علاقة التراكيب الوراثية لجين اللبتين بعدد من صفات النمو لدى الاغنام العواسي المحلي

عبد جواد كاظم العامري[1] عماد كاظم الزركاني [2] نصر نوري الانباري[2]

استاذ مساعد أستاذ

[1]قسم التحليلات المرضية / كلية النسور الجامعة الاهلية

[2] قسم الانتاج الحيواني–كلية الزراعة/جامعة بغداد

البريد الالكتروني:Nasr_noori@yahoo.com

المستخلص:

اجريت 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 دراسة العلاقة بين التراكيب الوراثية لجين اللبتين (Leptin) وعدد من صفات النمو لدى الاغنام العواسي المحلي. تباينت صفات النمو المتمثلة بوزن الحملان عند الميلاد وعند الفطام ومعدل الزيادة الوزنية بين الميلاد والفطام معنويا ($P<0.05$) باختلاف التركيب الوراثي لجين اللبتين لدى أمهاتها ولصالح التركيب الوراثي AB ومن ثم AA، بينما لم تتأثر ابعاد الجسم التي تم دراستها عند الميلاد وعند الفطام بأستثناء طول الجسم ($P<0.05$) ومحيط الصدر ($P<0.01$) عند الفطام وللتركيب الوراثي BB باختلاف التراكيب الوراثية لهذا الجين، كما أن تطبيق الدراسة على عينة أكبر ولعدة مواسم إنتاجية من شأنه أعطاء نتائج أكثر دقة لتطبيق إستراتيجية الاستبعاد والاستبدال.

الكلمات المفتاحية: الاغنام العواسية–جين اللبتين–صفات النمو.

Relationship between Leptin gene and some growth traits in local Awasi sheep

Abd J. Kadhim[1] AL-Zargani E.K. [2] AL-Anbari N.N.[2]

Assistant Professor Professor

[1] Department of Pathological Analysis Techniques /AL-Nisoor College

[2] Department of Animal Production/College of Agriculture/University of Baghdad

Emai: Nasr_noori@yahoo.com

Abstract:

This investigate 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 1/07/2017. The aims of this study was to the relationship of genetic components of Leptin gene and some of traits for local sheep sheep. The growth parameters had been variant which are lamb weights are at birth and weaning , weight average raise between birth and weaning significantly ($P<0.05$) with the variant of the genotype of Leptin gene of their mother for the genotype AB and AA, but the body dimensions

which had been studied at birth and at weaning except body height (P<0.05) and chest circumference (P<0.01) at weaning with genotype variation for this gene, 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: Awasi sheep- Leptin gene-Growth traits.

المُقدَمَة:

لقد أدى التطور البيولوجي واكتشاف الخرائط الوراثية وعلم الوراثة الجزيئية إلى التعرف على وسائل وبرامج عديدة من شأنها تحسين اداء الحيوانات، وان اهم التحديات التي تواجه المختصين بالوراثة الجزيئية والتحسين الوراثي هي تحديد الواسمات او الجينات التي تتحكم بالتباين المظهري للصفات موضع التحسين والتي من خلالها يتم تحديد تعدد المظاهر(Polymorphism) للجين المسؤول عن الصفة والذي يمكن من خلاله التنبؤ بتأثير الاليلات او التراكيب الوراثية على التباين المظهري للصفة (3). ازداد الاهتمام في الآونة الأخيرة بعامل اللبتين كمفتاح للسيطرة البيولوجية والتي ترتبط بعدد من الصفات الاقتصادية في تربية الحيوان (7). 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 الدهنية (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) (8). كما افاد (2) ان لجين اللبتين تأثير على التعبيرِ الجينِي في مستويات الترجمةَ أَو الاستنساخ ومحصلة هذا التأثير تطرأ على الصفات الإقتصاديةِ للحيوان بشكل ملحوظ. اوضح (11) أن هنالك ارتباط موجب ومعنوي الى حد كبير في المجترات ومنها الاغنام بين الوزن الحي ودليل كتلة الجسم (BMI) والنسبة المئوية لدهن الجسم وتركيز اللبتين ووفرة Lepin mRNA في النسيج الدهني لكلا الجنسين (الذكور والاناث). اما النقص في إفراز اللبتين فيحدث خلال أليتين اما من خلال خللل في نقله عبر دم الدماغ أو بمنع إيعاز إفرازه (5). نتيجة الى دور اللبتين في تنظيم دهن الجسم وايض الطاقة في كل الجسم لذا يعد افضل دليل فسلجي الى كل من وزن الجسم والعلف المتناول والاستفادة من الطاقة ووظائف بعض انظمة المناعة (6). كما افاد (1) ان التعبير الجيني لهرمون اللبتين ينظم وفقا للمراحل الفسلجية ومراحل نمو الحيوان، لذا يمكن ان يكون له علاقة في نمو الحيوان وكفاءة التحويل الغذائي والصحة ويعمل الهرمون عمل الاشارة الغذائية الفريدة الى محور النمو في ملاحظة مستوياته العالية التي ينجم عنها منع تناول الغذاء من خلال تغليف مستقبل معين في تحت المهاد، كما يمثل اللبتين عامل نمو لعدة انواع من الخلايا لاسيما الخلايا اللمفية وخلايا القصبة الهوائية الطلائية والخلايا الحرشفية للرئة والخلية البنكرياسية والجنينية. كما بين (12) ان الحيوانات ذات التركيب الوراثي TT لجين اللبتين Exon3 تظهر وزن بيولوجي (Metabolic weight) اعلى

من مثيلاتها ذات التركيب الوراثي CC واقل من ذلك مع CT فضلا عن ان التركيب TT و TC اعلى في الزيادة الوزنية موازنة بالتركيب الوراثي CC، كذلك فأن التركيبين TT و TC اعلى وزن نهائي وأنهما يستهلكان بصورة معنوية ($P<0.05$) مادة جافة اعلى من مثيلاتها ذات التركيب الوراثي CC، وان الاليل T يرتبط مع الدرجة العالية لترسيب الدهن الظهري ودهن التعرق والزيادة الكلية للدهن في الجسم مقارنة مع الاليل C. كان الهدف من البحث الحالي دراسة العلاقة بين التراكيب الوراثية لجين اللبتين في عينة الاغنام العواسي المحلي المدروسة وعدد من صفات النمو (اوزان وابعاد الجسم عند الميلاد والفطام) إذ يكن ان 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 نمو.

المواد و طرائق العمل:

اجري البحث 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 لحقلياً ، في حين أجريت التحاليل الوراثية (الجزء المختبري) في مختبر التقانة الاحيائية وتحاليل الوراثة الجزيئية التابع لوزارة العلوم والتكنولوجيا بهدف فصل المادة الوراثية وتحديد علاقة التراكيب الوراثية لجين اللبتين بعدد من صفات النمو. بجمع 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. استخلص الحامض النووي DNA من عينات الدم للنعاج (الامهات) لغرض اجراء الفحص الجزيئي لـ LEPTIN.

تحميل إلـ DNA والترحيل الكهربائي:

مزجت 8 مايكروليتر من الـ DNA مع 2 مايكروليتر من loading dye (صبغة البروموفينول الزرقاءBromophenol Blue) إذ حملت العينات في الحفر المفردة من الجل . رحلت العينات على طاقة كهربائية مقدارها (70 فولت) وبتيار مقداره 40 ملي أمبير ولمدة ساعة. استعمل 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 للجين:

تم اختير البادئ (Primers) لغرض أجراء الكشف الجزيئي ومعرفة التعدد المظهري للجينات والطفرات الموجودة لجين اللبتين (6).

Exon2	F : 5'– AGGAAGCACCTCTACGCTC –3'
	R : 5'– CTTCAAGGCTTCAGCACC –3'

تحميل ناتج تفاعل البلمرة المتسلسل والترحيل الكهربائي والتوصيف الجزيئي:

تم تحميل 4 µl من الـ DNA ladder مع 7 µl من نواتج PCR في جل الأكاروز وبتركيز 3 % (1X TBE Buffer)، إذ رحل بفرق جهد مقداره 60 فولت.سم$^{-1}$ وبتيار 146 ملي فولت ولمدة ساعة ونصف ثم غمر الجل بصبغة بروميد ألاثيديوم السائلة وبتركيز 2.5 % وتم مشاهدة الحزم بوساطةUV transiluminater ، وتم تصويرها باستعمال جهاز التوثيق الفوتوغرافي . بعد انتهاء تفاعل البلمرة كشف عن وجود الطفرة وعدم وجودها عن طريق استعمال إنزيم القطع (Sau3AI) من شركه Biolabs وبتركيز 1000 وحده لكل مول وحضن 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 الجين اللبتين.

أرسلت منتجات تفاعل PCR–RFLP إلى مركز بحوث الجينوم الأسترالي المحدودة (Australian –AGRF Genome Research Facility) لمعرفة تسلسل جين اللبتين. وقد حلل 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 .

اخذت قياسات الجسم عند الميلاد وعند الفطام للحملان إذ قيس

1- طول الجسم باستعمال شريط قياس مدرج من 1 سم لقياس المسافة من جهة الظهر بين الفقرة العنقية الى الفقرة العصعصية.
2- ارتفاع الجسم عند المقدمة: من خلال قياس المسافة من نقطة اتصال الرقبة بالجسم الى الارض باستخدام شريط قياس مدرج 0.1 سم ،
3- قيس ارتفاع الجسم عند المؤخرة: اي قياس المسافة من نقطة نهاية الظهر الى الارض، 4- قيس محيط الصدر: وقيست بلف الشريط المدرج حول منطقة الصدر(خلف الارجل الامامية مباشرة).

التحليل الاحصائي:

حللت البيانات احصائيا باستعمال البرنامج SAS– Statistical Analysis System (13) لدراسة تأثير المظاهر الوراثية لجين اللبتين في صفات النمو (الانموذج الرياضي ادناه)، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستخدام اختبار (4) من خلال تطبيق طريقة متوسطات المربعات الصغرى (Least square means).

الانموذج الرياضي للتحري عن علاقة المظاهر الوراثية لجين LEP بصفات النمو:

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

Y_{ijkl}: قيمة المشاهدة l العائدة للتركيب الوراثي i وتسلسل الدورة الانتاجية j ونوع الولادة k وجنس المولود l. μ: المتوسط العام للصفة. G_i: تأثير المظاهر الوراثية للجين LEP (AA و AB و BB). P_j: تأثير تسلسل الدورة الانتاجية (من الاولى الى الرابعة). T_k: تأثير نوع الولادة (فردية ، توأمية). تأثير جنس المولود. e_{ijkl} : الخطا العشوائي الذي يتوزع طبيعيا بمتوسط يساوي صفر وتباين قدره $\sigma^2 e$.

النتائج والمناقشة:

علاقة التراكيب الوراثية لجين اللبتين في النعاج بصفات النمو لدى الحملان

يتبين من الجدول (1) أن الاثر المتعدد لجين اللبتين في الوزن عند الميلاد وعند الفطام وفي معدل الزيادة الوزنية بين الميلاد والفطام كان معنويا ($P<0.05$)، وبلغت معدلات الوزن عند الميلاد 4.99 ± 0.44 و 5.03 ± 0.43 و 4.52 ± 0.74 كغم، وعند الفطام 16.57 ± 0.77 و 16.84 ± 0.76 و 13.61 ± 1.31 كغم في حين كانت معدلات الزيادة الوزنية بينهما 11.58 ± 0.61 و 11.81 ± 0.59 و 9.08 ± 1.03 كغم للتراكيب الوراثية AA و AB و BB بالتتابع، من خلال هذه النتائج يتبين التفوق للحملان الناتجة من امهات ذات التركيب الوراثي الهجين AB وكذلك النقي AA موازنة بالتركيب الوراثي BB من خلال تحليل جين اللبتين. هذه النتائج متوافقة مع ما اورده (10) بوجود تباين عالي المعنوية في صفات النمو ومنها اوزان الجسم عند الميلاد وعند الفطام لدى الحملان ناتج عن أختلاف العوامل الوراثية للامهات والمواليد، وفي دراسة (8) على اغنام Makooei الايرانية وجدوا ان هنالك تنوع وراثي في جين اللبتين المنطقة الثالثة، إذ حصلوا على خمسة تراكيب وراثية (AA و AB و AC و BC و CC) من خلال تطبيق تقانة SSCP وان هنالك فروق معنوية ($P<0.05$) بين تلك التراكيب في الوزن عند الفطام وعند عمر 6 أشهر. أما (14) من خلال دراستهم على جين اللبتين في اغنام Kermani فقد توصلوا ان الوزن عند الميلاد لم يختلف معنويا باختلاف التركيب الوراثي لجين اللبتين، إلا ان هذه الفروق كانت عالية المعنوية ($P<0.01$) في الوزن عند الفطام (بعمر 3 أشهر) ومعنوية ($P<0.05$) في وزن الجسم بعمر 6 و 9 و 12 شهرا، كذلك افاد (9) الى وجود علاقة معنوية ($P<0.05$) بين التراكيب الوراثية لجين اللبتن وتحديدا Exon رقم 3 مع صفات النمو باعمار مبكرة بعد الولادة

وذلك في دراسته على عينة من اغنام Makooei الايرانية. ونتائج هذه الدراسة تدعم بصورة كبيرة امكانية اعتماد التحليل الوراثي لهذا الجين في برامج الانتخاب ان كان الهدف هو تحسين صفات النمو لدى الحملان في قطعان الاغنام لاسيما الوزن عند الميلاد وعند الفطام ومعدل الزيادة الوزنية بينهما، علما ان اوزان الجسم بعمر مبكر ذات ارتباط وراثي موجب وعالي المعنوية مع اوزان وقياسات الجسم اللاحقة مما يدعم امكانية اعتماد هذه النتائج في تسريع برامج التحسين لتعظيم العائد الاقتصادي من القطيع، اذ ان صفات النمو تعد واحدة من اهم الصفات الاقتصادية في مشاريع تربية الاغنام. كما ان النعاج التي اعطت افضل انتاج للحليب والمتمثلة بالنعاج ذات التركيبين الوراثيين AA و AB في هذه الدراسة (الجدول 1) هي ذاتها حققت افضل اوزان للجسم لدى حملانها عند الميلاد وعند الفطام والنمو بينهما موازنة بمثيلاتها ذات التركيب BB، إذ ان النمو لاسيما في المراحل المبكرة من حياتها يعتمد بصورة رئيسة على انتاج امهاتها من الحليب، وان تحديد التركيب الوراثية لهذا الجين على المواليد نفسها واستخراج علاقة تلك التراكيب بنمو المواليد ذاتها قد يعطي نتائج اكثر دقة كونها ذات تأثير مباشر.

الجدول 1: علاقة التراكيب الوراثية (Genotype) لجين اللبتين في صفات النمو لدى الحملان

التركيب الوراثي (Genotype)	عدد النعاج	المتوسط ± الخطأ القياسي (كغم)		
		الوزن عند الميلاد (العدد= 70)	الوزن عند الفطام (العدد=70)	معدل الزيادة الوزنية (العدد=70)
AA	30	a 0.44 ± 4.99	a 0.77 ± 16.57	a 0.61 ± 11.58
AB	26	a 0.43 ± 5.03	a 0.76 ± 16.84	a 0.59 ± 11.81
BB	4	b 0.74 ± 4.52	b 1.31 ± 13.61	b 1.03 ± 9.08
مستوى المعنوية	العدد الكلي60	*	*	*

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

علاقة التراكيب الوراثية لجين اللبتين في النعاج بابعاد الجسم عند الميلاد للحملان

يتضح من الجدول (2) علاقة التراكيب الوراثية لجين اللبتين في ابعاد الجسم عند الميلاد، إذ لم تتأثر معنويا بأختلاف التركيب الوراثي للجين، إذ بلغ معدل طول الجسم 40.38 ± 1.23 و 40.65 ± 1.21 و 39.94 ± 2.09 سم للحملان التي امهاتها ذات تركيب وراثي AA و AB و BB بالتتابع، ومعدلاتها لمحيط الصدر 43.65 ± 1.02 و 42.66 ± 1.06 و 45.99 ± 2.42 سم في حين كانت معدلات الارتفاع عند

المقدمة 38.76 ± 1.54 و 37.54 ± 1.52 و 37.08 ± 2.63 سم وللارتفاع عند المؤخرة 41.55 ± 1.40 و 41.50 ± 1.38 و 39.86 ± 2.39 سم بذات الترتيب.

الجدول 2: علاقة التراكيب الوراثية (Genotype) لجين اللبتين في النعاج بابعاد الجسم عند الميلاد للحملان

التركيب الوراثي (Genotype)	عدد النعاج	المتوسط ± الخطأ القياسي (سم)			
		طول الجسم (العدد=70)	محيط الصدر (العدد=70)	الارتفاع عند المقدمة (العدد=70)	الارتفاع عند المؤخرة (العدد=70)
AA	30	± 40.38 1.23	± 43.65 1.02	± 38.76 1.54	1.40 ± 41.55
AB	26	± 40.65 1.21	± 42.66 1.06	± 37.54 1.52	1.38 ± 41.50
BB	4	± 39.94 2.09	± 45.99 2.42	± 37.08 2.63	2.39 ± 39.86
مستوى المعنوية	العدد الكلي60	NS	NS	NS	NS
NS: غير معنوي.					

علاقة التراكيب الوراثية لجين اللبتين في النعاج بابعاد الجسم عند الفطام للحملان

يتضح من الجدول (3) ان لقطعة جين اللبتين المستهدفة في النعاج تأثيرا معنويا في طول الجسم لدى حملانها عند الفطام، إذ حققت الامهات ذات التركيب الوراثي الهجين (AB) اقصى طول جسم (60.31 ± 1.14 سم) في حين جاءت مثيلاتها ذات التركيب الوراثي BB بأقل طول جسم (56.32 ± 1.98 سم). كما ان التباين في محيط الصدر كان عالي المعنوية بأختلاف التركيب الوراثي للجين وبلغ اقصاه لدى الحملان الناتجة من امهات ذات تركيب وراثي BB وبواقع 69.57 ± 1.55 سم في حين كان ادنى من ذلك في مثيلاتها الناتجة من التركيبين الوراثيين AA (63.47 ± 0.65 سم) و AB (63.32 ± 0.67 سم)، ويعد كل من طول الجسم ومحيط الصدر مؤشرين مهمين على قابلية النمو للمواليد لاسيما عند الفطام ولمرحلة ما بعد الفطام. بينما لم يتأثر الارتفاع عند المقدمة والارتفاع عند المؤخرة لدى الحملان عند الفطام معنويا بأختلاف التركيب الوراثي لجين اللبتين لدى امهاتها.

الجدول 3: علاقة التراكيب الوراثية (Genotype) لجين اللبتين في النعاج بابعاد الجسم عند الفطام لدى الحملان

التركيب الوراثي (Genotype)	عدد النعاج	المتوسط ± الخطأ القياسي (سم)			
		طول الجسم (العدد=70)	محيط الصدر (العدد=70)	الارتفاع عند المقدمة (العدد=70)	الارتفاع عند المؤخرة (العدد=70)
AA	30	± 59.87 ab 1.16	± 63.47 b 0.65	± 58.48 a 1.29	± 62.92 a 1.23
AB	26	± 60.31 a 1.14	± 63.32 b 0.67	± 56.92 a 1.27	± 61.66 a 1.21
BB	4	± 56.32 b 1.98	± 69.57 a 1.55	± 59.36 a 2.20	± 61.06 a 2.08
مستوى المعنوية	العدد الكلي60	*	**	NS	NS

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

* (P<0.05)، ** (P<0.01).

References:

1. **Agarwal, R.; Rout, P.K. and Singh, S.K. (2009)** Leptin: A bimolecular For enhancing livestock productivity . *Indian Journal Of Biotechnology*. 8: 169-176.
2. **Chilliard, Y.; Delavaud, C. and Bonnet, M.(2005)** Leptin expression in ruminants: Nutritional and physiological regulations in relation with energy metabolism. In: Domestic Animal Endocrinology. 29,(1): 3-22.
3. **Dickerson, G.E. (2004)** Manual for evaluation of breeds and crosses of domestic animals. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, PP 47.
4. **Duncan, D.B. (1955)** Multiple Rang and Multiple F-test. Biometrics. 11: 4-42.
5. **Flier, J. S. (2004)** Obesity War : Molecular progress confronts an expanding epidemic. *Cell*. 116: 337-350.
6. **Garcia, M. R.;Amstalden,M.;Williams, S. W. ;Stanko, R. L. ;Morrison, C. D.; keisler, D. H.;Nizielski, S. E. and Williams, G. L. (2002)** Serum leptin and its adipose gene expression during pubertal development, the

estrous cycle, and different seasons in cattle. *Journal of Animal Science*. 80:2158-2167.

7. **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. *Journal of Animal Science*. 81 : 18-24.
8. **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*.
9. **Hashemi, A.;Mardani, K.;Farhadian, M.;Ashrafi, I. and Ranjbari, M. (2011)** Allelic polymorphism of Makoei sheep leptin gene identified by polymerase chain reaction and single strand conformation polymorphism . *African Journal of Biotechnology* . 10 , 17903 –17906.
10. **Ishaq A. M. and Hmod M. Ajeel (2013)** reproductive performance characteristics of local and Turkish Awassi sheep in semi-intensive system, *The Iraqi Journal of Agricultural Sciences* 44(5): 615-623.
11. **Liefers, S. (2004**) Physiology and genetics of leptin in per parturient dairy cows. Wageningen University. Ph.D. Thesis.
12. **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. *Journal of Animal Science*,38. 20-28.
13. **SAS. (2012)** Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.
14. **Shojaei, M.; Mohammad Abadi, M.; Fozi, F.; Dayani, O.; Khezri, A. and Masoumeh, M. (2010)** Association of growth trait and *Leptin* gene polymorphism in Kermani sheep. *Journal of Cell and Molecular Research*. 2 (1), 67-73.