علاقة التراكيب الوراثية لجين مستقبل اللبتين (LEPR) بعدد من الصفات الاقتصادية للاغنام العواسي المحلي

عماد كاظم علي نصر نوري الانباري

قسم الانتاج الحيواني–كلية الزراعة/جامعة بغداد

Nasr_noori@yahoo.com

المستخلص

أجري البحث في محطة الابحاث الاولى التابعة لكلية الزراعة/جامعة المثنى، فضلا عن مختبر التقانة الاحيائية وتحاليل الوراثة الجزيئية التابع لوزارة العلوم والتكنولوجيا للمدة من 2015/11/1 ولغاية 2016/7/1، بهدف تحديد التراكيب الوراثية لجين مستقبل اللبتين (Leptin receptor) وعلاقة تلك التراكيب بعدد من الصفات الانتاجية لدى الاغنام العواسي المحلي. اختلفت التراكيب الوراثية (Genotype) لمنطقة التشفير المستهدفة لجين مستقبل اللبتين تبعا لاختلاف الحزم الوراثية الناتجة عن الهضم الانزيمي، وتباينت نسب توزيع التراكيب الوراثية TT و TV و VV لمستقبل جين اللبتين (LEPR) معنويا ($P<0.01$) في العينة المدروسة، إذ بلغت نسبها 8.33 و 55.00 و 36.67 % بالتتابع، وبتكرار اليلي بلغ 0.36 و 0.64 لكل من الاليلين T و V على التوالي. اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان انتاج الحليب الكلي وطول موسم الحليب للنعاج العواسي كان قد تأثرت معنويا ($P<0.05$) بالتركيب الوراثي لجين LEPR ولصالح النعاج ذات التركيب VV فيما يخص الحليب وللتركيب الوراثي TT لطول موسم الحليب. ولم تتأثر نسب مكونات الحليب المدروسة بأختلاف التركيب الوراثي لجين LEPR باستثناء نسبة الدهن. يمكن أن نستنتج من خلال دراسة التراكيب الوراثية لجين اللبتين اعتمادها في وضع استراتيجيات التحسين الوراثي، لدى الأغنام لتعظيم العائد الاقتصادي من مشاريع تربيتها بانتخاب وتضريب التراكيب الوراثية التي حققت افضل صفات اقتصادية، كما أن تطبيق الدراسة على عينة أكبر ولعدة مواسم إنتاجية من شأنه أعطاء نتائج أكثر دقة لتطبيق إستراتيجية الاستبعاد والاستبدال.

الكلمات المفتاحية: جين مستقبل اللبتين– الاغنام العواسية–الصفات الانتاجية.

البحث مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الاول.

Relationship between Leptin Receptor gene and some economic traits in local Awasi sheep

AL-Zargani, E.K.* AL-Anbari, N.N.*

***: Department of Animal Production/College of Agriculture/University of Baghdad**

Abstract:

This study had been conducted in the First Research Station for Agriculture College Muthana University and the laboratory of biological technique & practical analysis - Ministry of Science and Technology through the period 1/11/2015 to 1/07/2016. The aims of this study was to determine the genetic components of Leptin receptore gene and explore the relationship of these components with a some of production for local Awasi sheep. The genotype distribution ratios had been contrasted TT, TV and VV for Leptin gene receptor (LEPR) significantly (P<0.01) in the studied sample, where there ratios had reached 8.33, 55.00 and 36.67% in series with allele frequency was 0.36 and 0.64 for each T and V allele in series. The current study results showed that the total milk production and milk season duration period for Awasi sheep had been significantly influenced) P<0.05 (by genotype for LPR gene and for the sheep that had structure VV for milk and for TT genotype was the milk season duration. The studied milk component ratio had not been influenced by the variation of genotype except for fate ratio. It can be concluded through the study of the genotype of Leptin gene and its future it adoption to set the genetic rehabilitation strategies for sheep to maximize their economic income of sheep genotype selection and interaction breading projects which already achieved best economic parameters, Additionally, the application of this study on larger sample for many production seasons can give more accurate results to adopt exclusion and replacement strategy.

Key words: Leptin Receptor gene -Awasi sheep-Production traits.

المُقدَمَة:

تعد عملية انتخاب الحيوانات الزراعية ذات الكفاءة الوراثية العالية من الأمور الأساسية في تربية الحيوان والتي تطورت خلال السنوات الماضية باستخدام القيم المظهرية المصححة ومقارنة الأفراد المستخدمة في تقدير القيم التربوية للصفات ذات الأهمية الاقتصادية، ونتيجة لتطور علم الوراثة الجزيئية أصبح بالإمكان تحديد الواسمات الوراثية ذات الارتباط العالي بجزء أو أكثر من تركيب الحامض النووي DNA للجينات ذات التأثير الرئيس في الصفات الاقتصادية [1]. ان عمليات التحسين الوراثي التقليدية لحيوانات المزرعة عموما ومنها الاغنام والتي اعتمدت على الاساليب الاحصائية وركزت على الانتخاب للإفراد ذات التركيب المظهري الافضل قد حققت مكاسب لايستهان بها في مجال التحسين الوراثي، لكن التسارع العلمي وتوافر المعلومات الكثيرة عن عمل المجين او الجينوم(Genome) قد مكن من وضع برامج انتخاب اكثر دقة واقل زمنا وتكلفة، فالصفات

الاقتصادية تكون تحت سيطرة عدد من المواقع الجينية والتي تعرف بمواقع الصفات الكمية(Quantitative trail loci– QTL) ومن خلال تحديد هذه المواقع وتحديد الواسمات المرتبطة بها يمكن التنبؤ بالتباين المظهري للصفات المراد تحسينها بوقت مبكر وبناء برامج الانتخاب على أساسها وهذه الواسمات عبارة عن طفرات وظيفية في الجينات المؤثرة في الصفات [2]. ظهرت خرائط جينوم الاغنام بهدف التعرف على الجينات داخل الجينوم وتحديدا موقعها، وكذلك تحديد التفاعلات المتبادلة والتاكد من مواقع الجينات المتصلة ببعضها في الكروموسوم، ويذكر ان الخرائط الاولية كان الهدف من وراءها تحديد مواقع الصفات الكمية [3]. يقع مستقبل جين اللبتين على الكروموسوم رقم 1 في الاغنام ويكون من 20 اكسون ، ويعتبر الجين المشفر لمستقبل اللبتيين جين مرشح لمؤشرات الانتاج والتكاثر [4]. اللبتين(Leptin) هو هرمون بروتيني، والاسم مُشتق من كلمة ليبتوز (Leptos) اليونانية والتي تعني نحيف، واللبتين له تأثير على تنظيم وزن الجسم والأيض والخصوبة وقابلية البقاء وصرف الطاقة وتحسين صحة وزيادة حيوية الافراد بمختلف الاعمار، وتعد الخلايا الشحمية (Adipocytes) هي المصدر الرئيس له، وكذلك خلايا في بطانة المعدة والمشيمة تفرز كميات ضئيلة منه، وتوجد مُستقبلات هرمون اللبتين(Leptin Receptors) بكثرة في منطقة تحت المهاد (Hypothalamus) [5]. توصل [6 , 7] الى وجود تباين عالي المعنوية بين التراكيب الوراثية لجين مستقبل اللبتين وعلاقتها بإنتاج وتركيب الحليب ونمو وتركيب العضلات لدى الاغنام. كما افاد [8] ان لجين مستقبل اللبتين تأثير على التعبيرِ الجينِي في مستويات الترجمةَ أَو الاستنساخ ومحصلة هذا التأثير تطرأ على الصفات الإقتصاديةِ للحيوان بشكل ملحوظ. هدفت الدراسة الحالية الى تحديد التراكيب الوراثية (Polymorphism) لجين مستقبل اللبتين في عينة الاغنام العواسي المحلي المدروسة (استخراج نسب توزيع تلك المظاهر والتكرار الاليلي للجين). دراسة تأثير المظاهر الوراثية المتعددة لجين اللبتين في انتاج وتركيب الحليب.

المواد و طرائق العمل

اجريت الدراسة في محطة الابحاث الاولى التابعة لقسم الانتاج الحيواني/ كلية الزراعة/ جامعة المثنى، للمدة من 2015/11/1 ولغاية 2016/7/1، على عينة مكونة من60 نعجة عواسي محلي هذا فيما يخص الجزء الحقلي، في حين تم أجراء التحاليل الوراثي (الجزء المختبري) في مختبر التقانة الاحيائية وتحاليل الوراثة الجزيئية التابع لوزارة العلوم والتكنولوجيا بهدف فصل المادة الوراثية وتحديد التراكيب الوراثية لجين مستقبل اللبتين وعلاقتها بالاداء.

تم جمع 5 مل من الدم من الوريد الوداجي (Jugular vein) لكل نعجة في انبوبة جمع مضاف لها مانع تخثر من نوع K2 EDTA من انتاج شركة AFCO الاردنية، ونقلت بصندوق مبرد الى المختبر لحفظها بالتجميد على درجة –4° م والمباشرة باستخلاص الدنا مباشرةً. تم استخلاص الحامض النووي DNA من عينات الدم للنعاج (الامهات) لغرض اجراء الفحص الجزيئي لـ LEPR. تم مزج 8 مايكروليتر من الـ DNA مع 2

مايكروليتر من loading dye (صبغة البروموفينول الزرقاء Bromophenol Blue) إذ حملت العينات في الحفر المفردة من الجل. تم ترحيل العينات على طاقة كهربائية مقدارها (70 فولت) وبتيار مقداره 40 ملي أمبير ولمدة ساعة. استخدم جهاز مطياف الأشعة فوق البنفسجية (UV light transillminator) لغرض مشاهدة حزم الـ DNA، ان الحزم الملونة بصبغة بروميد الاثيديوم (Ethidium bromide fluorescence) صورت باستخدام جهاز التوثيق الفوتوعرافي (Photo documentation system).

التوصيف الجزيئي لجين مستقبل اللبتين:

تم اختيار البادئ (Primers) لغرض أجراء الكشف الجزيئي ومعرفة التعدد المظهري للجينات والطفرات الموجودة لجين مستقبل اللبتين [9].

Exon2	**F : 5'–TCATGTGAAACTGATGGGTACTT–3'**
	R : 5'– AATTATTTCTCCACATTAAATGCAA–3'

تم تحميل 4 µl من الـ DNA ladder مع 7 µl من نواتج PCR في جل الأكاروز وبتركيز 3 % (1X TBE Buffer)، إذ تم الترحيل بفرق جهد مقداره 60 فولت/سم وبتيار 146 ملي فولت ولمدة ساعة ونصف ثم غمر الجل بصبغة بروميد ألاثيديوم السائلة وبتركيز 2.5% وتم مشاهدة الحزم بوساطة UV transiluminater، وتم تصويرها باستخدام جهاز التوثيق الفوتوغرافي(Photo documentation system). بعد انتهاء تفاعل البلمرة تم الكشف عن وجود الطفرة وعدم وجودها عن طريق استعمال إنزيم القطع (***LEPR/T945M***) من شركه Biolabs وبتركيز 1000 وحده لكل مول وتم حضن مزيج التفاعل في درجة حرارة 37 مئوي ولمدة 4 ساعات وخلالها يتعرف الانزيم على موقع معين ضمن القطعة المتضاعفة وتقطع بالإنزيم القاطع وتم اجراء الترحيل الكهربائي للعينات المقطوعة للكشف عن مواقع القطع ومن خلال التقنية اعلاه تم التعرف على التعدد المظهري للمنطقة الجينية المضاعفة من جين مستقبل اللبتين.

أرسلت منتجات تفاعل PCR–RFLP إلى مركز بحوث الجينوم الأسترالي المحدودة (AGRF– Australian Genome Research Facility) لمعرفة تسلسل جين مستقبل اللبتين. وقد تم تحليل تسلسل الناتج باستخدام برنامج BioEdit (الإصدار رقم 7.0.9، ttp://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html) لتحديد التتابعات المختلفة SNPs. تمت مقارنة هذه التتابعات مع بيانات قاعدة بيانات NCBI باستخدام BLAST (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov) للتحقق من توافقها مع التسلسل القائم،تم تحليل البيانات احصائيا باستعمال البرنامج SAS– Statistical Analysis System [10] لدراسة تأثير المظاهر الوراثية لجين مستقبل اللبتين في انتاج الحليب ومكوناته (الانموذج الرياضي ادناه)، وقورنت الفروق المعنوية بين

المتوسطات باستخدام اختبار [11] من خلال تطبيق طريقة متوسطات المربعات الصغرى (Least square means).

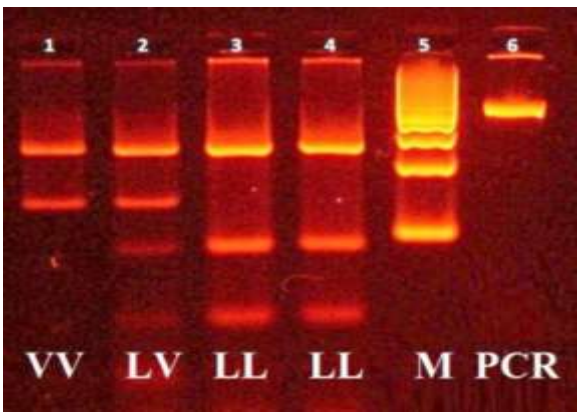
الانموذج الرياضي للتحري عن علاقة المظاهر الوراثية لجين LEPR بإنتاج الحليب ومكوناته:

$$Y_{ijkl} = \mu + G_i + P_j + T_k + e_{ijkl}$$

Y_{ijkl}: قيمة المشاهدة l العائدة للتركيب الوراثي i وتسلسل الدورة الانتاجية j ونوع الولادة k. μ: المتوسط العام للصفة. G_i: تأثير المظاهر الوراثية للجين LEPR (VV و VT و TT). P_j: تأثير تسلسل الدورة الانتاجية (من الاولى الى الرابعة). T_k: تأثير نوع الولادة (فردية ، توأمية). e_{ijkl} : الخطا العشوائي الذي يتوزع طبيعيا بمتوسط يساوي صفر وتباين قدره $\sigma^2 e$. كما استعمل اختبار مربع كاي (χ^2 –Chi–square) للمقارنة بين النسب المئوية لتوزيع التراكيب الوراثية للجين في عينة الاغنام المدروسة.

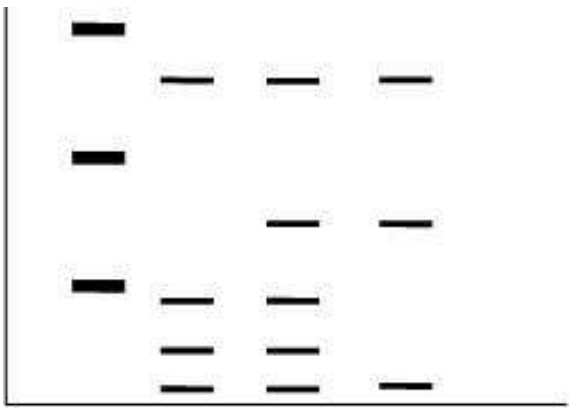
النتائج والمناقشة:

حددت التراكيب الوراثية لحيوانات التجربة لجين مستقبل اللبتين بتطبيق تقانة PCR–RFLP وانزيم التقييد LEPR/T945M وترحيل 10 مايكروليتر في هلام الاكاروز تركيز 2.5 % وضبط الفولتية على 70 فولت وبتيار 40 ملي امبير لمدة ساعة ونصف وتصوير ناتج الترحيل للتعرف على توزيع التراكيب الوراثية للحيوانات المدروسة حسب عدد وحجم الحزم المتكونة، إذ تم استخدام قطع DNA معلومة الحجوم (DNA Ladder 100–1500bp) في الحفرة الاولى من الهلام، وكما تظهر الحزم كما في الشكل (1) والشكل (2).



الشكل 1: تحديد التراكيب الوراثية الثلاثة لجين مستقبل اللبتين حسب عدد وحجم الحزم المتكونة

1 – genotyp VV (265 bp, 147 bp), 2 – genotyp LV (265 bp, 147 bp, 96 bp, 51 bp), 3 – genotyp LL (265 bp, 96 bp, 51 bp), 4 – genotyp LL (265 bp, 96 bp, 51 bp), 5 – DNA ladder (100 bp), 6 – PCR produkt (428 bp)



الشكل 2: مخطط التراكيب الوراثية الثلاثة لجين مستقبل اللبتين حسب عدد وحجم الحزم المتكونة

1 – DNA ladder (100 bp), 2 – genotyp LL (265 bp, 96 bp, 51 bp, 16 bp), 3 – genotyp LV (265 bp, 147 bp, 96 bp, 51 bp, 16 bp), 4 – genotyp VV (265 bp, 147 bp, 16)

تمت عملية التقطيع بالانزيم القاطع LEPR/T945M بعد التعرف على الموضع الحساس ضمن التتابع المعين من موقع القطع من قطعة الجين، لذا تشكلت من عملية التقطيع اما حزمة واحدة او حزمتين او ثلاث حزم من كل أنموذج يمكن مقارنتها مع حزم Ladder، ذلك لان الانزيم القاطع يقوم بعمله (التقطيع) في موقع تتابع الزوج القاعدي 16bp من القطعة المطلوبة من الجين عند وجود الموضع المعين كما اوضحنا آنفاً، فقد تم التعرف على التراكيب الوراثية (Genotype) لجين مستقبل اللبتين في العينات المدروسة بهذه الطريقة وكما يلي:

1-إذا حصل التقطيع بالانزيم القاطع في المكان السابق تتابع الزوج القاعدي 147bp في كلا الشريطين من القطعة فسوف تتكون قطعتين من كل شريط تظهر كحزمتين، حجم الحزمة الاولى 147bp والاخرى 265bp وذلك لحصول تداخل كل حزمتين من الحجم نفسه من كلا الشريطين بحزمة واحدة، فان التركيب الوراثي لهذا الأنموذج يكون متماثلا (Homozygous) وهو يمثل التركيب الوراثي البري Wild (VV).

2-إذا حصل التقطيع في احد الشريطين دون الشريط الاخر فسوف تتكون ثلاث قطع اي ثلاث حزم, حزمة بحجم 51bp و 96bp من احد الشريطين وحزمتين الاولى بحجم 147bp والاخرى بحجم 265bp من الشريط الاخر يعني ان التركيب الوراثي لهذا الأنموذج هو التركيب الهجين (Heterozygous) اي حصول طفرة في احد الشريطين اي تغير القاعدة T الى القاعدة C في شريط دون الشريط الاخر ويمثل التركيب الوراثي LV.

3-إذا لم يحصل التقطيع في كلا الشريطين فسوف تتكون حزمة واحدة بحجم 265bp وذلك لتداخل الحزمتين معا بحزمة واحدة فهذا يعني ان التركيب الوراثي لهذا الانموذج هو التركيب الوراثي النقي (LL) أي حدوث طفرة في كلا الشريطين (تغير القاعدة T الى C.

نسب توزيع التراكيب الوراثية والتكرار الاليلي لجين مستقبل اللبتين

يتضح من الجدول (1) العدد والنسبة المئوية لجين اللبتين في العينة المدروسة، إذ يظهر وجود فروق عالية المعنوية ($P<0.01$) بين نسب التراكيب الوراثية المختلفة والتي بلغت 8.33 و 55.00 و 36.67 % للتراكيب الوراثية TT و TV و VV بالتتابع، أي ان هنالك شيوع واضح للإفراد الهجينة الحاملة للتركيب الوراثي TV موازنة مع التركيب الوراثي TT في حين كانت نسبة تواجد التركيب الوراثي النقي VV تقريبا وسط بينهما. وهذه النتيجة متوافقة مع ماتوصل اليه بعض الدراسات السابقة [12 , 13]، من ناحية وجود فروق عالية المعنوية بين التراكيب الوراثية لهذا الجين وكذلك من ناحية شيوع التركيب الهجين. كما لاحظ [5] ان نسب توزيع التراكيب الوراثية لجين مستقبل اللبتين (Exon 2, T279C) للتراكيب الوراثية CC و TC و TT كانت 15.00 و 53.00 و 32.00% بالتتابع.

بلغ تكرار الاليل T العائد لمستقبل جين اللبتين في عينة الاغنام العواسي المدروسة 0.36 في حين كان تكرار الاليل V هو 0.64، وان هذه النتيجة تعكس شيوع الاليل V الخاص بهذا الجين في الاغنام العواسي المحلي موازنة بالاليل T(الجدول 1). كما توصل [5] الى ان التكرار الاليلي لجين مستقبل اللبتين (Exon 2, C11T) بلغ 0.41 للاليل C في حين بلغ 0.59 للاليل T.

الجدول 1: العدد والنسب المئوية للتراكيب الوراثية والتكرار الاليلي لجين مستقبل اللبتين

التركيب الوراثي	العدد	النسبة المئوية(%)
TT	5	8.33
TV	33	55.00
VV	22	36.67
المجموع	60	% 100
قيمة مربع كاي (χ^2)	----	** 10.236
الاليل	التكرار الاليلي	
T	0.36	
V	0.64	
** (P<0.01).		

علاقة التراكيب الوراثية لجين مستقبل اللبتين في انتاج الحليب وطول موسم الحليب

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ان هنالك فروق معنوية (P<0.05) في انتاج الحليب الكلي باختلاف التركيب الوراثي لقطعة جين مستقبل اللبتين التي تمت دراستها، إذ بلغ المعدل الكلي لإنتاج الحليب اقصاه لدى التركيب الوراثي VV (77.31 ± 1.84 كغم) في حين كان ادناه عند التركيب الوراثي TT وبواقع 0.905 ± 0.07 كغم، أما النعاج ذات التركيب الوراثي الهجين TV فكانت بمعدل لايختلف معنويا عن كلا التركيبين النقيين وبمعدل بلغ 75.97 ± 1.88 كغم (الجدول 2). من خلال هذه النتيجة بالإمكان تحسين صفة انتاج الحليب الكلي لدى الاغنام العواسي من خلال الانتخاب للإفراد الحاملة للتركيب VV ومن ثم مثيلاتها ذات التركيب TV. كما ان الفروق كانت معنوية (P<0.05) بين التراكيب الوراثية للأثر المتعدد لقطعة جين مستقبل اللبتبن في طول موسم الحليب، اذ بلغت معدلات طول موسم الحلب 114.75 ± 2.56 و 111.40 ± 0.81 و 111.73 ± 0.90 للتراكيب الوراثية TT و TV و VV بالتتابع (الجدول 2).

أن التباين في نتائج الدراسات تشير الى وجود تداخلات بين أليلات مستقبل جين اللبتين وحدوث طفرات وراثية، لاسيما أن الأليلات الناجمة عن الهضم الأنزيمي لاينتج عنها اختلاف في الأحماض الأمينية المكونة لهورمون

اللبتين، أي أن الطفرات المنتجه لهذه الأليلات هي من النوع الصامت، ولهذا فأن هناك حاجة لاستكشاف التأثير المباشر لأليــلات مستقبل اللبتين [14 , 15].

الجدول 2: علاقة التراكيب الوراثية لجين مستقبل اللبتين في انتاج الحليب وطول موسم الحليب

التركيب الوراثي (Genotype)	عدد النعاج	المتوسط ± الخطأ القياسي	
		انتاج الحليب الكلي (كغم)	طول موسم الحليب (يوم)
TT	5	b 5.17 ± 74.76	a 2.56 ± 114.75
TV	33	ab 1.88 ± 75.97	b 0.81 ± 111.40
VV	22	a 1.84 ± 77.31	b 0.90 ± 111.73
مستوى المعنوية	العدد الكلي60	*	*

المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها.
* ($P<0.05$).

علاقة التراكيب الوراثية لجين مستقبل اللبتين في مكونات الحليب

يتبين من الجدول (3) أن هنالك تباينا معنويا ($P<0.05$) في نسبة الدهن في الحليب باختلاف التركيب الوراثي لجين مستقبل اللبتين، إذ بلغت اقصى نسبتين في حليب النعاج ذات التركيب الوراثي VV و TV وبواقع 4.47 ± 0.59 و 4.35 ± 0.60 % في حين كانت نسبة الدهن ادنى من ذلك في النعاج ذات التركيب الوراثي TT (3.11 ± 1.36 %) .أن هذه النتيجة مماثلة الى ما توصل اليه [7] ومن أن لمستقبل جين اللبتين تأثيرا معنويا في دهن الحليب علما أن نسبة الدهن في الحليب واحدة من اهم صفات التركيبية للحليب التي تحدد جودة الحليب وسعره ونوع المنتج الذي يصنع منه وبالتالي فأن اعتماد التعبير الجيني في تحسين هذه الصفة يبدوا مجديا من خلال نتائج هذه الدراسة، ولم يكن لمستقبل جين اللبتين تأثيرا معنويا في الصفات المتمثلة بكل من نسبة اللاكتوز ونسبة البروتين ونسبة والمواد الصلبة غير الدهنية، إذ ان جميعها لم تتباين معنويا باختلاف التركيب الوراثي لهذا الجين.

الجدول 3: علاقة التراكيب الوراثية لجين مستقبل اللبتين في مكونات الحليب

التركيب الوراثي (Genotype)	عدد النعاج (عدد العينات)	المتوسط ± الخطأ القياسي (%)			
		الدهن (%)	اللاكتوز (%)	البروتين (%)	المواد الصلبة غير الدهنية (%)
TT	5 (15 عينة)	± 3.11 b 1.36	0.11 ± 4.53 a	± 5.65 a 0.54	0.67 ± 10.97 a
TV	33 (99 عينة)	± 4.35 a 0.60	0.04 ± 4.48 a	± 5.55 a 0.23	0.29 ± 10.83 a
VV	22 (66 عينة)	± 4.47 a 0.59	0.05 ± 4.45 a	± 5.54 a 0.23	0.29 ± 10.80 a
مستوى المعنوية	العدد الكلي60 (180 عينة)	*	NS	NS	NS

المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها.

* ($P<0.05$)، NS: غير معنوي.

المصادر:

1- **Field, T. G. 2007.** Beef production and Management Decisions 5th Ed. Prentice Hall.

2- **Whipple, T., Sharkey, N., Demers, L. and Williams, N. 2002.** " Leptin and the skeleton". Clin. Endocrinol. 57: 701-711.

3- **Nkrumah, J.D., Li, C. and Yu, J. 2005.** Polymorphisms in the bovine leptin promoter associated with serum leptin concentration, growth, feed intake, feeding behavior, and measures of carcass merit. In *Journal of Animal Science*, vol. 83, no.1, p. 20-28.

4- **Silva, L. F. P., Van Der Haar, M. J. and Weber, M. S. 2002.** Evidence for a local effect of leptin in bovine mammary gland. In Journal of Animal Science, vol. 85, p. 3277- 3286.

5- **Hajihosseinlo , A., Hashemi , A. and Sadeghi, S. 2015.** Association between polymorphism in exon 3 of leptin gene and growth traits in the Makooei sheep

of Iran.*Published*..http://rd.springer.com/article/10.1007/s12033-008-9090-3. or *ssadegi42@yahoo.com*.

6- **Boucher, D., Palin, M.F., Castonguay, F., Gariepy, C. and 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. Can. J.Anim. Sci. 86, 31–35.

7- **Mahmoud, A.H., Saleh, A., Almealamah, N., Ayadi, M., Matar, A., Abou-Tarboush, F., Aljumaah, R. and Abouheif, M. 2014.** Polymorphism of Leptin Gene and its Association with Milk Traits in Najdi Sheep. J. of Pure and Applied Microbiology. Vol. 8(4), p. 2953-2959.

8- **Chilliard, Y., Delavaud, C. and Bonnet, M. 2005.** Leptin expression in ruminants: Nutritional and physiological regulations in relation with energy metabolism. In: Domest. Anim. Endocrinol, 29: 3-22.

9- **Raadsma, H.W., Jonas, E., McGill, D., Hobbs, M., Lam, M.K. and Thomson, P.C. 2009.** Mapping quantitative trait loci (QTL) in sheep II. Meta-assembly and identification of novel QTL for milk production traits in sheep. Genet. Sel. Evol.41.

10- **SAS. 2012.** Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.

11- **Duncan, D.B. 1955.** Multiple Rang and Multiple F-test. Biometrics. 11: 4-42.

12- **Schenkel, F.S., Miller, S.P., Ye, X., Moore, S.S., Nkrumah, J.D., Li, C., Yu, J., Mandell,I.B., Wilton, J.W. and Williams, J.L., 2005.** Association of single nucleotide polymorphisms in the leptin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. J. Anim. Sci. 83, 2009–2020.

13- **Geary , T. W., Mc Fadin , E. L. , Mac Neil,M. D., Grings , E. F.,Short, R. R., Funston, R. N. and Keisler , D. H. 2003.** Leptin as a predictor of carcass composition in beef cattle. J .Anim. Sci. 81 : 18-24.

14- **Barzehkar, R., Salehi ,A. and Mahjoubi, F. 2009.** Polymorphisms of the ovine *leptin* gene and its association with growth and carcass traits in three Iranian sheep breeds. J. Biotechnology, 7 **(**4**)** :241-246.

15- **Juengel, J.L., French, M.C., O'Connell, A.R., Edwards, S.J., Haldar, A., Brauning, R.,Farquhar, P.A., Dodds, K.G., Galloway, S.M., Johnstone, P.D. and Davis, G.H. 2015.** Mutations in the leptin receptor gene associated with delayed onset of pubertyare also associated with decreased ovulation and lambing rates in prolificDavisdale sheep. Reprod. Fert. Dev. [Epub ahead of print].