Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Research on Animal Production, Vol. 17, Issue 1, 2026 p: 1- 12

OPEN ACCESS

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 Azizi[1], Hossein Moradi Shahrbabak[2], Mohammad Moradi Sharbabak[3] and Zeynab Aslezare Razlighi[4]

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 ($P < 0.05$),

Copyright ©2026 Azizi et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License which allows users to read, copy, distribute and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited properly.

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 اگزون سه ژن لپتین با صفات رشد در گوسفندان نژاد لری‌بختیاری و زل

پرویز عزیزی[۱]، حسین مرادی شهربابک[۲]، 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 کیلودالتون، توسط بافت چربی ترشح می‌شود. این هورمون با تأثیر بر مراکز اشتها در هیپوتالاموس، نه‌تنها مصرف غذا را تنظیم می‌کند، بلکه در حفظ تعادل انرژی، باروری و عملکرد ایمنی بدن نیز دخیل است. ساختار ژن لپتین شامل سه اگزون و دو اینترون است که دو اگزون آن به پروتئین ترجمه می‌شوند. تغییرات ژنتیکی یا واریانت‌های موجود در این ژن، می‌توانند منجر به تفاوت‌های قابل‌توجهی در صفات رشد و تولید شوند.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، با هدف بررسی نقش ژن لپتین در رشد گوسفندان، ۱۶۹ رأس گوسفند نه‌ماهه 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 میکرولیتر 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 پلیمراز (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، به‌دلیل 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 همبسته 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 لری‌بختیاری، 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 تحت‌تأثیر 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 لری‌بختیاری 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، به‌دلیل 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 می‌توانند بر ساختار و عملکرد پروتئین تأثیر بگذارند و در نتیجه، صفات رشد و تولید را در گوسفندان تحت‌تأثیر قرار دهند. در نژاد لری‌بختیاری، بیشترین تنوع ژنتیکی مشاهده شد. در این نژاد، ژنوتیپ یک کمترین و ژنوتیپ سوم بیشترین مقادیر را در صفات مورد مطالعه داشتند، که نشان‌دهنده‌ی 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 زمینه‌ی 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، اگزون 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 باتوجه 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 لری‌بختیاری به‌عنوان یک نژاد شیری- گوشتی دارای بزرگترین دنبه در بین گوسفندان ایرانی است و علاوه بر آن دوقلوزایی پایین، سن بلوغ بالا (۱۸-۱۲ماهگی) 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 لرنشین ایران، به‌ویژه استان‌های چهارمحال و بختیاری و لرستان پرورش داده می‌شود. گوسفند لری‌بختیاری 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 لری‌بختیاری به‌دلیل تولید گوشت با کیفیت و میزان افزایش وزن روزانه حدود ۲۳۰ گرم، برای پرواربندی 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 لری‌بختیاری 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 Shahrbabak *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 تاثیر می‌گذارد (Nobari *et al*., 2021). لپتین از ریشه یونانی "لپتوس" (به‌معنای نازک یا کوچک) مشتق شده است. وزن لپتین ۱۶ کیلودالتون و محصول ژن (*ob*) *obese* 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 اگزون و دو اینترون دارد، اما فقط دو اگزون 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، بنابر این، از لپتین می‌توان به عنوان 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 به ویژه صفت‌های تولیدی انجام شده‌اند. به‌عنوان مثال، در پژوهشی بر روی گاوهای نژاد هلشتاین، دو جایگاه RFLP در اگزون سه شناخته شد، NruI (جایگزینی C/T و والین با آرژنین) و HphI (جایگزینیC/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، مرینوس، کاپ ورت و دورست بی‌شاخ) انجام شد، چهار SNP در اگزون 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 اگزون شماره سه در گوسفندان نژاد مهربان بر وزن لاشه و وزن چربی درون شکمی معنی‌دار بود، در حالی‌که 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 برروی 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 اگزون 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 نه‌ماهه 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 g3000

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 پلاسما، 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 حالی‌که 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 حالی‌که 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*., 1998; Sambrook & Russel., 2001; Wilfinger *et al*.,1997). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز جهت تکثیر قطعه ۴۷۱ جفت‌بازی با تهیه 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 ، بافر1X، ۱/۵ میکرولیتر DNTP، سه میلی‌مولار $MgCl_2$ ، ۱/۵ واحد آنزیم تک‌پلیمراز، ۱/۵ میکرولیتر از هرکدام از آغازگرها و ۱۲/۷ میکرولیتر آب دیونیزه انجام شد. $MgCl_2$ به‌عنوان یک کوفاکتور ضروری برای فعالیت آنزیم تک‌پلیمراز 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 به‌مدت دو دقیقه، دمای واسرشت ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۰ ثانیه، دمای اتصال ۶۲/۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت۳۰ ثانیه، دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه و دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه‌سانتی‌گراد به‌مدت 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 تک‌پلیمراز تنظیم شده است. پس از 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 به‌دلیل حساسیت بالا و توانایی تشخیص مقادیر کم DNA بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرد. الگوهای باندی به‌دست 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 پلیمراز 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 نیترات نقره رنگ‌آمیزی می‌شود تا الگوهای باندی به وضوح نمایان شوند. نیترات 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 Farahani *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 لری‌بختیاری همسن بودند، عامل سن در معادله مدل دام‌های ایستگاه به‌نژادی شولی وجود ندارد.

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 همخونی در نژاد لری‌بختیاری 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.

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

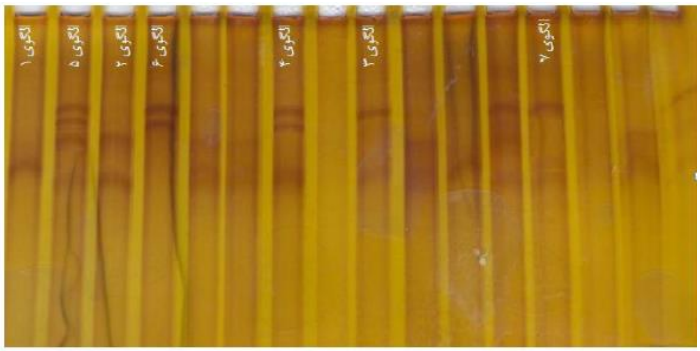
$$Y_{ijklmno} = \mu + G_i + g_j + LS_k + MB_l + DA_m + A_n + b1(BW_O - \overline{BW}) + b2(AWw_o - \overline{AWw}) + Animal_o + e_{ijklmno}$$

$Y_{ijklmno}$: 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، BW_O: وزن تولد o امین دام، $\overline{BW}$: میانگین وزن تولد دام‌ها، $b2$: ضریب تابعیت Y روی AWw، AWw_o: سن o امین دام در زمان وزن‌کشی برای از شیرگیری، $\overline{AWw}$: 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 به‌روش 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 به‌صورت 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 *Bio Edit* (Burland, 2000) *Vector NTI* و (Lu & Moriyama, 2004) *Lasergene* (Hall, 1999) 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 قابل‌توجهی را ارائه داده‌اند. در پژوهشی مربوط به گوسفندان ماکویی، پنج الگوی ژنتیکی برای این ناحیه 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 لری‌بختیاری و آمیخته لری‌بختیاری–افشاری نشان دادند که گوسفندان لری‌بختیاری دارای هشت الگوی باندی با درصد فراوانی به‌ترتیب ۱۸/۹۷، ۱۰/۳۵، ۵/۱۷، ۶/۸، ۴۱/۳۷، ۱۰/۳۵، ۳/۴۵ و ۳/۴۵ بودند و در گوسفندان آمیخته لری‌بختیاری–افشاری، ده الگوی باندی با درصد فراوانی ۹/۵۲، ۷/۲۸،۱۴/۵۸، ۹/۵۲، ۴/۷۶، ۲/۳۸، ۱۴/۲۸، ۹/۵۲، 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 Shad *et al*., 2018). در گوسفندان کردی خراسان شمالی، سه الگوی باندی AA، AB و BC مشاهده شدند که فراوانی آن‌ها به‌ترتیب 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).



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

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 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).

جدول ۱- تعیین جهش‌ها و ژنوتیپ‌های حاصل از توالی‌یابی الگوهای ژنوتیپی اگزون شماره سه لپتین در دو نژاد لری‌بختیاری 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

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

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

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

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 لری‌بختیاری و زل
Table 3. Genotypic Frequency Percentages of Exon 3 in the Leptin Gene of Bakhtiari-Lori and Zel Breeds

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

ساختار mRNA ژن لپتین گوسفندی

پس از بررسی دستاوردهای توالی‌یابی و شناسایی جایگاه‌های چندشکلی، ساختار بخشی از ژن لپتین که به پروتئین ترجمه می‌شود، به دست آمد و جایگاه هر چندشکلی در آن مشخص شد. ساختار زیر mRNA را پس از گامه تیمار نشان می‌دهد.

CTCCTCCAAACAGAGGGTCACTGGTTTGG
ACTTCATCCCTGGGCTCCACCCTCTCCTGA
GTTTGTCCAAGATGGACCAGACATTGGCA
ATCTACCAACAGATCCTCGCCAGTCTGCCT
TCCAGAAATGTGATCCAAATATCTAATGAC
CTGGAGAACCTCCGGGACCTTCTCCACCT
GCTGGCCGCCTCCAAGAGCTGCCCCTTGC
CGCAGGTCAGGGCCCTGGAGAGCTTGGAG
AGCCTGGGCGTCGTCCTGGAAGCCTCCCT
CTACTCCACCGAGGTGGTGGCCCTGAGCC
GGCTACAGGGGTCTCTACAGGACATGTTG
CGGCAGCTGGACCTCAGCCCTGGGTGCTG
A

حروف به رنگ قرمز جهش‌هایی را نشان می‌دهند که در این ژن شناسایی شده‌اند ولی در نژادهای ایرانی این جایگاه‌ها یکسان هستند و چندشکلی ندارند.

بررسی اثر هر یک از این جهش‌ها در ساختمان پروتئین لپتین

برای بررسی اثر هر یک از جهش‌ها 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 نرم‌افزار *Vector NTI* (Lu & Moriyama, 2004) به‌دست آمد. این ساختار با توالی پروتئین لپتین نوع وحشی در گوسفند، که توسط سایت http://prateomtes.ysu.edu/tools/OrfPredictor.htm نشان داده می‌شود، مقایسه شد. این مقایسه به‌منظور 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 به‌ترتیب آدنین، تیمین و آدنین جایگزین گوانین شدند. این جهش‌ها 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 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 آمینه‌ای بازی با بار مثبت است، در حالی که گلوتامین قطبی و بدون بار است و ویژگی آبدوستی بالایی دارد. این تغییرات می‌توانند بر ساختار سوم پروتئین و عملکرد آن تاثیر بگذارند.

MRCGPLYRFLWLWPYLSYVEAVPIRKVQDD
TKTLIKTIVTRINDISHTQSVSSKQRVTGLDFI
PGLHPLLSLSKMDQTLAIYQQILASLPSRNVI
QISNDLENLQDLLHLLAASKSCPPQVRALES
LESLGVVLEASLYSTELVALSRLQGSLQDML
QQLDLSPGC

ویژگی‌های آماری داده‌ها

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 بخش‌های گوناگون بدن (بیومتری) مربوط به هریک از نژادهای مورد بررسی در جداول آورده شده‌اند. ضریب تغییرات یک صفت، معیاری برای تعیین میزان تنوع آن صفت به شمار می‌آید. ضریب تغییرات می‌تواند به عوامل مختلفی مانند سن حیوانات، شرایط پرورشی و نوع جیره غذایی و ... نسبت داده شود. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار *SAS* و روش‌های آماری مختلف (رویه GLM یا proc glm و همچنین با رویه تصادفی یا proc mix) تحلیل شدند تا نرمال بودن توزیع داده‌ها بررسی و در صورت نیاز تصحیح شود. صفات مربوط به ابعاد دور دنبه نرمال نبودند و با روش box cox و به کمک نرم‌افزار *SAS 9.12* نرمال شدند.

جدول ۴- ویژگی‌های آماری نژاد لری‌بختیاری

Table 4. Statistical Characteristics of the Lori-Bakhtiari Breed

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

جدول ۵- ویژگی‌های آماری نژاد زل

Table 5. Statistical Characteristics of the Zel Breed

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

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 معنی‌دار بودند حفظ و برای صفاتی که معنی‌دار 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 معنی‌داری داشت. چگونگی تولد تاثیر معنی‌داری 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 معنی‌داری است و یا از طریق افزایش ضریب تبیین مدل، اهمیت دارد. ماه تولد بیشترین اثر را بر روی افزایش وزن روزانه 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 بهاره 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 دورسینه رابطه معنی داری دیده شد (p < 0.05). سن دام بر صفت های طول دم، دور دم و دور سینه معنی دار 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 معنی‌داری نداشت و به همین دلیل از معادله مدل آن‌ها حذف گردید.

جدول ۶- میانگین حداقل مربعات (±*S.E*) صفات گوناگون در نژاد زل

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

	ژنوتیپ (Genotype)		
	یک (one)	دو (Two)	سه (Three)
وزن تولد (Birth weight)	3.02 [a] ±0.61	3.07 [a] ±0.28	3.06 [a] ±0.31
افزایش وزن روزانه* (Daily weight gain)	102.30 [b] ±32.06	159.30 [a] ±13.95	164.91 [a] ±51.42
نسبت کلیبر* (Kleiber ratio)	12.07 [b] ±1.8	16.07 [a] ±0.59	16.59 [a] ±0.62
وزن از شیرگیری (Weaning weight)	18.51 [a] ±2.96	20.78± [a] 1.55	20.55 [a] ±01.70
طول دم* (Tail length)	19.28 [b] ±1.78	18.98 [b] ±0.77	20.34 [a] ±0.85
دور دم(ن) (Tail circumference)	2.36 [a] ±0.09	2.44 [a] ±0.03	2.48 [a] ±0.03
دور ران (ن) (Thigh circumference)	26.27 [a] ±2.27	25.92 [a] ±1.02	26.85 [a] ±1.11
قد (Height)	59.53 [a] ±3.55	59.92 [a] ±1.40	61.71 [a] ±1.59
طول بدن** (Body length)	52.42 [b] ±2.75	56.28 [b] ±1.14	58.65 [a] ±1.24
دور سینه* (Chest girt)	74.19 [ab] ±6.05	79.05 [b] ±2.39	84.55 [a] ±2.70
دور شکم* (Abdominal girth*)	80.84 [ab] ±6.35	82.21 [b] ±2.62	87.03 [a] ±2.87
دور گردن(ن)* (Neck circumference)	0/47577 [b] ±0/0001	0.47582 [b] ±0.00003	0.4759 [a] 0±0.00004
کلسترول (Cholesterol)	-	55.49 [a] ±5.04	53.39 [a] ±5.44
تری‌گلیسیرید(ن) (Triglycerides)	-	3.24 [a] ±0.34	3.60 [a] ±0.35

نکته: در تمامی جداول، * و ** به‌ترتیب بیانگر معنی‌داری 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.

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

نژاد لری‌بختیاری

جنس یکی از مهمترین عوامل تأثیرگذار بر صفات مورد بررسی بود، به طوری که اثر جنس بر صفات اندازه‌گیری شده بسیار معنی‌دار بود ($p < 0/001$). چندقلو بودن یکی از عوامل مهم بر صفات تولیدی بود. میانگین صفات بره‌های تک‌قلو نسبت به بره‌های چندقلو بیشتر بود. با این‌حال، این اثر برای برخی صفات معنی‌دار نبود، اما به دلیل افزایش چشمگیر ضریب تبیین مدل، در مدل قرار گرفت. همچنین، ماه تولد بیشترین تأثیر را بر وزن تولد داشت. بره‌هایی که در اسفند ماه به دنیا آمدند، نسبت به بره‌های بهمن ماه سنگین‌تر بودند. سن مادر بر وزن تولد و وزن از شیرگیری تأثیر معنی‌داری داشت ($p < 0.01$). با افزایش سن مادر، وزن بره‌ها نیز افزایش یافت. همچنین، این اثر برای صفات قطر دنبه، دور پایین دنبه، طول چپ و راست و عرض بالا و پایین دنبه معنی‌دار بود ($p < 0.05$). در نژاد لری‌بختیاری، بررسی‌ها بین ژنوتیپ‌های مختلف اگزون سوم ژن لپتین و صفاتی مانند وزن تولد، افزایش وزن روزانه، میزان تری‌گلیسیرید خون، دور گردن، طول بدن، طول میان، طول چپ و راست دنبه، عرض میانی و عرض پایین دنبه و طول شکاف دنبه رابطه معنی‌داری را نشان دادند. این روابط در سطوح معنی‌داری ۰/۰۵ و ۰/۰۱ مشاهده شدند. به جز میزان تری‌گلیسیرید خون، ژنوتیپ یک به‌طور معنی‌داری نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها مقدار کمتری برای این صفات نشان داد. نتایج مطالعه چندشکلی ژن لپتین در گوسفندان لری‌بختیاری و آمیخته لری‌بختیاری–افشاری نشان دادند که ژن لپتین با وزن شش‌ماهگی و دوازده‌ماهگی ارتباط معنی‌دار داشت، اما در گوسفندان لری بختیاری بر وزن تولد و وزن از شیرگیری، تأثیر معنی‌داری مشاهده نشد (Ghazi Khani Shad *et al*.,2018). همچنین، درگوسفندان نژاد نائینی اثر جنس، گله و ژنوتیپ بر صفت وزن تولد معنی‌دار بود، در صورتی‌که بر صفت وزن سه ماهگی فقط اثر سال تولد معنی‌دار بود (Najafi *et al*., 2013).

جدول ۷- میانگین حداقل مربعات (±*S.E*) صفات گوناگون در نژاد لری‌بختیاری

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

	ژنوتیپ Genotype				
	یک One	دو Two	سه Three	چهار Four	پنج Five
وزن تولد (Birth weight)	4.64 ^{b} ±0.16	4.83 ^{a} ±0.15	4.76 ^{ab} ±0.16	4.68 ^{ab} ±0.27	5.22 ^{ab} ±0.41
افزایش وزن روزانه (Daily weight gain)	326.75 ^{ac} ±13.49	336.56 ^{abc} ±12.48	359.17 ^{abc} ±13.63	350.01 ^{abc} ±26.16	372.42 ^{a} ±35.04
نسبت کلیبر* (Kleiber ratio)	23.04 ^{ac} ±0.42	23.02 ^{ac} ±0.39	23.67 ^{ab} ±0.43	23.34 ^{abc} ±0.73	24.52 ^{a} ±1.13
وزن از شیرگیری* (Weaning weight)	36.40 ^{b} ±1.33	37.22 ^{ab} ±1.21	38.27 ^{a} ±1.31	39.25 ^{ab} ±2.19	36.51 ^{ab} ±3.34
تری‌گلیسیریدن (Triglycerides)	2.22 ^{a} ±0.039	2.25 ^{a} ±0.035	2.26 ^{a} ±0.038	2.27 ^{a} ±0.057	2.29 ^{a} ±0.1
دور گردن (Neck circumference)	40.38 ^{a} ±0.60	40.67 ^{a} ±0.55	40.46 ^{a} ±0.64	39.80 ^{a} ±1.60	39.53 ^{a} ±3.10
دور سینه (Chest girth)	101.4 ^{a} ±2.11	102.19 ^{a} ±1.96	102.07 ^{a} ±2.14	100.86 ^{a} ±3.26	108.38 ^{a}±5.69
دور شکم (Abdominal girth)	110.01 ^{a}±2.28	111/07 ^{a} ±2/12	111.76 ^{a} ±2.30	107.33 ^{a} ±3.51	117.38 ^{a} ±6.13
قد (Height)	72.76 ^{a}±0.57	73.11 ^{a}±0.53	73.15 ^{a} ±0.61	70.93 ^{a} ±1.52	75.83 ^{a} ±2.95
طول بدن ن* (Body length)	1.084 ^{b} ±0.0004	1.085 ^{ab} ±0.0003	1.085 ^{a} ±0.0004	1.084 ^{b} ±0.0006	1.085 ^{ab} ±0.001
دور ران (Thigh circumference)	33.83 ^{a} ±0.41	33.96 ^{a} ±0.38	33.67 ^{a} ±0.44	33.57 ^{a} ±1.10	32.75 ^{a} ±2.14
قطر دنبه (Tail fat thickness)	3.91 ^{a} ±0.23	4.02 ^{a} ±0.27	4.13 ^{a} ±0.33	4.7 1 ^{a} ±0.60	4.86 ^{a} ±0.21
دور بالای دنبه (Upper tail fat girth)	71.76 ^{a} ±2.75	74.19 ^{a} ±2.56	73.84 ^{a} ±2.78	74.38 ^{a} ±4.24	76.14 ^{a} ±7.40
دور میانی دنبه (Middle tail fat girth)	62.70 ^{a} ±1.06	64.01 ^{a} ±0.98	64.13 ^{a} ±1.14	66.45 ^{a} ±2.83	70.60 ^{a} ±5.50
دور پایین دنبه (Lower tail fat girth)	50.26 ^{a} ±1.13	50.98 ^{a} ±1.07	51.87 ^{a} ±1.19	54.04 ^{a} ±2.88	55.79 ^{a} ±5.72
طول میانی دنبه ن* (Middle tail fat length)	2.55 ^{b} ±0.013	2.56 ^{b} ±0.012	2.54 ^{ab} ± 0.014	2.61 ^{b} ±0.034	2.71 ^{a} ±0.066
طول چپ* (Left length)	16.91 ^{b} ±0.44	17.26 ^{b} ±0.40	16.73 ^{ab} ±0.49	18.86 ^{ab} ±1.34	22.52 ^{a} ±2.72
طول راست* (Right length)	16.86 ^{b} ±1.07	17.47 ^{b} ±1.01	17.05 ^{b} ±1.10	19.78 ^{ab} ±1.66	23.08 ^{a} ±2.93
طول شکاف دنبه* (Tail fat split length)	16.31 ^{b} ±0.97	16.59 ^{b} ±0.90	16.22 ^{b} ±0.98	17.99 ^{b} ±1.49	24.53 ^{a} ±2.60^{a}
عرض بالای دنبه (Upper tail fat width)	46.78 ^{a} ±0.79	47.37 ^{a} ±0.75	47.41 ^{a} ±0.83	48.42 ^{a} ±2.01	49.11 ^{a} ±3.98
عرض میانی دنبه * (Middle tail fat width)	40.49 ^{b} ±0.79	41.48 ^{ab} ±0.81	42.80 ^{a} ±0.92	45.53 ^{a} ±2.28	46.59 ^{ab} ±4.43
عرض پایین دنبه* (Lower tail fat width)	1.442 ^{b}±0.0048	1.447 ^{ab}±0.0046	1.456 ^{a}±0.0051	1.468 ^{a} ±0.0125	1.428 ^{ab}±0.0247

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش، یافته‌های مهمی در مورد ژن لپتین و جهش‌های آن به دست آمدند. لپتین، هورمونی که در بافت چربی تولید می‌شود، نقش کلیدی در تنظیم اشتها و متابولیسم انرژی دارد. در گوسفندان، این هورمون می‌تواند بر رشد و توسعه بدن تأثیر بگذارد. به طور خاص، لپتین می‌تواند به بهبود کارایی تغذیه و افزایش وزن گوسفندان کمک کند، که این امر برای پرورش‌دهندگان بسیار مهم است. همچنین، این هورمون

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 اگزون 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 می‌توانند بر ساختار سوم پروتئین و عملکرد آن تأثیر بگذارند. بیشترین گوناگونی در نژاد لری‌بختیاری 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 می‌توانند به بهبود برنامه‌های اصلاح نژادی و افزایش بهره‌وری در صنعت دامپروری کمک کنند.

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.

AbdolahiArpanahi, 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 Shahrbabak, 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 Shahrbabak, 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., Ganjkhanlou, 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 Shahrbabak, 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.