

Türkiye Yöresel Yeni Koyun Tipi Of Koyunlarında GDF9 (FecG¹) Gen Polimorfizmin PCR-RFLP Yöntemi ile Araştırılması

Koray KIRIKÇI^{1a*} Mehmet Akif ÇAM^{2b}

¹Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Kırşehir-TÜRKİYE

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Samsun- TÜRKİYE

^a<https://orcid.org/0000-0001-8087-141X>; ^b<https://orcid.org/0000-0003-3407-3913>

*e-mail: koray.kirikci@ahievran.edu.tr

ÖZET

Of koyunu Trabzon ili Of, Çaykara, Dernekpazarı ve Hayrat ilçelerinde yetiştirilmekte olup 2020 yılında yöresel tip olarak tescil edilmiştir. Saf olarak yetiştiriciliği yapılan Of koyunu sayısı 1800 ile 2000 baş civarında olup bunlarda ikiz doğum oranları %35-40'lara kadar çıkmaktadır. Bu çalışmada toplam 24 baş saf Of koyununda çoklu doğum ile ilişkili GDF9 (FecG¹) geni polimorfizmi, PCR-RFLP yöntemi ile araştırılmıştır. PCR ürünlerinin *Hhal* restriksiyon enzimi ile kesimi sonucunda iki allel (G ve A) ve iki genotip (GA ve GG) tespit edilmiştir. A ve G allellerin frekansları; 0.46 ile 0.54, GA ve GG genotiplerin frekansları ise 0.92 ile 0.08 olarak bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda Of koyununda GDF9 geni bakımından heterozigot birey sayısının fazla olması, bu genotipte çoklu doğum ile ilişkilendirme çalışmalarının yapılması için önemli bir fırsat sunmaktadır.

MAKALE BİLGİSİ

Araştırma Makalesi

Geliş : 12.11.2020

Kabul: 03.12.2020

Anahtar kelimeler: Of koyunu, Çoklu doğum, GDF9 (FecG¹) geni, PCR-RFLP, *Hhal* enzimi.

Investigation of GDF9 (FecG¹) Gene Polymorphism by PCR-RFLP Method in Of Sheep, a Local New Sheep Type in Turkey

ABSTRACT

Of sheep, registered as a local type in the 2020 year, are bred in the districts of Of, Çaykara, Dernekpazarı, Hayrat in Trabzon, Turkey. The number of sheep raised as pure is around 1800 and 2000 heads, and twin birth rates are up to 35-40 %. In this study, in a total of 24 head Of sheep, the GDF9 (FecG¹) gene polymorphism, which is related to multiple births in sheep, was investigated by the PCR-RFLP method. After the digestion of PCR products with the *Hhal* restriction enzyme, two alleles (A and G) and two genotypes (GA and GG) were identified. The frequencies of alleles A and G were found to be 0.46 to 0.54. The frequencies of genotypes GA and GG were found to be 0.92 to 0.08. To conclude, many heterozygous individuals in terms of the GDF9 gene in Of sheep provide an important opportunity to conduct the studies on its relationships with multiple births in this genotype.

ARTICLE INFO

Research article

Received: 12.11.2020

Accepted: 03.12.2020

Keywords:

Of sheep, Multiple births, GDF9 (FecG¹) gene, PCR-RFLP, *Hhal* enzyme.

GİRİŞ

Koyunlarda çoklu doğum, çok sayıda gen tarafından kontrol edilen ve düşük kalıtım derecesine sahip (0,06-0,18) bir özelliktir. Bu nedenle geleneksel ıslah yöntemleri ile bu özelliğin iyileştirilmesinde elde edilecek başarı sınırlıdır (Analla ve ark. 1997; Savas ve ark. 2000; Janssens ve ark. 2004; Vatankhah ve Talebi 2008). Safari ve ark. (2005), ikiz doğumlar lehine yapılacak seleksiyon ile kuzu doğum sayısındaki artış oranının ancak %1-2 arasında olabileceğini belirtmiştir. Bu nedenle kuzu veriminin ıslahında kullanılabilecek majör genler üzerindeki mutasyonların belirlenmesi ve üreme özellikleri ile olan ilişkisinin ortaya konması dünya genelinde bu alanda çalışan bilim insanlarının ilgisini çeken bir konu olmuştur (Amini ve ark. 2018).

Koyunlarda çoklu doğum oranı üzerine etkili olduğu kanıtlanan başlıca üç önemli aday gen bulunmaktadır. Bunlar bone morphogenic protein 15 (BMP15), bone morphogenetic protein receptor 1B (BMPR1B) ve growth differentiation factor 9 (GDF9) genleridir (Vage ve ark. 2013). Bu genler üzerinde yer alan mutasyonlar koyunlarda ovulasyon ve çoklu doğum oranlarında artış sağlama eğilimindedirler (Davis, 1991).

Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta (TGF- β) üst ailesinin bir üyesi olan GDF9 geni koyun 5. kromozomu üzerinde bulunan 2 ekzon ve 1 introndan oluşan ve koyunlarda normal foliküler gelişim için gerekli olan bir gendir. Gen üzerinde tanımlanan 8 farklı mutasyon (G1-G8) bulunmaktadır. GDF9 ekzon 1 260. nükleotidde G–A baz değişimi sonucu oluşan G1 (FecG¹) mutasyonu 87. aminoasidinde Arjinin'nin (R) Histamin (H) ile yer değiştirmesine neden olmaktadır (Hanrahan ve ark. 2004). Çalışmalar bu gen bakımından heterozigot genotipe sahip koyunlarda ovulasyon oranlarının (1.88–1.78) homozigot olanlardan (1.22–1.16) yüksek olduğunu bildirmektedir (Moradband ve ark. 2011; Paz ve ark. 2015; Gorlov ve ark. 2018).

Ülkemizde BMP15, BMPR1B ve GDF9 aday genleri üzerinde bulunan 6 farklı mutasyon (FecX^I, FecX^H, FecX^G, FecX^B, FecG^H, FecB) bazı yerli koyun ırklarımızda PCR-RFLP yöntemi ile araştırılmıştır (Karslı ve ark. 2010; Gürsel ve ark. 2011; Karslı ve ark. 2012; Dinçel ve ark. 2015; Dinçel ve ark. 2018). Ancak çoklu doğum ile ilişkilendirilen bir mutasyon tanımlanmamış olmakla beraber ilgi genlerin çoğunlukla monomorfik yapıda oldukları bildirilmiştir.

Of koyunu Trabzon ili Of, Çaykara, Hayrat, Dernekpazarı ilçelerinde yetiştirilmektedir. Saf olarak 6 işletmede (1800-2000 baş) yetiştirilmekle birlikte bölgedeki diğer ırklarla melezlerine de rastlanmaktadır. Of koyunlarının sayıca az olmasına karşın gelir ve gıda kaynağı olmaları açısından bölgedeki yetiştiriciler için önemli bir genotiptir.

Yerli ırklarımızda aday genler üzerinde ilgili mutasyonların tanımlanması ve üreme özellikleri ile ilişkilendirilmesi, kuzu veriminin artırılması ve erken yaşta damızlık seçimi gibi sağlayacağı faydalarının yanında, sayıca az ve nesli tehlike altında olan koyun ırklarımız için gelecekte çözüm önerisi olabilir (Abdoli ve ark. 2019). Bu nedenle, planlanan bu çalışma ile Of koyunlarında çoklu doğum ile ilişkilendirilen GDF9 (FecG¹) geni DNA polimorfizmin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırma materyalini saf olarak yetiştiricilik yapan işletmelerden ikiz doğum yapmış 24 baş Of koyunundan alınan kan örnekleri oluşturmuştur. Örnekler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu (Karar no: 2017/32) tarafından belirtilen yönergeye uygun olarak veteriner hekim tarafından toplanmıştır.

Kandan DNA'nın elde edilmesinde ticari izolasyon kiti (IDPURE™ Spin Column, USA) kullanılmıştır. İzolasyon işlemi üretici firmanın belirlediği protokol izlenerek gerçekleştirilmiştir. DNA'ların elde edilip edilmediği %1'lik hazırlanan agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmiştir.

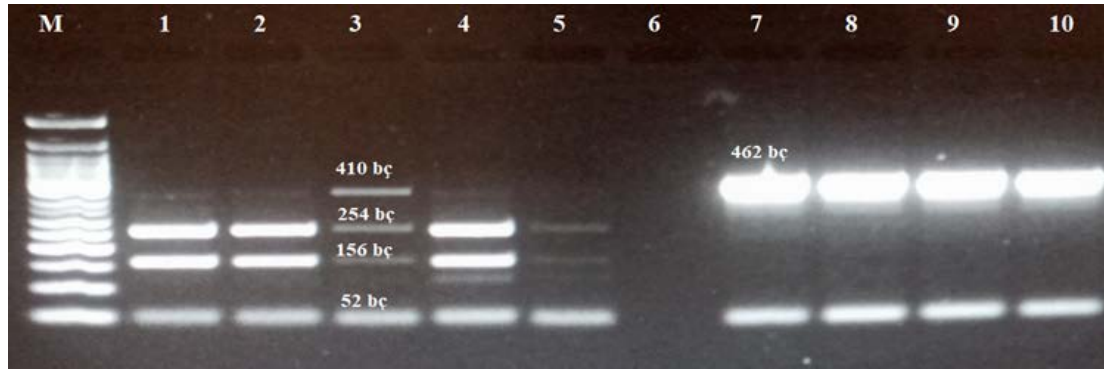
GDF9 ekzon 1 geni üzerinde 462 baz çifti (bç) uzunluğundaki bölgenin PCR ile çoğaltılmasında Kasiriyen ve ark. (2011) tarafından belirtilen primer çifti (Forward; 5'GAAGACTGGTATGGGGAAATG3', Reverse; 5'CCAATCTGCTCCTACACACCT 3') kullanılmıştır. PCR işlemleri Applied Biosystems™ Veriti Thermal Cycler cihazında yapılmıştır. PCR reaksiyon bileşenleri; 12 μ l Taq DNA polimeraz Master Mix red (2X), 1 μ l (10 pmol/ μ L) ileri ve geri primeri, 1.5 μ L genomik DNA ve son olarak toplam hacim 25 μ L olması için distile su (H₂O) eklenerek hazırlanmıştır. PCR işlemi, ilk denatürasyon 95 °C'de 5 dakika, denatürasyon 95 °C'de 1 dakika, primerlerin bağlanması 64 °C'de 40 saniye, uzama 72 °C'de 5 dakika ve 72 °C'de 5 dakika son uzama üzere 35 döngü olarak uygulanmıştır. PCR sonrası ürünlerde amplifikasyonların ve kontaminasyonların olup olmadığı %2'lik agaroz jel elektroforezinde kontrol edilmiştir.

Hayvanların GDF9 Ekzon 1 geni bakımından genotipik yapılarının belirlenmesi amacıyla PCR sonrası ürünler *HhaI* restriksiyon enzimleri ile kesim işlemine tabi tutulmuştur. Kesim işlemi 30 μ l hacimde; 1 μ l fast digest *HhaI* enzimi, 2 μ l green buffer, 10 μ l PCR ve 17 μ l distile su eklenerek hazırlanmıştır. Hazırlanan örnekler kesim işleminin gerçekleşmesi için 37 °C'de 15 dakika inkubatörde bekletilmiştir. Kesim işleminden sonra, örnekler %3'lük agaroz jel elektroforezinde yürütülmüştür. RFLP sonuçları jel görüntüleme sisteminde (MiniLumi, DNR Bio-Imaging Systems) EtBr (500 μ l/mL in H₂O) boyama ile görüntülenmiştir.

Allel ve genotip frekansları, beklenen (Ho) ve gözlemlenen (He) heterozigosite değerleri ve Hardy–Weinberg dengesi PopGen32 programı kullanılarak hesaplanmıştır (Yeh ve ark. 2000).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Türkiye'nin yerli yeni yöresel koyun tiplerinden biri olan Of koyunlarında GDF9 (FecG¹) polimorfizmi araştırılmıştır. PCR analizi sonucunda, 462 bç uzunluğunda tek bir bant elde edilmiştir (Şekil 1). Elde edilen PCR ürünleri, çalıtılan gen bakımından koyunların sahip oldukları genotipik yapılarının ortaya konması amacıyla *HhaI* restriksiyon enzimi ile kesim işlemine tabi tutulmuştur. Kesim sonrasında, A ve G allelleri ile GA ve GG genotipleri belirlenmiştir. GA genotipi için 4 bant (52 bç, 156 bç, 254 bç ve 410 bç) GG genotipi için ise 3 bant (52 bç, 156 bç ve 254 bç) görülmüştür (Şekil 1).



Şekil 1. PCR ve RFLP sonucu elde edilen bant görüntüleri.

PCR-RFLP analizi sonucu A ve G allellerin frekansları 0.46 ve 0.54 olarak bulunmuştur. GA ve GG genotiplerin frekansları ise 0.92 ile 0.08 olarak hesaplanmıştır. Diğer bir ifadeyle 24 baş Of koyununun 22'sinin (%92) heterozigot yapıda olduğu söylenebilir. Araştırmada Of koyunlarında AA genotipine sahip bireyler tespit edilmemiştir. Benzer bulgular diğer çalışmalarda da görülmüştür (Moradband ve ark. 2011; Kolosov ve ark. 2015). Çalışmada, Of koyunu için belirlenen heterozigot genotip oranlarının (%92) bazı Rusya (Vogograd koyunu; %16 ve Salsk koyunu: %12), Afrika (Sudan Watish çöl koyunu: %7) ve İran (Ghezel: %24.6) koyun ırklarından yüksek olduğu görülmüştür (Eghbalsaied ve ark. 2017; Gorlov ve ark. 2018; Mohamed ve ark. 2019).

Gözlemlenen (H_o) ve beklenen (H_e) heterozigotluk değerleri 0.917 ve 0.507 olarak hesaplanmıştır. Ki-kare analiz sonuçlarına göre Of koyun popülasyonunun ilgili gen bakımından Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı görülmüştür ($P < 0.001$). Elde edilen bu sonucun sürü büyüklüklerinin küçük olması ve belirli yönde yapılan damızlık seçimlerinde kaynaklandığı düşünülmektedir (Kırıkçı ve ark. 2020).

Türkiye'de BMP15, BMPR1B ve GDF9 aday genlerinde - çoklu doğum üzerinde etkili olan altı farklı mutasyon (FecX^I, FecX^H, FecX^G, FecX^B, FecB, FecX^G), Kıvırcık, Sakız, İvesi, İmroz, Tuj, Karakaş, Dağlıç, Akkaraman ve Pırlak koyun ırklarında araştırılmıştır (Karlı ve ark. 2010; Gürsel ve ark. 2011; Karlı ve ark. 2012; Dinçel ve ark. 2015; Dinçel ve ark. 2018). Gürsel ve ark. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada Sakız, İvesi, İmroz ve Kıvırcık ırkı koyunların FecG^H (GDF9) mutasyonu bakımından homozigot yapıda oldukları belirtilmiştir. Diğer yandan Pırlak koyunlarında GDF9 ekzon 1 bölgesinin DNA dizi analiz yöntemi ile araştırıldığı bir çalışmada ise bu gen bakımından koyunların monomorfik yapıda oldukları belirtilmiştir (Çelikeloğlu ve ark. 2018). Benzer bulgular Escobar-Chaparro ve ark. (2017) tarafından da rapor edilmiştir. Mehraban, Baluchi, Lori olmak üzere çoğu İran koyun ırklarında ise GDF9-G1/FecG^I genin polimorfik yapıda oldukları belirtilmiştir (Moradband ve ark. 2011; Abdoli ve ark. 2013; Zamani ve ark. 2015; Eghbalsaied ve ark. 2017).

Ülkemizde PCR-RFLP yöntemi ile GDF9 (FecG^I) mutasyonu yerli ırklarımızda bugüne kadar çalışılmamıştır. Ancak, Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) veri tabanında yerli ırklarımızdan Karayaka koyun ırkında ilgili mutasyonun bulunduğunu gösteren sekans dizileri yer almaktadır (Erişim numaraları; MT295368-MT295371). FecG^I mutasyonu İran Baluchi, Sangsari ve Mehraban ırklarında da rapor edilmiştir (Abdoli ve ark. 2013). Bu gen bakımından koyunların homozigot veya heterozigot olma durumlarına göre kuzulama oranlarında artış veya azalışların meydana geldiği yapılan çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.

Bangladeş koyununda yapılan bir çalışmada, GDF9-G1 geni A alleli bakımından homozigot olan koyunlarda (AA) kuzulama oranlarının (2.00 ± 0.41) G alleli bakımından homozigot olan koyunlardan (GG) daha yüksek olduğu (1.59 ± 0.09) belirtilmiştir (Hossain ve ark. 2020). Bu çalışmanın aksine, Rusya'nın Salsk ve Volgograd ırklarında ise heterozigot (AG) koyunlarda kuzulama oranlarının ($1.80 \pm 0.12 - 1.88 \pm 0.17$) homozigot (GG) koyunlara kıyasla ($1.13 \pm 0.09 - 1.22 \pm 0.11$) daha yüksek oldukları rapor edilmiştir (Gorlov ve ark. 2018). Dolayısıyla, çalışılan ırka göre genotipik yapıların çoklu doğum üzerindeki etkileri değişebilmektedir.

Literatürde koyunlarda kuzulama oranları üzerinde GDF9-G1 mutasyonun etki düzeyi çalışmalar arasında farklılık göstermektedir. Bu farklılığın başlıca sebepleri kullanılan teknikler ve hayvan sayılarındaki değişimler olabileceği belirtilmiştir (Eghbalsaied ve ark. 2017).

Yöresel koyunlar, genetik kaynak olarak önemli olmalarının yanında, yeni gen kombinasyonlarının oluşturulmalarında, istihdam, gıda ve gelir kaynağı olmaları bakımından önemlidir. Sayıca az olan yöresel koyun tiplerinin sürdürülebilirliğinin sağlanmasında kuzu veriminin artırılması gerekmektedir. Bu çalışmada Of koyunlarının GDF9 (FecG^I) geni bakımından çoğunlukla heterozigot yapıda olmalarının tespit edilmesi önemli bir bulgudur.

SONUÇ

Sunulan çalışma Of koyunlarının GDF9 (FecG¹) geni bakımından genetik yapısını ortaya koyan ilk çalışmadır. Çalışma sonucunda, Of koyunlarının bu gen bakımından polimorfik oldukları tespit edilmiştir. Literatürde GDF9 (FecG¹) geni bakımından heterozigot genotipe sahip koyunlarda kuzulama oranlarının yüksek olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Bu nedenle GDF9 (FecG¹) geni için tespit edilen genetik varyasyonun Of ve diğer yerli koyun ırklarında çoklu doğum ile ilişkilendirilmesini konu alan kapsamlı çalışmaların yapılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdoli R, Zamani P, Deljou A, Rezvan H 2013. Association of BMPR-1B and GDF9 genes polymorphisms and secondary protein structure changes with reproduction traits in Mehraban ewes. *Gene*. 524 (2): 296–303.
- Abdoli R, Zamani P, Mirhoseini SZ, Hossein-Zadeh NG, Almasi M 2019. Genetic parameters and trends for litter size in Markhoz goats. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 32 (1): 58-63.
- Amini H, Ajaki A, Farahi M, Heidari M, Pirali A, Forouzanfar M, Eghbalsaied S 2018. The novel T755C mutation in BMP15 is associated with the litter size of Iranian Afshari, Ghezel, and Shal breeds. *Archiv fuer Tierzucht*. 61 (1): 153-160.
- Analla M, Munoz-Serrano A, Serradilla JM 1997. Analysis of the genetic relationship between litter size and weight traits in Segurena sheep. *Canadian Journal of Animal Science*. 77 (1): 17-21.
- Çelikeloğlu K, Erdoğan M, Hacan Ö, Koçak S, Bozkurt Z, Tekerli M 2018. Pırlak koyunlarında BMPR1B, BMP15 ve GDF9 genlerinde olası polimorfizmlerin araştırılması. *Kocatepe Veteriner Dergisi*. 11 (4): 356-362.
- Davis GH, McEwan JC, Fennessy PF, Dodds KG, Farquhar PA 1991. Evidence for the presence of a major gene influencing ovulation rate on the X chromosome of sheep. *Biol Reprod* 44 (4): 620–624.
- Diñçel D, Ardıçlı S, Soyudal B, Er M, Alpay F, Şamlı H, Balci F 2015. Analysis of FecB, BMP15 and CAST gene Mutations in Sakiz sheep. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 21 (4): 483-488.
- Diñçel D, Ardıçlı S, Şamlı H, Balci F 2018. Genotype frequency of FecXB (Belclare) mutation of BMP15 gene in Chios (Sakiz) sheep. *Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med*. 37 (2): 87-91.
- Eghbalsaied S, Rashidi Khorasgani F, Amini HR, Farahi M, Davari M, Pi - rali A, Pourali S, Vatankhah M, Rostami M, Atashi H 2017. Variant GDF9 mRNA is likely not the main cause of larger litter size in Iranian Lori-Bakhtyari, Shal, Ghezel, and Afshari sheep breeds. *Arch. Anim. Breed*. 60 (2): 119–129.
- Escobar-Chaparro RA, Guillén G, Espejo-Galicia LU, Meza-Villalvazo VM, Peña-Castro JM, Abad-Zavaleta J 2017. qPCR and HRM-based diagnosis of SNPs on growth differentiation factor 9 (GDF9), a gene associated with sheep (*Ovis aries*) prolificacy. *3 Biotech*. 7 (3): 204.
- Gorlov IF, Kolosov YA, Shirokova NV, Getmantseva LV, Slozhenkina M., Mosolova NI, Zlobina EY 2018. GDF9 gene polymorphism and its association with litter size in two Russian sheep breeds. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*. 29 (1): 61-66.
- Gürsel FE, Akış I, Durak H, Mengi A, Öztapak K 2011. Determination of BMP-15, BMPR-1B and GDF-9 gene mutations of the indigenous sheep breeds in Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 17 (5): 725-729.
- Hanrahan JP, Gregan SM, Mulsant P, Mullen M, Davis GH, Powell R, Galloway SM 2004. Mutations in the genes for oocyte-derived growth factors GDF9 and BMP15 are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (*Ovis Aries*) *Biology of Reproduction*. 70 (4): 900-909.
- Hossain F, Suma SA, Bhuiyan MSA 2020. Association of GDF9 gene polymorphisms with litter size in indigenous sheep of Bangladesh. *Research in Agriculture Livestock and Fisheries*. 7 (2): 283-292.
- Janssens S, Vandepitte W, Bodin L 2004. Genetic parameters for litter size in sheep: natural versus hormone-induced oestrus. *Genetics Selection Evolution*. 36 (5): 1-20.
- Karlı T, Balcıoğlu MS 2010. Türkiye'de yetiştirilen altı yerli koyun ırkında BMPR-1B (Booroola) geninde FecB allel varlığının PCR-RFLP yöntemiyle araştırılması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 16 (6): 1033-1036.
- Karlı T, Sahin E, Karlı BA, Alkan S, Balcıoğlu MS 2012. An investigation of mutations (FecX^G, FecX^I, FecX^H, FecX^B) on BMP-15 gene in some local sheep breeds raised in Turkey. *Akdeniz Üniv. Ziraat Fakültesi Dergisi*. 25 (1): 29-33.
- Kirikci K, Cam MA, Mercan L 2020. Genetic diversity and relationship among indigenous Turkish Karayaka sheep subpopulations. *Archives Animal Breeding*. 63 (2): 269-275.
- Kolosov YA, LV Genmantseva, NV Shirokova, A Klimenko 2015. Polymorphism of the GDF9 Gene in Russian sheep breeds. *Journal of Cytology & Histology*. 6: 01-04.
- Mohamed SEI, Ahmed RM, Jawasreh KI, Salih MAM, Abdelhalim DM, Abdelgadir AW, Ahmed MKA 2019. Genetic polymorphisms of fecundity genes in Watish Sudanese desert sheep. *Veterinary World*. 13 (4): 614-621.
- Moradband F, G Rahimi, M Gholizadeh 2011. Association of Polymorphisms in Fecundity Genes of GDF9, BMP15 and BMP15-1B with litter size in Iranian Baluchi sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 24 (9): 1179-1183.

- Paz E, Quiñones J, Bravo S, Montaldo H, Sepúlveda N 2015. Genotyping of BMP1B, BMP15 and GDF9 genes in Chilean sheep breeds and association with prolificacy. *Animal Genetics*. 46 (1): 98-99.
- Yeh FC, Yang RC, Boyle TB J, Ye ZH, Mao JX 2000. POPGENE 32, Microsoft Windows-based software for population genetic analysis (version 1.32). Edmonton, AB: Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta.
- Safari E, Fogarty, NM, Gilmour, AR 2005. A review of genetic parameter estimates for wool, growth, meat and reproduction traits in sheep. *Livestock Production Science*. 92 (3): 271-289.
- Savas T, Röhe, R, Kalm, E 2000. Schätzung genetischer Parameter für die Fruchtbarkeitsleistung beim Schaf. *Züchtungskunde*, 72: 217-229.
- Vage DI, Husdal M, Kent MP, Klemetsdal G, Boman IA 2013. A missense mutation in growth differentiation factor 9 (GDF9) is strongly associated with litter size in sheep. *BMC Genetics* 14 (1): 1.
- Vatankhah, M, Talebi, MA 2008. Heritability estimates and correlations between production and reproductive traits in Lori-Bakhtiari sheep in Iran. *South African Journal of Animal Science*. 38 (2): 110-118.
- Zamani P, Nadri S, Saffaripour R, Ahmadi A, Dashti F, Abdoli R 2015. A new mutation in exon 2 of the bone morphogenetic protein 15 gene is associated with increase in prolificacy of Mehraban and Lori sheep. *Trop. Anim. Health. Prod.*, 47 (5): 855–860.