن گیرنده پروتئین مورفوژنتیک استخوانی (*BMPR1B*[5]) است (19، 26). منشأ اصلی جهش بورولا نژاد گارول، گوسفند بومی کشور هندوستان می باشد. گوسفند گارول، نژادی کوچک جثه با پوشش مو هست که در زمین‌های باتلاقی بنگال غربی یافت می شود (10). جهش بورولا یا $FecB^B$ یک چندشکلی تک نوکلئوتیدی (SNP[6]) در اگزون 7 از ژن *BMPR1B* (OAR6: 29382188A>G, NC_019463.1) که آزمایش RFLP[7] برای شناسایی آن طراحی شده است (33). این جهش با اثر افزایشی نشان داده است که در حالت‌های ژنوتیپ هتروزیگوت ($FecB^{B/+}$) و هموزیگوت واریانت ($FecB^{B/B}$) به ترتیب 1 و 1/5 برابر چندقلوزایی نسبت به ژنوتیپ وحشی یا هموزیگوت رفرنس ($FecB^{+/+}$) افزایش می یابد (7). این جهش علاوه بر نژاد گوسفند بورولا مرینو و گارول در سایر نژادهای گوسفند دنیا از قبیل گوسفند چندقلوزای نژاد جاوانِز[8] اندونزی (7)، گوسفندان چینی نژادهای هو و هان (6، 8) و گوسفند نژاد هندی کِندراپادا[9] (15) نیز گزارش شده است. همچنین تنها یک مطالعه بر روی نژاد گوسفند ایرانی کله‌کوهی[10] به شناسایی جهش بورولا و ارتباط آن با صفت چندقلوزایی اشاره شده است (16). علاوه بر ژن بزرگ اثر *BMPR1B*/FecB، تاکنون، سه ژن بزرگ اثر دیگر بر روي باروري در نژادهاي مختلف گوسفند شناخته شده که می توان به ژن‌های *BMP15*/FecX[11]، *GDF9*/FecG[12] و *B4GALNT2*/FecL[13] اشاره کرد (28). از مطالعاتی که بر روی ژن‌های کاندیدای باروری با اثرات کم و بیش بر روی صفات چندقلوزایی در نژادهای ایرانی کار شده است می توان به تحقیقات زمانی و همکاران (2015) بر روی گوسفند نژاد مهربان و لُری (34)، احمدی و همکاران (2016) و طالبی و همکاران (2018) و مجد و همکاران (2019) بر روی گوسفند نژاد مهربان (4، 17، 29)، ، عبدلی و همکاران (2013 و 2018) بر روی نژاد لری بختیاری و مهربان (1، 2) اشاره نمود.

از دیدگاه اصلاح نژادي براي بالا بردن بهره وري در سيستم‌هاي پرورشي با هدف توليد گوشت استفاده از نژادهاي مستعد گوشتي و افزايش توان توليدمثلي و تعداد بره به ازاي هر زايش بايد مدنظر قرار بگيرد. نرخ تخمک گذاري و تعداد بره به ازاي هر زايش از مهمترين صفات توليدمثلي در پرورش گوسفند همراه با ارزش اقتصادي بالا هستند (21). با توجه به اهمیت جهش بورولا در افزایش توان باروری در نژادهای گوسفندان دنیا و همچنین عدم موفقیت در یافتن این جهش در نژادهای گوسفندان بومی ایران، لذا تصمیم گرفته شد تا در ابتدا ژن بورولا از سویه‌های گوسفندان نیوزلندی (20) از قبیل سویه‌های بورولا رامنی و بورولا مرینو (تاملت) به نژاد گوسفند مغانی، نژاد گوشتی با درصد چندقلوزایی پایین (16 درصد) و وزن بلوغ مطلوب (60 کیلوگرم) وارد شود (اطلاعات گوسفند نژاد مغانی بر اساس اکبر نژاد و همکاران (5)). سپس با توجه به گزارشات مبنی بر تأثیر منفی ژن بورولا مرینو بر روی صفات وزنی و رشد در بره‌های تلاقی شده از آن (11)، لذا در این مطالعه به مقایسه صفات وزنی، نرخ رشد و همچنین اطلاعات بیومتری در دو سویه آمیخته نسل اول (F1) حاصل از بورولای نیوزلندی × نژاد گوسفند مغانی پرداختیم.

مواد و روش‌ها

تولید آمیخته نسل اول (F1) گوسفند بورولا × مغانی:

در این پروژه ژن بورولا (FecB) یا جهش ژنی (OAR6:29382188A > G, NC_019463.1) از دو پدر (Sire) از نژادهای گوسفندان نیوزلندی از قبیل بورولا مرینو (با نام تجاری تاملت) و بورولا رامنی به 190 رأس میش نژاد مغانی تلقیح مصنوعی شدند. تعداد 114 بره به عنوان نتاج نسل اول (F1) متولد شدند. از این میان تعداد 45 آمیخته بورولا مرینو × مغانی (27 ماده و 18 نر) و تعداد 69 آمیخته بورولا رامنی × مغانی (37 ماده و 32 نر) بودند.

---

[4] Turner & Young
[5] bone morphogenetic protein receptor 1b
[6] single nucleotide polymorphism
[7] restriction fragment length polymorphism
[8] Javanese
[9] Kendrapada
[10] Kalehkoohi
[11] bone morphogenetic protein 15
[12] growth differentiation factor 9
[13] beta-1,4-N-acetyl-galactosaminyl transferase 2

تمامی نتاج از هردو سویه ژنتیکی تحت شرایط تغذیه‌ی یکسان تا دو هفتگی فقط با شیر مادر و سپس ترکیبی از شیرمادر و جیره تا زمان از شیرگیری قرار داشتند. پس از شیرگیری، بصورت دسترسی آزاد به آب و غذا از ترکیب علوفه و کنسانتره استفاده شد. از داروهای ضد انگلی و همچنین واکسیناسیون طبق برنامه سازمان دامپزشکی انجام شد.

دریافت نمونه‌های خون، استخراج DNA و انجام آزمایش تشخیص ژن بورولا:
نمونه‌های خون با استفاده از لوله‌های خلأ حاوی ماده ضد انعقاد EDTA جمع آوری شدند و سپس نمونه‌ها به یخچال تا قبل از استخراج DNA انتقال یافتند. استخراج DNA با استفاده از روش پیشنهادی بر اساس مقاله طالبی و همکاران، 2019 (30) انجام شد. از پرایمرهای طراحی شده برای انجام آزمایش RFLP به شرح زیر:
Forward: 5'- GTCGCTATGGGGAAGTTTGGATG - 3'
Reverse: 5'- CAAGATGTTTTCATGCCTCATCAACACGGTC - 3'

بر اساس مقاله ویلسون و همکاران (33) برای تکثیر قطعه ژن مورد نظر به طول 140 جفت باز (bp[14]) استفاده شد. جهش ژنی بورولا با استفاده از آزمایش هضم به وسیله آنزیم *AvaII* محصول شرکت NEB[15] استفاده شد.

ثبت رکورد، اطلاعات بیومتری و ثبت ویژگی‌های ظاهری هر سویه:
صفات رشد شامل اطلاعات رکوردهای وزنی در زمان‌های مختلف از قبیل تولد (BW[16])، شیرگیری در سه ماهگی (W-3[17])، شش ماهگی (W-6[18])، بلوغ 10 ماهگی (MW-10[19])، جفتگیری 11 ماهگی (MW-11[20]) و همچنین نرخ رشد بر اساس اختلاف وزن‌های تولد تا 3 ماهگی (Diff-W3-BW[21])، 3 تا 6 ماهگی (Diff-W6-3[22])، 6 تا 10 ماهگی (Diff-W10-6[23]) و 10 تا 11 ماهگی (Diff-W11-10[24])، و همچنین صفات میانگین افزایش وزن روزانه بر حسب گرم از قبیل میانگین افزایش وزن روزانه از تولد تا 3 ماهگی (ADWG-BW-W3[25])، میانگین افزایش وزن روزانه از 3 ماهگی تا 6 ماهگی (ADWG-W3-W6[26])، میانگین افزایش وزن روزانه از 6 تا 10 ماهگی (ADWG-W6-W10[27]) و میانگین افزایش وزن روزانه از 10 تا 11 ماهگی (ADWG-W10-W11[28]) ثبت شدند. همچنین صفات بیومتری قد و قامت در سن 10 ماهگی از قبیل؛ ارتفاع از جدوگاه (HAW-10[29])، ارتفاع از کپل (HAH-10[30])، طول بدن (BL-10[31])، دور سینه (CW-10[32])، و دور ران (HW-10[33])، نیز ثبت شدند (جدول 1).

انجام آنالیزهای آماری:
پس از ثبت رکوردها و اطلاعات مورد نظر آماده سازی داده‌ها با استفاده از نرم افزار Excel 2010 انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌های صفات مورد مطالعه، با مدل آماری زیر با استفاده از نرم افزار SAS V. 8.2 (27) انجام شد.

$$y_{ijkl} = \mu + B_i + T_j + S_k + e_{ijkl}$$

که:
y_{ijkl} : مشاهده هر فرد برای هر صفت
μ : میانگین کل

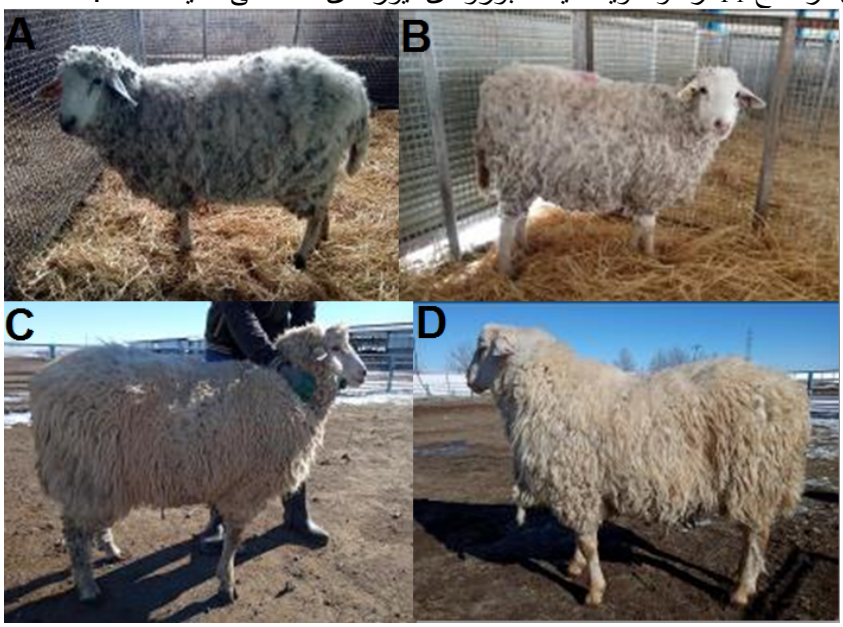
[14] base pair
[15] New England BioLabs
[16] birth weight
[17] weight at three months
[18] weight at six months
[19] weight at 10 months
[20] mating weight at 11 months
[21] difference of weights at birth to 3 months
[22] difference of weights at 3 to 6 months
[23] difference of weights at 6 to 10 months
[24] difference of weights at 10 to 11 months
[25] average daily weight gain from birth to 3 months
[26] average daily weight gain from 3 to 6 months
[27] average daily weight gain from 6 to 10 months
[28] average daily weight gain from 10 to 11 months
[29] height at withers at 10 months
[30] height at hip at 10 months
[31] body length at 10 months
[32] chest width at 10 months
[33] hip width at 10 months

B_i : اثر iامین نژاد پدری
T_j : اثر jامین تیپ تولد
S_k : اثر kامین جنس تولد
e_{ijkl} : اثر باقیمانده (خطا)

نتایج و بحث:

برای اولین بار داخل سازی ژن بوروولا با کمک مارکر (MAI[34]) در نژادهای گوسفندان ایرانی، با آزمایش عدم یافتن ژن بوروولا در نژاد افشاری به وسیله قنبری و همکاران (2007) پیشنهاد شد (23). در روش پیشنهادی قنبری و همکاران، مقایسه ژنوم نسل‌های نتاج بر اساس اطلاعات ریزماهواره‌ها[35] و سپس انتخاب قوچ‌های نر افشاری حامل مارکر بوروولا با بیشترین مشابهت ژنوم گوسفند بومی به عنوان پدرهای نسل‌های آتی منجر به کوتاه کردن مدت زمان داخل سازی ژن (23) نسبت به روش پیشنهادی گوتوین و همکاران (2001) بر روی نژادهای آواسی[36] و عصاف[37] می شود (14). در تحقیق حاضر تصمیم گرفته شد تا با بکارگیری برنامه آمیخته گری و داخل سازی ژنی به کمک مارکر و متعاقب آن‌ها انتخاب افراد بر مبنای مارکر (MAS[38]) بتوان یک سویه ژنتیکی جدید از ترکیب نژادهای مغانی و بوروولا (سویه ژنتیکی بوروولا مرینو و بوروولا رامنی) را در آینده پدید آورد که علاوه بر صفات مرتبط باروری، برای صفات رشد و زنده مانی نیز مزیت‌های برتری نسبت به والدین داشته باشد.

همانطور که در شکل 1 نشان داده شده است، نتاج آمیخته نسل اول سویه‌های ژنتیکی بوروولا مرینو × مغانی و بوروولا رامنی × مغانی به رنگ پشم کاملاً سفید با ویژگی پشم ظریف و متراکم هستند. قسمت سر و پیشانی در سویه بوروولا رامنی × مغانی دارای پشم سفید بصورت کاکل در قسمت پیشانی به مشابه گوسفندان نژاد رامنی انگلیسی است ولی در سویه بوروولا مرینو × مغانی پیشانی فاقد پشم است. این سویه‌ها دارای نیم دنبه کوتاه پوشیده از پشم سفید متراکم به همراه دنبالچه نسبتاً بلند (بوروولا مرینو × مغانی) تا دنبالچه بلند (بوروولا رامنی × مغانی) هستند (شکل 1- A-D). سویه‌های آمیخته‌ی نسل F1 از لحاظ صفات وزنی و جثه یک برتری قابل توجه نسبت به نژاد مغانی (سویه مادر) را نشان دادند. این موضوع اهمیت بسزایی در رابطه با نقش منفی ژن بوروولا مرینوی استرالیایی بر روی صفات وزن و رشد دارد که از نگرانی‌های اشاره شده در نتاج حاصل از آمیخته گری‌های بین بوروولا مرینو با سایر نژادهای گوسفند محسوب می شوند (11). برای رد یا اثبات این موضوع، در این مطالعه صفات وزنی، نرخ رشد و همچنین اطلاعات بیومتری در نتاج F1 از دو سویه آمیخته بوروولای نیوزلندی × مغانی مقایسه شدند.

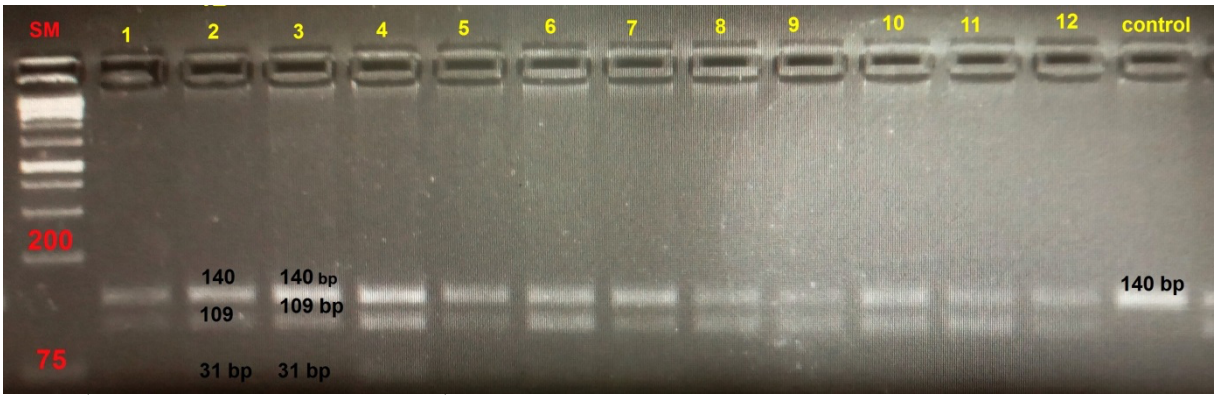


شکل 1- نتاج نسل اول در سن 11 ماهگی از هردو سویه ژنتیکی. A. بره ماده بوروولا رامنی × مغانی B. بره ماده بوروولا مرینو × مغانی. C. نر بوروولا رامنی × مغانی و D. نر بوروولا مرینو × مغانی

[34] marker assisted introgression
[35] microsatellites
[36] Awassi
[37] Assaf
[38] marker assisted selection

Figure 1. Two strains of F1 crossbred offspring, shown in 11 months. A. Female, F1 crossbred Booroola Romney × Moghani. B. Female, F1 crossbred Booroola Merino × Moghani. C. Male, F1 crossbred Booroola Romney × Moghani. D. Male, F1 crossbred Booroola Merino × Moghani.

نتایج حاصل از انتخاب به کمک مارکر مولکولی، حاکی از تکثیر مناسب قطعه 140 جفت بازی از اگزون 7 ژن *BMPR1B* بر اساس مهاجرت محصولات PCR بر روی ژل آگارز 1 درصد بود. نتایج نمونه‌های حاصل از هضم آنزیمی *AvaII* از محصولات PCR بر اساس مهاجرت بر روی ژل آگارز 2/5 درصد در شکل 2 نشان داده شده است (شکل 2). از آنجاییکه پس از واکنش هضم برای تمامی نتاج آمیخته نسل اول (F1) از هردو سویه ژنتیکی بورولا مرینو و بورولا رامنی سه قطعه به اندازه‌های 140، 109 و 31 جفت بازی تولید شدند لذا تمامی افراد نسل اول دارای جهش ژنی (OAR6:29382188A > G, NC_019463.1) با ژنوتیپ هتروزیگوت (A/G) یا $FecB^{B/+}$ بودند (شکل 2). جهش بورولا منجر به جایگزینی اسیدآمینه‌ی گلوتامین با آرژنین در اگزون 7 ژن *BMPR1B* (p.Q249R) منجر به بهبود در عملکرد باروری گوسفند می شود (19،26، 33). داخل سازی و تثبیت آلل FecB در جمعیت گوسفندان شیری آواسی و عصاف منجر به تولید سویه‌های از گوسفند به نام‌های Afec-Awassi و Afec-Assaf در سال 1986 با قابلیت تولد 2 بره به ازای هر بره زایی در میش شدند (14). مشابه گزارشات دیویس و همکاران (7)، چو و همکاران[39] (2006) نیز نشان دادند که ژنوتیپ‌های $FecB^{B/+}$ و $FecB^{B/B}$ به ترتیب به میزان 1 و 1/5 برابر منجر به بهبود چندقلوزایی گوسفند نژاد دم کوتاه هان[40] نسبت به ژنوتیپ $FecB^{+/+}$ می شوند (6). از میان نژادهای گوسفندان بومی ایرانی، تاکنون تنها مهدوی و همکاران (2014) یک گزارش از حضور جهش بورولا در نژاد گوسفند کله‌کوهی ارائه کرده اند. بطوریکه آن‌ها گزارش کرده اند که ژنوتیپ‌های $FecB^{B/+}$ و $FecB^{B/B}$ به ترتیب 0/35 و 0/52 منجر به بهبود دوقلوزایی نسبت به ژنوتیپ $FecB^{+/+}$ می شوند و ضمناً هیچ تفاوت معنی داری نیز در نتایج آن‌ها بین ژنوتیپ‌های هموزیگوت بورولا و هتروزیگوت یافت نشد (16). در مطالعه دیگر طالبی و همکاران (2018)، تعداد 115 رأس میش مهربان دارای رکوردهای باروری را برای یافتن جهش بورولا به روش توالی یابی سانگر[41] بررسی کردند. بطوریکه تمامی افراد برای آلل بورولا دارای ژنوتیپ $FecB^{+/+}$ بودند. ولی آن‌ها موفق شدند دو جهش خاموش با نام‌های OAR6: 29382337G>A و OAR6: 29382184G>A در اگزون 7 (NC_019463.1) *BMPR1B* در نزدیکی جهش بورولا (OAR6 :29382188A>G) شناسایی کنند که افراد حامل بطور معنی دار کاهش در عملکرد باروری داشتند (29). در یک مطالعه مشابه عبدلی و همکاران (2013) یک جهش (NC_019463.1; OAR6 :29382189A>G) *BMPR1B* با خاصیت جایگزینی اسیدآمینه (T250K) را در چسبیده به بورولا در گوسفند نژاد مهربان گزارش کرد که افزایش معنی دار را در باروری افراد حامل نشان داد (2). ولی در سایر گزارشات آن‌ها بر روی ژن *BMPR1B* در نژاد لری-بختیاری یافت نشد (3). بهرحال تمامی این گزارشات حاکی از ابهامات بسیار در وجود ذاتی جهش بورولا در نژادهای بومی گوسفندان ایرانی می باشد. لذا داخل سازی و آمیخته گری ژن بورولا به عنوان یک ژن بزرگ اثر مرتبط با توان باروری یک راهکار بهینه به منظور اصلاح نژاد در صفات تولیدمثلی گوسفندان ایرانی محسوب می شود.



شکل 2- نمونه‌های حاصل از هضم آنزیمی *AvaII* از محصولات PCR ژن *BMPR1B* گوسفند بر اساس مهاجرت بر روی ژل آگارز 2/5 درصد. ستون SM: مارکر اندازه 100 جفت بازی می باشد. نمونه‌های 1-12 مربوط به نتاج نسل اول (F1) حامل ژن بورولا با ژنوتیپ هتروزیگوت ($FecB^{B/+}$) حاصل از آمیخته گری میش مغانی با قوچ‌های دو سویه ژنتیکی بورولا از قبیل بورولا مرینو و بورولا رامنی می باشند. همچنین ستون control، گوسفند مغانی فاقد ژن دوقلوزایی بورولا یا تیپ وحشی ($FecB^{+/+}$) می باشد.

Figure 2. Electrophoretic pattern of *AvaII* restriction enzyme-digested PCR amplified ovine *BMPR1B* gene, migrated at agarose gel 2.5%. SM: 100 bp ladder marker. Lanes 1-12: heterozygous genotype ($FecB^{B/+}$) of F1 crossbred lambs have been generated from cross-breeding between two strains of Booroola rams (Merino and

[39] Chu et al.
[40] Small Tailed Han sheep
[41] Sanger

Romney) × Moghani ewes. Lane control related to Moghani ewe with the wild type genotype ($FecB^{+/+}$) is lack for Booroola mutation.

نتایج مقایسه آماری حاکی از وجود تفاوت‌های معنی دار در صفات رشد بین دو سویه بورولا مرینو × مغانی و بورولا رامنی × مغانی بود (جدول 1). بطوریکه بر اساس جدول 1 یک افزایش معنی دار ($P < 0.05$) در صفات وزن 6 ماهگی (W-6) و وزن جفتگیری در 11 ماهگی (MW-11) در آمیخته‌های F1 سویه بورولا رامنی × مغانی نسبت به سویه بورولا مرینو × مغانی مشاهده شد. همچنین اختلاف وزن 3 تا 6 ماهگی (Diff-W6-3, $P < 0.01$)، 6 تا 10 ماهگی (Diff-W10-6, $P < 0.05$) و 10 تا 11 ماهگی (Diff-W11-10, $P < 0.05$) بطور معنی دار در آمیخته‌های F1 سویه بورولا رامنی × مغانی نسبت به سویه بورولا مرینو × مغانی بیشتر بودند (جدول 1). در حالیکه اگرچه آمیخته‌های F1 سویه بورولا رامنی × مغانی یک افزایش در وزن تولد نسبت به سویه بورولا مرینو × مغانی نشان دادند ولی هیچ تفاوت معنی داری ($P > 0.05$) بین آن‌ها یافت نشد (جدول 1). این نتایج نشان می دهد که آمیخته‌های F1 سویه بورولا رامنی × مغانی نسبت به سویه بورولا مرینو × مغانی زودتر به سن بلوغ می رسند. در مطالعات گوتوین و همکاران (1993 و 2006) گزارش کردند که وزن تولد بره‌های ژندار بورولا در افراد با ژنوتیپ‌های $FecB^{B/B}$ و $FecB^{B/+}$ کمتر از افراد $FecB^{+/+}$ است (12، 13). در تحقیق حاضر عدم تفاوت معنی دار ($P > 0.1$، جدول 1) وزن تولد آمیخته‌های F1 سویه بورولا رامنی × مغانی نسبت به سویه بورولا مرینو × مغانی و شباهت آن‌ها با وزن تولد نژاد مادری (گوسفند نژاد مغانی با ژنوتیپ وحشی، $FecB^{+/+}$) باعث کاهش احتمال سخت زایی در صورت افزایش تعداد بره به ازای هر میش طی برنامه آمیخته گری می شود. در راجع به صفات رشد و اندازه قد، آمیخته‌های F1 سویه بورولا رامنی × مغانی جثه بزرگتری را بر اساس صفات بیوتری نسبت به سویه بورولا مرینو × مغانی نشان دادند ولی تفاوت بین آن‌ها معنی دار نشد ($P > 0.1$، جدول 1). اندازه بزرگتر سویه حاصل از بورولا رامنی نیوزلندی احتمالاً بخاطر منشأ آن از نژاد رامنی انگلیسی با جثه بزرگ است که سایان پیش به منظور آمیخته گری و سنتز نژادی به کشور نیوزلند وارد شد (18). در تحقیق حاضر نرخ رشد محاسبه شده، حاکی از افزایش معنی دار ($P < 0.05$) در میانگین افزایش وزن روزانه‌ی بین سنین 10 تا 11 ماهگی در سویه بورولا رامنی × مغانی نسبت به سویه بورولا مرینو × مغانی بود (230/6 گرم نسبت به 204/4 گرم، جدول 1). در برخی مطالعات اشاره شده است که داخل سازی ژن بورولا مرینو تأثیر منفی بر روی نرخ رشد در سویه‌های آمیخته آن دارد (11). در تحقیق حاضر ما نشان دادیم اگرچه تفاوت معنی داری در وزن‌های تولد و از شیرگیری بین دو سویه آمیخته بورولای نیوزلندی وجود ندارد ولی یک برتری معنی دار در وزن بلوغ، وزن جفتگیری و میانگین افزایش وزن روزانه در زمان جفتگیری در سویه بورولا رامنی نسبت به سویه بورولا مرینو یافت می شود. بطوریکه نشان می دهند که آمیخته‌های F1 سویه بورولا رامنی × مغانی نسبت به سویه بورولا مرینو × مغانی دارای سرعت رشد بالاتری هستند. این موضوع اهمیت بسزایی در تلاقی‌گری‌های بین ایندو سویه‌ی نژادی به منظور ایجاد یک نژاد سنتز شده جدید با قابلیت بهبود در چندقلوزایی، بهبود در ضریب تبدیل غذایی، سرعت رشد مطلوب و وزن جفتگیری بالا، و همچنین بدون سخت زایی در هنگام تولد بره‌ها را خواهد داشت.

جدول 1- بررسی تفاوت معنی داری در میانگین عملکرد صفات وزنی و رشد بین نتاج نسل اول (F1) حاصل از تلاقی قوچ‌های دو سویه بورولای نیوزلندی × میش‌های نژاد مغانی

Table 1. Evaluation of significant difference in the average of weight and growth traits between F1 offspring from crossbreeding between two strains of New Zealand Booroola rams × Moghani ewes

Traits	**F1 crossbred lambs of Booroola Strains**		**SEM**	***P*-value**
	Merino	**Romney**		
BW (kg)	4.65	4.75	0.14	0.43
W-3 (kg)	32.80	32.51	0.83	0.28
W-6 (kg)	53.82 [b]	56.66 [a]	1.06	0.04
W-10 (kg)	54.95	56.56	1.01	0.68
W-11 (kg)	62.62 [b]	65.19 [a]	1.13	0.04
Diff-W3-BW (kg)	28.15	27.84	0.80	0.24
Diff-W6-3 (kg)	21.02 [b]	26.03 [a]	1.41	0.01
Diff-W10-6 (kg)	22.15 [b]	25.93 [a]	1.41	0.03
Diff-W11-10 (kg)	7.66 [b]	8.63 [a]	0.40	0.04
ADWG-BW-W3 (gr)	289.21	282.54	8.14	0.99
ADWG-W3-W6 (gr)	174.81 [b]	144.92 [a]	6.68	0.05
ADWG-W6-W10 (gr)	121.33	110.38	4.44	0.23
ADWG-W10-W11 (gr)	230.55 [b]	204.42 [a]	7.77	0.04
HAW-10 (cm)	71.25	71.58	0.57	0.85
HAH-10 (cm)	70.64	71.88	0.58	0.18
BL-10 (cm)	83.30	84.12	0.78	0.61
CW-10 (cm)	53.82	54.78	0.60	0.35
HW-10 (cm)	57.05	57.45	0.73	0.94

BW: birth weight; W-3: weight at three months; W-6: weight at six months; W-10: weight at 10 month; W-11: weight at 11 months; Diff-W3-BW: difference of weights at birth to 3 months; Diff-W6-3: difference of weights at 3 to 6 months; Diff-W10-

6: difference of weights at 6 to 10 months; Diff-W11-10: difference of weights at 10 to 11 months; ADWG-BW-W3; average daily weight gain from birth to 3 months; ADWG-W3-W6: average daily weight gain from 3 to 6 months; ADWG-W6-W10: average daily weight gain from 6 to 10 months; ADWG-W10-W11: average daily weight gain from 10 to 11 months; HAW-10: height at withers at 10 months; HAH-10: height at hip at 10 months; BL-10: body length at 10 months; CW-10: chest width at 10 months; HW-10: hip width at 10 months; [a,b]: The means with the same letter in each part of each row were not significantly different in Duncan's multiple range test at 0.05 level.

Comparison of the growth performance traits in F1 crossbred lambs between two strains Booroola Merino × Moghani and Booroola Romney × Moghani

Reza Talebi [1], Mohammad Reza Ghaffari [1], Stephane Fabre [3], Saber Qanbari [4]

[1] Department of Systems and Synthetic Biology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

[2] GenPhySE, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, Castanet Tolosan, France

[3] Leibniz Institute for Farm Animal Biology (FBN), Institute of Genetics and Biometry, 18196 Dummerstorf, Germany

Abstract

The *BMPR1B* gene is one of the major genes controlling litter size in sheep. The SNP OAR6: 29382188A>G (NC_019463.1) is known as the Booroola/FecB^{B} fecundity mutation with additive effect on litter size. In the present work, Iranian Moghani ewes were artificially inseminated with sperm from two strains of homozygous Booroola carrier rams from New Zealand, Merino Tamlet and Romney. As expected for the first generation, F1 crossbred lambs of Booroola Merino × Moghani and Booroola Romney × Moghani were genotyped as heterozygous carriers of the Booroola mutation (FecB$^{B/+}$ genotype) using restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis. Growth of F1 lambs was followed by regular weighing and measuring from birth to 11 months of age. While birth weight was the same, the growth rate was significantly increased in F1 Booroola Romney × Moghani crossbred lambs compared to Booroola Merino × Moghani lambs after 3 months of age. In contrast, the body measurements showed no differences. These results suggest that the Booroola Romney × Moghani crossbreed may be appropriate for a strategie to create a composite breed based on local Moghani sheep with expected increased prolificacy and optimal lamb growth rates taking advantage of the good maternal qualities of the Moghani ewes.

.

Keywords: Cross breeding, Sheep, Booroola, *BMPR1B* gene, Growth traits

منابع و مراجع

1. **Abdoli, R., Mirhoseini, S. Z., Ghavi Hossein-Zadeh, N., Zamani, P., & Gondro, C. (2018).** Genome-wide association study to identify genomic regions affecting prolificacy in Lori-Bakhtiari sheep. *Animal Genetics*, *49*(5), 488–491. https://doi.org/10.1111/age.12700
2. **Abdoli, R., Zamani, P., Deljou, A., & Rezvan, H. (2013).** Association of BMPR-1B and GDF9 genes polymorphisms and secondary protein structure changes with reproduction traits in Mehraban ewes. *Gene*, *524*(2), 296–303. https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.03.133
3. **Abdoli, R., Mirhoseini, S. Z., Ghavi Hossein-Zadeh, N., & Zamani, P. (2018).** Screening for causative mutations of major prolificacy genes in Iranian fat-tailed sheep. *International Journal of Fertility and Sterility*, *12*(1), 51–55. https://doi.org/10.22074/ijfs.2018.5247
4. **Ahmadi, A., Afraz, F., Talebi, R., Farahavar, A., & Vahidi, S. M. F. (2016).** Investigation of GDF9 and BMP15 polymorphisms in mehraban sheep to find the missenses as impact on protein. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, *6*(4).

5. **Akbarinejad V., Kazempoor R., Shojaei M., Rezaee M., & Oji R. (2014).** *Atlas of Iranian Sheep Breeds* (1st ed.). Noorbakhsh Press. https://www.researchgate.net/publication/261216656_Atlas_of_Iranian_Sheep_Breeds
6. **Chu, M. X., Liu, Z. H., Jiao, C. L., He, Y. Q., Fang, L., Ye, S. C., Chen, G. H., & Wang, J. Y. (2007).** Mutations in BMPR-IB and BMP-15 genes are associated with litter size in Small Tailed Han sheep (Ovis aries). *Journal of Animal Science*, *85*(3), 598–603. https://doi.org/10.2527/jas.2006-324
7. **Davis, G. (2005).** Major genes affecting ovulation rate in sheep. *Genetics Selection Evolution*, *37*(Suppl 1), S11. https://doi.org/10.1186/1297-9686-37-s1-s11
8. **Davis, G. H., Balakrishnan, L., Ross, I. K., Wilson, T., Galloway, S. M., Lumsden, B. M., Hanrahan, J. P., Mullen, M., Mao, X. Z., Wang, G. L., Zhao, Z. S., Zeng, Y. Q., Robinson, J. J., Mavrogenis, A. P., Papachristoforou, C., Peter, C., Baumung, R., Cardyn, P., Boujenane, I., … Notter, D. R. (2006).** Investigation of the Booroola (FecB) and Inverdale (FecXI) mutations in 21 prolific breeds and strains of sheep sampled in 13 countries. *Animal Reproduction Science*, *92*(1–2), 87–96. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.06.001
9. **Davis, G. H., Montgomery, G. W., Allison, A. J., Kelly, R. W., & Bray, A. R. (1982).** Segregation of a major gene influencing fecundity in progeny of booroola sheep. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, *25*(4), 525–529. https://doi.org/10.1080/00288233.1982.10425216
10. **Davis, George H., Galloway, S. M., Ross, I. K., Gregan, S. M., Ward, J., Nimbkar, B. V., Ghalsasi, P. M., Nimbkar, C., Gray, G. D., Subandriyo, Inounu, I., Tiesnamurti, B., Martyniuk, E., Eythorsdottir, E., Mulsant, P., Lecerf, F., Hanrahan, J. P., Bradford, G. E., & Wilson, T. (2002).** DNA tests in prolific sheep from eight countries provide new evidence on origin of the Booroola (FecB) mutation. *Biology of Reproduction*, *66*(6), 1869–1874. https://doi.org/10.1095/biolreprod66.6.1869
11. **Fogarty, N. M. (2009).** A review of the effects of the Booroola gene (FecB) on sheep production. *Small Ruminant Research*, *85*(2–3), 75–84. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.08.003
12. **Gootwine, E., Bor, A., Braw-Tal, R., & Zenou, A. (1993).** Inheritance of birthweight and growth traits in crosses between the Booroola Merino and Assaf sheep breeds. *Livestock Production Science*, *33*(1–2), 119–126. https://doi.org/10.1016/0301-6226(93)90243-B
13. **Gootwine, E., Rozov, A., Bor, A., & Reicher, S. (2006).** Carrying the FecB (Booroola) mutation is associated with lower birth weight and slower post-weaning growth rate for lambs, as well as a lighter mature bodyweight for ewes. *Reproduction, Fertility and Development*, *18*(4), 433–437. https://doi.org/10.1071/RD05134
14. **Gootwine, E., Zenu, A., Bor, A., Yossafi, S., Rosov, A., & Pollott, G. E. (2001).** Genetic and economic analysis of introgression the B allele of the FecB (Booroola) gene into the Awassi and Assaf dairy breeds. *Livestock Production Science*, *71*(1), 49–58. https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00240-8
15. **Kumar, S., Mishra, A. K., Kolte, A. P., Dash, S. K., & Karim, S. A. (2008).** Screening for Booroola (FecB) and Galway (FecXG) mutations in Indian sheep. *Small Ruminant Research*, *80*(1–3), 57–61. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.09.007
16. **Mahdavi, M., Nanekarani, S., & Hosseini, S. D. (2014).** Mutation in BMPR-IB gene is associated with litter size in Iranian Kalehkoohi sheep. *Animal Reproduction Science*, *147*(3–4), 93–98. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.04.003
17. **Majd, S. A., Ahmadi, A., Talebi, R., Koohi, P. M., Fabre, S., & Qanbari, S. (2019).** Polymorphism identification in ovine KISS1R/GPR54 gene among pure and crossbreeds of Iranian sheep. *Small Ruminant Research*, *173*. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.02.005
18. **McKenzie, A. (2000).** A Century of the NZ Romney. *New Zealand Sheep Farmer*, *7*, 14–19. https://teara.govt.nz/en/sheep-farming
19. **Mulsant, P., Lecerf, F., Fabre, S., Schibler, L., Monget, P., Lanneluc, I., Pisselet, C., Riquet, J., Monniaux, D., Callebaut, I., Cribiu, E., Thimonier, J., Teyssier, J., Bodin, L., Cognié, Y., Chitour, N., & Elsen, J. M. (2001).** Mutation in bone morphogenetic protein receptor-IB is associated with increased ovulation rate in Booroola Mérino ewes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *98*(9), 5104–5109. https://doi.org/10.1073/pnas.091577598
20. ***New Zealand Flock Book – New Zealand Sheepbreeders Association* (Vol. 116). (2020).** Council of the New Zealand Sheepbreeders' Association. https://nzsheep.co.nz/new-zealand-flock-book-2020-volume-116/

21. **Notter, D. R. (2008).** Genetic Aspects of Reproduction in Sheep. *Reproduction in Domestic Animals*, *43*(SUPPL.2), 122–128. https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01151.x
22. **Piper, L. R., & Bindon, B. M. (n.d.).** *CSIRO Research Publications Repository - The Booroola Merino and the performance of medium non-Peppin crosses at Armidale. 31*(33), 14–19. Retrieved April 3, 2021, from https://publications.csiro.au/rpr/pub?list=BRO&pid=procite:34d8f2c9-cef3-4e0a-bc55-952d1bec0713
23. **Qanbari, S., Osfoori, R., & Nasab, M. P. E. (2007).** A preliminary study of marker data applicability in gene introgression program for Afshari sheep breed. In *Biotechnology* (Vol. 6, Issue 4, pp. 513–519). Asian Network for Scientific Information. https://doi.org/10.3923/biotech.2007.513.519
24. **Rasali, D. P., Shrestha, J. N. B., & Crow, G. H. (2006).** Development of composite sheep breeds in the world: A review. *Canadian Journal of Animal Science*, *86*(1), 1–24. https://doi.org/10.4141/A05-073
25. **Shrestha, J. N. B. (2005).** Conserving domestic animal diversity among composite populations. *Small Ruminant Research*, *56*(1–3), 3–20. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2004.06.014
26. **Souza, C. J. H., MacDougall, C., Campbell, B. K., McNeilly, A. S., & Baird, D. T. (2001).** The Booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1 B (BMPR1B) gene. *Journal of Endocrinology*, *169*(2), 3–8. https://doi.org/10.1677/joe.0.169R001
27. ***Statistical Analysis System (2001)*** *User's Guide: Statistics, Version 8.2. SAS Institute, NC, USA.* (n.d.).
28. **Talebi, R. (2016).** *Study of prolificacy major genes and ovarian transcriptome in ewe's estrous cycle*. Ph.D. thesis, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
29. **Talebi, R., Ahmadi, A., Afraz, F., Sarry, J., Woloszyn, F., & Fabre, S. (2018).** Detection of single nucleotide polymorphisms at major prolificacy genes in the Mehraban sheep and association with litter size. *Annals of Animal Science*, *18*(3). https://doi.org/10.2478/aoas-2018-0014
30. **Talebi, R., Seighalani, R., & Qanbari, S. (2019).** A handmade DNA extraction kit using laundry powder; insights on simplicity, cost-efficiency, rapidity, safety and the quality of purified DNA. *Animal Biotechnology*. https://doi.org/10.1080/10495398.2019.1684933
31. **Turner, H. N., & Young, S. S. Y. (1969).** *Quantitative genetics in sheep breeding.* (Vol. 15). Macmillan of Australia . http://hdl.handle.net/102.100.100/320116
32. **Vatankhah, M., & Zakizadeh, S. (2020).** A review on crossbreeding in Iranian sheep. *Animal Science Journal*, *33*(127), 165–176. https://doi.org/10.22092/asj.2020.127686.1980
33. **Wilson, T., Wu, X. Y., Juengel, J. L., Ross, I. K., Lumsden, J. M., Lord, E. A., Dodds, K. G., Walling, G. A., McEwan, J. C., O'Connell, A. R., McNatty, K. P., & Montgomery, G. W. (2001).** Highly prolific Booroola sheep have a mutation in the intracellular kinase domain of bone morphogenetic protein IB receptor (ALK-6) that is expressed in both oocytes and granulosa cells. *Biology of Reproduction*, *64*(4), 1225–1235. https://doi.org/10.1095/biolreprod64.4.1225
34. **Zamani, P., Nadri, S., Saffaripour, R., Ahmadi, A., Dashti, F., & Abdoli, R. (2015).** A new mutation in exon 2 of the bone morphogenetic protein 15 gene is associated with increase in prolificacy of Mehraban and Lori sheep. *Tropical Animal Health and Production*, *47*(5), 855–860. https://doi.org/10.1007/s11250-015-0799-2