بررسی چندشکلی ژن هورمون رشد و ارتباط آن با برخی صفات مرتبط با ترکیبات شیر در گوسفند نژاد زل

سهیل یوسفی*[۱]، مجتبی آهنی‌آذری[۲]، سعید زره‌داران[۲]، رحمت سمیعی[۳]،رسول خاتمی نژاد [۴]

تاریخ دریافت: ۹۱/۲/۲ تاریخ پذیرش: ۹۱/۴/۲۷

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد دام، دانشگاه علوم کشاورزی ومنابع طبیعی گرگان.
۲- به ترتیب استادیار و دانشیار دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
۳- جهاد کشاورزی استان گلستان، معاونت امور دام گرگان
۴- مجتمع آموزش عالی گنبد
* مسئول مکاتبات: soheil.yousefi@yahoo.com

چکیده

ژن هورمون رشد یکی از مهمترین ژنهای کاندید در بررسی صفات رشد، تولیدی و اقتصادی در بین حیوانات اهلی می‌باشد که به صورت گسترده‌ای به عنوان نشانگر در گونه‌های مختلف مورد مطالعه قرارگرفته است. در این تحقیق به منظور بررسی چندشکلی این ژن و ارتباط آن با ترکیبات شیر در گوسفند نژاد زل از ۱۴۰ رأس گوسفند واقع در ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد گوسفند شیرنگ در استان گلستان خونگیری بعمل آمد. نمونه‌های DNA از خون استخراج و قطعه ۳۶۵ جفت بازی از اگزون ۵ ژن هورمون رشد توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مورد تکثیر قرار گرفت. سپس محصولات تکثیر شده بر روی ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد به روش چندشکلی فضایی تک رشته‌ای (SSCP) مورد ارزیابی قرار گرفت، بطوریکه سه الگوی باندی (ژنوتیپ) متفاوت G_1، G_2 و G_3 به ترتیب با فراوانی‌های۰/۳۱۷، ۰/۳۸۸ و ۰/۲۹۵ مشاهده شد. جهت بررسی تاثیر ژن‌های مورد مطالعه بر ترکیبات شیر از رویه Mixed نرم افزار SAS استفاده گردید. بین چندشکلی ژن هورمون رشد و ترکیبات شیر هیچ ارتباطی آماری مشاهده نشد. بررسی آزمون کای مربع نشان دهنده عدم تعادل در این جامعه بود.

کلمات کلیدی: چندشکلی،ژن هورمون رشد، اجزای شیر، گوسفند زل ،PCR-SSCP

مقدمه

امروزه شیر و فرآورده‌های لبنی حاصل علاوه بر آنکه از مهمترین منابع غذائی مورد استفاده در تغذیه هستند، بر رشد و وزن نهایی بره‌ها، میزان مقاومت آنها نسبت به بیماری‌های انگلی و در نتیجه بر میزان زنده‌مانی اولیه بره‌ها اثر می‌گذارد. ترکیب شیر میش بر حسب شرایط و نژادهای مختلف متفاوت است ولی به طور متوسط از نظر چربی (۷/۵ درصد)، پروتئین خام (۵/۶ درصد) وکلسیم (۰/۲ درصد) بسیار غنی می‌باشد. در مطالعاتی که روی شیر میش زل صورت گرفته معلوم شده است که شیر این نژاد از جمله شیرهای نستاً پرچرب است که دارای حدود ۹-۸ درصد چربی می‌باشد (سعادت نوری و سیاه منصور، ۱۳۷۵). براساس نظریه مورخین، آریاییها اولین قومی بودند که به اهلی کردن گوسفند پرداختند بطوری که می‌توان ایران را مهد اولیه پرورش گوسفند به شمار آورد. گوسفندانی که امروزه در سواحل دریای خزر وجود دارند و به نام محلی گوسفند دم‌دار زل معروفند احتمالاً از نتاج مستقیم گوسفندان اولیه‌ای هستند که توسط آریاییها در این سرزمین پرورش داده شدند. این نژاد تنها نژاد گوسفند ایرانی است که بجای دنبه دارای دمی بصورت دنبالچه متشکل از ۷ مهره که طول آن ۱۲-۱۰ سانتیمتر می‌باشد. طول دوره شیرواری در این نژاد ۴-۳ ماه می‌باشد که تا ۷ ماه نیز گزارش شده است که تولید شیر این گونه در طی دوره شیرواری ۶۰-۵۷ کیلوگرم می‌باشد، زیستگاه این گونه، مراتع بالا و پایین دستی استان‌های مازندران و گلستان می‌باشد (سعادت نوری و سیاه‌منصور، ۱۳۷۵). هورمون رشد از غده هیپوفیز قدامی ترشح می‌شود تنظیم کننده اصلی رشد بدن در دوران پس از تولد بوده و در تنظیم متابولیسم پروتئین، چربی، نیتروژن، کربوهیدرات‌ها و مواد معدنی نیز دخالت دارد. به عبارت دیگر این هورمون نقشی کلیدی در فرآیندهای متابولیکی مانند رشد ، تولید مثل، پیری، پاسخهای ایمنی، بلوغ، اشتها، چربی لاشه و شیردهی دارد (گوتوین و همکاران، ۱۹۹۳). بررسی‌های مختلفی چند شکلی هورمون رشد را به روش‌های (RFLP) توسط آنزیم هایTaqI و PvuII (گوتوین و همکاران، ۱۹۹۳ و اوفیر و یوسفی، ۱۹۹۶) و توسط آنزیم EcoRI (گوتوین و همکاران، ۱۹۹۳ و باراکوزا، ۱۹۹۶) و روش (SSCP) (آهنی آذری و همکاران، ۲۰۱۱ و باستوس و همکاران، ۲۰۰۱) گزارش کرده‌اند.

سازه‌های مختلفی مانند عدم گستردگی استفاده از تلقیح مصنوعی، نبود سامانه استانداردسازی مناسب مربوط به رکوردهای شیر در میان گله‌ها و کافی نبودن اطلاعات فنوتیپی وشجره‌ای مناسب باعث ایجاد محدودیت‌هایی در برنامه‌های انتخابی برای بهبود صفات تولید شیر در صنعت پرورش گوسفند نسبت به گاوهای شیری شده است. با توجه به این محدودیت‌ها، توسعه نشانگرهای مولکولی و سایر ابزارهای اصلاحی در جهت افزایش میزان تولید شیر برای آینده این صنعت امری ضروری می‌باشد (استایجر و همکاران، ۲۰۱۰). هدف این پژوهش تعیین چندشکلی ژن هورمون رشد و ارتباط آن با اجزای شیر در گوسفند زل بود.

مواد و روشها

داده برداری و جمع آوری نمونه‌های خون ازحیوانات

در این تحقیق به‌طور تصادفی از ۱۴۰ رأس از گوسفندان میش موجود در ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد گوسفند شیرنگ واقع در شهر فاضل‌آباد خونگیری به عمل آمد. خونگیری از رگ وداج با استفاده از سرنگ ونوجکت ۱۰ سی‌سی صورت گرفت و مقدار ۶ سی‌سی خون در لوله‌های حاوی ۰/۶ سی‌سی EDTA ۰/۵ مولار جمع‌آوری شد.

در طی دوره شیردهی گوسفندان، نمونه‌گیری به صورت دو هفته در میان صورت گرفت. نمونه‌گیری در صبح و با دوشش کامل هر گوسفند انجام گرفت، بطوریکه کل شیر هر گوسفند داخل یک ظرف جمع‌آوری و سپس به میزان ۲۰ سی‌سی نمونه‌ای از آن گرفته شد. اجزای شیر(چربی، پروتئین، لاکتوز، دانسیته و SNF) توسط دستگاه Ultrasonic Milk

Analyzers (EKOMILK) مورد بررسی قرار گرفت. کلیه گوسفندان در طی دوره شیردهی از نظر جسمی سالم بودند و در شرایط یکسانی تغذیه و نگهداری می‌شدند و از نظر تعداد دوره زایش بین ۱ تا ۶ دوره زایش متغیر بودند.

استخراج DNA

استخراج DNA با استفاده از کیت Diatom DNA Prep ساخت شرکت ISO Gene (مسکو) انجام گرفت. در این کیت روش استخراج مبتنی بر استفاده از ایزوتیوسیانات گوانیدین به عنوان یک عامل لیز کننده سلولهای خونی و جمع‌آوری DNA آزاد شده به کمک ذرات سیلیکا Gel (Silica) می‌باشد. در نهایت توسط یک محلول نمکی، DNA از ذرات سیلیکا آزاد می‌گردد.

واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) و چندشکلی فضایی تک رشته‌ای (SSCP)

برای تکثیر DNA در این تحقیق از دستگاه ترموسایکلر مدل Personal Cycler™ شرکت بیومترا و کیت استاندارد(شرکت سینا کلون) استفاده شد. این کیت حاوی Master mix با ترکیب Taq DNA Polymerase با غلظت ۰/۰۴ واحد بر میکرولیتر، بافر PCR، $MgCl_2$ با غلظت۳ میلی‌مولار، dNTPs هر کدام با غلظت ۰/۰۴ میلی‌مولار، آب دو بار تقطیر و روغن معدنی بود.

برای تکثیر قطعه ۳۶۵ جفت بازی شامل اینترون ۴ و اگزون ۵ این ژن از آغازگرهای پیشنهادی باراکوزا (۱۹۹۶) که شامل توالی‌های زیر بود، استفاده گردید.

GH-F: 5'-GAAACCTCCTTCCTCGCC C-3'
GH-R: 5'-CCAGGGTCTAGGAAGGCACA-3'

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز درحجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام شد. بدین منظور ۱۲ میکرولیتر Master Mix، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر، ۲ میکرولیتر DNA با ۹ میکرولیترآب دوبار تقطیرمخلوط شدند و سپس میکرو تیوب‌ها در دستگاه ترموسایکلر طبق برنامه زیر قرارگرفتند:

واسرشته اولیه C°/S	واسرشته C°/S	اتصال C°/S	تکثیر C°/S	تکثیر نهایی C°/S	تعداد چرخه N
۹۵/۳۰۰	۹۴/۶۰	۶۲/۵۰	۷۲/۹۰	۷۲/۶۰۰	۳۵

پس از انجام واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز، صحت قطعه‌ی تکثیر شده توسط الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ درصد و رنگ آمیزی با اتیدیوم برماید تأیید شد.

برای انجام روش PCR -SSCP ابتدا باید محصول PCR تک رشته‌ای شود و سپس برای مشاهده الگوهای باندی از ژل اکریل‌آمید استفاده گردد.

برای جدا کردن دو رشته DNA، ۸ میکرولیتر از محصول PCR با ۱۰ میکرولیتر بافر SSCP مخلوط و پس از ورتکس و فیوژ کردن به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵°C قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به سرعت و به مدت ۱۰ دقیقه بر روی یخ قرار داده شدند تا از اتصال مجدد رشته‌های مکمل به یکدیگر ممانعت بعمل آید. مقدار ۱۰ میکرولیتر از این نمونه‌ها در داخل چاهک‌ها ریخته شد. سپس نمونه‌های تک رشته‌ای شده بر روی ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد بارگذاری و به مدت ۶ ساعت با ولتاژ ۲۸۰ در دمای ثابت ۷°C الکتروفورز شدند. رنگ آمیزی به روش نیترات نقره انجام شد و ژنوتیپ‌ها تعیین گردیدند.

آنالیز آماری

ژنوتیپ حیوانات با توجه به الگوی‌های باندی مشاهده شده تعیین گردید. محاسبه فراوانی‌های ژنی و ژنوتیپی با استفاده از نرم افزار POP Gene 1.31 (یه و همکاران ,۱۹۹۷) انجام شد.

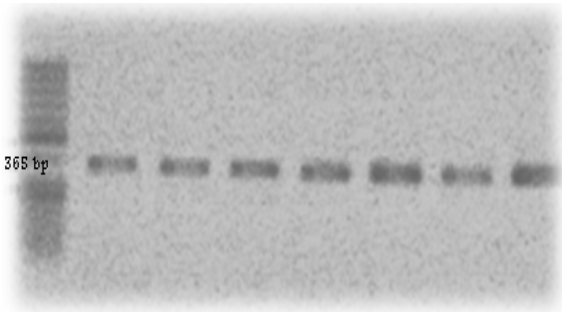
در این تحقیق، برای بررسی اثر چندشکلی ژن هورمون رشد بر اجزای شیر در گوسفند نژاد زل از طرح مشاهدات تکرار در زمان با استفاده از رویه Mixed نرم افزار SAS و برای مقایسه میانگین‌های حداقل مربعات از آزمون توکی-کرامر استفاده شد. قبل از تجزیه آماری، نرمال بودن توزیع داده‌های مربوط به اجزای شیر توسط رویه Univariate مورد بررسی قرار گرفت. مدل آماری زیر برای آنالیز داده‌ها استفاده شد:

$$Y_{ijkl} = \mu + G_i + R_j + P_k + TW_L + e_{ijkl}$$

که در این مدل Y_{ijkl} متغیر وابسته مربوط به (چربی وپروتئین و...)،μ میانگین کل، G_i اثر ثابت ژنوتیپ (3.....و i= 1)،R_j اثر ثابت زمان رکورد برداری(4...و j= 1)،P_k اثر ثابت دوره زایش (6 ....و k= 1)، TW_L اثر ثابت دوقلوزائی (2 و l= 1) و e_{ijkl} اثر تصادفی خطای باقیمانده می‌باشد.

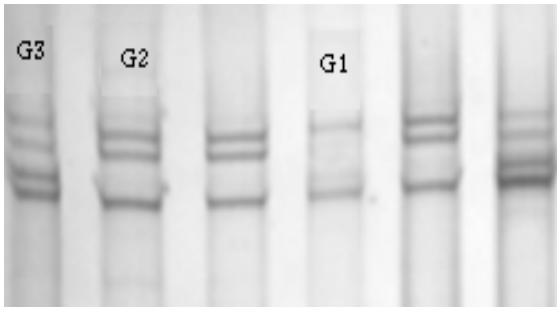
نتایج و بحث

پس از تکثیر قطعه ۳۶۵ جفت بازی، از روش SSCP جهت تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها استفاده شد. نتیجه الکتروفورز محصول PCR مربوط به تعدادی از نمونه‌ها روی ژل آگارز ۱/۵ درصد در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱- نتایج الکتروفورز محصولات PCR ژن هورمون رشد روی ژل آگارز ۱/۵٪

نتیجه الگوهای SSCP تعدادی از نمونه‌ها پس از الکتروفورز بر روی ژل پلی‌اکریلامید ۸ ٪ در شکل ۲ و فراوانی الگوهای باندی مشاهده شده نیز در جدول ۱ نشان داده شده‌اند.



شکل ۲- الگوهای باندی مربوط به ژن هورمون رشد با روش SSCP پس از الکتروفورز روی ژل پلی اکریل‌آمید ۸ ٪

جدول ۱- فراوانی الگوهای باندی مشاهده شده ژن هورمون رشد

الگو باندی	فراوانی
G_1	۰/۳۱۷
G_2	۰/۳۸۸
G_3	۰/۲۹۵

در این بررسی همچنین از آزمون کای مربع جهت تعیین وجود یا عدم وجود تعادل هاردی واینبرگ برای جایگاه مورد مطالعه استفاده شد (جدول۲). مقایسه فراوانی‌های ژنوتیپی مشاهده شده و مورد انتظار تفاوت معنی داری را نشان داد که این بیانگر عدم وجود تعادل هاردی_واینبرگ در جامعه می‌باشد. عدم وجود تعادل در جمعیت می‌تواند نشان دهنده دخالت عوامل برهم زننده تعادل از جمله انتخاب در جمعیت مورد بررسی باشد.

جدول ۲- نتیجه آزمون کای مربع برای الگوهای باندی (ژنوتیپ‌ها) ژن هورمون رشد در گله مورد بررسی

ژنوتیپ	تعداد افراد مشاهده شده (O)	تعداد افراد مورد انتظار (E)	$(O-E)^2/E$	X^2
G1	۴۴	۳۶/۱۴	۱/۷	۷/۱۱*
G2	۵۴	۶۹/۷۱	۳/۵	
G3	۴۱	۳۳/۱۴	۱/۸	

* : معنی‌دار در سطح ۵ درصد

جدول ۳ میانگین‌های حداقل مربعات رکوردهای اجزای شیر مربوط به الگوهای باندی (ژنوتیپ های) ژن هورمون رشد را نشان می‌دهد. الگوهای باندی مختلف ژن هورمون رشد با هیچ یک از رکوردهای اجزای شیر ارتباط معنی‌داری را نشان ندادند.

جدول ۳- مقایسه میانگین حداقل مربعات مربوط به رکوردهای اجزای شیر و الگوهای باندی(ژنوتیپ‌ها) ژن هورمون رشد

الگو	چربی%	پروتئین%	لاکتوز%	مواد جامد بدون چربی%	چگالی g/cm^3
G_1	۰/۴۷ ± ۷/۲۰	۰/۲۰ ± ۶/۸۳	۰/۰۲ ± ۴/۵۵	۰/۲۶ ± ۱۲/۳۵	۰/۰۰۴ ± ۱/۰۳۷۳
G_2	۰/۴۵ ± ۶/۷۰	۰/۲۰ ± ۶/۹۲	۰/۰۲ ± ۴/۵۷	۰/۲۴ ± ۱۲/۵۲	۰/۰۰۴ ± ۱/۰۳۷۶
G_3	۰/۴۹ ± ۶/۶۵	۰/۲۰ ± ۶/۷۳	۰/۰۲ ± ۴/۶۰	۰/۲۶ ± ۱۲/۲۰	۰/۰۰۴ ± ۱/۰۴۱۸

جدول ۴ نیز نشان دهنده جداول آنالیز واریانس بین متغیرهای مورد بررسی و عوامل موثر در مدل آماری را نشان می‌دهد. بر این اساس سه عامل دوره رکورد برداری، دوره زایش و دو قلوزائی به ترتیب بر روی میزان لاکتوز، چربی و مواد جامد بدون چربی شیر اثر معنی داری را نشان می‌دهند.

جدول ۴- جداول آنالیز واریانس مربوط به پارامترهای مورد بررسی و اثرات بکار رفته در مدل آماری

		DF	SS	MS	F Value	Pr>F
لاکتوز	دوقلوزائی	۱	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۴	۰/۵
	دوره زایش	۵	۰/۵	۰/۰۱	۰/۸۵	۰/۵
	هورمون رشد	۲	۰/۱۶	۰/۰۸	۰/۵	۰/۱۷
	دوره رکورد برداری	۲	۰/۱۵	/۰۷	۶	۰/۰۰۲۸*
پروتئین	دوقلوزائی	۱	۰/۹	۰/۹۷	۰/۷۴	۰/۴
	دوره زایش	۵	۱۰/۲	۲/۰۳	۱/۵۵	۰/۲
	هورمون رشد	۲	۲/۵	۱/۲۸	۰/۹۷	۰/۴
	دوره رکورد برداری	۲	۰/۹۵	۰/۴۷	۰/۳۷	۰/۸
چربی	دوقلوزائی	۱	۰/۳	۰/۳	۰/۰۶	۰/۸
	دوره زایش	۵	۷۱/۱	۱۴/۲	۳/۰۶	۰/۰۱*
	هورمون رشد	۲	۶/۹	۳/۴	۰/۷۵	۰/۴۷
	دوره رکورد برداری	۲	۰/۹	۰/۴۵	۰/۱	۰/۹
مواد جامد بدون چربی	دوقلوزائی	۱	۱۱/۴	۱۱/۴	۵/۴	۰/۰۲*
	دوره زایش	۵	۱۸/۲	۳/۶	۱/۷	۰/۱۳
	هورمون رشد	۲	۶/۳	۳/۱۴	۱/۴	۰/۳۲
	دوره رکورد برداری	۲	۲/۹	۱/۴۷	۰/۷	۰/۵
چگالی	دوقلوزائی	۱	۲/۴	۲/۴	۰/۰۷	۰/۸
	دوره زایش	۵	۲۲۲/۰۱	۴۴/۴	۱/۲۵	۰/۲
	هورمون رشد	۲	۱۰۸/۴	۵۴/۲	۱/۵۵	۰/۲
	دوره رکورد برداری	۲	۹/۷	۴/۸	۰/۱۴	۰/۸

* : معنی‌دار در سطح ۵ درصد

مطالعات متعددی بر روی چندشکلی ژن هورمون رشد در نژادهای مختلف و توسط روش‌های گوناگونی صورت گرفته و چندشکلی این ژن در چندین ناحیه DNA گزارش شده است. نتایج مربوط به چندشکلی مشاهده شده در این تحقیق با نتایج طهمورث پور و همکاران (۲۰۱۱) و آهنی آذری و همکاران (۲۰۱۱) که در بررسی اگزون ۵ این ژن به روشPCR- SSCP سه الگوی باندی G_1، G_2 و G_3 را به ترتیب در گوسفند بلوچی و دالاق گزارش کردند و همچنین شیری و همکاران (۲۰۰۶) در بررسی که بر روی گوسفند کردی انجام دادند سه الگوی باندی متفاوت را با فراوانی‌های ۰/۷۵، ۰/۲۲ و ۰/۳ به ترتیب برای الگوی ۱، ۲ و۳ برآورد کردند، مطابقت دارد. همچنین از نظر عدم ارتباط با اجزای شیر با نتایج بدست آمده از ماج و همکاران (۲۰۱۰) که هیچ ارتباط معنی داری را بین چندشکلی این ژن و اجزای شیر مشاهده نکردند نیز همخوانی دارد. اگرچه باستوس و همکاران (۲۰۰۱) در بررسی دو ناحیه از ژن هورمون رشد در گوسفند بومی

پرتقالی، برای اگزون شماره ۴ این ژن دو الگوی باندی با فراوانی ۷۲/۵ درصد برای الگوی اول و ۲۲/۵ درصد برای الگوی دوم، و برای اگزون شماره ۵ این ژن، پنج الگوی باندی مختلف با فراوانی‌های ۴۷/۵، ۵، ۲۲/۵، ۱۲/۵ و ۵ درصد را بترتیب برای الگوهای اول تا پنجم گزارش کردند. همچنین بهرامی و همکاران (۱۳۹۰) در بررسی اگزون ۵ ژن هورمون رشد در گوسفند نژاد مهربان هفت چند شکلی تک نوکلئوتیدی را مشاهده کردند. مارکوس و همکاران (۲۰۰۱) پنج اگزون از ژن هورمون رشد گوسفندی را بوسیله PCR-SSCP در ۲۰۰ میش نژاد بومی پرتقالی آنالیز کردند و نشان دادند که همه اگزون‌ها به جز اگزون ۱ چندشکلی دارند و افزایش در تولید شیر با چندشکلی در اگزون ۴ ارتباط دارد. مارکوس و همکاران (۲۰۰۶) ارتباط معنی داری بین ژنوتیپ‌های ژن هورمون رشد و تولید شیر در گوسفندان سرادااسترا مشاهده کردند و بیان کردند که ژنوتیپ‌های GH2-Z و GH2-N اثر معنی داری باصفات تولیدی شیر دارند و اثر توأم آنها تا ۲۵ درصد تولید شیر را نسبت به میانگین گله بهبود می‌بخشد.

علاوه بر این تحقیقات مختلف دیگری توسط (گوتوین و همکاران، ۱۹۹۳؛ باراکوزا، ۱۹۹۶؛ لینگ و همکاران،۲۰۱۰ و باراکوزا، ۱۹۹۶) بر روی این ژن صورت گرفته است.

نتیجه گیری

در این تحقیق چندشکلی ژن هورمون رشد در ناحیه اگزون ۵ با استفاده از روش PCR-SSCP مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی سه الگوی باندی متفاوت G_1، G_2 و G_3 به ترتیب با فراوانی‌های ۰/۳۱۷،۰/۳۸۸ و ۰/۲۹۵ بدست آمدند. آنالیز آماری هیچ ارتباط معنی داری را بین اجزای شیر والگوهای باندی ژن هورمون رشد در این مطالعه نشان ندادند ($P>۰/۰۵$). علت این امر شاید می‌تواند به دلیل نقش و اثر این ژن بر روی تولید شیر باشد تا بر روی اجزای آن. اگرچه تولید شیر بر روی اجزای آن اثر گذار است اما در گوسفند به دلیل عدم کارهای اصلاحی بر روی تولید شیر این دام نسبت به گاو و با توجه به تولید پایین شیر در گوسفند تأثیر این ژن بر روی تولید شیر نیز نمی‌تواند بر روی اجزای آن بطور معنی داری اثر داشته باشد.

سپاسگذاری

سپاس فراوان از معاونت امور دام سازمان جهاد کشاورزی استان گلستان به خاطر حمایت‌های مالیشان در طی گذراندن این مطالعه و همچنین کارکنان ایستگاه اصلاح نژاد شیرنگ به واسطه همکاری‌های بی دریغشان در تهیه نمونه‌های شیر و خون.

منابع

- بهرامی، ا. میرایی آشتیانی، ر. و مهربانی یگانه، ح.۱۳۹۰.بررسی چندشکلی ژن‌های هورمون رشد و گیرنده هورمون گیرلین و ارتباط آن با صفات لاشه و برخی ار پارامترهای خونی در گوسفند نژاد مهربانی(پایان نامه). دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.۳۲۷ص.
- سعادت نوری، م. و سیاه منصور، ص. ۱۳۷۵. اصول نگهداری و پرورش گوسفند. موسسه نشر اشراقی، تهران.۴۹۴ص.
- Ahani Azari, M., Yousefi, S., and Dehnavi, E., 2011. Evaluation of κ-casein and growth hormone genes polymorphism in native Dalagh sheep. Slovak Journal of Animal Science. 44(4): 129-133.
- Barracosa, H., 1996. Estudo de polimorfismos genéticos eda sua associação com capacidades de pro dução leiteira em caprinos de raça Algarvia e ovinos de raça Serra da Estrela. Dissertação de Mestrado, Univ. do Algarve, Faro, Portugal.
- Bastos, E., Cravador, A., Azevedo, J., and Guedes-Pinto, H., 2001. Single strand conformation polymorphism (SSCP) detection in six genes in portuguese indigenous sheep breed "Churra da Terra Quente". Biotechnology. 5: 7–15.
- Gootwine, E., Sise, J.A., Pent, J.M., and Montgomery, G.W., 1993. The duplicated gene copy of the ovine growth hormone gene contains a PvuII polymorphism in the second intron. Animal Genetic. 24: 319–321.
- Gootwine, E., Suttie, J.M., McEwan, J.C., Veenvliet, B.A., Littlejohn. R.P., Fennessy, P.F., and Montgomery, G.W., 1998. The physiological eVects of natural variation in growth hormone gene copy number in ram lambs. Domestic Animal Endocrinology. 14:381–390.
- Ling, G.Y., Shen, W., and Ling-jiang, M., 2010.Association Analysis between Growth Hormone Gene and Growth Traits in Tan Sheep .Journal of Anhui Agricultural Sciences.19-061.
- Maj, A., Bagnicka, E., Kaba, J., Nowicki, M., Sciuczuk, E., Słoniewski, K., Czuk, K., and Zwierzchowski, L., 2010. A novel single nucleotide polymorphism in the coding region of goat growth hormone gene and its association with lactose content and somatic cell count in milk. Small Ruminant Research. 90: 139-141.
- Marques, M.R., Santos, I.C., Carolino, N., Belo, C.C., Renaville, R., and Cravador, A., 2006. Effects of genetic polymorphisms at the growth hormone gene on milk yield in Serra da Estrela sheep. Journal of Dairy Research. 73: 394-405.
- Marques, M.R., Santos, I.C., Belo, C.C., and Cravador, A., 2001. Associations between SSCPs in the GH gene and milk traits in "Serra da Estrela" ewes. In: Proceedings of the IV International Conference on Farm Animal Endocrinology, BASE, vol. 5. Gembloux, Belgium, 57 pp. (Special Issue).
- Ofir, R., and Yossefi, S., 1996. Characterization of PvuII polymorphisms between the. Ovine growth hormone GH2-N and GH2-Z gene copies. Animal Biotechnology. 7: 135 – 143.
- SAS Institute Inc 2000. SAS/STAT User's Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Shiri, S.A.K., Saghi, D.A., Nasiri, M.R., Emrani, H., Montazer Torbati, F., and Mohammadzade, M., 2006.Survey of genetic diversity growth hormone and growth hormone receptor genes in Iranian indigenous sheep breed (kordian sheep) using a non-radioactive SSCP. 57th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Antalya, Turkey.
- Staiger, E.A., Thonney, M.L., Buchanan, J.W., Rogers, E.R., Oltenacu, P.A., and Mateescu. R.G., 2010. Effect of prolactin, β-lactoglobulin, and κ-casein genotype on milk yield in East Friesian sheep. Journal of Dairy Science. 93: 1736- 1742.
- Tahmorespoor, M., Taheri, A., Gholami, H., and Ansary. M., 2011. PCR-SSCP Variation of GH and STAT5A Genes and Their Association with Estimated Breeding Values of Growth Traits in Baluchi Sheep. Animal Biotechnology. 22 (1): 37–43.
- Yeh, F.C., Yang, R.C., Timothy, B.J., Ye, Z., and Judy. M, 1997. Pop Gene, the user-friendly shareware for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Center. Univ. Alberta.