مقالات علمی ترویجی

|نشریهٔ علمی- ترویجی (حرفه‌ای) دامستیک| دوره ۱۹، شماره ۳: ۱۵-۱۹
https://domesticsj.ut.ac.ir/article_76396.html
انجمن علمی- دانشجویی گروه علوم دامی دانشگاه تهران؛ زمستان ۱۳۹۸

بررسی ژن‌های دو قلوزای BMP15، GDF9 و BMPR_1B در گوسفند

فاطمه گلستانی عراقی[1,*]، سیدرضا میرائی آشتیانی[2]
[1,2] دانشجوی کارشناسی ارشد و استاد ژنتیک و اصلاح نژاد دام و طیور
گروه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
***نویسنده مسئول:** fatemeh.golestani@ut.ac.ir

چکیده

در کشور ما طی دهه‌های اخیر مطالعات گسترده‌ای برای افزایش میزان بهره‌وری صفات تولیدمثلی گوسفندان در کشور انجام گرفته است. بررسی ژن‌های بزرگ اثر یکی از اقداماتی بود که در این راستا صورت گرفت. ژن‌های BMPR_1B، BMP15، GDF9 از اعضای خانواده (Transforming Growth Factor β) (TGF-β) هستند که از لحاظ بیولوژیکی دارای سیستم فعالی می‌باشند. در کل این ژن‌ها بخش قابل توجهی از واریانس صفت چندقلوزایی را در گوسفند تشکیل می‌دهند. ژن GDF9 اتوزومی بوده و دارای اثر افزایشی بر نرخ تخمک‌اندازی می‌باشد، این ژن بر روی کروموزوم شماره پنج فقط در حالت هتروزیگوت منجر به افزایش تخمک‌اندازی شده و ژنوتیپ هموزیگوت برای این آلل، عقیم می‌باشد. فاکتور متمایز کننده رشدGDF9 (Growth Diffrenetiation Factor) را با نام Fec G می‌خوانند. ژن BMP15 وابسته به جنس بوده و بر روی کروموزومX واقع شده است. این ژن جزء دسته پروتئین مورفوژنیک استخوانی(Bon Morphogenetic Protein)BMP ها می باشد و با نام Fec X شناخته می‌شود. ژن بورولا (BMPR-1B) و یا (ALK6) اتوزومی بوده و نخستین ژن بزرگ اثری است که در مورد افزایش میزان باروری گزارش داده شد و آن را Fec B می‌نامند. مطالعه ژن‌های BMP15 و GDF9 در گوسفندان ایرانی نشان‌دهنده عدم وجود جهش‌های بزرگ اثر که در حالت هوموزیگوت منجر به عقیمی می‌گردد، می‌باشد.

کلمات کلیدی: دو قلوزایی، صفات تولید مثلی، کروموزوم، هتروزیگوت، هموزیگوت

مقدمه

با توجه به افزایش روزافزون جمعیت در جهان نیاز به پروتئین هم افزایش یافته است؛ ازجمله حامل‌های پروتئینی حیوانی، گوشت قرمز است که از گاو، گوسفند، بز و سایر حیوانات اهلی استفاده می‌شود. می‌توان گفت که گوشت قرمز به عنوان یکی از عمده‌ترین مواد غذایی مصرفی انسان‌ها شناخته شده که با دارا بودن منابع سرشاری از پروتئین، انرژی و ویتامین B ، مواد معدنی و اسیدهای آمینه جزء منابع مغذی و ارزشمند غذایی محسوب می‌گردد (چراغی، ۱۳۸۹). یکی از انواع گوشت قرمز، گوشت گوسفند است که برای تأمین این نیاز روزافزون می‌توان توان تولیدی این نوع گوشت را بالا برد؛ بنابراین یکی از راه‌های افزایش بهره‌وری جهت تأمین نیازهای غذایی، دست‌کاری‌های ژنتیکی برای افزایش میزان دو قلوزایی می‌باشد. اولین قدم جهت افزایش‌دو قلوزایی، شناسایی ژن‌های مرتبط با این صفت در انواع نژادهای پرورشی است.

از نظر تعداد بره‌های متولد شده میش‌های نژادهای مختلف، متفاوت می‌باشند و ممکن است برخی از آن‌ها دو یا چند قلوزا باشند. یکی از مواردی که می‌بایست در راستای تولیدمثل در میش‌ها از آن اطلاع داشت این است که عوامل زیادی مانند سن دام، میزان و کیفیت تخمک دام، اسپرم قوچ، فلاشینگ و تغذیه مناسب و با کیفیت می‌تواند در تولیدمثل گوسفند تأثیر بسزایی داشته باشد؛ امّا باید مدنظر داشت که یکی از بهترین راه‌حل‌ها جهت افزایش تعداد دام‌ها از طریق زادوولد، نگهداری از گوسفندان چند قلوزا است که با استفاده از این روش

می‌توان میزان و تعداد دام را در مدت زمان کمتر افزایش داد و به سود مطلوبتری دست یافت. در سال‌های اخیر بهبود صفات تولیدمثلی در گوسفند توسط تولیدکنندگان مورد توجه زیادی قرار گرفته است. ازجمله این صفات، تعداد نتاج در هر زایش(Litter Size) است، این در حالی است که صفات تولیدمثلی از وراثت‌پذیری پایینی برخوردار هستند و بنابراین شرایط پرورشی و محیطی در بهبود این صفات بسیار حائز اهمیت است (اقبال سعید، ۱۳۸۹).

گاو، بز و میش معمولاً یک یا دو نتاج و به‌ندرت تعداد نتایج بیشتری در هر زایش به دنیا می‌آورند، در حالی که سایر حیوانات مثل جوندگان، سگ و خوک شدیداً چند قلوزا هستند (بیشتر از۴ قلو)؛ امّا در گوسفند چه در داخل نژادها و چه در بین نژادهای مختلف، تنوع زیادی از لحاظ چند قلوزایی دیده می‌شود (اقبال سعید، ۱۳۸۹). نرخ بالای تخمک‌گذاری (High Ovulation Rate) در نژادهای چندقلوزایی (Prolific Sheep Breeds) یا ناشی از تعداد زیادی ژن با اثر جزئی (Genes With Small Effects) بوده و یا ناشی از اثربخشی ژن‌های عمده (Major Genes) در قالب ژن چندقلوزایی (Fecundity (Fec) Genes) است (اقبال سعید، ۱۳۸۹).

با توجه به اینکه در سال‌های اخیر تعدادی از گوسفند ان نژادهای خارجی وارد کشور شده است و همچنین در موارد زیادی آمیخته‌های این نژادها با نژادهای داخلی در حال پرورش می‌باشند، ضروری است که شناسایی ژن‌های مسئول چند قلوزایی مانندFec X، Fec B و Fec Gدر این نژادها و آمیخته‌های آن‌ها انجام شود که از این اطلاعات در برنامه‌های آمیزشی و انتخاب در نسل‌های بعد استفاده شود.

چند قلوزایی و ژن‌های عملکردی

صنعت گوسفندداری در اقتصاد ملی کشور نقش قابل ملاحظه‌ای دارد، به گونه‌ای که بخش زیادی از تولیدات د امی مانند گوشت، شیر و پشم از این صنعت تأمین می شود. در حال حاضر حدود ۳۰۰ هزار تن (۴۱٪) از کل گوشت تولیدی کشور توسط بیش از ۵۰ میلیون رأس گوسفند تولید می‌شود که این مقدار گوشت تولید شده پاسخگوی نیاز رو به افزایش جمعیت کشور نمی‌باشد (خالفاری، ۲۰۰۴).

یکی از راه‌حل‌ها برای رفع مشکل عنوان شده، کاهش تعداد دام مولد بدون کاهش درآمد دامدار می‌باشد. دست یابی به این هدف با استفاده از دام‌های مولد چند قلوزا میسر خواهد بود. با به‌کارگیری یک روش مناسب می‌توان بازدهی تولیدمثل را به طور قابل توجهی افزایش داد (منتگومری و همکاران، ۱۹۹۵؛ مولسانت و همکاران، ۲۰۰۱ ؛ ویلسون و همکاران، ۲۰۰۱).

با توجه به اهمیت صفت چند قلوزایی در گوسفند، از نظر اقتصادی و افزایش بهره‌وری بررسی ژن‌های مؤثر بر این صفت حائز اهمیت است. تاکنون سه ژن که اثر قابل توجهی در پستانداران مختلف بر رشد فولیکول‌ها و نرخ تخمک ریزی دارند، شناسایی شده‌اند که شامل BMP15، BMPR_1B و GDF9 می‌باشند و معروف‌ترین آن‌ها BMPها هستند. تمامی این ژن‌ها جزء خانواده بزرگ TGFβ بوده و بر تنظیم بیان و ترشح هورمون‌های مؤثر بر رشد فولیکول و نرخ تخمک‌ریزی مؤثر می‌باشند (هانراهان و همکاران،۲۰۰۴).

ژن GDF9 برخلاف ژن بورولا دارای اثر افزایشی بر نرخ تخمک‌اندازی است. ژن GDF9 روی کروموزوم شماره پنج فقط در حالت هتروزیگوت منجر به افزایش تخمک‌اندازی شده و ژنوتیپ هموزیگوت برای این آلل، عقیم می‌باشد. وجود همزمان دو ژن GDF9 و BMP15 در گوسفند به عنوان فاکتورهای لازم جهت تکمیل فولیکوژنز ضروری شناخته شده‌اند. تأثیر جهش در ژن GDF9 بسیار بیشتر از تأثیر جهش در ژن BMP15 گزارش شده است. این ژن در اووسیت‌ها بیان می‌شود و تصور بر این است که برای تولید فولیکول‌ها در تخمدان مورد نیاز باشد (هانراهان و همکارن، ۲۰۰۴).

ژن BMP15 بر روی کروموزوم X واقع شده است که تکثیر و تمایز سلولی گرانولوزا را به وسیلهٔ ترویج و توسعه تقسیم میتوزی سلول گرانولوزا، مهار بیان گیرنده هورمون محرک فولیکول و تحریک بیان لیگاند کیت تنظیم می‌کند، بنابراین نقش محوری در باروری پستانداران ماده دارند (مقدس‌زاده و همکاران، ۲۰۱۵).

این ژن دارای دو اگزون است که توسط یک اینترون از هم جدا شده‌اند و محصول رونویسی کامل آن‌ها یک توالی ۱۱۷۹ نوکلئوتیدی است که کدکنندهٔ یک پیش پپتید به طول ۳۹۳ اسیدآمینه است، همچنین پپتید کامل آن ۱۲۵ اسیدآمینه طول دارد. BMPها در توسعهٔ جنین، هموستازی، تعمیر و اصلاح الگوهای بافتی مختلف، تمایز سلولی و مرگ برنامه‌ریزی شده سلول نقش دارند (هانراهان و همکاران، ۲۰۰۴). این ژن به صورت هتروزیگوت باعث افزایش تخمک‌گذاری در گوسفندان و به صورت هموزیگوت باعث عدم باروری در گوسفندان حامل این موتاسیون‌ها می‌شوند؛ لازم به ذکر است که هر نوع تغییر نوکلئوتیدی در این ژن نیز منجر به افزایش چند قلوزایی نمی‌شود. برای نمونه در نژاد راسا

آرگونزا در کشور اسپانیا با متوسط تعداد ۱/۲ تا ۱/۵ بره در هر زایش با وجود یک SNP در اگزون شماره یک این ژن، افزایشی در چند قلوزایی نشان داده نشده است. در حالی که وجود جهش در اگزون دوم این ژن که شامل حذف یک قطعه ۱۷ جفت باز در بازه ۵۲۵ تا ۵۴۲ است، منجر به ایجاد چند قلوزایی می‌گردد (مونتگدو و همکاران، ۲۰۰۹).

در سال ۱۹۸۰ در نژاد بروالامرینو و دو رگه آن‌ها، وجود یک جهش در ژن غیرجنسی به نام BMPR_1B در کروموزوم شماره شش آن دیده شد که این جهش را « بورولا» نام گذاری کردند. این جهش در گیرنده پروتئین مورفوژنیک استخوان شناخته شد و در تخمدان‌ها بیان می‌شود. ژن نام برده دارای اثر افزایشی بر نرخ تخمک‌اندازی و غالبیت ناقص بر چند قلوزایی است و نخستین ژن بزرگ اثری بود که در مورد افزایش میزان باروری گزارش داده شد (دیویس و همکاران، ۲۰۰۵).

گوسفندانی که یک کپی از ژن بورولا را از هر کدام از والدین خود دریافت کردند ۱/۵ تخمک یا ۰/۵ الی ۱/۵ بره بیشتر از سایر گوسفندان در هر زایش تولید می‌کند.

نرخ تخمک‌اندازی معمولاً بزرگ‌تر از پنج بوده است، ولی در برخی موارد به ۱۵ نیز می‌رسد. در حیوانات هتروزیگوت برای جهشB+ میانگین میزان تخمک‌اندازی حدود سه بوده که حد واسط نژاد تیپ وحشی (++) و هموزیگوت BB است. مهم‌ترین تاثیر ژن بورولا را می‌توان در افزایش هورمونFSHدانست. جهش‌بورولادراگزون‌شماره۸گزارش‌شده‌است که منجر به جایگزینی آدنین با گوانین گردیده که در باز ۷۴۶ اتفاق افتاده است. به دنبال آن اسیدآمینه گلوتامین به آرژنین تبدیل می‌شود (سوزا و همکاران، ۲۰۰۱). افزایش میزان باروری در گوسفندان حاملFecB در ارتباط با افزایش تعداد فولیکول آنترال و پیش آنترال می‌باشد که دارای اندازه کوچک‌تری نسبت به فولیکول‌های گوسفندان غیر حامل است (دیویس و همکاران، ۲۰۰۴) . بررسی‌های بیشتر نشان داد که علیرغم اندازه کوچک‌تر فولیکول‌های آنترال و بالغ در گوسفندان حامل ژن بورولا نسبت به گوسفندان تیپ وحشی، در مراحل اولیه رشد فولیکولی تا مرحله تیپ سه فولیکولی دارای اندازه تخمک بزرگ‌تری نسبت به گوسفندان حامل تیپ وحشی برای این ژن می‌باشند (ریدر و همکاران، ۲۰۱۲).

گوسفندهای ایرانی ۸-۲۵ درصد دو قلوزایی دارند و وجودجهش‌های کوچک اثر در ژن‌هایGDF9 و BMP15 در گوسفندهای ایرانی با وجود درصد دو قلوزایی که دارند با آمیخته شدن با گوسفندهای وارداتی و تولید نژادهایدورگ (آمیخته) درصد دو قلوزایی به دلیل هموزیگوسی افزایش پیدا می‌کند (اقبال سعید و همکاران، ۲۰۱۲).

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان می‌دهد که در دو قلوزایی گوسفندان علاوه بر شرایط محیطی، شناخت ژن‌ها، ساختار آن‌ها و جهش‌های موجود هم تأثیر بسزایی دارند. شناخت این ژن‌ها و مطالعهٔ آن‌ها سبب بهبود و اقزایش میزان دو قلوزایی می‌گردد و در افزایش توان تولیدی تاثیرگذار خواهد بود. با شناخت و مطالعه ژن‌ها تعیین گردید که ژن‌های عمده اثر بر ژن‌های کوچک اثر، غالب هستند؛ به گونه‌ای که تأثیر ژن‌های عمده اثر در دو قلوزایی گوسفندان بسیار بیشتر از اثرات ژن‌های کوچک اثر است. همچنین با تعیین ژن‌های دو قلوزای BMPR_1B ، BMP15، GDF9 و تعیین هتروزیگوت و هموزیگوت بودن آن‌ها می‌توان در تجاری شدن تعیین ژنوتیپ در آزمایشگاه نقش داشت.

با توجه به مطالعه انجام شده، دو قلوزایی در گوسفندهای ایرانی بیشتر در نتیجهٔ اثر ژن‌های کوچک اثر بوده است و ژن‌های بزرگ اثر دیده نشده است، ولی با این اوصاف دو قلوزایی در برخی گوسفندهای ایرانی بالا بوده است. بنابراین با شناخت این ژن‌ها در گوسفندهای وارداتی و آمیخته کردن آن‌ها با گوسفندهای ایرانی سبب افزایش نرخ تخمک‌اندازی و دو قلوزایی می‌گردد. با در نظر داشتن شرایط بد محیطی و تغذیه‌ای در کشور، می‌توان با افزایش دو یا چند قلوزایی سبب بهینه نمودن تولید گوشت و شیر شد، همچنین سبب کاهش فشار دام بر روی مراتع می‌شود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از زحمات جناب آقایان دکتر مصطفی صادقی و دکتر سیدرضا میرائی آشتیانی، اعضای هیئت علمی گروه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، بسیار تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

اقبـال سـعید، ش . طغیانـی، م. قائـدی، ک. نصـر اصفهانی، م. بررسـی ژن هـای عمـده موثـر بـر تخمک‌انـدازی و چنـد قلوزایـی گوسـفندان: *مجلـه ژنتیـک در هـزاره سـوم*، سـال هشتم، شماره ۴، زمستان ۸۹.

قلـی پـور، ر. دانـش مقـدم،ل. هرکـی نـژاد، ط. بررسـی ژن BMP15 در گوسـفندان افشـار و امیختـه افشـاری * برولامرینـو. *پژوهش‌های علوم دامی ایران*: جلد ۷، شماره ۴، زمسـتان ۱۳۹۴، ص ۵۰۳-۴۹۸.

چراغـی، د. قلـی پـور، س. مـروری بـر عمـده ترین چالـش های گوشت قرمز در ایران. *بررسی‌های بازرگانی*: شماره ۴۱، تیر ۱۳۸۹

اقبـال سـعید، ش. امینـی، ح. رشـیدی، ف. ولایتـی، د. پـور علی، ش. شناسـایی جهش های جدید در اگزون ۸ ژن BMPR1B در گوسـفندان ایرانـی نـژاد لـری- بختیـاری، شـال، قـزل و افشار. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی علمی-پژوهشی و ISC* :دوره ۸، شماره ۳، پاییز۱۳۹۵.

Davis, G. H 2005. Major genes affecting ovulation rate in sheep. *Genetics Selection Evolution*, 37:S11–S23

Davis, G. H. 2004. Fecundity genes in sheep. *Animal Reproduction Science*,:28 247.35

Souza C, MacDougall C, Campbell B, McNeilly A, Baird D (2001). The Booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1 B (BMPR1B) gene. *Journal of Endocrinology* 169: R1-R6.

Eghbalsaied S, Ghaedi K, Shahmoradi S, Pireśtani A, Amini H, Saiedi T, Nicol L, McNeilly A (2012). Presence of SNPs in GDF9 mRNA of Iranian Afshari sheep. *International Journal of Fertility and Sterility* 5: 225–230

Monteagudo, L., R. Ponz., M. Teresa Tejedor., A. Lavina., and I. Sierra. 2009. A 17 bp deletion in the bone morphogenetic protein 15 gene is associated to increased prolificacy in the Rasa Aragonesa sheep breed. *Animal Reproduction Science*,:011 139-641

Hanrahan, J. P., S. M. Gregan., P. Mulsant., M. Mullen., G. H. Davis., R. Powell., and S. M. Galloway. 2004.

Mutations in the genes for oocyte-derived growth factors GDF9 and BMP15 are associated with both increased Ovulation rate and śterility in Cambridge and Belclare sheep Ovis aries. *Biology of Reproduction*, 70: 900-909.

scientific-extensional articles

"Scientific-Extensional (Professional) Journal of Domestic" 19 (3): 15-19
https://domesticsj.ut.ac.ir/article_76396_en.html
Animal Science Students Scientific Association at the University of Tehran, Winter 2020

Evaluation of GDF9, BMP15 and BMPR-IB Twin Genes in Some Sheep

Fateme Golestani Eraghi[1*], Seyed Reza Miraei-Ashtiani [2]

[1,2]M.Sc. Student and Professor Animal Breeding and Genetics, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources at University of Tehran

***Corresponding Author E-mail:** fatemeh.golestani@ut.ac.ir

Abstract

In our country, in recent decades extensive studies have been done to increase the efficiency of reproductive traits of sheep in the country. The effect of large genes was one of the measures taken in this regard. Genes GDF9, BMP15, and BMPR-IB are members of the TGFβ (Transforming Growth Factorβ) family, which have a biologically active system that together constitutes a significant portion of the variance of the multi-breeding trait in sheep.GDF9 gene is autosomal and has an additive effect on ovulation rate, this gene on chromosome 5 only results in heterozygous ovulation and the homozygous genotype for this allele is sterile. The Growth Differentiation Factor (GDF) is called the Fec G. BMP15 gene is sex-linked and is located on the X chromosome. This gene belongs to the category of bone morphogenic protein (BMP) and called Fec X. booroola gene (BMPR-IB) or (ALK6) is autosomal and the first large gene was the effect reported on increased fertility and called Fec B.The study of BMP15 and GDF9 genes in Iranian sheep indicates the absence of large effector mutations that lead to sterility in the homozygous state.In our country, in recent decades extensive studies have been done to increase the efficiency of reproductive traits of sheep in the country. The effect of large genes was one of the measures taken in this regard. Genes GDF9, BMP15, and BMPR-IB are members of the TGFβ (Transforming Growth Factorβ) family, which have a biologically active system that together constitutes a significant portion of the variance of the multi-breeding trait in sheep.GDF9 gene is autosomal and has an additive effect on ovulation rate, this gene on chromosome 5 only results in heterozygous ovulation and the homozygous genotype for this allele is sterile. The Growth Differentiation Factor (GDF) is called the Fec G. BMP15 gene is sex-linked and is located on the X chromosome. This gene belongs to the category of bone morphogenic protein (BMP) and called Fec X. booroola gene (BMPR-IB) or (ALK6) is autosomal and the first large gene was the effect reported on increased fertility and called Fec B.The study of BMP15 and GDF9 genes in Iranian sheep indicates the absence of large effector mutations that lead to sterility in the homozygous state.

Keyword(s): Twins, Reproductive traits, Chromosome, Heterozygous, Homozygous