دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

ارتباط چند شکلی ژن GDF9 با صفات کیفی اسپرم در گاوهای نر هلشتاین ایران

ابوالفضل قربانی[1] و مصطفی به پایی[2]

1- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شبستر، ایران، (نویسنده مسوول: abolfazlgorbani@gmail.com)
2- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شبستر، ایران

تاریخ دریافت: 1398/04/17 تاریخ پذیرش: 1398/10/28
صفحه: 95 تا 100

چکیده

به‌منظور بررسی ارتباط جایگاه‌های ژن کاندیدا GDF9 با صفات کیفی و کمی اسپرم در گاوهای نر هلشتاین ایران، از تعداد 108 نمونه خون و اسپرم گاوهای نر موجود در مرکز تلقیح مصنوعی که بین سال‌های 1395-1368 متولد شده بودند، استفاده شد. برای تعیین SNP جایگاه‌های A625T و A489T با روش PCR- RFLP به‌ترتیب از آنزیم‌های *DraI* و *NsiI* استفاده شد. در جایگاه A625T دو الل A با طول قطعات 351 و 25 جفت باز و الل T با طول 376 جفت باز و در جایگاه A489T دو الل A با طول قطعات 184 و 24 جفت باز و الل T با طول 208 جفت باز به‌دست آمد. بررسی نتایج فراوانی نشان داد که در هر دو جایگاه الل T و ژنوتیپ TT گاوهای نر هلشتاین ایران فراوان‌تر بود. بررسی نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر هر دو جایگاه بر کلیه صفات کیفیت اسپرم در گاوهای نر هلشتاین ایران معنی‌دار بود. مقایسات بین میانگین ژنوتیپ‌ها نشان داد که در هر دو جایگاه گاوهای با ژنوتیپ AT به‌طور معنی‌داری در صفات حجم انزال، جمعیت اسپرم، تعداد کل اسپرم و تعداد دز اسپرم تولیدی نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها دارای مقادیر بالاتری هستند. در صفات جنبندگی بعد از انزال و جنبندگی بعداز یخ‌گشایی ژنوتیپ TT دارای مقادیر بالاتر معنی‌دار را نشان داد. نتایج نشان‌داد که می‌توان از این جایگاه ی نشانگری در انتخاب ژنومی سود برد.

واژه‌های کلیدی: GDF9، پلی مورفیسم، کیفیت اسپرم، گاوهای نر هلشتاین ایران

مقدمه

تلقیح مصنوعی یکی از اولین روش‌های فنآوری زیستی است که برای افزایش بهره‌وری تولید مثلی و اصلاح نژاد حیوانات مزارع به‌کار گرفته شده و تأثیر به‌سزایی در بهبود بسیاری از گونه‌ها به‌خصوص گاوهای شیری داشت. به‌هرحال یکی ازموانع استفاده ازآن، پایین بودن کیفیت اسپرم دام‌های نر مورد استفاده است که برای حصول نتیجه مطلوب بایستی رکوردگیری و پیش‌بینی انجام گیرد (6). علاوه بر این انتخاب مستقیم صفات مرتبط با کیفیت منی به‌دلیل وراثت پذیری پایین مشکل است (13)، در سال‌های اخیر استفاده از رویکرد ژن کاندیدا برای شناسایی ژن‌های موثر بر صفات کیفیت مایع منی خصوصاً ژن‌های محوری بیضه- هیپوفیز– هیپوتالاموس به‌طور گسترده‌ای در اصلاح صفات کیفی کیفیت اسپرم گاو نر مورد بررسی قرار گرفته است (18،3)، یکی از ژن‌های این مسیر که توجه اندکی به‌آن شده‌است، عامل تمایز رشد فاکتور 9 یا GDF9 است. عامل تمایز رشد فاکتور 9 که متعلق به خانواده رشد فاکتور β(TGFβ) و اعضای خانواده‌ای با عنوان FeCG است که روی کروموزوم 7 قرار دارد (14) و نقش مهمی در رشد فولیکولی تخمدان و نرخ تخمک‌گذاری ماده‌ها دارد (8،1). اندازه GDF9 گاو حدودا 9/2kb است و حاوی دو اگزون و یک اینترون است که اندازه اگزون 1 و 2 و اینترون به‌ترتیب برابر با 431، 1360 و 956 جفت باز است (17) مطالعات و بررسی‌های قبلی نشان دادند که GDF9 در همکاری نزدیک با BMP15 برای تخمک‌گذاری طبیعی، لقاح و تولید مثل ماده‌ها ضروری است (18،10،4). و بر نرخ دوقلوزایی در گوسفند تاثیر بسزایی دارد (9، 1)در نرها عامل تمایز رشد فاکتور 9 (GDF9) در بیضه‌ها شناسایی شده‌است ولی نقش آن در بیضه‌ها به‌خوبی مشخص نشده است (12،11،5). ایتمان و همکاران (6) گزارش کردند که سیگنال‌های دریافتی از لیگاندهای TGFβ در تمایز و مهاجرت سلول‌های زایا، تکثیر سلولی سرتولی، تمایز و رشد اسپرماتوگونی و اسپرماتوژنز نقش دارد. همچنین فیتزپاتریک و همکاران (5) و پنیتر و همکاران (12) پیشنهاد دادند که GDF9 به‌طور بالقوه می‌تواند عملکرد بیضه را تنظیم کند، این نظریه توسط ایتمان و همکاران (6،5) نیز مورد تایید قرار گرفت. نیکولز و همکاران در سال (11) گزارش دادند که GDF9 عامل خاص سلول‌های زایا در بیضه است و نشان دادند که GDF9 می‌تواند با تأثیر برعملکرد اتصالات محکم و اینهبین β نقش مهمی در سلول‌های سرتولی داشته باشد. تانگ و همکاران ارتباط دو جهش نقطه‌ای در این ژن را با صفات کمی و کیفی اسپرم در گاوهای چینی مورد بررسی قرار داده و ارتباط آن را معنی‌دار گزارش کردند. با توجه به مطالب فوق و اینکه تا کنون در گاوهای نر هلشتاین ایران این ژن و ارتباط آن با صفات مرتبط با اسپرم بررسی نشده، این تحقیق با اهداف زیر تعریف و اجرا شد. 1) شناسایی چند شکلی تک نوکلئوتیدی SNPs در GDF9 در گاوهای نر هلشتاین ایرانی با استفاده از زنجیره پلیمراز و روش هضم آنزیمی و 2) بررسی ارتباط بینSNPهای GDF9 و تغییرات صفات کمی و کیفی اسپرم است.

مواد و روش‌ها

اطلاعات فنوتیپی

در مجموع 108 راس از گاوهای نر مورد استفاده در تلقیح مصنوعی که بین سال‌های 1364 تا 1395 متولد شده و در دو ایستگاه مرکز اصلاح نژاد شمال غرب (تبریز) و مرکز تستاژ شرکت جاهد (کرج) نگهداری می‌شدند، برای ژن کاندیدای مورد نظر به‌وسیله روش PCR_RFLP برای روشن شدن ارتباط آن‌ها با صفات حجم اسپرم، جمعیت اسپرم، کل جمعیت

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.29252/rap.11.27.95]

اسپرم، جنبندگی اسپرم تازه، جنبندگی اسپرم بعد از یخ‌گشایی، نسبت جنبندگی قبل و بعد از یخ‌گشایی و تعداد پایوت تولیدی در هر انزال تعیین ژنوتیپ شدند. رکوردهای فنوتیپی برای صفات مورد مطالعه به‌همراه سن، سال و فصل تولید اسپرم توسط مرکز اصلاح نژاد دام، شرکت جاهد و مرکز اصلاح نژاد شمال غرب جمع‌آوری شد. برای هر گاو نر اندازه گیری‌های تکراری در دسترس بود. تعداد کل داده‌ها 16400 عدد رکورد برای هر صفت بود.

تکثیر قطعات

برای استخراج DNA از نمونه خون استفاده شد. نمونه‌های خون با استفاده از لوله‌های حاوی خلا و EDTA از ورید دمی گرفته و داخل یخ به آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر منتقل و تا زمان استخراج در دمای 20- درجه سلسیوس نگهداری شد. استخراج DNA از نمونه‌های خون به روش تغییر یافته فنل-کلروفرم (RGED) انجام شد (15).

جایگاه مورد نظر با استفاده از آغازگرها (جدول 1) و برنامه‌های خاص دمایی (جدول 2) در دستگاه ترموسایکلر تکثیر شده و برای شناسایی نحوه تکثیر الکتروفورز بر روی ژل آگارز 1/3 درصد انجام شد. باندها با استفاده از اتیدیوم بروماید نمایان و به‌وسیله اشعه UV در دستگاه UV DOC مورد عکس‌برداری قرار گرفتند. محصول‌های حاصل از تکثیر هریک از جایگاه‌ها با استفاده از روش RFLP تعیین ژنوتیپ شدند. شرایط انجام هضم، نام آنزیم‌ها به‌همراه نقاط برش در جدول 3 آمده‌است.

برای شناسایی مواد حاصل از هضم آنزیمی الکتروفورز افقی با استفاده از ژل آگارز 3 درصد انجام شد. اندازه باندها با استفاده از ردیفی که در ان سایز مارکر DNA بارگذاری شده بود و از طریق مقایسه به‌دست آمد.

تجزیه و تحلیل آماری

فراوانی‌های ژنوتیپی و اللی و آزمون تعادل هاردی-واینبرگ با استفاده از آزمون کای مربع برای هر ژن به‌طور جداگانه با استفاده از رابطه زیر و نرم‌افزار PopGene.S^2 انجام گرفت. داده‌های گرفته شده از مراکز اصلاح نژاد برای صفات مختلف و اطلاعات ژنوتیپی حاصل از PCR-RFLP در نرم‌افزار اکسل (2013) ترکیب شد. برای بررسی فراوانی و تعادل هاردی- واینبرگ از نرم‌افزار POPGENE S2 نسخه یک استفاده شد. با در نظر گرفتن حیوان به‌عنوان اثر تصادفی، سال- فصل، ایستگاه و ژنوتیپ به‌عنوان اثر ثابت، مدل خطی تصادفی برای متغیرهای پیوسته و رگرسیون لجستیک برای متغیرهای گسسته، ارتباط عوامل موثر با صفات کمی و کیفی اسپرم با نرم‌افزار آماری SAS نسخه 8/2 (2000) مورد بررسی قرار گرفت. برای مقایسه میانگین از آزمون توکی در سطح احتمال 95 درصد استفاده شد.

جدول 1- آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر جایگاه‌های مورد بررسی در ژن GDF9 در گاوهای نر هلشتاین ایران

Table 1. Primers used for amplification of studied loci in GDF9 gene in Iranian Holstein bulls

جایگاه	طول قطعه	توالی آغازگر(´3 → ´5)	منبع
GDF9A625T	376	F: AGGGAAGAAGAAAGATCTTATGC R:TCTACCCAGGCTTTAGTCCC	17
GDF9A489T	204	F:ATGCCCTCATGGGTTGATGTAGTTTA R:CTCCCATCTCTCTCATACACACAAG	

جدول 2- برنامه تکثیر هریک از ژن‌ها در دستگاه ترموسایکلر (تانگ و همکاران 2013)

Table 2. Amplification program for each locus in the Thermocycler (Tang et al. 2013)

مرحله	دما (سلسیوس)	زمان	تعداد چرخه
آغازین	95	5 دقیقه	
دنوتاراسیون	94	40 ثانیه	35
اتصال پرایمر (GDF9A489T)	53	50 ثانیه	
اتصال پرایمر (GDF9A625T)	57	50 ثانیه	
تطویل	72	30 ثانیه	
تطویل نهایی	72	5 دقیقه	

جدول 3- شرایط برش قطعات حاصل تکثیر برای تعیین ژنوتیپ

Table 3. Digestion Conditions for Amplified product to determine the genotype

جایگاه	آنزیم برشی	دمای برش	اندازه هر آلل (bp)
GDF9A625T	DraI	37	T:376 A:351 ،25
GDF9A489T	NsiI	37	T:204 A:184 ،20

نتایج و بحث

خلاصهٔ آماری صفات مورد بررسی

خلاصه‌های آماری (میانگین، انحراف معیار، حداقل و حداکثر) صفات کیفیت اسپرم در جدول 4 ارائه شده است. پارامترهای منی، تغییرات زیادی را نشان می‌دهد و تحت تأثیر عوامل زیادی مانند گونه، فصل، حیوان، مدیریت، تغذیه و غیره می‌باشد. ولی مقادیر به‌دست آمده با مقادیر گزارش شده قبلی تقریباً مطابقت دارد.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.29252/rap.11.27.95]

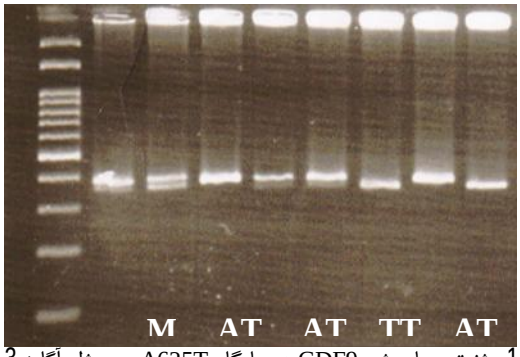
جدول 4- آمار توصیفی برای صفات مورد بررسی

Table 4. Descriptive statics for studied traits various traits studied

صفات مورد بررسی	تعداد	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر
حجم انزال (میلی‌لیتر)	16360	5/49	1/91	0/50	13/00
جمعیت اسپرم (10^9×)	15817	1193/38	364/44	500/00	2518/00
تعداد کل اسپرم (10^9×)	15761	6440/41	2779/70	510/500	17842/50
جنبندگی بعد از انزال (درصد)	16377	69/40	8/40	50/00	95/00
تعداد کل اسپرم متحرک در منی تازه (10^9×)	15738	4450/56	1981/11	375/35	12998/63
جنبندگی بعداز یخ‌گشایی (درصد)	16383	41/26	9/64	30/00	90/00
نسبت جنبندگی قبل و بعد از انجماد	16377	1/74	0/34	0/60	3/00
تعداد دز اسپرم تولیدی	16328	194/46	105/86	8/00	698/00

فراوانی اللی و ژنوتیپی

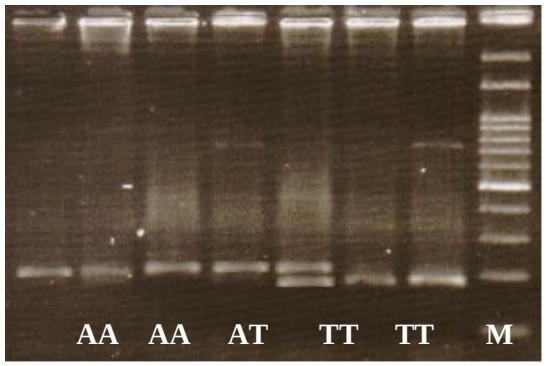
ژن GDF9 با طول 1816 جفت باز، حاوی دو اینترون و دو اگزون بوده و جایگاه آن روی کروموزم شماره 7 قرار دارد. دو جایگاه A625T و A489T روی اینترون یک ژن GDF9 گاو با استفاده از پرایمرهای گزارش شده توسط (تانگ و همکاران، 2013) تکثیر شد. در جایگاه A625T دو الل A (351 و 25 جفت باز) و الل T (376 جفت باز) و در جایگاه A489T دو الل A (184 و 24 جفت باز) و الل T (208 جفت باز) مشاهده شد (شکل 1 و 2). فراوانی اللی و ژنوتیپی به‌همراه آزمون کای مربع در جدول 5 آمده است. بررسی نتایج فراوانی نشان داد که در جایگاه A625T که الل T نسبت به الل A (0/6343 در مقابل 0/3657) و ژنوتیپ TT و در جایگاه A489T الل T نسبت به الل A (0/602 در مقابل 0/398) و ژنوتیپ TT فراوان تر بودند (جدول5). مقایسه فراوانی‌های مشاهده شده و مورد انتظار در این جایگاه نشان داد که جمعیت در این جایگاه در تعادل می‌باشد (P >0/05).



شکل 1- ژنوتیپ‌های ژن GDF9 در جایگاه A625T روی ژل آگارز 3 درصد

Figure 1 Genotypes of GDF9 gene at A625T site on 3% agarose gel

گزارش‌های کمی در مورد جایگاه‌های مورد بررسی وجود دارد. گزارش‌ها با نتایج تحقیق حاضر مطابقت ندارد. تانگ و همکاران (17) گزارش کردند فروانی الل A در هر دو جایگاه بالاتر است. در جایگاه A625T فراوانی ژنوتیپ AT و در جایگاه A489T فراوانی ژنوتیپ AA بالاتر بود. در مطالعه دیگری تانگ و همکاران (16) فراوانی جایگاه‌های فوق را در جمعیت گاوهای ماده هلشتاین چینی بررسی کرده و برای جایگاه‌های A489T و A625T فراوانی الل A به‌ترتیب 0/708 0/535 گزارش کردند. شرایط اقلیمی مناطق زیست نژادهای مختلف بر فراوانی الل‌های این جایگاه به‌شدت تاثیرگذار است که تاثیر عمده اقلیم بر اساس انتخاب طبیعی است. از طرف دیگر در نتیجه انتخاب طبیعی و هم چنین مصنوعی می‌تواند باعث تفاوت بین نژادهای ایرانی و چینی شده باشد.



شکل 2- ژنوتیپ‌های ژن GDF9 در جایگاه A485T بر روی ژل آگارز 3 درصد

Figure 2. Genotypes of GDF9 gene at A485T site on 3% agarose gel

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.29252/rap.11.27.95]

بررسی ارتباط جایگاه‌ها با صفات مورد بررسی

نتیجه‌ی تجزیه واریانس عوامل مؤثر بر کیفیت اسپرم در گاوهای نر هلشتاین ایران نشان داد که آثار حیوان، ایستگاه، سال، جایگاه‌های A625T و A489T بر تمامی صفات مورد بررسی تاثیر معنی‌دار دارد. اثر فصل بر صفات حجم انزال، جمعیّت کل اسپرم، جنبندگی بعد از انزال و تعداد کل اسپرم متحرک بعد از انزال و اثر سن بر تعداد کل اسپرم متحرک بعد از انزال، جنبندگی بعد از یخ‌گشایی و نسبت جنبندگی قبل و بعد از انجماد معنی‌دار بود. برآورد میانگین حداقل مربعات صفات مختلف برای ژنوتیپ‌های هر دو جایگاه در جدول 6 آمده است.

مقایسات میانگین صفات مختلف در ژنوتیپ‌ها جایگاه A625T با استفاده از آزمون توکی نشان‌داد که گاوهای نر با ژنوتیپ AA نسبت به گاوهای دارای ژنوتیپ‌های TT و AT به‌طور معنی‌داری حجم اسپرم، تعداد کل اسپرم، جنبندگی بعد از انزال، تعداد کل اسپرم متحرک بعد از انزال و جنبندگی بعد از یخ‌گشایی بالاتری دارند. در حالیکه در صفات جمعیت اسپرم و تعداد دزاسپرم تولیدی ژنوتیپ AT نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها مقدار بالاتری دارد. در صفت نسبت جنبندگی بعد از انزال و بعد از یخ‌گشایی ژنوتیپ TT بالاتر است. در جایگاه A489T گاوهای با ژنوتیپ AT به‌طور معنی‌داری در صفات حجم انزال، جمعیت اسپرم، تعداد کل اسپرم و تعداد دز اسپرم تولیدی نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها دارای مقادیر بالاتری هستند. در صفات تعداد کل اسپرم متحرک در منی تازه، جنبندگی بعد از انزال و جنبندگی بعداز یخ‌گشایی ژنوتیپ TT مقادیر بالاتر معنی‌دار را نشان‌داد. ولی در نسبت جنبندگی قبل و بعد از انجماد ژنوتیپ AA به‌طور معنی‌داری بالاتر از بقیه بود. در صفات حجم انزال، جمعیت اسپرم، تعداد کل اسپرم و تعداد کل اسپرم متحرک در منی تازه ژنوتیپ AA دارای کمترین مقدار، در صفات جنبندگی بعد از انزال و جنبندگی بعداز یخ‌گشایی ژنوتیپ AT کمترین مقدار و در صفات نسبت جنبندگی قبل و بعد از انجماد و تعداد در اسپرم تولیدی ژنوتیپ TT پایین‌تر بود.

جدول 5- فراوانی اللی و ژنوتیپی و آزمون کای مربع برای ژن GDF9

Table 5. Allelic and Genotypic Frequency and Chi Square Test for GDF9 Gene

نام جایگاه	ژنوتیپ	تعداد	فراوانی	تعداد مورد انتظار	مقدار کای مربع	فراوانی اللی
A625T	AA	19	0/1759	0/1338	3/56ns	A=0/3657 G=0/6343
	AT	41	0/3796	0/4639		
	TT	48	0/4445	0/4023		
A489T	AA	20	0/2041	0/1584	3/56ns	A=0/398 T=0/602
	AT	38	0/3878	0/4792		
	TT	40	0/4082	0/3625		

جدول 6- مقایسه میانگین حداقل مربعات ژنوتیپ‌های مختلف در ژن GDF9 با استفاده از آزمون توکی برای صفات مورد بررسی در گاوهای نر هلشتاین ایران

Table 6. Least squares mean comparison of different genotypes in GDF9 gene with tukey test for studied traits in Iranian Holstein bulls

صفات مورد بررسی	ژنوتیپ‌های GDF9A625T			SEM	ارزش P	ژنوتیپ‌های GDF9A489T			SEM	ارزش P
	AA	AT	TT			AA	AT	TT		
حجم انزال (میلی‌لیتر)	5/73^{a}	5/55^{b}	5/50^{b}	0/052	0/0001	5/23^{b}	5/66^{a}	5/63^{a}	0/135	0/0001
جمعیت اسپرم (10^{9}×)	1156/70^{b}	1217/43^{a}	1192/03^{a}	25/23	0/0001	1127/40^{c}	1233/93^{a}	1191/19^{b}	23/43	0/0001
تعداد کل اسپرم (10^{9}×)	6597/01^{a}	6652/70^{a}	6395/58^{b}	45/72	0/0001	5785/08^{c}	6857/08^{a}	6626/94^{b}	65/42	0/0001
جنبندگی بعد از انزال (درصد)	75/19^{a}	67/50^{c}	69/92^{b}	1/85	0/0001	69/28^{b}	68/37^{b}	71/47^{a}	0/75	0/0001
تعداد کل اسپرم متحرک در منی تازه (10^{8}×)	4905/75^{a}	4491/11^{b}	4456/60^{b}	70/45	0/0001	3991/46^{c}	4659/94^{b}	4737/20^{a}	32/33	0/0001
جنبندگی بعداز یخ‌گشایی (درصد)	46/69^{a}	39/87^{c}	41/64^{b}	0/42	0/0001	40/71^{b}	40/49^{b}	43/67^{a}	0/85	0/0001
نسبت جنبندگی قبل و بعد از انجماد	1/70^{b}	1/74^{a}	1/75^{a}	0/011	0/0001	1/76^{b}	1/75^{a}	1/71^{b}	0/042	0/0001
تعداد دز اسپرم تولیدی	191/17^{b}	202/87^{a}	193/18^{b}	2/78	0/0001	200/87^{b}	209/32^{a}	164/15^{c}	2/922	0/0001

تانگ و همکاران (16) گزارش کردند که جایگاه A489T اثر معنی‌داری بر صفت یکپارچگی اکروزم دارد. در حالیکه جایگاه A625T بر صفت جمعیت اسپرم دارای تاثیر معنی‌داری بوده و بر سایر صفات اسپرم غیر معنی‌دار است. نتایج این محققین با تحقیق حاضر و تحقیق تانگ و همکاران (17) در تناقض می باشد. در مقایسه میانگین‌های گزارش برای صفات مختلف در ارتباط با ژنوتیپ‌های جایگاه‌ها مورد بررسی، در تعدادی از صفات تشابه و در تعداد دیگری از صفات تضادهایی مشاهد می‌شود.

همچنین تانگ و همکاران (17) ارتباط جایگاه‌های فوق را با صفات تولید مثلی در گاوهای هلشتاین ماده بررسی کرده و گزارش کردند که در جایگاه A489T ژنوتیپ TT و در جایگاه A625T ژنوتیپ AT مقادیر بالاتری دارد. به‌نظر می‌رسد که در هر دو جنس و هر دو جایگاه در برخی از صفات

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.29252/rap.11.27.95]

آلل A و در برخی دیگر الل T مطلوب است.

عامل تمایز رشد فاکتور 9 یا GDF9 یکی از ژن‌هایی است که در مسیر اسپرماتوژنسیز توجه اندکی به‌آن شده است. در نرها عامل تمایز رشد فاکتور 9 (GDF9) در بیضه‌ها شناسایی شده است ولی نقش آن در بیضه‌ها به‌خوبی مشخص نشده است (5،11،12). نتایج این بررسی‌ها نشان داد که جایگاه‌های مورد تحقیق تاثیر مثبتی بر صفات کیفی و کمی اسپرم داشته و می‌توانند به‌عنوان ژن‌های کاندیدا در بررسی‌های ژنومی و همچنین انتخاب بر مبنای ترکیب اطلاعات کمی و ژنومی مدنظر قرار گیرند. همچنین به‌دلیل پایین بودن وراثت‌پذیری صفات مرتبط با اسپرم، استفاده از این جایگاه‌ها می‌توانند در اصلاح‌نژاد برای این صفات مد نظر قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود فرض می‌دانند از حمایت‌ها و پشتیبانی‌ها و کمک‌های مرکز اصلاح‌نژاد و دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر تشکر نمایند.

منابع

1. Aaltonen, J., M.P. Laitinen, K. Vuojolainen, R. Jaatinen, N. Horelli-Kuitunen, L. Seppa, H. Louhio, T. Tuuri, J. Sjoberg, R. Butzow, O. Hovatta, L. Dale and O. Ritvos. 1999. Human growth differentiation factor 9 (GDF-9) and its novel homolog GDF-9B are expressed in oocytes during early folliculogenesis. J. Clin. Endocr. Metab, 84: 2744-2750.
2. Amiri, F., S.R. Miraei-Ashtiani and M. Sadeghi. Polymorphism in the GDF8 Gene and Their Effects on Carcass Traits in Lori-Bakhtiari and Zel Sheep Breeds. Rap, 2011; 2(4): 12-23.
3. Dai, L., Z. Zhao, R. Zhao, S. Xiao, H. Jiang, X. Yue, X. Li, Y. Gao, J. Liu and J. Zhang. 2009. Effects of novel single nucleotide polymorphisms of the FSH beta-subunit gene on semen quality and fertility in bulls. Anim. Reprod. Sci, 114: 14-22.
4. Eppig, J.J., F. Chesnel, Y. Hirao, MJ. O'Brien, F.L. Pendola, S. Watanabe and K. Wigglesworth. 1997. Oocyte control of granulosa cell development: how and why. Hum. Reprod, 12(3): 127-132.
5. Fitzpatrick, SL., D.M. Sindoni, P.J. Shughrue, M.V. Lane, I.J. Merchenthaler and D.E. Frail. 1998. Expression of growth differentiation factor-9 messenger ribonucleic acid in ovarian and non ovarian rodent and human tissues. Endocrinology, 139(5): 2571-2578.
6. Gadea, J. 2005. Sperm factors related to in vitro and in vivo porcine fertility. Theriogenology, 63(4): 431-444.
7. Itman, C. and K.L. Loveland. 2008. SMAD expression in the testis: an insight into BMP regulation of spermatogenesis. Dev. Dyn, 237(5): 97-111.
8. Itman, C., S. Mendis, B. Barakat and KL. Loveland. 2006. All in the family: TGF-β family action in testis development. Reproduction, 132(6): 233-246.
9. Khanahmadi, A., G. RahimiMianji, S. Hassan Hafezian, R. Khataminejad, N. Mamizadeh and S. Makan Mosavi. Effect of Polymorphisms in Some Candidate Genes on Twinning in Cross Breeds of Shall and Romanov. rap. 2016, 7(14): 192-186
10. McNatty, K.P., J.L. Juengel, KL. Reader, S. Lun, S. Myllymaa, S.B. Lawrence, A. Western, M.F. Meerasahib, D.G. Mottershead, N.P. Groome, O. Ritvos and M.P. Laitinen. 2005. Bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 co-operate to regulate granulosa cell function in ruminants. Reproduction, 129(7): 481-487.
11. Nicol, L., S.C. Bishop, R. Pong-Wong, C. Bendixen, L.E. Holm, S.M. Rhind and A.S. McNeilly. 2009. Homozygosity for a single base-pair mutation in the oocyte-specific GDF9 gene results in sterility in Thoka sheep. Reproduction, 138(6): 921-33.
12. Pennetier, S., S. Uzbekova, C. Perreau, P. Papillier, P. Mermillod and R. Dalbiès-Tran. 2004. Spatio-temporal expression of the germ cell marker genes MATER, ZAR1, GDF9, BMP15,andVASA in adult bovine tissues, oocytes, and preimplantation embryos. Biol Reprod, 71(4): 1359-66.
13. Rothschild, M.F and J.P. Bidanel. 1998. Biology and Genetics of Reproduction. In: The Genetics of the Pig (Rothschild MF, ed.). CAB International, Wallingford, Oxon, 8: 313-34.
14. Sadighi, M, K.J. Bodensteiner, A.E. Beattie and S.M. Galloway. 2002. Genetic mapping of ovine growth differentiation factor 9 (GDF9) to sheep chromosome 5. Animal Genetic, 33(9): 244-245.
15. Saremi, M., A.M. Saremi and M. Tavallaei. 2008. Rapid genomic DNA extraction (RGDE). Forensic Science International: Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Ser. 1: 63-65.
16. Tang, J.N., C.Y. Yu, X.X. Zhang and L.G. Yang. 2011. Effects of MboII and BspMI polymorphisms in the gonadotropin releasing hormone receptor (GnRHR) gene on sperm quality in Holstein bulls. Mol. Biol. Rep. 38(10): 3411-3415.
17. Tang, K.Q., W.C. Yang, S.J. Li and L.G. Yang. 2013. Polymorphisms of the bovine growth differentiation factor 9 and their associated with superovulation performance in Chinese Holstein cows. Genet. Mol. Res, 12(11): 390-399.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.29252/rap.11.27.95]

Association of GDF9 Gene Polymorphism with Sperm Quality and Quantity Traits in Iranian Holstein Bulls

Abolfazl Ghorbani[1] and Mostafa Behpai[2]

1- Animal Science department, Faculty of Agriculture and Veterinary, Shabestar Branch, Islamic Azad university, Shabestar, Iran (Corresponding author: abolfazlgorgani@gmail.com)
2- Animal Science department, Faculty of Agriculture and Veterinary, Shabestar Branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran
Received: July 8, 2019 Accepted: January 18, 2020

Abstract

The use of artificial insemination in dairy cattle industry may improve the results of selection for production traits. This study attempts to evaluated effect of GDF9A625T and GDF9A489T candidate gene polymorphism on the sperm quality and quantity traits in Iranian bulls. A total of 108 samples of blood and semen was collected of A. I. bulls were born between 1989-2016 years. The GDF9A625T and *GDF9A489T* SNPs was determined by PCR- RFLP with *DraI* and *NsiI* enzymes, respectively. In A625T site, A (351 and 25 bp) and T (376 bp) alleles and in A489T site, A (184 and 24 bp) and T (208bp) alleles was obtained and also three AA, AT and TT genotypes in two marker sites were observed. The frequency results of GDF9A625T site showed that the T allele relative to the A allele was more frequent in Iranian Holstein bulls (0.6343 vs 0.3657) and 44.44, 37.98 and 17.95 percent of bulls had TT, AT and AA genotypes, respectively. In GDF9A625T site, the T allele frequency was more than A allele (0.602 vs 0.398) and 40.82, 38.78 and 20.14 percent of bulls had TT, AT and AA genotypes, respectively. Analysis of variance revealed that the effects of both loci were significant effect on sperm quality in Iranian Holstein bulls. The result of means comparison between genotypes in two marker sites showed that bulls with AT genotype significantly high value in quantitative trait and AA genotype was significantly higher in qualitative trait. Results of this research showed that these marker sites can be beneficial in genomic selection.

Keywords: Gdf9, Polymorphism, Sperm Quality, Iranian Holstein Bulls

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.29252/rap.11.27.95]