

## ارتباط جایگاه‌های T340C و G286A ژن GnRHR با صفات کیفی و کمی اسپرم گاوهای هلشتاین ایران

- محمدتقی زرین‌نیا: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران
- ابوالفضل قربانی\*: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۸

### چکیده

این پژوهش به منظور بررسی ارتباط جایگاه‌های G286A و T340C ژن گیرنده هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRHR) و صفات مرتبط با کیفیت اسپرم در جمعیت گاوهای هلشتاین انجام گرفت. اطلاعات فنوتیپی و نمونه‌های خون از ۱۵۰ راس گاو نر موجود در دومرکز اصلاح نژاد شیخ حسن تبریز و جاهد کرج بین سال‌های ۱۳۹۵-۱۳۶۸ جمع‌آوری شدند. جهت شناسایی چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) ژن GnRHR از روش PCR-RFLP و آنزیم‌های برشی MboII و BspMI به ترتیب برای جایگاه‌های G286A و T340C استفاده گردید. در جایگاه T340C دو آلل T و C و در جایگاه G286A دو آلل A و G به دست آمد. آلل‌های G (۰/۶۷۹) و T (۰/۶۷۶) و ژنوتیپ‌های TC (۰/۴۶) و GA (۰/۴۵) بیش‌ترین فراوانی را داشتند. نتایج تجزیه واریانس، ارتباط معنی‌دار جایگاه‌های کاندیدای فوق را با اکثر صفات اسپرم نشان داد. نتایج مقایسه میانگین حاکی از برتری ژنوتیپ‌های هتروزیگوت GA و TC در جایگاه‌های مورد بررسی داشت. این مطالعه برای اولین بار ارتباط معنی‌دار ژن GnRHR را با صفات مرتبط با اسپرم در جمعیت گاوهای هلشتاین ایران بررسی نمود و نتایج حاکی از آن است که GnRHR در فرآیندهای مختلف تولید اسپرم نقش دارد. با این حال، تحقیقات بیش‌تر ضروری است.

**کلمات کلیدی:** GnRHR، صفات اسپرم، هلشتاین، چندشکلی، گاونر



## مقدمه

انتخاب گاوهای نر با کیفیت تولیدمثلی مناسب در مراکز تستاز، پیش شرط لازم برای تولید اقتصادی اسپرم منجمد و موفقیت تلقیح مصنوعی است (Mathevon و همکاران، ۱۹۹۸). اما انتخاب مستقیم برای صفات مرتبط با کیفیت اسپرم به دلیل پائین بودن وراثت پذیری مشکل می‌باشد (Brito و همکاران، ۲۰۰۲؛ Gadea، ۲۰۰۵). شناسایی و استفاده از چندشکلی ژن‌های احتمالی موثر، ممکن سبب تغییر در روند انتخاب صفات تولیدمثلی گردد و وجود پیشرفت و توسعه روش‌های ژنتیک مولکولی، گزارش‌های اندکی از تاثیر ژن‌های کاندیدا در صفات کیفی اسپرم و باروری در گاو و سایر دام‌ها وجود دارد (Dai و همکاران، ۲۰۰۹؛ Gorbani و همکاران، ۲۰۰۹؛ Huang و همکاران، ۲۰۰۲؛ Liron و همکاران، ۲۰۱۲؛ Rothschild و همکاران، ۱۹۹۸). هورمون‌ها و گیرنده‌های آن‌ها، آنزیم‌ها و سایر پروتئین‌های زیستی که در هر یک از مراحل اسپرماتوژنسیز و اسپرمیوژنسیز دخیل هستند، می‌توانند به‌عنوان ژن کاندیدا برای صفات اسپرم مدنظر قرار گیرند. هورمون‌های محور هیپوتالاموس، هیپوفیز و غدد جنسی نقش کلیدی در بلوغ جنسی و عمل‌کرد تولیدمثلی دام‌ها دارند (Li و همکاران، ۲۰۰۸). هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRH= Gonadotropin releasing hormone) با تاثیر بر هیپوفیز و رهاسازی گنادوتروپین‌ها و تنظیم و تولید هورمون‌های جنسی (استروژن‌ها، پروژسترون‌ها و تستوسترون) نقش اساسی در تمایز جنسی، تولیدمثل و گاماتوژنسیز بازی می‌نماید (Cheng و همکاران، ۲۰۰۵ و Li و همکاران، ۲۰۰۸). پاسخ به GnRH به‌طور مستقیم با تراکم گیرنده‌اش (GnRHR= Gonadotropin releasing hormone receptor) بر سطح سلول مرتبط است (Liron و همکاران، ۲۰۱۲). بنابراین GnRHR می‌تواند به‌عنوان یک ژن کاندیدا برای صفات باروری در حیوانات نر و ماده مدنظر قرار گیرد. ژن GnRHR در گاو و بز به طول ۱۷۶۸۸ جفت باز، روی کروموزوم شش قرار داشته و دارای سه اگزون و هشت اینترون می‌باشد. نتایج نشان دادند که ژن GnRHR کاندیدایی موثر برای تعداد زایش و باروری در بزها (Li و همکاران، ۲۰۱۱؛ Yang و همکاران، ۲۰۱۱)، باروری در گاوهای شیری (Fortes و همکاران، ۲۰۱۱) و سن بلوغ در انسان و موش است (Milazzotto و همکاران، ۲۰۰۸). جهش در این ژن ارتباط معنی‌دار با حجم اسپرم به‌زای هر انزال، تحرک قبل و بعد از یخ‌گشایی اسپرم و تعداد اسپرم‌های غیرطبیعی در جمعیت گاو‌میش و هلشتاین دو رگ چینی دارد (Weinbauer و همکاران، ۲۰۱۰؛ Lin و همکاران، ۲۰۰۶). با توجه به مطالب فوق برای اولین بار این پژوهش با هدف بررسی چندشکلی ژن GnRHR در گاوهای نر هلشتاین ایران و ارتباط آن با صفات کیفی و کمی اسپرم طراحی و اجرا گردید.

## مواد و روش‌ها

در مجموع ۱۵۰ راس از گاوهای نر مورد استفاده در تلقیح مصنوعی که بین سال‌های ۱۳۶۴ تا ۱۳۹۵ متولد شده و در دو ایستگاه مرکز اصلاح نژاد شمال غرب (تبریز) و مرکز تستاز شرکت جاهد (کرج) نگهداری می‌شدند، برای ژن کاندیدای مورد نظر به‌وسیله روش PCR-RFLP برای روشن شدن ارتباط آن‌ها با صفات حجم اسپرم، جمعیت اسپرم، کل جمعیت اسپرم، تحرک اسپرم تازه، تحرک اسپرم بعد از یخ‌گشایی، نسبت تحرک قبل و بعد از یخ‌گشایی و تعداد پایت تولیدی در هر انزال تعیین ژنوتیپ شدند. رکوردهای فنوتیپی برای صفات مورد مطالعه به همراه سن، سال و فصل تولید اسپرم توسط مرکز اصلاح نژاد دام، شرکت جاهد و مرکز اصلاح نژاد شمال غرب جمع‌آوری شد. برای هر گاو نر اندازه‌گیری‌های تکراری و تعداد کل داده‌ها ۱۶۴۰۰ عدد رکورد برای هر صفت بود. نمونه‌های خون با استفاده از لوله‌های خلا و حاوی EDTA از ورید دمی گرفته و داخل یخ به آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر منتقل و تا زمان استخراج در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. برای برخی از دام‌ها از نمونه‌های اسپرم استفاده گردید. استخراج DNA از نمونه‌ها به‌روش تغییر یافته فنل - کلروفرم (RGED) (با پیش‌شتشو برای حذف رقیق‌کننده‌ها نمونه‌های اسپرم) انجام شد (Saremi و همکاران، ۲۰۰۸). دو جایگاه (G286A (GU222218 و T340C (GU222219) از اگزون یک ژن GnRHR مورد بررسی قرار گرفت. برای تکثیر از آغازگرها و شرایط دمایی پیشنهادی Yang و همکاران (۲۰۱۱) استفاده شد (جدول ۱). بعد از اطمینان از صحت تکثیر دو قطعه از ژن GnRHR با استفاده از تکنیک PCR-RFLP، قطعات حاصل از تکثیر برای تعیین ژنوتیپ قطعه G286A ژن GnRHR با آنزیم *MboII* (فرمانتاز-آمریکا) و قطعه T340C با آنزیم *BspMI* (فرمانتاز-آمریکا) مورد هضم قرار گرفتند. برای شناسایی قطعات حاصل از هضم آنزیمی، الکتروفورز افقی با استفاده از ژل آگارز ۳ درصد انجام شد و اندازه باندها با استفاده از ستون سایز مارکر DNA به‌دست آمد.

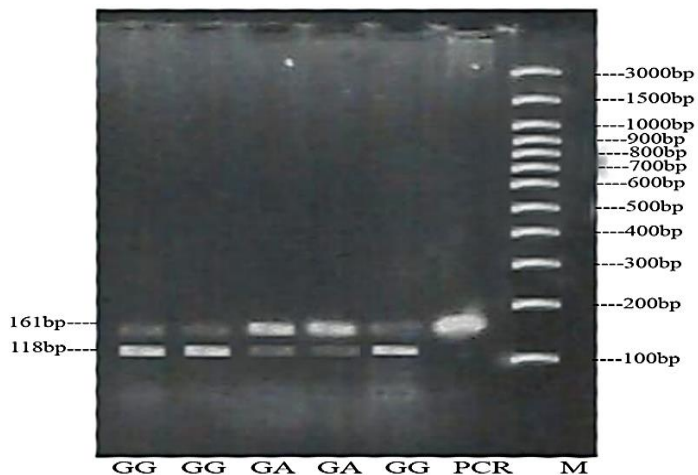
**تجزیه و تحلیل آماری:** فراوانی‌های ژنوتیپی و آلی و تعادل هاردی-واینبرگ با استفاده از آزمون کای مربع برای هر جایگاه به‌طور جداگانه با استفاده از نرم‌افزار PopGene.S2 محاسبه گردید. داده‌های گرفته‌شده از مراکز اصلاح‌نژاد برای صفات مختلف و اطلاعات ژنوتیپی حاصل از PCR-RFLP در نرم‌افزار اکسل (۲۰۱۳) ترکیب شد. با در نظر گرفتن حیوان به‌عنوان اثر تصادفی، سال-فصل، ایستگاه و ژنوتیپ به‌عنوان اثر ثابت، مدل خطی تصادفی برای صفات با توزیع پیوسته (حجم اسپرم، جمعیت اسپرم، کل جمعیت اسپرم، تعداد کل اسپرم متحرک در منی تازه، نسبت تحرک قبل و بعد از یخ‌گشایی و

(SAS، ۲۰۰۰) مورد بررسی قرار گرفت. برای آزمون تفاوت بین میانگین‌های حداقل مربعات از آزمون توکی تصحیح شده برای مقایسه چندگانه میانگین‌ها در سطح احتمال ۹۵ درصد استفاده شد.

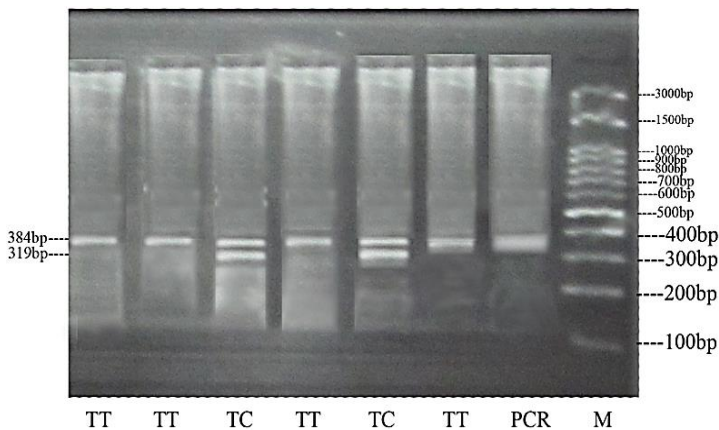
تعداد پایت تولیدی) و رگرسیون لجستیک برای متغیرهای گسسته (تحرك اسپرم تازه و تحرك اسپرم بعد از یخ‌گشایی) ارتباط عوامل موثر با صفات کمی و کیفی اسپرم با نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۸/۲

جدول ۱: برنامه ترموسایکلر و آغازگرهای (پیشرو و برگشتی) این پژوهش

مرحله PCR	دما بر حسب سانتی‌گراد	زمان	تعداد چرخه تکثیر
مرحله آغاز	۹۵	۵ دقیقه	۳۴
مرحله دناتوراسیون	۹۴	۵۰ ثانیه	
مرحله اتصال	۶۱	۵۰ ثانیه	
مرحله گسترش	۷۲	۴۵ ثانیه	
مرحله طولیل شدن	۷۲	۱۰ دقیقه	
مرحله نگه‌داری نهایی	۱۰	۱۰ دقیقه	
آغازگرها		طول قطعه	نام جایگاه
F: TATCAGAAGTGCCAGAAACACGAGTC R: GCTCTCCAGCATACCATTGAACAGT		۳۸۴bp	GnRHR340
F: GAAACTTCAGAATTGGACTCAAAGG R: GCTCTCCAGCATACCATTGAACAGT		۱۶۱bp	GnRHR286



شکل ۱: ژنوتیپ‌های ژن GnRHR در جایگاه MboII در ژل آگاروز ۳ درصد



شکل ۲: ژنوتیپ‌های ژن GnRHR در جایگاه BspMI در ژل آگاروز ۳ درصد

#### مدل آماری برای صفات با توزیع پیوسته:

$$y_{ijklm} = \mu + a_i + YS_j + S_k + G_l + \sum_m b_m x_m + \varepsilon_{ijklm}$$

$y_{ijklm}$  مشاهده هر صفت،  $\mu$  میانگین کلی صفت،  $a_i$  اثر تصادفی  $i$  امین حیوان،  $PY_j$  اثر ثابت  $j$  امین سال-فصل ( $j=1-68$ )،  $S_k$  اثر ثابت  $k$  امین ایستگاه ( $k=1-2$ )،  $G_l$  اثر ثابت  $l$  امین ژنوتیپ ( $l=1-3$ )،  $b_m$  ضریب تابعیت  $m$  امین متغیر کمکی (مثل سن)،  $x_m$  اثر ثابت  $m$  امین متغیر کمکی،  $\varepsilon_{ijklm}$  اثر تصادفی باقی‌مانده

#### مدل آماری برای صفات با توزیع گسسته:

$$\eta_{iklm} = \log[p_i / (1 - p_i)] = m + a_i + S_k + G_l + \sum_m b_m x_m + \varepsilon_{ijklm}$$

$\eta_{ijklm}$  مشاهده هر صفت،  $m$  میانگین کلی صفت،  $a_i$  اثر تصادفی  $i$  امین حیوان ( $i=1-183$ )،  $PY_j$  اثر ثابت  $j$  امین سال-فصل ( $j=1-68$ )،  $S_k$  اثر ثابت  $k$  امین ایستگاه ( $k=1-2$ )،  $G_l$  اثر ثابت  $l$  امین ژنوتیپ ( $l=1-3$ )،  $b_m$  ضریب تابعیت  $m$  امین متغیر کمکی (مثل سن)،  $x_m$  اثر ثابت  $m$  امین متغیر کمکی،  $\varepsilon_{ijklm}$  اثر تصادفی باقی‌مانده

## نتایج

برای ژن GnRHR دو جایگاه G286A و T340C به ترتیب با طول ۱۶۱ و ۳۸۴ جفت باز تکثیر گردید. در جایگاه G286A دو آلل A (۱۶۱ جفت باز) و آلل T (۱۱۸ و ۴۳ جفت باز) و در جایگاه T340C دو آلل T (۳۱۹ و ۶۵ جفت باز) و آلل C (۳۸۶ جفت باز) مشاهده شد (شکل ۱ و ۲). فراوانی آللی و ژنوتیپی به همراه آزمون



کای مربع در جدول ۲ آمده است. بررسی نتایج فراوانی نشان داد که در جایگاه G286A آلل G نسبت به آلل A فراوان تر بوده (۶۷/۹۳ در مقابل ۳۲/۰۷ درصد) و هم چنین ۶۴/۱۵ درصد گاوهای نر دارای ژنوتیپ AG و ۳۵/۸۵ درصد دارای ژنوتیپ GG بودند. در جایگاه T340C آلل T به آلل C (۶۴/۴۷ در مقابل ۳۵/۵۳) و ژنوتیپ TT نسبت به TC (۶۷/۷۶ در مقابل ۳۲/۲۶) فراوان تر بودند. آزمون Chi-Square در این جایگاه نشان دهنده عدم وجود تعادل هاردی واینبرگ دارد این شاید ناشی از کوچک بودن جمعیت مورد تحقیق و یا اثر عوامل دخالت کننده بر روی فراوانی آلی باشد (p < ۰/۰۵).

**بررسی ارتباط جایگاهها با صفات مورد بررسی:** نتیجه تجزیه واریانس عوامل مؤثر بر کیفیت اسپرم در گاوهای نر هلشتاین ایران نشان داد که آثار حیوان، ایستگاه، سال-فصل بر همه صفات، جایگاه G286A بر همه صفات اسپرم به جز تعداد پایوت تولیدی در هر انزال اسپرم و در جایگاه T340C بر همه صفات به جز صفات درصد

تحرک بعد از یخ‌گشایی و نسبت تحرک اسپرم تازه به تحرک بعد از یخ‌گشایی معنی‌دار می‌باشد (p < ۰/۰۵). برآورد میانگین حداقل مربعات صفات مختلف برای ژنوتیپ‌های هر دو جایگاه در جدول ۳ آمده است. نتایج نشان داد که در جایگاه G286A گاوهای نر با ژنوتیپ AG نسبت به ژنوتیپ GG به‌طور معنی‌دار میانگین حجم اسپرم، جمعیت اسپرم در هر انزال، کل جمعیت اسپرم زنده و تعداد پایوت بالاتری داشتند. در حالی که در صفات جمعیت کل اسپرم، تحرک اسپرم و تحرک اسپرم بعد از یخ‌گشایی ژنوتیپ GG میانگین معنی‌دار بالاتری دارد. در جایگاه T340C، میانگین ژنوتیپ TT در صفات حجم اسپرم، جمعیت اسپرم، کل جمعیت اسپرم در هر انزال و دز تولیدی اسپرم و ژنوتیپ TC در صفات تحرک اسپرم تازه و تحرک بعد از یخ‌گشایی به‌طور معنی‌داری بیش تر بود (p < ۰/۰۵). اما در صفات نسبت تحرک اسپرم تازه به تحرک بعد از یخ‌گشایی تفاوتی مشاهده نشد (P < ۰/۰۵).

جدول ۲: فراوانی آلی و ژنوتیپی و آزمون  $\chi^2$  برای جایگاه‌های GnRHR در گاوهای نر هلشتاین ایران

جایگاه	ژنوتیپ	تعداد	فراوانی مشاهده شده	فراوانی مورد انتظار	فراوانی آلی	مقدار $\chi^2$
G286A	GG	۵۲	۰/۳۵۸۵	۰/۴۶۱۴	G=۰/۶۷۹۳	۲۳/۶۳ **
	AG	۹۸	۰/۶۴۱۵	۰/۴۳۵۷	A=۰/۳۲۰۷	
T340C	TT	۵۳	۰/۳۵۵۳	۰/۴۵۹۲	T=۰/۶۷۷۶	۱۷/۲ **
	TC	۹۷	۰/۶۴۴۷	۰/۴۳۶۹	C=۰/۳۲۲۶	

جدول ۳: برآورد میانگین حداقل مربعات ژنوتیپ‌های مختلف در جایگاه GnRHR-MboII و ارزش مقایسه میانگین با استفاده از آزمون توکی برای صفات اسپرم مورد بررسی در گاوهای نر هلشتاین ایران

صفات مورد بررسی	جایگاه G286A				جایگاه T340C			
	ژنوتیپ‌ها		ارزش P	SEM	ژنوتیپ‌ها		ارزش P	SEM
	GG	GA			TC	TT		
حجم اسپرم (میلی لیتر)	۵/۲۱۹	۵/۸۵۲	< ۰/۰۰۰۱	۰/۰۲۸	۵/۷۸۴	< ۰/۰۰۰۱	۰/۰۲۷	
جمعیت اسپرم ( $\times 10^8$ )	۱۲۲۴/۸۷۷	۱۱۷۱/۱۱۴	< ۰/۰۰۰۱	۵/۴۹۲	۱۱۹۲/۶۳۵	< ۰/۰۰۰۱	۵/۳۷۸	
کل جمعیت اسپرم در هر انزال ( $\times 10^8$ )	۶۲۸۲/۷۳	۶۷۳۰/۱۶	< ۰/۰۰۰۱	۳۱/۲۸۳	۶۷۸۵/۴۵	< ۰/۰۰۰۱	۳۰/۶۳۵	
کل جمعیت اسپرم زنده در هر انزال ( $\times 10^8$ )	۴۳۴۹/۳۵	۴۶۱۴/۹۰	< ۰/۰۰۰۱	۲۳/۰۱۲	۲۶۴۶/۴۹	< ۰/۰۰۰۱	۲۲/۵۳۷	
تحرک اسپرم تازه (درصد)	۶۹/۲۶۳	۶۸/۷۲۴	< ۰/۰۰۰۱	۰/۵۱	۶۸/۰۲	< ۰/۰۰۰۱	۰/۴۹۸	
تحرک بعد از یخ‌گشایی (درصد)	۴۲/۰۵۳	۴۰/۵۳۱	< ۰/۰۰۰۱	۰/۱۵	۴۰/۴۲	< ۰/۰۰۰۱	۰/۶۸۵	
نسبت تحرک قبل و بعد از انجماد	۱/۷۰۵	۱/۷۵۵	< ۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۵	۱/۷۳۴	< ۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۵	
تعداد پایوت تولیدی اسپرم	۱۸۸/۳۳۰	۲۰۸/۶۳۵	۰/۵۰۲۳	۱/۲۷۴	۲۰۸/۸۹۷	۰/۵۰۲۳	۱/۲۴۶	



## بحث

## تشکر و قدردانی

با سپاس وافر از مدیر گروه، اساتید محترم دانشکده علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر و قدردانی از همکاری و مساعدت ریاست ارجمند و مسئول اسپرمگیری محترم مرکز اصلاح نژاد شمال غرب کشور (شیخ حسن- تبریز).

## منابع

1. Brito, L.F.; Silva, A.E.; Rodrigues, L.H.; Vieira, F.V.; Deragon, L.A. and Kastelic, J.P., 2002. Effects of environmental factors, age and genotype on sperm production and semen quality in Bus indicus and Bus Taurus AI bulls in Brazil. *Animal Reproduction Science*. Vol. 70, No. 3-4, pp: 181-190.
2. Cheng, C.K. and Leung, P.C.K., 2005. Molecular biology of gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-1 and GnRH-11 and their receptors in humans. *Endocrine Reviews*. Vol. 25, No. 11, pp: 1-108.
3. Dai, L.; Zhao, Z.; Zhao, R.; Xiao, S.; Jiang, H.; Yue, X.; Li, X.; Gao, Y.; Liu, J. and Zhang, J., 2009. Effects of novel single nucleotide polymorphisms of the FSH beta-subunit gene on semen quality and fertility in bulls. *Animal Reproduction Science*. Vol. 114, No. 1-3, pp: 14-22.
4. Fortes, M.R.; Reverter, A.; Nagaraj, S.H.; Zhang, Y.; Jonsson, N.N.; Barris, W.; Lehnert, S.; BoeHansen, G.H. and Hawken, J., 2011. A single nucleotide polymorphism derived regulatory gene network underlying puberty in 2 tropical breeds of beef cattle. *Journal of Animal Science*. Vol. 89, No. 6, pp: 1669-1683.
5. Gadea, J., 2005. Sperm factors related to in vitro and in vivo porcine fertility. *Theriogenology*. Vol. 63, No. 2, pp: 431-444.
6. Gorbani, A.; Vaez Torshizi, R.; Bonyadi, M. and Amirinia, S., 2009. A MPc PCR-RFLP within bovine growth hormone gene and its association with sperm quality traits in Iranian Holstein bulls. *African journal of Biotechnology*. Vol. 8, No. 19, pp: 4811-4816.
7. Huang, S.Y.; Chen, M.Y.; Lin, E.C.; Tsou, H.L.; Kuo, H.Y.; Ju, C.C. and Lee, W.C., 2002. Effects of single nucleotide polymorphisms in the 5'-flanking region of heat shock protein 70.2 gene on semen quality in boars. *Animal Reproduction Science*. Vol. 70, pp: 99-109.
8. Huhtaniemi, I. and Alevizaki M., 2007. Mutations along the hypothalamic-pituitary-gonadal axis affecting male reproduction. *Reproductive BioMedicine Online*. Vol. 15, No. 6, pp: 622-632.
9. Li, G.; Wu, H.P.; Fu, M.Z. and Zhou, Z.Q., 2011. Novel single nucleotide polymorphisms of GnRHR gene and their association with litter size in goats. *Archive Tierzucht*. Vol. 54, No. 6, pp: 618-624.
10. Lin, C.L.; Ponsuksili, S.; Tholen, E.; Jennen, D.I.G.; Schellander, K. and Wimmers, K., 2006. Candidate gene markers for sperm quality and fertility of boar. *Animal Reproduction Science*. Vol. 92, pp: 349-363.
11. Liron, J.P.; Prando, A.J.; Fernandez, M.E.; Ripoli, M.V.; Rogberg-Munoz, A.; Goszczynski, D.E.; Posik, D.M.; Peral-Garcia, P.; Balbo, A. and Giovambattista, G., 2012. Association between GnRHR, LHR and IGF1 polymorphisms and timing of puberty in male Angus cattle. *BMC Genetics*. Vol. 2156, pp: 13-26.

گزارش‌های کمی در مورد جایگاه‌های مورد بررسی وجود دارد. و نتایج متناقضی نسبت به تحقیق حاضر گزارش شده است. طبق گزارش Yang و همکاران (۲۰۱۱) فراوانی آل‌های G و C و ژنوتیپ‌های GG و GC را فراوان‌تر گزارش نمودند که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. هم‌چنین نتایج با Kumar و همکاران (۲۰۱۵) و Iyer و همکاران (۲۰۱۹) تا حدودی مطابقت دارد.

اما فراوانی‌های به‌دست آمده در این بررسی پایین‌تر بود که ممکن است به دلیل استراتژی‌های اصلاحی، شاخص‌های متفاوت انتخاب و تفاوت در حجم نمونه باشد.

Yang و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی خود در جمعیت هلشتاین چین گزارش کردند که در جایگاه G286A ژنوتیپ GG در صفات تحرک اسپرم منجمد و سلامت اکروزم و ژنوتیپ GA در صفات اسپرم، جمعیت اسپرم، تحرک و نرخ اسپرم غیرطبیعی میانگین بالاتری دارند و در جایگاه T340C ژنوتیپ TT غلظت اسپرم، تحرک اسپرم منجمد، نرخ اسپرماتوزئید غیرطبیعی و سلامت اکروزم و ژنوتیپ TC حجم اسپرم و تحرک اسپرم بالاتری دارد. دلیل عدم انطباق شاید برنامه‌های اصلاح نژادی، اقلیم متفاوت آب و هوایی و یا روش‌های گوناگون مدیریتی در پرورش باشد. جهش‌ها می‌توانند با تاثیر بر بیان ژن و ساختار پروتئین باعث تغییر فنوتیپ شوند (Weinbauer و همکاران، ۲۰۱۰).

هرچند در مورد جایگاه‌های مورد بررسی، تغییر اسیدهای آمینه در ساختار پروتئین دیده نشده است ولی ممکن است با تاثیر بر چگالی ژن GnRHR و هم‌چنین میزان پایداری آن روی میزان ترشح و غلظت گنادوتروپین‌ها موثر باشد (Liron و همکاران، ۲۰۱۲). در این تحقیق ژنوتیپ‌های هتروزیگوت عملکرد مطلوبی در صفات کمی و کیفی اسپرم ایجاد نموده‌اند (Huang و همکاران، ۲۰۰۲) که ممکن است به دلیل تاثیر غالبیت در این دام‌ها باشد بنابراین می‌توان از این اثر برای افزایش کمی و کیفی در صفات اسپرم استفاده نمود.

نتایج این بررسی نشان داد که جایگاه‌های مورد تحقیق تاثیر مثبتی بر صفات کیفی و کمی اسپرم داشته و می‌توانند در کنار سایر ژن‌های دخیل در فرآیند اسپرماتوزئز، به‌عنوان یکی از ژن‌ها در بررسی‌های ژنومی و هم‌چنین انتخاب بر مبنای ترکیب اطلاعات کمی و ژنومی برای صفات مرتبط با اسپرم مدنظر قرار گیرد. اما جهت استفاده کاربردی نیاز به تحقیقات بیش‌تر با حجم نمونه بالاتر و ژن‌های بیش‌تر احساس می‌شود.



۱۲. **Iyer, K.B.; Ingawale, M.V.; Kuralkar, S.V.; Bankar, P.S.; Sajid Ali, S.; Ingole, R.S.; Hajare S.W. and Pawshe, C.H., 2019.** Association of GnRH receptor gene polymorphism on testicular parameters and semen quality in HF crossbred bulls. *Indian Journal of Animal Research*. Vol. 53, No. 9, pp: 1140-1143.
۱۳. **Kumar, S.; Ganguly, I.; DEB, R.; Singh, U.; Mandal, D.; Mann, S.; Singh, R.; Kumar, M. and Sharma, A., 2015.** Elucidating the role of bovine GnRHR on semen quality traits among crossbred bull. *The Indian journal of animal sciences*. Vol. 85, No. 12, pp: 1314-1317.
۱۴. **Mathevon, M.; Buhr, M.M. and Dekkers, J.C.M., 1998.** Environmental, management and genetic factors affecting semen production in Holstein bulls. *Journal of dairy Science*. Vol. 81, pp: 3321-3330.
۱۵. **Milazzotto, M.P.; Rahal, P.; Nichi, M.; Miranda-Neto, T.; Teixeira, L.A.; Ferraz, J.B.S.; Eler, J.P.; Campagnari, F. and Garcia, J.E., 2008.** New molecular variants of hypothalamus-pituitary-gonad axis genes and their association with early puberty phenotype in *Bos Taurus* indicts (Nellore). *Livestock Science*. Vol. 114, pp: 274-279.
۱۶. **Nazi, R. and Sellamuthu, R., 2006.** Receptors in Spermatozoa: Are they real? *Journal of Andragogy*. Vol. 27: pp: 627-636.
۱۷. **Rothschild, M.F. and Bidanel, J.P., 1998.** Biology and genetics of reproduction. In: Rothschild, M.F., (Ed) *The genetics of the pig*. CAB International, Wallingford. pp: 313-343.
۱۸. **Saremi, M.; Saremi, A.M. and Tavallaee, M., 2008.** Rapid genomic DNA extraction (RGDE). *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*. Vol. 1, pp: 63-65.
۱۹. **Weinbauer, G.F.; Luetjens, C.M.; Simoni, M.; Nieschlag, E.; Nieschlag, E.; Behre, H.M. and Nieschlag, S., 2010.** *Physiology of testicular function in Andragogy* Springer. Berlin. Vol. 10, pp: 11-59.
۲۰. **Wimmers, K.; Lin, C.L.; Tholen, E.; Jennen, D.G.; Schellander, K. and Ponsuksili, S., 2005.** Polymorphisms in candidate genes as markers for sperm quality and boar fertility. *Animal Genetic*. Vol. 36, pp: 152-155.
۲۱. **Yang, W.C.; Tang, K.Q.; Yu, J.N.; Zhang, C.Y.; Zhang, X.X. and Yang, L.G., 2011.** Effects of MboII and BspMI polymorphisms in the gonadotropin releasing hormone receptor (GnRHR) gene on sperm quality in Holstein bulls. *Molecular Biology Reports*. Vol. 38, No. 5, pp: 3411-3415.
۲۲. **Yang, W.U.; Tang, K.Q.; Zhang, C.H.; Deqing, X.U.; Wen, Q.U. and Yang, L.L.I., 2011.** Polymorphism of the GnRHR gene and its association with litter size in Boer goats. *South African Journal of Animal Science*. Vol. 4, pp: 41-49.

