دراسة جين هرمون النمو وعلاقته بوزن الميلاد في الماعز

بكر طارق جابر الساهوكي[1]، عبد الجبار عبد الكريم الراوي واحمد عبد الله عباس
كلية الزراعة/ جامعة الانبار

الخلاصة

أجريت التجربة في محطة أبحاث المجترات التابعة لدائرة الابحاث الزراعية/ وزارة الزراعة الواقعة في ابي غريب وبالتعاون مع مركز التقنيات الاحيائية/ جامعة النهرين (العمل المختبري) للمدة من 2012/9/20 ولغاية 2013/9/30 لموسم انتاجي واحد 2013. تم تحليل 206 سجلاً منها 64 سجلاً لسلالة الماعز المحلي و142 سجلا لسلالة الماعز القبرصي من اجل دراسة علاقة جين هرمون النمو مع وزن المواليد عند الولادة. كان عدد التراكيب الوراثية في عينات حيوانات الماعز القبرصي ذات اعلى جدارة وراثية (AB 9 + AA 1) مقارنة مع عينات حيوانات الماعز القبرصي ذات ادنى جدارة وراثية في صفة وزن الميلاد (AB 6 + AA 4)، وكان عدد التراكيب الوراثية في عينات حيوانات الماعز المحلي ذات اعلى جدارة وراثية (AB 9 + AA 1) بالمقارنة مع عينات حيوانات الماعز المحلي ذات الاقل جدارة وراثية لصفة وزن الميلاد (+ AB 9 AA 1). نستنتج ان التراكيب الوراثية بين سلالة الماعز المحلي وسلالة الماعز القبرصي بالنسبة لنوع التراكيب الوراثية لجين هرمون النمو متشابه لوجود طرازين وراثيين هما AA وAB ويظهر الاليل AB في كلا السلالتين وبتكرار جيني عالٍ بينما يظهر الاليل AA بتكرار اقل في كلا السلالتين مع إمكانية استعمال الطرز الوراثية لهرمون النمو كعلامات للحيوانات ذات الاداء الانتاجي المرتفع لاستعمالها في تحسين القطعان وخاصه المحلية منها.

E-mail:baker_t2004@yahoo.com

الكلمات المفتاحية: جين هرمون النمو، الماعز، وزن الميلاد

Study of growth hormone gene and its relationship to body weight in Goat

B. T. J. Al-Sahookie, A. A. Al-Rawi and A. A. Abbas
College of Agriculture/ University of Al-Anbar

Abstract

Experiment was conducted in Ruminant Research of the Department of Agricultural Research Station/ MOA located in Abu Ghraib and in cooperation with bio-technology center/ University of Nahrin (laboratory work) for the period from 20/09/2012 till 30/09/2013 for the season productive one 2013. Were analyzed 206 record of them 64 record of breed local goats and (142 record) strain Cypriot goats in order to study the growth hormone gene relationship with birth weight. The number of genotypes in the Cypriot goat animal samples with the highest merit and hereditary (AB 9 + AA 1) compared with the Cypriot goat animal samples with the lowest merit and hereditary in prescription birth weight (AB 6 + AA 4), and the number of genotypes in goats animal samples local with the highest merit and hereditary (AB 9 + AA 1) compared with the domestic animals, goats samples with at least deserved a genetic recipe for birth weight (AB 9 + AA 1). We conclude that the genotypes between the local goat breed and Cypriot goat breed for type genotypes for Jane growth hormone similar to the presence of two models and Rathein two AA and AB shows allele AB in both strains and repeated Jenny loud while allele AA appears less frequently in both strains with the possibility of the use of genotypes growth hormone markers for animals with high productive performance for use in herd improvement, especially local ones.

Keyword: Growth Hormone gene, Goat, Body Weight.

[1] البحث مستل من أطروحة الدكتوراه للباحث الاول.

المقدمة

ان انتخاب الحيوانات الزراعية ذات الكفاءة الوراثية العالية من الأمور الرئيسية في تربية وتحسين الحيوانات والتي تطورت في السنوات الماضية باستخدام القيم المظهرية المصححة ومقارنة الأفراد المستخدمة في تقدير القيم التربوية للصفات ذات الأهمية الاقتصادية (1)، وكان لتطور علم الوراثة الجزيئية اهمية كبيرة في اختصار الوقت والحصول على نتائج افضل اذ أصبح بالإمكان تحديد الواسمات الوراثية ذات الإرتباط العالي بجزء أو أكثر من تركيب الحامض النووي DNA للجينات ذات التأثير الرئيسي في الصفات الإقتصادية (2). يعد هرمون النمو من الهرمونات الرئيسية والمهمة اذ ان هذا الهرمون يفرز من الفص الامامي للغدة النخامية (3) وهو ضروري للنمو (4) وانتاج الحليب ومكوناته (5، 6) فضلا عن التمثيل الغذائي للكربوهيدرات والبروتين والدهون ونمو الأنسجة والرضاعة وتأثيره على نمو الأنسجة العضلية ونمو العظام والأنسجة الدهنية (3). ونظرا لقلة الدراسات حول هرمون النمو في الماعز المحلي في العراق، لذا جاءت الدراسة الحالية لمعرفة الطرز الوراثية لجين هرمون النمو في سلالتي الماعز المحلي والقبرصي وتأثير تلك الطرز على وزن الميلاد للمواليد الجدد.

المواد وطرائق العمل

أجريت التجربة في محطة أبحاث المجترات التابعة لدائرة الابحاث الزراعية/ وزارة الزراعة الواقعة في ابي غريب (23 كم غرب بغداد) بالتعاون مع مركز التقنيات الاحيائية/ جامعة النهرين (العمل المختبري) للمدة من 2012/9/20 لغاية 2013/9/30 لموسم انتاجي واحد 2013. تم تحليل 206 سجلاً منها 64 سجلاً لسلالة الماعز المحلي و142 سجلاً لسلالة الماعز القبرصي من اجل دراسة علاقة جين هرمون النمو مع وزن المواليد عند الولادة. سحبت عينات الدم من الوريد الوداجي (Jugular vein) للحيوانات (20 حيوان من سلاله الماعز القبرصي و20 حيوان من سلاله الماعز المحلي) باستعمال محقنة طبية سعة 5 مل بعد تنظيف منطقة الوريد الوداجي وتعقيم المنطقة بالكحول الاثيلي 70%. وضعت نماذج الدم بمقدار 5 مل في انابيب تحتوي على مادة مانعة لتخثر الدم EDTA (Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid) وحفظت بالتجميد بدرجة −4 م لحين اجراء عملية استخلاص DNA في مختبرات مركز التقنيات الاحيائية/ جامعة النهرين. تم استخلاص DNA من عينات دم سلالات الماعز باستعمال عدة قياس (Kit) المجهز من شركة Geneaid الكورية وحسب دليل الاستعمال المرفق معها. تم الكشف عن عملية الاستخلاص (Total-DNA) وبأجراء ترحيل العينات المستخلصة على هلام الاكاروز وبتركيز 1% اي اذابة 0.50 غم من مادة الاكاروز في 50 مل من محلول TBE المخفف (1X) ثم تسخينها بوساطة المايكروويف لمدة خمس دقائق لحين الحصول على اللون الرائق ثم يترك ليبرد قليلا ويصب الهلام في حوض الترحيل لغرض التصلب. بعد تصلب الهلام ورفع المشط يتم مزج 6 مايكروليتر من ناتج DNA و3 مايكروليتر من صبغة التحميل (Loading dye) ويتم حقن المزيج بحفر الهلام وثم ربط الاقطاب الى مجهز القدرة (Power supply) وتثبت قوة التيار الكهربائي 70 فولتاً و65 أمبيراً لمدة ساعة ونصف ثم غمر الهلام بصبغة Ethidium bromide لمدة 20 دقيقة وبجهاز UV لملاحظة الحزم في الهلام (7). تم تحضير جميع المواد الخاصة بـ PCR تحت ظروف معقمة في كابينة التعقيم. اذ تم تحضير خليط تفاعل PCR في انبوبة ابندورف سعة 100 مايكروليتر (µl) بتركيز نهائي للمكونات 25 (µl) وضعت في جهاز الطرد المركزي الصغير Microcenterfuge لمدة 10 ثواني وذلك لمزج خليط التفاعل المذكورة في (الجدول 1).

جدول (1) كميات المواد المستعملة في تقنية الـ PCR

المادة الكيميائية	Master Mix (µl)	البادئ (µl)	قالب DNA (µl)	ماء مقطر (µl)	الحجم النهائي(µl)
الحجم	5	R-1 F-1	5	13	25

تم تحميل 5 µl من الدليل الحجمي (DNA ladder) و5 µl من نواتج PCR في جل الاكاروز (تركيز1%)، إذ تم الترحيل بقدرة تيار كهربائي 70 فولتاً و65 أمبيراً ولمدة ساعة ونصف ثم غمر الهلام بصبغة الأثيديوم بروميد السائلة، وتمت مشاهدة الحزم بوساطة UV، وثم صورت باستخدام جهاز التوثيق الفوتوغرافي (Photo documentation system).

- **التوصيف الجزيئي لجين هرمون النمو:** تم اختيار البادئ Primer وكما موضح في الجدول لغرض اجراء الكشف الجزيئي ومعرفة التعدد المظهري للجين GH1 (4) كما في الجدول (2).

جدول (2) البادئ المستخدم

GH F	**CTC TGC CTG CCC TGG ACT**
GH R	**GGA GAA GCA GAA GGC AAC**

تم اتباع البرنامج الاتي في الكشف الجزيئي باستخدام تقنية PCR كما في الجدول (3)

جدول (3) يوضح برنامج عمل PCR

ت	الخطوات	درجة الحرارة / م	الوقت	عدد الدورات
1	start Denaturation	94	5 min.	1
2	Denaturation	95	30 sec	13 دورة تنخفض درجه الحرارة بمقدار 1- لكل دورة
	Annealing	65	30 sec.	
	Extension	72	45 sec.	
3	Denaturation	95	30 sec.	35 دورة
	Annealing	52	30 sec.	
	Extension	72	45 sec.	
4	end Extension	72	7 min.	
5	Finish	4	لا نهائي	

- **الهضم الإنزيمي لجين GH:** تم تحضير العينات للهضم الإنزيمي بواسطه انزيم القطع He III من شركة TAKARA وحسب الجدول (4) وحضنت العينات بدرجة حرارة 37 C.

جدول (4) المواد المكونة لتفاعل الهضم الإنزيمي

المواد المستخدمة	الكمية
Product PCR	5 µl
Buffer	3.5 µl
R.E	1.5 µl

- **تقنية الترحيل الكهربائي لعينات الهضم الإنزيمي:** تم تحميل 10 µl من نواتج الهضم الإنزيمي للعينات وكذلك DNA Ladder 7 µl واجراء ترحيل العينات المستخلصة على هلام الاكاروز وبتركيز 2% حضرت بإذابة 1 غم من مادة الاكاروز في 50 مل من محلول TBE المخفف (1X) ثم تسخينها بوساطة المايكروويف لمدة 5 دقائق لحين الحصول على اللون الرائق ثم يترك ليبرد قليلا ويصب الهلام في حوض الترحيل لغرض التصلب. بعد تصلب الهلام ورفع المشط و ربط الاقطاب الى مجهز القدرة (Power supply) وتثبت قوة التيار الكهربائي 40 فولتاً و45 أمبيراً لمدة 20 دقيقة ثم ترفع الفولتية الى 70 فولتاً و65 امبيراً لمدة ساعة واحدة يلي ذلك غمر الهلام بصبغة Ethidium bromide لمدة 20 دقيقة وبجهاز UV يتم ملاحظة الحزم في الهلام، وثم صورت باستخدام جهاز التوثيق الفوتوغرافي (Photo documentation system).

- **التحليل الاحصائي:** تم تحليل البيانات إحصائيا بإستعمال البرنامج Statistical Analysis System – SAS (2012) استعمل الأنموذج الرياضي المختلط للمربعات الصغرى وتعظيم الاحتمالات Mixed Model Least Squares and Maximum Likelihood لإيجاد أفضل تنبؤ خطي غير منحاز (Best Linear Unbiased Prediction-BLUP) للمتغير العشوائي (المواليد) باستخدام النموذج الرياضي التالي بعد إضافة تأثير المولود لصفات وزن الجسم عند الميلاد

$$Y_{ijko} = \mu + G_i + Sj + T_k + M_o + B_a + e_{ijko}$$

Yijko قيمة المشاهدة n العائدة للمجموعة الوراثية i وجنس المولود j ونوع الولادة k وشهر الولادة o وعمر الام a.

μ المتوسط العام للصفة

Gi : تأثير المجموعة الوراثية للمولود i (القبرصي، المحلي).

Sj : تأثير جنس المولود j (ذكر، أنثى).

Tk: تأثير نوع الولادة k (مفردة، توأمية، ثلاثية، رباعية).

MO : تأثير شهر– سنة الولادة o (اذار– 2013، نيسان – 2013).

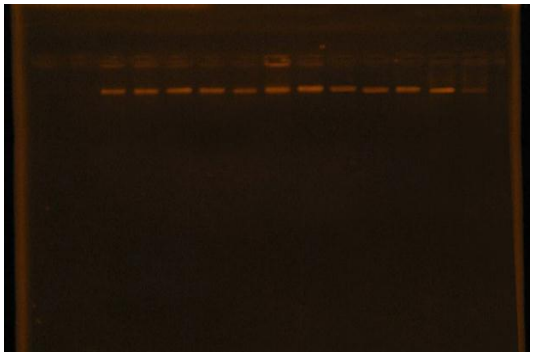
Ba : تأثير عمر الام a (2، 3، 4، 5، 6، 8) سنوات.

eijko : الخطأ العشوائي الذي يفترض أن يتوزع توزيعاً طبيعياً بمتوسط يساوي صفراً وتبايناً قدره σ2e.

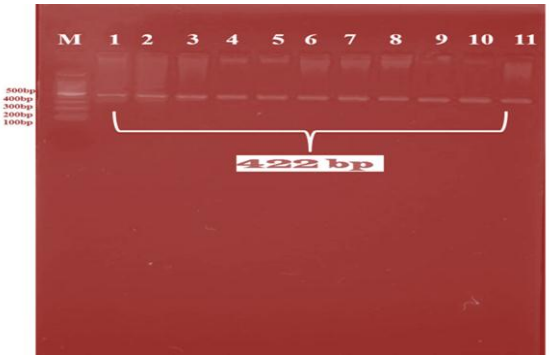
النتائج والمناقشة

تم استخلاص DNA باعتباره خطوة اولى للحصول على جين هرمون النمو بتقانة PCR من عينات دم مواليد الماعز وباستخدام العدة التشخيصية (Kit) وتصوير ناتج الترحيل للتأكد من نجاح عملية الاستخلاص صورة (1).

- **تفاعل البلمرة المتسلسل لجين هرمون النمو:** ضخم جين هرمون النمو باستخدام تقانة PCR وباستخدام عدة الـPCR والبادئ وعينات الـDNA الكلي وضبط جهاز الدورات الحرارية ثم بعد ذلك تم ترحيل عينة 5µL من كل أنموذج في هلام الاكاروز بتركيز 2% وضبط الفولتية على 70 V وبتيار 65 امبيراً لمدة ساعة ونصف وتصوير ناتج الترحيل للتأكد من نجاح عملية الاستخلاص والحصول على القطعة المطلوبة بحجم 422 bp تم استخدام قطع DNA معلومة الحجوم (Marker 100– 1000) صورة (2).



صورة (1) عملية استخلاص الـ DNA



صورة (2) ناتج الترحيل الكهربائي لعملية تضخيم جين هرمون النمو

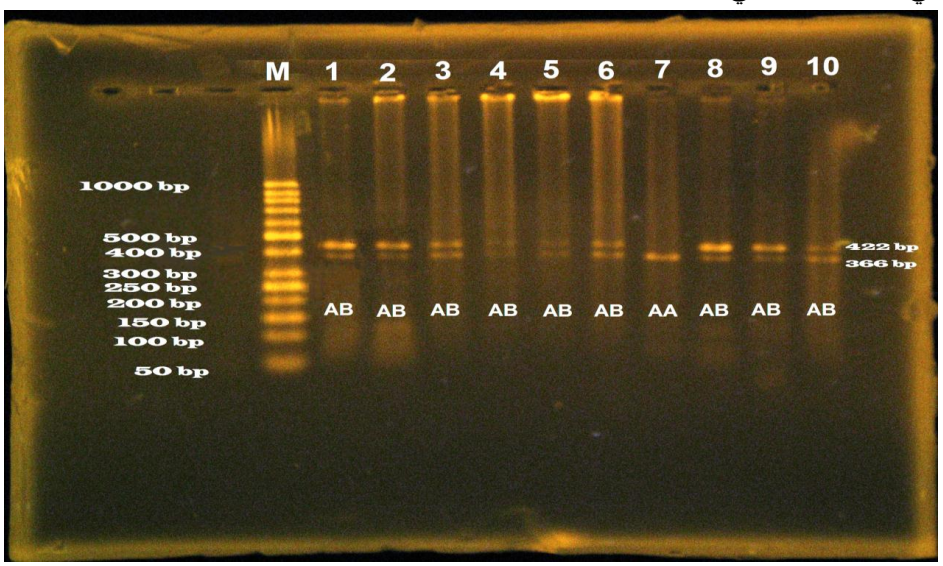
- **تكرار الاليلات وتكرار التراكيب الوراثية:** تم العثور على نوعين من التراكيب الوراثية في سلالتي الماعز القبرصي والمحلي وبتكرارات مختلفة ففي سلالة الماعز القبرصي (AB 0.325 + AA 0.675) وفي سلالة الماعز المحلي (AB 0.45 + AA 0.55) جدول (5) وهذا مقارب ولكن باختلافات في نسبة التراكيب الوراثية او تكرار الاليلات لما وجده (4) (AB 0.8377 + AA 0.1623) في ماعز Boer وكذلك (8) في سلالات Barki (A0.41 + B0.59) و Masri (A0.43 + B0.57) و Ard (A0.62 + B0.38) و Zaribi (

(AA 0.36 + AB 0.64) و(AA 0.07 + AB 0.8) (9) و A0.54 + B0.46) لماعز SaWvanna في ماعز Kalahari اما (6) فكانت القيم هي (AA0.18+ AB0.82) في ماعز السيروهي و(AB 0.9 + AA 0.1) في ماعز البربري كذلك سجل (10) (AA 56.44 % + AB 43.56 %) باعتبارها محصله نهائية لعدة سلالات اغنام تم دراستها وكذلك (11) (AAHH 0.06, AAGH 0.39, ABGH 0.47, ABGG 0.08) في دراسة للتأثير المشترك لعده طرز من هرمون النمو.

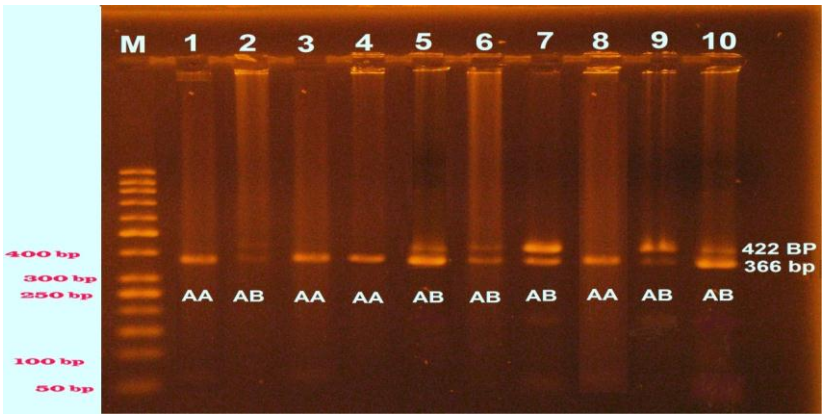
جدول (5) عدد التراكيب الوراثية وتكرار الاليلات في الفترات الزمنية

المجموعة الوراثية	العدد	التراكيب الوراثية		تكرار الاليلات	
		AA	AB	A	B
ميلاد قبرصي	20	7(0.675)	13(0.325)	0.35	0.65
ميلاد محلي	20	2(0.55)	18(0.45)	0.1	0.9

- **التراكيب الوراثية لصفة وزن الميلاد:** توضح صورة (3) نوع التراكيب الوراثية بين عينات حيوانات الماعز القبرصي ذات اعلى جدارة وراثية لصفة وزن الميلاد وبلغ عدد التراكيب الوراثية (AB 9 + AA 1)، أما الصورة (4) فتوضح التراكيب الوراثية بين عينات حيوانات الماعز القبرصي ذات اقل جدارة وراثية لصفة وزن الميلاد (AB 6 + AA 4)، إن المقارنة بين المجموعتين بينت امتلاك المجموعة القبرصية ذات الجدارة الوراثية الاعلى لوزن الميلاد عدداً اكبر من الاليلات من نوع AB مقارنة بمثيلاتها القبرصية ذات الجدارة الوراثية الاقل لنفس الصفة وقد عزز من امتلاك افرادها قيمة الجدارة الاعلى لصفة وزن الميلاد وهذا يتفق مع ما وجده (4) (AA 25 + AB 129) الذين وجدوا تفوق الحيوانات ذات التركيب الوراثي AB في صفة وزن الميلاد وطول الجسم وارتفاع الجسم ومحيط الصدر عند الميلاد مقارنة مع مثيلاتها التي تمتلك التركيب الوراثي AA في نفس الصفات في حالة نوعين من الاليلات A, B .

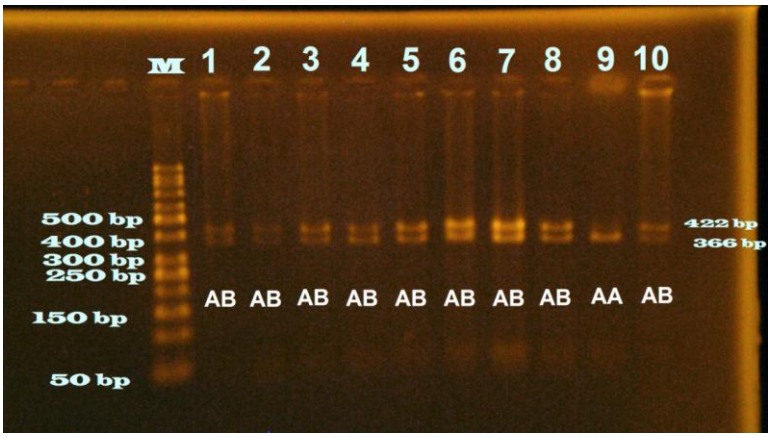


صورة (3) توضح التراكيب الوراثية لهرمون النمو في مواليد الماعز القبرصي ذات اعلى قيمة جدارة وراثية لصفة وزن الميلاد التركيب الوراثي AB في الاعمدة (1 و2 و3 و4 و5 و6 و8 و 9 و10) (422 bp و366 bp) والتركيب الوراثي في العمود 7 (366 bp)

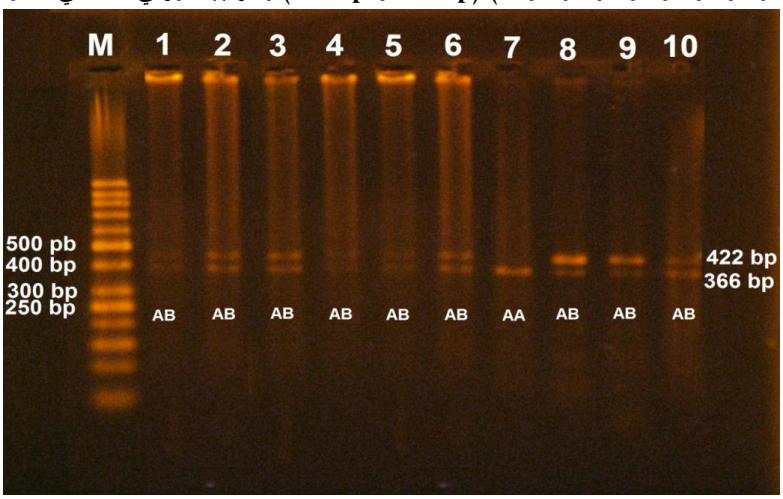


صورة (4) التراكيب الوراثية لجين هرمون النمو في مواليد الماعز القبرصي ذات اقل قيمة جدارة وراثية لصفة وزن الميلاد التركيب الوراثي AB في الاعمدة (2 و5 و6 و7 و9 و10) (422 bp و366 bp) والتركيب الوراثي AA في الاعمدة (1 و3 و4 و8) (366 bp).

وذكر (11) وجود تفوق في حالة التأثير المشترك للطرز الوراثية مجتمعة لجين هرمون النمو في صفات وزن الجسم وطول الجسم عند الميلاد وارتفاع الجسم عند الميلاد ومحيط الصدر عند الميلاد لصالح الحيوانات ذات التركيب الوراثي (ABCC117 + ABCD12) مقارنة مع الحيوانات الاخرى ذات التركيب الوراثي (AACC15 + AACD10) وبمستوى معنوية $P<0.05$ ضمن السلالة الواحدة. وسجل (12) التراكيب الوراثية (82) AA و(270) AB وفي ماعز Boer و(30) AA و(152) AB في ماعز Matou فضلاً عن طرازين اخرين CC (273) و(79)CD و(154) CC و(28) CD لكلا السلالتين على التوالي وقد تفوقت الحيوانات ذات الطرز الوراثية AB و CC على مثيلاتها بمستوى معنوية $P<0.05$ وأن الامهات ذات النمط الوراثي ABCD كانت اعلى معنوية $P>0.05$ من مثيلاتها في احجام المواليد. اما (9) فسجلوا عدد التراكيب الوراثية 81 AB و6 AA لسلالة السافانا وكذلك في سلالة كالاهاري 9 AB و5 AA، ولكن ذكر (11) في دراسة على تعدد الاشكال الجينية لهرمون النمو وجود طرازين لهرمون النمو GH1 وكانت AB,AA وثلاث طرز لـ GH5 كانتGH, GG, HH وعند دراسة مزيج من التراكيب الوراثية ABGG, ABGH, AAGH, AAHH تبين تفوق الطراز ABGG على الطراز ABGH في صفة وزن الميلاد في ماعز السافانا وبمستوى معنوية $p<0.05$. صورة (5) تبين عدد التراكيب الوراثية في عينات حيوانات الماعز المحلي ذات اعلى جدارة وراثية في صفة وزن الميلاد (AA + 9 AB 1)، والصورة (6) تبين عدد التراكيب الوراثية في عينات حيوانات الماعز المحلي ذات أقل جدارة وراثية لصفة وزن الميلاد (1 AA + 9 AB) وتشابهت اعداد التراكيب الوراثية بين مجموعتي الحيوانات السلالة المحلية ذات اعلى واقل جدارة وراثية لصفة وزن الميلاد واختلفت هذه النسبة بالمقارنة مع نتائج كل من(4) (129 AB + 25 AA) وكذلك (12) (AB270 + AA82) وكذلك (9) (81 AB + 6 AA) لسلالة السافانا وكذلك في سلالة كالاهاري (9 AB + 5 AA) وتفسير ذلك قد يعود الى ان العينات المشمولة بدراساتهم كانت مختلفة في اعداد الحيوانات كذلك كانت العينات من سلالات/ مناطق مختلفة تخضع للتربية في ظروف بيئية مختلفة وتخضع لقوى تطورية مختلفة من شأنها ان تغير من التكرار الجيني لها وهذا يتفق مع (4، 8، 13).



صورة (5) التراكيب الوراثية لهرمون النمو في مواليد الماعز المحلي ذات اعلى جدارة وراثية لصفة وزن الميلاد التركيب الوراثي AB في الاعمدة (1 و2 و3 و4 و5 و6 و7 و8 و10) (422 bp و 366 bp) والتركيب الوراثي AA في العمود9 (366 bp)



صورة (6) التراكيب الوراثية لهرمون النمو في عينات الماعز المحلي ذات اقل قيمة جدارة وراثية لصفة وزن الميلاد التركيب الوراثي AB في الاعمدة (1 و2 و3 و4 و5 و6 و7 و8 و 9) (422 bp و366 bp) والتركيب الوراثي AA في العمود 7 (366 bp)

ان عملية النمو عملية معقده تشترك في ظهور ملامحها عوامل عديده وراثية وبيئية الامر الذي ينعكس على اداء الانماط الوراثية في اظهار تأثيرها على الحيوانات بيئات مختلفة والتي تؤثر في نهاية الامر في الاداء الفسيولوجي للحيوان (13) وبما ان لجين هرمون النمو ما يقرب من 10 اشكال وراثية (5، 14، 15، 16، 17) فان وجود التراكيب الوراثية مجتمعه يعطي للحيوانات افضل القيم من ناحية الاداء بدلا من دراسة تأثير التراكيب الوراثية المنفصلة (4) ويكون افضل بالكشف عن التراكيب الوراثية المتعددة للجين والاستدلال بها واستخدامها في عمليات الانتخاب والتحسين الوراثي وانه يمكن التخلص من النمط الجيني غير المرغوب فيه اثناء عمليه الانتخاب (11، 12)، كما أنه من الضروري ان تكون الدراسة على عدد عينات اكبر لتكون النتائج ادق (13) كما يجب ان يكون هناك المزيد من التحليل لأنواع الطفرات والطرز الوراثية لجين هرمون النمو واكثار الحيوانات ذات التركيب الوراثي المتفوق في الاداء الانتاجي (8، 10). ان نتائج هذه الدراسة فضلاً عن الدراسات السابقة يمكن الاستفادة منها في برنامج تحسين الثروة الحيوانية وخاصة الماعز فضلاً عن امكانية استخدامها باعتبارها علامات الحيوانات ذات الاداء الانتاجي المرتفع في تحسين القطعان المحلية. ان تشابه التراكيب الوراثية بين السلالتين المذكورتين بالنسبة لنوع التراكيب الوراثية لجين هرمون النمو يدل على امكانيه استغلال هذا التشابه في محاوله تحسين الماعز المحلي لوحده بدون تضريبه مع السلالات المستوردة من خلال وضع خطط تربيه وتحسين وراثي مناسبه حيث ان الماعز المحلي يمتلك افضليه التأقلم مع البيئة المناخية للبلد (18).

المصادر

1. المصري، عادل محمد. (2001). الصفات الكمية والتحسين الوراثي. منشاة المعارف، الاسكندرية، جمهورية مصر العربية.

2. Field, T. G. (2007). Beef Production and Management Decisions. 5th Ed. Prentice Hall.
3. Ayuk, J. & Sheppard, M. C. (2006). Growth hormone and it disorders. Postgraduate Med. J., 82: 24-30
4. Hua, G. H.; Chen, S. L.; Yu, J. N.; Cai, K. L.; Wu, C. J.; Li, Q. L.; Zhang, C. Y.; Liang, A. X.; Hana, L.; Geng, L. Y.; Shen, Z.; Xu, D. Q. & Yang, L. G. (2009). Polymorphism of the growth hormone gene and its association with growth traits in Boer goat bucks. Meat Sci., 81: 391-395.
5. Malveiro, E.; Pereira, M.; Marques, P. X.; Santosa, I. C.; Belo, C.; Renaville, R. & Cravador, A. (2001). Polymorphisms at the five exons of the growth hormone gene the Algarvia goat: possible association with milk traits. Small Rumin. Res., 41:163-170.
6. Marques, P. X.; Pereira, M.; Marques, M. R.; Santos, I. C.; Belo, C. C.; Renaville, R. & Cravador, A. (2003). Association of milk traits with SSCP polymorphisms at the growth hormone gene in the Serrana goat. Small Rumin. Res., 50:177-185.
7. Sambrook, J.; Maniatis, T. & Fritsch, E. F. (1989). Molecular cloning: A laboratory Manual. cold spring harbor labrotray press, Cold Spring Harbor, N.Y.
8. Alakilli, S. Y. M.; Mahrous, K. F.; Salem, L. M. & Ahmed, E. S. (2012). Genetic polymorphism of five genes associated with growth traits in goat. Afr. J. Biotechnol., 11(82): 14738-14748.
9. Amie Marini, A. B.; Aslinda, K.; Hifzan, R. M.; Muhd Faisal, B. & Musaddin, K. (2012). HaeIII-RFLP Polymorphism of growth hormone gene in Savanna and Kalahari goats. Mal. J. Anim. Sci., 15:13-19.
10. Othman, O. E.; Alam, S. S.; Abd El-Kader, H. A. M. & Abd-El-Moneim, O. M. (2015). Genotyping of growth hormone gene in Egyptian Small Ruminant Breeds. Biotechnology, 14 (3): 136-141.
11. Amie Marini, A. B.; Syarifah, N.; Hanis, S. H.; Shuib, M. M. M.; Firdaus, O. M. & Ariff, O. M. (2015). Association of growth hormone gene polymorphisms with pre-weaning growth traits in Savanna goats. Mal. J. Anim. Sci., 18(2): 29-36.
12. Zhang, C.; Liu, Y.; Huang, K.; Zeng, W.; Xu, D.; Wen, Q. & Yang, L. (2011). The association of two single nucleotide polymorphisms (SNPs) in growth hormone (GH) gene with litter size and superovulation response in goat-breeds. Genet. Mol. Biol., 34 (1): 49-55.
13. Singh, P. P.; Tomar, S. S.; Thakur, M. S. & Kumar, A. (2015). Polymorphism and association of growth hormone gene with growth traits in Sirohi and Barbari breeds of goat. Vet. World, 8 (3): 382-387.
14. Beauchemin, V. R.; Thomas, M. G.; Franke, D. E. & Silver, G. A. (2006). Evaluation of DNA polymorphisms involving growth hormone relative to growth and carcass characteristics in Brahman steers. Genet. Mol. Res., 5(3): 438-447.
15. Li, M. Y.; Pan, Q. H.; Pan, Y. C.; Shen, W.; Min, L. J. & Ren, Z. Y. (2004). Polymorphism analysis of goat growth hormone (GH) gene by PCR-RFLP. Journal of Laiyang Agricultural Colleague, 21(1): 6-9.
16. Bai, W. L., Wang, J. & Yin, R. Y. (2005). Study on genetic polymorphism of HaeIII site of GH gene in Chengdu-Ma goat and Boer goat. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 8: 13-14.
17. Gupta, N.; Ahlawat, S. P. S.; Kumar, D.; Gupta, S. C.; Pandey, A. & Malik, G. (2007). Single nucleotide polymorphism in growth hormone gene exon-4 and exon-5 using PCR–SSCP in Black Bengal goats- A prolific meat breed of India. Meat Sci., 76(4): 658-665.

18. الحمداني، وهبي عبد القادر. (2000). دراسة تأثير بعض العوامل البيئية والفسلجية على انتاج الحليب وتركيبه في مجاميع وراثية من الماعز. اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد. العراق.