



Identification of single nucleotide polymorphisms in exon two of the leptin gene and their association with Carcass traits in Lori-Bakhtiari and Zel-Atabay Sheep

Parviz Azizi¹ | Hossein MoradiSharbabak^{2✉} | Mohammad MoradiShahrbabak³ | Sara Nezhadi⁴

1. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: p.azizi@ut.ac.ir
2. Corresponding Author, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: hmoradis@ut.ac.ir
3. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: moradim@ut.ac.ir
4. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: sara.nejadi@ut.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:

Received 5 December 2024
Received in revised form
31 August 2025
Accepted 21 September 2025
Published online 11 October 2025

Keywords:

Carcass traits
Leptin gene
Lori-Bakhtiari
SNP
Zel-Atabay

ABSTRACT

Objective: Leptin is a peptide hormone secreted by adipose tissue and also associated with feed intake, growth, and lipid metabolism. The aim of this study was to investigate the polymorphism of the 271 base pair locus, including the entire exon 2 and part of intron 2 of the leptin gene in two sheep breeds, Lori-Bakhtiari and Zel-Atabay crossbreds, and to determine the relationship of this locus with carcass traits and identify desirable genotypes for these traits in the studied sheep.

Methods: In the present study blood samples were collected from 114 sheep, including 74 Lori-Bakhtiari lambs from the industrial slaughterhouse in Farsan County and 40 Zel-Atabay crossbred sheep from the industrial slaughterhouse in Gorgan County. DNA extraction was performed using an optimized salt method. Polymerase chain reaction (PCR) was performed to amplify a 271 base pair fragment encompassing exon 2 and part of intron 2 of the leptin gene. Examination of this fragment using the single-strand conformation polymorphism (SSCP) method revealed nine banding patterns. Following sequencing of the observed banding patterns, comparison with the reference sequence identified six genotypes. To investigate the association between genotypes and the studied traits, genotype effect was included as an independent variable in the models.

Results: Sequencing identified three mutations in this region: the (A/G) 1416 mutation observed in Iranian breeds, another mutation in the coding region where a cytosine base is inserted (+C 1328), resulting in a truncated protein, and the third mutation in intron 2, where thymine is replaced by guanine at nucleotide 1566. Allele frequencies in Lori-Bakhtiari and Zel-Atabay crossbred sheep were 0.552 and 0.788 for the first mutation (+C 1328), 0.359 and 0.00 for the second mutation (A/G 1416), and 0.179 and 0.121 for the third mutation (T/C 1566), respectively. Comparison of the obtained sequences with NCBI database sequences identified six genotypes. Evaluations in this study showed significant relationships between the identified genotypes in Lori-Bakhtiari sheep and traits such as chest circumference, animal height, upper and middle tail circumference, upper and middle tail width, and blood triglyceride levels. In Zel-Atabay crossbreds, significant relationships were observed between the identified genotypes and traits such as carcass weight and lower tail circumference.

Conclusions: The findings demonstrate that the leptin gene polymorphisms at the 271-bp locus, particularly the +C1328 and A/G1416 mutations, can serve as effective molecular markers in sheep breeding programs to improve carcass traits (such as increased carcass weight and optimized fat distribution). These results highlight the importance of targeting this genomic region for superior animal selection in breeding and herd management.

Cite this article: Azizi, P., MoradiSharbabak, H., MoradiShahrbabak, M., & Nezhadi, S. (2025). Identification of single nucleotide polymorphisms in exon two of the leptin gene and their association with Carcass traits in Lori-Bakhtiari and Zel-Atabay Sheep. *Journal of Animal Production*, 27 (3), 269-282.
DOI: <https://doi.org/10.22059/jap.2025.386535.623820>





شناسایی چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی اگزون دو ژن لپتین و ارتباط آن با صفات لاشه در گوسفندان لری-بختیاری و زل-آتابای

پرویز عزیزی^۱ | حسین مرادی‌شهرباک^۲ | محمد مرادی‌شهرباک^۳ | سارا نژادی^۴

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

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

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

۴. گروه مهندسی علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: sara.nejadi@ut.ac.ir

اطلاعات مقاله

چکیده

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۱۵

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۶/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۱۳

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۷/۱۹

هدف: لپتین یک هورمون پپتیدی است که از بافت چربی ترشح شده و با مصرف خوراک، رشد و متابولیسم لیپیدها مرتبط است. هدف از پژوهش حاضر، بررسی چندشکلی جایگاه ۲۷۱ جفت‌بازی شامل کل اگزون ۲ و بخشی از اینترون ۲ ژن لپتین در نژادهای گوسفند لری-بختیاری و آمیخته زل-آتابای و ارتباط این جایگاه با صفات لاشه و تعیین ژنوتیپ‌های مطلوب برای این صفات در گوسفندان مورد مطالعه بود.

روش پژوهش: در مطالعه حاضر از ۱۱۴ رأس گوسفند شامل ۷۴ رأس بره لری-بختیاری از کشتارگاه صنعتی شهرستان فارس و ۴۰ رأس گوسفند آمیخته زل-آتابای در کشتارگاه صنعتی شهرستان گرگان خون‌گیری انجام شد. جداسازی DNA با روش بهینه یافته-نمکی انجام گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز جهت تکثیر قطعه ۲۷۱ جفت‌بازی دربرگیرنده اگزون دوم و بخشی از اینترون دوم ژن لپتین انجام‌شده و با بررسی این قطعه با استفاده از روش تفاوت در شکل فضایی تک‌رشته‌ای DNA (SSCP) نه الگوی باندی مشاهده گردید. پس از توالی‌یابی الگوهای باندی مشاهده‌شده، از مقایسه آن‌ها با توالی مرجع شش ژنوتیپ شناسایی گردید. به‌منظور بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌ها و صفات مورد مطالعه، اثر ژنوتیپ به‌عنوان یک متغیر مستقل در مدل‌ها آورده شد.

یافته‌ها: پس از توالی‌یابی، سه جهش در این بخش شناسایی گردید. جهش (A/G) ۱۴۱۶ که در نژادهای ایرانی مشاهده شده‌است. جهش دیگر در بخش کدکننده بوده و یک باز سیتوزین وارد توالی گشته (C+۱۳۲۸) که در نتیجه آن پروتئینی ناقص تولید می‌گردد. سومین جهش در اینترون دوم تبدیل باز تیمین به گوانین در نوکلئوتید ۱۵۶۶ بود. فراوانی‌های آللی در گوسفندان لری-بختیاری و آمیخته آتابای-زل به‌ترتیب برای جهش اول (C+۱۳۲۸) ۵۵۲/۰ و ۷۸۸/۰، برای جهش دوم (A/G) ۱۴۱۶ ۳۵۹/۰ و ۰/۰، و برای جهش سوم (T/C) ۱۵۶۶ ۱۷۹/۰ و ۱۲۱/۰ است. از مقایسه توالی‌های حاصله با توالی‌های پایگاه داده NCBI شش ژنوتیپ شناسایی گردید. ارزیابی‌های انجام‌شده در این پژوهش نشان می‌دهد بین ژنوتیپ‌های شناسایی‌شده در نژاد لری-بختیاری با صفات دور سینه، قد دام، دور بالا و میانی دنبه، عرض بالا و عرض میانی دنبه و میزان تری‌گلیسرید خون رابطه معنی‌داری وجود داشت. در آمیخته‌های زل-آتابای بین ژنوتیپ‌های شناسایی‌شده با صفات وزن لاشه و دور پایین دنبه رابطه معنی‌داری دیده شد.

نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان می‌دهد که چندشکلی‌های ژن لپتین در جایگاه ۲۷۱ جفت‌بازی، به‌ویژه جهش C+۱۳۲۸ و A/G ۱۴۱۶، می‌توانند به‌عنوان نشانگرهای مولکولی مؤثر در برنامه‌های اصلاح نژاد گوسفندان برای بهبود صفات لاشه (مانند افزایش وزن لاشه و بهبود توزیع چربی) مورد استفاده قرار گیرند. این نتایج اهمیت هدف‌گیری این ناحیه ژنی را در انتخاب دام‌های برتر برای تولیدمثل و مدیریت گله‌ها برجسته می‌سازد.

کلیدواژه‌ها:

چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی

زل-آتابای

صفات لاشه

لپتین

لری-بختیاری

استناد: عزیزی، پرویز؛ مرادی‌شهرباک، حسین؛ مرادی‌شهرباک، محمد و نژادی، سارا (۱۴۰۴). شناسایی چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی اگزون دو ژن لپتین و ارتباط آن با صفات لاشه در گوسفندان لری-بختیاری و زل-آتابای. *تشریه توليدات دامی*، ۲۷ (۳)، ۲۸۲-۲۶۹.

DOI: <https://doi.org/10.22059/jap.2025.381902.623804>



۱. مقدمه

ژن لپتین (LEP) در سال ۱۹۹۴ توسط ژانگ کشف شد (Hajihosseini et al., 2015). این ژن در گاو، گوسفند و بز روی کروموزوم چهارم قرار دارد (Al-Burkat et al., 2023). محصول بیان این ژن پروتئینی با همین نام است که از ۱۶۷ اسیدآمین تشکیل شده و به‌عنوان سیگنال سیری عمل می‌کند (Hajihosseini et al., 2015)، که این کار را با مهار نوروپپتید Y (NPY) در هیپوتالاموس انجام می‌دهد و منجر به افزایش مصرف انرژی و تشدید فرایندهای متابولیکی می‌شود. بنابراین، ژن لپتین به‌عنوان یک تنظیم‌کننده کلیدی فرایندهای بیولوژیکی مانند اشتها و متابولیسم که با صفات تولیدی بسیار مهمی مانند مصرف خوراک، محتوای چربی و کیفیت گوشت در حیوانات مزرعه‌ای مرتبط هستند، توجه زیادی را به خود جلب کرده است (Sadeghi et al., 2014). هم‌چنین این ژن نقش‌هایی در تولید مثل، ایمنی، رشد و متابولیسم و گسترش ذخایر انرژی در بدن دارد. لپتین یک ژن کاندیدای مؤثر برای صفات اقتصادی مهم در دام‌هاست (Hajihosseini et al., 2015).

لپتین ممکن است در تنظیم ترشح GH نقش داشته باشد، با این حال، اطلاعات موجود مبهم است. مسیرهای سیگنالینگ داخل سلولی لپتین و GH می‌توانند به‌صورت مثبت و منفی تنظیم شوند. یکی از تنظیم‌کننده‌های منفی اصلی این مسیرها، پروتئین مهارکننده سیگنالینگ سیتوکین-۳ (SOCS-3) است که می‌تواند عملکرد هر دو هورمون GH و لپتین را مهار کند. رونویسی از ژن SOCS-3 در اکثر بافت‌ها (به‌جز مغز) به‌صورت دائمی نیست و بنابراین، عوامل خاصی برای القای رونویسی آن مورد نیاز است. SOCS-3 و بسیاری از عواملی که بیان آن را القاء می‌کنند، در هسته قوسی (ARC)، هسته پاراونتریکولار (PVN)، هسته‌های وِنترومدیا و دورسومدیا، هسته سوپراکیاسماتیک و غده هیپوفیز قرار دارند که نشان می‌دهد SOCS-3 ممکن است نقش محوری در تنظیم تعاملات نورواندوکرین بین هورمون‌هایی مانند لپتین، پرولاکتین (PRL) و رزیستین ایفا کند. داده‌ها نشان می‌دهند که SOCS-3 نقش مهمی در غده هیپوفیز دارد. پژوهش‌ها در سال‌های اخیر نشان داده است که بیان SOCS-3 هم‌چنین به محرک‌های محیطی مانند دوره نوری و دسترسی به غذا بستگی دارد (Zieba et al., 2022).

سطح mRNA لپتین در بافت چربی زیرپوستی گوسفند و بز نسبت به بافت‌های احشایی بالاتر است. مقدار لپتین در سوءتغذیه کاهش و با تغذیه مجدد افزایش می‌یابد. تزریق NPY و GH به گوسفندان و گاوهای در حال رشد، سطح لپتین را افزایش می‌دهد. در شرایط آزمایشگاهی، انسولین و گلوکوکورتیکوئیدها بیان mRNA لپتین در بافت چربی گاو و ترشح آن در گوسفند را افزایش دادند. افزایش طول روز، فعالیت‌های لیپوژنیک و سطح mRNA لپتین در بافت چربی و پلاسمای گوسفند را بالا می‌برد. بیان mRNA لپتین در بافت پستانی در اوایل آبستنی بیش‌تر است و در اواخر آبستنی و شیردهی کاهش می‌یابد، اما ادامه دارد. لپتین در بافت چربی پستانی (اوایل آبستنی)، سلول‌های اپیتلیال (اواخر آبستنی) و میوپیتلیال (شیردهی) گوسفند وجود دارد (Chilliard et al., 2001).

با گذشت زمان، مشخص شده‌است که بافت چربی تنها تولیدکننده لپتین نیست، زیرا این هورمون در سایر اندام‌ها مانند غدد پستانی، جفت، تخمدان، پانکراس، پوست و معده نیز شناسایی شده است. معده منبع اصلی لپتین در دستگاه گوارش است و نقش فعال لپتین در عملکرد معده انسان‌ها و حیوانات آزمایشگاهی به اثبات رسیده است. به‌نظر می‌رسد که لپتین باعث تحریک حفاظت از معده می‌شود، زیرا با افزایش جریان خون مخاطی، یکپارچگی مخاط را بهبود می‌بخشد. در این مورد، لپتین پس از تزریق CCK-8 به‌عنوان یک عامل نهایی عمل می‌کند. در سطح سیستمیک، به همین ترتیب در هم‌افزایی با CCK-8، لپتین معده می‌تواند در کنترل کوتاه‌مدت سیری از طریق فیبرهای آوران واگ در موش نقش داشته باشد. لپتین ممکن است نقش‌های بیش‌تری در جذب مواد مغذی داشته باشد، زیرا بر ترشح اسید معده و هورمون‌های معده تأثیر می‌گذارد (Palmioli et al., 2023).

Al-Burkat و همکاران (۲۰۲۳) با هدف بررسی چندشکلی ژن لپتین و ارتباط آن با ابعاد بدنی در گوسفندان آواسی، به تجزیه و تحلیل توالی ۲۶۰ جفت‌بازی این ژن پرداختند. آن‌ها یک تغییر (C/T) در موقعیت ۱۱۹ شناسایی کردند که منجر به تشکیل سه ژنوتیپ شد. اگرچه فراوانی آلل (C/۰/۶۵) و ژنوتیپ هموزیگوت CC بیش‌تر بود، اما هیچ ارتباط معنی‌داری بین این چندشکلی و ابعاد بدن بره‌ها در زمان از شیرگیری مشاهده نشد (Al-Burkat et al., 2023).

در پژوهشی که Barzehkar و همکاران (۲۰۰۹) انجام دادند، 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 T در تمام نمونه‌ها مشابه بود (Barzehkar et al., 2009).

برخلاف نتایج فوق، مطالعات دیگر ارتباطات معنی‌داری را گزارش کرده‌اند. Sepehri و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی نژاد افشاری و آمیخته‌های آن، دو چندشکلی در ناحیه اینترون ۲ و اگزون ۳ یافتند. چندشکلی اول (با ژنوتیپ‌های GG، AG و AA) با میزان چربی پشت و چندشکلی دوم (با ژنوتیپ‌های GG و GA) با طول بدن ارتباط معنی‌دار داشت (Sepehri et al., 2016). به‌طور مشابه، Boucher و همکاران (۲۰۰۶) سه SNP (C154T، A103G) در C617G را در نژادهای دورست و سافولک شناسایی کردند که با صفات مهم لاشه مانند مساحت عضله چشمی، ضخامت چربی زیرپوستی و کیفیت گوشت مرتبط بودند (Boucher et al., 2006). گستره این تأثیرات در مطالعه Ibom و همکاران (۲۰۲۴) بر روی نژادهای نیجریه‌ای، حتی بر صفات اندازه‌بدنی مانند طول بدن، ارتفاع جدوگاه و دور سینه نیز تأیید شد (Ibom et al., 2024).

با توجه به پتانسیل ژن لپتین در تأثیرگذاری بر صفات اقتصادی، شناسایی چندشکلی‌های آن در نژادهای بومی ایران دارای اهمیت است. از جمله این نژادها می‌توان به گوسفند زل (نژادی کوچک‌جثه و بی‌دنبه در مازندران) (Miar et al., 2009; Barzehkar et al., 2011)، گوسفند آتابای (با دنبه کوچک و نرخ رشد نسبتاً بالاتر) (Khaldari, 2002) و گوسفند لری-بختیاری (درشت‌جثه با دنبه بزرگ در استان چهارمحال و بختیاری) (Aali et al., 2013) اشاره نمود.

شناسایی جایگاه‌های ژنی مؤثر بر صفات رشد و لاشه از ملزومات اساسی برنامه‌های اصلاح نژادی محسوب می‌شود. در این میان، ژن لپتین به‌عنوان یکی از مهم‌ترین ژن‌های کاندید در تنظیم مصرف خوراک و صفات مرتبط با رشد و لاشه شناخته شده است. هدف مطالعه حاضر، شناسایی جهش‌های موجود در نژادهای گوسفند ایرانی و تحلیل ارتباط این جهش‌ها با صفات مذکور می‌باشد.

۲. روش پژوهش

۲.۱. نمونه‌برداری و جمع‌آوری داده‌های فنوتیپی

در کشتارگاه شهرکرد از ۷۴ رأس گوسفند نژاد لری-بختیاری و در کشتارگاه صنعتی گرگان از ۴۰ رأس گوسفند زل-دالاق خون‌گیری، بیومتری و اندازه‌گیری صفات لاشه انجام گرفت. خون‌گیری‌ها یک بار برای استخراج DNA با لوله پنج میلی‌لیتری حاوی EDTA و بار دیگر برای جداسازی پلاسما از سیاهرگ گردنی انجام شد. برای جداسازی پلاسما خون هپارینه نمونه‌ها در دستگاه سانتریفیوژ (Universal 320R، آلمان) با سرعت ۳۰۰۰ g و به‌مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شده‌اند. دام‌ها قبل از کشتار وزن‌کشی شدند و پس از آن پوست، شکمبه و روده از لاشه جدا شده و وزن چربی درون شکمی با ترازو اندازه‌گیری شده و در آخر لاشه همراه با دنبه وزن‌کشی شدند.

۲.۲. اندازه‌گیری فراسنج‌های خونی

اندازه‌گیری تری‌گلیسرید و کلسترول با کیت‌های شرکت پارس آزمون و در آزمایشگاه تغذیه گروه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران انجام گرفت. برای اندازه‌گیری تری‌گلیسرید ابتدا گلیسرول با آنزیم لیپوپروتئین لیپاز از اسیدهای چرب جدا شده، سپس هیدروژن آزاد شده از گلیسرول با ۴-آمینوآنتی پیرین و فنول در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین می‌دهد. تری‌گلیسرید با واکنش‌های زنجیره‌وار آبکافت و شکسته شده و در پایان در طول موج ۵۴۶ نانومتر (۵۰۰-۵۴۶ نانومتر) اندازه‌گیری شدند. میزان کینونیمین تشکیل شده با نورسنجی قابل اندازه‌گیری بوده و با مقدار تری‌گلیسرید رابطه مستقیم دارد. در اندازه‌گیری کلسترول، پراکسید هیدروژن تولید شده در نتیجه آبکافت و اکسیداسیون کلسترول، به‌همراه فنول و ۴-آمینوآنتی پیرین در کنار آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین می‌دهد. میزان کینونیمین تشکیل شده با نورسنجی قابل اندازه‌گیری بوده و با مقدار کلسترول رابطه مستقیم دارد؛ کلسترول در طول موج ۴۹۶ نانومتر اندازه‌گیری شد.

۲.۳. استخراج DNA

استخراج DNA از ۲۵۰ میلی‌لیتر خون با روش نمکی بهینه‌یافته که توسط Miller و همکاران (۱۹۹۸) معرفی شد، انجام گرفت. ارزیابی کیفیت DNA استخراج‌شده با روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز در ژل آگارز ۱ درصد انجام شد.

۲.۴. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز جهت تکثیر قطعه ۲۷۱ جفت‌بازی با تهیه آغازگرهای اختصاصی رفت 5'-CGCAAGGTCCAGGATGACACC-3' و برگشت 5'-GTCTGGGAGGGAGGAGAGTGA-3' از شرکت سینارن انجام شد. این آغازگرها توسط بوجر در سال ۲۰۰۵ ارائه شده‌است. واکنش PCR (Applied biosystems Simplicamp thermal cycler، آمریکا) 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 هر کدام 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 پنج 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 پنج دقیقه بود. پس از انجام واکنش PCR، محصولات PCR روی ژل آگارز دو درصد الکتروفورز (شرکت پایا پژوهش) شدند.

۲.۵. چندشکلی فضایی تک‌ رشته‌ها (SSCP)

برای بررسی چندشکلی نمونه‌ها، دو تا سه میکرولیتر از فرآورده واکنش زنجیره پلیمرز برای هر جایگاه با ۲۲-۲۳ میکرولیتر رنگ مخصوص (Dye) مخلوط شدند، سپس نمونه‌ها را به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده تا پیوندهای هیدروژنی بین بازهای ساختار DNA شکسته شوند. پس از آن الکتروفورز نمونه‌ها به مدت ۱۴ ساعت و با اختلاف پتانسل ۳۰۰ ولت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و با بافر 1X TBE انجام گرفت. در نهایت رنگ‌آمیزی ژل جهت مشاهده الگوهای باندهای به‌روشنی نیترا نقره انجام گرفت (سمبروک و راسل، ۲۰۰۱).

۲.۶. نرم‌افزارهای مورد استفاده

فراوانی آلی برای بازهای جهش‌یافته به کمک نرم‌افزار GenAlex (نسخه ۴/۱) برآورد شد. بررسی نمونه‌هایی که توالی‌یابی شدند با استفاده از نرم‌افزارهای Bio Edit (نسخه ۷/۷/۱) و Vector NT1 (نسخه ۱۱) انجام گرفت.

۲.۷. تجزیه و تحلیل آماری

آزمون نرمال بودن داده‌ها به کمک نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱۲) انجام شده است و داده‌هایی که نیاز به نرمال‌سازی داشتند با روش box cox و به کمک نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱۲) نرمال شده و پس از آن بررسی‌های آماری انجام شده است. برای نرمال کردن داده‌ها به کمک نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱۲) رویه transreg یک مقدار به نام لامبدا (λ) به دست آورده است که در فرمول زیر جای‌گذاری کرده و داده‌ها نرمال شدند.

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

$X_{(n)}$: داده نرمال شده

۲.۷.۱. مدل آماری

اثر جنس، سن در هنگام خون‌گیری (از آنجایی که دام‌های نژاد لری-بختیاری هم سن بودند، بنابراین عامل سن در معادله مدل دام‌های ایستگاه به‌نژادی شولی وجود نداشت)، چگونگی تولد، ماه تولد، سن مادر و ژنوتیپ هر فرد به‌عنوان عوامل ثابت قابل دسته‌بندی در مدل قرار گرفت. اثر هر دام نیز به‌عنوان عامل تصادفی و میزان هم‌خونی در نژاد لری-بختیاری به‌عنوان متغیر مستقل در مدل قرار داده شد. برای صفت وزن از شیرگیری به‌جز عوامل گفته شده، وزن تولد و سن دام در زمان وزن‌کشی سه ماهگی نیز به‌عنوان عامل هم‌بسته در مدل به‌کار رفته است.

$$Y_{ijkl} = \mu + G_i + g_j + A_k + b(W_l - \bar{W}) + Animal_l + e_{ijkl} \quad \text{رابطه (۲) مدل}$$

که در آن، Y_{ijkl} : مقدار صفت برای هر دام، μ : میانگین جامعه، G_i : اثر i امین ژنوتیپ، g_j : اثر j امین جنس، A_k : اثر k امین سن دام در زمان کشتار، b : ضریب تابعیت Y روی W (وزن دام‌ها در هنگام خون‌گیری)، $\bar{W}$: وزن دام در هنگام کشتار، $\bar{W}$: میانگین وزن دام‌های خون‌گیری شده، $Animal_l$: اثر l امین حیوان، e_{ijkl} : اثر باقیمانده می‌باشند.

در این بخش صفات مشترک بین دو نژاد لری-بختیاری و آمیخته‌های زل-آتابای ایجاد شد که در برگیرنده وزن هنگام کشتار، وزن لاشه، وزن چربی درون شکمی، بازده لاشه، درصد چربی درون شکمی، دور گردن، دور سینه، دور شکم، قد، طول، دور ران، دور بالای دم یا دنبه و طول دم یا دنبه بود. اثر نژاد، سن، ژنوتیپ برای ژنوتیپ‌ها به‌عنوان عوامل ثابت قابل دسته‌بندی آورده شد. وزن زنده هم‌بستگی بسیار بالایی با وزن لاشه، دور گردن، دور سینه، دور شکم، قد و طول داشت ($r > 0.85$) و به‌عنوان عامل هم‌بسته در برازش این صفات آورده شده است.

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

که در آن، Y_{ijkl} : 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)، $\bar{W}$: وزن دام در هنگام کشتار، $\bar{W}$: میانگین وزن دام‌های خون‌گیری شده، $(Bg)_{ik}$: اثر متقابل بین نژاد و جنس، $Animal_m$: اثر m امین حیوان، e_{ijklm} : اثر باقیمانده می‌باشند.

۳. یافته‌های پژوهش

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 پی‌بردن به مقدار و میزان آلودگی آن، نزدیک به ۱۲۵ نمونه DNA جداسازی شده و حدود ۵۶ نمونه با دستگاه نانودراپ (Nanodrop 1000، آمریکا) ارزیابی شد که میزان غلظت DNA در نمونه‌ها ۱۸۰ ng/ μ L و میانگین نسبت جذب در طول موج ۲۶۰ نانومتر به ۲۸۰ نانومتر (A_{260}/A_{280}) برابر ۱/۹ بود.

کمینه، بیشینه، میانگین، انحراف معیار و ضریب تغییرات صفات مربوط به وزن، بازده لاشه گرم، وزن و درصد چربی درون شکمی، پارامترهای خونی و اندازه بخش‌های گوناگون بدن (بیومتری)، صفات عملکردی و تولیدی مانند وزن تولد، وزن از شیرگیری، اضافه وزن روزانه و شاخص کلیبر مربوط به هر یک از نژادهای موردبررسی در جدول‌های (۱) و (۲) آمده‌است.

جدول ۱. ویژگی‌های آماری صفات دام‌های نژاد لری-بختیاری

ضریب تغییرات	انحراف استاندارد	میانگین	بیشینه	کمینه	صفت
۱۶/۸۱	۹/۸۲	۵۸/۳۹	۷۸/۵	۳۲	وزن هنگام کشتار (کیلوگرم)
۱۷/۵۴	۵/۰۹	۲۹/۰۲	۳۷/۶	۱۴/۸	وزن لاشه (کیلوگرم)
۷/۴۶	۳/۷۴	۵۰/۱۳	۵۸/۰۳	۳۸/۲۱	بازده لاشه (درصد)
۶۷/۶۰	۲۹۲/۲۸	۴۳۲/۳۴	۱۴۵۰	۵۰	وزن چربی درون شکمی (گرم)
۶۴/۲۲	۰/۹۵	۱/۴۸	۴/۱۸	۰/۲۳	درصد چربی درون شکمی (درصد)
۱۶/۸۱	۹/۸۲	۵۸/۳۹	۹۸/۰۶	۳۷/۵۸	کلیسترول (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)
۱۹/۷۳	۸/۱۸	۴۱/۴۷	۵۶/۹۷	۲۴/۰۵	تری‌گلیسرید (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)
۷/۷۴	۲/۷۱	۳۵/۰۱	۴۲	۲۷	دور گردن (سانتی‌متر)
۶/۶۱	۶/۱۰	۹۲/۲۵	۱۰۵	۷۵	دور سینه (سانتی‌متر)
۷/۹۴	۷/۸۷	۹۹/۰۸	۱۱۷	۸۲	دور شکم (سانتی‌متر)
۵/۲۱	۳/۷۷	۷۲/۳۶	۸۰	۶۰	قد (سانتی‌متر)
۵/۴۳	۳/۴۰	۶۲/۶۶	۶۸	۴۹	طول بدن (سانتی‌متر)
۷/۷۹	۲/۲۸	۲۹/۲۷	۳۵	۲۳	دور ران (سانتی‌متر)
۳۳/۴۹	۱/۲۶	۵/۳۷	۸/۵	۲	قطر دنبه (سانتی‌متر)
۹/۸۸	۹/۶۲	۶۶/۹۷	۷۸	۴۹	دور بالای دنبه (سانتی‌متر)
۱۲/۴۸	۸/۰۵	۶۴/۴۸	۸۱	۴۵	دور میانی دنبه (سانتی‌متر)
۱۶/۷۹	۹/۸۸	۵۸/۸۸	۸۲	۳۲	دور پایین دنبه (سانتی‌متر)
۱۳/۷۸	۴/۵۳	۳۲/۸۹	۴۵	۲۲	طول وسط (سانتی‌متر)
۱۸/۸۳	۴/۲۷	۲۲/۶۶	۳۳	۱۲	طول سمت چپ (سانتی‌متر)
۱۸/۲۵	۴/۱۵	۲۲/۷۵	۳۳	۱۳	طول سمت راست (سانتی‌متر)
۲۱/۰۶	۳/۹۵	۱۸/۷۶	۲۷	۱۰	طول شکاف دنبه (سانتی‌متر)
۱۰/۷۰	۵/۰۲	۴۶/۹۳	۵۸	۳۴	عرض بالای دنبه (سانتی‌متر)
۱۱/۸۵	۵/۵۳	۴۶/۷۰	۵۹	۳۵	عرض میانی دنبه (سانتی‌متر)
۲۰/۳۵	۵/۸۵	۲۸/۷۴	۴۸	۱۸	عرض پایین دنبه (سانتی‌متر)

جدول ۲. ویژگی‌های آماری صفات دام‌های نژاد زل-آتابای

ضریب تغییرات	انحراف استاندارد	میانگین	بیشینه	کمینه	صفت
۳۴/۳۹	۱۲/۴۷	۳۶/۱۷	۵۸	۲۰	وزن هنگام کشتار (کیلوگرم)
۳۵/۸۳	۶/۳۱	۱۷/۶۰	۲۸/۹۰	۸/۷۵	وزن لاشه (کیلوگرم)
۶/۶۸	۳/۱۰	۴۶/۴۳	۵۰/۴۳	۳۶/۶۰	بازده لاشه (درصد)
۴۶/۳۰	۲۱۶/۸۰	۴۶۸/۲۲۵	۱۰۰۰	۱۵۰	وزن چربی درون شکمی (گرم)
۴۴/۹۲	۰/۴۶	۱/۰۲	۵/۱	۰/۵۹	درصد چربی درون شکمی (درصد)
۱۶/۸۶	۵/۰۸	۳۰/۱۲	۳۸	۲۳	دور گردن (سانتی‌متر)
۱۴/۲۷	۱۰/۸۴	۷۶/۰۰	۹۶	۶۰	دور سینه (سانتی‌متر)
۱۴/۰۷	۱۱/۲۷	۸۰/۰۶	۹۹	۶۲	دور شکم (سانتی‌متر)
۱۱/۲۹	۶/۹۰	۶۱/۰۶	۷۴	۵۰	قد (سانتی‌متر)
۱۳/۰۲	۷/۱۹	۵۵/۲۷	۶۹	۴۴	طول بدن (سانتی‌متر)
۱۴/۵۶	۴/۱۴	۲۸/۴۲	۳۶	۱۸	دور ران (سانتی‌متر)
۳۴/۵۷	۸/۴۳	۳۴/۳۰	۵۱	۱۹	دور بالای دنبه (سانتی‌متر)
۲۲/۳۰	۷/۳۹	۳۳/۱۷	۴۷	۲۰	دور میانی دنبه (سانتی‌متر)
۲۱/۴۹	۵/۸۹	۳۷/۴۱	۳۹	۱۹	دور پایین دنبه (سانتی‌متر)
۲۱/۸۷	۴/۹۹	۲۲/۸۲	۳۴	۱۶	طول وسط (سانتی‌متر)
۲۲/۴۷	۲/۵۳	۱۱/۲۶	۱۷	۵	طول سمت چپ (سانتی‌متر)
۲۲/۷۵	۲/۶۱	۱۱/۴۶	۱۷	۵	طول سمت راست (سانتی‌متر)
۲۱/۶۵	۵/۵۵	۲۵/۶۴	۳۵	۱۷	عرض بالای دنبه (سانتی‌متر)
۱۹/۴۴	۴/۷۲	۲۴/۲۸	۳۴	۱۵	عرض میانی دنبه (سانتی‌متر)
۲۱/۵۳	۴/۵۴	۲۱/۱۰	۲۸	۱۳	عرض پایین دنبه (سانتی‌متر)

در مجموع برای تعیین ژنوتیپ دو نژاد زل و لری-بختیاری در ناحیه تکثیر شده ژن لپتین به روش PCR-SSCP الگوی بانندی مشاهده شد (شکل ۱). پس از توالی‌یابی الگوهای حاصل از PCR-SSCP سه جهش شناسایی شد. یک جهش (+C ۱۳۲۸) در ناحیه کدکننده ژن قرار دارد، که از نوع اضافه بوده و یک باز سیتوزین وارد توالی شده است. در اثر این جهش کد اسید آمینه ۳۱ به کدون پایان تبدیل می‌شود و پروتئینی ۳۰ اسید آمینه به صورت ناقص ساخته می‌شود (جدول ۳). این جهش برای نخستین بار شناسایی شده است.



شکل ۱. الگوهای بانندی مشاهده شده در آگزون ژن لپتین

جدول ۳. توالی ساختمان نوع اول پروتئین لپتین قبل و بعد از جهش در نوکلئوتید ۱۳۲۸

وضعیت جهش	بخشی از توالی مربوط به ساختمان نوع اول پروتئین لپتین در گوسفند
قبل از جهش	MRCGPLYRFLWLWPYLSYVEAVPIRKVQD ^۱
بعد از جهش	MRCGPLYRFLWLWPYLSYVEAVPIRKVPG*

1. <https://proteomics.vsu.edu/tools/OrfPredictor.htm>

دو جهش دیگر در بخش اینترون بوده و نقشی در ساختار پروتئین لپتین ندارند. دست آوردهای این پژوهش نشان می‌دهد که گوسفندان ایرانی برای جهش رخ داده در نوکلئوتید ۱۴۶۷ (C/G) چندشکلی نداشته و یکسان هستند. از مقایسه توالی‌های حاصله با توالی پایگاه داده NCBI به شماره ثبت HE605296.1 شش ژنوتیپ شناسایی گردید که در جدول (۴) آورده شده است.

جدول ۴. جهش‌ها و ژنوتیپ‌های آگزون دو و بخشی از اینترون دو ژن لپتین

شماره باز				ژنوتیپ	
۱۳۲۸	۱۴۱۶	۱۴۶۷	۱۵۶۶		
-	A	C	T	HE605296.1	AACCTT
-	A	C	T	۱	AACCTT
-	A	C	C	۲	AACCCC
-	G/A	C	C	۳	AGCCTT
-	G	C	T	۴	GGCCTT
C	G	C	T	۵	CCGGCCTT
C	A	C	T	۶	CCAACCTT

درصد فراوانی‌های ژنوتیپی در جدول (۵) آورده شده است، در نژاد بختیاری گوناگونی بسیاری وجود دارد، اما در نژاد زل-آتابای از این شش ژنوتیپ تنها سه ژنوتیپ وجود دارد که ژنوتیپ شش رو به پایدار شدن در این جمعیت است.

جدول ۵. درصد فراوانی ژنوتیپ‌های اکزون دو و بخشی از اینترون دو ژن لپتین						
ژنوتیپ یک	ژنوتیپ دو	ژنوتیپ سه	ژنوتیپ چهار	ژنوتیپ پنج	ژنوتیپ شش	نژاد
۱۹	۲۰	۱۰	۱	۲۶	۲۴	لری بختیاری
۹	۱۲	۰	۰	۰	۷۹	آمیخته زل-آتابای

فراوانی‌های آلی برای بازهای جهش‌یافته در جدول (۶) آورده شده است؛ جهش‌هایی که در نوکلئوتیدهای شماره ۱۴۱۶ و ۱۵۶۶ دیده شده است در نژاد زل-آتابای دارای فراوانی بسیار کم و صفر است، اما در نژاد لری-بختیاری همه جهش‌ها دارای پراکندگی می‌باشند.

جدول ۶. فراوانی‌های آلی جهش‌های اکزون دو و بخشی از اینترون دو ژن لپتین				
شماره باز جهش‌یافته			دسته‌بندی دام	
۱۳۲۸ (+C)	۱۴۱۶ (A/G)	۱۵۶۶ (T/C)	لری-بختیاری	فراوانی آلی
۰/۴۹۳	۰/۳۲۶	۰/۳۰۴	آمیخته زل-آتابای	
۰/۷۸۸	۰/۰	۰/۱۲۱		

۳.۱. بررسی آماری ارتباط بین صفات با عوامل موجود در مدل

۳.۱.۱. نژاد لری-بختیاری

میانگین حداقل مربعات صفات اندازه‌گیری‌شده در نژاد لری-بختیاری برای شش ژنوتیپ شناسایی‌شده در جدول (۷) نشان داده شده است. این شش ژنوتیپ در نژاد لری-بختیاری با صفات دور سینه، قد دام، دور بالا و میانی دنبه، عرض بالا و عرض میانی دنبه و میزان تری‌گلیسرید خون رابطه معنی‌داری دارند ($P < 0.05$). از میان این شش ژنوتیپ، ژنوتیپ پنج کم‌ترین میانگین مربعات را داشته است.

جدول ۷. میانگین حداقل مربعات ($\pm$ S.E) صفات گوناگون برای ژنوتیپ‌ها شناسایی شده در نژاد لری-بختیاری						
ژنوتیپ یک	ژنوتیپ دو	ژنوتیپ سه	ژنوتیپ چهار	ژنوتیپ پنج	ژنوتیپ شش	صفات
۵۴/۸۰±۳/۴۸	۵۵/۳۰±۳/۸۱	۵۰/۳۹±۴/۱۴	۵۶/۰۳±۹/۳۱	۴۶/۰۹±۳/۲۹	۵۰/۸۵±۳/۵۱	وزن هنگام کشتار (کیلوگرم)
۲۹/۸۵±۰/۹۳	۲۹/۲۳±۱/۰۰	۲۸/۲۱±۱/۱۶	۳۲/۳۳±۲/۴۳	۲۹/۱۶±۰/۹۵	۲۹/۰۷±۰/۹۵	وزن لاشه (کیلوگرم)
۵۱/۹۴±۱/۵۴	۵۰/۸۱±۱/۶۶	۴۹/۱۰±۱/۸۷	۵۵/۷۱±۴/۰۶	۵۱/۳۹±۱/۴۳	۵۹/۷۸±۱/۵۴	بازده لاشه (درصد)
۳/۶۸±۰/۱۲	۳/۶۸±۰/۱۲	۳/۷۸±۰/۱۴	۳/۵۷±۰/۲۸	۳/۷۳±۰/۱۲	۳/۶۲±۰/۱۲	وزن چربی درون شکمی (گرم)
۳۳/۰۴±۰/۹۳	۳۳/۵۰±۱/۰۲	۳۱/۹۹±۱/۱۰	۳۰/۸۴±۲/۴۹	۳۱/۴۱±۰/۸۸	۳۲/۵۶±۰/۹۴	دور گردن (سانتی‌متر)
۹۰/۱۳±۲/۲۹	۹۱/۸۰±۲/۵۰	۸۸/۱۱±۲/۷۲	۸۶/۵۷±۶/۱۲	۸۶/۳۲±۲/۱۶	۸۷/۰۵±۲/۳۱	دور سینه (سانتی‌متر)
۹۷/۴۳±۳/۰۵	۹۵/۴۸±۳/۳۳	۹۷/۰۲±۳/۶۲	۹۷/۲۰±۸/۱۵	۹۲/۲۰±۲/۸۸	۹۲/۸۴±۳/۰۷	دور شکم (سانتی‌متر)
۴/۲۱±۰/۳۸	۵/۱۲±۰/۴۴	۴/۱۷±۰/۴۷	۴/۷۵±۰/۰۷	۴/۱۶±۰/۳۸	۴/۴۹±۰/۴۰	قد (سانتی‌متر)
۶۰/۵۸±۱/۰۷	۶۰/۳۴±۱/۱۸	۵۷/۸۱±۱/۲۷	۶۱/۶۷±۲/۸۶	۵۷/۹۸±۱/۰۱	۵۹/۶۲±۱/۰۸	طول بدن (سانتی‌متر)
۲۸/۶۸±۰/۸۹	۲۸/۹۱±۰/۹۸	۲۸/۵۰±۱/۰۶	۲۷/۵۴±۲/۳۹	۲۸/۱۶±۰/۸۴	۲۷/۳۱±۰/۹۰	دور ران (سانتی‌متر)
۶۳/۳۷±۲/۳۸	۶۵/۲۹±۲/۶۰	۶۰/۱۱±۲/۸۳	۵۷/۲۹±۶/۳۷	۶۱/۶۶±۲/۲۴	۶۶/۳۸±۲/۴۰	دور بالای دنبه (سانتی‌متر)
۶۰/۹۳±۲/۹۶	۶۰/۱۶±۳/۲۴	۵۶/۳۸±۳/۵۲	۵۳/۹۶±۷/۹۶	۵۶/۷۵±۲/۸۰	۶۴/۷۶±۲/۹۹	دور میان دنبه (سانتی‌متر)
۵۷/۹۲±۳/۸۵	۵۵/۱۴±۴/۲۲	۴۷/۹۱±۴/۵۸	۴۲/۶۶±۱۰/۳۲	۵۰/۸۱±۳/۶۴	۵۶/۹۴±۳/۸۹	دور پایین (سانتی‌متر)
۲۹/۴۱±۱/۷۳	۳۰/۹۳±۱/۹۰	۲۹/۷۶±۲/۰۶	۲۷/۸۳±۴/۶۴	۲۸/۳۷±۱/۶۴	۳۰/۶۲±۱/۷۵	طول دنبه (سانتی‌متر)
۲۰/۴۱±۱/۶۶	۲۲/۲۰±۱/۸۲	۲۰/۳۴±۱/۹۷	۱۹/۶۰±۴/۴۴	۱۸/۸۳±۱/۵۷	۲۱/۷۴±۱/۶۷	طول چپ (سانتی‌متر)
۲۰/۷۰±۱/۶۶	۲۲/۲۹±۱/۸۲	۲۱/۱۵±۱/۹۷	۱۷/۱۴±۴/۴۴	۱۸/۸۶±۱/۵۷	۲۱/۲۶±۱/۶۷	طول راست (سانتی‌متر)
۱۶/۵۸±۱/۴۷	۱۶/۶۶±۱/۶۱	۱۷/۸۱±۱/۷۵	۱۳/۱۶±۳/۹۴	۱۵/۵۴±۱/۳۹	۱۶/۶۶±۱/۴۸	طول شکاف (سانتی‌متر)
۴۵/۵۹±۱/۹۰	۴۶/۶۲±۲/۰۸	۴۲/۴۴±۲/۲۶	۴۶/۶۳±۵/۰۹	۴۲/۰۹±۱/۷۹	۴۶/۱۶±۱/۹۲	عرض بالای دنبه (سانتی‌متر)
۴۵/۹۴±۲/۰۵	۴۴/۵۱±۲/۲۴	۴۰/۴۴±۲/۴۴	۴۰/۱۳±۵/۴۹	۴۱/۴۴±۱/۹۴	۴۶/۵۹±۲/۰۷	عرض میانی (سانتی‌متر)
۲۸/۲۹±۲/۳۷	۲۶/۹۱±۲/۶۰	۲۶/۲۳±۲/۸۲	۲۳/۹۸±۶/۳۵	۲۴/۱۰±۲/۲۴	۲۶/۴۱±۲/۳۹	عرض پایین (سانتی‌متر)
۴۲/۹۳±۳/۶۹	۳۷/۲۴±۴/۰۷	۳۶/۵۲±۴/۸۷	۵۶/۳۷±۸/۷۲	۴۱/۵۵±۳/۴۱	۴۴/۳۰±۳/۸۰	تری‌گلیسرید
۰/۷۱±۰/۰۰۳	۰/۷۱±۰/۰۰۳	۰/۷۱±۰/۰۰۴	۰/۷۱±۰/۰۰۷	۰/۷۱±۰/۰۰۳	۰/۷۱±۰/۰۰۳	کلسترول

a,b: تفاوت ارقام با حروف نامشابه در هر ردیف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

در نژاد لری-بختیاری اثر جنس به جز فراسنجه‌های خونی، بازده لاشه و وزن درون شکمی بر صفات دیگر معنی‌دار بود ($P < 0.05$) و به‌طوری‌که میانگین دام‌های نر بیش‌تر از ماده بود.

۳.۱.۲. آمیخته زل-آتابای

همان‌گونه که در جدول (۸) قابل مشاهده‌است، در آمیخته‌های زل-آتابای سه ژنوتیپ یک، دو و شش دیده شد که با صفات وزن لاشه و دور پایین دنبه رابطه معنی‌داری داشتند ($P < 0.05$) که برای این صفات دام‌های با ژنوتیپ شش بیش‌ترین میانگین مربعات و ژنوتیپ یک کم‌ترین میانگین مربعات را داشتند.

جدول ۸. میانگین حداقل مربعات ($\pm S.E$) صفات گوناگون برای ژنوتیپ‌ها شناسایی‌شده در نژاد زل-آتابای

ژنوتیپ شش	ژنوتیپ دو	ژنوتیپ یک	صفات
۳۴/۹۱ $\pm$ ۱/۴۴	۳۹/۱۵ $\pm$ ۴/۷۵	۳۸/۴۶ $\pm$ ۳/۶۶	وزن زنده (کیلوگرم)
۱۷/۱۴ $\pm$ ۰/۱۷	۱۶/۷۵ $\pm$ ۰/۵۶	۱۵/۴۱ $\pm$ ۰/۵۹	وزن لاشه (کیلوگرم)
۴۶/۴۲ $\pm$ ۰/۵۴	۴۵/۹۶ $\pm$ ۱/۸۲	۴۳/۳۸ $\pm$ ۱/۸۹	بازده لاشه (درصد)
۴۳۷/۳۲ $\pm$ ۴۷/۴۶	۷۴۸/۴۱ $\pm$ ۱۳۵/۱۰	۴۷۶/۱۵ $\pm$ ۱۶۴/۳۸	وزن چربی درون شکمی (گرم)
- ۰/۰۸۱ $\pm$ ۰/۱۰۱	- ۰/۴۵۵ $\pm$ ۰/۳۳۷	- ۰/۳۳۵ $\pm$ ۰/۳۵۱	درصد چربی شکمی
۲۸/۹۷ $\pm$ ۰/۶۶	۳۲/۳۷ $\pm$ ۱/۸۲	۳۰/۶۳ $\pm$ ۱/۶۶	دور گردن (سانتی‌متر)
۷۴/۷۷ $\pm$ ۰/۷۶	۷۵/۹۲ $\pm$ ۲/۵۴	۷۳/۹۱ $\pm$ ۱/۹۶	دور سینه (سانتی‌متر)
۸۰/۵۹ $\pm$ ۱/۰۵	۷۷/۵۷ $\pm$ ۳/۵۲	۷۶/۶۱ $\pm$ ۲/۷۲	دور شکم (سانتی‌متر)
۵۹/۹۰ $\pm$ ۰/۴۵	۵۸/۶۵ $\pm$ ۱/۵۱	۶۱/۶۳ $\pm$ ۱/۱۷	قد (سانتی‌متر)
۵۵/۲۲ $\pm$ ۰/۶۵	۵۳/۷۳ $\pm$ ۲/۱۶	۵۶/۱۱ $\pm$ ۱/۶۷	طول بدن (سانتی‌متر)
۲۷/۶۷ $\pm$ ۰/۷۹	۲۵/۸۲ $\pm$ ۲/۲۰	۲۷/۵۲ $\pm$ ۲/۰۱	دور ران (سانتی‌متر)
۳۴/۶۴ $\pm$ ۱/۳۶	۳۳/۴۸ $\pm$ ۳/۷۹	۳۳/۴۹ $\pm$ ۳/۴۶	دور بالای دنبه (سانتی‌متر)
۳۲/۷۸ $\pm$ ۱/۴۲	۳۰/۴۹ $\pm$ ۴/۰۱	۲۸/۶۹ $\pm$ ۴/۹۴	دور میان دنبه (سانتی‌متر)
۲۸/۶۶ $\pm$ ۱/۰۰	۲۳/۵۶ $\pm$ ۲/۷۴	۲۲/۹۱ $\pm$ ۲/۴۹	دور پایین دنبه (سانتی‌متر)
۲۲/۳۵ $\pm$ ۱/۰۰	۲۲/۳۵ $\pm$ ۲/۷۷	۲۴/۵۷ $\pm$ ۲/۵۳	طول دنبه (سانتی‌متر)
۹/۳۷ $\pm$ ۰/۴۴	۱۰/۷۳ $\pm$ ۱/۲۳	۱۰/۴۹ $\pm$ ۱/۱۳	طول چپ (سانتی‌متر)
۱۱/۳۸ $\pm$ ۰/۴۷	۱۱/۰۹ $\pm$ ۱/۳۲	۱۰/۴۳ $\pm$ ۱/۲۰	طول راست (سانتی‌متر)
۲۵/۹۷ $\pm$ ۰/۹۵	۲۳/۳۲ $\pm$ ۲/۶۳	۲۴/۵۴ $\pm$ ۲/۴۰	عرض بالای دنبه (سانتی‌متر)
۲۴/۱۶ $\pm$ ۰/۸۶	۲۲/۰۲ $\pm$ ۲/۴۳	۲۰/۰۷ $\pm$ ۲/۹۸	عرض میان دنبه (سانتی‌متر)
۲۱/۳۴ $\pm$ ۰/۹۰	۲۱/۱۸ $\pm$ ۲/۴۴	۱۹/۲۱ $\pm$ ۲/۲۲	عرض پایین دنبه (سانتی‌متر)

تفاوت ارقام با حروف نامشابه در هر ردیف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

اثر جنس در آمیخته‌های زل-آتابای با وزن زنده، دور گردن، دور سینه، قد و دور ران رابطه بسیار معنی‌داری داشت ($P < 0.05$) همچنین بین جنس و بازده لاشه، دور بالا و عرض بالای دنبه و طول چپ و راست دنبه در سطح پنج درصد رابطه معنی‌داری مشاهده شد. سن اثر زیادی بر صفات وزن زنده و دور شکم، دور بالا، میان و پایین دنبه و همچنین عرض بالا، میان و پایین دنبه و طول سمت چپ دنبه داشت ($P < 0.05$). همچنین رابطه بین سن دام و طول بدن، طول دنبه و طول سمت راست دنبه نیز معنی‌دار مشاهده شد ($P < 0.05$).

۳.۱.۳. صفات مشترک

در جدول (۹) میانگین حداقل مربعات صفات اندازه‌گیری شده برای اثرات متقابل بین نژاد و جنس آورده شده است، اثر متقابل نژاد و جنس با وزن زنده، وزن لاشه، دور ران، دور بالای دم یا دنبه معنی‌دار بود ($P < 0.05$) و افزایش ضریب تبیین را به‌همراه داشت، بنابراین برای این صفات این اثر نیز وارد مدل گردید.

جدول ۹. میانگین حداقل مربعات ($\pm$ S.E) صفات گوناگون برای اثرات متقابل بین نژاد و جنس

نژاد و جنس				صفات
زل-آتابای		لری-بختیاری		
ماده	نر	ماده	نر	
۴۶/۹۳ ^b ±۱/۴۳	۳۶/۹۷ ^b ±۱/۲۱	۴۶/۲۰ ^b ±۱/۴۳	۶۳/۵۰ ^a ±۱/۲۱	وزن زنده ^{**} (کیلوگرم)
۴۸/۴۴ ^b ±۱/۸۷	۴۸/۵۱ ^b ±۱/۵۰	۵۰/۳۶ ^b ±۲/۳۲	۵۰/۹۲ ^a ±۱/۵۱	بازده لاشه ^{**} (درصد)
۲۰/۷۳ ^a ±۱/۳۴	۱۸/۱۷ ^a ±۱/۹۷	۲۲/۶۷ ^a ±۲/۸۵	۳۱/۳۳ ^a ±۱/۳۵	وزن لاشه ^{**} (کیلوگرم)
۳۱/۵۹ ^a ±۱/۴۳	۲۸/۸۸ ^b ±۱/۱۴	۲۶/۹۳ ^b ±۱/۷۸	۲۹/۷۶ ^{ab} ±۱/۱۶	دور ران [*] (سانتی‌متر)
۳۶/۵۷ ^c ±۲/۳۵	۳۴/۲۷ ^c ±۲/۶۷	۵۵/۹۸ ^b ±۴/۱۶	۶۷/۳۵ ^a ±۲/۷۰	دور بالای دم یا دنبه ^{**} (سانتی‌متر)

a,b: تفاوت ارقام با حروف نامشابه در هر ردیف معنی‌دار است ($P<0/05$).
* و **: به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۵ درصد و ۱ درصد است.

اثر جنس بر دور گردن معنی‌دار دیده شد ($P<0/05$). اثر جنس چون افزایش ضریب تبیین را به همراه داشت، در معادله مدل آن‌ها قرارگرفت و برای دیگر صفات به دلیل نداشتن اثر معنی‌دار و نداشتن اثر بر ضریب تبیین در مدل قرار نگرفت. اثر نژاد با درصد چربی درون شکمی و طول دم یا دنبه ($P<0/05$) و با دور ران و قد ($P<0/05$) رابطه معنی‌داری داشت. صفت چربی درون شکمی به گونه‌ای چشم‌گیر در نژاد لری-بختیاری کم‌تر از آمیخته‌های زل-آتابای بود ($P<0/05$). سن بیش‌ترین اثر را بر روی صفات مربوط به چربی از خود نشان داد. عامل سن با وزن چربی درون شکم، دور بالای دم یا دنبه و دور شکم رابطه معنی‌داری داشت ($P<0/05$)، همچنین رابطه سن با طول دم یا دنبه نیز ($P<0/05$) معنی‌دار بود. در رابطه با طول بدن چون عامل سن افزایش ضریب تبیین را به همراه داشت در معادله مدل آن قرار گرفت.

۴. بحث

در این مطالعه، برای نخستین بار، جهش درج‌شدن باز سیتوزین (+C) در موقعیت نوکلئوتیدی ۱۳۲۸ در نژادهای گوسفند ایرانی شناسایی شد. این نوع جهش ($-2730C$) در نژادهای گوسفند پاکستانی (لوهی، کاجلی و سیپلی) در اینترون دو ژن لپتین گزارش شده است (Quereshi et al., 2015). این واریانت جدید می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر مولکولی بالقوه برای برنامه‌های اصلاح نژاد در جمعیت‌های ایرانی در نظر گرفته شود.

تجزیه و تحلیل ارتباط جهش‌های موجود در اگزون ۲ ژن لپتین با صفات لاشه، اهمیت این ناحیه را برجسته می‌سازد. به‌عنوان مثال، در مطالعه‌ای بر روی گوسفندان دورگه مرینو-آواسی، جهش تبدیل باز C به T در اگزون ۲ با سطوح پروتئین لپتین در گردش خون و مصرف خوراک ارتباط معنی‌داری داشته است (Jonas et al., 2016). علاوه بر این، در پژوهش حاضر، جهش‌های این ناحیه با صفات مهمی مانند دور سینه، قد دام، ابعاد دنبه (عرض بالا و میانی)، وزن لاشه، و سطح تری‌گلیسرید خون مرتبط بودند. این یافته‌ها همسو با گزارش‌های پیشین است که نشان می‌دهند جهش‌های اگزون ۲ ژن لپتین نقش کلیدی در تنظیم متابولیسم لیپیدها و ترکیب بدن ایفا می‌کنند.

نتایج این مطالعه نشان داد که جهش A/G در موقعیت نوکلئوتیدی ۱۴۱۶ (A1416G) در نژادهای ایرانی، همسو با یافته‌های مطالعات پیشین است. در نژادهای دورست و سافولک (Boucher et al., 2006)، این جهش (A103G) با کاهش ضخامت عضله، کاهش مساحت عضله چشمی، افزایش نیروی برشی گوشت، افزایش سطح مقطع تارهای عضلانی کندانقباض اکسیداتیو و تغییرات در ذخیره چربی زیرپوستی مرتبط بود. در نژادهای شال (A113G)، زل و زندی (Barzehkar et al., 2009)، این واریانت به‌ترتیب با افزایش وزن لاشه سرد ($P<0/05$)، درصد دنبه ($P<0/05$) و وزن کل چربی بدن ($P<0/05$) در نژاد شال؛ افزایش درصد دنبه ($P<0/05$) و کاهش وزن کشتار، وزن لاشه سرد و وزن گوشت بدون چربی ($P<0/01$) در نژاد زل و کاهش وزن از شیرگیری ($P<0/05$) در نژاد زندی همراه بود. همچنین،

گزارش این جهش در نژادهای زل و لری-بختیاری (Moradi Shahrehabak, 2009) و شناسایی آن در نژادهای پاکستانی (A3201G) (Quereshi *et al.*, 2015)، نشان‌دهنده حفظ‌شدن این جایگاه ژنتیکی در جمعیت‌های متنوع و اهمیت آن در صفات اقتصادی مرتبط با کیفیت لاشه است.

شناسایی جایگاه‌های ژنی و ژن‌های مؤثر بر صفات رشد و لاشه از عوامل کلیدی در برنامه‌های اصلاح نژادی محسوب می‌شود. در این میان، ژن لپتین به‌عنوان یکی از مهم‌ترین ژن‌های کاندیدا در تنظیم میزان مصرف خوراک و صفات مرتبط با رشد و لاشه شناخته شده است. در مطالعه حاضر، برای اولین بار جهش‌هایی در این ژن در نژادهای گوسفند ایرانی شناسایی و ارتباط آن‌ها با صفات مذکور موردبررسی قرار گرفت. نتایج نشان‌دهنده ارتباط معنی‌دار این جایگاه‌ها با صفات مورد مطالعه بود که اهمیت این ژن و QTL‌های مرتبط با آن را در کنترل صفات مهم اقتصادی تأیید می‌کند. یافته‌های این پژوهش می‌تواند به‌عنوان مبنایی ارزشمند در برنامه‌های انتخاب و اصلاح نژاد گوسفندان ایرانی مورد استفاده قرار گیرد.

۵. نتیجه‌گیری

با توجه به ارتباط معنی‌دار چندشکلی‌های ژن لپتین با صفات مهم اقتصادی مانند وزن لاشه و اندازه‌های مختلف دنبه در نژادهای لری-بختیاری و زل-آتابای، می‌توان از این ژن به‌عنوان یک نشانگر مولکولی در برنامه‌های اصلاح نژادی برای انتخاب دام‌های برتر استفاده نمود. به‌طور خاص، انتخاب بر علیه ژنوتیپ پنج که با وزن تولد و وزن کشتار پایین‌تر همراه بود، می‌تواند به بهبود عملکرد رشد در گله‌ها بینجامد.

۶. ملاحظات اخلاقی

نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این پژوهش علمی رعایت نموده‌اند و این موضوع مورد تأیید همه آن‌هاست.

۷. مشارکت نویسندگان

پرویز عزیزی: تهیه و آماده‌سازی نمونه‌ها، انجام آزمایش و گردآوری داده‌ها، انجام محاسبات، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، تحلیل و تفسیر اطلاعات و نتایج، تهیه پیش‌نویس مقاله؛
محمد مرادی شهربابک: استاد راهنمای پایان‌نامه، طراحی پژوهش، نظارت بر مراحل انجام پژوهش، بررسی و کنترل نتایج، اصلاح، بازبینی و نهایی‌سازی مقاله؛
حسین مرادی شهربابک: استاد مشاور پایان‌نامه، مشارکت در طراحی پژوهش، نظارت بر پژوهش، مطالعه و بازبینی مقاله؛
سارا نژادی: دانشجوی کارشناسی ارشد، مطالعه و بازبینی مقاله.

۸. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۹. حامی مالی

مقاله حاضر با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه تهران انجام شد. حمایت مالی از این پژوهش از طرف دانشگاه تهران، دانشکده کشاورزی در قالب قطب علمی بهبود کمی و کیفی لاشه دانشگاه تهران و پژوهانه پایان‌نامه دانشجویی پرویز عزیزی و همچنین پژوهانه برای سایر نویسندگان انجام شده است.

۱۰. تشکر و قدردانی

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 آزمایشگاه بیوتکنولوژی گروه مهندسی علوم دامی دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی کرج و مرکز تشخیص بیماری‌های سازمان دامپزشکی کل کشور جهت انجام PCR نمونه‌ها، همچنین از داوران محترم به خاطر ارائه نظرهای ساختاری و علمی، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۱۱. منابع

- خالداری، مجید. (۱۳۸۱). اصول پرورش گوسفند و بز. انتشارات جهاد دانشگاهی.
- سپهری، رحیمه؛ علیجانی، صادق؛ شجاع غیاث، جلیل؛ هرکی نژاد، محمدطاهر و رافت، سید عباس. (۱۳۹۵). شناسایی چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی بخشی از ژن LEP و ارتباط آن با صفات لاشه در گوسفندان افشاری و افشاری × برولامرینو. پژوهش‌های علوم دامی/ایران، ۹(۳)، ۳۶۳-۳۷۵.
- عالی، محسن؛ مرادی شهربابک، حسین؛ مرادی شهربابک، محمد و صادقی، مصطفی. (۱۳۹۲). بررسی چندشکلی اگزون ۶ ژن کالپاستاتین به روش PCR-SSCP و ارتباط آن با صفات لاشه در گوسفندان لری-بختیاری و زل-آتابای. علوم دامی/ایران، ۴۴(۲)، 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.
- مبار، یونس؛ صالحی، عبدالرضا؛ آل یاسین، سید احمد آل یاسین و رئوف‌زاده، سمیه. (۱۳۹۰). بررسی چندشکلی ژن میوستاتین در سه نژاد گوسفند ایرانی شال، زل و زندی. تولیدات دامی، ۱۳(۱)، ۳۳-۴۰.

References

- Aali, M., Moradi Shahrehabak, H., Moradi Shahrehabak, M., & Sadeghi, M. (2013). Investigation of exon 6 polymorphism of the calpastatin gene using PCR-SSCP and its association with carcass traits in Lori-Bakhtiari and Zel-Atabay sheep. *Iranian Journal of Animal Science*, 44(2), 121-130. (in Persian)
- Al-Burkat, H. A. H., Al-Khafaji, H. M. J., & Al-Gharawi, J. K. (2023). The leptin gene's polymorphism and how it relates to the Awassi sheep's physical characteristics. *Research Bulletin*, 8(1), Article 73. <https://doi.org/10.21931/RB/2023.08.01.73>
- 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.
- 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>
- Chilliard, Y., Bonnet, M., Delavaud, C., Faulconnier, Y., Leroux, C., Djiane, J., & Bocquier, F. (2001). Leptin in ruminants. Gene expression in adipose tissue and mammary gland, and regulation of plasma concentration. *Domestic animal endocrinology*, 21(4), 271-295. [https://doi.org/10.1016/s0739-7240\(01\)00124-2](https://doi.org/10.1016/s0739-7240(01)00124-2)
- Hajihosseini, A., Jafari, S., & Ajdary, M. (2015). The relationship of GH and LEP gene polymorphisms with fat-tail measurements (fat-tail dimensions) in fat-tailed Makoei breed of Iranian sheep. *Advanced biomedical research*, 4, 172. <https://doi.org/10.4103/2277-9175.163995>
- Ibom, L. A., Okon, B., Dauda, A., & Udayi, M. (2025). Single nucleotide polymorphisms (SNPs) and their genotypes in three breeds of sheep. *African Journal of Biotechnology*, 24(4), 29-35. <https://doi.org/10.5897/AJB2024.17670>

- 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>
- Khaldari, M. (2002). Principles of Sheep and Goat Breeding. Jihad Daneshgahi Publications. (in Persian)
- Miar, Y., Salehi, A., Al-Yasin, S. A., & Raouf Zadeh, S. (2011). Investigation of myostatin gene polymorphism in three Iranian sheep breeds: Shal, Zel, and Zandi. *Animal Production (Aburaihan Campus Agriculture Journal)*, 13(1), 33-40. (in Persian)
- Miller, S., Dykes, D., & Polesky, H. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*, 16, 1215.
- Moradi Shahrehabak, H. (2009). The relationship of calpastatin, myostatin, leptin, and potassium gene polymorphisms with important economic traits, blood metabolites, and carcass traits in Makoei and Zel sheep. Doctoral dissertation, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran. (in Persian)
- 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>
- Quereshe, 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.
- Sadeghi, S., Hajihosseini, A., & Bohlouli, M. (2014). Haplotype association of ovine leptin gene on breeding value of body measurements in Makoei sheep breed. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 30(2), 233-242. <https://doi.org/10.2298/BAH1402233S>
- Sepehri, R., Alijani, S., Shodja Ghias, J., Harkinezhad, T., & Rafat, S.A. (2016). Identification of Single Nucleotide Polymorphism(s) in Part of LEP Gene and Investigation of their Effects on Carcass Traits in Afshari and Afshari×Booroola Merino Sheep. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 9(3), 363-375. (in Persian)
- Zieba, D. A., Szczesna, M., Kirsz, K., & Biernat, W. (2022). Effects of Leptin, Growth Hormone and Photoperiod on Pituitary SOCS-3 Expression in Sheep. *Animals: an open access journal from MDPI*, 12(3), 403. <https://doi.org/10.3390/ani12030403>