Shahid Bahonar University of Kerman
Agricultural Biotechnology Journal
Iranian Biotechnology Society
Print ISSN: 2228-6705 Online ISSN: 2228-6500

Association of Single Nucleotide Polymorphisms in Exon Two of the Leptin Gene with Growth Traits in Lori-Bakhtiari and Zel Sheep

Parviz Azizi

Ph.D. Graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: p.azizi@ut.ac.ir

Hossein MoradiSharbabak

*Corresponding author. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: hmoradis@ut.ac.ir

Mohammad MoradiShahrbabak

Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: moradim@ut.ac.ir

Sara Nezhadi

MSc Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: sara.nejadi@ut.ac.ir

Abstract

Objective

Leptin is a product of the obesity gene expression and is mainly produced in adipose tissue. It is also associated with feed intake, growth, and lipid metabolism. The aim of this study was to investigate the polymorphism of the 271 base pair loci, including the entire exon 2 and part of intron 2 of the leptin gene in two sheep breeds, Lori-Bakhtiari and Zel, and to determine the relationship of this locus with growth traits and identify desirable genotypes for these traits in the studied sheep.

Materials and methods

In this study, blood samples were collected from 373 sheep, including 169 Lori-Bakhtiari lambs from the Sholi Breeding Station in Shahrekord, 74 Lori-Bakhtiari lambs from the industrial slaughterhouse of Farsan County, and 130 Zel sheep from the Shirang Breeding Station in Gorgan County. DNA extraction was performed using an optimized salting-out method. A 271-base pair (bp) fragment encompassing exon 2 and a portion of intron 2 of the leptin gene was amplified via polymerase chain reaction (PCR).

Results

Analysis of the 271-bp fragment (covering exon 2 and part of intron 2 of the leptin gene) using single-strand conformation polymorphism (SSCP) revealed nine distinct banding patterns. Sequencing of these patterns identified three mutations in this region. The first mutation (A/G 1416) has been previously reported in Iranian sheep breeds. The second mutation, located in the coding region, involves the insertion of a cytosine base (+C 1328), resulting in a truncated protein. The third mutation was found in intron 2, where a thymine-to-guanine substitution occurred at nucleotide 1566 (T/C 1566). The allele frequencies for the first mutation (+C 1328) were 0.552 and 0.935 in Lori-Bakhtiari and Zel sheep, respectively; for the second mutation (A/G 1416), 0.359 and 0.039; and for the third mutation (T/C 1566), 0.179 and 0.065. Comparison of the obtained sequences with those in the NCBI database identified six distinct genotypes.

Conclusions

Evaluations conducted in this study indicate a significant relationship between the identified genotypes in Lori-Bakhtiari sheep and traits such as birth weight, daily weight gain, cholesterol ($p<0.05$), and rump width ($p<0.01$).

Keywords: DNA sequencing, Exon 2, Leptin, Lori Bakhtiari, Zel.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Azizi, P., MoradiSharbabak, H., MoradiSharbabak, M., & Nezhadi, S. (2025). Association of Single Nucleotide Polymorphisms in Exon Two of the *Leptin* Gene with Growth Traits in Lori-Bakhtiari and Zel Sheep. *Agricultural Biotechnology Journal,* 17(4), 27-50.

Agricultural Biotechnology Journal, 17(4), 27-50. DOI: 10.22103/jab.2025.24374.1630

Received: May 19, 2025. Received in revised form: July 11, 2025.

Accepted: July 12, 2025. Published online: November 30, 2025.

Publisher: Shahid Bahonar University of Kerman & Iranian Biotechnology Society.

Introduction

Leptin, a peptide hormone encoded by the *ob* gene, primarily regulates appetite and energy balance but also influences metabolism, immune function, and the endocrine system (Dornbush & Aeddula, 2023). The gene consists of three exons and two introns, encoding a 167-amino acid protein that is secreted after the removal of the signal peptide (Barzehkar et al., 2009). Plasma leptin levels exhibit a linear correlation with body fat mass, making it a useful biomarker for

adiposity in both humans and livestock (Shojaei et al., 2010). Leptin expression is regulated by hormones (such as stimulation by estrogen and insulin and inhibition by androgens), glucocorticoids, and inflammatory cytokines like TNF-α and IL-1 (Moschos et al., 2002). Through binding to the LepR receptor and activation of the JAK-STAT pathway, leptin transmits satiety signals to the hypothalamus (Palmioli et al., 2023). Leptin resistance, observed in conditions such as obesity, arises from impaired hypothalamic transport, inflammation, or inhibition of signaling pathways (Zieba et al., 2022). The objective of this study was to investigate polymorphisms at the 271-bp locus, encompassing the entire exon 2 and a portion of intron 2 of the leptin gene, in two sheep breeds (Lori-Bakhtiari and Zel). Additionally, we aimed to assess the association of this locus with growth traits and identify favorable genotypes for these traits in the studied sheep populations.

Materials and methods

For this study, we collected samples from three sheep populations: 169 Lori-Bakhtiari lambs (63 males, 106 females) at Sholi Station, 74 Lori-Bakhtiari lambs from Farasan Slaughterhouse, and 130 Zel sheep (30 rams, 100 ewes) at Shirang Station. Phenotypic data included birth weight, weaning weight, rump width, and weights at 6 and 9 months. Blood was drawn for DNA extraction (EDTA tubes) and plasma isolation (heparinized samples centrifuged at 3,000 ×g for 20 min). Plasma triglycerides and cholesterol were quantified using Pars Azmun kits at the University of Tehran's Nutrition Laboratory. Triglyceride levels were determined enzymatically via quinoneimine formation (546 nm), while cholesterol was assayed through hydrogen peroxide-mediated quinoneimine generation (496 nm). This study was conducted in 2012 (1391 SH) prior to mandatory ethical codes at the University of Tehran. All procedures complied with, the university's ethical guidelines for animal/human research at that time. DNA was extracted from 250 µL blood using a modified salt precipitation protocol (Miller et al., 1998), with quality verified by spectrophotometry and 1% agarose gel electrophoresis. A 271-bp leptin gene fragment (spanning exon 2 and part of intron 2) was amplified via PCR with primers (Forward: 5'-CGCAAGGTCCAGGATGACACC-3'; Reverse: 5'-GTCTGGGAGGGAGGAGAGTGA-3'; Bucher et al., 2005) in a 25 µL reaction containing 50 ng DNA, 1X buffer, 1.5 µL dNTPs, 0.5 µL $MgCl_2$, 0.7 µL primers, 1.5 U Taq polymerase, and 16.8 µL deionized water. Thermal cycling involved initial denaturation (94°C, 5 min), 35 cycles of 94°C (30 sec), 59°C (30 sec), and 72°C (1 min), followed by final extension (72°C, 5 min). Products were resolved on 2% agarose gels. Polymorphisms were detected using single-strand conformation polymorphism **(**SSCP**)**: PCR products were denatured (95°C, 10 min), electrophoresed in 1X TBE at 300 V (4°C, 14 h), and visualized by silver staining (Sambrook & Russell, 2001). Allele frequencies were computed with GenAlex 6.41, and sequences were

analyzed using BioEdit and Vector NT1. Statistical analyses in SAS 9.12 included Box-Cox normalization for nonparametric data:

$$X_{(n)} = \left(x^{\lambda}\right) - {}^{1}/_{\lambda}$$

Where X(n) = normalized data.

Three mixed models assessed genotype-phenotype associations: Model 1 evaluated growth traits with fixed effects (genotype, sex, birth type, birth month, maternal age) and covariates (birth weight, weaning age). Model 2 analyzed blood parameters and biometric traits, incorporating genotype-sex interactions. Model 3 combined data from Sholi Station and Farasan Slaughterhouse, testing breed, age, sex, genotype, and their interactions. Random animal effects were included in all models (MIXED procedure, SAS 9.12).

Model 1:

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

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

Variables: $Y_{ijklmno}$: Trait value for each animal, μ: Population mean, G_i: genotype effect, g_j: sex effect, LS_k: birth type effect, MB_l: birth month effect, DA_m: maternal age effect, A_n: Effect of nth animal age at blood sampling, b1: Regression coefficient of Y on BW, BW_O: Birth weight of oth animal, $\overline{BW}$: Mean birth weight of animals, b2: Regression coefficient of Y on AWw, AWw_o: Age at weaning weight measurement for oth animal, $\overline{AW}w$: Mean age at weaning weight measurement, $Animal_o$: random animal effect, e_{ijklm}: Residual effect.

Model 2 (for blood parameters/biometry):

$$Y_{ijklmno} = \mu + G_i + g_j + Cg_k + (gCg)_{jk} + Animal_l + e_{ijkl}$$

Variables: Y_{ijkl}: Phenotypic value for the individual animal, μ: Population mean, G_i: Fixed effect of the ith genotype, g_j: Fixed effect of the jth sex (gender), Cg_k: Fixed effect of the kth sampling group, $(gCg)_{jk}$: Interaction effect between sex and sampling group, $Animal_l$: Random animal effect of the lth individual, e_{ijkl}: Residual error.

Model 3 (combined analysis of Sholi Station and Farasan slaughterhouse data):

$$Y_{ijklm} = \mu + B_i + A_j + g_k + G_l + b(W_m - \bar{W}) + (Bg)_{ik} + Animal_m + e_{ijklm}$$

Variables: Y_{ijklm}: Trait value for each animal, μ: Population mean, B_i: Effect of i-th breed, A_j: Effect of jth animal age, g_k: Effect of k-th sex, G_l: Effect of l-th genotype, b: Regression coefficient of Y on W (animal weight at blood sampling), W_m: Slaughter weight of animal, $\bar{W}$: Mean weight of sampled animals, $(Bg)_{ik}$: Interaction effect between breed and sex, $Animal_m$: Random effect of m-th animal, e_{ijklm}: Residual effect.

Analysis: Fixed effects (genotype, sex) and random effects (animal) were evaluated using SAS 9.12 (MIXED procedure).

Results

This study, utilizing an optimized saline method for DNA isolation and quality assessment (average concentration of 180 ng/µL and A260/A280 ratio of 1.9) and PCR-SSCP, identified three mutations in the leptin gene of Iranian sheep: a novel mutation in the coding region (+C1328) leading to truncated protein production and two intronic mutations with no structural impact. Comparison with the NCBI database revealed six genotypes, highlighting key differences: the Lori-Bakhtiari breed exhibited higher diversity (all six genotypes) and significant associations of genotypes 3 and 6 with superior productive traits (birth weight, tail dimensions, and triglyceride levels), while the Zel breed showed only three genotypes (genotype 6 stabilizing). Statistical analyses confirmed the effects of sex, birth month, maternal age, and multiple births on traits such as weight, body dimensions, and blood parameters ($p<0.05$). In Zel, genotype 5 correlated with lower birth weight, and genotype 6 with reduced triglycerides. The study also demonstrated alignment of the A/G1416 mutation with morphologically similar foreign breeds and allelic frequency discrepancies with prior studies (e.g., Boucher et al., 2006), underscoring the importance of genetic diversity and genotype roles in enhancing productive traits of Iranian sheep.

Conclusions

In the Zel breed, genotypes 2, 5, and 6 showed significant associations with traits such as birth weight, tail length, body length, thigh circumference, and blood triglyceride levels. The Lori-Bakhtiari breed exhibited all six genotypes, reflecting its high genetic diversity. These genotypes were significantly linked to traits including triglycerides, chest circumference, animal height and length, upper/mid-tail dimensions, left/right tail length, and tail cleft length. Similar to Zel, genotype 5 in Lori-Bakhtiari had the lowest performance, while genotype 6 (superior in Zel) and genotype 3 showed advantages in many traits. Lambs with genotype 5 in both breeds had significantly lower birth weights ($p<0.05$), highlighting the potential of these polymorphisms for elite animal selection. Identifying genetic loci and genes influencing growth and carcass traits is pivotal in breeding programs. The leptin gene, a key candidate regulating feed intake and growth-related traits, was studied here for the first time in Iranian sheep breeds. Novel mutations in this gene were identified and their associations with economic traits were confirmed, emphasizing the importance of leptin and its related QTLs in controlling critical production traits. These findings provide a valuable foundation for selective breeding and genetic improvement strategies in Iranian sheep populations.

Author Contributions

P. A.: Conceptualization, Investigation, Methodology, Data curation, Formal analysis; H. M.: Supervision, Project administration, Validation, Resources; M. M.: Supervision, Methodology, Validation; S. N.: Writing - original draft, Writing - review & editing.

Data Availability Statement

The data supporting this study's findings are not publicly available, but are available from the corresponding author upon reasonable request, subject to approval by the relevant institutional review board.

Acknowledgements

We extend our sincere gratitude to the Scientific Center for Carcass Quality and Quantity Improvement (Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, Karaj), the research centers of Chaharmahal and Bakhtiari and Golestan provinces, the General Directors of Livestock Affairs in Mazandaran and Golestan provinces, the Veterinary Organization of Golestan Province, and the Veterinary Administration of Gorgan County for their invaluable assistance in sample collection, blood sampling, and livestock biometry. We also deeply appreciate the Biotechnology Laboratory of the Department of Animal Science (Karaj) and the Disease Diagnostic Center of the Iranian Veterinary Organization for performing PCR analyses.

Ethical Considerations

This study was conducted before formal ethical approval codes were implemented at the University of Tehran. All procedures strictly followed the university's animal research guidelines at that time. Although the original approval documents are no longer available, the authors confirm full compliance with contemporary ethical standards. Blood collection and handling protocols minimized animal stress in accordance with best practices.

Funding

This research was financially supported by the University of Tehran as part of a Master's thesis project.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

مجله بیوتکنولوژی کشاورزی
شاپا چاپی: ۶۷۰۵-۲۲۲۸ شاپا الکترونیکی: ۶۵۰۰-۲۲۲۸

شناسایی و ارتباط چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی اگزون دو ژن لپتین با صفات رشد در گوسفندان لری-بختیاری و زل

پرویز عزیزی

دانش‌آموخته دکتری، گروه مهندسی علوم دامی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: p.azizi@ut.ac.ir

حسین مرادی‌شهربابک

*نویسنده مسئول: دانشیار، گروه مهندسی علوم دامی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: hmoradis@ut.ac.ir

محمد مرادی‌شهربابک

استاد، گروه مهندسی علوم دامی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: moradim@ut.ac.ir

سارا نژادی

دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی علوم دامی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: sara.nejadi@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۲۹ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۴/۰۴/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۲۱

چکیده

هدف: پروتئین لپتین محصول بیان ژن چاقی بوده و عمدتا در بافت چربی تولید می‌گردد، همچنین با مصرف خوراک، رشد و متابولیسم لیپیدها مرتبط است. هدف از این پژوهش، بررسی چندشکلی در جایگاه ۲۷۱ جفت‌بازی شامل کل اگزون ۲ و بخشی از اینترون ۲ ژن لپتین در دو نژاد گوسفند لری-بختیاری و زل و ارتباط این جایگاه با صفات رشد و تعیین ژنوتیپ‌های مطلوب برای این صفات در گوسفندان مورد مطالعه بود.

مواد و روش‌ها: در مطالعه انجام شده از ۳۷۳ راس گوسفند شامل ۱۶۹ راس بره لری-بختیاری از ایستگاه بهنژادی شولی شهرکرد، ۷۴ راس بره لری-بختیاری از کشتارگاه صنعتی شهرستان فارسان و ۱۳۰ راس گوسفند نژاد زل ایستگاه بهنژادی شیرنگ شهرستان گرگان خونگیری انجام شد. جداسازی DNA با روش بهینه یافته نمکی انجام گرفته‌است. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز جهت تکثیر قطعه ۲۷۱ جفت بازی دربرگیرنده اگزون دوم و بخشی از اینترون دوم ژن لپتین انجام شد.

نتایج: با بررسی قطعه ۲۷۱ جفت‌بازی (دربرگیرنده اگزون دوم و بخشی از اینترون دوم ژن لپتین) با استفاده از روش تفاوت در شکل فضایی تک رشته‌ای DNA (SSCP) نه الگوی باندی مشاهده شد. پس از توالی یابی الگوهای باندی سه جهش در این بخش شناسایی گردید. جهش اول (A/G) ۱۴۱۶ است که در نژادهای ایرانی نیز دیده شده‌است. جهش دیگر در بخش کدکننده بوده و یک باز سیتوزین وارد توالی می‌گردد (C+ ۱۳۲۸) که نتیجه آن تولید پروتئینی ناقص است. سومین جهش در اینترون دوم واقع شده و باز تیمین در نوکلئوتید ۱۵۶۶ به گوانین تبدیل شد. فراوانی‌های آللی در گوسفندان لری-بختیاری و زل به ترتیب برای جهش اول (C+ ۱۳۲۸) ۰/۵۵۲ و ۰/۹۳۵، برای جهش دوم (A/G ۱۴۱۶) ۰/۳۵۹ و ۰/۰۳۹و برای جهش سوم (T/C ۱۵۶۶) ۰/۱۷۹ و ۰/۰۶۵ است. از مقایسه توالی‌های حاصله با توالی‌های پایگاه داده NCBI شش ژنوتیپ شناسایی شد.

نتیجه‌گیری: ارزیابی‌های انجام شده در این پژوهش نشان می‌دهند بین ژنوتیپ‌های شناسایی شده در نژاد لری-بختیاری با صفات وزن تولد، افزایش وزن روزانه، کلسترول ($p<0.05$) و عرض بالای دنبه ($p<0.01$) رابطه معنی‌داری وجود دارد.

کلیدواژه‌ها: اگزون دو، توالی یابی DNA، زل، لپتین، لری بختیاری.

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: عزیزی پرویز، مرادی‌شهربابک حسین، مرادی‌شهربابک محمد، نژادی سارا (۱۴۰۴) شناسایی و ارتباط چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی اگزون دو ژن لپتین با صفات رشد در گوسفندان لری-بختیاری و زل. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۷(۴)، ۲۷-۵۰.

Publisher: Shahid Bahonar University of Kerman & Iranian Biotechnology Society.

مقدمه

لپتین، یک هورمون پپتیدی ترشح شده از بافت چربی و کدشده توسط ژن چاقی (ob)، علاوه بر نقش اصلی در تنظیم اشتها، تعادل انرژی و عملکرد نوروآندوکرین، بر متابولیسم، سیستم ایمنی و تنظیم هورمونی نیز تأثیر می‌گذارد (Dornbush & Aeddula, 2023). این ژن در سال ۱۹۹۴ با استفاده از تکنیک‌های کلون‌کردن جایگاهی کشف شد و ساختاری شامل سه اگزون و دو اینترون دارد که پروتئینی ۱۶۷ آمینواسیدی تولید می‌کند (Barzehkar et al., 2009). سطح لپتین پلاسما در گاوها و گوسفندان به‌طور خطی با افزایش توده چربی و تعادل انرژی مرتبط است (Shojaei et al., 2010). بیان ژن لپتین تحت تأثیر هورمون‌ها (مانند استروژن‌ها که تولید آن را تحریک و آندروژن‌ها که آن را سرکوب می‌کنند)، انسولین، گلوکوکورتیکوئیدها و سیتوکین‌های پیش‌التهابی مانند TNF-α و IL-1 قرار دارد (Moschos et al., 2002). لپتین از طریق اتصال به گیرنده اختصاصی خود (LepR) در هیپوتالاموس، مسیر سیگنالینگ JAK-STAT را فعال کرده و با کاهش مصرف غذا و افزایش مصرف انرژی، بعنوان یک عامل لیپوستاتیک عمل می‌کند (Palmioli et al., 2023). مقاومت به لپتین ممکن است ناشی از

اختلال در انتقال آن به هیپوتالاموس، کاهش حساسیت گیرنده‌ها، افزایش تنظیم‌کننده‌های منفی (مانند ستوکین ۳[1])، یا التهاب هیپوتالاموس باشد. در چاقی، التهاب مزمن و استرس شبکه آندوپلاسمی منجر به بیان مولکول‌های مهارکننده مانند سیتوکین۳ و مقاومت به لپتین در نورون‌های هیپوتالاموس می‌شود. همچنین، در فصول بهار و تابستان، گوسفندان به‌دلیل افزایش چربی بدن و غلظت بالای لپتین، مقاومت به این هورمون را نشان می‌دهند که احتمالاً با مکانیسم‌های مشابهی مرتبط است (Zieba et al., 2022). گوسفند به‌عنوان دامی چندمنظوره، نقش حیاتی در تولید گوشت، پشم، شیر و پوست دارد (Vahabzadeh et al., 2020) و به دلیل سازگاری با آب‌وهوای خشک، نیاز غذایی کم و استفاده از مراتع نامرغوب، از نظر اقتصادی در اولویت پرورش قرار دارد (Mohammadabadi et al., 2024b; Safaei et al., 2024; Vahabzadeh et al., 2021). این حیوان اجتماعی و مقاوم، رفتارهای هوشمندانه و دفاع جمعی در برابر تهدیدات نشان می‌دهد (Mohammadabadi et al., 2024a; Saadatabadi et al., 2023a). محصولات گوسفند شامل گوشت (با کیفیت برتر و غنای تغذیه‌ای)، شیر (مورد استفاده در تولید پنیر و ماست)، پشم (قابل ذخیره‌سازی طولانی مدت) و لانولین (استخراج شده از چربی پشم برای صنایع آرایشی) است (Nejad et al., 2024; Saadatabadi et al., 2023b, 2022a; Hajalizadeh et al., 2019). فضولات آن نیز به‌عنوان کود کشاورزی استفاده می‌شود (Mohammadabadi et al., 2022b). در ایران، ۲۷ نژاد گوسفند شناسایی شده‌است (Mohammadabadi et al., 2023). گوسفندداری به دلیل تنوع محصولات و عرضه مداوم آن‌ها، کمترین ریسک مالی را برای پرورش‌دهندگان دارد (Hajalizadeh et al., 2021; Amirteymoori et al., 2021). نژاد زل تنها نژاد گوسفند دم دار ایرانی است (Barzehkar et al., 2009). گوسفند لری–بختیاری، نژادی درشت‌جثه با دنبه‌ای بسیار بزرگ بوده و محل اصلی پرورش آن استان چهار محال و بختیاری است (Aali et al., 2013). در پژوهشی، محصول PCR به طول ۲۶۰ جفت باز که شامل اگزون ۲ و بخشی از اینترون ۲ ژن لپتین است، تکثیر شد؛ و پس از انجام PCR-SSCP و تعیین توالی دو آلل (A و G) شناسایی و دو ژنوتیپ (AA و AG) مشاهده شدند. دو SNP در اینترون ۲ مشاهده شد که شامل تغییر A به G در موقعیت ۱۱۳ جفت باز و تغییر T به C در موقعیت ۱۶۵ جفت باز از ژن لپتین گوسفند می‌باشد. طبق نتایج توالی‌یابی، تغییر تک‌نوکلئوتیدی C به Tدر تمام نمونه‌ها مشابه بود (Barzehkar et al., 2009).

مواد و روش‌ها

نمونه برداری و جمع آوری داده‌های فنوتیپی: در این مطالعه، نمونه‌برداری از سه گروه گوسفند شامل ۱۶۹ راس بره لری–بختیاری (۶۳ نر و ۱۰۶ میش) در ایستگاه شولی، ۷۴ راس بره لری–بختیاری در کشتارگاه فارسان و ۱۳۰ راس گوسفند نژاد زل (۳۰ قوچ و ۱۰۰ میش) در ایستگاه شیرنگ انجام شد. داده‌های فنوتیپی مانند وزن تولد، وزن از شیرگیری، عرض بالای دنبه، وزن ۶ و ۹ ماهگی از ایستگاه‌ها جمع‌آوری شد. صفات مورفومتریک شامل محیط‌های گردن، سینه، شکم و ران، ارتفاع جدوگاه، طول بدن،

[1] SOCS3

ابعاد دنبه (شامل قطر، محیط بخش‌های بالا، وسط و پایین، طول ناحیه مرکزی، طول سمت چپ و راست، طول شکاف دنبه و عرض بخش‌های فوقانی، میانی و تحتانی) با استفاده از متر نواری اندازه‌گیری شدند. خونگیری با دو هدف استخراج DNA (با لوله‌های حاوی EDTA) و جداسازی پلاسما (از طریق سانتریفیوژ نمونه‌های هپارینه در ۳۰۰۰ گرم به مدت ۲۰ دقیقه) انجام گرفت.

اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی: اندازه‌گیری تری‌گلیسرید و کلسترول پلاسما با کیت‌های شرکت پارس آزمون و در آزمایشگاه تغذیه دانشگاه تهران صورت پذیرفت. برای سنجش تری‌گلیسرید، گلیسرول آزادشده توسط لیپوپروتئین لیپاز با واکنش آنزیمی به کینونیمین تبدیل و در طول موج ۵۴۶ نانومتر اندازه‌گیری شد. کلسترول نیز با سنجش پراکسید هیدروژن و تشکیل کینونیمین در طول موج ۴۹۶ نانومتر ارزیابی گردید.

استخراج DNA: استخراج DNA از ۲۵۰ میلی‌لیتر خون با روش نمکی بهینه یافته که بوسیله میلر در سال ۱۹۹۸ معرفی شد، انجام گرفته‌است. ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده با روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز در ژل آگارز ۱٪ انجام شده‌است.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR): واکنش زنجیره‌ای پلیمراز جهت تکثیر قطعه ۲۷۱ جفت‌بازی (دربرگیرنده اگزون دوم و بخشی از اینترون دوم ژن لپتین) با تهیه آغازگرهای اختصاصی رفت ’3- CGCAAGGTCCAGGATGACACC -5’ و برگشت ’3- GTCTGGGAGGGAGGAGAGTGA -5’ از شرکت سیناژن انجام شد. این آغازگرها توسط بوچر در سال ۲۰۰۵ ارائه شده‌است. واکنش PCR برای این توالی در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۵۰ نانوگرم DNA، بافر ۱X، ۱.۵ میکرولیتر dNTP، ۰.۵ میکرولیتر $MgCl_2$، ۰.۷ میکرولیتر از هرکدام از آغازگرها، ۱.۵ واحد از آنزیم Taq و ۱۶.۸ میکرولیتر آب دیونیزه انجام شد. برنامه دمایی و زمانی شامل ۳۵ چرخه با دمای واسرشت اولیه ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، دمای واسرشت ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال ۵۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه بود. پس از انجام واکنش PCR، محصولات PCR روی ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز شدند.

چندشکلی فضایی تک رشته‌ها (SSCP): برای شناسایی چندشکلی‌ها، تکنیک SSCP (چندشکلی فضایی تک رشته‌ای) به کار گرفته شد. ۳–۲ میکرولیتر از محصول PCR با رنگ مخصوص مخلوط و پس از حرارت‌دهی در دمای ۹۵°C به مدت ۱۰ دقیقه (برای جداسازی رشته‌ها)، الکتروفورز در شرایط ۳۰۰ ولت (ژل آکریل آمید تک‌پاره‌ای ۸ درصد)، دمای ۴°C و بافر TBE 1Xبه مدت ۱۴ ساعت انجام شد. در نهایت، الگوهای باندی با رنگ‌آمیزی نیترات‌نقره مطابق روش Sambrook and Russell (2001) مشاهده گردید.

نرم‌افزارهای مورد استفاده: فراوانی آللی برای بازهای جهش‌یافته به کمک نرم افزار GenAlex 6.41 برآورد گردیده‌است. بررسی نمونه‌هایی که توالی یابی شدند با استفاده از نرم افزارهای Bio Edit و Vector NT1 انجام شد.

آنالیز آماری: آزمون نرمال بودن داده‌ها به کمک نرم افزار SAS 9.12 انجام شده‌است؛ و داده‌هایی که نیاز به نرمال سازی داشتند با روش box cox و به کمک نرم افزار SAS 9.12 نرمال شده و پس از آن بررسی‌های آماری انجام شده‌است. برای نرمال

کردن داده‌ها با کمک نرم افزار SAS 9.12 رویه transreg یک مقدار به نام لامبدا (λ) بدست آورده‌است که در فرمول زیر جای‌گذاری کرده و داده‌ها نرمال شدند.

رابطه ۱) $$X_{(n)} = (x^{\lambda}) - {}^{1}/_{\lambda}$$

$X_{(n)}$: داده نرمال شده

مدل آماری

مدل ۱) $$Y_{ijklmno} = \mu + G_i + g_j + LS_k + MB_l + DA_m + A_n + Animal_o + e_{ijklmno}$$

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

$Y_{ijklmno}$: 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، $\overline{AW}w$: میانگین سن دام‌ها در زمان وزن‌کشی برای از شیرگیری، $Animal_o$: اثر o امین حیوان، $e_{ijklmno}$: اثر عوامل باقی‌مانده.

داده‌های مربوط به تعیین ژنوتیپ دام‌ها و داده‌های مربوط به وزن بدن، فراسنجه‌های خونی (تری‌گلیسرید و کلسترول خون)، داده‌های بیومتری، عوامل ثابت قابل دسته‌بندی مانند سن، جنس، چگونگی زایش، سن مادر، سال و ماه به دنیا آمدن و اثر حیوان به عنوان عامل تصادفی با نرم‌افزار SAS 9.12 و رویه MIXED ارزیابی شدند. مدل آماری بکار رفته برای هر یک از نژادها و گروه‌های دامی بسته به نوع آنالیز و عوامل موثر بر آن متفاوت است.

مدل ۲) $$Y_{ijklmno} = \mu + G_i + g_j + Cg_k + (gCg)_{jk} + Animal_l + e_{ijkl}$$

Y_{ijkl}: مقدار صفت برای هر دام، μ: میانگین جامعه، G_i: اثر i امین ژنوتیپ، g_j: اثر j امین جنس، Cg_k: اثر k امین گروه نمونه‌برداری، $(gCg)_{jk}$: اثرات متقابل بین جنس و گروه نمونه‌برداری، $Animal_l$: اثر l امین حیوان، e_{ijkl}: اثر عوامل باقی‌مانده.

مدل دوم برای داده‌های مربوط به فراسنجه‌های خونی و صفات بیومتری است. جنس و ژنوتیپ به عنوان عوامل ثابت قابل دسته‌بندی در معادله مدل قرارگرفته‌است.

مدل ۳) $$Y_{ijklm} = \mu + B_i + A_j + g_k + G_l + b(W_m - \overline{W}) + (Bg)_{ik} + Animal_m + e_{ijklm}$$

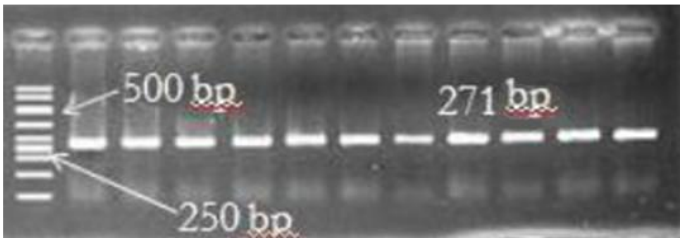
Y_{ijklm}: مقدار صفت برای هر دام، μ: میانگین جامعه، B_i: اثر i امین نژاد، A_j: اثر j امین سن دام، g_k: اثر k امین جنس، G_l: اثر l امین ژنوتیپ، b: ضریب تابعیت Y روی W (وزن دام‌ها در هنگام خونگیری)، W_m: وزن دام در هنگام کشتار، $\overline{W}$: میانگین وزن دام‌های خونی‌گیری شده، $(Bg)_{ik}$: اثر متقابل بین نژاد و جنس، $Animal_m$: اثر m امین حیوان، e_{ijklm}: اثر عوامل باقی‌مانده.

در این بخش صفت‌های مشترک بین دام‌های ایستگاه بهنژادی شولی و دام‌های کشتارگاه صنعتی شهر فارسان نژاد لری-بختیاری که در برگیرنده فراسنجه‌های خونی و صفت‌های بیومتری هستند با هم ارزیابی شدند. جنس و ژنوتیپ فرد برای هر یک از جایگاه‌ها به عنوان عوامل ثابت قابل دسته‌بندی در معادله مدل قرار گرفتند.

بررسی آماری ارتباط بین صفات با عوامل موجود در مدل: داده‌های مربوط به تعیین ژنوتیپ، داده‌های بیومتری، فراسنجه‌های خونی (تری‌گلیسرید و کلسترول خون)، عوامل ثابت قابل دسته بندی مانند سن، جنس، چگونگی زایش، سن مادر، سال و ماه بدنیا آمدن پس از ویرایش در برنامه Excel با نرم افزار SAS 9.12 و رویه MIXED ارزیابی شدند.

نتایج و بحث

جداسازی DNA به روش بهینه یافته نمکی انجام گرفت؛ سپس برای ارزیابی DNA، نمونه‌ها بر روی ژل آگارز الکتروفورز شدند و پس از اطمینان حاصل کردن از وجود DNA، برای پی بردن به مقدار و میزان آلودگی آن، نزدیک به ۳۲۵ نمونه DNA جداسازی شده و حدود ۱۴۴ نمونه با دستگاه نانودراپ ارزیابی شد که میزان غلظت DNA در نمونه‌ها ۱۸۰ ng/μL و میانگین نسبت جذب در طول موج ۲۶۰ نانومتر به ۲۸۰ نانومتر (A_{260}/A_{280}) برابر ۱.۹ بود. پس از انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و تکثیر هر بخش برای پی بردن به چگونگی فرآورده‌ها و درستی بخش تکثیریافته همه نمونه‌ها بر روی ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز شدند (شکل ۱).



شکل ۱. نتیجه الکتروفورز محصول PCR (قطعات ۲۷۱ جفت بازی)

Figure 1. Electrophoresis result of the PCR product (271 bp fragments)

برای داده‌ها آزمون نرمال بودن انجام گرفت. برای مثال اضافه وزن روزانه در بره‌های نژاد زل دارای توزیع نرمال بود ولی صفت اندازه دور دم از توزیع نرمال پیروی نمی‌کرد. کمینه، بیشینه، میانگین، انحراف معیار و ضریب تغییرات صفات مربوط به وزن، پارامترهای خونی و بیومتری، صفات عملکردی و تولیدی مانند وزن تولد، وزن از شیرگیری، اضافه وزن روزانه و شاخص کلیبر مربوط به هر یک از نژادهای مورد بررسی در جداول ۱، ۲ و ۳ آمده‌است.

جدول ۱. ویژگی‌های آماری صفات گوسفندان نژاد لری-بختیاری

Table 1. Statistical characteristics of traits in Lori-Bakhtiari sheep

ضریب تغییرات Coefficient of Variation	انحراف استاندارد Standard deviation	میانگین Mean	بیشینه Maximum	کمینه Minimum	صفت 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	تری‌گلیسرید (mg/dL) Triglyceride
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 circumference
6.46	6.83	105.65	128	88	دور شکم (cm) Abdominal circumference
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 diameter
11.52	8.10	70.32	98	53	دور بالای دنبه (cm) Upper tail fat circumference
10.53	6.50	61.70	79	49	دور میانی دنبه (cm) Middle tail fat circumference
12.92	6.58	50.62	72	35	دور پایین دنبه (cm) Lower tail fat circumference
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) Tail fat cleft length
12.10	5.62	46.40	74	34	عرض بالای دنبه (cm) Upper tail fat width
11.85	4/83	40.83	54	28	عرض میانی دنبه (cm) Middle tail fat width
25.72	6/09	23.70	42	15	عرض پایین دنبه (cm) Lower tail fat 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 ازشیرگیری (kg) Weaning weight
13.02	41.02	314.92	429	212	اضافه وزن روزانه (g) Daily weight gain
5.39	1.21	22.41	25.36	17.72	شاخص کلیبر (g) Kleiber index

جدول ۲. ویژگی‌های آماری صفات گوسفندان نژاد زل

Table 2. Statistical characteristics of traits in Zel sheep

ضریب تغییرات Coefficient of Variation	انحراف استاندارد Standard deviation	میانگین Mean	بیشینه Maximum	کمینه Minimum	صفت Trait
19.3	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	اضافه وزن روزانه (g) Daily weight gain
20.67	3.43	16.57	21.78	9	شاخص کلیبر (g) Kleiber index
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	59.91	72	52	Height (cm) قد
10.06	7.98	79.32	96	64	دور سینه (cm) Chest circumference
10.61	8.70	81.96	100	63	دور شکم (cm) Abdominal circumference
22.84	7.00	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	تری‌گلیسرید (mg/dL) Triglyceride

در مجموع برای تعیین ژنوتیپ دو نژاد زل و لری-بختیاری در ناحیه تکثیر شـــده ژن لپتین به روش PCR-SSCP نه الگوی ژنوتیپی مشـاهده (شـکل ۲) و از هر الگو دو نمونه برای تولی‌یابی (با روش سـنگر) ارسـال شـد. پس از توالی یابی الگوهای حاصل از PCR-SSCP سه جهش شناسایی شد. یک جهش (C+ ۱۳۲۸) در ناحیه کدکننده ژن قراردارد، و از نوع اضافه بوده و یک باز سـیتوزین وارد توالی شـده‌اسـت. در اثر این جهش کد اسـیدآمینه ۳۱ به کدون پایان تبدیل می‌شـود و پروتئینی ناقص با ۳۰ اسیدآمینه ساخته می‌شود (جدول ۴). این جهش برای نخستین بار شناسایی شده‌است. همچنین این نوع جهش (2730C-) پیش‌تر در اینترون ۲ ژن لپتین نژادهای گوسفند پاکستانی (لوهی، کاجلی و سیپلی) نیز گزارش شده‌است (Quereshi et al., 2015)، و می‌تواند به عنوان نشانگر مولکولی امیدبخشی برای برنامه‌های اصلاح نژاد در گوسفندان ایرانی مورد توجه قرار گیرد.

جدول ۳. ویژگی‌های آماری اندازه‌های بدن و فراسنجه‌های خونی دام‌های نژاد لری-بختیاری (صفات مشترک)

Table 3. Statistical characteristics of body measurements and blood parameters in Lori-Bakhtiari sheep (Common traits)

ضریب تغییرات Coefficient of Variation	انحراف استاندارد Standard deviation	میانگین Mean	بیشینه Maximum	کمینه Minimum	صفت Trait
15.19	5.74	37.77	55	27	دور گردن (cm) Neck circumference
7.18	6.85	95.35	120	73	دور سینه (cm) Chest circumference
7.49	7.76	103.63	128	82	دور شکم (cm) Abdominal circumference
6.32	4.53	71.69	85	60	قد (cm) Height
5.36	3.37	63	78	49	طول بدن (cm) Body length
9.22	2.94	31.87	38	23	دور ران (cm) Thigh circumference
26.06	1.16	4.46	8.5	2	قطر دنبه (cm) Tail fat diameter
11.28	7.82	69.29	98	49	دور بالای دنبه (cm) Upper tail fat circumference
11.37	7.11	62.56	81	45	دور میانی دنبه (cm) Middle tail fat circumference
16.52	8.78	53.15	82	21	دور پایین دنبه (cm) Lower tail fat circumference
20.04	5.88	29.32	53	18	طول وسط (cm) Middle length
27.33	5.01	18.33	33	8	طول سمت چپ (cm) Left length
28.33	5.12	18.06	33	8	طول سمت راست (cm) Right length
28.45	4.16	16.35	27	6	طول شکاف دنبه (cm) Tail fat cleft length
11.67	5.45	46.57	74	34	عرض بالای دنبه (cm) Upper tail fat width
13.45	5.73	42.64	59	28	عرض میانی دنبه (cm) Middle tail fat width
25.52	6.44	25.25	48	15	عرض پایین دنبه (cm) Lower tail fat width
17.71	10.6	59.85	99.77	36.58	کلسترول (mg/dL) Cholesterol
28.55	10.68	37.4	78.14	16.17	تری‌گلیسرید (mg/dL) Triglyceride

دو جهش دیگر در بخش اینترون بوده و نقشی در ساختار پروتئین لپتین ندارد. دست آوردهای این پژوهش نشان می‌دهد که گوسفندان ایرانی برای جهش رخ داده در نوکلئوتید ۱۴۶۷ (C/G) یکسان هستند و چندشکلی ندارند. نتایج این مطالعه نشان داد که جهش A/G در موقعیت نوکلئوتیدی ۱۴۱۶ (A1416G) در نژادهای ایرانی، همسو با یافته‌های مطالعات پیشین است.

مطالعات بر روی نژادهای دورست و سافولک (Boucher et al., 2006) وجود این پلی‌مورفیسم (A103G) را با تغییرات در رشد عضلانی و ترکیب فیبرهای عضلانی مرتبط دانسته‌اند. در نژادهای شال، زل و زندی (Barzehkar et al., 2009)، این واریانت با تغییرات معنی‌دار در صفات رشدی از جمله کاهش وزن از شیرگیری در نژاد زندی ($p<0.05$) و تغییرات در وزن کشتار در نژاد زل ($p<0.01$) همراه بود. همچنین گزارش این جهش در نژادهای زل و لری-بختیاری (Moradi Shahrebabak, 2009)و شناسایی آن(A3201G) در نژادهای پاکستانی لوهی، کاجلی و سیپلی (Quereshi et al., 2015)، حاکی از حفظ این جایگاه ژنتیکی در جمعیت‌های متنوع و اهمیت بالقوه آن در صفات رشدی است.

شکل ۲. الگوهای باندی مشاهده شده در اگزون ۲ ژن لپتین

Figure 2. Banding patterns observed in exon 2 of the leptin gene

جدول ٤. توالی ساختمان نوع اول پروتئین لپتین قبل و بعد از جهش در نوکلئوتید ۱۳۲۸

Table 4. Sequence of leptin protein structure type I before and after mutation at nucleotide 1328

وضعیت جهش Mutation Status	بخشی از توالی مربوط به ساختمان نوع اول پروتئین لپتین در گوسفند Part of the sequence related to the leptin Protein structure of type I in sheep
قبل از جهش Before mutation	MRCGPLYRFLWLWPYLSYVEAVPIRKVQD[2]
بعد از جهش After mutation	MRCGPLYRFLWLWPYLSYVEAVPIRKVPG*

از مقایسه توالی‌های حاصله با توالی پایگاه داده NCBI به شماره ثبت HE605296.1 شش ژنوتیپ شناسایی شدند که در جدول ۵ آورده شده‌است. با توجه به داده‌های جدول ۶، در نژاد بختیاری گوناگونی بسیاری وجود دارد ولی در نژاد زل از این شش ژنوتیپ تنها سه ژنوتیپ وجود دارد، که ژنوتیپ شش رو به پایدار شدن در این جمعیت است.

[6] *https://proteomics.ysu.edu/tools/OrfPredictor.htm*

جدول ۵. جهش‌ها و ژنوتیپ‌های اگزون دو و بخشی از اینترون دو ژن لپتین

Table 5. Mutations and genotypes of exon 2 and part of intron 2 of the leptin gene

Base number		شماره‌ی باز		Genotype	ژنوتیپ
1328	1416	1467	1566		
-	A	C	T	HE605296.1	AACCTT
-	A	C	T	1	AACCTT
-	A	C	C	2	AACCCC
-	G/A	C	C	3	AGCCTT
-	G	C	T	4	GGCCTT
C	G	C	T	5	CCGGCCTT
C	A	C	T	6	CCAACCTT

جدول ٦. درصد فراوانی ژنوتیپ‌های اگزون دو و بخشی از اینترون دو ژن لپتین

Table 6. Frequency percentage of exon 2 and part of intron 2 genotypes of the leptin gene

ژنوتیپ شش Genotype 6	ژنوتیپ پنج Genotype 5	ژنوتیپ چهار Genotype 4	ژنوتیپ سه Genotype 3	ژنوتیپ دو Genotype 2	ژنوتیپ یک Genotype 1	نژاد Breed
25	30	2	7	11	25	لری-بختیاری Lori-Bakhtiari
88	5	0	0	7	0	زل Zel

با توجه به داده‌های جدول ۷، جهش‌های مشاهده‌شده در نوکلئوتیدهای ۱۴۱۶ و ۱۵۶۶ در نژاد زل از فراوانی بسیار کمی برخوردارند، در حالی که در نژاد بختیاری پراکندگی قابل توجهی نشان می‌دهند. این یافته‌ها در کنار مطالعات پیشین که ارتباط بین جهش‌های ژن لپتین و صفات فیزیولوژیک را نشان داده‌اند، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. به عنوان مثال، در گوسفندان دورگه مرینو-آواسی، جهش C به T در اگزون ۲ با سطوح پروتئین لپتین در گردش خون و مصرف خوراک ارتباط معنی‌داری داشته‌است (Jonas et al., 2016). این مشاهدات جمعی نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی در ژن لپتین می‌تواند تأثیرات عملکردی مهمی داشته باشد، اگرچه الگوی این تأثیرات ممکن است در بین نژادهای مختلف متفاوت باشد. در مطالعه‌ای فراوانی آللی باز G را در نوکلئوتید ۱۴۱۶ برای نژادهای دورست و سافولک به ترتیب ۰/۱۳ و ۰/۰۷ و برای نژادهای شال، زل و زندی به ترتیب ۰/۲۶، ۰/۱۵ و ۰/۱۸ گزارش کرده‌اند (Boucher, 2006)، که با دست‌آوردهای این پژوهش در مورد نژاد زل تفاوت زیادی دارد. اما دست‌آوردهای این پژوهش با نژادهای خارجی که از دید ریخت‌شناسی دست کم درباره دنبه به نژاد زل نزدیک‌ترند همخوانی بیشتری دارد. ولی در مورد دیگر نژادها تفاوت‌ها چشمگیر نیست.

جدول ۷. فراوانی‌های آللی جهش‌های اگزون دو و بخشی از اینترون دو ژن لپتین

Table 7. Allele Frequencies of Exon 2 and Partial Intron 2 Mutations in the Leptin Gene

فراوانی آللی به تفکیک شماره‌ی باز جهش یافته Allele frequency by mutant base number			نژاد Breed
1328 (+C)	1416 (A/G)	1566 (T/C)	
0.552	0.359	0.179	لری-بختیاری Lori-Bakhtiari
0.935	0.039	0.065	زل Zel

نژاد لری-بختیاری: در نژاد لری-بختیاری اثر جنس بر صفات اندازه‌گیری شده بسیار معنی‌دار دیده‌شد ($p<0.001$). چندقلو بودن یکی از عوامل مهم بر روی صفات تولیدی بود و میانگین بره‌های تک‌قلو نسبت به بره‌های دیگر در این صفات بیشتر بود. اثر چگونگی تولد بر برخی صفات معنی دار نبود، ولی به این علت که ضریب تبیین مدل به صورت چشم گیری افزایش می‌یافت بنابراین در مدل قرارگرفت. ماه تولد بیشترین اثر را بر وزن تولد داشت و بره‌هایی که در اسفند ماه بدنیا آمده‌بودند نسبت به بره‌های متولد بهمن ماه سنگین‌تر بودند. اثر سن مادر بر وزن تولد و وزن از شیرگیری معنی‌دار بود ($p<0.01$) و با افزایش سن مادر، وزن بره‌ها افزایش می‌یافت. همچنین برای صفات قطر دنبه، دور پایین دنبه، طول چپ و راست و عرض بالا و پایین دنبه نیز اثر سن مادر معنی دار بود ($p<0.05$). این شش ژنوتیپ در نژاد لری-بختیاری با صفات وزن تولد، افزایش وزن روزانه، نسبت کلیبر، وزن از شیرگیری، دور شکم، دور میانی دنبه، طول شکاف دنبه و میزان تری‌گلیسرید خون رابطه معنی داری دارند ($p<0.05$). از میان این شش ژنوتیپ، ژنوتیپ پنج بجز در مورد میزان تری‌گلیسرید کمترین مقدارها را داشته‌است. در این نژاد ژنوتیپ‌های سه و شش نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها برتری دارند، اما برای صفت عرض بالای دنبه با یکدیگر متفاوت اند ($p<0.001$) ژنوتیپ سه کمترین و ژنوتیپ شش بیشترین عرض بالای دنبه را دارند.

نژاد زل: در نژاد زل، جنس با طول بدن، قد، طول دم ($p<0.05$)، دور سینه و دورگردن ($p<0.01$) رابطه معنی‌داری داشته‌است. اثر چگونگی تولد تاثیر معنی داری بر هیچ یک از صفات ارزیابی شده نداشت، اما وجود آن در معادله مدل برخی از صفات افزایش ضریب تبیین مدل را در پی داشت. ماه تولد بیشترین اثر را بر افزایش وزن روزانه و نسبت کلیبر داشت ($p<0.01$) و بره‌هایی که در مهرماه و اردیبهشت ماه بدنیا آمدند به ترتیب بیشترین و کمترین افزایش وزن روزانه را داشتند؛ همچنین در این نژاد بین ماه تولد و وزن سه ماهگی، دور ران، طول بدن، طول دم، دور دم و دور سینه رابطه معنی دارد وجود داشت ($p<0.05$). در نژاد زل اثر سن دام بر صفات طول دم، دور دم و دور سینه معنی‌دار بود ($p<0.05$)، همچنین سن دام چون برای صفات قد دام و میزان کلسترول خون افزایش ضریب تبیین را به همراه داشت در معادله مدل آن‌ها قرارگرفت ولی برای صفات دیگر اثر معنی داری نداشته و از معادله مدل آن‌ها حذف گردید.

جدول ۸. میانگین حداقل مربعات (±S.E) صفات گوناگون برای ژنوتیپ‌ها شناسایی شده در نژاد لری-بختیاری

Table 8. Least squares mean (±S.E) of various traits for genotypes identified in Lori-Bakhtiari breed

صفت Trait	ژنوتیپ یک Genotype 1	ژنوتیپ دو Genotype 2	ژنوتیپ سه Genotype 3	ژنوتیپ چهار Genotype 4	ژنوتیپ پنج Genotype 5	ژنوتیپ شش Genotype 6
وزن تولد* Birth weight	4.78^{b}±0.16	4.91^{ab}±0.28	4.86^{ab}±0.31	4.62^{ab}±0.47	4.68^{b}±0.18	5.06^{a}±0.26
افزایش وزن روزانه* Daily weight gain	340.00^{b}±15.23	334.39^{b}±16.27	367.18^{a}±18.40	355.09^{ab}±27.39	344.56^{ab}±14.01	343.09^{ab}±15.09
نسبت کلیبر (ns) Kleiber index	23.09^{a}±0.48	22.99^{a}±0.52	23.61^{a}±0.58	23.37^{a}±0.84	23.04^{a}±0.44	22.82^{a}±0.48
وزن از شیرگیری (ns) Weaning weight	36.80^{a}±1.44	36.40^{a}±1.55	38.65^{a}±1.71	38.85^{a}±2.56	37.68^{a}±1.33	36.90^{a}±1.40
کلسترول (ن)* Cholesterol	1.74^{b}±0.0036	1.74^{ab}±0.0053	1.75^{a}±0.0068	1.71^{b}±0.0145	1.74^{b}±0.0033	1.73^{b}±0.0035
تری‌گلیسرید (ن) (ns) Triglyceride	2.27^{a}±0.042	2.28^{a}±0.045	2.21^{a}±0.051	2.32^{a}±0.075	2.25^{a}±0.038	2.24^{a}±0.041
دور گردن (ns) Neck circumference	40.12^{a}±0.86	39.53^{a}±1.01	40.22^{a}±1.25	40.25^{a}±2.26	40.60^{a}±0.80	40.31^{a}±0.85
دور سینه (ns) Chest circumference	100.9^{a}±2.38	102.11^{a}±2.53	103.93^{a}±2.88	106.86^{a}±4.29	101.74^{a}±2.19	101.83^{a}±2.34
دور شکم (ns) Abdominal circumference	109.71^{a}±2.56	109.17^{a}±2.73	111.16^{a}±3.10	110.65^{a}±4.63	109.87^{a}±2.36	109.50^{a}±2.52
قد (ns) Height	72.67^{a}±0.82	71.86^{a}±0.96	73.49^{a}±1.19	75.95^{a}±2.15	72.47^{a}±0.76	72.50^{a}±0.81
دور ران (ns) Thigh circumference	33.25^{a}±0.59	32.89^{a}±0.69	33.72^{a}±0.86	35.27^{a}±1.56	33.26^{a}±0.55	32.95^{a}±0.59
قطر دنبه (ns) Tail fat diameter	4.39^{a}±0.23	4.30^{a}±0.27	4.77^{a}±0.33	3.95^{a}±0.60	4.29^{a}±0.21	4.26^{a}±0.23
دور بالای دنبه (ns) Upper tail fat circumference	71.40^{a}±3.10	71.75^{a}±3.30	74.94^{a}±3.75	80.02^{a}±5.60	73.22^{a}±2.85	73.05^{a}±3.04
دور میانی دنبه (ن) (ns) Middle tail fat circumference	63.31^{a}±1.52	64.47^{a}±1.78	66.58^{a}±1.21	69.66^{a}±4.01	64.19^{a}±1.42	65.27^{a}±1.51
دور پایین دنبه (ns) Lower tail fat circumference	52.67^{a}±1.57	52.18^{a}±1.83	54.82^{a}±2.28	50.09^{a}±4.12	52.99^{a}±1.46	52.76^{a}±1.55
طول میانی دنبه (ns) Middle tail fat length	2.59^{a}±0.018	2.57^{a}±0.021	2.61^{a}±0.027	2.62^{a}±0.048	2.59^{a}±0.017	2.58^{a}±0.018
طول راست (ns) Right Length	19.42^{a}±1.20	18.40^{a}±1.29	19.49^{a}±1.45	17.05^{a}±2.19	19.15^{a}±1.12	19.59^{a}±1.19
طول شکاف دنبه (ns) Tail fat cleft length	18.06^{a}±1.09	18.47^{a}±1.16	18.99^{a}±1.32	17.45^{a}±1.97	18.33^{a}±1.00	18.67^{a}±1.07
عرض بالای دنبه** Upper tail fat width	45.11^{b}±1.86	47.24^{b}±1.28	46.95^{b}±1.22	47.89^{ab}±1.21	47.88^{ab}±1.44	50.28^{a}±1.32
عرض میانی دنبه (ns) Middle tail fat width	41.54^{a}±1.23	42.65^{a}±1.44	44.04^{a}±1.78	44.73^{a}±3.23	43.76^{a}±1.14	43.54^{a}±1.22
عرض پایین دنبه (ن) (ns) Lower tail fat width	1.45^{a}±0.007	1.44^{a}±0.008	1.46^{a}±0.01	1.44^{a}±0.018	1.45^{a}±0.006	1.45^{a}±0.007

* و ** به ترتیب نشان دهنده معنی داری در سطح ۵ درصد و ۱ درصد بوده و حرف (ن) نرمال شدن را نشان می‌دهد. (ns) نشان دهنده عدم معنی‌داری است.

جدول ۹. میانگین حداقل مربعات (±S.E) صفات گوناگون برای ژنوتیپ‌ها شناسایی شده در نژاد زل

Table 9. Least squares mean (±S.E) of various traits for genotypes identified in Zel breed

ژنوتیپ شش Genotype 6	ژنوتیپ پنج Genotype 5	ژنوتیپ دو Genotype 2	صفت Trait
$3.52^{a}\pm0.26$	$2.10^{b}\pm0.61$	$3.48^{a}\pm0.64$	وزن تولد* Birth weight
$124.99^{a}\pm11.41$	$157.02^{a}\pm32.55$	$144.49^{a}\pm31.36$	افزایش وزن روزانه (ns) Daily weight gain
$17.71^{a}\pm0.98$	$18.97^{a}\pm3.97$	$19.66^{a}\pm2.75$	وزن از شیرگیری (ns) Weaning weight
$18.04^{b}\pm0.67$	$18.91^{ab}\pm1.42$	$21.64^{a}\pm1.75$	طول دم* Tail length
$2.47^{a}\pm0.03$	$2.37^{a}\pm0.06$	$2.42^{a}\pm0.07$	دور دم (ن) (ns) Tail circumference
$26.75^{ab}\pm0.90$	$23.29^{b}\pm2.03$	$29.00^{a}\pm2.07$	دور ران* Thigh circumference
$55.37^{a}\pm1.10$	$55.09^{a}\pm2.27$	$56.87^{a}\pm2.3$	طول بدن (ns) Body length
$82.91^{a}\pm2.33$	$82.91^{a}\pm5.11$	$85.72^{a}\pm5.22$	دور سینه (ns) Chest circumference
$81.79^{a}\pm2.32$	$81.47^{a}\pm5.22$	$86.81^{a}\pm5.31$	دور شکم (ns) Abdominal circumference
$0.48^{a}\pm0.00$	$0.48^{a}\pm0.00$	$0.48^{a}\pm0.00$	دور گردن (ن) (ns) Neck circumference
$52.74^{a}\pm2.99$	$51.79^{a}\pm9.55$	$58.79^{a}\pm9.85$	کلسترول (ns) Cholesterol
$2.79^{b}\pm0.16$	$3.26^{a}\pm0.63$	$4.21^{a}\pm0.61$	تری‌گلیسرید (ن)* Triglyceride

* نشان‌دهنده معنی داری در سطح ۵ درصد است و حرف (ن) نرمال شدن را نشان می‌دهد. (ns) نشان دهنده عدم معنی‌داری است.

در نژاد زل ژنوتیپ‌های دو، پنج و شش دیده شد، که در این نژاد وزن تولد با این سه ژنوتیپ رابطه معنی داری داشت ($p<0.05$)؛ بره‌هایی که دارای ژنوتیپ پنج بودند نسبت به دو ژنوتیپ دیگر وزن تولد کمتری داشتند. گوسفندان زلی که ژنوتیپ پنج را داشتند دور ران و طول بدن کمتری نسبت به دو ژنوتیپ دیگر داشتند ($p<0.05$)، ولی برای صفات طول دم و میزان تری‌گلیسرید خون ژنوتیپ شش با دو ژنوتیپ دیگر تفاوت داشت و در دام‌های با ژنوتیپ شش میزان تری‌گلیسرید کمتر از دو نژاد دیگر بود. دام‌های با ژنوتیپ یک بیشترین میزان تری‌گلیسرید را داشتند ($p<0.05$).

صفات مشترک: اثرات متقابل تنها برای صفات دور گردن و طول بدن معنی‌دار دیده‌شد و برای دیگر صفات اثری نداشت و بنابراین از مدل حذف گردید. اثر جنس در نژاد لری–بختیاری بر روی همه صفت‌ها معنی دار بود ($p<0.001$)، و بجز کلسترول برای صفات دیگر در دام‌های نر مقدار بیشتری داشت. گروه نمونه‌برداری که برپایه آن دام‌های نژاد لری–بختیاری به دو گروه کشتارگاهی و ایستگاهی قرارگرفتند، بجز طول دنبه، طول شکاف دنبه و فراسنجه‌های خونی بر دیگر صفات اثر معنی‌دار داشت ($p<0.01$). در نهایت قابل ذکر است که با توجه به نتایج به دست آمده و ارتباط این ژن با صفات رشد میتوان این ژن را به عنوان

یک ژن کاندیدا و عمده اثر در ارتباط با صفات رشد در گوسفند در نظر گرفت و در برنامه های اصلاح نژادی در ارتباط با صفات رشد و لاشه از آن بهره برد.

جدول ۱۰. میانگین حداقل مربعات (±S.E) صفات گوناگون برای اثرات متقابل بین جنس و گروه نمونه برداری

Table 10. Least squares mean (±S.E) of various traits for interaction effects between sex and sampling group

اثرات متقابل جنس و گروه نمونه‌گیری Interaction Effects of Sex and Sampling Group				صفت Trait
ماده کشتارگاهی Slaughterhouse Female	نر کشتارگاهی Slaughterhouse Male	ماده ایستگاهی Station Female	نر ایستگاهی Station Male	
$28.35^{c}\pm1.49$	$34.52^{b}\pm0.56$	$35.35^{b}\pm0.56$	$46.37^{a}\pm0.53$	دور گردن Neck circumference
$2.55^{d}\pm1.013$	$2.61^{c}\pm0.005$	$2.63^{b}\pm0.005$	$2.66^{a}\pm0.005$	طول بدن (ن) Body length

حرف (ن) نرمال شدن را نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری: در نژاد زل ژنوتیپ‌های دو، پنج و شش دیده شدند که با صفات وزن تولد، طول دم، طول بدن، دور ران و میزان تری‌گلیسرید خون رابطه معنی داری داشتند. در نژاد لری-بختیاری هر شش ژنوتیپ مشاهده شدند، که بیانگر گوناگونی بسیار بالای این نژاد می‌باشد. این ژنوتیپ‌ها با صفات تری‌گلیسرید، دور سینه، طول و قد حیوان، دور بالای دنبه، دور میان دنبه، عرض میان و بالای دنبه، طول راست و چپ، و طول شکاف دنبه رابطه معنی داری داشتند. در نژاد لری-بختیاری همانند نژاد زل دام‌های با ژنوتیپ پنج کمترین کارکرد را داشت. همچنین ژنوتیپ شش که در نژاد زل که نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها برتری داشت، در نژاد لری-بختیاری نیز در بسیاری از صفات همانند ژنوتیپ سه برتر بود. بره‌های با ژنوتیپ پنج در هر دو نژاد وزن تولد کمتری داشتند که این اختلاف معنی دار بود ($p<0.05$). درنتیجه می‌توان از چندشکلی‌های این ژن در انتخاب دام برتر استفاده کرد. شناسایی جایگاه‌های ژنی و ژن‌های مؤثر بر صفات رشد و لاشه، نقش کلیدی در برنامه‌های اصلاح نژاد ایفا می‌کند. در این زمینه، ژن لپتین به‌عنوان یکی از مهم‌ترین ژن‌های کاندید، در تنظیم مصرف خوراک و صفات مرتبط با رشد و لاشه شناخته می‌شود. این مطالعه برای نخستین‌بار جهش‌هایی را در ژن لپتین نژادهای گوسفند ایرانی شناسایی کرده و ارتباط آن را با صفات فوق بررسی نموده است. نتایج، ارتباط معناداری بین این جایگاه‌های ژنی و صفات مورد مطالعه را نشان داد که بر اهمیت ژن لپتین وQTL های وابسته به آن در کنترل صفات اقتصادی تأکید دارد. یافته‌های این تحقیق می‌تواند پایه‌ای ارزشمند برای برنامه‌های انتخاب و اصلاح نژاد گوسفندان ایرانی باشد.

سپاسگزاری: از قطب علمی بهبود کمیت و کیفیت لاشه گروه مهندسی علوم دامی دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی کرج، مراکز تحقیقات استان‌های چهارمحال و بختیاری و گلستان، مدیر کل اداره امور دام استان‌های مازندران و گلستان، سازمان دامپزشکی کل استان گلستان و اداره دامپزشکی شهرستان گرگان جهت همکاری در نمونه‌برداری، خونگیری و بیومتری دام‌ها و

همچنین از آزمایشـــگاه بیوتکنولوژی گروه مهندســـی علوم دامی دانشـــکدگان کشـــاورزی و منابع طبیعی کرج و مرکز تشـــخیص بیماری‌های سازمان دامپزشکی کل کشور جهت انجام PCR نمونه‌ها کمال تشکر و سپاسگزاری به عمل می‌آید.

جدول ۱۱. میانگین حداقل مربعات (±S.E) صفات گوناگون مشترک برای ژنوتیپ شناسایی شده در نژاد لری-بختیاری

Table 11. Least squares mean (±S.E) of various common traits for genotypes identified in Lori-Bakhtiari breed

ژنوتیپ شش Genotype 6	ژنوتیپ پنج Genotype 5	ژنوتیپ چهار Genotype 4	ژنوتیپ سه Genotype 3	ژنوتیپ دو Genotype 2	ژنوتیپ یک Genotype 1	صفت Trait
36.40^{a}±0.65	36.22^{a}±0.61	35.72^{a}±1.70	36.13^{a}±0.86	36.00^{a}±0.74	36.42^{a}±0.64	دور گردن (ns) Neck circumference
92.44^{a}±1.07	92.26^{a}±1.00	95.42^{a}±3.25	94.07^{a}±1.58	94.67^{a}±1.27	92.53^{a}±1.09	دور سینه (ns) Chest circumference
100.00^{b}±1.24	100.44^{ab}±1.16	107.59^{a}±3.77	102.99^{ab}±1.83	100.96^{ab}±1.47	101.63^{ab}±1.26	دور شکم * Abdominal circumference
70.52^{a}±0.59	70.16^{a}±0.55	72.83^{a}±1.79	70.78^{a}±0.86	71.10^{a}±0.70	70.51^{a}±0.60	قد (ns) Height
2.61^{a}±0.006	2.60^{a}±0.005	2.62^{a}±0.015	2.61^{a}±0.007	2.61^{a}±0.006	2.61^{a}±0.006	طول (ن) (ns) Length
30.61^{a}±0.42	30.61^{a}±0.39	31.61^{a}±1.27	30.93^{a}±0.62	30.71^{a}±0.50	30.67^{a}±0.42	دور ران (ns) Thigh circumference
4.57^{a}±0.20	4.58^{a}±0.18	4.35^{a}±0.60	4.84^{a}±0.29	4.83^{a}±0.23	4.75^{a}±0.20	قطر دنبه (ns) Tail fat diameter
2.85^{a}±0.06	2.80^{a}±0.05	2.92^{a}±0.17	2.81^{a}±0.08	2.82^{a}±0.07	2.77^{a}±0.06	دور بالای دنبه (ن) (ns) Upper tail fat circumference
8.28^{a}±0.07	8.12^{b}±0.06	8.26^{ab}±0.21	8.13^{ab}±0.10	8.20^{ab}±0.08	8.14^{b}±0.07	دور میانی دنبه (ن)** Middle tail fat circumference
8.76^{a}±0.38	8.25^{a}±0.36	7.40^{a}±0.16	8.22^{a}±0.57	8.71^{a}±0.46	8.71^{a}±0.39	دور پایین دنبه (ن) (ns) Lower tail fat circumference
1.63^{a}±0.005	1.63^{a}±0.004	1.63^{a}±0.014	1.63^{a}±0.007	1.63^{a}±0.006	1.63^{a}±0.005	طول دنبه (ن) (ns) Tail fat length
19.70^{a}±0.63	18.55^{a}±0.59	17.17^{a}±0.92	20.02^{a}±0.93	19.61^{a}±0.75	19.10^{a}±0.64	طول چپ (ns) Left Length
19.33^{a}±0.63	18.39^{a}±0.59	16.64^{a}±0.92	19.78^{a}±0.93	19.41^{a}±0.75	19.07^{a}±0.64	طول راست (ns) Right Length
16.88^{ab}±0.57	16.36^{b}±0.53	14.59^{ab}±1.72	17.96^{ab}±0.83	17.90^{a}±0.67	16.66^{ab}±0.58	طول شکاف دنبه* Tail fat cleft length
46.81^{a}±0.83	45.78^{a}±0.77	48.58^{a}±2.50	46.64^{a}±1.22	47.35^{a}±0.98	45.39^{a}±0.84	عرض بالای دنبه (ns) Upper tail fat width
44.61^{a}±0.93	43.26^{a}±0.87	43.58^{a}±2.81	42.32^{a}±1.36	43.85^{a}±1.10	42.91^{a}±0.94	عرض میان دنبه (ns) Middle tail fat width
1.42^{a}±0/005	1.41^{a}±0.004	1.43^{a}±2.014	1.43^{a}±1.007	1.42^{a}±1.006	1.42^{a}±0.005	عرض پایین دنبه (ن) (ns) Lower tail fat width
1.733^{a}±0.005	1.734^{a}±0.004	1.736^{a}±0.01	1.437^{a}±0.007	1.732^{a}±0.005	1.734^{a}±0.005	کلسترول (ن) (ns) Cholesterol
5.31^{ab}±0.11	5.42^{ab}±2.10	5.88^{a}±2.31	5.12^{b}±0.16	5.29^{ab}±0.13	5.45^{a}±0.11	تری‌گلیسرید (ن)* Triglyceride

* و ** به ترتیب نشان دهنده معنی داری در سطح ۵ درصد و ۱ درصد بوده و حرف (ن) نرمال شدن را نشان می‌دهد. (ns) نشان دهنده عدم معنی‌داری است.

منابع

عالی محسن، مرادی شهربابک حسین، مرادی شهربابک محمد، صادقی مصطفی (۱۳۹۲) بررسی چندشکلی اگزون ۶ ژن کالپاستاتین به روش PCR-SSCP و ارتباط آن با صفات لاشه در گوسفندان لری‌بختیاری و زل‌آتابای. علوم دامی ایران ۴۴، ۱۳۰-۱۲۱.

مرادی شهربابک حسین (۱۳۸۸) ارتباط چندشکلی ژن‌های کالپاستاتین، میوستاتین، لپتین و پتاسیم با صفات مهم اقتصادی، و متابولیت‌های خونی و صفات لاشه در گوسفندان ماکوئی و زل. رساله دوره دکتری، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.

References

Aali, M., Moradi Shahrbabak, H., Moradi Shahrbabak, M., & Sadeghi, M. (2013). A Study of Polymorphism in Exon 6 of Calpastatin Gene through PCR- SSCP Method and Its Association with Carcass Traits in Lori-Bakhtiari and Zel-Atabay Sheep. *Iranian Journal of animal Science*, *44*(2), 121-130. https://doi.org/10.22059/ijas.2013.35561

Amirteymoori, E., Khezri, A., Dayani, O., Mohammadabadi, M., Khorasani, S., Mousaie, A., & Kazemi-Bonchenari, M. (2021). Effects of linseed processing method (ground versus extruded) and dietary crude protein content on performance, digestibility, ruminal fermentation pattern, and rumen protozoa population in growing lambs. *Italian Journal of Animal Science*, *20*(1), 1506–1517. https://doi.org/10.1080/1828051X.2021.1984324

Barzehkar, R., Salehi, A., & Mahjoubi, F. (2009). Polymorphisms of the Ovine Leptin Gene and its Association with Growth and Carcass Traits in Three Iranian Sheep Breeds. *Iranian Journal of Biotechnology*, *7*(4), 241-246. https://www.ijbiotech.com/article_7083.html

Boucher, D., Palin, M. F., Castonguay, F., Gariépy, C., & Pothier, F. (2006). Detection of polymorphisms in the ovine leptin (LEP) gene: Association of a single nucleotide polymorphism with muscle growth and meat quality traits. *Canadian Journal of Animal Science, 86*(1), 31-35. https://doi.org/10.4141/A05-052

Dornbush, S., & Aeddula, N. R. (2023). Physiology, Leptin. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537038/

Hajalizadeh, Z., Dayani, O., Khezri, A., Tahmasbi, R., Mohammadabadi, M., Solodka, T., Kalashnyk, O., Afanasenko, V. and Babenko, O. (2021). Expression of calpastatin gene in Kermani sheep using real-time PCR. *Journal of Livestock Science and Technologies*, *9*(2), 51-57. https://doi.org/10.22103/jlst.2021.18165.1381

Jonas, E., Martin, G. B., Celi, P., Li, L., Soattin, M., Thomson, P. C., & Raadsma, H. W. (2016). Association of polymorphisms in leptin and leptin receptor genes with circulating leptin concentrations, production and efficiency traits in sheep. *Small Ruminant Research, 136*, 78–86. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.01.010

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*(3), 1215. https://doi.org/10.1093/nar/16.3.1215

Mohammadabadi, M., Babenko Ivanivna, O., Borshch, O., Kalashnyk, O., Ievstafiieva, Y. and Buchkovska, V. (2024). Measuring the relative expression pattern of the UCP2 gene in different tissues of the Raini Cashmere goat. *Agricultural Biotechnology Journal*, *16*(3), 317-332. https://doi.org/10.22103/jab.2024.24337.1627

Mohammadabadi, M., Akhtarpoor, A., Khezri, A., Babenko, O., Stavetska, R. V., Tytarenko, I., Ievstafiieva, Y., Buchkovska, V., Slynko, V. and Afanasenko, V. (2024a). The role and diverse applications of machine learning in genetics, breeding, and biotechnology of livestock and poultry. *Agricultural Biotechnology Journal*, *16*(4), 413-442. https://doi.org/10.22103/jab.2025.24662.1644

Mohammadabadi, M., Golkar, A., Askari-Hesni, M., & Khezri, A. (2023). The effect of fennel (*Foeniculum vulgare*) on insulin-like growth factor 1 gene expression in the rumen tissue of Kermani sheep. *Agricultural Biotechnology Journal, 15*(4), 239–256. https://doi.org/10.22103/jab.2023.22647.1530

Mohammadabadi, M., Kheyrodin, H., Latifi, A., & Babenko, O. I. (2022a). mRNA expression profile of *DNAH1* gene in testis tissue of Raini Cashmere goat. *Agricultural Biotechnology Journal, 14*(3), 243–256. https://doi.org/10.22103/jab.2022.20199.1428

Mohammadabadi, M., Shaban Jorjandy, D., Arabpoor Raghabadi, Z., Abareghi, F., Sasan, H. A., & Bordbar, F. (2022b). The role of fennel on *DLK1* gene expression in sheep heart tissue.

Agricultural Biotechnology Journal, 14(2), 155–170. https://doi.org/10.22103/jab.2022.19402.1399

Moradi Shahrbabak, H. (2009). *Association of polymorphisms in calpastatin, myostatin, leptin, and potassium genes with important economic traits, blood metabolites, and carcass traits in Makooei and Zel sheep* [Doctoral dissertation, University of Tehran]. (In Persian)

Moschos, S., Chan, J. L., & Mantzoros, C. S. (2002). Leptin and reproduction: a review. *Fertility and Sterility*, *77*(3), 433–444. https://doi.org/10.1016/s0015-0282(01)03010-2

Nejad, F. M., Mohammadabadi, M., Roudbari, Z., & others. (2024). Network visualization of genes involved in skeletal muscle myogenesis in livestock animals. *BMC Genomics, 25*, 294. https://doi.org/10.1186/s12864-024-10196-3

Palmioli, E., Dall'Aglio, C., Fagotti, A., Simoncelli, F., Dobrzyn, K., Di Rosa, I., Maranesi, M., De Felice, E., Scocco, P., & Mercati, F. (2023). Leptin system is not affected by different diets in the abomasum of the sheep reared in semi-natural pastures of the Central Apennines. *Annals of Anatomy = Anatomischer Anzeiger : official organ of the Anatomische Gesellschaft*, *247*, 152069. https://doi.org/10.1016/j.aanat.2023.152069

Quereshi, Z. I., Farid, A. H., Babar, M. E., & Hussain, T. (2015). Leptin gene polymorphism in Lohi, Kajli, and Spili breeds of sheep. *Pakistan Veterinary Journal, 35*(3), 321–324.

Saadatabadi, L. M., Mohammadabadi, M., & Ghanatsaman, Z. A. (2023a). Data of whole-genome sequencing of Karakul, Zel, and Kermani sheep breeds. *BMC Research Notes, 16*, 353. https://doi.org/10.1186/s13104-023-06630-6

Saadatabadi, L. M., Mohammadabadi, M., Asadollahpour Nanaei, H., Ghanatsaman, Z. A., Stavetska, R. V., Kalashnyk, O., Kochuk-Yashchenko, O. A., & Kucher, D. M. (2023b). Unraveling candidate genes related to heat tolerance and immune response traits in some native sheep using whole genome sequencing data. *Small Ruminant Research, 225*, 107018. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2023.107018

Safaei, S. M. H., Mohammadabadi, M., Moradi, B., Kalashnyk, O., Klopenko, N., Babenko, O., Borshch, O. O., & Afanasenko, V. (2024). Role of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed powder in increasing testosterone and IGF1 gene expression in the testis of lamb. *Gene Expression, 23*(2), 98–105. https://doi.org/10.14218/GE.2023.00020

Sambrook, J., & Russell, D. W. (2001). *Molecular cloning: A laboratory manual* (3rd ed.). *Cold Spring Harbor Laboratory Press*.

Shojaei, M., Mohammad Abadi, M., Asadi Fozi, M., Dayani, O., & Babak, M. M. S. (2010). Association of growth trait and *Leptin* gene polymorphism in Kermani sheep. *Journal of Cell and Molecular Research, 2*(1), 67–73. https://doi.org/10.22067/jcmr.v2i2.3117

Vahabzadeh, M., Chamani, M., Dayani, O., Sadeghi, A. A., & Mohammadabadi, M. R. (2021). Effects of sweet marjoram (*Origanum majorana*) powder on growth performance, nutrient digestibility, rumen fermentation, meat quality, and humoral immune response in fattening lambs. *Iranian Journal of Applied Animal Science, 11*(3), 567–576. https://journals.iau.ir/article_684728.html?lang=en

Vahabzadeh, M., Chamani, M., Dayani, O., Sadeghi, A. A., & Mohammadabadi, M. R. (2020). Effect of *Origanum majorana* leaf (sweet marjoram) feeding on lamb's growth, carcass characteristics and blood biochemical parameters. *Small Ruminant Research, 192*, 106233. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106233

Zieba, D. A., Biernat, W., Szczesna, M., Kirsz, K., & Misztal, T. (2023). Seasonal and nutritional changes in the short form of the leptin receptor expression and VEGF system in the choroid plexus, arcuate nucleus, and anterior pituitary in MTS-leptin and resistin-treated sheep. *Frontiers in Neuroscience*, *17*, 1291997. https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1291997