Shahid Bahonar University of Kerman
Agricultural Biotechnology Journal
Iranian Biotechnology Society
Print ISSN: 2228-6705 Online ISSN: 2228-6500

The effect of fennel (Foeniculum vulgare) on insulin-like growth factor 1 gene expression in the rumen tissue of Kermani sheep

Mohammadreza Mohammadabadi
*Corresponding Author. Professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail address: mrm@uk.ac.ir
Afrooz Golkar
Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran. E-mail address: a.golkar91@gmail.com
Majid Askari-Hesni
Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail address: mahesni@uk.ac.ir
Amin Khezri
Associate Professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail address: akhezri@uk.ac.ir

Abstract

Objective

Fennel (Foeniculum vulgare mill) from the Apiaceae family is one of the most important medicinal plants that has strong antimicrobial, liver protective and antioxidant properties and has been used by humans since ancient times. The results of various studies on domestic animals have proven that adding the fennel in the diet of animals, increases digestion and growth efficiency, improves the oxidative quality of meat, increases the volume of cell packing, increases the number of red blood cells and hemoglobin. It improves carcass efficiency and small intestine weight and length and reduces total bacterial counts, improves performance and health status, and improves feed conversion and body weight. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of fennel feeding (Foeniculum vulgare) on IGF1 gene expression in the rumen tissue of Kermani lambs.

Materials and methods

In this research, 30 Kermani male lambs weighing 27.5 ± 0.45 kg (eight months old) were used. Diets were grouped into three fennel levels based on g/kg dry matter (0, 10 or 1% and 20 or 2% fennel g/kg dry matter). After the end of the study period, the investigated animals were slaughtered for sampling and the rumen weight was recorded. Total RNA was extracted from the

rumen tissue and then cDNA was synthesized. The quality of RNA and cDNA was measured using electrophoresis on agarose gel. The Pfaffl et al. (2002) method was used to analyze the real time PCR data.

Results

Empty rumen weight in animals fed with fennel (780 g) was lower than animals fed with diet without fennel (890 g) ($P < 0.05$). The extracted total RNA was of good quality, complete, and healthy, and had two bands with sizes of S28 and S18. Electrophoresis of the amplification results of target (IGF1) and reference (GAPDH) genes in rumen tissue on agarose gel showed that the band size for the target gene is 265 bp and for the reference gene is 76 bp. By increasing the level of feeding with fennel, there was a significant increase in IGF1 gene proliferation in rumen tissue ($p<0.05$). The maximum expression of IGF1 gene was when the animals were fed with a diet containing 2% fennel.

Conclusions

The findings of the present study show that fennel can be used with a beneficial effect on IGF1 gene expression in the rumen in the diet of sheep to improve functions of this tissue. Although according to the findings of the current research and other studies, it can be confirmed that fennel can be used for productive and reproductive purposes in sheep breeding, but in future research, in order to reach a definite result, it is better to consider diverse and more complex physiological and epigenetic conditions.

Key words: Fennel, gene expression, IGF1, sheep

Paper Type: Research Paper.

Citation: Mohammadabadi M, Golkar A, Askari Hesni M (2023) The effect of fennel (Foeniculum vulgare) on insulin-like growth factor 1 gene expression in the rumen tissue of Kermani sheep. *Agricultural Biotechnology Journal* 15 (4), 239-256.

Agricultural Biotechnology Journal 15 (4), 239-256. DOI: 10.22103/jab.2023.22647.1530

Received: October 08, 2023. Received in revised form: November 25, 2023.

Accepted: November 26, 2023. Published online: December 30, 2023.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.

© the authors

مجله بیوتکنولوژی کشاورزی
شاپا چاپی: ۶۷۰۵-۲۲۲۸ شاپا الکترونیکی: ۶۵۰۰-۲۲۲۸

اثر رازیانه (Foeniculum vulgare) بر بیان ژن فاکتور ۱ رشد شبه انسولین در بافت شکمبه گوسفند کرمانی

محمدرضا محمدآبادی

*نویسنده مسئول: استاد بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران. تلفن: ۰۹۱۳۳۹۸۷۵۳۴، ایمیل: mrm@uk.ac.ir

افروز گلکار

دانش آموخته بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران. ایمیل: a.golkar91@gmail.com

مجید عسکری حصنی

دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. ایمیل: mahesni@uk.ac.ir

امین خضری

دانشیار، بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران. تلفن: ۰۹۱۳۳۹۸۷۵۳۴، ایمیل: akhezri@uk.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۱۶ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۲/۰۹/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۰۵

چکیده

هدف: یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی که دارای خواص ضد میکروبی است، از کبد محافظت می‌کند و آنتی اکسیدانی بسیار قوی است و از زمان‌های بسیار قدیم مورد استفاده انسان قرار گرفته است رازیانه (Foeniculum vulgare mill) از خانواده Apiaceae است. نتایج مطالعات مختلف بر روی حیوانات اهلی ثابت کرده است که افزودن رازیانه در جیره غذایی حیوانات باعث افزایش هضم و بازده رشد می‌شود، کیفیت اکسیداتیو گوشت را بهبود می‌بخشد، حجم سلول‌های بسته‌بندی شده (volume of packed cells) را زیاد می‌کند، تعداد گلبول‌های قرمز خون و هموگلوبین را افزایش می‌دهد، کارایی لاشه و وزن و طول روده کوچک را بهتر می‌کند و تعداد کل باکتری‌ها را کاهش می‌دهد، کارایی و وضعیت سلامت بهتری را ایجاد می‌کند، و تبدیل خوراک و وزن بدن را بهبود می‌بخشد. لذا، هدف از این مطالعه بررسی تأثیر تغذیه رازیانه (Foeniculum vulgare) بر بیان ژن IGF1 در بافت شکمبه بره‌های کرمانی بود.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق از ۳۰ راس بره نر از نژاد کرمانی با وزن ۰/۴۵ ± ۲۷/۵ کیلوگرم (هشت ماهه) استفاده شد. جیره‌ها به ۳ سطح رازیانه بر اساس گرم در کیلوگرم ماده خشک (DM) (۰، ۱۰ یا ۱٪ و ۲۰ یا ۲٪ رازیانه گرم بر کیلوگرم ماده خشک) گروه‌بندی شدند. پس از پایان دوره مطالعه، حیوانات مورد بررسی برای نمونه برداری ذبح شدند و وزن شکمبه ثبت شد. RNA کل از بافت شکمبه استخراج شد و سپس cDNA سنتز شد. کیفیت RNA و cDNA با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز اندازه گیری شد. از روش Pfaffl et al. (2002) برای تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از real time PCR استفاده شد.

نتایج: وزن شکمبه خالی در حیوانات تغذیه شده با رازیانه (۷۸۰ گرم)، کمتر از حیواناتی بود که با رژیم غذایی بدون رازیانه (۸۹۰ گرم) تغذیه شده بودند ($P < 0.05$). RNA کل استخراج شده دارای کیفیت مطلوب، کامل، سالم و دارای دو باند با اندازه‌های ۲۸S و ۱۸S بود. الکتروفورز نتایج تکثیر ژن‌های هدف (IGF1) و مرجع (GAPDH) در بافت شکمبه روی ژل آگارز نشان داد که اندازه باند برای ژن هدف ۲۶۵ جفت باز و برای ژن مرجع ۷۶ جفت باز است. با افزایش سطح تغذیه با رازیانه میزان بیان ژن IGF1 در بافت شکمبه افزایش معنی داری ($p<0.05$) پیدا کرد. حداکثر بیان ژن IGF1 زمانی بود که حیوانات با جیره دارای سطح ۲ درصد رازیانه تغذیه شدند.

نتیجه‌گیری: یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که رازیانه می‌تواند با تأثیر مفید بر بیان ژن IGF1 در شکمبه در جیره گوسفندان برای بهبود عملکرد این بافت استفاده شود. اگرچه با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر و سایر پژوهش‌ها می‌توان تأیید کرد که رازیانه می‌تواند برای اهداف تولیدی و تولیدمثلی در پرورش گوسفند استفاده شود، اما در تحقیقات آتی، به منظور دستیابی به یک نتیجه قطعی بهتر است شرایط فیزیولوژیکی و اپی‌ژنتیکی متنوع و پیچیده تری در نظر گرفته شود.

کلمات کلیدی: رازیانه، بیان ژن، IGF1، گوسفند

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: محمدآبادی محمدرضا، گلکار افروز، عسکری حصنی مجید (۱۴۰۲) اثر رازیانه (Foeniculum vulgare) بر بیان ژن فاکتور ۱ رشد شبه انسولین در بافت شکمبه گوسفند کرمانی. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۵(۴)، ۲۳۹-۲۵۶.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.

© the authors

مقدمه

یکی از جایگزین‌های آنتی بیوتیک‌ها در تغذیه دام، به عنوان محرک‌های رشد ضد میکروبی طبیعی، استفاده از فیتوبیوتیک‌ها و گیاهان دارویی است. جایگزینی ترکیبات فیتوژنیک (فیتوبیوتیک‌ها و گیاهان دارویی)، از جمله اسانس‌ها، آلکالوئیدها و فلاونوئیدها،

مزایای بسیاری دارد (Jafari Ahmadabadi et al. 2023). بعضی از این مزیت‌ها عبارتند از پیشگیری از بیماری‌های خاص، افزایش عملکرد ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی، بهبود فعالیت‌های کبدی، بهبود آنزیم‌های مربوط به هضم، افزایش معیارهای تولید زئوتکنیکی، و اثرات هیپوکلسترولمی (Hernandes et al. 2004; Aćimović et al. 2016; Hajalizadeh et al. 2019). نشان داده شده که افزودن فیتوبیوتیک‌ها و گیاهان دارویی به جیره دام و طیور باعث بهبود مصرف خوراک، عملکرد لاشه و ضریب تبدیل غذایی می‌شود (Abdullah and Rabia 2009). یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی که دارای خواص ضد میکروبی، محافظ کبد و آنتی اکسیدانی بسیار قوی بوده و از زمان‌های بسیار قدیم مورد استفاده انسان قرار گرفته است رازیانه (Foeniculum vulgare mill) از خانواده Apiaceae است (Shahsavari et al. 2022). نتایج مطالعات مختلف بر روی حیوانات اهلی ثابت کرده است که افزودن رازیانه در جیره غذایی آنها باعث افزایش هضم و بازده رشد می‌شود، کیفیت اکسیداتیو گوشت را بهبود می‌بخشد، حجم بسته‌بندی سلولی را زیاد می‌کند، تعداد گلبول‌های قرمز خون و هموگلوبین را افزایش می‌دهد، کارایی لاشه و وزن و طول روده کوچک را بهتر می‌کند و تعداد کل باکتری‌ها را کاهش می‌دهد، کارایی و وضعیت سلامت بهتری را ایجاد می‌کند، و تبدیل خوراک و وزن بدن را بهبود می‌بخشد (Mohammed and Abbas 2009; Gharaghani et al. 2013; Saki et al. 2014; Aćimović et al. 2016;). مطالعات تکاملی نشان داده است که فرآیندهای تولید مثل، رشد و متابولیسم ارتباط بسیار نزدیکی دارند. به عبارت دیگر، ارگانیسم‌ها باید ابتدا به بلوغ کامل برسند تا به سطح مطلوب متابولیسم برسند تا بارور شوند (Neirijnck et al. 2019). به دلیل ارتباط مستقیم مسیرها و شبکه‌های سیگنالینگ و تنظیمی معمولا، رشد، تولیدمثل و متابولیسم به هم مرتبط هستند (Hansen et al. 2013). خانواده فاکتورهای رشد شبه انسولین (IGF)، یا سیستم insulin/IGF، بر تمام اندام‌های بدن تأثیر می‌گذارد و رشد، تولید مثل، تمایز، تکثیر و متابولیسم سلولی را تنظیم می‌کند. اجزای این سیستم با شرکت در فرآیندهای مختلف بیوشیمیایی، سه مسیر فرآیندهای متابولیکی، تولیدمثلی و میتوژنیک را به هم متصل می‌کنند (Kaprara and Huhtaniemi 2018). عوامل مختلفی مانند بیوسنتز لیگاند، مرحله رشد، تغذیه و فعل و انفعالات هورمونی بر فعالیت انسولین، IGF1 و IGF2 تأثیر می‌گذارند و این عوامل باید با یکدیگر هماهنگ شوند (Safaei et al. 2023). یکی از عوامل اصلی و تأثیرگذار در رشد و عملکرد صحیح شکمبه، سیستم IGF است (Akbari et al. 2019). اگر چه محور هیپوتالاموس–هیپوفیز–گناد توانایی فرد برای تولید مثل را تنظیم می‌کند (Roth and Amory 2011). وقتی ژن IGF1 در جانوران جوان غیرفعال می‌شود، آنها می‌توانند کوتوله و نابارور شوند و سطح سرمی تستوسترون و تولید اسپرم آنها می‌تواند بیش از ۸۰ درصد کاهش یابد. رشد پس از تولد، حفظ عملکرد تولید مثل، رشد کلی بدن و تنظیم اندازه بدن از جمله نقش‌های IGF1 است. تولید IGF1 در هر بافتی (علاوه بر تولید آن در کبد) بسیار مهم است، زیرا نشان دهنده یک وظیفه اصلی در روند رشد آن بافت است (Stratikopoulos et al. 2008). در مقایسه با انسولین یا IGF2، نقش IGF1 در رشد پس از تولد بیشتر و مهم‌تر است (Dupont and Holzenberger 2003). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که فعالیت طبیعی IGF1 و گیرنده‌های آن برای رشد موجودات ضروری است (Wit et al. 2011; Wit and Walenkamp 2013). شکمبه یک اندام ضروری در نشخوارکنندگان است زیرا نقش مهمی در متابولیسم، جذب و

حمل و نقل مواد مغذی دارد (Roh et al. 2007; Roh et al. 2016). رشد پاپیلاهای شکمبه باعث افزایش سطح شکمبه و جذب اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه یا SCFAs (اسید استیک، اسید پروپیونیک و اسید بوتیریک و غیره) می‌شود. بنابراین، درک مکانیسم‌های اثر ژن‌های مختلف بر رشد پاپیلاهای شکمبه و سلول‌های اپیتلیال شکمبه برای ابداع استراتژی‌هایی برای بهبود بهره‌وری نشخوارکنندگان مهم است (Nishihara et al. 2020). شش ایزوفرم پروتئین متصل شونده به فاکتور رشد شبه انسولین برای تنظیم تکثیر و تمایز سلول‌های اپیتلیال در برخی بافت‌ها با کنترل فعالیت فاکتور رشد شبه انسولین ۱ (IGF1) یا فاکتور رشد شبه انسولین ۲ (IGF2) شناخته شده است (Firth and Baxter 2002). به عنوان مثال، IGFBP4 در روده کوچک موش به IGF1متصل شده و از اتصال IGF1 به گیرنده‌های آن و تکثیر سلولی جلوگیری می‌کند (Austin et al. 2015)، یا IGFBP2 از تکثیر سلولی در فیبروبلاست‌های کلیه جنینی انسان و روده کوچک جلوگیری می‌کند (Hoflich et al. 1998). نشان داده شده که IGFBP3 تکثیر سلول‌های ماهیچه صاف شریان ریوی را مهار می‌کند (Cheng et al. 2017) و IGFBP6 از تکثیر میوبلاست موش صحرایی جلوگیری می‌کند و IGFBP5 به ماتریکس خارج سلولی متصل شده و اثرات IGF1 را ارتقا می‌دهد (Nishihara et al. 2020). برخی از مطالعات نشان می‌دهد که IGFBP تکثیر سلولی در سلول‌های اپیتلیال شکمبه را کنترل می‌کند. ثابت شده که سطوح بیان mRNAی IGFBP3 و IGFBP6 در گاوهای هلشتاین غیر شیرده توسط اسیدوز تحت حاد شکمبه‌ای ناشی از دانه که غلظت لاکتات و لیپوپلی‌ساکارید (LPS) شکمبه را افزایش می‌دهد و باعث آسیب به سلول‌های اپیتلیال شکمبه می‌شود تنظیم می‌شود (Gozho et al. 2005; Steele et al. 2011; Kumar et al. 2015). به نظر می‌رسد که بیان IGFBP شکمبه زمانی تنظیم می‌شود که سلول‌های اپیتلیال شکمبه باید برای بازیابی از سلول‌های آسیب دیده تقسیم شوند. با استفاده از تجزیه و تحلیل مقایسه ای رونوشت پاپیلای شکمبه در گوساله‌های شیرده و از شیر گرفته، نشان داده شده که سطح بیان ژن‌های IGFBP2، IGFBP3 و IGFBP6 در پاپیلای شکمبه گوساله‌های از شیر گرفته شده نسبت به گوساله‌های شیرخوار کمتر بود. با این حال، تفاوتی در بیانIGFBP1، IGFBP4، و IGFBP5 وجود نداشت (Nishihara et al. 2018). علاوه بر این، طول پاپیلاهای شکمبه و بیان ژن‌های IGFBP2، IGFBP3، و IGFBP6 همبستگی منفی وجود داشته است (Nishihara et al. 2019). این یافته‌ها نشان می‌دهند که بیان کم IGFBP2، IGFBP3 و IGFBP6 ممکن است تکثیر سلول‌های اپیتلیال شکمبه را تقویت کند و بیان این ژن‌ها ممکن است توسط غلظتSCFA ، pH، متابولیت‌های شکمبه مانند لاکتات و مولکول‌های مشتق شده از باکتری‌های شکمبه مانند LPS تنظیم شود. با توجه به شرایط اجتماعی و اقتصادی مناطق گرم، خشک و بیابانی، امرار معاش بخش بزرگی از جمعیت این مناطق توسط نژادهای بومی نشخوارکنندگان کوچک به ویژه گوسفند تامین می‌شود (Barazandeh et al. 2016a; Saadatabadi et al. 2023). بنابراین، تلاش برای بهبود تولید این حیوانات از طریق بهبود کمی و کیفی و بهبود رشد ژنتیکی بسیار مهم است (Barazandeh et al. 2016b). این بهبود عملکرد در گله‌های گوسفند معمولاً از طریق بهبود عملکرد و تولید مثل حاصل می‌شود (Mohammadabadi 2016). حدود بیست و هفت نژاد و اکوتیپ گوسفند در

ایران وجود دارد که در مجموع بیش از ۵۰ میلیون رأس را شامل می‌شود (Safaei et al. 2022). یکی از مهم‌ترین و معروف‌ترین گوسفندان ایرانی، گوسفند کرمانی است (Amirteymoori et al. 2021). این حیوان کاملاً با شرایط گرم، خشک و نامساعد منطقه جنوب شرقی ایران که زیستگاه اصلی آن است و دارای پوشش گیاهی و مرتعی ضعیف و ناپایدار است، سازگاری دارد (Vahabzadeh et al. 2020). این گوسفند از نژادهای دو منظوره (گوشتی و پشمی) و دم چاق است که دارای پشم سفید و جثه متوسط است و بیشترین نیازهای زندگی عشایر و دامداران را تامین می‌کند (Vahabzadeh et al. 2021). بنابراین توجه به پرورش این گوسفند برای توسعه و بهبود صفات فنوتیپی و ژنتیکی آن اثرات مثبتی بر نیازهای این نژاد خواهد داشت (Mohammadinejad et al. 2022). بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی تأثیر تغذیه رازیانه بر بیان ژن IGF1 در بافت شکمبه بره‌های کرمانی بود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۳۰ راس بره نر از نژاد کرمانی با وزن ۰/۴۵ ± ۲۷/۵ کیلوگرم (هشت ماهه) استفاده شد. واکسیناسیون تمام حیوانات با استفاده از واکسن‌های استاندارد قبل از شروع آزمایش انجام شد. حیوانات به غذا و آب دسترسی آزاد داشتند و محل انجام پژوهش در ایستگاه آموزشی و تحقیقاتی علوم دامی دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شد. حیوانات دو بار در روز با جیره مشابه از نظر پروتئین و انرژی تغذیه شدند (Hajalizadeh et al. 2019). جیره‌ها به ۳ سطح رازیانه بر اساس گرم در کیلوگرم ماده خشک (۰، ۱۰ یا ۱٪ و ۲۰ یا ۲٪ رازیانه گرم بر کیلوگرم ماده خشک) گروه‌بندی شدند. فرمول شیمیایی رازیانه اضافه شده به جیره ۹۱ درصد ماده خشک، ۱۵ درصد پروتئین خام، ۸۷/۰۳ درصد ماده آلی، ۹/۷۶ درصد عصاره اتری و ۱۲/۱۲ مگاژول بر کیلوگرم انرژی قابل سوخت و ساز بود. پس از پایان دوره مطالعه (۱۴ روز دوره سازگاری و ۹۰ روز دوره انجام آزمایش)، حیوانات مورد بررسی برای نمونه برداری ذبح شدند و وزن شکمبه ثبت شد. نمونه‌برداری (۹۰ نمونه شامل ۱۰ حیوان × ۳ گروه × ۳ تکرار برای بافت) از بافت شکمبه انجام شد. قبل از نگهداری نمونه‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد، آنها به سرعت در نیتروژن مایع قرار گرفتند. RNA کل از بافت شکمبه با استفاده از کیت step-RNA Reagent (شرکت بیوبیسیک، نمایندگی ایران) استخراج شد و سپس cDNA با استفاده از کیت‌های معمول (شرکت فرمنتاز، نمایندگی ایران) سنتز شد. کیفیت RNA و cDNA با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز اندازه گیری شد. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر دو ژن هدف (IGF1) و مرجع (GAPDH) عبارت بودند از: برای ژن هدف پرایمر فوروارد 5'-ATTACAGCTGCCTGCCCCTT-3' و ریورس 5'-CACATCTGCTTACACCTTACCCG-3' (شماره دسترسی NM_001009774.3، اندازه محصول 265 bp و دمای ذوب ۵۷ درجه سانتیگراد) و برای ژن مرجع پرایمر فوروارد 5'-ACCACTTTGGCATCGTGGAG-3' و ریورس 5'- GGCCATCCACAGTCTTCTG-3' (شماره دسترسی NM_001190390.1، اندازه محصول 76 bp و دمای ذوب ۵۷ درجه سانتیگراد). حجم نهایی واکنش real-time PCR برابر ۱۵ میکرولیتر بود. ساخت آغازگرها به وسیله شرکت تکاپوزیست (ایران) انجام شد. حجم مخلوط واکنش PCR شامل ۱/۵ میکرولیتر cDNA الگو، ۰/۵ میکرولیتر آغازگر رفت، ۰/۵ میکرولیتر آغازگر

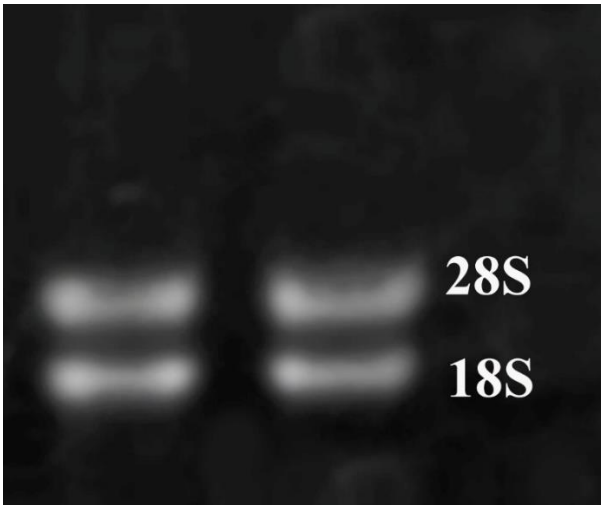
برگشت، ۰/۳ میکرولیتر ROX، ۷/۵ میکرولیتر SYBRPermixTaq II و ۴/۷ میکرولیتر آب دو بار تقطیر بود. پس از خوب مخلوط کردن محتویات میکروتیوب‌ها با اسپین کردن، در دستگاه روتور ژن ۳۰۰۰ قرار گرفتند. شرایط انجام PCR به صورت زیر بود: واسرشت اولیه در ۹۵ درجه سانتیگراد برای ۵ دقیقه (برای فعال‌سازی پلیمراز و واسرشت اولیه)، واسرشت ثانویه ۹۵ درجه سانتیگراد ۲۰ ثانیه، اتصال و سنتز ۵۷ درجه سانتیگراد ۳۰ ثانیه، با ۳۷ سیکل. منحنی‌های ذوب بررسی شدند. از روش Pfaffl et al. (2002) برای تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از real time PCR استفاده شد. داده‌های به دست آمده از این تحقیق به روش میکس در قالب طرح کاملا تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند (Pfaffl et al. 2002). برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون least significant differences استفاده شد.

نتایج و بحث

وزن شکمبه خالی در حیوانات تغذیه شده با رازیانه (۷۸۰ گرم)، کمتر از حیواناتی بود که با رژیم غذایی بدون رازیانه (۸۹۰ گرم) تغذیه شده بودند ($P < 0.05$). اگرچه این تفاوت برای وزن شکمبه پر معنی دار نبود (۴۲۶۰ گرم در حیوانات تغذیه شده با رازیانه، در مقابل ۵۱۰۰ گرم در حیوانات تغذیه شده بدون رازیانه). این نتایج با نتایج پژوهشگران دیگر (Chao et al. 2000; Kamra et al. 2006; Patra et al. 2010) همخوانی داشت. این کاهش در شکمبه خالی احتمالاً به دلیل اجزای فعال دانه رازیانه و اثر ضد میکروبی آنها بر میکروارگانیسم‌های شکمبه است (Kamra et al. 2006). در پژوهشی Patra et al. (2010) نشان دادند که عصاره‌های اتانولی و متانولی دانه رازیانه پتانسیل مهار متانوژنز شکمبه را دارند، بدون این‌که بر تخمیر شکمبه تأثیر منفی بگذارند. با این حال، Chao et al. (2000) گزارش کرده‌اند که اسانس‌ها دارای خواص ضد میکروبی در برابر طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها، از جمله باکتری‌ها، تک‌یاخته‌ها و قارچ‌ها هستند. همان طور که در شکل ۱ مشخص است RNA کل استخراج شده دارای کیفیت مطلوب، کامل، سالم و دارای دو باند با اندازه‌های ۲۸S و ۱۸S است.

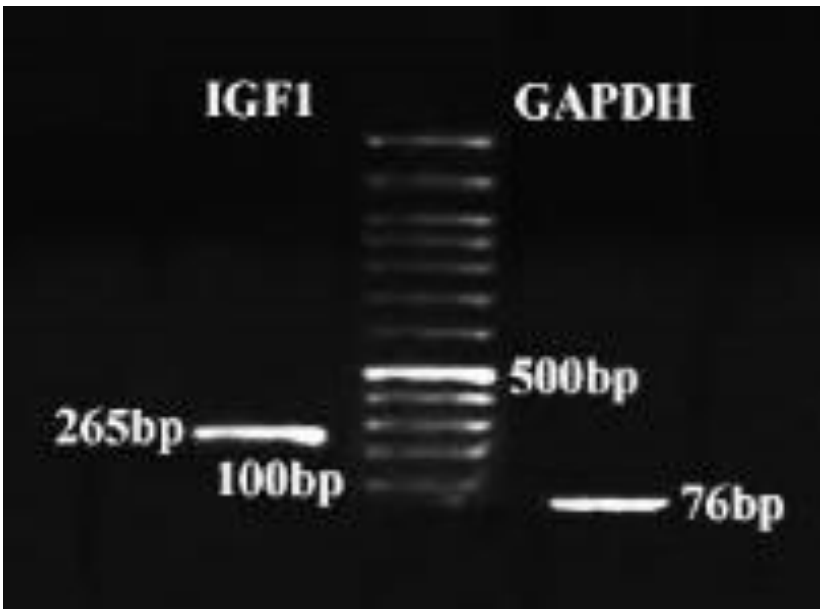
الکتروفورز نتایج تکثیر ژن‌های هدف (IGF1) و مرجع (GAPDH) در بافت شکمبه روی ژل آگارز نشان داد که اندازه باند برای ژن هدف ۲۶۵ جفت باز و برای ژن مرجع ۷۶ جفت باز است. این نتایج تایید کرد که قطعات به طور صحیح تکثیر شده‌اند و نتایج آزمایش PCR معتبر است (شکل ۲).

شکل ۳ اطلاعات مربوط به منحنی تکثیر ژن IGF1 در شکمبه را نشان می‌دهد. طبق شکل مشخص است که نمونه‌های تیمار شده با رازیانه نسبت به گروه شاهد (فاقد رازیانه) در سیکل پایین‌تری تکثیرشان شروع شده است. میانگین سیکل آستانه (Ct) برای IGF1 از ۲۲ تا ۲۵ در بافت شکمبه متفاوت بود که نشان دهنده سطح بالای فراوانی رونوشت برای IGF1 در این بافت است. اگرچه عوامل دیگری مانند مقدار cDNA، تنظیمات ابزار و عملکرد real-time PCR نیز بر میانگین مقدار آستانه سیکل (Ct) تأثیر می‌گذارند (Radonic et al. 2004).



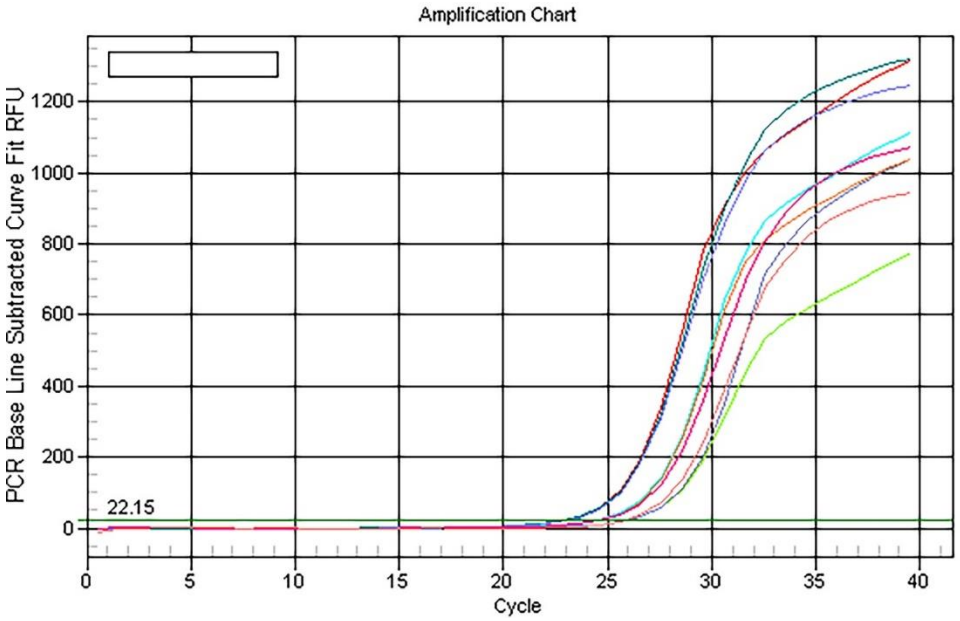
شکل ۱. نتایج الکتروفورز دو نمونه از RNA کل استخراج شده از بافت شکمبه گوسفند کرمانی روی ژل آگارز ۱ درصد

Figure 1. Results of electrophoresis of two samples of total RNA extracted from rumen tissue of Kermani sheep on 1% agarose gel



شکل ۲. الکتروفورز نتایج تکثیر ژن‌های هدف (IGF1) و مرجع (GAPDH) در بافت شکمبه روی ژل آگارز در گوسفند کرمانی

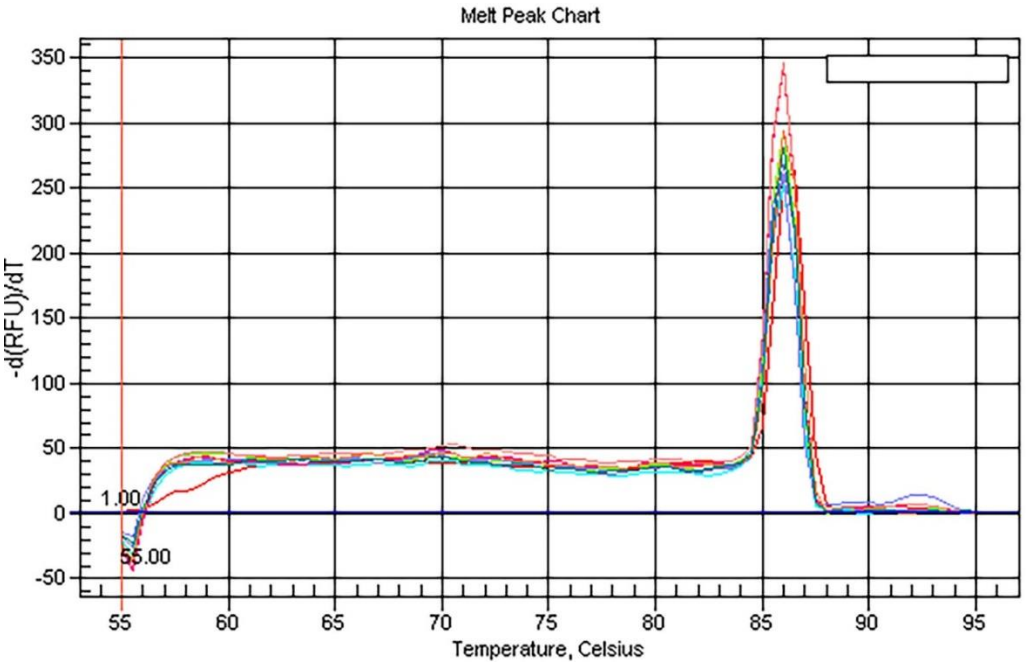
Figure 2. Electrophoresis of amplification results of target (IGF1) and reference (GAPDH) genes in rumen tissue on agarose gel in Kermani sheep



شکل ۳. منحنی تکثیر ژن IGF1 در بافت شکمبه گوسفند کرمانی

Figure 3. IGF1 gene amplification curve in the rumen tissue of Kermani sheep

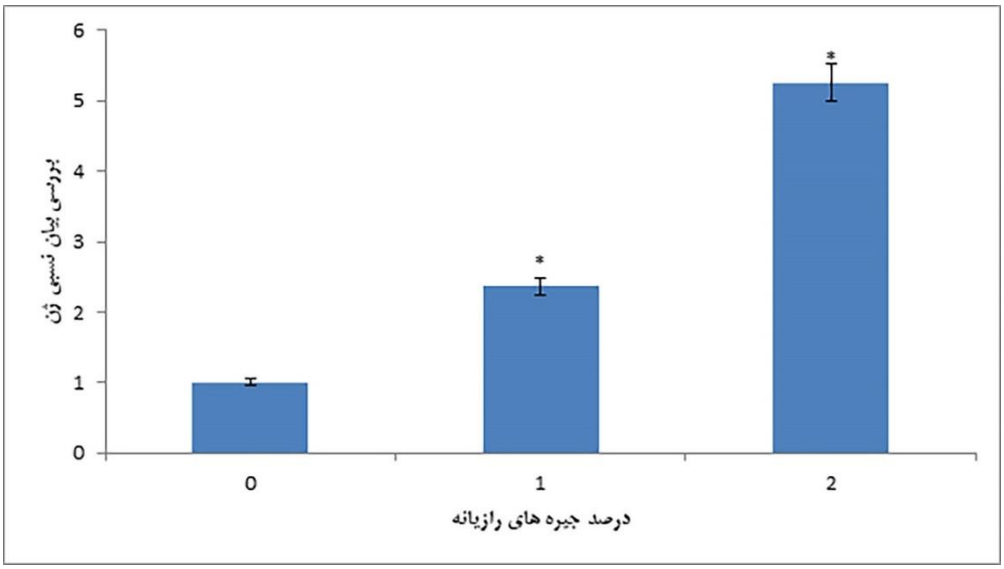
نتایج به دست آمده از منحنی ذوب ژن IGF1 نشان داد که منحنی تنها یک پیک در دمای ۸۶ درجه سانتی گراد تولید می‌کند (شکل ۴). این نتیجه نشان دهنده تولید یک محصول خاص در این واکنش است.



شکل ٤. منحنی ذوب ژن IGF1 در بافت شکمبه گوسفند کرمانی

Figure 4. Melting curve of IGF1 gene in the rumen tissue of Kermani sheep

با افزایش سطح تغذیه با رازیانه میزان تکثیر ژن IGF1 در بافت شکمبه افزایش معنی داری ($p<0.05$) پیدا کرد. حداکثر بیان ژن تغذیه با سطح ۲ درصد رازیانه بود (شکل ۵). در تایید نتایج ما، مطالعات مختلف نشان داد که ژن IGF1 در بافت شکمبه گوسفند و گاو بیان می‌شود (Akbari et al. 2019; Hajalizadeh et al. 2019; Nishihara et al. 2018, 2019, 2020). در پژوهش‌های مختلف نشان داده شده که مصرف غذاهای مختلف و شکل فیزیکی آنها می‌تواند بیان IGFها را افزایش داده و تقویت سلول‌های اپیتلیال و رشد عضلات دستگاه گوارش را تعدیل کند (Shen 2005; Flaga et al. 2009; Flaga et al. 2011). در پژوهشی دیگر ثابت شده که افزودن دگزامتازون به یک فرمول ایزوانرژیک مبتنی بر شیر باعث افزایش سطح mRNAی IGF1 در مری، شکمبه، ژژونوم و روده بزرگ می‌شود، در حالی که سطح IGF1 را در مری، فوندوس، اثنی عشر و ایلئوم در گوساله‌های ۵ روزه تغذیه شده با آغوز کاهش می‌دهد (Ontsouka et al. 2004). این محققان به این نتیجه رسیدند که استفاده از جیره‌های مختلف بر بیان ژن اجزای محور سوماتوتروپیک در دستگاه گوارش گوساله‌های نوزاد تأثیر می‌گذارد.



شکل ۵. اثر تغذیه رازیانه بر بیان ژن IGF1 در بافت شکمبه (تیمارهایی که با * مشخص شده اند، تفاوت معنی‌داری ($p<0.05$) نسبت به کنترل دارند)

Figure 5. The effect of fennel feeding on the expression of IGF1 gene in the rumen tissue (the treatments marked with * have a significant difference ($p<0.05$) compared to the control)

در پژوهشی Nishihara et al. (2020) اثر مستقیم IGFBP را بر تکثیر سلول‌های اپیتلیال شکمبه گاو بررسی کردند. آن‌ها نشان دادند که IGFBP به IGF1 یا IGF2 متصل می‌شود و از اتصال آن‌ها به گیرنده‌های خود جلوگیری می‌کند. در نتیجه، IGFBP می‌تواند نقش IGF1 و IGF2 را مهار کند و تکثیر و تمایز سلولی را در بسیاری از بافت‌ها تسهیل کند. بنابراین، ممکن

است IGFBP از تکثیر سلول‌های اپیتلیال شکمبه گاو جلوگیری کند. نتایج آن‌ها نشان داد که IGFBP2 به طور غیر مستقیم از تکثیر سلول‌های اپیتلیال شکمبه گاو با مهار عملکرد IGF1 جلوگیری می‌کند . در پژوهشی .Cheng et al (2012) تغییرات تکاملی بیان mRNA ژن گیرنده هورمون رشد (GHR) وIGF1 در بافت شکمبه بره‌ها را با روش PCR کمی (RT-PCR) در زمان واقعی مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها نشان دادند که فراوانی بیان mRNA ژن GHR و IGF1 در زمان تولد در بافت شکمبه بره بالا بود. البته، هیچ تغییر معنی‌داری ($P>0.05$) در ۷-۰ روزگی برای این ژن‌ها و در ۰ تا ۱۴ روزگی برای IGF1 مشاهده نشد. سپس کاهش قابل توجهی شروع شد ($P<0.05$). پس از آن، یک افزایش کوچک از ۲۸ روزگی تا ۳۵ روزگی (برای mRNA ژن IGF1 از ۲۱ روزگی تا ۳۵ روزگی) ظاهر شد. بعد از این مرحله، کاهش یافت و کمترین آن در سن ۴۹ روزگی رخ داد و پس از آن افزایش یافت. آنها گزارش کردند که به طور کلی، روند تغییر تکاملی mRNA ژن GHR و IGF1 در بافت شکمبه بره از بدو تولد تا سن ۵۶ روزگی مشابه است، که در طول ۰ تا ۴۹ روزگی کاهش یافت و در طول ۴۹ تا ۵۶ روزگی افزایش یافت. آن‌ها همبستگی خطی مثبتی بین بیان mRNA ژن GHR و IGF1 گزارش کردند. آن‌ها بیان mRNAی GHR و IGF1 را در بافت شکمبه بره شناسایی کردند و نشان دادند که فراوانی بیان در مجموع با سن بره کاهش می‌یابد. این ممکن است به سطح بیان هورمون رشد در هیپوفیز با افزایش سن پس از تولد حیوان مرتبط باشد (Matteri & Carrol 1997). بسیاری از عوامل موثر بر تنظیم هورمون رشد در بافت، مانند میزان هورمون رشد و پروتئین باند شونده به هورمون رشد (GHBP) محلول در بافت، محتوای GHR در بافت و عوامل محیطی تنظیم کننده مختص بافت هستند (Hull & Harvey 1998). در پژوهش‌هایی .Ilkbahar et al (1995) و .Peng et al (1998) دریافتند که بیان GHR دارای الگوی تکاملی خاصی است، در عین حال تفاوت‌های بین گونه‌ای و ویژگی بافتی، صرف نظر از نوع حیوان وجود دارد. همچنین .Schnoebelen-Combes et al (1996) دریافتند که تغییرات تکاملی بیان GHRنه تنها بافت خاص را نشان می‌دهد، بلکه تفاوت‌های مختلف را بین حیوانات نشان می‌دهد. نتایج بسیاری از مطالعات نشان داده است که IGF1 بقا و طول عمر سلول‌ها را افزایش می‌دهد، و نشان می‌دهد که IGF1 ممکن است برای سرکوب پیری زودرس سلولی و بهبود بیماری‌ها استفاده شود (Kasprzak and Adamek 2012; de Ostrovich et al. 2008; Suh et al. 2008). علاوه بر این، Adamek and Kasprzak (2018) نشان داده‌اند که برای جلوگیری از پیری زودرس سلول‌های کبدی، مسیر p53/progerin را می‌توان با بیان بیش از حد IGF1 یا درمان طولانی‌مدت با IGF1 اگزوژن کاهش داد. همچنین .Shahsavari et al (2022) نشان داده‌اند که IGF1 با ژن‌های مختلف از جمله پروتئین متصل شونده به فاکتور رشد شبه انسولین ۴ (IGFBP4)، گیرنده تیروزین-پروتئین کیناز (IGFR1)، پروتئین باند شونده به فاکتور رشد شبه انسولین ۵ (IGFBP5)، پروتئین باند شونده به فاکتور رشد شبه انسولین ۳ (IGFBP3)، پروتئین باند شونده به فاکتور رشد شبه انسولین ۱ (IGFBP1)، گیرنده تیروزین-پروتئین کیناز(INSR) ، فاکتور رشد کبدی(HGF) ، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی A (VEGFA)، گیرنده تیروزین-پروتئین کیناز یا گیرنده مربوط به گیرنده انسولین (INSRR) و پروتئین باند شونده به فاکتور رشد شبه انسولین ۲

(IGFBP2) همکاری و اثر متقابل دارد. جالب توجه است که در میان ژن‌های فوق الذکر، IGFBP4، IGFR1، IGFBP5 و IGFBP3 نزدیک ترین برهمکنش‌ها را با IGF1 دارند. از آنجایی که در این مطالعه گنجاندن رازیانه در جیره باعث افزایش بیان ژن IGF1 در بافت شکمبه شد و از سوی دیگر نقش IGF1 در تحریک سلول‌های شکمبه و رشد و نمو شکمبه می‌توان تأیید کرد که گنجاندن رازیانه در جیره غذایی گوسفندان می‌تواند برای پیشرفت عملکرد شکمبه و تولید گوسفند استفاده شود. با این حال، برای نتیجه‌گیری با اطمینان ۱۰۰٪، لازم است مطالعاتی با دامنه‌ی وسیع‌تری انجام شود.

نتیجه گیری: با مراجعه به یافته‌های مطالعه حاضر می‌توان تأیید کرد که رازیانه با تأثیر مفید بر بیان ژن IGF1 در شکمبه می‌تواند در جیره گوسفندان برای بهبود عملکرد این بافت استفاده شود. اگرچه با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر می‌توان تأیید کرد که رازیانه می‌تواند برای اهداف مختلفی در پرورش گوسفند استفاده شود، اما در تحقیقات آتی، به منظور دستیابی به یک نتیجه قطعی بهتر است شرایط فیزیولوژیکی و اپی‌ژنتیکی متنوع و پیچیده‌تری در نظر گرفته شود.

سپاسگزاری: از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید باهنر کرمان به خاطر حمایت‌های مالی و معنوی در راستای اهداف پژوهشی سپاسگزاری می‌شود.

منابع

جعفری احمدآبادی سید علی اصغر، عسکری‌همت حشمت‌اله، محمدآبادی محمدرضا (۱۴۰۲) تاثیر شاهدانه بر بیان ژن DLK1 در بافت قلب بره‌های کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۵(۱)، ۲۱۷-۲۳۴.

شکری سمیرا، خضری امین، محمدآبادی محمدرضا، خیرالدین حمید (۱۴۰۲) بررسی بیان ژن MYH7 در بافت‌های ران، دست و راسته بره‌های پرواری نژاد کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۵(۲)، ۲۱۷-۲۳۶.

References

Abdullah AM and Rabia JA (2009) The effect of using fennel seeds (Foeniculum vulgare L.) on productive performance of broiler chickens. Int J Poult Sci 8, 642-644.

Aćimović MG, Ljiljana M, Kostadinović NM, et al. (2016) Phytochemical constituents of selected plants from apiaceae family and their biological effects in poultry. Food Feed Res 43, 35-41.

Adamek A, Kasprzak A (2018) Insulin-Like Growth Factor (IGF) System in Liver Diseases. Int J Mol Sci 19, e1308.

Akbari S, Ansari Mahyari S, Mahdavi AH, et al. (2019) Insulin-Like Growth Factor I and II mRNA Levels in Rumen Wall of Calves Fed with Different Physical Forms of Diets. J Agric Sci Technol 21(3), 575-585.

Amirteymoori E, Khezri A, Dayani O, et al. (2021) Effects of linseed processing method (ground versus extruded) and dietary crude protein content on performance, digestibility, ruminal fermentation pattern, and rumen protozoa. Italian J Anim Sci 20(1), 1506-1517.

Austin K, Imam NA, Pintar JE, Brubaker PL (2015) IGF binding protein-4 is required for the growth effects of glucagon-like peptide-2 in murine intestine. Endocrinology 156, 429–436.

Barazandeh A, Mohammadabadi MR, Ghaderi-Zefrehei M, Nezamabadipour H (2016a) Predicting CpG Islands and Their Relationship with Genomic Feature in Cattle by Hidden Markov Model Algorithm. Iran J Appl Anim Sci 6 (3), 571-579 .

Barazandeh A, Mohammadabadi MR, Ghaderi-Zefrehei M, Nezamabadipour H (2016b) Genome-wide analysis of CpG islands in some livestock genomes and their relationship with genomic features. Czech J Anim Sci 61, 487.

Chao SC, Young DG, Oberg CJ (2000) Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. J Essent Oil Res 12, 639-649.

Cheng GS, Zhang YS, Zhang TT, et al. (2017) Bone marrow-derived mesenchymal stem cells modified with IGFBP-3 inhibit the proliferation of pulmonary artery smooth muscle cells. Int J Mol Med 39, 223–230.

Cheng Sh, Li F, Guo J, et al. (2012) Developmental changes of GHR and IGF-I mRNA expression in lamb rumen. Archiv Tierzucht 55(1), 72-77.

de Ostrovich KK, Lambertz I, Colby JKL, et al. (2008) Paracrine overexpression of insulin-like growth factor-1 enhances mammary tumorigenesis in vivo. Am J Pathol 173, 824–834.

Dupont J, Holzenberger M (2003) Biology of insulin-like growth factors in development. Birth Defect Res Part C Embryo Today 69, 257-271.

Firth SM, Baxter RC (2002) Cellular actions of the insulin-like growth factor binding proteins. Endocr Rev 23, 824–854.

Flaga J, Górka P, Kowalski Z, et al. (2009) Effect of Sodium Butyrate Feed Additive in Milk Replacer and/or Starter Mixture on mRNA Expression of IGFI, IGFII and Ghrelin in GIT of Neonatal Calves. In: "Ruminant Physiology", (eds): Chilliard Y, Glasser F, Faulconnier Y, et al., Wageningen Academic Publishers, Wageningen, pp. 178-179.

Flaga J, Górka P, Kowalski Z, et al. (2011) Insulin-like Growth Factors 1 and 2 (IGFI and IGFII) mRNA Levels in Relation to the Gastrointestinal Tract (GIT) Development in Newborn Calves. Pol J Vet Sci 14, 605-613.

Gharaghani H, Shariatmadari F, Torshizi K (2013) Comparison of oxidative quality of meat of chickens feed corn or wheat based diets with fennel (Foeniculum vulgare Mill.), antibiotic

and probiotic as feed additive, under different storage conditions. Archiv Fur Geflugelkunde 77, 199-205.

Gozho GN, Plaizier JC, Krause DO, et al. (2005) Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response. J Dairy Sci 88, 1399–1403.

Hajalizadeh Z, Dayani O, Khezri A, et al. (2019) The effect of adding fennel (Foeniculum vulgare) seed powder to the diet of fattening lambs on performance, carcass characteristics and liver enzymes. Small Rumin Res 175, 72-77.

Hansen M, Flatt T, Aguilaniu H (2013) Reproduction, fat metabolism, and life span: What is the connection? Cell Metabol 17, 10–19.

Hernandes F, Madrid J, Garcia V, et al. (2004) Influence of two plant extract on broiler performance, Digestibility and digestive organ size. Poult Sci 83, 169-174.

Hoflich A, Lahm H, Blum W, et al. (1998) Insulin-like growth factor-binding protein-2 inhibits proliferation of human embryonic kidney fibroblasts and of IGF-responsive colon carcinoma cell lines. FEBS Lett 434, 329–334.

Hull KL, Harvey S (1998) Autoregulation of central and peripheral growth hormone receptor mRNA in domestic fowl. J Endocrinol 156, 323-329.

Ilkbahar YN, Wu K, Thordarson G, Talamantes F (1995) Expression and distribution of messenger ribonucleic acids for growth hormone (GH) receptor and GH-binding protein in mice during pregnancy. Endocrinology 136, 386-392.

Jafari Ahmadabadi SAA, Askari-Hemmat H, Mohammadabadi M, et al. (2023) The effect of Cannabis seed on DLK1 gene expression in heart tissue of Kermani lambs. Agric Biotechnol J 15 (1), 217-234 (In Persian).

Kamra DN, Agarwal N, Chaudhary LC (2006) Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. International Congress Series 1293, 156-163.

Kaprara A, Huhtaniemi IT (2018) The hypothalamus-pituitary-gonad axis: Tales of mice and men. Metabolism 86, 3-17.

Kasprzak A, Adamek A (2012) The insulin-like growth factor (IGF) signaling axis and hepatitis C virus-associated carcinogenesis (review). Int J Oncol 41, 1919-1931.

Kumar KN, Shah VR, Parikh BK, Sonde S (2015) Reversal of severe lactic acidosis with thiamine in a renal allograft recipient. Indian J Crit Care Med 19, 425–428.

Matteri RL, Carroll JA (1997) Somatotroph function in the neonetal pigs. Domest Anim Endocrinol 14, 241-249.

Mohammadabadi MR (2016). Inter-Simple Sequence Repeat Loci associations with predicted breeding values of body weight in Kermani sheep. Genet 3rd Millennium 14, 4383-4390.

Mohammadinejad F, Mohammadabadi M, Roudbari Z, Sadkowski T (2022) Identification of Key Genes and Biological Pathways Associated with Skeletal Muscle Maturation and Hypertrophy in Bos taurus, Ovis aries, and Sus scrofa. Animals 12 (24), 3471.

Mohammed A, Abbas R (2009) The effect of using fennel seeds (Foeniculum vulgare L.) on productive performance of broiler chickens. Int J Poult Sci 8, 642-644.

Neirijnck Y, Papaioannou MD, Nef S (2019) The Insulin/IGF System in Mammalian Sexual Development and Reproduction. Int J Mol Sci 20, e4440.

Nishihara K, Kato D, Suzuki Y, et al. (2018) Comparative transcriptome analysis of rumen papillae in suckling and weaned Japanese Black calves using RNA sequencing. J Anim Sci 96, 2226–2237.

Nishihara K, Suzuki Y, Kim D, Roh S (2019) Growth of rumen papillae in weaned calves is associated with lower expression of insulin-like growth factor-binding proteins 2, 3, and 6. Anim Sci J 90, 1287–1292.

Nishihara K, Suzuki Y, Sanggun R (2020) Ruminal epithelial insulin-like growth factor-binding proteins 2,3, and 6 are associated with epithelial cell proliferation. Anim Sci J 91, e13422.

Ontsouka CE, Sauter SN, Blum JW, et al. (2004) Effects of Colostrum Feeding and Dexamethasone Treatment on mRNA Levels of Insulin-like Growth Factors (IGF)-I and-II, IGF Binding Proteins-2 and-3, and on Receptors for Growth Hormone, IGFI, IGFII, and Insulin in the Gastrointestinal Tract of Neonatal Calves. Domes Anim Endocrinol 26, 155-175.

Patra AK, Kamra DK, Agarwal N (2010) Effects of extracts of spices on rumen fermentation, enzyme activities and fermentation of feeds in vitro. J Sci Food Agric 90, 511-520.

Peng M, Abribat T, Calvo E, et al. (1998) Ontogeny of insulin-like growth factors (IGF), IGFbinding proteins, IGF receptors, and growth hormone receptor mRNA levels in porcine pancreas. J Anim Sci 76, 1178-1188.

Pfaffl MW, Horgan GW, Dempfle L (2002) Relative expression software tool (rest©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. Nucleic Acids Res 30, e36.

Radonic A, Thulke S, Mackay IM, et al. (2004) Guideline to reference gene selection for quantitative real-time PCR. Biochem Biophys Res Commun 313(4), 856–862.

Roh SG, Kuno M, Hishikawa D, et al. (2007) Identification of differentially expressed transcripts in bovine rumen and abomasum using a differential display method. J Anim Sci 85, 395–403.

Roh SG, Suzuki Y, Gotoh T, et al. (2016) Physiological roles of adipokines, hepatokines, and myokines in ruuminants. Asian-Australas J Anim Sci 29, 1–15.

Roth MY, Amory JK (2011) Pharmacologic development of male hormonal contraceptive agents. Clin Pharmacol Ther 89, 133-136.

Saadatabadi LM, Mohammadabadi M, Ghanatsaman ZA, et al. (2023) Data of whole-genome sequencing of Karakul, Zel, and Kermani sheep breeds. BMC Research Notes 16 (1), 1-3

Safaei SMH, Dadpasand M, Mohammadabadi M, et al. (2022) An Origanum majorana Leaf Diet Influences Myogenin Gene Expression, Performance, and Carcass Characteristics in Lambs. Animals 13(1), e14.

Safaei SMH, Mohammadabadi M, Moradi B, et al. (2023) Role of Fennel (Foeniculum vulgare) Seed Powder in Increasing Testosterone and IGF1 Gene Expression in the Testis of Lamb. Gene Expr 4, 1-20.

Saki A, Kalantar M, Rahmatnejad E, Mirza-aghatabar F (2014) Health characteristics and performance of broiler chicks in response to Trigonella foenum graecum and Foeniculum vulgare. Iran J Appl Anim Sci 4, 387–391.

Schnoebelen-Combes S, Louveau I, Postel-Vinay MC, Bonneau M (1996) Ontogeny of GH receptor and GH-binding protein in the pig. J Endocrino 148, 249-255.

Shahsavari M, Mohammadabadi M, Khezri A, et al. (2022) Effect of Fennel (Foeniculum Vulgare) Seed Powder Consumption on Insulin-like Growth Factor 1 Gene Expression in the Liver Tissue of Growing Lambs. Gene Express 21(2), 21-26.

Shen Z (2005) Intraruminal Infusion of Nbutyric Acid Induces an Increase of Ruminal Papillae Size Independent of IGFI System in Castrated Bulls. Arch Anim Nutr 59, 213-225.

Shokri S, Khezri A, Mohammadabadi M, Kheyrodin H (2023). The expression of MYH7 gene in femur, humeral muscle and back muscle tissues of fattening lambs of the Kermani breed. Agric Biotechnol J 15 (2), 217-236 (In Persian).

Steele MA, Croom J, Kahler M, et al. (2011) Bovine rumen epithelium undergoes rapid structural adaptations during grain-induced subacute ruminal acidosis. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 300, R1515–R1523.

Stratikopoulos E, Szabolcs M, Dragatsis I, et al. (2008) The hormonal action of IGF1 in postnatal mouse growth. Proc Nation Acad Sci USA. 105, 19378-19383.

Suh Y, Atzmon G, Cho MO, et al. (2008) Functionally significant insulin-like growth factor I receptor mutations in centenarians. Proc National Acad Sci USA 105, 3438-3442.

Vahabzadeh M, Chamani M, Dayani O, et al. (2020) Effect of Origanum majorana leaf (Sweet marjoram) feeding on lamb's growth, carcass characteristics and blood biochemical parameters. Small Rumin Res 192, e106233.

Vahabzadeh M, Chamani M, Dayani O, et al. (2021) Effects of Sweet Marjoram (Origanum majorana) Powder on Growth Performance, Nutrient Digestibility, Rumen Fermentation, Meat Quality and Humoral Immune Response in Fattening Lambs. Iran J Appl Anim Sci 11(3), 567-576.

Wit JM, Kiess W, Mullis P (2011) Genetic evaluation of short stature. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 25, 1-17.

Wit JM, Walenkamp MJ (2013) Role of insulin-like growth factors in growth, development and feeding. World Rev Nutr Diet 106, 60-65.