بررسی تنوع ژنتیکی اگزون ۲ ژن GDF9 در جمعیت دو نژاد بز خوزستان

الهام جاودان[۱*]، جمال فیاضی[۲]، محمدتقی بیگی‌نصیری[۳] و صالح طباطبایی‌وکیلی[۲]

تاریخ دریافت: ۹۲/۳/۴ تاریخ پذیرش: ۹۲/۹/۳۰

چکیده

چندقلوزایی یکی از صفات مهم اقتصادی در پرورش گوسفند و بز می‌باشد. به کارگیری روش‌های سنتی اصلاح نژاد نظیر انتخاب و آمیزش بر اساس داده‌های فنوتیپی، دارای روندی کند و پر هزینه است. مطالعات ژنتیکی مشخص نموده است که نرخ تخمک‌ریزی به وسیله‌ی مجموعه‌هایی از ژن‌هایی با اثر عمده به نام ژن‌های باروری کنترل می‌شوند. هدف از این تحقیق بررسی چند شکلی ژن فاکتور تمایز رشد ۹ (GDF9) در ۹۱ بز نجدی مربوط به ۳ موقعیت جغرافیایی، شمال غربی، جنوب شرقی و مرکز و ۲۹ بز لری- بختیاری مربوط به ۲ موقعیت جغرافیایی، شمال شرقی و جنوب شرقی استان خوزستان می‌باشد. بعد از استخراج DNA، تکثیر قطعه‌ی ۲۹۵ جفت بازی از اگزون ۲ ژن GDF9 با استفاده از یک جفت آغازگر اختصاصی انجام گرفت. در این پژوهش سه الگوی SSCP برای اگزون ۲ ژن GDF9 در دو نژاد بز استان خوزستان مشاهده گردید. ولی ارتباط معنی‌داری به وسیله‌ی نرم‌افزار SAS بین الگوهای مشاهده شده و صفت چندقلوزایی در این دو نژاد بز مشاهده نشد. آلل A، در جمعیت‌های بز نجدی شمال غربی، جنوب شرقی و در بزهای لری- بختیاری شمال شرقی و جنوب شرقی بیش‌ترین فراوانی را داشت. در جمعیت‌های بز نجدی جنوب شرقی و مرکز ژنوتیپ AB بیش‌ترین فراوانی را نشان داد و در جمعیت شمال غربی بیش‌ترین فراوانی ژنوتیپی مربوط به ژنوتیپ AA بود. در جمعیت بزهای لری- بختیاری شمال شرقی و جنوب شرقی بیش‌ترین فراوانی ژنوتیپی مربوط به ژنوتیپ AA بود.

کلمات کلیدی: بز نجدی، بز لری- بختیاری، تنوع ژنتیکی، ژن GDF9، PCR-SSCP

مقدمه

در حوزه‌ی ژنتیک و اصلاح نژاد، اطلاع از ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها می‌تواند کمک بزرگی به برنامه‌ریزی طرح‌های اصلاح نژادی و از همه مهم‌تر، حفظ ذخایر ژنتیکی بنماید. بز نجدی یکی از انواع نژادهای بز می‌باشد که متعلق به استان خوزستان است. در این استان بیش از ۱۷۵۰۰۰۰ رأس بز وجود دارد، اما آمار دقیقی از بز نجدی در دست نیست، چون به شدت با دیگر نژادها، آمیخته شده است. دفعات زایمان این نژاد دو بار در سال بوده و اغلب بزهای نجدی و بومی استان خوزستان از جمله بزهای چندقلوزای کشور هستند که میزان چندقلوزایی در بین آن‌ها به ترتیب ۴۶ و ۲۰ درصد است (حاجی‌سیدجوادی و همکاران ۱۳۸۸). نتایج حاصل از آزمایش‌های مربوط به نرخ تخمک‌ریزی در چندین نژاد گوسفند نشان‌دهنده جهش‌هایی در ناحیه‌ی ژن‌های فاکتور رشد می‌باشد (Luiro et al. 2000, Hanrahan et al. 2004). این ژن‌ها که در اووسیت بیان می‌شوند شامل BMP15 و GDF9 می‌باشند. این دو ژن عضو خانواده TGFβ هستند و تعداد زیادی از اعضای این خانواده در تنظیم رشد و تمایز فولیکول‌های تخمدانی اهمیت دارند. وجه تمایز این دو ژن نسبت به دیگر اعضای این خانواده اثر تغییر غلظت این دو فاکتور در تغییرات مربوط به نرخ تخمک‌ریزی در گوسفند است (Luiro et al. 2000, Hanrahan et al. 2004,

[۱*] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، اصلاح نژاد دام، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه کشاورزی‌منابع طبیعی رامین، خوزستان

E-mail: javdan_e@yahoo.com (نویسنده‌ی مسئول)

[۲] استادیار گروه علوم دامی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

[۳] دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

McNatty et al. 2004). به تازگی یافته‌های بسیاری نشان داده‌اند که فاکتورهای پاراکرین تراوش شده به وسیله اووسیت، عملکرد یاخته‌های سوماتیک فولیکولی شامل استروییدسازی و مرگ و میر سلولی را تنظیم می‌کنند (Gilchrist et al. 2004). BMP15[1] و GDF9[2] به صورت یک پیش ماده‌ی پروتئینی تولید می‌شوند که دارای یک بخش فعال بیولوژیکی در انتهای c مولکول می‌باشند (McNatty et al. 2004). ژن اتوزومی GDF9 از جمله ژن‌های عمده مؤثر بر چندقلوزایی در گوسفند با اثر عمده است (Luiro et al. 2000). این ژن دو اگزون (اگزون ۱، ۳۹۷ جفت باز و اگزون ۲، ۹۶۵ جفت باز) دارد که توسط یک اینترون به طول ۱۱۲۶ جفت باز از هم جدا شده‌اند. پپتید بالغ شده فعال آن دارای ۱۳۵ اسید آمینه است. محققین نشان دادند که گوسفندان نژاد کمبریج و بلکلیر حامل یک موتاسیون در ژن GDF9 ($FecG^H$) در اگزون-های ۱ و ۲ هستند که باعث افزایش میزان تخمک‌گذاری در گوسفندان هتروزیگوت و عدم باروری در گوسفندان هموزیگوت می‌شوند. هم‌چنین آن‌ها بیان کردند که یک نسخه از $FecG^H$ باعث افزایش میزان تخمک‌گذاری به میزان ۱/۴ برابر در گوسفندان نژاد کمبریج و بلکلیر شده است (Hanrahan et al. 2004). به کارگیری فناوری‌های مولکولی، منجر به کشف جهش‌های با اثر عمده بر بازدهی تولید مثلی در گوسفند و بز شده است. بیش‌تر این جهش‌ها در ژن‌های BMP15، GDF9 و FecB یافت شده‌اند. با توجه به اهمیت چندقلوزایی در بز، تنوع ژنتیکی و بررسی جهش در اگزون ۲ ژن GDF9 در جمعیت بزهای نجدی و لری- بختیاری استان خوزستان مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش کار

در این تحقیق از ۹۱ رأس بز نجدی (۵۳ دوقلوزا، ۱۴ تک قلوزا، ۱۱ نر و ۱۳ بزغاله) و ۲۹ رأس بز لری- بختیاری (۱۸ دوقلوزا، ۸ تک قلوزا و ۴ بزغاله) که اکثر آن‌ها دوقلوزا بودند، از ۸ منطقه‌ی استان خوزستان (مرکز تحقیقات صفی‌آباد، امیدیه، بهبهان، دشت‌آزادگان، شادگان، شوشتر، ایذه و باوی) خون‌گیری به عمل آمد. برای جلوگیری از انعقاد خون از لوله‌های خلادار ۴ میلی‌لیتری حاوی ماده‌ی ضد انعقاد EDTA استفاده شد. نمونه‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه مرکزی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین منتقل گردیده و تا زمان استخراج در فریزر دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخراج DNA با استفاده از کیت DIATOM (شرکت سینا ژن) انجام شد. کمیت و کیفیت DNA روی ژل آگارز ۱ درصد تعیین گردید. سپس واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از یک جفت آغازگر اختصاصی بر اساس توالی پیشنهادی Chu و همکاران در سال ۲۰۱۱ صورت گرفت (جدول ۱). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای تکثیر قطعه‌ی ۲۹۵ جفت بازی جایگاه ژنی GDF9 با ۳۵ چرخه (۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه برای واسرشت و ۵۹ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه برای اتصال، ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه برای بسط) در دستگاه ترموسایکلر بایورد ساخت آلمان با بلوک ۸۰ تایی انجام گرفت. این واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر با محتویات ۳ میکرولیتر DNA الگو، ۲/۵ میکرولیتر بافر، ۰/۵ میکرولیتر dNTP، ۰/۷۵ میکرولیتر $MgCl_2$، یک میکرولیتر آغازگر پیشرو و پیرو، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم Taq DNA پلیمراز و باقی‌مانده تا حد ۲۵ میکرولیتر آب دو بار تقطیر اضافه شد. بعد از فرآیند PCR برای تعیین ژنوتیپ‌ها از روش SSCP استفاده شد. برای تک رشته کردن نمونه‌ها ۵ میکرولیتر محصول PCR را با ۵ میکرولیتر بافر بارگذاری (۹۸ درصد فرم آمید، ۰/۰۲۵ درصد زایلن سیانول، ۰/۰۲۵ درصد برومو فنل بلو و ۱۰ EDTA Mm) مخلوط کرده و در دمای ۹۸ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه در ترموسایکلر قرار داده

1- Bone Morphogenic Protein-15
2- Growth Differentation Factor-9

شدند . سپس، بلافاصله بعد از اتمام این مرحله، میکروتیوب‌ها روی یخ قرار گرفتند. بعد از گذشت ۵ دقیقه برای مشاهده‌ی ژنوتیپ‌ها ۸ میکرولیتر از مخلوط محصول PCR با بافر بارگذاری SSCP و ۲ میکرولیتر لودینگ، با استفاده از الکتروفورز عمودی با ولتاژ ۱۶۰ ولت و به مدت ۴ ساعت روی ژل اکریل آمید ۸ درصد الکتروفورز شدند. عکس‌های تهیه شده از ژل مورد نظر، بررسی و الگوی باندی ایجاد شده شمارش شدند. براساس الگوی باندی ژنوتیپ حیوانات تعیین و سپس با استفاده از نرم‌افزار GenAlex معیارهای مربوط به چند شکلی ژن GDF9 محاسبه شدند. به منظور بررسی رابطه‌ی بین ژن GDF9 و صفت چندقلوزایی، آنالیز آماری با استفاده از رویه‌ی GLM نرم‌افزار SAS بر روی بزهای نجدی و لری- بختیاری استان خوزستان انجام شد. همه‌ی بزها یک سال و یک فصل زایمان کردند لذا سال و فصل در مدل لحاظ نگردید.

$Y_{ij}= \mu + G_i + e_{ij}$

Y_{ij}: مشاهدات (چند قلوزایی)

μ: میانگین جامعه

G_i: اثر ژنوتیپ به صورت اثر ثابت

e_{ij} : اثرات باقی‌مانده (اشتباه آزمایشی) به صورت اثر تصادفی

فراوانی ژنوتیپی مثلاً برای ژنوتیپ AA بدین صورت محاسبه گردید.

$F(AA)=n(AA)/N$

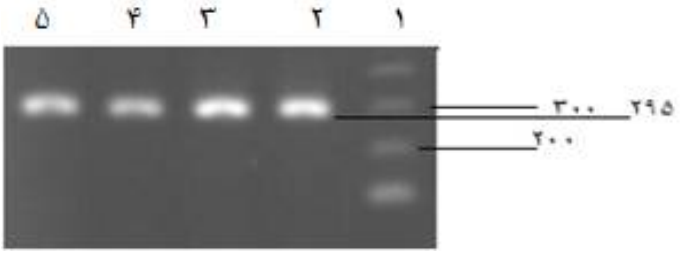
F(AA) فراوانی ژنوتیپی، n(AA)، تعداد این ژنوتیپ در جمعیت و N، تعداد کل نمونه‌ها بود. هتروزیگوسیتی مورد انتظار به صورت $H_e=1-\sum X_i^2$ و هتروزیگوسیتی مشاهده شده به صورت $H_o=\sum N_{Aa}/N$ که در آن N_{Aa} تعداد افراد هتروزیگوت و N تعداد کل افراد جمعیت است. مقدار آلل مؤثر بر اساس رابطه $ne=\frac{1}{\sum_{i=1}^{n} P_i^2}$ و شاخص شانون به صورت I=-1×Sum(pi×Ln(pi)) محاسبه گردید.

جدول ۱: توالی آغازگرهای مورد استفاده

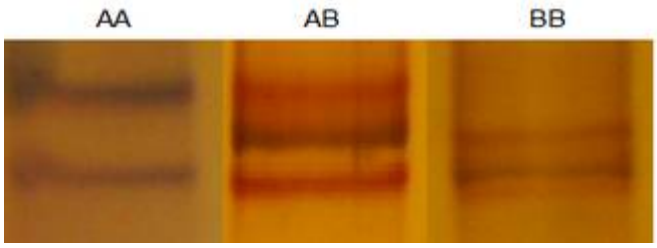
F	5'- GTTGGAATCTGAGGCTGAG-3'
R	5'-ATCTGCTCCTACACACCTG-3'

نتایج

در نتیجه‌ی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ژن GDF9 همان طور که انتظار می‌رفت قطعه‌ی ۲۹۵ جفت بازی تکثیر شد. جهت تایید اندازه‌ی قطعه‌ی حاصله از سایز مارکر ۱۰۰ جفت بازی شرکت آلمانی Roche استفاده شد (تصویر ۱). تجزیه حاصل از الکتروفروز با استفاده از روش PCR-SSCP منجر به شناسایی ۳ فرم مختلف از الگوی باندی برای بزهای نژاد نجدی و لری- بختیاری در موقعیت‌های جغرافیایی مختلف شد (تصویر ۲). طبق آنالیز انجام شده به وسیله نرم‌افزار GenAlex، آلل A، در جمعیت‌های بز نجدی شمال غربی، جنوب شرقی و بزهای لری- بختیاری شمال شرقی و جنوب شرقی بیش‌ترین فراوانی را داشته است. در جمعیت‌های بز نجدی جنوب شرقی و مرکز، ژنوتیپ AB بیش‌ترین فراوانی را نشان داد، اما در جمعیت شمال غربی بیش‌ترین فراوانی ژنوتیپی مربوط به ژنوتیپ AA بود (جدول ۲). در جمعیت بزهای لری- بختیاری شمال شرقی و جنوب شرقی بیش‌ترین فراوانی ژنوتیپی مربوط به ژنوتیپ AA بود (جدول ۳). همبستگی اسپیرمن محاسبه شده (r=-0.2) نشان دهنده‌ی وجود همبستگی بین ژنوتیپ و منطقه است.



تصویر ۱: محصولات PCR اگزون ۲ ژن GDF9 بر روی ژل آگارز. ستون یک سایز مارکر ۱۰۰ جفت بازی و ستون‌های ۲-۵ محصول PCR ژن GDF9



تصویر ۲: الگوی الکتروفورزی اگزون ۲ ژن GDF9 هست. ژنوتیپ مربوط به هر ستون در بالای آن‌ها نوشته شده است

جدول ۲: فراوانی‌های ژنوتیپی و آللی اگزون دو ژن GDF9 در جمعیت بزهای نجدی

	شمال غربی		جنوب شرقی		مرکز	
	ژنوتیپ و آلل	فراوانی	ژنوتیپ و آلل	فراوانی	ژنوتیپ و آلل	فراوانی
فراوانی ژنوتیپی	AA	۰/۴۷۱	AB	۰/۴۸۴	AB	۰/۷۵۰
	AB	۰/۳۴۰	AA	۰/۲۹۰	BB	۰/۲۵۰
	BB	۰/۱۸۹	BB	۰/۲۲۶	۰	۰
فراوانی آللی	A	۰/۶۴۲	A	۰/۵۳۲	B	۰/۶۲۵
	B	۰/۳۵۸	B	۰/۴۶۸	A	۰/۳۷۵

جدول ۳: فراوانی‌های ژنوتیپی و آللی اگزون دو ژن GDF9 در جمعیت بزهای لری- بختیاری

	شمال شرقی		جنوب شرقی	
	ژنوتیپ و آلل	فراوانی	ژنوتیپ و آلل	فراوانی
فراوانی ژنوتیپی	AA	۰/۶۵۰	AA	۰/۴۴۵
	BB	۰/۲۰۰	BB	۰/۳۳۳
	AB	۰/۱۵۰	AB	۰/۲۲۲
فراوانی آللی	A	۰/۷۲۵	A	۰/۵۵۶
	B	۰/۲۷۵	B	۰/۴۴۴

میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) در مرکز استان برای نژاد نجدی بیش‌ترین و مقدار آلل مؤثر (Ne) در جنوب شرقی بیش‌ترین بود. بیش‌ترین مقدار محتوی اطلاعات پلی‌مورفیسم (PIC) و شاخص شانون (I) در

جمعیت بزهای نجدی مرکز استان مشاهده گردید (جدول ۴). بیش‌ترین مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He)، مقدار آلل مؤثر (Ne)، مقدار محتوی اطلاعات پلی‌مورفیسم (PIC) و شاخص شانون (I) در جمعیت بزهای لری- بختیاری، در موقعیت جغرافیایی جنوب شرقی مشاهده گردید (جدول ۵). در همه‌ی موقعیت جغرافیایی استان خوزستان مقدار آلل واقعی (Na)، ۲ بود.

جدول ۴: معیارهای نشان دهنده‌ی چندشکلی ژن GDF9 در جمعیت بزهای نجدی

	Ho	He	Na	Ne	PIC	I
شمال غربی	۰/۳۴۰	۰/۴۶۰	۲	۱/۸۵۲	۰/۳۵۴۰	۰/۶۵۳
جنوب شرقی	۰/۴۸۴	۰/۴۹۸	۲	۱/۹۹۲	۰/۳۷۴۰	۰/۶۹۱
مرکز	۰/۷۵۰	۰/۴۶۹	۲	۱/۸۸۲	۰/۳۵۸۹	۰/۶۶۲

جدول ۵: معیارهای نشان‌دهنده‌ی چندشکلی ژن GDF9 در جمعیت بزهای لری- بختیاری

	Ho	He	Na	Ne	PIC	I
شمال شرقی	۰/۱۵۰	۰/۳۹۹	۲	۱/۶۶۳	۰/۳۱۹۲	۰/۵۸۸
جنوب شرقی	۰/۲۲۲	۰/۴۹۴	۲	۱/۹۷۶	۰/۳۷۱۸	۰/۶۸۷

ارتباط ژن GDF9 با صفت چندقلوزایی در دو نژاد بز

طبق محاسبات انجام شده به وسیله نرم‌افزار SAS اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های ژن GDF9 و صفت چندقلوزایی در جمعیت‌های مختلف استان خوزستان مشاهده نگردید (جدول ۶ و ۷). بررسی همگنی واریانس به روش لوین، حاکی از یکنواختی واریانس میان گروه‌ها دارد. به عبارت دیگر واریانس گروه‌ها اختلاف معنی‌دار نشان نداد (P>۰/۰۵).

جدول ۶: تأثیر اثر ثابت ژنوتیپ بر روی صفت چندقلوزایی در بزهای نجدی

شمال غربی			جنوب شرقی			مرکز		
ژنوتیپ‌ها	**میانگین چندقلوزایی**	**انحراف معیار**	**ژنوتیپ‌ها**	**میانگین چندقلوزایی**	**انحراف معیار**	**ژنوتیپ‌ها**	**میانگین چندقلوزایی**	**انحراف معیار**
AB	۱/۶۴[a]	۰/۱۳۱۲	BB	۲/۲۳[a]	۰/۱۷۴۸	BB	۲/۰۰[a]	۰/۱۶
BB	۱/۶۰[a]	۰/۱۲۸	AB	۲/۰۷[a]	۰/۱۵۶۵	AB	۲/۰۰[a]	۰/۱۶
AA	۱/۵۳[a]	۰/۱۲۲۴	AA	۲/۰۰[a]	۰/۱۶	–	–	–

جدول ۷: تأثیر اثر ثابت ژنوتیپ بر روی صفت چندقلوزایی در بزهای لری- بختیاری

شمال شرقی			جنوب شرقی		
ژنوتیپ‌ها	**میانگین چندقلوزایی**	**انحراف معیار**	**ژنوتیپ‌ها**	**میانگین چندقلوزایی**	**انحراف معیار**
BB	۲/۰۰[a]	۰/۱۶	BB	۲/۰۰[a]	۰/۱۶
AA	۱/۳۹[a]	۰/۱۱۱۲	AB	۲/۰۰[a]	۰/۱۶
AB	۱/۰۰[a]	۰/۰۸	AA	۱/۷۵[a]	۰/۱۴

بحث

یکی از کاربردهای بسیار مهم ژنتیک مولکولی در علوم دامی، شناسایی حیوانات دارای باروری بالا می‌باشد. جهش‌های طبیعی در نژادهای گوسفند بارور نشان داده‌اند که لیگاندهای ابر خانواده TGF-β، مانند GDF9 و BMP15 و گیرنده آن‌ها (BMPR1B) در فرآیند تخمک-گذاری و افزایش باروری نقش مهمی ایفا می‌کنند (Massague and Wotton 2000). به همین دلیل اثر ژن GDF9 بر باروری بزهای نجدی و لری- بختیاری مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش سه الگوی SSCP برای اگزون ۲ ژن GDF9 در دو نژاد بز استان خوزستان مشاهده گردید. نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر با نتایجی که با روش SSCP اگزون ۲ ژن GDF9، در نژاد بهمئی سه الگوی متفاوت A، B و C و در نژاد لک قشقایی دو الگوی A و B مشاهده کردند، مطابقت دارد (رحیمی و همکاران ۱۳۹۲). هم‌چنین با نتایج دیگری با روش RFLP برای ژن GDF9 در گوسفند نژاد قره گل که سه الگوی AA، BB و AB مشاهده کردند مطابقت دارد (بادبرین و همکاران ۱۳۹۲). در تحقیقی دیگر، دو الگوی SSCP برای اگزون ۲ ژن GDF9 در نژاد گوسفند SmallTailHan مشاهده شد، که نتایج ما با نتایج آن‌ها مطابقت دارد (Chu et al. 2004). نتایج حاصل از این پژوهش با نتایجی که ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی اگزون ۱ ژن GDF9 و صفت چندقلوزایی در نژادهای شیری گوسفند یونانی شناسایی نکردند، مطابقت دارد (Liandrisa et al. 2012). نتایج این تحقیق با نتایج دیگری که در اگزون ۱ ژن GDF9 دو آلل A و B را در دو نژاد گوسفند کردی و عربی استان‌های کردستان و خوزستان گزارش کرد، مطابقت دارد (Ghaderi et al. 2010). هم‌چنین با نتایجی که در گوسفند سنجابی در ناحیه‌ی کد کننده‌ی ژن GDF9 جهش مشاهده کردند، مطابقت دارد (سلیمانی و همکاران ۱۳۸۹). در پنج نژاد بز چینی با روش PCR-SSCP در ناحیه‌ی کد کننده‌ی ژن GDF9 سه ژنوتیپ AA، AB و BB گزارش شد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد (Chu et al. 2011). در ژن GDF9 گوسفند قره‌گل با روش PCR-SSCP چهار الگوی باندی مختلف مشاهده گردید، که با نتایج ما که حکایت از وجود جهش دارد مشابهت دارد (بهمنی و همکاران ۱۳۸۹). ولی با نتایجی که در گوسفند آرخامرینوس در ژن GDF9 (فرجزاده و همکاران ۱۳۸۶) و در ژن GDF9 در بز آلپاین با روش PCR-RFLP (خاتمی‌نژاد و همکاران ۱۳۹۰) جهشی نیافتند مطابقت ندارد. هم‌چنین غفاری و همکاران در سال ۲۰۰۷ در گوسفند شال، جهشی در ژن‌های GDF9 مشاهده نکردند، که از این بابت با نتایج این تحقیق مطابقت ندارد.

با توجه به تأثیر افزایش چندقلوزایی بر میزان گوشت تولیدی به ازای هر رأس دام در هر سال، به نظر می‌رسد که مطالعه برای پیدا کردن ژن‌های با اثر عمده بر چندقلوزایی در نژادهای مختلف در کشور لازم باشد. از طرفی، می‌توان با وارد نمودن این ژن‌ها و برنامه‌ریزی برای تکثیر و تثبیت جهش‌ها اتفاق افتاده مرتبط با ژن‌های باروری کمک قابل توجهی به افزایش تولید و درآمد دامداران کشور انجام داد.

تشکر و قدردانی

از مرکز تحقیقات صفی‌آباد که در انجام این تحقیق سهیم بودند سپاسگزاری و قدردانی می‌گردد.

منابع

بادبرین، نجات؛ میرحسینی، سیدضیاءالدین؛ بهمنی، امجد و سیدشریفی، رضا (۱۳۹۲). بررسی چند شکلی ژن GDF9 و همبستگی آن با صفات وزن بدن در گوسفند نژاد قره گل، همایش دام و طیور شمال کشور. صفحات ۱۰۷۶- ۱۰۷۳.

بهمنی، امجد؛ میرحسینی، سیدضیاءالدین؛ دلیرصفت، سیدبنیامین و انصاری، زربخت (۱۳۸۹). بررسی چند شکلی ژن FecG در گوسفند نژاد قره‌گل با استفاده از روش SSCP، چهارمین کنگره علوم دامی ایران. صفحات ۳۵۹۳- ۳۵۹۰.

حاجی‌سیدجوادی، سیدمحمدمهدی؛ حاجی‌سیدجوادی، محمدعلی؛ عباسی، مجید و اقبالی، محمد (۱۳۸۸). اطلس نژادهای گوسفندها و بزهای ایران و جهان. انتشارات سروا، تهران، ایران.

خاتمی‌نژاد، رسول؛ خان‌احمدی، علیرضا؛ پرتویی، عبدالباسط و خدادادی‌سرخی، محسن (۱۳۹۰). مطالعه-ی چند شکلی ژن GDF9 در بزآلپاین به روش PCR-RFLP. اولین همایش ملی مبحث نوین در کشاورزی.

رحیمی، اعظم و محققدولت‌آبادی، مصطفی (۱۳۹۲). تفاوت فرم فضایی رشته‌های منفرد ناحیه پیش برنده و اگزون ۲ ژن GDF9 در گوسفندان نژادهای بهمئی و لک قشقایی، همایش دام و طیور شمال کشور. صفحات ۱۴۵۴- ۱۴۵۸.

سلیمانی، بیژن؛ رحیمی‌میانجی، قدرت‌اله و برومند، چهارآمین (۱۳۸۹). میزان اثر ژن GDF9 روی دوقلوزایی و صفات وزنی در گوسفند سنجابی، ژنتیک نوین، دوره ۵، شماره ۱. صفحات ۵۹-۵۳.

فرجزاده، مهدی؛ دهناد، علی‌رضا؛ رحیمی، قدرت‌اله و امیری، (۱۳۸۶). بررسی پلی‌مورفیسم ژن GDF9 در گوسفند آرخامرینوس با روش PCR-RFLP. پنجمین همایش ملی بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران.

Chu, M.X.; Wu, Z.H.; Feng, T.; Cao, G.L.; Fang, L.; Di, R. et al. (2011). Polymorphism of GDF9 gene and its association with litter size in goats. Veterinary Research Communications. 35:329–336.

Chu, M.X.; Li, B.X.; Wang, J.Y.; Ye, S.C. and Fang, L. (2004). Association between PCR-SSCP of growth differentiation factor 9 gene and high prolificacy in small tail han sheep. Animal Biotechnology, 15:111-120.

Galloway, S.M.; McNatty, K.P.; Cambridge, L.M.; Laitinen, M.P.E.; Juengel, J.L.; Jokiranta, T.S. et al. (2000). Mutations in an oocyte derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. Nature Genetics, 25: 279–283.

Ghaderi, A.; Beigi Nasiri, M.T.; Mirzadeh, K.H.; Fayazi, J. and Sadr, A.S. (2010). Identification of the GDF9 mutation in two sheep breeds by using polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) technique. African Journal of Biotechnology, 9: 8020-8022.

Ghaffari, M.; Nejati-Javaremi, A. and Rahimi, G. (2007). Detection of polymorphism in oocyte derived growth factor (GDF-9) gene associated with twining in Shal sheep breed. The 5th National Biotechnology Congress of Iran. Tehran, Iran. p. 475.

Gilchrist, R.B.; Ritter, L.J. and Armstrong, D.T. (2004). Oocyte–somatic cell interactions during follicle development in mammals. Animal Reproduction Science 82-83:431–446.

Hanrahan, J.P.; Gregan, S.M.; Mulsant, P.; Mullen, M.; Davis, G.H.; Powell, R. et al. (2004). Mutations in the genes for oocyte-derived growth factors GDF9 and BMP15 are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (*Ovis aries*). Biolgical Reproduction . 70: 900-909.

Liandris, E.; Kominakis, A.; Andreadou, M.; Kapeoldassi, K.; Chadio, S.; Tsiligianni, T.H. et al. (2012). Associations between single nucleotide polymorphisms of GDF9 and BMP15 genes and litter size in two dairy sheep breeds of Greece. Small Ruminant Research, 107: 16–21.

Massague, J. and Wotton, D. (2000). Transcriptional control by the TGF-beta/Smad signaling system. EMBO Journal, 19: 1745–1754.

McNatty, K.P.; Moore, L.G.; Hudson, N.L.; Quirke, L.D.; Lawrence, S.B.; Reader, K. et al. (2004). The oocyte and its role in regulating ovulation rate: a new paradigm in reproductive biology. Reproduction, 128: 379-386.

Genetic variation in exon 2 of GDF9 gene in two breeds of goats Khuzestan

Javdan, E.[1]; Fayazi, J.[2]; Baigi Nasiri, M.T.[3] and Tabatabaei vakili S.[2]

Received: 25.05.2013 Accepted: 21.12.2013

Abstract

Litter size is an important economical trait in sheep and goat breeding. Applying traditional animal breeding systems such as selection and mating based on phenotypic evaluations are time-consuming and usually costly. In this case, molecular genetics can be an alternative solution. Some genetics studies have proven that litter size is genetically determined by the action of single genes with a major effect, named fecundity genes. This study was carried out to detect polymorphism in GDF9 gene. Ninety one Najdi goats of 3 locations in northwest, southeast and center of Khouzestan and 27 Lori-Bakhtiari goats, in 2 locations, north-eastern and south-eastern of province were selected randomly. After extracting of DNA, amplification of a 295 bp fragment of exon 2 of GDF9 gene was performed using specific primers. In this research three SSCP patterns for exon 2 of GDF9 gene in two breeds of goats were found in Khuzestan Province. However, no significant correlation between the observed patterns and the multiple pregnancy rate was observed in the two goat breeds. Allele A in Najdi goat populations of the northwest and southeast, and in Lori-Bakhtiari goats of northeast and southeast have the highest frequency. AB genotype had the highest frequency in Najdi goats of southeast and middle populations while, in the northwest population, the AA genotype was more frequent. The populations of Lori-Bakhtiari goats in all studied locations (northeast and southeast) exhibit the AA genotype as the most frequent genotype.

Key words: Najdi Goat, Lori-Bakhtiari Goat, genetic diversity, GDF9 Gene, PCR-SSCP

1- MSc. Graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran
2- Assistant professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran
3- Associate professors, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran
Corresponding Author: Javdan, E., E-mail: javdan_e@yahoo.com