

مقاله مروری

بررسی ژن‌های عمده موثر بر تخمک‌اندازی و چندقلوزایی گوسفندان

شاهین اقبال سعید*، مجید طغیانی، کامران قائدی، محمد حسین نصر اصفهانی

چکیده

صفت چندقلوزایی در گوسفندان به دلیل اهمیت اقتصادی مورد علاقه دامپروران است. وراثت‌پذیری این صفت در مطالعات مختلف کمتر از ۱۰٪ گزارش شده است. با این وجود، انتخاب مستقیم برای این صفت در برخی از گله‌ها منجر به پیشرفت ژنتیکی بسیار زیادتر از مقدار موردانتظار شد. دلیل این پدیده در این گله‌ها وجود ژن عمده که تأثیر سایر ژن‌های کوچک‌اثر را تحت پوشش قرار می‌دهد، پیشنهاد شد. تاکنون جهش در سه ژن عامل ایجاد چندقلوزایی و یا عقیمی گوسفندان گزارش شده است. ژن بورولا (BMP15) اتوزومی بوده که وجود یک جهش در این ژن برای صفت نرخ تخمک‌اندازی اثر افزایشی و برای صفت چندقلوزایی غالبیت ناقص دارد. ژن GDF9 اتوزومی بوده که در حالت هوموزیگوس منجر به ایجاد عقیمی شده و در حالت هتروزیگوس چندقلوزایی را ایجاد می‌کند. هشت جهش در این ژن شناسایی شده که تأثیر هر آلل جهش‌یافته از ۱/۳ تا ۱/۲ بره در هر زایش گزارش شده است. ژن BMP15 وابسته به جنس بوده که بسیار مشابه ژن GDF9 عمل می‌کند. علیرغم فرضیه ثابت بودن تعداد سلول‌های بنیادی ایجادکننده تخمک، نرخ تخمک‌اندازی و چندقلوزایی در میش‌های مسن حامل ژن‌های مذکور زیادتر میش‌های تیپ وحشی گزارش شده است. وجود همزمان آلل‌های جهش‌یافته از BMP15 و GDF9 و همچنین BMP15 و BMP15 منجر به افزایش چندقلوزایی نسبت به حالت جهش‌های منفرد آنهاست. تاکنون وجود جهش در ژنهای BMP15 و GDF9 در گوسفندان نژادهای ایرانی تایید شده است. با این وجود، هیچکدام از این جهش‌ها تأثیر معنی‌داری بر روی چندقلوزایی ندارد. ممکن است مجموع جهش‌ها در یک میش منجر به ایجاد دوقلوزایی در این نژادها شود. در این مقاله ژن‌های عمده موثر بر چندقلوزایی و مکانیسم تأثیر آنها بررسی می‌شود.

کلمات کلیدی: ژن عمده؛ BMP15؛ GDF9؛ BMP15؛ نرخ تخمک‌اندازی؛ چندقلوزایی

مقدمه

پشم، تولید گوشت و چندقلوزایی می‌باشند. در سالهای اخیر، بهبود صفات تولیدمثلی در گوسفند توسط تولیدکنندگان مورد توجه زیادی قرار گرفته است. از جمله این صفات تعداد نتاج در هر زایش بوده است. علاوه بر دامپروران، محققین علم ترانسژنیز^۲ نیز استفاده از حیوانات چندقلوزا را نسبت به حیوانات تک‌قلوزا ترجیح می‌دهند (۱). به ایجاد حیوانات تراریخته (که حامل حداقل یک ژن خارجی نسبت به ژنوم بومی خود هستند)، ترانسژنیز گفته می‌شود (۲). امکان تکثیر

کشور ایران به دلیل داشتن تنوع آب و هوایی و نیز وسعت زیاد دارای تنوع نژادی خوبی از گوسفندان است. نژادهای مختلف گوسفند در ایران شامل لری بختیاری، شال، مغانی، افشاری، سنگسری، قزل، عرب، بهمئی و غیره بوده که هر کدام در یک منطقه خاص از ایران سازگار شده‌اند. از جمله مهمترین صفات اقتصادی در گوسفندان تولید

* شاهین اقبال سعید، PhD

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوراسگان، دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی

E-mail: shahin.eghbal@khu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۱/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۳/۱۶

1. Litter size
2. Transgenesis

ژن خارجی هدف در حیوانات تراریخته چندقلوزا نسبت به تکقلوزاها زیادتر بوده و به همین دلیل استفاده از حیوانات چندقلوزا به خصوص دامهای اهلی مورد توجه محققین علم ترانسژنیز است (۱). این حالت به خصوص برای روشهای انتقال ژن از طریق اسپرم^۳ و انتقال ژن از طریق ویروسها که بهترین بازدهی آنها در حالت تلقیح مصنوعی گزارش شده است، می تواند بسیار مفید باشد (۳ و ۴).

چندقلوایی گوسفندان دارای ضریب وراثت پذیری پایین (کمتر از ۰/۱۰) است (۵). صفت تعداد نتاج در زایش رابطه مستقیمی با نرخ تخمک اندازی^۴ داشته و با افزایش تعداد تخمکهای رها شده در هر سیکل، تعداد نتاج متولد شده در هر زایش نیز زیاد می شود. وراثت پذیری برآورد شده برای نرخ تخمک اندازی بسیار متنوع گزارش شده است. به طور کلی در گوسفندان با چندقلوایی متوسط تا زیاد، وراثت پذیری نرخ تخمک اندازی زیادتر از تعداد نتاج در زایش برآورد می شود (۵). عبارت دیگر، نرخ تخمک اندازی یک معیار مناسب تری نسبت به چندقلوایی برای مشخص کردن ژنهای عمده^۵ است. نرخ تخمک اندازی در واقع حد بالایی چندقلوایی را مشخص می کند.

در سال ۱۹۸۰، در یک کارگاه آموزشی در آرمیدال گزارشی از گوسفند نژاد بورولامرینو^۶ با استفاده از اطلاعات و داده های کمی صفت چندقلوایی ارائه گردید (۶). آنها نتیجه گرفتند که چندقلوایی زیاد در نژاد بورولامرینو به احتمال زیاد ناشی از کارکرد یک ژن عمده (یا مجموعه ای از ژنهای بهم پیوسته) باشد که بر روی میزان تخمک اندازی موثر است. این اولین باری بود که وجود یک ژن عمده موثر بر چندقلوایی پیشنهاد شد ولی در آن زمان بسیاری از متخصصین این نظر که صفات پیچیده ای نظیر صفات تولیدمثلی ممکن است بوسیله یک ژن عمده و نه بی نهایت ژن کنترل شوند، را مورد تردید قرار دادند. یک ژن عمده ژنی است که تفاوت بین عملکرد دو هموزیگوس حداقل ۰/۵ انحراف معیار از کل واریانس فنوتیپی را شامل شود (۷). مدارک مستدل در تاثیر فرضیه پیپر و بیندون دو دهه بعد توسط سه گروه از محققین مختلف ارائه گردید (۸، ۹ و ۱۰). آنها به طور مشابهی کشف کردند که چندقلوایی مشاهده شده در نژاد بورولامرینو بدلیل جهش در ژن گیرنده پروتئین مورفوژنیک استخوان^۷ (BMPR-1B) است. پس از آن وجود جهش در ژنهای دیگری نظیر BMP15 نیز عامل ایجاد چندقلوایی در نژاد اینوردیل^۸ گزارش شد (۱۱). همچنان مدارکی از تفرق ژنهای عمده در گله های گوسفند در مناطق مختلف

جهان ارائه شد.

با توجه به اهمیت صفت چندقلوایی گوسفندان از نظر اقتصادی، بررسی ژنهای کاندیدای موثر بر این صفت حائز اهمیت است. علیرغم اینکه ژنهای عمده موثر بر چندقلوایی در نژادهای مختلف توسط محققین زیادی بحث شده است، تاکنون هیچ مقاله مروری در مجلات فارسی منتشر نشده است. در مقاله حاضر سعی شده که علاوه بر مرور مقالات سایر محققین بر روی گوسفندان نژادهای غیرایرانی، نتایج تحقیق های نویسندگان مقاله حاضر در گوسفندان ایرانی نیز جمع بندی شود.

۲- ژنهای عمده موثر بر چندقلوایی

تاکنون، سه دسته ژن به طور موثر بر رشد فولیکولها و نرخ تخمک اندازی شناسایی شده است که عبارتند از ALK6^۹، GDF9^{۱۰} و دسته BMP^{۱۱} که معروفترین آنها BMP15 است. تمامی این ژنها جزو خانواده بزرگ TGF β^{۱۲} بوده که بر تنظیم بیان و ترشح هورمونهای موثر بر رشد فولیکولی و نرخ تخمک اندازی موثرند. فاکتورهای رشد BMP6، BMP15 و GDF9 بوسیله تخمک تولید می شوند (۱۲)، در حالیکه گیرنده های BMP تیپ IA، IB و تیپ II بر روی تخمکها و سلولهای بدنی فولیکولهای تخمدانی (۱۳) و همچنین بر روی سلولهای غده هیپوفیز گوسفند (۱۴) واقع شده اند. جزئیات مربوط به نحوه شناسایی این ژنها و مکانیسم تاثیر آنها در زیر بیان شده است.

۲-۱- ژن BMP15

این ژن بر روی کروموزوم X واقع شده و شامل دو اگزون است که توسط یک اینترون به طول ۵/۴ کیلو باز از همدیگر جدا می شوند. محصول رونویسی کامل آنها یک توالی ۱۱۷۹ نوکلئوتیدی بوده که کدکننده یک پیش پپتید به طول ۳۹۳ اسید آمینه است و پپتید کامل

3. Sperm-mediated transgenesis
4. Ovulation rate
5. Major genes
6. Booroola Merino
7. Bone Morphogenetic Protein 1B receptor
8. Inverdale
9. Activin Receptor-Like Kinase 6
10. Growth and Differentiation Factor-9
11. Bone Morphogenetic Proteins
12. Transforming Growth Factor β

جابجایی تک نوکلئوتیدی در توالی کدکننده ژن بوده، در حالیکه افراد دارای ژن Fec xH دارای یک جابجایی تک نوکلئوتیدی که منجر به ایجاد کدون توقف پیش از ایجاد هورمون بالغ و کامل می‌شود. کشف جهش‌های واقعی باعث شد تا یک آزمون DNA با صحت ۱۰۰٪ برای تشخیص افراد حامل این ژن و بدون نیاز به اطلاعات والدینی بدست آید (۱۷).

با استفاده از یک نمونه که شامل چندقطره خون از فرد است، استفاده از آزمون DNA با صحت ۱۰۰٪ برای ژن اینوردیل در صنعت گوسفند نیوزیلند از طریق قوچه‌های رامنی و تکسل ناقل این ژن در حال افزایش است. میش‌هایی که این ژن را از هر دو والد خود دریافت می‌کنند عقیم بوده و بنابراین، برای استفاده تجاری از این ژن، دختران حامل این ژن را با قوچه‌هایی که فاقد ژن هستند آمیزش می‌دهند. این دختران در گله مشخص شده و بعنوان میش‌های دارای چندقلوزایی بالا مدیریت می‌شوند و با نرهای انتهایی که فاقد ژن هستند، آمیزش داده می‌شوند. در یک گله تجاری در نیوزیلند، میش‌های اینوردیل در یک دوره چهارساله، بطور متوسط از ۱۰۰ میش در هر سال ۳۰ بره زیاده‌تر از معمول تولید کردند. یک تجزیه درآمد و هزینه در سال ۱۹۹۸ منتشر شد و نشان داد که در شرایط مدیریت معمول گله‌های نیوزیلند، ارزش اقتصادی یک قوچ اینوردیل حامل در مقایسه با قوچ اینوردیل غیرحامل، ۳۳۵۰ دلار نیوزیلند زیاده‌تر است (۱۸).

تغییرات کدون‌های اسیدهای آمینه که ناشی از پنج جهش نقطه‌ای در ژن BMP15 بوده و بر روی کروموزوم X نقشه‌یابی شده‌اند، در جدول ۱ خلاصه شده است.

علاوه بر گوسفند و موش، در انسان نیز وجود جهش در ژن BMP15

آن ۱۲۵ اسیدآمینه طول دارد (۱۱). بررسی جهش‌ها در این ژن نشان‌دهنده این است که حتی جایگزینی یک اسیدآمینه که جابجایی زیادی را در توالی محصول ایجاد نکند نیز منجر به ایجاد تاثیر زیاد بر فعالیت محصول و به دنبال آن نرخ تخمک‌اندازی می‌گردد (۱۵).

۲-۱-۱-۲- اینوردیل و حنا^{۱۳}

نحوه توارث ژن اینوردیل (Fec XI) در سال ۱۹۹۰ در یک گله چندقلوزا که نتاج یک میش از نژاد رامنی^{۱۴} بودند که در ۱۱ بار زایش خود ۳۳ بره زاییده بود کشف گردید (۱۶). درگوسفندان اینوردیل و حنا یک قوچ حامل این ژن، آنرا به تمامی دختران خود منتقل کرد ولی آنرا به هیچکدام از پسران خود منتقل نکرد. این نخستین مدرکی بود که نشان داد ژن چندقلوزایی در هر دو گله بر روی کروموزوم X واقع است. در عوض، میش‌های ناقل این ژن، آنرا به نیمی از نتاج نر و ماده خود منتقل کرده بودند.

یک کپی از ژن اینوردیل (Fec XI) یا حنا (Fec XH)، تعداد نتاج کل را ۰/۶ بره در هر زایش افزایش می‌دهد. ولی میش‌های هموزیگوس که از هر دو والد خود این آلل‌ها را دریافت کرده بودند، دارای تخمدانهای بسیار کوچک و رشد نیافته بوده که عقیم بودند. در اواخر سال ۱۹۹۰، یک آزمون نشانگر DNA برای ژن اینوردیل انجام شد که صحت آن مشابه آزمون نشانگر بورولا بود. در این آزمون از سه مارکر DNA و نیز اطلاعات والدینی استفاده شد.

در سال ۲۰۰۰، تحقیقات در آگریسرچ نیوزیلند با همکاری محققین فنلاندی نشان داد که گوسفندان اینوردیل دارای یک جهش در ژن GDF9 و یا BMP15 است. جالب اینکه، هر دو نژاد گوسفندان اینوردیل و حنا دارای یک جهش در ژن BMP15 بودند ولی آلل حنا دارای جهشی متفاوت از آلل اینوردیل بود. افراد Fec XI دارای یک

13. HannaOvulation rate

14. Romney

جدول ۱- آلل‌های مختلف ژن BMP15 به همراه اسیدهای آمینه مورد اختلاف در محصولات آنها

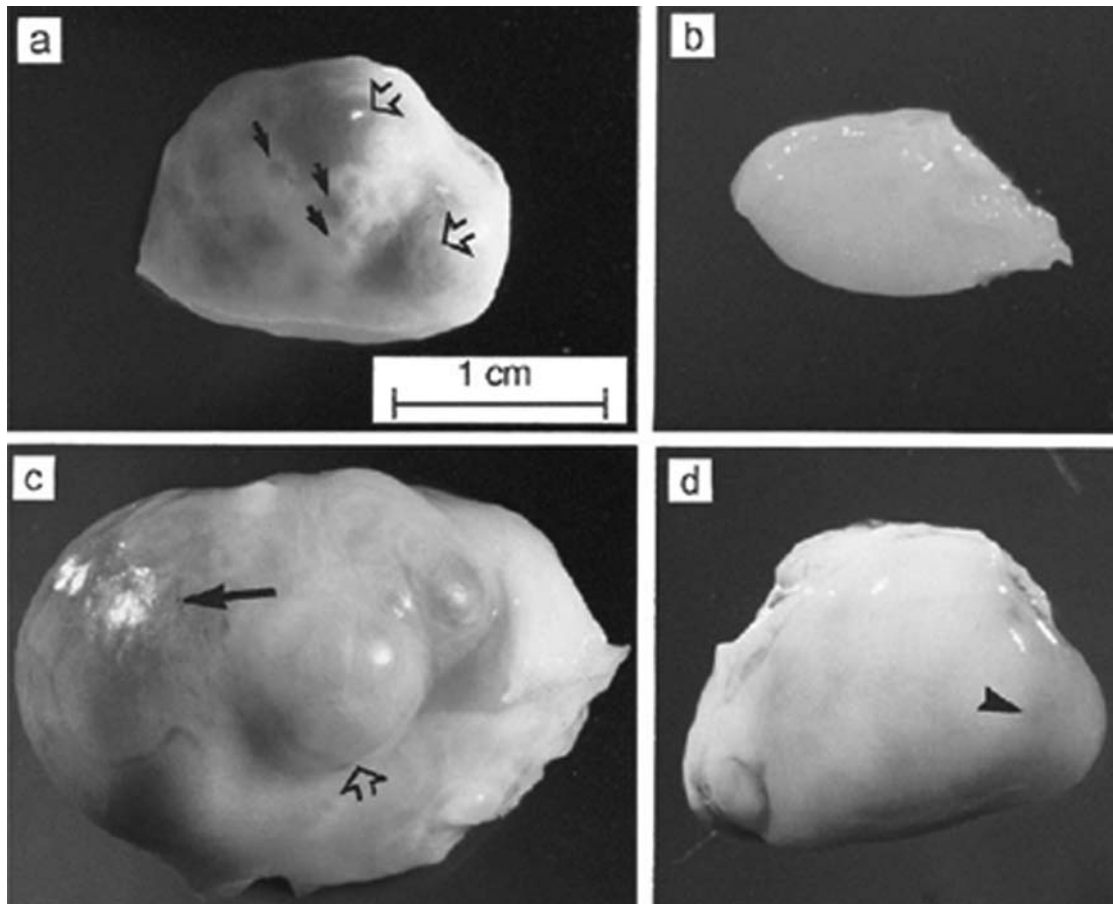
آلل	تغییر نوکلئوتید	شماره کدون (اسیدآمینه)	واحد‌های لیپید بالغ	تغییر اسید آمینه
<i>Fec X^G</i>	<i>C</i> ← <i>T</i>	۲۳۹	-	<i>Stop</i> ← <i>Gln</i>
<i>Fec X^B</i>	<i>G</i> ← <i>T</i>	۳۶۷	۹۹	<i>Ile</i> ← <i>Ser</i>
<i>Fec X^I</i>	<i>T</i> ← <i>A</i>	۲۹۹	۳۰	<i>Asp</i> ← <i>val</i>
<i>Fec X^H</i>	<i>T</i> ← <i>C</i>	۲۹۱	۲۳	<i>Stop</i> ← <i>Glu</i>
<i>Fec X^L</i>	<i>A</i> ← <i>G</i>	۳۳۱	۵۳	<i>Tyr</i> ← <i>Cys</i>

β -TGF شامل اینهیپین^{۱۸}، اکتیوین^{۱۹}، گیرنده‌ها و پروتئین‌های آنها، فاکتور سلول‌های بنیادی^{۲۰} (SCF) و گیرنده‌های آنها و c-kit نیز برای رشد اولیه فولیکول‌ها ضروری هستند. برای مثال ایجاد یک جهش در ژن SCF منجر به توقف رشد فولیکولی در مرحله‌ای که یک لایه از سلول‌های گرانولوزا اطراف آنها را پوشانیده‌اند می‌گردند (۲۶ و ۲۷). علاوه بر فاکتورهای ذکرشده، FSH نیز عامل موثر بر رشد فولیکول‌هاست (۲۸). اینهیپین، اکتیوین، FSH، SCF و گیرنده‌های آنها در سلول‌های خاصی از گوسفندان و به طور مرحله‌ای بیان می‌شوند (۲۹، ۳۰ و ۳۱). در تخمدان‌های چروکیده می‌ش‌های هوموزیگوس برای اینورژیل، علاوه بر فولیکول‌های پریموردیال (تیپ ۱)، ترانزیتوری (تیپ ۱a) و نیز اولیه (تیپ ۲)، سلول‌های نواری مشابه نادل^{۲۱} و نیز بافت‌های مشابه توموری نیز مشاهده شده است (۳۲). در برخی موارد این بافت‌های توموری حاوی اینهیپین غیرفعال ولی فاقد استروئید می‌باشند. در این می‌ش‌های هوموزیگوت به نظر می‌رسد که فولیکول‌ها بزرگ می‌شوند ولی سلول‌های گرانولوزا زیاد نمی‌شوند. سپس این اووسیت بزرگ‌شده شروع به دنژره شدن می‌کند و منجر به ایجاد ساختارهای می‌شود که نادل نامیده می‌شوند. نادل‌ها در تخمدان‌های چروکیده در مرحله پایان جنینی، نوزادی و نیز بلوغ قابل مشاهده‌اند (۲۲ و ۲۳). این نادل‌ها با همدیگر ممزوج شده و سلول‌های داخل آنها نیز تکثیر می‌شوند و ایجاد ساختارهای تومور شکل در سطح تخمدان می‌نمایند. با این وجود، علیرغم مورفولوژی و ساختار نادل‌ها مدارکی مبنی بر اینکه آنها دارای منشا گرانولوزا هستند یافت نشده است. اگر این ساختارها دارای منشا گرانولوزا باشند، می‌بایست بیان ژنهای آنها نیز مشابه سلول‌های گرانولوزای در حال رشد فولیکولی باشند (۳۲). در یک تحقیق با بررسی بیان ژن‌های مختلف این فرضیه اخیر ارزیابی گردید (۳۲). بیان ژن c-kit در تمامی اووسیت‌های فولیکول‌ها در هر سه ژنوتیپ هوموزیگوس برای اینورژیل، هتروزیگوس و هوموزیگوس فاقد ژن اینورژیل مشاهده شد (۳۲). بیان ژن SCF در سلول‌های گرانولوزای

عامل ناباروری و نیز سندرم کیست تخمدانی گزارش شده است (۱۹). بررسی دوقلوژی تک‌تخمی در انسان نشان داد که برخی موارد جهش در ژن GDF9 در مادرهای دوقلوزا گزارش شده است (۲۰). با این وجود، در تحقیق کامل تری که انجام شد، رابطه معنی‌داری بین جهش در ژن BMP15 و دوقلوژی تک‌تخمی مشاهده نشد (۲۱). حیوانات هوموزیگوس برای هر کدام از این آلل‌ها عقیم بوده و دارای فنوتیپ تخمدانی مشابه هستند (۱۷). در واقع رشد فولیکولی نرمال تا مرحله تیپ ۲ از رشد متوقف می‌شود (۲۲). در حیوانات حامل $Fec X^L$ یا $Fec X^H$ ، $Fec X^I$ ، $Fec X^B$ ، $Fec X^G$ تخمک‌های بزرگ با یک و گاهی اوقات دو لایه نامنظم از سلول‌های گرانولوزا احاطه شده‌اند و برخی از اثرات متقابل پاراکراین^{۱۵} غیرنرمال با تخمک مجاورشان را نشان می‌دهند. در نژادهای اینورژیل و حنا رشد سلول‌های بنیادی و شکل‌گیری فولیکول‌ها طی دوره جنینی نرمال است و بین حیوانات هوموزیگوس، هتروزیگوس و تیپ وحشی در تعداد فولیکول‌های پریموردیال^{۱۶} ایجاد شده، هیچ تفاوتی وجود نداشت (۲۲) ولی هنگامیکه فولیکول‌های تخمدانی شروع به رشد به ساختارهای اولیه می‌کنند، اولین تغییرات مورفولوژیکی غیرنرمال ظاهر می‌شوند. در حیوانات هتروزیگوس اینورژیل، ظاهر تخمدان‌ها کاملاً شبیه تیپ وحشی بوده، ولی فولیکول‌ها ممکن است با قطر کمتری تخمک‌اندازی شوند (یعنی کمتر از ۴ mm)، در حالیکه قطر فولیکول‌های تخمک‌اندازی شده در تیپ وحشی بیشتر از ۵/۵mm است. علاوه بر این، در فولیکول‌های انترال^{۱۷} تعداد سلول‌های گرانولوزا در اندازه‌های مشابه فولیکولی در می‌ش‌های $Fec X^I$ کمتر از تیپ وحشی است (۲۴).

افزایش نرخ تخمک‌اندازی در می‌ش‌های حامل ژن اینورژیل با افزایش فولیکول‌های انترال همراه بوده ولی تعداد سلول‌های گرانولوزا در هر فولیکول و نیز افزایش حساسیت سلول‌های گرانولوزا نسبت به هورمون LH قبل از رشد همراه است (۲۴). در حالیکه در می‌ش‌های هوموزیگوس برای این آلل، تخمدان‌ها چروکیده و نواری شده و فرد عقیم است (۲۵). ژن $Fec X^I$ بر رشد اولیه فولیکول‌ها موثر بوده و به همین دلیل علیرغم مشابه بودن تعداد فولیکول‌های پریموردیال با تخمدان‌های نرمال، هیچ فولیکولی از مرحله رشد اولیه به بعد یعنی تیپ ۲ و بالاتر در آنها یافت نمی‌شود (۲۲ و ۲۳). فاکتورهای رشد زیادی در رشد اولیه فولیکولی می‌توانند موثر باشند نظیر اعضای خانواده

15. Paracrine
16. Primordial
17. Antral
18. Inhibin
19. Activin
20. Stem Cell Factor
21. Nodule



شکل ۱ - تخمدانهای مربوط به میش‌های هموزیگوت وحشی و هموزیگوت اینوردیل. تخمدان نرمال از میش دارای ژنوتیپ وحشی (A) فلش بسته فولیکول‌های در حال رشد و فلش باز کورپوس لوتئوم است. شکل B، C و D تخمدان‌های میش‌های هموزیگوت اینوردیل هستند که به ترتیب تخمدان چروکیده نواری، تخمدان دارای تومور کیستی (فلش سیاه بسته) و تومور سفید (فلش باز) و تخمدان دارای تومور قرمز را نشان می‌دهند (برگرفته از منبع شماره ۳۲).

تمامی ژنوتیپ‌ها بیان هیچ یک از ژن‌های ذکر شده یافت نشد (۳۲). یافته‌های این محققین تاییدکننده فرضیه سلول‌های گرانولوزای فولیکول‌های کوچک منشا سلول‌های سوماتیک در نادرول‌های عاری از اووسیت و بافت‌های مشابه توموری میش‌های هموزیگوت برای ژن اینوردیل هستند، بود.

در اثر جهش Fec XI باز آدنین جایگزین باز تیمین گردیده و به دنبال آن والین آبدوست با آسپاراتات دارای بار منفی باعث تغییر در پتانسیل الکتروستاتیکی سطحی در ناحیه ایجاد پیوند دیمر گردیده و به دنبال آن قطع دیمریزاسیون و غیرفعال شدن بیولوژیکی محصول می‌گردد (۱۱).

تیپ ۲ هموزیگوس‌های اینوردیل و سلول‌های گرانولوزای تیپ ۲ و بالاتر دو ژنوتیپ دیگر مشابه بود. بیان ژن‌های گیرنده FSH، فولستاتین، اینهیبین، اکتیوین در فولیکول‌های افراد عقیم مشاهده نشد ولی در فولیکول‌های تیپ ۳ و بالاتر در دو ژنوتیپ دیگر مشاهده شد. ژن‌های بتا اکتیوین-اینهیبین و c-kit فقط در فولیکول‌های تیپ ۵ و یا انترال مشاهده شد، در حالی که در افراد عقیم مشاهده نشد. بخش عمده تومورها شامل سلول‌های مشابه فیروبلاست و لوتال بود که فقط به میزان بسیار جزئی ژن SCF را بیان می‌نمود و بیان سایر ژن‌ها در آنها مشاهده نشد. لازم به ذکر است که در سلول‌های اپی‌تلیوم سطحی، فیروبلاست، واسکولار و تکا داخل تخمدان‌های

۲-۱-۲- کمبریج^{۲۲}

میش‌های هموزیگوس برای هر کدام از این سه ژن عقیم می‌باشند و نیز میش‌هایی که یک کپی از $Fec X^B$ و یک کپی از $Fec X^G$ را دارند نیز عقیم‌اند. در سال ۲۰۰۲ ژن GDF9 بر روی کروموزوم شماره ۵ نقشه یابی گردید (۳۷). این جهش نقطه ای در نژاد بلکلیر منجر به جایگزینی اسیدهای آمینه شده و بنظر می‌رسد که با ناحیه باندی گیرنده تیپ ۱ اثر متقابل داشته باشد. حیوانات هموزیگوت برای این جهش تخمدان‌های بسیار کوچک داشته و عقیم‌اند ولی حیوانات هتروزویگوس در هر تخمک‌اندازی به طور متوسط ۲ تخمک بیشتر از حیوانات تیپ وحشی داشتند. مدارک مورفولوژیکی نشان می‌دهد که یک اثر متقابل غیر طبیعی پاراکراین بین تخمک و سلول‌های گرانولوزای اطراف آن وجود دارد (۳۸). جهش‌های $Fec X^G$ و $Fec X^B$ را به ترتیب جهش‌های S2, S1 نیز می‌گویند.

جهش $Fec X^B$ منجر به جایگزینی باز غیرقطبی ایزولوسین بجای باز قطبی بدون بارسرین در اسیدآمینه شماره ۹۹ از توالی پلی‌پپتید بالغ می‌گردد. وجود سرین و لوسین مجاور آن برای اتصال به گیرنده‌های تیپ ۲ BMP ضروری است و به دلیل این جایگزینی این اتصال صورت نمی‌گیرد (۳۶).

۲-۱-۲-۴- لکون^{۲۵}

در سال ۱۹۹۸، یک مطالعه بر روی نژاد گوشتی لکون در یک گله تجاری در فرانسه نشان داد که وراثت پذیری تعداد نتاج در هر زایش ۰/۴ بوده و برخی میش‌های دارای بیش از ۴ بره در هر بار زایش، نشان دهنده وجود یک ژن عمده در حال تفرق در این نژادها بود (۳۹). تعدادی از گوسفندان نژاد لکون بر اثر تعداد نتاج و میزان تخمک‌اندازی که دارای میانگینی تخمک‌اندازی ۵/۸ بودند و برخی از آنها دارای رکوردهای فردی ۳-۱۴ تخمک بوده با تکرار پذیری بالایی (۰/۸۷) بودند (۳۹). آزمون نتاج و آنالیز تفرق آنها وجود یک ژن عمده اتوزومی را که یک کپی از آنها ۱/۰۳ تخمک در هر تخمک‌اندازی افزایش می‌یابد (۴۰). آنها آنالیز حداکثر درست‌نمایی میزان تخمک‌اندازی را بر روی داده‌ها انجام داده و ۷ قوچ F1 را بعنوان هتروزویگوس و دو گره میش تالاقی برگشتی دسته‌بندی کردند.

22. Cambridge

23. Hanrahan & Owen

24. Belclare

25. Lacaune

میانگین تخمک‌اندازی و چندقلوایی در گوسفندان نژاد کمبریج زیاد بوده و اختلاف بین میش‌های داخل این نژاد نیز بسیار زیاد گزارش شده است (۳۳). ژن کمبریج از یک جمعیتی از میش‌های چندقلو در گله گوسفندان ملی انگلیس ایجاد شد. واریانس فنوتیپی زیاد و تکرارپذیری بالایی تعداد تخمک‌اندازی در این میش‌ها توسط هانراهان و اوین^{۲۳}، گزارش شد (۳۴). آنها نتیجه گرفتند که یک ژن عمده در این جمعیت در حال تفرق است که یک کپی از این ژن تخمک‌اندازی را ۰/۷ افزایش می‌دهد. آنها در ۱۴٪ از گوسفندان خود تخمدان‌های غیرفعال و عقیم را گزارش کردند. لاپاراسکوپی‌های انجام شده نشان داد که ظاهر تخمدان‌های میش‌های عقیم، کاملاً شبیه میش‌های هموزیگوس اینوردیل است. سپس آنها جهش این ژن را بر روی کروموزوم X نشان دادند و مشخص کردند که یک جهش دیگری از ژن BMP15 است که با جهش‌های اینوردیل و حنا متفاوت است. علاوه بر این، در گله بررسی شده، یک ژن غیرجنسی GDF9 بر روی کروموزوم شماره ۵ نیز دارای جهش است و باعث افزایش میزان تخمک‌اندازی در میش‌های هتروزویگوت و عقیمی در هموزیگوس‌ها می‌شود. یک کپی از $Fec X^G$ ، میزان تخمک‌اندازی را ۱/۴ افزایش می‌دهد.

۲-۱-۲-۳- بلکلیر^{۲۴}

تحقیقات هانراهان بر روی یک گله نژاد بلکلیر که چندقلوایی بالایی داشت نشان داد که میزان تخمک‌اندازی آنها بسیار بالا است. میزان تخمک‌اندازی بالا و تکرارپذیری بالای این صفت، وجود یک ژن عمده را در این گله گزارش کرد. همچنین وی درصد بالایی گوسفندان عقیم را در این گله گزارش کرد (۳۳، ۳۴ و ۳۵). دو جهش در ژن BMP15 مشخص شد که یکی از آنها همان جهش کشف شده در نژاد کمبریج بوده ($Fec X^G$) و منجر به تغییر بازستیوزین به تیمین و در نتیجه آن تبدیل کدان اسیدآمینه اسیدگلوتامیک به کدان ختم است. ولی جهش دیگر در ژن BMP15 قبلاً کشف نشده بود و نام‌گذاری شد که در نتیجه آن در کدان شماره ۳۶۷ تغییر باز گوانین به سنتوزین انجام شده و به دنبال آن بجای سنتز اسیدآمینه سرین، اسید آمینه ایزولوسین ایجاد شد. همچنین در این نژاد یک جهش در ژن GDF9 نیز مشخص شد (۳۶).

این ژن رابطه معنی‌داری با افزایش چندقلوزایی نشان نداد. در حالیکه، وجود جهش در اگزون دوم این ژن که شامل حذف یک قطعه ۱۷ جفت‌بازی از باز ۵۲۵ تا ۵۴۱ بود، منجر به ایجاد چندقلوزایی گردید (۴۴). این گروه نام این جهش را که در ژن BMP15 و بر روی کروموزوم X رخ داده را $FecX^R$ نامیدند.

۲-۲-۲- ژن GDF9

برخلاف ژن بورولا که دارای اثر افزایشی بر نرخ تخمک‌اندازی است، ژن GDF9 فقط در حالت هتروزیگوت منجر به افزایش تخمک‌اندازی شده و ژنوتیپ‌های هوموزیگوس برای این آلل عقیم هستند. وجود جهش در این ژن منجر به جایگزینی فنیل‌آلانین به جای سرین در موقعیت اسیدآمینه شماره ۷۷ در زنجیره پلی‌پپتید بالغ GDF9 می‌گردد (۳۶). وجود هورمون GDF9 در موش (۴۵) و وجود همزمان دو هورمون GDF9 و BMP15 در گوسفند (۴۶) به عنوان فاکتورهای ضروری جهت تکمیل فولیکولوژنز ضروری گزارش شده‌اند و در صورت غیرفعال شدن این فاکتور، حداکثر رشد فولیکول‌ها تا مرحله تیپ ۲ است (۴۶). غیرفعال‌سازی بخشی از فاکتورهای GDF9 و BMP15 موجود در خون از طریق ایمنی‌سازی در گوسفندان نژاد رامنی منجر به افزایش نرخ تخمک‌اندازی و چندقلوزایی گردید. فنوتیپ گوسفندانی که تحت تیمار غیرفعال‌سازی واقع شدند (۴۷). این مکانیسم توجیه‌کننده نحوه تاثیر جهش‌های غیرفعال‌کننده در گوسفندان هتروزیگوت برای ژن‌های BMP15 و GDF9 است. در میس‌های هوموزیگوس برای جهش در این ژن‌ها، غیرفعال‌سازی این فاکتورها به طور کامل انجام می‌شود و به دلیل ضرورت وجود آنها برای تکمیل فولیکولوژنز، فولیکول‌های تخمدانی تا مرحله ۲ پیش می‌روند (۴۷). خنثی‌سازی GDF9 بر فعالیت کورپوس لوتئوم نیز موثر بوده و به همین دلیل علاوه بر تاثیر بر رشد فولیکول‌ها بر سلامتی تخمک‌ها و ایجاد آبستنی نیز موثر است (۴۷).

نتایج تحقیقات هانراهان و همکاران از سال‌های ۱۹۹۱ تا ۲۰۰۴ بر چندقلوزایی در نژادهای بلکیر و کمبریج نشان داد که فنوتیپ تخمدان‌های گوسفندان عقیم در این نژادها با نژادهای حنا و اینوردیل متفاوت است. از جمله این اختلاف‌ها می‌توان به وجود

نتایج آزمایشات اولیه با استفاده از اسکن کل ژنوم بجز برای نواحی ژن‌های بورولا و اینوردیل، لوکوس لکون را بر روی کروموزوم ۱۱ پیشنهاد داد. با استفاده از مارکرهای گوسفند و مقایسه نقشه ژنومی گوسفند با نقشه ژنوم انسان و گاو، باعث شد تا ۹ مارکر نزدیک به این لوکوس انتخاب شوند. امروزه نزدیک‌ترین مارکر مشخص شده با این ژن در فاصله ۲ سانتی‌مورگان آن واقع است (۴۱). موقعیت دقیق این جایگاه ژنی تاکنون گزارش نشده است. علاوه بر این، اخیراً یک جهش در ژن BMP15 که با جهش‌های $Fec X^H$ و $Fec X^I$ ، $Fec X^G$ و $Fec X^B$ متفاوت است، در نژاد لکون مشخص شد (۴۲). این جهش منجر به جایگزینی اسیدآمینه تیروزین به جای سیستئین در موقعیت اسیدآمینه شماره ۵۳ گردیده است. هرچندکه بیان ژن BMP15 در میس‌های وحشی و میس‌های حامل آلل لکون مشابه بود، ولی ساختار فضایی زنجیره پلی‌پپتید ایجادشده به دلیل حذف اسیدآمینه سیستئین و به دنبال آن عدم ایجاد پیوند دی‌سولفید دچار تغییر شده (۴۲) که خواص آنرا نیز تغییر داده است (۴۳). این جهش را $Fec XL$ نامیدند که وابسته به جنس بوده و در داخل ژن BMP15 رخ داده است (۴۲). همچنین، آنها نشان دادند که تعدادی از قوچ‌ها در گله هسته نیز برای این ژن هم‌زیگوس^{۲۷} هستند. افراد هوموزیگوس برای این آلل دارای تخمدان‌های نواری مشابه ژنوتیپ هوموزیگوس برای آلل اینوردیل بودند و مجاری جنسی آنها نیز رشدنیافته بود. فولیکول‌ها غیرطبیعی بوده و دارای تخمک‌بزرگ با زوناپلوسیدای بسیار ضخیم بوده و نشان می‌دهد که آنها در مرحله اولیه فولیکولوژنز متوقف شده‌اند (۴۲). میانگین تخمک‌اندازی در میس‌های دارای آلل لکون از ۴/۴ تا ۱۲/۴ و میانگین میس‌های غیرحامل ژن ۱/۹ در هر سیکل فحلی بوده و تکرارپذیری این صفت ۰/۶۵ گزارش گردید (۴۰ و ۴۱). وجود چندقلوزایی بالا در میس‌های غیرحامل برای آلل لکون، دلالت بر تاثیر جایگاه ژنی دیگری (علاوه بر BMP15) است که بر چندقلوزایی این نژاد موثر است. این ژن ممکن است همان ژن پیشنهادشده بر روی کروموزوم ۱۱ باشد که در سال ۲۰۰۲ گزارش گردید.

۲-۱-۵- راسا

نژاد راسا آرگونز^{۲۸} در کشور اسپانیا با متوسط تعداد ۱/۲ تا ۱/۵ بره در هر زایش است (۴۴). در این نژاد وجود یک SNP در اگزون شماره ۱

27. Hemizygous

28. Rasa Aragonesa

جدول ۲- چندشکلی‌های مختلف شناخته شده در ژن GDF9

نام جهش	تغییر باز	شماره اسید آمینه	شماره اسید آمینه در پپتید بالغ	تغییر اسید آمینه
G1	$A \leftarrow G$	۸۷		آرژینین به هیستیدین
G2	$T \leftarrow C$	۱۵۷		والین به والین
G3	$A \leftarrow G$	۱۵۹		لوسین به لوسین
G4	$A \leftarrow G$	۲۴۱		گلوتامین به لیزین
G5	$G \leftarrow A$	۳۲۶	۸	گلوتامین به گلوتامین
G6	$A \leftarrow G$	۳۳۲	۱۴	والین به ایزولوسین
G7	$A \leftarrow G$	۳۷۱	۵۳	والین به متیونین
G8	$T \leftarrow C$	۳۹۵	۷۷	سریلین به فنیل آلانین

۲-۲- توکا^{۲۹}

در یک نژاد گوسفند در ایسلند بنام توکا متوسط چندقلوژی ۱/۸۳ گزارش شده و میزان اثر ژن جهش یافته ۰/۶ بره در هر زایش است (۴۸). بررسی توالی ژن GDF9 در گوسفندان این نژاد نسبت به گروه کنترل از نژاد شویت^{۳۱} نشان داد که تمامی گوسفندان عقیم از نژاد توکا دارای یک جهش منفرد (جایگزینی A با C) در باز شماره ۱۲۷۹ شده که منجر به تغییر اسید آمینه ۴۲۷ در mRNA کامل و یا اسید آمینه ۱۰۹ از توالی بالغ شده به طوری که اسید آمینه خشی سرین با اسید آمینه بازی آرژینین جایگزین می‌شود. علاوه بر این، جهش‌های G5، G4، G3 و G6 نیز در این نژاد شناسایی شد که هیچکدام با عقیمی و چندقلوژی در این نژاد مرتبط نبود (۴۸).

۲-۳- ژن ALK6 یا بورولا

در اوایل دهه ۱۹۸۰، مطالعه رکوردهای چندقلوژی و نرخ تخمک اندازی در نژاد بورولا مرینو و دوره‌های آنها نشان داد که در این گله‌ها یک ژن عمده غیرجنسی (FecB) با اثر افزایشی بر نرخ تخمک اندازی و غالبیت ناقص بر چندقلوژی وجود دارد. گوسفندانی که یک کپی از ژن بورولا را از هر کدام از والدین خو دریافت کردند، ۱/۵ تخمک و ۱ بره زیاده‌تر از سایر گوسفندان در هر زایش ایجاد می‌کنند (۴۹).

در سال ۱۹۹۳، اولین آزمون نشانگر DNA برای ژن بورولا نشان

فولیکول‌های دارای انتروم، تخمک‌های غیرنرمال با چندلایه بی‌نظم سلولی و تخمک‌های دارای زونا پلوسیدای ضخیم اشاره کرد (۳۳-۳۶). علاوه بر این، تاثیر جهش در ژن GDF9 بسیار زیاده‌تر از جهش در ژن BMP15 گزارش شده است (۳۶).

ژن GDF9 بر روی کروموزوم شماره ۵ گوسفندان شناسایی شده است (۳۷). این ژن ۲/۵ کیلوباز طول داشته که شامل دو اگزون و یک اینترون به طول ۱۱۲۶ جفت باز است که کدکننده یک پیش‌پپتید به طول ۴۵۳ اسید آمینه بوده و پپتید فعال آن ۱۳۵ اسید آمینه طول دارد. بررسی جهش‌ها در این ژن در نژادهای بلکلیر و کمبریج نشان‌دهنده ۸ جهش بود که در جدول ۲ خلاصه شده است (۳۶).

سه تا از این جهش‌ها منجر به تغییر اسیدهای آمینه در زنجیره پلی‌پپتید بالغ شده که فقط یکی از این جهش‌ها (G8) باعث تغییر غیرمحافظة^{۲۹} در اسیدهای آمینه و ایجاد چندقلوژی و یا عقیمی می‌گردد. این جهش Fec G^H منجر به جایگزینی اسید آمینه غیرقطبی فنیل آلانین به جای اسید آمینه قطبی بدون بار سرین در اسید آمینه شماره ۷۷ از توالی پپتید بالغ می‌گردد (۳۶). این جهش در اتصال محصول به گیرنده‌های تیپ ۱ موثر است. از سوی دیگر، این تغییر در سومین اسید آمینه مجاور هیستیدین رخ می‌دهد. باتوجه به عدم وجود پیوند دی‌سولفید کوالانسی بین دو زنجیره در پروتئین‌های BMP15 و GDF9، اتصال بین دیمرها بیشتر از طریق پیوندهای هیدروژنی (که به خصوص اسید آمینه هیستیدین ایجاد می‌کند) صورت می‌گیرند. بنابراین، تغییر در ساختار فضایی نزدیک به این اسید آمینه می‌تواند بر فعالیت بیولوژیکی محصول به شدت موثر باشد (۳۶).

29. Non-conservative

30. Thoka

31. Cheviot

فوتیپ تخمدان در حیوانات BB کاملاً متفاوت از حیوانات هموزیگوس برای BMP15 یا GDF9 است. مهمترین وجه مشخصه گوسفندان BB، اندازه بزرگتر و تعداد زیادتر فولیکولهای تخمدانی نسبت به سایر ژنوتیپهاست. فولیکولهای بالغ و تخمک اندازی شده در حیوانات BB و B+ دارای قطر بسیار کوچکتري نسبت به حیوانات ++ هستند. فولیکولهای تخمدانی کوچکتر در میشهای BB دارای سلولهای گرانولوزای کمتری نسبت به میشهای ++ بوده و میشهای B+ حد واسط آنها هستند (۵۴). بنابراین، تعداد سلولهای گرانولوزا از همه فولیکولهای تخمدانی و میزان کل استروئید یا اینهیبین خروجی از تخمدانهای میشهای BB یا B+ مشابه میشهای ++ است (۱۰). در میشهای حامل ژن بورولا مهمترین وجه مشخصه تخمک اندازی تخمکهای کوچک نسبت به میشهای فاقد این ژن است. میشهای هموزیگوس غیرحامل این ژن به طور متوسط یک تا دو تخمک با قطر ۷ میلی‌متر، میشهای هتروزیگوس برای این ژن سه یا چهار تخمک به اندازه ۴ تا ۵ میلی‌متر و میشهای هموزیگوس دارای ژن بورولا در هر سیکل بیش از ۵ تخمک با اندازه ۳ تا ۵ میلی‌متر رها می‌کنند (۴۹). از سوی دیگر، در طول رشد فولیکول در تخمدان، کاهش فعالیت تکثیر سلولی و افزایش بیان مارکهای اصلی مربوط به بلوغ نهایی فولیکول به خصوص گیرنده هورمونهای لوتینه و آروماتاز در سلولهای گرانولوزای میشهای حامل بورولا نسبت به تیپ وحشی زودتر از موعد مقرر صورت می‌گیرد. به همین دلیل تعداد سلولهای گرانولوزا در فولیکولهای قبل از تخمک اندازی میشهای حامل نسبت به میشهای وحشی کمتر بوده ولی تعداد کل سلولهای گرانولوزا در فولیکولهای پیش از تخمک اندازی و نیز نرخ ترشح استروئیدها و اینهیبین در دو نوع ژنوتیپ مشابه است (۵۵).

مهمترین تاثیر ژن بورولا را می‌توان در افزایش هورمون FSH دانست که در میشهای هموزیگوت بسیار زیادتر از تیپ وحشی بوده و در حیوانات هتروزیگوت نیز متوسط بود (۵۶ و ۵۷). افزایش هورمون FSH از دو طریق افزایش ترشح این هورمون از غده هیپوفیز و نیز فولیکولهای تخمدانی صورت می‌گیرد (۵۸). در یک مطالعه مکانیسم تاثیر ژن بورولا از طریق هورمون FSH بررسی

داد که این ژن بر روی کروموزوم شماره ۶ واقع است. این آزمون با استفاده از ژن نشانگر نزدیک به همدیگر انجام شد و با صحت ۹۰٪ تایید گردید (۵۰). برای تشخیص ژن نشانگر در نتاج شناخت ژنوتیپ والدین برای ژن بورولا مورد نیاز بود. این آزمون نشانگر بوسيله انجمن گوسفندداران بورولای نیوزیلند مورد تایید قرار گرفت تا بعنوان جایگزین آزمون نتاج به منظور تعیین قوچ‌های ناقل استفاده شود. در سال ۲۰۰۱، سه گروه از محققین مختلف در موسسه‌های اگریسرچ^{۳۳} نیوزیلند، اینرا^{۳۳} فرانسه و دانشگاه ادینبرگ^{۳۴} اسکاتلند، مشخص کردند که گوسفندان حامل ژن بورولا دارای یک جهش در گیرنده پروتئین مورفوژنیک استخوان BMPRI-B، که در تخمدانها بیان می‌شود، می‌باشند. کشف ژن واقعی باعث شد که یک آزمون DNA تجاری با ۱۰۰٪ صحت و بدون نیاز به اطلاعات والدینی برای تمامی گوسفندداران قابل دسترس باشد (۸-۱۰).

در دسترس بودن یک آزمون با صحت بالا و بدون نیاز به اطلاعات والدینی دیدگاههای جدیدی را در مورد منشا احتمالی ژن بورولامرینو فراهم کرد. مطالعات در مورد منشا ژن بورولا نشان داد که این ژن از گوسفندان نژاد گرول^{۳۵} کوتوله در شمال هند ناشی شده است (۵۱). در سال ۱۷۹۲ گوسفند گرول یا بنگالی به استرالیا وارد شدند و به احتمال زیاد، بورولامرینو، نتاج مستقیم این گوسفندان باشد. گوسفندان چندقلوزایی جاوه‌ای در اندونزی که قبلاً با FECJ شناخته شده بودند نیز ناقل ژن بورولا هستند.

ژن بورولا بر روی کروموزوم ۶ گوسفند نقشه یابی شده است و از این رو ALK6 نیز گفته می‌شود (۵۲). بر اثر یک جهش نقطه‌ای باز A با G در کدان اسیدآمین شماره ۲۴۹ جایگزین شد و به دنبال آن اسیدآمین آرژینین بجای اسیدآمین گلوتامین ایجاد گردید. این جهش نه تنها در نژاد بورولامرینو استرالیا کشف شده، بلکه در سایر نژادهای چندقلوزا در اندونزی در نژاد دنبه‌باریک جاوه‌ای و در هند در نژاد گرول گزارش شد (۵۳). در گوسفند نیوزیلند که با بورولامرینو تلاقی داده شدند و سپس مجدداً این تلاقی برگشتی برای ایجاد حیوانات هموزیگوس برای جهش ALK6 انجام شد، نرخ تخمک اندازی معمولاً بزرگتر از ۵ بوده و در برخی موارد به ۱۵ عدد نیز رسیده است. در حیوانات هتروزیگوس برای جهش (B ALK6+) میانگین میزان تخمک اندازی حدود ۳ بوده که حد واسط نژادهای تیپ وحشی (++) و هموزیگوس (BB) بود.

32. AgResearch

33. INRA

34. Edinburgh

35. Garole

BMP6 و BMP7 بیان می‌شوند که نشان دهنده نقش این هورمون‌های مشتق‌شده از لوکوسیت‌ها در کارکرد رحم است. تغییر در بیان این ژن‌ها در مراحل تکثیر، تمایز و آپوپتوزیز^{۳۸} سلول‌های رحمی نشان‌دهنده اهمیت این هورمون‌ها در تنظیم فعالیت رحمی است (۶۳).

پس از اتصال لیگاندهای خانواده بزرگ $TGF\beta$ به گیرنده‌های تیپ ۱ یا ۲، پروتئین‌های Sma و پروتئین‌های دکپتاپلجیک^{۳۹} Smad از طریق گیرنده‌های تیپ ۱ فسفریله شده و دو مسیر مختلف را براساس نوع گیرنده تیپ ۱ فعال می‌کنند. اتصال BMP‌ها به $Smad$ ۳، $ALK2$ ، $ALK3$ و $ALK6$ منجر به فسفریلاسیون $Smad$ های ۱، ۵ و ۸ می‌شود، درحالی‌که اکتیوین و $TGF\beta$ به $ALK1$ ، $ALK4$ و $ALK5$ متصل گردیده و فسفریلاسیون $Smad$ های ۲ و ۳ را موجب می‌شوند (۶۴). BMP‌ها به گیرنده‌های تیپ ۱ و ۲ متصل شده و منجر به فعال‌سازی $Smad$ های ۱، ۵ و ۸ می‌گردند (۶۵). گیرنده‌های تیپ ۲ ($BMPRII$) بیشترین تاثیر را در سرکوب $BMP15$ از طریق کاهش تولید پروژسترون تحریک‌شده توسط FSH دارد. مکانیسم تاثیر $BMP15$ و $ALK6$ مشابه بوده و می‌ش‌های حامل جهش غیرفعال‌کننده $BMP15$ و نیز جهش $ALK6$ دارای نرخ تخمک‌اندازی بسیار زیادتر از می‌ش‌های حامل جهش‌های منفرد داشتند (۵۴). تاثیر $GDF9$ از طریق مسیر مختلفی نسبت به $BMP15$ و $GDF9$ بوده که بیشتر از طریق گیرنده تیپ ۱ $ALK5$ بوده و به میزان اندکی نیز از طریق گیرنده تیپ ۲ مشابه $BMP15$ به نام $BMPRII$ می‌باشد (۶۶ و ۶۷). بنابراین، $GDF9$ منجر به فعال‌شدن $ALK5$ و $BMPRII$ گردیده و به دنبال آن فعال‌سازی $Smad2$ و $Smad3$ می‌گردد (۶۶ و ۶۷).

می‌بایست به ذکر این نکته نیز خاطر نشان شود که میزان افزایش در نرخ تخمک‌اندازی می‌ش‌های حامل ژن بورولا در کشور نیوزیلند ۰/۱۵ در هر سال است، درحالی‌که برای می‌ش‌های نژاد رامنی حدود ۰/۰۴ در هر سال گزارش شده است (۶۸). آنها دلیل این اختلاف را وجود جهش دیگری به غیر از جهش شناخته شده $ALK6$ در گوسفندان کشور نیوزیلند پیشنهاد کردند.

گردید (۵۹). این گروه دریافتند که سلول‌های هیپوفیز می‌ش‌های حامل ژن بورولا در مقایسه با سلول‌های هیپوفیز می‌ش‌های تیپ وحشی دارای حساسیت بسیار زیادتری نسبت به دسته هورمون‌های BMP هستند. عدم اختلاف در ابعاد غده هیپوفیز، تعداد سلول‌های این غده، تعداد سلول‌های حاوی FSH و LH در می‌ش‌های حامل بورولا و می‌ش‌های تیپ وحشی (۶۰) و وجود حساسیت زیاد سلول‌های هیپوفیز می‌ش‌های حامل ژن نسبت به دسته هورمون‌های BMP نشان می‌دهد که ژن بورولا به طور مستقیم منجر به افزایش هورمون FSH نمی‌شود بلکه از طریق تاثیر هورمون‌های BMP و یا GnRH عمل می‌کند (۵۹). با این وجود، هنوز مکانیسم دقیق افزایش تخمک‌اندازی در می‌ش‌های حامل بورولا مشخص نشده است.

$BMPR-1B$ متعلق به خانواده گیرنده‌های فاکتور $TGF\beta$ است که شامل لیگاندهای متعددی نظیر $TGF\beta$ ، اکتیوین، BMP، فاکتورهای رشد و تمایز^{۳۶} (GDF) و ممانعت‌کننده‌های مولاری^{۳۷} می‌باشد (۶۱). لیگاندهای خانواده‌های $TGF\beta$ و BMP خواص بیولوژیکی خود را از طریق گیرنده‌های سرین-ترئونین کیناز تیپ ۱ و ۲ اعمال می‌کنند. $BMPR-1B$ یکی از گیرنده‌های خاص تیپ ۱ برای لیگاندهای خانواده‌های BMP و GDF است. اتصال لیگاندی باعث القای شکل‌گیری گیرنده‌های هتروتترامری تیپ ۱ و ۲ شده که موجب فعال‌شدن یک مسیر خاص داخل‌سلولی از طریق فسفریلاسیون پروتئین‌های $Smad$ می‌گردد (۶۱ و ۶۲). بررسی بیان ژنهای دسته BMP در موش نشان داد که بیان ژن‌های گیرنده BMP در سلول‌های اپی‌تلیال ($BMP-RIB$ ، $BMP-RIA$ و $BMP-RII$)، پری‌لومینال استروما ($BMP-RIA$ و $BMP-RII$) و سلول‌های عضلات صاف ($BMP-RIA$ و $BMP-RII$) انجام می‌شود. علاوه بر این، بیان این سه دسته گیرنده پروتئینی در مراحل مختلف یک سیکل به شدت تغییر می‌کند. ژن‌های لیگاندهای BMP در سلول‌های پری‌لومینال استروما ($BMP2$ و $BMP7$)، و اپی‌تلیوم گلانددولار ($BMP7$) در سطوح بالایی بیان می‌شوند. بیان $BMP2$ سیکلیک می‌باشد ولی بیان $BMP7$ سیکلیک نیست. در سیستم رگ‌های خونی بیان ژن‌های $BMP6$ ، $BMP4$ و $BMP-$ RII در سلول‌های اندوتلیال مایومتریال انجام می‌شود. جالب اینکه در لوکوسیت‌های ائوزینوفیل ژن‌های فولیستاتین، ناگین، $BMP4$

36. Growth & Development Factor

37. Mullarian Inhibitors

38. Apoptosis

39. Decapentaplegic

۲-۴-۲- لوا ۴۳

نتایج تحقیقات بر روی میش های چندقلوزای نژاد ایسلند در سال ۱۹۸۵ نشان داد که تمام میش های چندقلوزا نتاج یک میش بنام توکا بودند. این میش حداقل دارای ۲ رکورد سهقلوزایی بود که نشان دهنده یک ژن عمده است (Fec I). ژنوتیپ هتروزیگوتها بر مبنای داشتن حداقل یک رکورد سهقلو در نظر گرفته شد و تعداد نتاج در هر زایش آنها ۰/۶۴ بیشتر از میانگین میش های غیرناقل بود (۷۲). نتایج یک تحقیق در گوسفندان ایسلند نشان داد که به طور متوسط ۲۰ درصد از گوسفندان موجود در گله های دارای ثبت رکورد حامل ژن توکا هستند (۷۳). همچنین، تعداد ۷ تا از ۴۶ دختر (۰/۱۵/۲٪) در حالتی که یک قوچ هتروزیگوس با میش های هتروزیگوس آمیزش داده شد، چندقلوزا بودند. آنالیز تفرق پیچیده رکوردهای گوسفندان حاصل از تلاقی میش های توکا با قوچ های شویت ۴۴ با قدرت بالایی وجود یک ژن عمده اتوزومی که تعداد نتاج در هر زایش را ۰/۷ بره افزایش می دهد، تشخیص داد (۷۴). نتایج این آنالیز تاییدکننده نتایج یامادسون و آدلستینسون بود (۷۲). البته آزمون DNA انجام شده برای مشخص کردن میش های هتروزیگوس نشان داد که جهش های بورولا و در این نژاد وجود ندارند (۷۵).

یک میش چندقلوزا به نام لوا که در ۹ زایش متوالی تعداد ۳۲ بره زائیده بود، در گله ای در ایسلند مورد توجه یک گروه از محققین قرار گرفت. برخی از نتاج این میش دارای چندقلوزایی بالا بوده و برخی به اندازه متوسط جمعیت بودند. این گروه نام این ژن را لوا نامیدند و میش حامل این ژن را هتروزیگوت ارزیابی کردند (۷۶). تاکنون گزارشی مبنی بر توالی تاییدشده ژن عمده عامل این چندقلوزایی چاپ نشده است.

۲-۴-۳- شال ایران

گوسفندان نژاد شال یک نژاد گوشتی بوده که به طور عمده در استان قزوین نگهداری می شوند. میانگین افزایش وزن روزانه این نژاد ۲۵۰ گرم در روز، متوسط وزن قوچ ها و میش ها به ترتیب ۸۲ و ۶۱ کیلوگرم بوده و درصد دوقلوزایی این نژاد نسبت به سایر نژادهای گوسفندان

۲-۴-۴- ژن های موثر بر چندقلوزایی که هنوز توالی آنها شناسایی نشده است

۲-۴-۱- وودلندز ۴۰

در سال ۱۹۹۱، نحوه توارث ژن چندقلوزایی وودلندز در یک گله توسط دیویس گزارش شد (۶۹). شجره حیوانات این گله ردیابی شده و همه این حیوانات از تلاقی بین نژادهای بوردرلیسستر^{۴۱} و رامنی در سال ۱۹۶۰ ایجاد شدند. یک کپی از این ژن تعداد نتاج را ۰/۲۵ بره در هر زایش بیشتر از حیوانات تیپ وحشی افزایش می دهد. این ژن برخلاف اینوردیل و حنا، اگر از مادر دریافت شود غیرفعال بوده و به همین دلیل نشانه مادری^{۴۲} گفته می شود. اگر میش ها این ژن را از پدر خود دریافت کنند (توارث پدری) این ژن بیان شده و باعث افزایش تعداد نتاج در هر زایش می شود، ولی هنگامیکه از مادر دریافت می شود (توارث مادری)، اثر ژن ظاهر نمی شود و هیچ افزایشی در تعداد نتاج در هر زایش ایجاد نمی شود. علاوه بر این، قوچ هایی که این ژن را از مادر خود که ژن را بیان کرده است دریافت می کنند، دختران آنها ژن را بروز نمی دهند. در عوض، قوچ هایی که این ژن را از مادرائی که ژن در آنها بروز نکرده است دریافت کرده اند، دختران آنها این ژن را بروز می دهند (۷۰).

هیچکدام از جهش های شناخته شده در نژادهای بلکلیر، کمبریج، حنا و هانراهان در این گوسفندان وجود ندارد. میزان بیان ژن BMP15 در میش های حامل ژن وودلندز به میزان ۳۰ درصد کمتر از میش های غیرحامل بود. میزان بیان ژن TGFBR1 در میش های حامل ۱۹ درصد زیاده تر از میش های غیرحامل و میزان بیان ژن BMPR-1B به میزان ۲۴ درصد کمتر از میش های غیرحامل بود. میزان بیان BMPR2 در بین ژنوتیپ های مختلف متفاوت نبود (۷۱).

تاثیر وجود همزمان دو کپی از این ژن تاکنون مشخص نشده است و نیاز به آزمون نتاج است تا مشخص شود آنها ژن را دارند یا خیر. ولی مشخص شده است که میش های هوموزیگوس این ژن دارای تخمدانهای فعال و سالم هستند و عقیم نمی باشند. وجود نامشخص این ژن در برخی از میش ها باعث شده است تا ارزش های اصلاحی آنها برای برخی از بره های آنها اریب باشد، چون ارزشهای اصلاحی آنها برای توارث پلی ژنتیک برآورد شده است و اثر ژن عمده در نظر گرفته نشده است.

40. Woodlands

41. Border Leicester

42. Maternally Imprinted

43. Loa

44. Cheviots

جهش بودند $1/4$ ، میش‌های که حامل هر دو جهش بودند $2/8$ و میش‌های فاقد این دو ژن بودند $1/1$ بود. بنابراین، حضور ژن بورولا در کنار ژن BMP15 نه تنها منجر به افزایش چندقلوژی زیاده‌تر از حالت منفرد آنها گردید بلکه نسبت به مجموع اثرات افزایشی ژن‌های منفرد (مقدار مورد انتظار $2/5$ بره در هر زایش بود) نیز زیاده‌تر بود که نشان‌دهنده تاثیر مثبت همزمان این دو ژن بر روی یکدیگر بود (۸۹). وجود همزمان جهش در ژن‌های GDF9 و BMP15 در نژادهای بلکلیر و کمبریج در حالت برای هر دو جایگاه منجر به عقیمی این میش‌ها نشده، بلکه تاثیر آنها بر یکدیگر افزایشی بوده و منجر به چندقلوژی زیاده‌تر نسبت به حالت جهش منفرد در یک ژن هستند (۱۵). این گزارش تاییدکننده این فرضیه است که مکانیسم فعالیت دو فاکتور GDF9 و BMP15 با یکدیگر مستقل است (۹۰). نتایج تحقیقات در موش نشان می‌دهد که موش‌های هتروزایگوت برای GDF9 که ژن BMP15 آنها حذف شده بود، دارای تخمک‌اندازی کمتری نسبت به موش‌های فاقد جهش در ژن BMP15 بودند (۴۵). تاخیر در بیان ژن GDF9 و نیز کاهش بیان آن در خانم‌های مبتلا به سندرم تخمدان‌های پلی‌کیستیک مشاهده شده است (۹۱). نتایج بررسی‌های داخل آزمایشگاهی در سلول‌های گرانولوزای موش و گوسفند نشان‌داد که میزان H-تایمیدین^{۴۵} در حیوانات حامل هر دو ژن GDF9 و BMP15 سه برابر مقدار آن در حالت وجود جهش منفرد این ژن‌ها بود (۵۴). علاوه بر این، تولید پروژسترون تحریک‌شده از FSH به میزان زیادی کاهش یافته، درحالی‌که تولید آلفا۱-میهین به میزان شدیدی نسبت به حالت منفرد این ژن‌ها کاهش می‌یابد. میزان تغییر این دو فاکتور در موش‌هایی که فقط حامل جهش در یکی از این ژن‌ها بودند بسیار ناچیز بود. نتایج آزمایشات بر روی گوسفند در یک گروه که حامل جهش در هر دو ژن BMP15 و GDF9 بودند نسبت به گروه‌های که فقط حامل جهش برای یکی از این ژن‌ها بودند مقایسه گردید نشان داد که شکل فضایی و فعالیت بیولوژیکی محصولات آنها مشابه بوده، ولی میزان ترشح هر کدام از این محصولات کاهش زیادتری نسبت به افراد حامل جهش منفرد برای یکی از این ژن‌ها بود (۹۲). با این وجود، استفاده از پروتئین‌های GDF9 و BMP15 گوسفندی بر تکثیر سلول‌های گرانولوزای گوسفندی نشان داد که وجود همزمان این دو فاکتور در محیط توسط

ایرانی زیاده‌تر است (۷۷). این نژاد دارای تولیدمثل فصلی بوده که در هر دو فصل بهار و پاییز قادر به جفت‌گیری است. نتایج تحقیقات بر روی 239 میش شال نشان داد که چندقلوژی در این نژاد مرتبط با جهش در ژن BMP15-1B نیست (۷۷). تحقیق مشابهی در آگرون شماره ۲ از ژن BMP15 بر روی 109 بز بومی از نژادهای مختلف ایران نشان داد که دو جهش $FecX^B$ و $FecX^G$ در هیچکدام از بزهای مورد مطالعه مشاهده نشد (۷۸). با وجود اینکه میش‌های نژاد شال دارای دوقلوژی بیش از 20 درصد بوده و بزهای ایرانی نیز دارای دوقلوژی و سه‌قلوژی بالایی هستند، ولی تاکنون جهش در ژن عمده عامل ایجاد آنها شناسایی نشده است. نتایج یک مطالعه جدید بر روی گوسفندان نژاد قزل و مغانی نشان دهنده وجود جهش B2 در ژن BMP15 و جهش G1 در ژن GDF9 بوده است (۷۹). بررسی تخمدان گوسفندان کشتار شده در یکی از کشتارگاه‌های استان اصفهان نشان داد که جهش‌های G2، G3 و G4 نیز در ژن GDF9 رخ داده است. علاوه بر این، بررسی توالی DNA گوسفندان نژاد افشاری توسط نویسندگان مقاله حاضر نشان داد که هیچکدام از جهش‌هایی که توسط هانراهان مهم ذکر شده اند و منجر به ایجاد چندقلوژی در نژادهای گوسفند ذکر شده در قبل شده اند، در گوسفندان نژاد افشاری وجود ندارد. ولی در برخی موارد گوسفندان مجموعه‌ای از جهش‌های کم اثر در دو ژن BMP15 و GDF9 داشتند که تجمع این اثرات می‌تواند منجر به دوقلوژی در گوسفندان ایرانی شود. با این وجود به تحقیقات زیادتری در این زمینه نیاز است تا تمامی تنوع نژادی گوسفندان را در ایران پوشش دهد و مکانیسم دقیق چندقلوژی آنها شناخته شود.

۲-۵- اثر ترکیبی ژن‌های موثر بر چندقلوژی

وجود جهش در ژن گیرنده BMP15-1B مشابه نژاد بورولا و BMP15 مشابه نژادهای بلکلیر و کمبریج در میش‌های چندقلوژی نژاد هان در کشور چین نیز گزارش شده است (۸۹). نکته جالب در این نژاد وجود جهش در هر دو ژن به طور همزمان در برخی از میش‌های دوقلوژا بود. در 56 درصد از مواردی که برای ژن بورولا هوموزیگوس بودند، جهش برای ژن BMP15 نیز مشاهده شد. میانگین تعداد بره در هر زایش برای میش‌هایی که فقط برای ژن بورولا دارای جهش بودند $2/2$ ، میش‌های که فقط برای ژن BMP15 دارای

45. H-Thymidine

(۸۶). توجیه مکانیسمی که منجر به ایجاد این اختلاف در میس‌های حامل ژن بورولا نسبت به میس‌های معمولی می‌گردد، در طول ۳۰ سال گذشته هدف محققین مختلف بوده است (۸۷). برای این افزایش نرخ تخمک‌اندازی دو دلیل عمده پیشنهاد گردید: افزایش نرخ به خدمت‌گرفتن تعداد فولیکول‌ها و یا کاهش نرخ آترزیای تخمک‌ها (۸۸). گونزالز-بولنز و همکاران، ۲۰۰۴ با بررسی میزان ترشح هورمون‌های LH، FSH، استرادیول و اینهیبین در میس‌های حامل ژن بورولا و میس‌های غیرحامل طی ۶ سال به بررسی تأثیر سن بر میزان تخمک‌اندازی آنها پرداختند. در میس‌های مسن حامل ژن بورولا نیز همان خصوصیات میس‌های جوان مشاهده شد (تعداد تخمک‌های زیاد با اندازه کوچک). بررسی قطر تخمک در زمان پیک LH در میس‌های مسن (۶ ساله) نشان داد که قطر تخمک‌ها در میس‌های حامل ژن بورولا نسبت به میس‌های غیرحامل به ترتیب ۴/۷ و ۶/۹ میلی‌متر بود. در میس‌های حامل و غیرحامل غلظت هورمون اینهیبین A با تعداد فولیکول‌های انترال (قطر بزرگتر از ۲/۵ میلی‌متر) و رشد فولیکول‌های بزرگ (قطر بزرگتر از ۴/۵ میلی‌متر) رابطه مثبتی وجود داشت. غلظت این هورمون بین میس‌های حامل و غیرحامل اختلاف معنی‌داری نداشت. غلظت هورمون FSH نیز بین حاملین و غیر حاملین اختلاف معنی‌داری نداشت و دارای رابطه منفی با تعداد فولیکول‌های انترال و رشد فولیکول‌های بزرگ و غلظت اینهیبین A داشته ولی ارتباطی با غلظت استرادیول نداشت. با این وجود، غلظت هورمون FSH در میس‌های مسن ۲ تا ۳ برابر غلظت آن در میس‌های جوان بود. تأثیر سن بر نرخ تخمک‌اندازی در میس‌های حامل و غیرحامل معنی‌دار نبود و بین میس‌های مسن و جوان از این لحاظ اختلاف زیادی وجود نداشت. میانگین اندازه فولیکول‌ها و کوریوس لوتئوم در قبل از مرحله تخمک‌اندازی و نیز اندازه فولیکول‌های بزرگ در موج اول رشد در افراد حامل و غیرحامل و در سنین مختلف متفاوت نبود. با این وجود، تفاوت‌های بسیار زیادی بین اندوکراین و نحوه رشد فولیکولی در مرحله قبل از تخمک‌اندازی بین میس‌های مسن و جوان وجود داشت. اندازه فولیکول‌ها در زمان قبل از تخمک‌اندازی در میس‌های مسن و جوان مشابه بود ولی در تخمک‌های رها شده از میس‌های مسن نسبت به میس‌های جوان دارای قطر کمتری بودند که این اختلاف در هر دو

BMPRII بلوک می‌شود. به همین دلیل، کمپلکس BMP15 و GDF9 بیشتر به عنوان اعضای خانواده TGFβ و اکتیوین عمل می‌کنند تا به عنوان اعضای خانواده BMP (۹۳). آنها دلیل اختلاف در نتایج *in vitro* با نتایج *in vivo* را مکانیسم متفاوت این فاکتورها با همدیگر ذکر کردند.

۳- تأثیر سن بر چندقلوزایی گوسفندان

به طور کلی، چندقلوزایی در زایش اول کمتر از زایش‌های دوم و سوم گزارش شده است (۷۹ و ۸۰). در گوسفندان نژاد بورولا با افزایش تعداد دفعات زایش تا سن ۴ سالگی تعداد گوسفندان چندقلوزا افزایش یافت (۸۰). افزایش چندقلوزایی در این گوسفندان ممکن است ناشی از افزایش ظرفیت تولیدمثلی شامل افزایش گنجایش غدد و مجاری تناسلی باشد. همچنین ممکن است در زایش اول برخی از ژن‌های مرتبط با ژن بورولا به خوبی بیان نشوند. با این وجود، با افزایش چندقلوزایی، میزان بقای بره‌ها کاهش می‌یابد (۷۹). بررسی میزان چندقلوزایی در سنین مختلف در نژاد گرول-ملپورا^{۴۶} نشان داد که اثر ژن بورولا بر چندقلوزایی در سنین مختلف معنی‌دار بود و چندقلوزایی در میس‌های حامل ژن بورولا در سنین بالاتر نیز زیادتر از میس‌های غیرحامل بود (۸۰).

تعداد فولیکول‌های بالغ شده و تخمک‌اندازی شده با اندازه کوچکتر و نیز غلظت FSH در میس‌های حامل ژن بورولا نسبت به میس‌های معمولی زیادتر است. با این وجود، در یک گزارش نیز غلظت هورمون FSH در میس‌های حامل این ژن نسبت به میس‌های معمولی تفاوت معنی‌داری نشان نداد (۸۱). وجود اختلاف در اندازه و تعداد فولیکول‌ها در میس‌های حامل ژن بورولا نسبت به میس‌های معمولی باعث شده تا این فرضیه قوت بگیرد که هیپوگنادوتروپیک با GnRH رابطه معکوس داشته باشند و تزریق گنادوتروپین‌های خارجی نیز باعث تقویت این فعالیت می‌شود و نشان دهنده این است که کنترل رشد فولیکولی در سطح تخمدان‌ها انجام شوند (۸۲). مهمترین وجه مشترک میس‌های حامل ژن بورولا، رشد پیش‌ازمعد تعداد زیادی فولیکول‌های تخمدانی به همراه تکثیر و تمایز زود هنگام سلول‌های گرانولوزاست (۸۳، ۸۴ و ۸۵). این تفاوت در تعداد فولیکول‌های پیش از تخمک‌اندازی و نرخ تخمک‌اندازی ناشی از تعداد زیاد فولیکول‌های در حال رشد در هر دو مرحله فولیکولی و لوتئالی سیکل جنسی است

46. Garole-Malpouira

این ژن‌ها در نر و ماده وجود داشته و به همین دلیل تعیین ژنوتیپ اسپرم‌های تجاری که در بازار موجود بوده و برای تلقیح مصنوعی استفاده می‌شوند بسیار بااهمیت است (۱۸، ۹۴ و ۹۷). تاکنون، سه دسته ژن *BMP15* و *ALK6*، *GDF9* و *BMP15* که بر رشد فولیکول‌ها و نرخ تخمک‌اندازی موثر بوده و همگی جزو خانواده $TGF\ \beta$ می‌باشند و بر رشد فولیکولی و نرخ تخمک‌اندازی موثرند (۱۲ و ۳۸). وجود جهش در *GDF9* و *BMP15* منجر به افزایش چندقلوژی و نیز در حالت هموزیگوسیته عقیمی گردیده که فوق‌غالبیت را نشان می‌دهد. درحالی‌که آل‌های *ALK6* تاثیر افزایشی نسبت به همدیگر داشته و رابطه عدم غالبیت را نشان می‌دهند. نژادهای چندقلوژی زیادی برای جهش در این ژن‌ها آزمون گردیدند که چندقلوژی موجود در نژادهای گرول، بلکلیر، حنا، کمبریج، بورولا، رامنی، راسا، لکون و هان ناشی از جهش‌های شناخته شده در این ژن‌ها بوده ولی برای نژادهای توکا، لوا، شال و وودلندز با جهش‌های شناخته شده مطابقت نداشت. عامل چندقلوژی در این نژادها ممکن است جهش‌های دیگری در همین ژن‌ها باشند که تاکنون گزارش نشده است و یا ژن‌های عمده دیگری عامل ایجاد آن باشند.

میش‌های حامل و غیرحامل مشاهده شد. با افزایش سن، فاصله بین زمان اوج هورمون LH و تخمک‌اندازی افزایش یافت که مرتبط با کاهش هورمون اینهیبین A در میش‌های مسن از هر دو نوع ژنوتیپ بود. الگوی ترشح اینهیبین در میش‌های جوان و مسن حامل ژن بورولا تغییر اندکی داشت ولی در میش‌های غیرحامل این ژن، ترشح هورمون اینهیبین در میش‌های مسن کاهش بسیار معنی‌داری نسبت به میش‌های جوان نشان داد. میانگین هورمون استرادیول با افزایش سن تغییری نکرد ولی در میش‌های جوان غیرحامل زیادتر از میش‌های جوان حامل ژن بورولا بود (۸۱).

۴- نتیجه‌گیری

باروری حیوانات که خود شامل عقیمی، چندقلوژی و یا تک‌قلوژی برای انسان‌ها و حیوانات مورد توجه بوده است. دلایل زیادی می‌توانند منجر به عقیمی گردند که می‌تواند ناشی از ناشی از اسپرم و یا تخمک باشد (۱۹، ۲۰، ۹۴، ۹۵ و ۹۶). علیرغم اینکه صفات تولیدمثلی را به دلیل اهمیت اقتصادی و نیز قابلیت اندازه‌گیری جزو صفات کمی در نظر می‌گیرند که تحت کنترل تعداد بسیار زیادی ژن هستند ولی ژن‌های عمده‌ای که عامل افزایش تعداد تخمک‌ها در هر سیکل و به دنبال آن تعداد نتاج در هر زایش شناسایی شده‌اند.

References

- Eghbalsaied S, Ghaedi K, Forouzanfar M, Hajian M, Hosseini SM, Nasr-e-Esfahan MH. Science and technology of farm animal Transgenesis. *Yakhteh Medical Journal*. 2009; 11(2): 78-87.
- Houdebine LM. Animal transgenesis: recent data and perspectives. *Biochem J*. 2002; 84: 1137-1141.
- Lavitrano M, Camaioni A, Fazio VM, Dolci S, Farace MG, Spadafora C. Sperm cells as vectors for introducing foreign DNA into eggs: genetic transformation of mice. *Cell*. 1989; 57: 717-723.
- Eghbalsaied S, Ghaedi K, Hosseini SM, Tanhaie S, Forouzanfar M, Hajian M et al. Selection of the most appropriate medium for assessing motility and DNA uptake of bovine spermatozoa. *Yakhteh Medical Journal*. 2009a; 10(4): 266-271.
- Bradford GE, Spearow JL, Hanrahan JP. In «Reproduction in Domestic Animals», 1991; p605-636, Academic Press, Inc.
- Piper LR, Bindon BM. The Booroola Merino and the performance of medium non-peppin crosses at Armidale, in: Piper L.R., Bindon B.M., Nethery R.D. (Eds.), *The Booroola Merino, Proceedings of a Workshop, Armidale, 24-25 August 1980*, CSIRO, 1982; pp. 9-19.
- Falconer DC, Mc Kay TFC. *Introduction to Quantitative Genetics*. 2004; Addison Wesley

- Longman (Pearson Education)
8. Mulsant P, Lecerf F, Fabre S, Schibler L, Monget P, Lanneluc I, et al. Mutation in bone morphogenetic protein receptor-IB is associated with increased ovulation rate in Booroola Merino ewes. *PNAS*. 2001; 98: 5104–5109.
 9. Souza CJH, MacDougall C, Campbell BK, McNeilly AS, Baird DT. The Booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1 B (BMPR1B) gene. *J Endocrinol*. 2001; 169:R1–R6.
 10. Wilson T, Wu XY, Juengel JL, Ross IK, Lumsden JM, Lord EA, et al. 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. *Biol Reprod*. 2001; 64: 1225–1235.
 11. Galloway SM, McNatty KP, Cambridge LM, Laitinen MPE, Juengel JL, Jokiranta TS, et al. Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. *Nat Genet*. 2002; 25:279–283.
 12. McNatty KP, Galloway SM, Wilson T, Smith P, Hudson NL, O'Connell A, et al. Physiological effects of major genes affecting ovulation rate in sheep. *Genet Sel Evol*. 2005; 37: S25–S38.
 13. Souza CJH, Campbell BK, McNeilly AS, Baird DT. Effect of bone morphogenetic protein 2 (BMP2) on oestradiol and inhibin A production by sheep granulosa cells, and localization of BMP receptors in the ovary by immunohistochemistry. *Reproduction*. 2002; 123:363–369.
 14. Faure MO, Nicol L, Fabre S, Fontaine J, Mochoric N, McNeilly A, et al. BMP-4 inhibits follicle-stimulating hormone secretion in ewe pituitary. *J Endocrinol*. 2005; 186: 109–121.
 15. Hanrahan JP, Gregan SM, Mulsant P, Mullen M, Davis GH, Powell R, et al. 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*). *Biol Reprod*. 2004; 70: 900–909.
 16. Davis GH, Dodds KG, McEwan JC, Fennessy PF. Liveweight, fleece weight and prolificacy of Romney ewes carrying the Inverdale prolificacy gene (FecXI) located on the X-chromosome. *Livest Prod Sci*. 1993; 34: 83–91.
 17. Galloway SM, McNatty KP, Cambridge LM, Laitinen MPE, Juengel JL, Jokiranta TS, et al. Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. *Nat Genet*. 2000; 25: 279–283.
 18. Amer PR, McEwan JC, Dodds KG, Davis GH. Economic values for ewe prolificacy and lamb survival in New Zealand sheep. *Livest Prod Sci*. 1999; 58: 75–90.
 19. Di Pasquale E, Beck-Peccoz P, Persani L. Hypergonadotropic ovarian failure associated with an inherited mutation of human bone morphogenetic protein-15 (BMP15) gene. *Am J Hum Genet*. 2004; 75:106–111.
 20. Montgomery GW, Zhao ZZ, Marsh AJ, Mayne R, Treloar SA, James MR, et al. A deletion mutation in GDF9 in sisters with spontaneous

- DZ twins. *Twin Res.* 2004; 7:548–555.
21. Zhao ZZ, Painter JN, Palmer JS, Webb PM, Hayward NK, Whiteman DC, et al. Variation in bone morphogenetic protein 15 is not associated with spontaneous human dizygotic twinning. *Hum Reprod.* 2008; 23: No.10: 2372–2379.
 22. Braw-Tal R, McNatty KP, Smith P, Heath DA, Hudson NL, Phillips DJ, McLeod BJ, Davis GH. Ovaries of ewes homozygous for the Xlinked Inverdale gene (FecXI) are devoid of secondary and tertiary follicles but contain many abnormal structures. *Biol Reprod.* 1993; 49: 895–907.
 23. Smith PO, Corrigan KA, Lundy T, Davis GH, McNatty KP. Ovarian morphology and endocrine characteristics of female sheep fetuses that are heterozygous or homozygous for the Inverdale prolificacy gene (FecXI). *Biol Reprod.* 1997; 57:1183–1192.
 24. Shackell GH, Hudson NL, Heath DA, Lun S, Shaw L, Condell L, et al. Plasma gonadotropin concentrations and ovarian characteristics in Inverdale ewes that are heterozygous for a major gene (FecXI) on the x chromosome that influences ovulation rate. *Biol Reprod.* 1993; 48: 1150–1156.
 25. Davis GH, McEwan JC, Fennessy PF, Dodds KG, McNatty KP, Wai Sum O. Infertility due to bilateral ovarian hypoplasia in sheep homozygous (FecXI FecXI) for the Inverdale prolificacy gene located on the X chromosome. *Biol Reprod.* 1992; 46: 636–640.
 26. Kuroda H, Terada N, Nakayama H, Matsu-moto K, Kitamura Y. Infertility due to growth arrest of ovarian follicles in sl/slt mice. *Dev Biol.* 1988; 126:71–79.
 27. Bedell MA, Brannan CI, Evans EP, Cope-land NG, Jenkins NA, Donovan PJ. DNA re-arrangements located over 100 kb 59 of the steel (Sl)-coding region in Steel-panda and steel-contrasted mice deregulate Sl expression and cause female sterility by disrupting ovar-ian follicle development. *Genes Dev.* 1995; 9: 455–470.
 28. Wandji S-A, Eppig JJ, Fortune JE. FSH and growth factors affect the growth and endo-crine functions in vitro of granulosa cells of bovine preantral follicles. *Theriogenology.* 1996; 45:817–832.
 29. Engelhardt H, Harkness LM, Thomas GB, Brooks AN, McNeilly AS, Baird DT. Expres-sion of inhibin a- and bA-subunit mRNA and protein in the fetal sheep ovary through-out gestation. *Mol Cell Endocrinol.* 1995; 107:141–147.
 30. Tisdall DJ, Watanabe K, Hudson NL, Smith P, McNatty KP. FSH receptor gene expression during ovarian follicle development in sheep. *J Mol Endocrinol.* 1995; 15:273–281.
 31. Tisdall DJ, Quirke LD, Smith P, McNatty KP. Expression of the ovine stem cell factor gene during folliculogenesis in late fetal and adult ovaries. *J Mol Endocrinol.* 1997; 18:127–135.
 32. Juengel JL, Quirke LD, Tisdall DJ, Smith P, Hudson NL, McNatty KP. Gene Expression in Abnormal Ovarian Structures of Ewes Ho-mozygous for the Inverdale Prolificacy Gene. *Biol Reprod.* 2000; 62: 1467–1478
 33. Hanrahan JP. Evidence for single gene effects

- on ovulation rate in the Cambridge and Belclare breeds. In: Elsen JM, Bodin L, Thimonier J (eds.), *Major Genes for Reproduction in Sheep*. Paris: INRA. 1991;93–102.
34. Hanrahan JP, Owen JB. Variation and repeatability of ovulation rate in Cambridge ewes. *Anim Prod*. 1985; 40:529.
35. Hanrahan JP. Selection for increased ovulation rate, litter size and embryo survival. In: *Proceedings of 2nd World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Madrid. 1982; 5: 294–309.
36. Hanrahan JP, Gregan SM, Mulsant P, Mullen M, Davis GH, Powell R, et al. 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*). *Biol Reprod*. 2004; 70:900–909.
37. Sadighi M, Bodensteiner KJ, Beattie AE, Galloway SM. Genetic mapping of ovine growth differentiation factor 9 (GDF9) to sheep chromosome 5. *Anim Genet*. 2002; 33: 244–245.
38. McNatty KP, Smith P, Moore LG, Reader K, Lun S, Hanrahan JP, et al. Oocyte-expressed genes affecting ovulation rate. *Mol Cell Endocrinol*. 2005; 234:57–66.
39. Bodin L, Elsen JM, Poivey JP, SanCristobal-Gaudy M, Belloc JP, Eyche F. Hyper-prolificacy in the French Lacaune sheep breed a possible major gene. In: *Proceedings of the Sixth World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Armidale, Australia. 1998; 27: 1–14.
40. Lecerf F, Mulsant P, Elsen JM, Bodin L. Localisation and mapping of a major gene controlling ovulation rate in Lacaune sheep. In: *Proceedings of the Seventh World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Montpellier, France, CD-ROM Communication. 2002; 08-31, 4pp.
41. Bodin L, SanCristobal M, Lecerf F, Mulsant P, Bibe B, Lajous D, et al. Segregation of a major gene influencing ovulation in progeny of Lacaune meat sheep. *Genet Sel Evol*. 2002; 34: 447–464.
42. Bodin L, Di Pasquale E, Fabre S, Bontoux M, Monget P, Persani L, et al. A novel mutation in the bone morphogenetic protein 15 gene causing defective protein secretion is associated with both increased ovulation rate and sterility in Lacaune sheep. *Endocrinol*. 2006; 148(1):393–400.
43. McDonald NQ, Hendrickson WA. A structural superfamily of growth factors containing a cystine knot motif. *Cell*. 1993; 73:421–424.
44. Monteagudo LV, Ponz R, Tejedor MT, Laviña A, Sierra I A 17 bp. deletion in the Bone Morphogenetic Protein 15 1 (BMP15) gene is associated to increased prolificacy 2 in the Rasa Aragonesa sheep breed. *Anim Reprod Sci*. 2009; 110(1): 139-146.
45. Yan C, Wang P, DeMayo J, Demay FJ, Elvin JA, Carino C, et al., Synergistic roles of bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 in ovarian function. *Mol Endocrinol*. 2001; 15:854– 866.
46. Juengel JL, Hudson NL, Heath DA, Smith P, Reader KL, Lawrence SB, et al. Growth differentiation factor 9 and bone morphogenetic

- protein 15 are essential for ovarian follicular development in sheep. *Biol Reprod.* 2002; 67:1777–1789.
47. Juengel JL, Hudson NL, Whiting L, McNatty KP. Effects of immunization against bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 on ovulation rate, fertilization, and pregnancy in ewes. *Biol reprod.* 2004; 70: 557–561.
 48. Nicol L, Bishop SC, Pong-Wong R, Bendixen C, Holm LE, Rhind SM, McNeilly AS. 2009. Homozygosity for a single base-pair mutation in the oocytespecific GDF9 gene results in sterility in Thoka sheep. *Reproduction*, 138: 921–933
 49. Davis GH, Montgomery GW, Allision AJ, Kelly RW, Bray AR. Segregation of a major gene influencing fecundity in progeny of Booroola sheep. *NZ J Agric Res.* 1982; 25: 525–529.
 50. Montgomery GW, Crawford AM, Penty JM, Dodds KG, Ede AJ, Henry HM, et al.. The ovine Booroola fecundity gene (FecB) is linked to markers from a region of human chromosome 4q. *Nat Genet.* 1993; 4: 410-414.
 51. Kumar S AP, Kolte AK, Mishra AL, Arora VK. Singh. Identification of the FecB mutation in Garole×Malpura sheep and its effect on litter size. *Small Ruminant Res.* 2006; 64(3): 305-310.
 52. Montgomery GW, Galloway SM, Davis GH, McNatty KP. Genes controlling ovulation rate in sheep. *Reproduction.* 2001; 121: 843–852.
 53. Davis GH, Galloway SM, Ross IK, Gregan SM, Ward J, Nimbkar BV, et al. DNA tests in prolific sheep from eight countries provide new evidence on origin of the Booroola (FecB) mutation. *Biol Reprod.* 2002; 66: 1869–1874.
 54. McNatty KP, Juengel JL, Reader KL, Lun S, Myllymaa S, Lawrence SB, et al. Bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 cooperate to regulate granulosa cell function in ruminants. *Reproduction.* 2005; 129:481–487.
 55. Baird DT, Webb R, Campbell BK, Harkness LM, Gosden RG. Long-term ovarian function in sheep after ovariectomy and transplantation of autografts stored at -196°C . *Endocrinology.* 1999; 140: 462–471.
 56. McNatty KP, Hudson NL, Shaw L, Condell LA, Ball K, Seah SL, et al. GnRH-induced gonadotrophin secretion in ovariectomized Booroola ewes with hypothalamic–pituitary disconnection. *Journal of Reproduction and Fertility.* 1991; 91: 583–592.
 57. Montgomery GW, Penty JM, Sise JA, Tou HM. Genes encoding the alpha and beta chains of follicle-stimulating hormone are not sites for the Booroola (FecB) mutation in sheep. *J Reprod Fertil.* 1992; 95: 895–901.
 58. Hudson NL, O’Connell AR, Shaw L, Clarke IJ, McNatty KP. Effect of exogenous FSH on ovulation rate in homozygous carriers or noncarriers of the Booroola FecB gene after hypothalamic–pituitary disconnection or after treatment with a GnRH agonist. *Domest Anim Endocrin.* 1999; 16: 69–80.
 59. Young MJ, Juengel JL, Dodds KG, Laird M, Dearden PK, McNeilly MS, et al. The activin receptor-like kinase 6 Booroola mutation en-

- hances suppressive effects of bone morphogenetic protein 2 (BMP2), BMP4, BMP6 and growth and differentiation factor-9 on FSH release from ovine primary pituitary cell cultures. *J Endocrinol.* 2008; 196: 251–261.
60. Heath DA, Caldani M, McNatty KP. Relationship between the number of immunostaining gonadotropes and the plasma concentrations of gonadotrophins in ewes with and without the FecBB gene. *J Reprod Fertil.* 1996; 106: 73–78.
61. Derynck R, Feng XH. TGF-beta receptor signaling. *BBA-Rev Cancer.* 1997; 1333: F105–F150.
62. Miyazono K. Signal transduction by bone morphogenetic protein receptors: functional roles of Smad proteins. *Bone.* 1999; 25: 91–93.
63. Erickson G F, aqua L F, Shimasaki S. Analysis of spatial and temporal expression patterns of bone morphogenetic protein family members in the rat uterus over the estrous cycle. *J Endocrinology.* 2004; 182: 203–217.
64. Massague J. TGF- β signal transduction. *Annu Rev Biochem.* 1998; 67:753–791.
65. Moore RK, Otsuka F, Shimasaki S. Molecular basis of bone morphogenetic protein-15 signaling in granulosa cells. *J Biol Chem.* 2003; 278:304–310.
66. Roh JS, Bondestam J, Mazerbourg S, Kaivo-Oja N, Groome N, Ritvos O, et al. Growth differentiation factor-9 stimulates inhibin production and activates Smad2 in cultured rat granulosa cells. *Endocrinology.* 2003; 144:172- 178.
67. Mazerbourg S, Klein C, Roh J, Kaivo-Oja N, Mottershead DG, Korchynskiy O, et al. Growth differentiation factor-9 signaling is mediated by the type I receptor, activin receptor-like kinase 5. *Mol Endocrinol.* 2004; 18:653–665.
68. Farquhar PA, Dodds KG, Davis GH. Introgression of the Booroolamutation (FECB) leads to hyper-prolificacy in a Romney sheep flock. *Proceedings of 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Belo Horizonte.* 2006.
69. Davis GH, McEwan JC, Fennessy PF, Dodds KG, Farquhar PA. Evidence for the presence of a major gene influencing ovulation rate on the x-chromosome of sheep. *Biol Reprod.* 1991; 44: 620-624.
70. Davis GH, Dodds KG, Wheeler R, Jay NP. Evidence that an imprinted gene on the X chromosome increases ovulation rate in sheep. *Biol Reprod.* 2001; 64: 216–221.
71. Feary ES, Juengel JL, Smith P, O'Connell AR, Lawrence SB, Galloway SM, et al. Patterns of expression of messenger RNAs encoding GDF9, BMP15, TGFBR1, BMPR1B, and BMPR2 during follicular development and characterization of ovarian follicular populations in ewes carrying the Woodlands FecX2W mutation.
72. Jónmundsson J V, Adalsteinsson S. Single genes for fecundity in Icelandic sheep. In: Land, R.B. and Robinson, D.W. (editors). *Genetics of Reproduction in Sheep.* Butterworths. London 1985; 159-168.
73. Jónmundsson JV, Eythórsdóttir E.. Farmers'

- experience from use of Thoka gene carriers in Iceland. Proceedings of the International Workshop on Major Genes and QTL in Sheep and Goat, Toulouse (France) 8-11 December. 2003.
74. Walling GA, Bishop SC, Pong-Wong R, Git-tus G, Russel AJF, Rhind SM. Detection of a major gene for litter size in Thoka Cheviot sheep using Bayesian segregation analyses. *Anim Sci.* 2002; 75:339-347.
75. Davis GH, Galloway SM, Ross IK, Gregan SM, Ward J, Nimbkar BV, et al. DNA tests in prolific sheep from eight countries provide new evidence on origin of the Booroola (FecB) mutation. *Biol Reprod.* 2002; 66: 1869–1874.
76. Jónmundsson JV, Eythórsdóttir E. Loa - A new fecundity gene in the Icelandic breed of sheep. Proceedings of the International Workshop on Major Genes and QTL in Sheep and Goat, Toulouse (France) 8-11 December. 2003.
77. Ghaffari M, Nejati-Javaremi A, Rahimi G. Detection of Polymorphism in BMPR-IB Gene Associated with Twinning in Shal Sheep using PCR-RFLP Method. *Int J Agric Biol.* 2009; 11: 97–99.
78. Deldar-Tajangookeh H, Zare Shahneh A, Zamiri MJ, Daliri M, Kohram, Nejati-Javaremi A. Study of BMP-15 gene polymorphism in Iranian goats. *Afr J Biotechnol.* 2009; 8 (13): 2929-2932.
79. Barzegari A, Atashpaz S, Ghabili K, Nemati Z, Rustaei M, Azarbaijani R. Polymorphisms in GDF9 and BMP15 Associated with Fertility and Ovulation Rate in Moghani and Ghezel Sheep in Iran. *Reprod Dom Anim.* 2010. 45, 666–669
80. Mishra AK, Arora AL, Kumar S, Prince LL. Studies on effect of Booroola (FecB) genotype on lifetime ewes' productivity efficiency, litter size and number of weaned lambs in Garole×Malpura sheep. *Anim Reprod Sci.* 2009; 113: 293–298.
81. Gonzalez-Bulnes A, Souza CJ, Campbell BK, Baird DT. Effect of ageing on hormone secretion and follicular dynamics in sheep with and without the booroola gene. *Endocrinology.* 2004; 145(6):2858–2864.
82. Campbell BK, Baird DT, Souza CJH, Webb R. The FecB (Booroola) gene acts at the ovary: in vivo evidence. *Reproduction.* 2003; 126:101–111.
83. Driancourt MA, Cahill LP, Bindon BM. Ovarian follicular populations and preovulatory enlargement in Booroola and control Merino ewes. *J Reprod Fertil* 1985; 73:93–107.
84. McNatty KP, O'Keeffe LE, Henderson KM, Heath DA, Lun S. 125Ilabelled hCG binding characteristics in theca interna and other tissues from Romney ewes and from Booroola x Romney ewes with and without a major gene influencing their ovulation rate. *J Reprod Fertil.* 1986; 77:477–488.
85. Henderson KM, McNatty KP, O'Keeffe LE, Lun S, Heath DA, Prisk MD. Differences in gonadotrophin stimulated cyclic-AMP production by granulosa cells from Booroola x Merino ewes which were homozygous, heterozygous or non-carriers of a fecundity gene influencing their ovulation rate. *J Reprod Fertil.* 1987; 81:395–402.

86. Souza CJH, Campbell BK, Webb R, Baird DT. Secretion of inhibin A and follicular dynamics throughout the estrous cycle in the sheep with and without the Booroola gene (FecB). *Endocrinology*. 1997; 138:5333–5340.
87. Cahill LP, Mariana JC, Maule'on P. Total ovarian follicular populations in ewes of high and low ovulation rate. *J Reprod Fertil*. 1979; 55:27–36.
88. Driancourt MA, Castonguay F, Bindon BM, Piper LR, Quirke JF, Hanrahan JP. Ovarian follicular dynamics in lines of sheep (Finn, Merinos) selected on ovulation rate. *J Anim Sci*. 1990; 63:2034–2041.
89. Chu M X, Liu Z H, Jiao CL, He YQ, Fang L, Ye SC, et al. Mutations in BMPR-IB and BMP-15 genes are associated with litter size in Small Tailed Han sheep (*Ovis aries*). *J Anim Sci*. 2007; 85: 598-603.
90. Shimasaki S, Moore RK, Erickson GF, Otsuka F. The role of bone morphogenetic proteins in ovarian function. *Reproduction*. 2000; 61(suppl):323–337.
91. Teixeira Filho FL, Baracat EC, Lee TH, Suh CS, Matsui M, Chang RJ, et al. Aberrant expression of growth differentiation factor-9 in oocytes of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87:1337–1344.
92. Liao WX, Moore RK, Shimasaki S. Functional and Molecular Characterization of Naturally Occurring Mutations in the Oocyte-secreted Factors Bone Morphogenetic Protein-15 and Growth and Differentiation Factor-9. *J Biol Chem*. 2004; 279(17): 17391–17396.
93. Edwards SJ, Reader KL, Lun S, Western A, Lawrence S, McNatty KP, et al. The cooperative effect of growth and differentiation factor-9 and bone morphogenetic protein (BMP)-15 on granulosa cell function is modulated primarily through BMP receptor II. *Endocrinology*. 2008; 149(3):1026–1030.
94. Hatami-Baroogh L, Razavi S, Zarkesh-Esfahani H, Tavalae M, Tanhaei S, Ghaedi K, et al. Evaluation of the leptin receptor in human spermatozoa. *Reprod Biol Endocrinology*. 2010; 8(1):17.
95. Nasr-Esfahani MH, Razavi S, Tavalae M. Failed fertilization after ICSI and spermiogenic defects. *Fertil Steril*. 2008; 89(4):892-898.
96. Razavi S, Nasr-Esfahani MH, Mardani M, Mafi A, Moghdam A. Effect of human sperm chromatin anomalies on fertilization outcome post-ICSI. *Andrologia*. 2003; 35(4):238-243.
97. Davis GH. Major genes affecting ovulation rate in sheep. *Genet Sel Evol* 37((suppl 1)) 2005; S11–S23.