

Research Paper

Analysis of the Association Between Single Nucleotide Polymorphisms in Exon 3 of the Leptin Gene and Growth Traits in Lori-Bakhtiari and Zel Sheep

Parviz Azizi¹, Hossein Moradi Shahrabak², Mohammad Moradi Sharbabak³ and Zeynab Aslezare Razlighi⁴

1- Ph.D. Graduate Student, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

2- Assistant Professor, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, (Corresponding author: hmoradis@ut.ac.ir)

3- Professor, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

4- M.Sc. Student, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Received: 30 May, 2025

Revised: 15 August, 2025

Accepted: 18 September, 2025

Extended Abstract

Background: Sheep farming has long played an indispensable role in providing valuable resources, such as meat, wool, milk, and hides, and remains a cornerstone of the livestock industry. This animal, with its adaptability to various climatic conditions, has become an integral part of rural and nomadic life. Among the genetic factors that affect the growth and production traits of sheep, the leptin gene has garnered special attention. Leptin, a key regulator in this context, plays a crucial role in regulating metabolism and physiological systems. Leptin, a product of the obese (ob) gene with a molecular weight of 16 kiloDaltons, is secreted by adipose tissue. This hormone, by acting on appetite centers in the hypothalamus, not only regulates food intake but also contributes to maintaining energy balance, fertility, and immune function. The structure of the leptin gene includes three exons and two introns, two exons of which are translated into protein. Genetic variations or polymorphisms within this gene can lead to significant differences in growth and production traits.

Methods: In this study, 169 nine-month-old Lori-Bakhtiari sheep (63 males and 106 females) and 130 Zel sheep (30 males and 100 females) were investigated to examine the role of the leptin gene in sheep growth. Blood sampling was followed by precisely measuring biometric traits. Growth-related data, including birth weight, weaning weight, and six- and nine-month weights, were collected from breeding stations and recorded for detailed analysis. DNA was extracted using 250 microliters of blood and an optimized saline method. The quality and quantity of extracted DNA were assessed through spectrophotometry and 1% agarose gel electrophoresis to ensure accuracy and reliability. Following the polymerase chain reaction (PCR), genetic patterns were determined, and precise sequencing was performed. Two animal models were employed to evaluate the effect of genotypes on the measured traits. In Lori-Bakhtiari sheep, the age factor was excluded from the model due to the uniform age of the animals. Fixed factors examined included birth type (singleton or multiple), birth month, maternal age, and each animal's genotype. Additionally, the effect of each animal was considered a random factor, and the inbreeding coefficient was treated as an independent variable in the statistical model. Birth weight, weaning weight, and the age of animals at the three-month weighing were considered covariates to enhance model accuracy. Data were analyzed statistically using SAS 9.12 software to verify the normal distribution of data and apply necessary adjustments where required.

Results: Genetic analysis conducted on sheep samples indicated that the DNA samples were suitable for further research stages. The PCR process and the use of the SCCP marker could identify seven distinct banding patterns, highlighting genetic diversity among the samples. Sequence analysis revealed five different genotypes, with no polymorphisms detected at positions 107 and 316 of the leptin gene in Zel and Lori-Bakhtiari sheep. However, nucleotide mutations were identified at positions 271, 387, and 433, leading to changes in associated amino acids. These alterations may impact the three-dimensional structure of the leptin protein and consequently influence its functionality. Only a nucleotide mutation at position 387 was observed in the Zel breed, indicating lower genetic diversity than Lori-Bakhtiari sheep. Statistical analysis also demonstrated significant effects of sex, birth month, and the leptin gene on various traits. Specifically, sex had a notable impact on traits such as body length, height, tail length ($P < 0.05$),



chest and neck circumference ($P < 0.01$), abdominal girth, thigh circumference, tail circumference, mid-length, left and right rump length, mid and lower rump width, and rump cleft length ($P < 0.05$). Male sheep exhibited higher values in many of these traits than females, which can be attributed to physiological and hormonal factors. Birth month also influenced birth weight and daily weight gain ($P < 0.01$). Lambs born in different months exhibited growth variations due to environmental factors, such as temperature, humidity, and feed availability. For example, lambs born in favorable climatic conditions demonstrated better weight gain. The leptin gene significantly affected daily weight gain, Kleiber ratio, body length, height, abdominal girth, neck circumference, and chest circumference ($P < 0.05$). These results underscore the critical role of this gene in growth-related processes and energy metabolism in sheep. Animals with specific leptin genotypes showed superior growth performance, making them potential candidates for selective breeding programs.

Conclusion: The findings of this study demonstrate that genetic mutations in the leptin gene can influence the structure and function of the protein, thereby affecting growth and production traits in sheep. The highest genetic diversity was observed in the Lori-Bakhtiari breed. In this breed, genotype 1 exhibited the lowest values, while genotype 3 showed the highest values in the studied traits, indicating a positive impact of certain genotypes on growth characteristics. Genotypes 1, 2, and 3 were identified in the Zel breed, with significant correlations among them in traits such as daily weight gain, Kleiber ratio, tail length, body length, height, chest circumference, abdominal girth, and neck circumference. These results highlight that, even in breeds with lower genetic diversity, identifying superior genotypes can contribute to the enhancement of key economic traits. Overall, this study underscores that precise identification and analysis of genetic mutations in the leptin gene can serve as a powerful tool for improving breeding programs and boosting efficiency in the livestock industry. The use of genetic markers associated with growth traits facilitates the targeted selection of superior animals, leading to increased high-quality meat production, improved feed efficiency, and enhanced productive traits. Further research is recommended to explore the effects of leptin gene mutations on additional economically relevant traits in sheep, ensuring optimal utilization of the acquired data in breeding strategies and livestock management.

Keywords: Exon three, Growth traits, Leptin, Sheep

How to Cite This Article: Azizi, P., MoradiShahrBabak, H., MoradiShahrBabak, M., & Aslezare Razlighi, Z. (2026). Analysis of the Association Between Single Nucleotide Polymorphisms in Exon 3 of the Leptin Gene and Growth Traits in Lori-Bakhtiari and Zel Sheep. *Res Anim Prod*, 17(1), 1-12. DOI: 10.61882/rap.2026.1528



مقاله پژوهشی

بررسی ارتباط چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی در آگزون سه ژن لپتین با صفات رشد در گوسفندان نژاد لری بختیاری و زل

پرویز عزیزی^۱، حسین مرادی شهربابک^{۱D}، محمد مرادی شهربابک^۳ و زینب اصل‌زارع رازلیقی^۴

۱- دانش‌آموخته دکتری، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
 ۲- استادیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران، (نویسنده مسوول: hmoradis@ut.ac.ir)
 ۳- استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
 ۴- دانشجوی کارشناسی ارشد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۰۹ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۵/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۲۷
 صفحه: ۱ تا ۱۲

چکیده مبسوط

مقدمه: پرورش گوسفند از دیرباز نقش بی‌بدیلی در تأمین منابع ارزشمندی چون گوشت، پشم، شیر و پوست داشته است و همچنان یکی از پایه‌های اصلی صنعت دامپروری محسوب می‌شود. این حیوان، با سازگاری به شرایط اقلیمی مختلف، توانسته است به بخش جدایی‌ناپذیری از زندگی روستایی و عشایری تبدیل شود. در این میان، ژن‌های مؤثر بر صفات رشد و تولید گوسفندان، توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده‌اند. ژن لپتین، به‌عنوان یکی از عوامل کلیدی در این زمینه، نقشی اساسی در تنظیم متابولیسم و سیستم‌های فیزیولوژیکی ایفا می‌کند. لپتین، محصول ژن *obese (ob)* با وزن مولکولی ۱۶ کیلو دالتون، توسط بافت چربی ترشح می‌شود. این هورمون با تأثیر بر مراکز اشتها در هیپوتالاموس، نه تنها مصرف غذا را تنظیم می‌کند، بلکه در حفظ تعادل انرژی، باروری و عملکرد ایمنی بدن نیز دخیل است. ساختار ژن لپتین شامل سه آگزون و دو اینترون است که دو آگزون آن به پروتئین ترجمه می‌شوند. تغییرات ژنتیکی یا واریانت‌های موجود در این ژن، می‌توانند منجر به تفاوت‌های قابل توجهی در صفات رشد و تولید شوند.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، با هدف بررسی نقش ژن لپتین در رشد گوسفندان، ۱۶۹ رأس گوسفند نهمه‌ماه نژاد لری-بختیاری (۶۳ رأس نر و ۱۰۶ رأس ماده) و ۱۳۰ رأس گوسفند زل (۳۰ رأس نر و ۱۰۰ رأس ماده) مورد مطالعه قرار گرفتند. نمونه‌گیری از طریق خونگیری انجام شد و صفات بیومتری آن‌ها با دقت اندازه‌گیری گردیدند. داده‌های مرتبط با صفات رشد، شامل وزن تولد، وزن از شیرگیری، وزن شش و نه ماهگی از ایستگاه‌های به‌نژادی جمع‌آوری و برای تحلیل دقیق، ثبت شدند. فرآیند استخراج DNA با استفاده از ۲۵۰ میکروولتیر خون و به‌کارگیری روش نمکی بهینه‌یافته صورت پذیرفت. ارزیابی کیفیت و کمیت DNA استخراج‌شده از طریق اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز ۱٪ انجام شد تا صحت و دقت داده‌ها تضمین گردد. پس از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)، الگوهای ژنتیکی تعیین گردید و توالی‌یابی دقیق انجام شد. برای بررسی تأثیر ژنوتیپ‌ها بر صفات اندازه‌گیری‌شده، دو مدل حیوانی به کار گرفته شد. در گوسفندان نژاد لری-بختیاری، به دلیل هم‌سن بودن دام‌ها، عامل سن از مدل حذف گردید. عوامل ثابت مورد بررسی شامل نحوه تولد (تک‌قلو یا چندقلو بودن)، ماه تولد، سن مادر و ژنوتیپ هر دام بودند. علاوه بر این، اثر هر دام به‌عنوان عاملی تصادفی و میزان هم‌خونی به‌عنوان متغیری مستقل در مدل آماری لحاظ شدند. وزن تولد، وزن از شیرگیری و سن دام در زمان وزن‌کشی سه‌ماهگی نیز به‌عنوان عوامل هم‌سنه در نظر گرفته شدند تا مدل تحلیلی از دقت بالاتری برخوردار باشد. تحلیل آماری داده‌ها با نرم‌افزار SAS 9.12 انجام شد تا نرمال بودن توزیع داده‌ها بررسی شود و در صورت لزوم، اصلاحات لازم صورت پذیرند.

یافته‌ها: نتایج بررسی‌های ژنتیکی انجام‌شده بر روی نمونه‌های گوسفندان نشان دادند که نمونه‌های DNA برای مراحل بعدی پژوهش مناسب بودند. پس از اجرای فرآیند PCR و استفاده از نشانگر SCCP، هفت الگوی باندی متفاوت شناسایی شدند که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی میان نمونه‌ها بود. تحلیل نتایج توالی‌یابی، پنج ژنوتیپ مختلف را مشخص کرد، که در نژادهای زل و لری-بختیاری، در جایگاه‌های ۱۰۷ و ۳۱۶ ژن لپتین هیچ‌گونه چندشکلی وجود نداشت. اما در این نژادها، جهش‌های نوکلئوتیدی در موقعیت‌های ۲۷۱، ۳۸۷ و ۴۳۳ شناسایی شدند که منجر به تغییر در اسیدهای آمینه مرتبط گردید. این تغییرات می‌توانند ساختار سه‌بعدی پروتئین لپتین را تحت تأثیر قرار دهند و در نتیجه بر عملکرد آن مؤثر باشند. در نژاد زل، تنها جهش نوکلئوتیدی در موقعیت ۳۸۷ مشاهده شد که بیانگر تنوع ژنتیکی کمتر در این نژاد نسبت به لری-بختیاری است. تحلیل آماری نیز نشان داد که جنسیت، ماه تولد و ژن لپتین تأثیرات معنی‌داری بر صفات مختلف داشتند. به‌طور مشخص، جنسیت بر صفاتی همچون طول بدن، قد، طول دم ($P < 0.05$)، دور سینه و دور گردن ($P < 0.01$)، دور شکم، دور ران، دور دم، طول میان، طول چپ و راست دنبه، عرض میانی و پایین دنبه و طول شکاف دنبه ($P < 0.05$) تأثیرگذار بود. دام‌های نر در بسیاری از این صفات، مقادیر بالاتری را نسبت به دام‌های ماده نشان دادند که می‌تواند به دلایل فیزیولوژیکی و هورمونی باشد. ماه تولد نیز بر وزن تولد و افزایش وزن روزانه ($P < 0.01$) تأثیر داشت. بره‌های متولد شده در ماه‌های مختلف، به دلیل تفاوت در شرایط محیطی مانند دما، رطوبت و دسترسی به منابع غذایی، رشد متفاوتی را نشان دادند. به‌عنوان مثال، بره‌های متولد شده در فصل‌هایی با شرایط آب‌وهوایی مناسب‌تر، افزایش وزن بهتری داشتند. ژن لپتین تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن روزانه، نسبت کلیبر، طول بدن، قد، دور شکم، دور گردن و دور سینه ($P < 0.05$) نشان داد. این نتایج بیانگر نقش مهم این ژن در فرآیندهای مربوط به رشد و متابولیسم انرژی در گوسفندان هستند. دام‌هایی با ژنوتیپ‌های خاص لپتین، عملکرد بهتری در صفات رشد داشتند که می‌تواند به‌عنوان معیاری در برنامه‌های اصلاح نژادی مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهند که جهش‌های ژنتیکی در ژن لپتین می‌تواند بر ساختار و عملکرد پروتئین تأثیر بگذارد و در نتیجه، صفات رشد و تولید را در گوسفندان تحت تأثیر قرار دهند. در نژاد لری-بختیاری، بیشترین تنوع ژنتیکی مشاهده شد. در این نژاد، ژنوتیپ یک کمترین و ژنوتیپ سوم بیشترین مقادیر را در صفات مورد مطالعه داشتند، که نشان‌دهنده تأثیر مثبت برخی ژنوتیپ‌ها بر صفات رشد است. در نژاد زل نیز ژنوتیپ‌های یک، دو و سه شناسایی شدند و بین آن‌ها در صفاتی مانند افزایش وزن روزانه، شاخص کلیبر، طول دم، طول بدن، قد، دور سینه، دور شکم و دور گردن ارتباط معنی‌داری وجود داشت. این نتایج تأکید می‌کنند که حتی در نژادهایی با تنوع ژنتیکی کمتر، شناسایی ژنوتیپ‌های برتر می‌تواند به بهبود صفات اقتصادی مهم کمک کند. به‌طور کلی، این پژوهش نشان می‌دهد که شناسایی و تحلیل دقیق جهش‌های ژنتیکی در ژن لپتین می‌تواند ابزار قدرتمندی برای بهبود برنامه‌های اصلاح نژادی و افزایش بهره‌وری در صنعت دامپروری باشد. استفاده از مارکرهای ژنتیکی مرتبط با صفات رشد، امکان انتخاب هدفمند دام‌های برتر را فراهم می‌کند و می‌تواند به افزایش تولید گوشت با کیفیت، بهبود کارایی تغذیه و ارتقاء صفات تولیدی منجر شود. پیشنهاد می‌شود که تحقیقات بیشتری در زمینه تأثیر جهش‌های ژنتیکی ژن لپتین بر سایر صفات اقتصادی گوسفندان انجام شوند تا بتوان از اطلاعات به‌دست‌آمده در برنامه‌های به‌نژادی و مدیریت پرورش بهره‌برداری کامل‌تری داشت.

واژه‌های کلیدی: لپتین، گوسفند، آگزون سه، صفات رشد

مقدمه

گونه گوسفند اهلی (*Ovis aries*) در رده‌بندی جانوران به جنس گوسفند تعلق دارد. وزن یک بره تازه به دنیا آمده حدود ۳ الی ۴ کیلوگرم است و در زمان بلوغ به وزن حدود ۳۰ الی ۱۳۰ کیلوگرم بسته به نژاد و جنس گوسفند می‌رسد. پرورش گوسفند برای تأمین نیازهای اساسی مانند گوشت، شیر و پشم قرن‌ها برای نژاد بشر مفید بوده است. گوسفندان با توجه به این که در مراتع یا مزارع خانوادگی و یا در سیستم‌های پرورشی بسیار متمرکز و متمرکز به منظور تولیدات تجاری پرورش می‌یابند، کالاهای متنوعی را به بخش وسیعی از مردم ارائه می‌دهند (Razali et al., 2005).

از طرفی، گوسفند حیوان مهم تولیدکننده گوشت در خاورمیانه است و عملکرد اقتصادی آن بستگی به توانایی رشد و تولیدمثل دارد (Mohammadabadi et al., 2018). بیش از ۵۰ میلیون رأس گوسفند در ایران وجود دارند که شامل ۲۷ نژاد و اکوتیپ هستند (Mohammadabadi et al., 2018). گوسفند لری بختیاری به‌عنوان یک نژاد شیری-گوشتی دارای بزرگترین دنبه در بین گوسفندان ایرانی است و علاوه بر آن دوقلوزایی پایین، سن بلوغ بالا (۱۸-۱۲ ماهگی) و وزن بلوغ بالایی دارد (Pourasad-astamal et al., 2022) و به همین خاطر مورد توجه دامداران قرار گرفته است. این نژاد به‌طور عمده در مناطق لر نشین ایران، به‌ویژه استان‌های چهارمحال و بختیاری و لرستان پرورش داده می‌شود. گوسفند لری بختیاری دارای بدنی قوی و اندام‌های پربار است که باعث افزایش استقامت آن می‌شود. رنگ بدن این گوسفند غالباً سفید است، اما رنگ‌های قهوه‌ای کم‌رنگ و تیره نیز دیده می‌شوند. گوش‌های بلند و آویزان و دنبه بزرگ عریض که تا مفصل خرگوشی ادامه دارد، از دیگر ویژگی‌های ظاهری این نژاد است (Khaleghzadegan et al., 2010). گوسفند لری بختیاری به‌دلیل تولید گوشت با کیفیت و میزان افزایش وزن روزانه حدود ۲۳۰ گرم، برای پروراندی بسیار مناسب است. پشم این نژاد نیز مناسب و با کیفیت است (Amou Poshteh Mesari et al., 2018). طبق آخرین برآوردها، بیش از ۶ میلیون و ۵۰۰ هزار گوسفند از نوع لری بختیاری در مناطق جنوبی ایران زندگی می‌کنند (Khaleghzadegan et al., 2010). این نژاد به‌دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد، از جمله استقامت بالا، تولید گوشت با کیفیت و پشم مناسب، یکی از بهترین نژادهای گوسفند در ایران محسوب می‌شود. گوسفند نژاد زل تنها نژاد گوسفند ایرانی است که به‌جای دنبه دارای دمی به‌صورت دنبالچه متشکل از هفت مهره با طول ۱۲-۱۰ سانتی‌متر است. زیستگاه این گونه، مراتع بالا و پایین دست استان‌های مازندران و گلستان است و نژادی با جثه کوچک است (Moradi Shahrababak et al., 2023). یکی از عناصر کلیدی تنظیم مصرف خوراک هورمون لپتین است که با تحریک مرکز گرسنگی در هیپوتالاموس باعث تنظیم اشتها می‌گردد. علاوه بر آن، ثابت شده است که این هورمون بر روی عملکرد تولید شیر برخی از گونه‌ها مانند گاو و گوسفند تأثیر می‌گذارد (Nobari et al., 2021). لپتین از ریشه یونانی "لپتوس" (به‌معنای نازک یا کوچک) مشتق شده است. وزن لپتین ۱۶ کیلوالتون و محصول ژن (*obese* (*ob*)) است.

هورمون مذکور به وسیله‌ی بافت چربی سفید تولید می‌شود، نقش مهمی در تنظیم مصرف غذا، تعادل انرژی، باروری و فعالیت‌های ایمنی بازی می‌کند و در نهایت منجر به کاهش مصرف غذا، کاهش وزن بدن، کاهش وزن چربی ذخیره شده و افزایش متابولیسم انرژی می‌شود. این ژن سه آگزون و دو اینترون دارد، اما فقط دو آگزون آن به پروتئین ترجمه می‌شوند. این ژن عملکرد اندوکراینی در مغز و در بافت‌های پیرامونی دارد و هم دارای عملکرد اتوکراین/پاراکراین در بافت‌ها است. تحقیقات نشان‌دهنده‌ی بیان ژن لپتین در ادیپوسیت‌ها، جنین، سینه، شکمبه، روده کوچک، سلول‌های فولیکولی تخمدان و هیپوفیز نشخوارکنندگان هستند (Mohammadabadi et al., 2018). همبستگی مستقیمی بین سطح پلاسمایی لپتین و توده چربی بدن و تعادل انرژی در گاو و گوسفند وجود دارد. ژن لپتین بر عملکرد شیر در گاوشیری و تولیدمثل در گاو گوشتی اثر دارد. بیان این ژن در مراحل فیزیولوژیکی و رشد مختلف در حیوان تغییر می‌کند، بنابراین، از لپتین می‌توان به‌عنوان نشانگری برای رشد، بازده خوراک و سلامتی حیوان استفاده کرد (Mohammadabadi et al., 2018). پژوهش‌های گوناگونی در زمینه‌ی چندشکلی در این بخش و یا تأثیر آن‌ها بر روی صفات مهم اقتصادی به‌ویژه صفات تولیدی انجام شده‌اند. به‌عنوان مثال، در پژوهشی بر روی گاوهای نژاد هلشتاین، دو جایگاه RFLP در آگزون سه شناخته شد، Nru1 (جایگزینی C/T و والین با آرژنین) و Hph1 (جایگزینی C/T و تبدیل آلانین به والین) (Sadeghi et al., 2008). در یک پژوهش دیگر که در نیوزیلند بر روی شش نژاد گوسفند (رامنی، سافولک، کاریدال، مریوس، کاپ ورت و دورست بی‌شاخ) انجام شد، چهار SNP در آگزون سه شناسایی گردیدند که از این میان، سه SNP به تغییرات در اسیدهای آمینه مربوط بودند (Zhou et al., 2009). اثر چندشکلی‌های مشاهده شده در آگزون شماره سه در گوسفندان نژاد مهربان بر وزن لاشه و وزن چربی درون شکمی معنی‌دار بود، در حالی که تأثیر آن‌ها بر وزن دنبه و ضخامت چربی پشت معنی‌دار نبود (Behzadi, 2011). با توجه به منابع بررسی شده فوق و اهمیت ژن لپتین به‌عنوان یک ژن کاندیدا و مورد نظر در انتخاب MAS و مهم بر روی صفات میزان خوراک مصرفی، صفات رشد، صفات لاشه و بیومتری و از طرفی متفاوت بودن این دونژاد از نظر صفات رشد و لاشه و ذخیره چربی، در این پژوهش، به بررسی چندشکلی‌های موجود در آگزون سه این ژن و ارتباط آن‌ها با صفات مربوطه در این دو نژاد پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، از ۲۹۹ رأس گوسفند خون‌گیری و داده‌برداری انجام شد. مطالعه بر روی ۱۶۹ رأس بره نهمه نژاد لری بختیاری (۶۳ رأس نر و ۱۰۶ رأس ماده) و ۱۳۰ رأس گوسفند نژاد زل (۳۰ رأس نر و ۱۰۰ رأس ماده) صورت گرفت. نمونه‌ها به ترتیب از ایستگاه به‌نژادی شولی واقع در شهرستان شهرکرد و ایستگاه به‌نژادی شیرنگ واقع در شهرستان گرگان گرفته شدند. برای جداسازی DNA، از لوله‌های ۵ میلی‌لیتری دارای EDTA خون‌گیری شد. جداسازی پلاسمای خون‌های هپارینه با سانتریفیوژ به‌مدت ۲۰ دقیقه و با سرعت 3000g

انجام واکنش PCR، محصولات آن بر روی ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز شدند. الکتروفورز ژل آگارز، یک روش استاندارد برای جداسازی، تجزیه و تحلیل قطعات DNA بر اساس اندازه آن‌ها است. در این روش، مولکول‌های DNA تحت تأثیر میدان الکتریکی حرکت می‌کنند و بر اساس اندازه خود در ژل جدا می‌شوند. ژل آگارز با غلظت ۲٪ برای جداسازی قطعات DNA با اندازه‌های مختلف بهینه‌سازی شده است. برای مشاهده باندهای DNA، ژل با استفاده از اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شد و تحت نور UV مشاهده گردید. اتیدیوم بروماید به DNA متصل می‌شود و باندهای DNA را به‌صورت نوارهای فلورسانس در ژل نشان می‌دهد. این روش به دلیل حساسیت بالا و توانایی تشخیص مقادیر کم DNA بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرد. الگوهای باندهای بدست آمده می‌توانند برای تحلیل چندشکلی فضایی و شناسایی تفاوت‌های ژنتیکی بین نمونه‌ها مورد استفاده قرار گیرند. برای بررسی چندشکلی فضایی نمونه‌ها، ابتدا دو تا سه میکرولیتر از محصول واکنش زنجیره پلیمرز برای این جایگاه با ۲۲ تا ۲۳ میکرولیتر رنگ مخصوص (Dye) درآمیخته و مخلوط شد. این رنگ مخصوص به DNA متصل می‌شود و امکان مشاهده باندهای DNA را در مراحل بعدی فراهم می‌کند. سپس این نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد تحت تأثیر حرارت قرار گرفتند تا پیوندهای هیدروژنی بین بازهای DNA گسسته شوند. این مرحله به دناتوراسیون DNA معروف است و باعث جدا شدن دو رشته DNA از یکدیگر می‌شود. پس از آن، نمونه‌ها به مدت ۲۱ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با اختلاف پتانسیل ۳۰۰ ولت الکتروفورز می‌شوند. در نهایت، ژل با استفاده از روش نیترا نقره رنگ‌آمیزی می‌شود تا الگوهای باندهای به وضوح نمایان شوند. نیترا نقره به DNA متصل می‌شود و باندهای DNA را به صورت نوارهای تیره در ژل نشان می‌دهد.

مدل‌های آماری

مجموعه داده‌ها شامل اندازه‌های بدن (بیومتری)، فراسنجه‌های خونی و صفات تولیدی مانند وزن تولد، وزن از شیرگیری، افزایش وزن روزانه و نسبت کلیبر (به بصورت نسبت متوسط افزایش وزن روزانه به وزن متابولیکی ($W^{0.75}$) تعریف می‌شود که به عنوان معیاری برای اندازه‌گیری غیر مستقیم بازده خوراک مصرفی پیشنهاد شده است. این نسبت برای مراحل زمان تولد تا سن شیرگیری و از سن شیرگیری تا سنین مختلف شش ماهگی و یک سالگی در گوسفند استفاده شده است. نسبت کلیبر به عنوان یک معیار انتخاب غیر مستقیم برای راستای بهبود راندمان غذا در گوسفند مؤثر است و جهت افزایش بازده تولید در نظر گرفته می‌شود. مبنای نظری نسبت کلیبر بر این پایه استوار است که بین وزن متابولیکی حیوان و احتیاجات نگهداری و تولید آن ارتباط وجود دارد (Khalatabadi et al., 2018). مدلی که برای برازش داده‌های تولیدی و اندازه‌های بخش‌های مختلف بدن استفاده شده است، بسته به نوع صفت و عواملی که بر آن تأثیر می‌گذارند، متفاوت است. اثر جنس و سن در هنگام خونگیری در نظر گرفته شده است. از آنجا که دام‌های نژاد لری بختیاری همسن بودند، عامل سن در معادله مدل دام‌های ایستگاه به‌نژادی شولی وجود ندارد.

انجام گرفت. سپس، پلاسمای جداسازی‌شده درون میکروتیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته شد و نمونه‌ها پس از شماره‌گذاری در یخ خشک نگهداری شدند. برای اطمینان از کیفیت نمونه‌ها تمام مراحل خونگیری و جداسازی پلاسمای تحت شرایط استریل و با رعایت دقیق پروتکل‌های آزمایشگاهی انجام شدند. وزن تولد، وزن از شیرگیری، وزن ۶ ماهگی و وزن ۹ ماهگی بره‌ها ثبت شدند. این داده‌ها از ایستگاه‌های به‌نژادی جمع‌آوری شدند. تری‌گلیسیرید و کلسترول با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون و در آزمایشگاه تغذیه گروه علوم دامی دانشگاه تهران اندازه‌گیری شدند. این اندازه‌گیری‌ها با استفاده از روش‌های نورسنجی در طول موج ۵۴۶ نانومتر انجام شدند. از ۲۵۰ میکرولیتر خون کامل، DNA با استفاده از روش نمکی بهینه‌یافته استخراج شد. این روش شامل استفاده از نمک برای رسوب دادن پروتئین‌ها و سایر ناخالصی‌ها است، در حالی که DNA در محلول باقی می‌ماند. سپس، کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با الکتروفورز در ژل آگارز ۱٪ و اسپکتروفتومتری ارزیابی گردیدند. الکتروفورز ژل آگارز به منظور بررسی یکپارچگی و اندازه قطعات DNA انجام شد، در حالی که اسپکتروفتومتری برای اندازه‌گیری غلظت و خلوص DNA استفاده شد. نسبت جذب نوری در طول موج‌های ۲۶۰ نانومتر و ۲۸۰ نانومتر (A260/A280) برای ارزیابی خلوص DNA به کار رفت، که نسبت ۱/۸ تا ۲ نشان‌دهنده خلوص مناسب DNA است. این ارزیابی‌ها اطمینان می‌دهند که DNA استخراج شده برای مراحل بعدی مانند PCR و تجزیه و تحلیل ژنتیکی مناسب است (Miller et al., 1997; Sambrook & Russel., 2001). واکنش زنجیره‌ای پلیمرز جهت تکثیر قطعه ۴۷۱ (al., 1997). واکنش آغازگرهای اختصاصی، ارائه شده توسط ژو در سال ۲۰۰۹، از شرکت سیناژن انجام شد. توالی آغازگر رفت 3'-AGGAAGCACCTCTACGCTC-5' و توالی آغازگر برگشت 3'-CTTCAAGGCTTCAGCACC-5' بودند. این آغازگرها به‌طور خاص برای جایگاه مورد نظر طراحی شده‌اند تا دقت و کارایی واکنش PCR را افزایش دهند. واکنش PCR برای جایگاه فوق، ۲۵ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر DNA ژنومی به غلظت ۱۰۰-۵۰ نانوگرم، بافر 1X، ۱/۵ میکرولیتر DNTP، سه میلی‌مولار MgCl₂، ۱/۵ واحد آنزیم تک‌پلیمرز، ۱/۵ میکرولیتر از هر کدام از آغازگرها و ۱۲/۷ میکرولیتر آب دی‌یونیزه انجام شد. به‌عنوان یک کوفاکتور ضروری برای فعالیت آنزیم تک‌پلیمرز عمل می‌کند و غلظت مناسب آن برای بهینه‌سازی واکنش PCR بسیار مهم است. برنامه‌ی دمایی و زمانی شامل ۳۵ چرخه با دمای واسرشت اولیه ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت دو دقیقه، دمای واسرشت ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه، دمای اتصال ۶۲/۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه بود. دمای واسرشت اولیه، برای دناتوراسیون کامل DNA و جدا شدن دو رشته آن ضروری است. دمای اتصال بهینه، برای اتصال آغازگرها رشته‌های تک‌جداره DNA و دمای تکثیر، برای سنتز رشته جدید DNA توسط آنزیم تک‌پلیمرز تنظیم شده است. پس از

شناسایی شدند که سه مورد از آن‌ها با نتایج این تحقیق همخوانی دارند (Hashemi *et al.*, 2011). همچنین، بررسی دیگری نشان داد که جهشی در موقعیت اسید آمینه ۹۵ این ژن رخ داد که سبب تغییر والین به لوسین شد. این جهش در سه الگوی ژنتیکی GG، GT و TT ظاهر شد. تفاوت‌های معنی‌داری در صفات قطر لاشه ($P < 0.01$) و pH گوشت ($P < 0.01$) مشاهده شدند (Abdali & Salim, 2023). تحقیقات انجام‌شده بر روی گاوهای هلشتاین × جرسی در نیوزیلند نشان دادند که سه نوع ژنوتیپ (AA، AB و AC) در ناحیه اگزون ۳ ژن لپتین شناسایی شدند. پنج SNP در این ناحیه شناسایی شدند که شامل جایگاه‌های ۲۳۹، ۳۹۶، ۳۹۹، ۴۱۱ و ۴۹۵ بودند. همچنین، سطح معنی‌داری برای تأثیر ژنوتیپ AB بر کاهش درصد پروتئین شیر کمتر از 0.05 ($P < 0.05$) گزارش شده است (Clough, 2021). نتایج تحلیل‌های ژنتیکی در گوسفندان لری بختیاری و آمیخته لری بختیاری-افشاری نشان دادند که گوسفندان لری بختیاری دارای هشت الگوی باندی با درصد فراوانی به ترتیب ۱۸/۹۷، ۱۰/۳۵، ۱۰/۱۷، ۵/۱۸، ۶/۳۷، ۴۱/۳۷، ۱۰/۳۵، ۳/۴۵ و ۳/۴۵ بودند و در گوسفندان آمیخته لری بختیاری-افشاری، ده الگوی باندی با درصد فراوانی ۲/۳۸، ۴/۷۶، ۹/۵۲، ۷/۲۸، ۱۴/۵۸، ۹/۵۲، ۱۴/۲۸، ۹/۵۲ و ۴/۷۶ مشاهده شدند. این نتایج تأییدکننده نتایج حاصل از این تحقیق هستند و همچنین تنوع بالایی را در این بخش از ژن نشان می‌دهند (Ghazi Khani, 2018). در گوسفندان کردی خراسان شمالی، سه الگوی باندی AA، AB و BC مشاهده شدند که فراوانی آن‌ها به ترتیب ۰/۳، ۰/۲۷۵ و ۰/۴۲۵ بود و نتایج نشان دادند که بین چندشکلی‌های مشاهده شده و صفات رشد ارتباط معنی‌داری وجود نداشت (Shibak *et al.*, 2014). در پژوهشی که روی گوسفندان نژاد مغانی انجام شد، پنج ژنوتیپ شامل AA، AB، AC، BC و CC شناسایی شدند. نتایج نشان دادند که حیوانات با ژنوتیپ AC دارای بیشترین وزن تولد و وزن از شیرگیری بودند. حیواناتی که ژنوتیپ BC داشتند، از نظر وزن شش‌ماهگی، میانگین افزایش وزن روزانه در بازه سه تا شش‌ماهگی، ارزش اصلاحی مستقیم وزن یک‌سالگی و ارزش اصلاحی مادری وزن در سه‌ماهگی و شش‌ماهگی بیشترین مقادیر را نشان دادند. همچنین، حیوانات با ژنوتیپ AA بالاترین میانگین افزایش وزن روزانه در بازه شش تا نه‌ماهگی را داشتند، در حالی که حیوانات با ژنوتیپ AB بیشترین ارزش اصلاحی مستقیم وزن تولد را دارا بودند (Sadeghi *et al.*, 2014).

چگونگی تولد، ماه تولد، سن مادر و ژنوتیپ هر فرد برای هر یک از جایگاه‌های مورد بررسی به‌عنوان عوامل ثابت در مدل قرار گرفتند. همچنین، اثر هر دام به‌عنوان عامل تصادفی و میزان همخوانی در نژاد لری بختیاری به‌عنوان متغیر مستقل در مدل لحاظ شده است. برای صفت وزن از شیرگیری، علاوه بر عوامل مذکور، وزن تولد و سن دام در زمان وزن‌کشی سه ماهگی نیز به‌عنوان عوامل همبسته در مدل استفاده شده‌اند.

$$Y_{ijklmno} = \mu + G_i + g_j + LS_k + MB_l + DA_m + A_n + Animal_o + e_{ijklmno}$$

$$Y_{ijklmno} = \mu + G_i + g_j + LS_k + MB_l + DA_m + A_n + b1(BW_o - \bar{BW}) + b2(AWw_o - \bar{AWw}) + Animal_o + e_{ijklmno}$$

$Y_{ijklmno}$: مقدار صفت برای هر دام، μ : میانگین جامعه، G_i : اثر i امین ژنوتیپ، g_j : اثر j امین جنس، LS_k : اثر k امین چگونگی تولد، MB_l : اثر l امین ماه تولد، DA_m : اثر m امین سن مادر، A_n : اثر n امین سن دام در هنگام خونگیری، $b1$: ضریب تابعیت Y روی BW_o ، BW : وزن تولد o امین دام، \bar{BW} : میانگین وزن تولد دام‌ها، $b2$: ضریب تابعیت Y روی AWw_o : سن o امین دام در زمان وزن‌کشی برای از شیرگیری، \bar{AWw} : میانگین سن دام‌ها در زمان وزن‌کشی برای از شیرگیری، $Animal_o$: اثر o امین حیوان، $e_{ijklmno}$: اثر دیگر عوامل تصادفی

نتایج و بحث

تعیین ژنوتیپ حیوانات در ناحیه تکثیرشده ژن لپتین به روش PCR-SSCP

بررسی قطعه‌ی ۴۷۱ جفت‌بازی اگزون سه بر روی ژل آگارز، هفت الگوی باندی مختلف را نمایان ساخت که هر یک نشانگر تنوع ژنتیکی موجود در نمونه‌ها بود. از هر الگوی باندی، دو نمونه برای توالی‌یابی به شرکت تکاپوزیست ارسال شد. از هر الگو، یک نمونه به صورت کامل (هر دو رشته‌ی DNA، رفت و برگشت) و نمونه‌ی دیگر تنها به صورت تک‌رشته‌ای (فقط رفت) توالی‌یابی شد. بنابر این، برای هر الگو، سه خوانش در دسترس بودند: دو خوانش از نمونه‌ی کامل و یک خوانش از نمونه‌ی تک‌رشته‌ای. بررسی نمونه‌ها با نرم‌افزارهای *Vector NTI, Bio Edit* (Burland, 2000) و *Lasergene* (Moriyama, 2004) انجام شد. این قطعه با توالی GenBank accession no.EF534370 معرفی شده در NCBI مقایسه گردید. مطالعات مختلف بر روی اگزون ۳ ژن لپتین در گونه‌های متفاوت دام، یافته‌های قابل توجهی را ارائه داده‌اند. در پژوهشی مربوط به گوسفندان ماکویی، پنج الگوی ژنتیکی برای این ناحیه



شکل ۱- الگوی بانندی دیده شده برای اگزون سه ژن لپتین
Figure 1. The Banding Pattern Observed for Exon 3 of the Leptin Gene

نمونه‌های مورد بررسی هستند. در پژوهش دیگری که بر روی گوسفندان نژاد نائینی انجام شد، تنها یک جهش تک‌نوکلئوتیدی A به C در موقعیت باز ۴۹ قطعه تکثیری مشاهده گردید. این جهش از نوع خاموش بود (Najafi *et al.*, 2013).

شناسایی الگوهای ژنوتیپی بر پایه نتایج توالی‌یابی
نتایج این پژوهش نشان دادند که پس از تعیین الگوهای ژنوتیپی و تحلیل ژنوتیپ‌ها با روش توالی‌یابی، در سه موقعیت جهش‌های SNP شناسایی شدند که شامل دو جهش انتقالی (Transition) و یک جهش معکوس (Transversion) بودند. این جهش‌ها نشان‌دهنده تغییرات ژنتیکی قابل توجهی در

جدول ۱- تعیین جهش‌ها و ژنوتیپ‌های حاصل از توالی‌یابی الگوهای ژنوتیپی اگزون سه لپتین در دو نژاد لری بختیاری و زل
Table 1. Identification of Mutations and Genotypes Derived from the Sequencing of Genotypic Patterns in Exon 3 of the Leptin Gene in Bakhtiari-Lori and Zel Breeds

الگوهای ژنوتیپی Genotypic Patterns	شماره‌ی باز Base number					ژنوتیپ الگوها Genotypes of Patterns
	107	271	316	387	433	
EF534370	C	G	C	G	G	CCGGCCGGGG
1	C	G	C	G	G	CCGGCCGGGG
2	C	G	C	T	G	CCGGCCGGTT
3	C	G	C	G/T	G	CCGGCCGGGT
4	C	A	C	G	G	CCAACCGGGG
5	C	A	C	G	A	CCAACCGGAA

ندارند و همگی یکسان هستند. علاوه بر دو جهش در نوکلئوتیدهای ۲۷۱ و ۳۸۷، یک جهش جدید در نوکلئوتید ۴۳۳ در نژادهای ایرانی شناسایی شد که در آن گوانین به آدنین تبدیل شده است.

مطابق با جدول ۱، در اگزون شماره سه، چهار جهش در نوکلئوتیدهای ۱۰۷، ۲۷۱، ۳۱۶ و ۳۸۷ گزارش شده‌اند (Zhou *et al.*, 2009). یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهند که گوسفندان این دو نژاد در جایگاه‌های ۱۰۷ و ۳۱۶ چندشکلی

جدول ۲- فراوانی‌های آلی سه جایگاه چندشکل به دست آمده از اگزون سه در دو نژاد لری بختیاری و زل
Table 2. Allelic Frequencies of Three Polymorphic Sites Identified in Exon 3 of the Leptin Gene in Bakhtiari-Lori and Zel Breeds

شماره باز جهش‌یافته (Mutated base number)			نژاد (Breeds)	فراوانی آلی Allele frequency
(G/A)271	(G/T)387	(G/A)433		
0.035	0.55	0.065	لری بختیاری (Lori Bakhtiari)	
0.00	0.786	0.00	زل (Zel)	

در مجموع، پنج ژنوتیپ مختلف برای این بخش شناسایی گردیدند. در نژاد زل تنها جهش نوکلئوتید شماره ۳۸۷ وجود داشت و در دیگر جایگاه‌ها همه دام‌ها یکسان بودند.

جدول ۳- درصد فراوانی ژنوتیپ‌های اگزون سه ژن لپتین در دو نژاد لری بختیاری و زل
Table 3. Genotypic Frequency Percentages of Exon 3 in the Leptin Gene of Bakhtiari-Lori and Zel Breeds

یک One	دو Two	سه Three	چهار Four	پنج Five	درصد فراوانی ژنوتیپ در نژاد Percentage frequency of genotypes in breed
1	3	25	42	29	لری بختیاری (Lori-Bakhtiari)
0	0	35	61	0	زل (Zel)

پروتئین ترجمه می‌شود، به دست آمد و جایگاه هر چندشکلی در آن مشخص شد. ساختار زیر mRNA را پس از گامه تیمار نشان می‌دهد.

ساختار mRNA ژن لپتین گوسفندی
پس از بررسی دستاوردهای توالی‌یابی و شناسایی جایگاه‌های چندشکلی، ساختار بخشی از ژن لپتین که به

جای گوانین در نوکلئوتید ۳۸۷، اسید آمینه والین (V) را به لوسین (L) تبدیل کرد. هر دو اسید آمینه غیرقطبی هستند و تفاوت آنها در یک گروه متیل است (Zhou et al., 2009). جهش سوم: جایگزینی آدنین به جای گوانین در نوکلئوتید ۴۳۳، اسید آمینه آرژنین (R) را به گلوتامین (Q) تبدیل کرد. این جهش برای اولین بار در این پژوهش شناسایی شده است. آرژنین اسید آمینه ای بازی با بار مثبت است، در حالی که گلوتامین قطبی و بدون بار است و ویژگی آبدوستی بالایی دارد. این تغییرات می توانند بر ساختار سوم پروتئین و عملکرد آن تاثیر بگذارند.

MRCGLPLYRFLWLWPYLSYVEAVPIRKVQDD
TKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQRVVTGLDFI
PGLHPLLSLSKMDQTLAIYQQILASLPSRNV
QISNDLENLQDLLHLAASKSCPPQVRALES
LES LGVVLEASLYSTELVALSRLQGS LQDML
QQLDLSPGC

ویژگی های آماری داده ها

کمینه، بیشینه، میانگین، انحراف معیار و ضریب تغییرات مربوط به صفات عملکردی و تولیدی مانند وزن تولد، از شیرگیری، اضافه وزن روزانه، شاخص کلیبر، پارامترهای خونی و اندازه بخش های گوناگون بدن (بیومتری) مربوط به هر یک از نژادهای مورد بررسی در جداول آورده شده اند. ضریب تغییرات یک صفت، معیاری برای تعیین میزان تنوع آن صفت به شمار می آید. ضریب تغییرات می تواند به عوامل مختلفی مانند سن حیوانات، شرایط پرورشی و نوع جیره غذایی و ... نسبت داده شود. داده ها با استفاده از نرم افزار SAS و روش های آماری مختلف (رویه GLM یا proc glm و همچنین با رویه تصادفی یا proc mix) تحلیل شدند تا نرمال بودن توزیع داده ها بررسی و در صورت نیاز تصحیح شود. صفات مربوط به ابعاد دور دنبه نرمال نبودند و با روش box cox و به کمک نرم افزار SAS 9.12 نرمال شدند.

CTCCTCAAACAGAGGGTCACTGGTTTGG
ACTTCATCCCTGGGCTCCACCTCTCCTGA
GTTTGTCCAAGATGGACCAGACATTGGCA
ATCTACCAACAGATCCTCGCCAGTGCCT
TCCAGAAATGTGATCCAAATATCTAATGAC
CTGGAGAACCCTCGGACCTTCTCCACCT
GCTGGCCGCCTCCAAGAGCTGCCCTTGC
CGCAGGTCAAGGGCCTGGAGAGCTTGGAG
AGCCTGGGCGTCTCTGGAAGCCTGCCT
CTACTCCACCGAGGTGGTGGCCTGAGCC
GGCTACAGGGGTCTCTACAGGACATGTTG
CGCAGCTGGACCTCAGCCCTGGGTGCTG
A

حروف به رنگ قرمز جهش هایی را نشان می دهند که در این ژن شناسایی شده اند ولی در نژادهای ایرانی این جایگاه ها یکسان هستند و چندشکلی ندارند.

بررسی اثر هر یک از این جهش ها در ساختمان پروتئین لپتین

برای بررسی اثر هر یک از جهش ها در ساختار پروتئین لپتین، ابتدا ژنوتیپ هر نمونه تعیین و جایگاه هر چندشکلی مشخص شد. سپس، با اعمال تغییرات مورد نظر در ساختار mRNA لپتین، ساختار اولیه پروتئین با استفاده از نرم افزار *Vector NTI* (Lu & Moriyama, 2004) به دست آمد. این ساختار با توالی پروتئین لپتین نوع وحشی در گوسفند، که توسط سایت <http://prateomtes.yasu.edu/tools/OrfPredictor.htm> نشان داده می شود، مقایسه شد. این مقایسه به منظور پی بردن به تاثیر هر جهش بر ساختار و عملکرد پروتئین لپتین انجام گرفت. در اگزون سه، سه جهش شناسایی شدند که در نوکلئوتیدهای ۲۷۱، ۳۸۷ و ۴۳۳ به ترتیب آدنین، تیمین و آدنین جایگزین گوانین شدند. این جهش ها منجر به تغییر اسیدهای آمینه شدند: جهش اول: جایگزینی آدنین به جای گوانین در نوکلئوتید ۲۷۱، اسید آمینه آرژنین (R) را به گلوتامین (Q) تبدیل کرد (Zhou et al., 2009). جهش دوم: جایگزینی تیمین به

جدول ۴- ویژگی های آماری نژاد لری بختیاری

Table 4. Statistical Characteristics of the Lori-Bakhtiari Breed

ضریب تغییرات	انحراف استاندارد	میانگین	بیشینه	کمینه	صفت
Coefficient of variation	Standard deviation	Mean	Maximum	Minimum	Trait
16.69	10.18	60.98	99.77	39.56	کلسترول (mg/dL) Cholesterol
28.86	10.47	36.28	63.84	16.17	تری گلیسرید (mg/dL) Triglycerides
16.11	6.28	38.99	56	31	دور گردن (cm) Neck circumference
6.96	6.73	96.73	120	73	دور سینه (cm) Chest girth
6.46	6.83	105.65	128	88	دور شکم (cm) Abdominal girth
6.74	4.81	71.39	85	61	قد (cm) Height
5.32	3.36	63.16	78	54	طول بدن (cm) Body length
7.32	2.42	33.03	38	27	دور ران (cm) Thigh circumference
20.97	0.85	4.06	7.6	2	قطر دنبه (cm) Tail fat thickness
11.52	8.10	70.32	98	53	دور بالای دنبه (cm) Upper tail fat girth
10.53	6.50	61.70	79	49	دور میانی دنبه (cm) Middle tail fat girth
12.92	6.58	50.62	72	35	دور پایین دنبه (cm) Lower tail fat girth
19.48	5.38	27.63	40	18	طول وسط (cm) Middle length
24.53	4.03	16.41	29	8	طول سمت چپ (cm) Left length
25.08	4.01	15.98	26	8	طول سمت راست (cm) Right length
24.84	3.80	15.28	25	6	طول شکاف دنبه (cm) Fat-tailed split length
12.10	5.62	46.40	74	34	عرض بالای دنبه (cm) Upper fat-tailed width
11.85	4.83	40.83	54	28	عرض میانی دنبه (cm) Middle fat-tailed width
25.72	6.09	23.70	42	15	عرض پایین دنبه (cm) Lower fat-tailed width
14.06	0.78	5.51	7.2	3.1	وزن تولد (kg) Birth weight
11.69	3.96	33.84	43.40	24.50	وزن از شیرگیری (kg) Weaning weight
13.02	41.02	314.92	429	212	افزایش وزن روزانه (g) Daily weight gain
5.39	1.21	22.41	25.36	17.72	شاخص کلیبر (g) Kleiber ratio

جدول ۵- ویژگی‌های آماری نژاد زل

Table 5. Statistical Characteristics of the Zel Breed

ضریب تغییرات Coefficient of variation	انحراف استاندارد Standard deviation	میانگین Mean	بیشینه Maximum	کمینه Minimum	صفت Trait
19.30	0.68	3.55	5.4	2	وزن تولد (kg) Birth weight
19.65	3.84	19.55	29.20	10.10	وزن از شیرگیری (kg) Weaning weight
30.94	48.41	156.44	257	55	افزایش وزن روزانه (g) Daily weight gain
20.67	3.43	16.57	21.78	9	شاخص کلیبر (g) Kleiber ratio
13.90	2.43	17.46	25	13	طول دم (cm) Tail length
14.52	2.53	17.43	26	13	دور دم (cm) Tail circumference
11.88	3.12	26.27	33	18	دور ران (cm) Thigh circumference
7.54	4.23	56.04	69	45	طول بدن (cm) Body length
7.43	4.46	59.51	72	52	قد (cm) Height
10.06	7.98	79.32	96	64	دور سینه (cm) Chest girth
10.61	8.70	81.96	100	63	دور شکم (cm) Abdominal girth
22.84	7	30.65	54	22	دور گردن (cm) Neck circumference
24.20	12.92	53.41	82.13	22.42	کلسترول (mg/dl) Cholesterol
66.55	9.77	14.68	51.39	1.94	تری‌گلیسیرید (mg/dl) Triglycerides

و نسبت کلیبر داشت ($p < 0.01$) و بره‌های متولد شده در مهرماه بیشترین و بره‌های متولد شده در اردیبهشت‌ماه، کمترین افزایش وزن روزانه را داشتند. این مساله با این باور عمومی که بره‌های پاییزه نسبت به بره‌های بهار رشد بهتری دارند، هماهنگ است. همچنین، در نژاد زل بین ماه تولد و وزن سه ماهگی، دور ران، طول بدن، طول دم، دور دم و دور سینه رابطه معنی داری دیده شد ($p < 0.05$). سن دام بر صفت‌های طول دم، دور دم و دور سینه معنی داری بود ($p < 0.05$). همچنین، سن دام به دلیل افزایش ضریب تبیین برای صفات قد دام و میزان کلسترول خون در معادله مدل قرار گرفت، اما برای سایر صفات اثر معنی داری نداشت و به همین دلیل از معادله مدل آن‌ها حذف گردید.

بررسی آماری ارتباط بین صفات با عوامل موجود در مدل نژاد زل

پس از برازش ابتدایی، اثر جنس، سال تولد و سن مادر برای صفاتی که معنی دار بودند حفظ و برای صفاتی که معنی دار نبودند حذف شد. جنس در نژاد زل با طول بدن، قد، طول دم ($P < 0.05$)، دور سینه و دور گردن ($p < 0.01$) رابطه معنی داری داشت. چگونگی تولد تاثیر معنی داری بر هیچ یک از صفات ارزیابی شده نداشت، اما وجود آن در معادله مدل برخی صفات، موجب افزایش ضریب تبیین مدل شد. در جدول زیر، اثر ماه تولد بر صفاتی که ماه تولد بر آن‌ها اثرگذار بود و در معادله مدل استفاده شده‌اند آورده شده است. این تاثیرگذاری یا به دلیل معنی داری است و یا از طریق افزایش ضریب تبیین مدل، اهمیت دارد. ماه تولد بیشترین اثر را بر روی افزایش وزن روزانه

جدول ۶- میانگین حداقل مربعات ($\pm S.E$) صفات گوناگون در نژاد زل

Table 6. Least Squares Means ($\pm S.E$) of Various Traits in the Zel Breed

ژنوتیپ (Genotype)			
سه (Three)	دو (Two)	یک (one)	
3.06 ^a ± 0.31	3.07 ^a ± 0.28	3.02 ^a ± 0.61	وزن تولد (Birth weight)
164.91 ^a ± 51.42	159.30 ^a ± 13.95	102.30 ^b ± 32.06	افزایش وزن روزانه * (Daily weight gain)
16.59 ^a ± 0.62	16.07 ^a ± 0.59	12.07 ^b ± 1.8	نسبت کلیبر * (Kleiber ratio)
20.55 ^a ± 0.70	20.78 ^a ± 1.55	18.51 ^a ± 2.96	وزن از شیرگیری * (Weaning weight)
20.34 ^a ± 0.85	18.98 ^b ± 0.77	19.28 ^b ± 1.78	طول دم * (Tail length)
2.48 ^a ± 0.03	2.44 ^a ± 0.03	2.36 ^a ± 0.09	دور دم (ن) (Tail circumference)
26.85 ^a ± 1.11	25.92 ^a ± 1.02	26.27 ^a ± 2.27	دور ران (ن) (Thigh circumference)
61.71 ^a ± 1.59	59.92 ^a ± 1.40	59.53 ^a ± 3.55	قد (Height)
58.65 ^a ± 1.24	56.28 ^b ± 1.14	52.42 ^b ± 2.75	طول بدن * (Body length)
84.55 ^a ± 2.70	79.05 ^b ± 2.39	74.19 ^{ab} ± 6.05	دور سینه * (Chest girth)
87.03 ^a ± 2.87	82.21 ^b ± 2.62	80.84 ^{ab} ± 6.35	دور شکم * (Abdominal girth*)
0.4759 ^a ± 0.00004	0.47582 ^b ± 0.00003	0/47577 ^b ± 0/0001	دور گردن (ن) * (Neck circumference)
53.39 ^a ± 5.44	55.49 ^a ± 5.04	-	کلسترول (Cholesterol)
3.60 ^a ± 0.35	3.24 ^a ± 0.34	-	تری‌گلیسیرید (ن) (Triglycerides)

نکته: در تمامی جداول، * و ** به ترتیب بیانگر معنی داری در سطوح ۵٪ و ۱٪ هستند و حرف (ن) نشانه این است که توزیع داده‌ها نرمال نبود و نخست داده‌ها نرمال و سپس ارزیابی شده‌اند.

آمدند، نسبت به بره های بهمن ماه سنگین تر بودند. سن مادر بر وزن تولد و وزن از شیرگیری تأثیر معنی داری داشت ($p < 0.01$). با افزایش سن مادر، وزن بره ها نیز افزایش یافت. همچنین، این اثر برای صفات قطر دنبه، دور پایین دنبه، طول چپ و راست و عرض بالا و پایین دنبه معنی دار بود ($p < 0.05$). در نژاد لری بختیاری، بررسی ها بین ژنوتیپ های مختلف اگزون سوم ژن لپتین و صفاتی مانند وزن تولد، افزایش وزن روزانه، میزان تری گلیسیرید خون، دور گردن، طول بدن، طول میان، طول چپ و راست دنبه، عرض میانی و عرض پایین دنبه و طول شکاف دنبه رابطه معنی داری را نشان دادند. این روابط در سطوح معنی داری 0/05 و 0/01 مشاهده شدند. به جز میزان تری گلیسیرید خون، ژنوتیپ یک به طور معنی داری نسبت به دیگر ژنوتیپ ها مقدار کمتری برای این صفات نشان داد. نتایج مطالعه چندشکلی ژن لپتین در گوسفندان لری بختیاری و آمیخته لری بختیاری-افشاری نشان دادند که ژن لپتین با وزن شش ماهگی و دوازده ماهگی ارتباط معنی دار داشت، اما در گوسفندان لری بختیاری بر وزن تولد و وزن از شیرگیری، تأثیر معنی داری مشاهده نشد (Ghazi Khani Shad *et al.*, 2018). همچنین، در گوسفندان نژاد نائینی اثر جنس، گله و ژنوتیپ بر صفت وزن تولد معنی دار بود، در صورتی که بر صفت وزن سه ماهگی فقط اثر سال تولد معنی دار بود (Najafi *et al.*, 2013).

ژنوتیپ های این جایگاه با افزایش وزن روزانه، نسبت کلیبر، طول بدن، قد، دور شکم، دور گردن و دور سینه رابطه معنی داری داشتند ($p < 0.05$). دام هایی با ژنوتیپ یک به طور معنی داری مقادیر کمتری نسبت به دو ژنوتیپ دیگر داشتند. به جز در مورد دور شکم، دام های با ژنوتیپ سوم در سایر صفات بیشترین مقادیر را نشان دادند. همچنین، دام های با ژنوتیپ یک نسبت به دو ژنوتیپ دیگر وزن تولد و وزن از شیرگیری کمتری داشتند؛ با این حال، این اختلاف معنی دار نبود. بر اساس نتایج پژوهشی که بر روی اگزون سه ژن لپتین گوسفندان نژاد نائینی صورت گرفت، وزن تولد در گوسفندان با ژنوتیپ AC به طور معنی داری بیشتر از گوسفندان با ژنوتیپ AA بود ($p < 0.01$) (Najafi *et al.*, 2013).

نژاد لری بختیاری

جنس یکی از مهمترین عوامل تأثیرگذار بر صفات مورد بررسی بود، به طوری که اثر جنس بر صفات اندازه گیری شده بسیار معنی دار بود ($p < 0/001$). چندقلو بودن یکی از عوامل مهم بر صفات تولیدی بود. میانگین صفات بره های تکقلو نسبت به بره های چندقلو بیشتر بود. با این حال، این اثر برای برخی صفات معنی دار نبود، اما به دلیل افزایش چشمگیر ضریب تبیین مدل، در مدل قرار گرفت. همچنین، ماه تولد بیشترین تأثیر را بر وزن تولد داشت. بره هایی که در اسفند ماه به دنیا

جدول 7- میانگین حداقل مربعات ($\pm S.E$) صفات گوناگون در نژاد لری بختیاری

Table 7. Least Squares Means ($\pm S.E$) of Various Traits in the Lori-Bakhtiari Breed

ژنوتیپ Genotype					
پنج Five	چهار Four	سه Three	دو Two	یک One	
5.22 ^{ab} ±0.41	4.68 ^{ab} ±0.27	4.76 ^{ab} ±0.16	4.83 ^a ±0.15	4.64 ^b ±0.16	وزن تولد (Birth weight)
372.42 ^a ±35.04	350.01 ^{abc} ±26.16	359.17 ^{abc} ±13.63	336.56 ^{abc} ±12.48	326.75 ^{ac} ±13.49	افزایش وزن روزانه (Daily weight gain)
24.52 ^a ±1.13	23.34 ^{abc} ±0.73	23.67 ^{ab} ±0.43	23.02 ^{ac} ±0.39	23.04 ^{ac} ±0.42	نسبت کلیبر (Kleiber ratio)
36.51 ^{ab} ±3.34	39.25 ^{ab} ±2.19	38.27 ^{ab} ±1.31	37.22 ^{ab} ±1.21	36.40 ^b ±1.33	وزن از شیرگیری* (Weaning weight)
2.29 ^a ±0.1	2.27 ^a ±0.057	2.26 ^a ±0.038	2.25 ^a ±0.035	2.22 ^a ±0.039	تری گلیسیرید (Triglycerides)
39.53 ^a ±3.10	39.80 ^a ±1.60	40.46 ^a ±0.64	40.67 ^a ±0.55	40.38 ^a ±0.60	دور گردن (Neck circumference)
108.38 ^a ±5.69	100.86 ^a ±3.26	102.07 ^a ±2.14	102.19 ^a ±1.96	101.4 ^a ±2.11	دور سینه (Chest girth)
117.38 ^a ±6.13	107.33 ^a ±3.51	111.76 ^a ±2.30	111/07 ^a ±2/12	110.01 ^a ±2.28	دور شکم (Abdominal girth)
75.83 ^a ±2.95	70.93 ^a ±1.52	73.15 ^a ±0.61	73.11 ^a ±0.53	72.76 ^a ±0.57	قد (Height)
1.085 ^{ab} ±0.001	1.084 ^b ±0.0006	1.085 ^a ±0.0004	1.085 ^{ab} ±0.0003	1.084 ^b ±0.0004	طول بدن ن* (Body length)
32.75 ^a ±2.14	33.57 ^a ±1.10	33.67 ^a ±0.44	33.96 ^a ±0.38	33.83 ^a ±0.41	دور ران (Thigh circumference)
4.86 ^a ±0.21	4.71 ^a ±0.60	4.13 ^a ±0.33	4.02 ^a ±0.27	3.91 ^a ±0.23	قطر دنبه (Tail fat thickness)
76.14 ^a ±7.40	74.38 ^a ±4.24	73.84 ^a ±2.78	74.19 ^a ±2.56	71.76 ^a ±2.75	دور بالای دنبه (Upper tail fat girth)
70.60 ^a ±5.50	66.45 ^a ±2.83	64.13 ^a ±1.14	64.01 ^a ±0.98	62.70 ^a ±1.06	دور میانی دنبه (Middle tail fat girth)
55.79 ^a ±5.72	54.04 ^a ±2.88	51.87 ^a ±1.19	50.98 ^a ±1.07	50.26 ^a ±1.13	دور پایین دنبه (Lower tail fat girth)
2.71 ^a ±0.066	2.61 ^b ±0.034	2.54 ^{ab} ±0.014	2.56 ^b ±0.012	2.55 ^b ±0.013	طول میانی دنبه ن* (Middle tail fat length)
22.52 ^a ±2.72	18.86 ^{ab} ±1.34	16.73 ^{ab} ±0.49	17.26 ^b ±0.40	16.91 ^b ±0.44	طول چپ* (Left length)
23.08 ^a ±2.93	19.78 ^{ab} ±1.66	17.05 ^b ±1.10	17.47 ^b ±1.01	16.86 ^b ±1.07	طول راست* (Right length)
24.53 ^a ±2.60 ^a	17.99 ^b ±1.49	16.22 ^b ±0.98	16.59 ^b ±0.90	16.31 ^b ±0.97	طول شکاف دنبه* (Tail fat split length)
49.11 ^a ±3.98	48.42 ^a ±2.01	47.41 ^a ±0.83	47.37 ^a ±0.75	46.78 ^a ±0.79	عرض بالای دنبه (Upper tail fat width)
46.59 ^{ab} ±4.43	45.53 ^a ±2.28	42.80 ^a ±0.92	41.48 ^{ab} ±0.81	40.49 ^b ±0.79	عرض میانی دنبه* (Middle tail fat width)
1.428 ^{ab} ±0.0247	1.468 ^a ±0.0125	1.456 ^a ±0.0051	1.447 ^{ab} ±0.0046	1.442 ^b ±0.0048	عرض پایین دنبه* (Lower tail fat width)

انرژی دارد. در گوسفندان، این هورمون می تواند بر رشد و توسعه بدن تأثیر بگذارد. به طور خاص، لپتین می تواند به بهبود کارایی تغذیه و افزایش وزن گوسفندان کمک کند، که این امر برای پرورش دهندگان بسیار مهم است. همچنین، این هورمون

نتیجه گیری کلی

در این پژوهش، یافته های مهمی در مورد ژن لپتین و جهش های آن به دست آمدند. لپتین، هورمونی که در بافت چربی تولید می شود، نقش کلیدی در تنظیم اشتها و متابولیسم

می‌تواند بر ساختار سوم پروتئین و عملکرد آن تأثیر بگذارد. بیشترین گوناگونی در نژاد لری بختیاری است که در این نژاد، در بیشتر صفات، ژنوتیپ یک کمترین مقدار و ژنوتیپ سوم بیشترین را دارند و به بیان دیگر، ژنوتیپ یک نامطلوب است. همچنین در نژاد زل، تنها ژنوتیپ‌های یک، دو و سه مشاهده شدند که بین این ژنوتیپ‌ها افزایش وزن روزانه، شاخص کلیبر، طول دم، طول بدن، قد، دور سینه، دور شکم و دور گردن ارتباط معنی‌داری وجود دارد و دام‌های با ژنوتیپ یک کمترین و ژنوتیپ سوم بیشترین مقدار را برای این صفات دارند. این نتایج نشان می‌دهند که شناسایی و تحلیل دقیق جهش‌های ژنتیکی می‌تواند به بهبود برنامه‌های اصلاح نژادی و افزایش بهره‌وری در صنعت دامپروری کمک کنند.

می‌تواند به بهبود کیفیت گوشت و کاهش چربی‌های زائد کمک کند، که در نهایت منجر به محصولات با کیفیت‌تر و سودآورتر می‌شود. در بررسی‌های انجام شده بر روی ژن لپتین در دام‌ها تنوع بسیار بالایی مشاهده شد و تفاوت‌های زیادی بین نژادهای ایرانی و گوسفندان دیگر کشورها دیده شده‌اند. علاوه بر جهش‌های شناخته شده، یک جهش جدید نیز در نوکلئوتید ۴۳۳ این ژن شناسایی شد. تمامی جهش‌هایی که در بخش‌های کدکننده ژن دیده شدند، موجب تغییر در ساختار پروتئینی هورمون لپتین شدند. در آگزون سه، سه جهش شناسایی شدند که در نوکلئوتیدهای ۳۷۱، ۳۸۷ و ۴۳۳ به ترتیب آدنین، تیمین و آدنین جایگزین گوانین شدند. این جهش‌ها منجر به تغییر اسیدهای آمینه شدند: آرژنین (R) به گلوتامین (Q)، والین (V) به لوسین (L)، و آرژنین (R) به گلوتامین (Q). این تغییرات

References

- Abdali, N. A., & Salim, A. H. (2023). Effect of pH and ionic strength on the spectrophotometric assessment of nucleic acid purity. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1262, 072027.
- Abdollahi Arpanahi, R. (2017). Comparison of parametric and resampling methods in genetic evaluation of quantitative traits with different genetic structure. *Animal Production*, 19(1), 1–12. <https://doi.org/10.22059/jap.2017.206657.623047>
- Aliloo, H., Pryce, J. E., González-Recio, O., Cocks, B. G., & Hayes, B. J. (2016). Accounting for dominance to improve genomic evaluations of dairy cows for fertility and milk production traits. *Genetics Selection Evolution*, 48(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12711-016-0186-0>
- Amou Poshteh Mesari, H., Hafezian, S. H., Abdollahi Arpanahi, R., Setaei Mokhtari, M., & Rahimi Mianji, G. (2018). Estimation of genetic parameters and trends for growth traits in Lori-Bakhtiari sheep using structural equation models. *Iranian Journal of Animal Science*, 7(2), 128–140. [In Persian]
- Behzadi, S. (2011). Identification of polymorphisms in IGF-1 and LEPTEN genes and their association with subcutaneous fat, tail fat, and some blood parameters in Mehrabani sheep. Master's Thesis, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran. [In Persian]
- Burland, T. G. (2000). DNASTAR's Lasergene sequence analysis software. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), 132, 71–91. <https://doi.org/10.1385/1-59259-192-2:71>
- Clough, T. J. (2021). Recent advances in grazed pasture-based dairy science. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 64(1), 1–2.
- Ghazi Khani Shad, A., & Sharifi Shourabi, M. K. (2018). Study of the polymorphism of leptin gene and its association with some growth traits in Lori Bakhtiari and Lori Bakhtiari-Afshari crossbreed sheep. *Research on Animal Production*, 9(21), 105–112. [In Persian]
- Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41(41), 95–98.
- Hashemi, A., Mardani, K., Farhadian, M., Ashrafi, I., & Ranjbar, M. (2011). Allelic polymorphism of Makuei sheep leptin gene identified by polymerase chain reaction and single strand conformation polymorphism. *African Journal of Biotechnology*, 10(10), 17903–17906. [In Persian]
- Khalatabadi Farahani, A., Mohammadi, H., Moradi, M., Ra'fat, S. A., Moradi Shahrababak, H., & Taheri Yeganeh, A. (2018). Estimation of genetic parameters of daily weight gain and Kleiber ratios in Makuei sheep. *Research on Ruminants*, 6(2), 75–86. [In Persian]
- Khaldari, M. (2008). Principles of sheep and goat production (2nd ed.). Iran: Jahad University Publications. [In Persian]
- Khaleghzadegan, A., Mirhosseini, S. Z., Vahidi, S. M. F., Dalir Sefat, M. B., & Zare, H. (2010). Evaluation of genetic diversity in eight native sheep breeds of Iran (*Ovis aries*) using AFLP markers. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 2(2), 8–20. [In Persian]
- Lu, G., & Moriyama, E. N. (2004). Vector NTI, a balanced all-in-one sequence analysis suite. *Briefings in Bioinformatics*, 5(4), 378–388.
- Miller, S. A., Dykes, D. D., & Polesky, H. F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, 16, 1215.
- Mohammadabadi, M. R. (2017). Inter-Simple Sequence Repeat loci associations with predicted breeding values of body weight in Kermani sheep. *Genetics in the 3rd Millennium*, 14(4), 4383–4390. [In Persian]
- Moradi Shahrababak, H., Khodabakhshzadeh, R., & Behzadi, S. (2023). Study of polymorphism in exon 4 of GH gene and exon 10 of GHR gene and their association with carcass traits in Zel breed sheep using PCR-SSCP. *Research on Animal Production*, 14(2), 94–101. [In Persian]

- Najafi, M., Rahimi, G., Ansari, Z., & Javad, F. (2013). Effect of allelic polymorphism in exon 3 of the leptin gene on growth traits and wool production in Naeini sheep. *Iranian Journal of Animal Science*, 44(2), 131–139. [In Persian]
- Nobari, K., Kavian, A., & Bahari, A. (2021). Investigation of genetic diversity of the leptin gene in different camel species. *Animal Science and Technology*, 10(38), 91–98. [In Persian]
- Pourasad-Astamal, K., Ganjkanlou, M., Zali, A., Sadeghi, M., & Towhidi, A. (2022). The effect of water and food restriction on physiological and functional traits of Lori-Bakhtiari lambs and their crosses. *Research on Animal Production*, 13(36), 74–87. [In Persian]
- Rasali, D. P., Shrestha, J. N. B., & Crow, G. H. (2005). Development of composite sheep breeds in the world: A review. *Canadian Journal of Animal Science*, 86(1), 1–24.
- Sadeghi, M., Moradi Shahrabak, M., Rahimi, G., & Nejati Javaremi, A. (2008). Effect of leptin gene polymorphism on the breeding value of milk production traits in Iranian Holstein. *Animal*, 2(7), 999. [In Persian]
- Sadeghi, S., Haji Hosseini Lou, A., & Hashemi, A. (2014). Association of leptin gene polymorphism with growth traits and its effect on breeding values in Moghani sheep. *Animal Production Research*, 3(1), 21–30. [In Persian]
- Sambrook, J., & Russell, D. W. (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3rd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Shibak, A., Montazeri Torbati, M., Farhangfar, H., & Ashkanifar, R. (2014). Study of exon 3 polymorphism in the leptin gene using PCR-SSCP marker and its association with birth weight and growth traits in North Khorasan Kurdi sheep. *Modern Genetics Quarterly*, 9(4), 511–516.
- Wilfinger, W. W., Mackey, K., & Krueger, C. (1997). Effect of pH and ionic strength on the spectrophotometric assessment of nucleic acid purity. *BioTechniques*, 22(3), 474–481.
- Zhou, H., Hickford, J. G., & Gong, H. (2009). Identification of allelic polymorphism in the ovine leptin gene. *Molecular Biotechnology*, 41(1), 22–25.