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

Effect of zinc-methionine organic and Ca-salt of flaxseed oil supplement on IGF-1 gene expression in liver tissue of fattening male lambs

Mahmood Nazari
*Corresponding author. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal science and Food Technology, Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran. Email address: M.Nazari@asnrukh.ac.ir

Zeinab Alipoor
Ph. D student, Department of Animal Science, Faculty of Animal science and Food Technology, Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran. Email address: zeinabalipoor349@gmail.com

Sepideh Rostami
Ph. D student in Department of Animal Science, Faculty of Animal science and Food Technology, Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran. Email address: s.rostami1585@gmail.com

Ghazal Mohamadi Ahvazi
Ph. D student, Department of Animal Science, Faculty of Animal science and Food Technology, Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran. Email address: 71ghazalm@gmail.com

Abstract

Objective

Zinc is one of the most limiting trace mineral elements required for body growth, structure, hormonal and enzyme activity, nutrient metabolism, cell division, and immune system function. Zinc deficiency has been associated with reduced food intake, stunted growth, and decreased production of IGF-1 in the liver. Zinc plays a key role in the regulation of IGF family gene expression in various tissues and is also effective in desaturating linoleic acid, thereby preventing lipid peroxidation. There is a significant relationship between fat metabolism and zinc. On the other hand, flaxseed oil contains the essential fatty acid alpha-linolenic acid (omega-3), which appears to be related to IGF-1 function in the body. Therefore, this research investigated the effect of adding a zinc-methionine organic supplement to diets with and without the calcium salt of flaxseed oil on IGF-1 gene expression in the liver tissue of fattening lambs.

Materials and Methods

In this research, 44 Arab male lambs were used in a 2 x 2 factorial experiment within a completely randomized design, with four treatments and 11 replications. The four experimental diets were: 1) basic diet without Ca-salt of flaxseed oil supplement and without zinc-methionine supplement (CON), 2) basic diet without Ca-salt of flaxseed oil supplement containing 0.08% zinc-

methionine supplement, 3) basic diet containing 3% Ca-salt of flaxseed oil supplement without zinc-methionine supplement, and 4) basic diet containing 3% Ca-salt of flaxseed oil supplement plus 0.08% zinc-methionine supplement. After the fattening period, three lambs from each treatment were slaughtered, and muscle tissue was transferred to the laboratory with liquid nitrogen. After RNA extraction and quality assessment, cDNA synthesis was performed. The expression of lipogenic genes was evaluated using the Real-time PCR method.

Results

The presence of a single band in the range of 240 base pairs for the IGF-1 gene and 144 base pairs for the GAPDH gene on gel electrophoresis confirmed the accuracy of the test and the correct amplification of the desired fragments by polymerase chain reaction. The presence of a single peak in the melting curves of the IGF-1 and GAPDH genes in the real-time PCR reaction further confirmed the specificity of the produced products. The results showed that the addition of zinc supplements significantly increased the expression of the IGF-1 gene ($P < 0.01$), from 1 to 4.95. Additionally, the calcium salt of flaxseed oil supplement significantly increased IGF-1 gene expression ($P < 0.01$), raising it from 1 to 3.52. The interaction effects of the zinc-methionine supplement and calcium salt flax oil supplement were not significant. Simultaneous addition of the zinc-methionine supplement and the calcium salt flax oil supplement to the diet of fattening lambs increased IGF-1 gene expression in the liver.

Conclusions

The addition of a zinc-methionine organic supplement to diets containing a calcium salt flaxseed oil supplement increases IGF-1 gene expression. Increasing IGF-1 gene expression will likely enhance growth and overall production.

Keywords: flaxseed oil, gene expression, IGF-1, zinc

Paper Type: Research Paper.

Citation: Nazari M, Ali poor Z, Rostami S, Mohamadi Ahvazi G (2025) Effect of zinc-methionine organic and Ca-salt of flaxseed oil supplement on IGF-1 gene expression in liver tissue of fattening male lambs. *Agricultural Biotechnology Journal* 17 (1), 121-140.

Agricultural Biotechnology Journal 17 (1), 121-140 DOI: 10.22103/jab.2025.24414.1632

Received: November 23, 2024. Received in revised form: January 17, 2025.

Accepted: January 18, 2025. Published online: January 30, 2025.

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

تاثیر افزودن مکمل آلی روی-متیونین و مکمل نمک کلسیمی روغن کتان بر بیان ژن IGF-1 در بافت کبد بره‌های نر پرواری

محمود نظری

*نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران. رایانامه: m.nazari@asnrukh.ac.ir

زینب علی پور

دانشجوی دکتری ژنتیک و اصلاح نژاد دام، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران. رایانامه: zeinabalipoor349@gmail.com

سپیده رستمی

دانشجوی دکتری ژنتیک و اصلاح نژاد دام، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران. رایانامه: s.rostami1585@gmail.com

غزال محمدی اهوازی

دانشجوی دکتری ژنتیک و اصلاح نژاد دام، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران. رایانامه: 71ghazalm@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۰۳ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۳/۱۰/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۲۹

چکیده

هدف: عنصر روی یکی از محدودکننده‌ترین ریزعناصر معدنی است که برای رشد بدن، ساختمان و فعالیت هورمونی و آنزیمی، سوخت و ساز مواد مغذی، تقسیم سلولی و سیستم ایمنی مورد نیاز است. مشخص شده که کمبود روی با کاهش مصرف غذا، کاهش رشد و کاهش تولید IGF-1 در کبد همراه است. عنصر روی یکی از عوامل مهم در تنظیم بیان ژن خانواده IGF در بسیاری از بافت‌ها است. همچنین عنصر روی بر غیر اشباع‌سازی اسید لینولئیک موثر است. عنصر روی می‌تواند از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری کند. به طور کلی ارتباط قابل توجهی بین متابولیسم چربی و عنصر روی وجود دارد. از طرف دیگر روغن کتان حاوی اسیدچرب ضروری آلفالینولینک اسید (امگا۳) است که به نظر می‌رسد با عملکردهای IGF-1 در بدن مرتبط باشد. لذا در این پژوهش تاثیر افزودن مکمل آلی روی-متیونین به جیره‌های با و بدون مکمل نمک کلسیمی روغن کتان بر بیان ژن IGF-1 در بافت کبد بره‌های نر پرواری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش از ۴۴ راس بره نر عربی با آزمایش فاکتوریل ۲*۲ در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تیمار و ۱۱ تکرار استفاده شد. چهار جیره‌ی آزمایشی عبارت بودند ۱) جیره پایه بدون مکمل نمک کلسیمی روغن کتان و بدون مکمل روی- متیونین (کنترل)، ۲) جیره پایه بدون مکمل کلسیمی روغن کتان حاوی ۰/۰۸ درصد مکمل روی- متیونین (معادل ۱۰۰ میلی‌گرم روی در کیلوگرم ماده خشک، ۳) جیره پایه حاوی ۳ درصد مکمل نمک کلسیمی روغن کتان بدون مکمل روی-متیونین ، ۴) جیره پایه حاوی ۳ درصد مکمل نمک کلسیمی روغن کتان بعلاوه ۰/۰۸ درصد مکمل روی-متیونین. پس از پایان دوره پروار ۳ راس گوسفند از هر تیمار کشتار گردید و بافت کبد همراه با ازت مایع به آزمایشگاه منتقل شد. پس از استخراج RNA و اندازه‌گیری کیفیت آن، سنتز cDNA انجام شد. در نهایت میزان بیان ژن IGF-1 با استفاده از روش Real time PCR مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: مشاهده تک باند در محدوده‌ی ۲۴۰ جفت نوکلئوتید برای ژن IGF-1 و در محدوده‌ی ۱۴۴ جفت نوکلئوتید برای ژن GAPDH بر روی الکتروفورز ژل، بیانگر صحت انجام آزمایش و تکثیر قطعه‌ی مورد نظر بوسیله واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بود. حضور تنها یک قله در منحنی‌های ذوب ژن IGF-1 و GAPDH در واکنش Real time PCR تولید یک محصول اختصاصی در این واکنش را تایید کرد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، افزودن مکمل روی منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن IGF-1 شده (P< ۰/۰۱)، به طوری که از ۱ به ۴/۹۵ رسیده است. همچنین اثر افزودن مکمل چربی نمک کلسیمی روغن کتان بر بیان ژن IGF-1 معنی‌دار یوده (P< ۰/۰۱) به طوری که از ۱ به ۳/۵۲ رسیده است. اثرات متقابل مکمل روی- متیونین و مکمل چربی نمک کلسیمی روغن کتان معنی‌دار نشد. افزودن همزمان مکمل روی- متیونین و مکمل چربی نمک کلسیمی روغن کتان به جیره بره‌های پرواری سبب افزایش بیان ژن IGF-1 در کبد می‌گردد.

نتیجه‌گیری: افزودن مکمل آلی روی-متیونین به جیره‌های حاوی مکمل چربی نمک کلسیمی روغن کتان سبب افزایش بیان ژن IGF-1 می‌گردد. افزایش بیان ژن IGF-1 در کبد احتمالا منجر به افزایش رشد و در نهایت تولید دام خواهد شد.

کلیدواژه‌ها : بیان ژن، عنصر روی، روغن کتان، فاکتور رشد شبه انسولین

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: نظری محمود، علی پور زینب، رستمی سپیده، محمدی اهوازی غزال (۱۴۰۴) تاثیر افزودن مکمل آلی روی-متیونین و مکمل نمک کلسیمی روغن کتان بر بیان ژن IGF-1 در بافت کبد بره‌های نر پرواری. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۷(۱)، ۱۲۱-۱۴۰.

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

© the authors

مقدمه

ژن‌های کاندیدای متعددی در طی سال‌های اخیر در حیوانات اهلی شناسایی گردیده است، که دارای اثرات بیولوژیکی شناخته شده‌ای روی صفات اقتصادی و نقش عمده‌ای در تظاهر تنوع صفات به‌ویژه صفات رشد و افزایش وزن به‌طور مستقیم یا غیر مستقیم به‌واسطه تولید آنزیم یا پروتئین خاص دارند از جمله ژن‌های فوق، فاکتور رشد شبه انسولین یا IGF-1 می‌باشد (Reyna et al. 2010). فاکتور رشد شبه انسولین- ۱ یک فاکتور رشد مهم است که توسط کبد در نتیجه تحریک هورمون رشد تولید می‌شود (Thissen et al. 1994). هورمون رشد اساسا روی رشد استخوان‌ها و ماهیچه‌ها با میانجی‌گری IGF-1 فعالیت می‌کند (Sellier 2000). این هورمون انتقال اسید آمینه و گلوکز، تعادل مثبت نیتروژنی و سنتز گلیکوژن را تسهیل نموده و در بازسازی استخوان و غضروف نقش اساسی دارد (Matar et al. 2016). عنصر روی یکی از محدودکننده‌ترین ریزعناصر معدنی است که باید روزانه در جیره غذایی دام استفاده شود. این عنصر برای کنترل اشتها، رشد بدن، ساختمان و فعالیت هورمونی و آنزیمی، سوخت‌وساز مواد مغذی، تقسیم سلولی و سیستم ایمنی مورد نیاز است. از سوی دیگر، رویِ موردنیاز دام با استفاده از منابع و مکمل‌های مختلفی فراهم می‌شود و علاوه بر دُز مصرف، یکی دیگر از عوامل مهم دخیل در اثرگذاریِ عنصر مذکور، شکل و ترکیب شیمیایی آن است. نیاز حیوانات معمولاً با مصرف نمک‌های معدنی (مانند اکسید و سولفات روی) تأمین می‌شود، اما بازده جذب روی معدنی خیلی زیاد نیست. همچنین، منابع معدنی روی غالباً دارای روابط متقابل زیادی با دیگر عناصر جیره هستند، در جذب و سوخت و ساز برخی از عناصر مداخله می‌کنند، بر تعادل سایر مواد معدنی اثرگذار هستند و درنتیجه ممکن است دفع بیشتری نیز داشته باشند. عنصر روی که به صورت ترکیبات آلی و غیر آلی وجود دارد جزء بیش از ۳۰۰ آنزیم درگیر در ایمنی، متابولیسم، رشد و عملکردهای تولید مثلی است. عنصر روی با دخالت در تعادل الکترولیت‌ها و اسید و باز در بدن و مخصوصا در زمان استرس نقش ایفا می‌کند (Nazari et al. 2020). عنصر روی برای ساختار کروماتین DNA (Salabi et al. 2014)، فعالیت فاکتورهای رونویسی (پروتئین انگشتی روی) و RNA پلیمراز مهم است و در تمام جنبه‌های عملکردی سلول از جمله تکثیر، تمایز و آپوپتوز نقش دارد. کمبود روی سنتز RNAرا کاهش داده و می‌تواند بر تنظیم بیان ژن از طریق فعال کردن یا مهار رونویسی ژن‌های دخیل در تشکیل پروتئین تاثیر بگذارد. کمبود روی می‌تواند بر عملکرد حیوانات از طریق کاهش اشتها و کاهش رشد تاثیر بگذارد (Nazari et al. 2017; Salabi et al. 2011). مدارک و شواهد اثبات شده نشان می‌دهد که کمبود روی در موش با کاهش مصرف غذا، کاهش رشد، کاهش سطح هورمون در حال گردش، کاهش تولید IGF-1 در کبد همراه است (MacDonald 2000). روی یکی از عوامل مهم در تنظیم بیان ژن خانواده IGF در بسیاری از بافت‌ها است (Starks 2006). تنظیم غلظت IGF-1 خون عمدتاً از طریق مواد مغذی و هورمون‌ها است. مصرف محدود انرژی، پروتئین و روی در حیوانات با کاهش غلظت IGF-1 سرم و کاهش رشد ارتباط دارد. تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که آثار کمبود روی بر غلظت IGF-1 ممکن است مستقل از پروتئین و انرژی دریافتی باشد. کاهش مصرف انرژی و روی منجر به کاهش غلظت سرمی IGF-1 می‌شود (Devine et al. 1998). هورمون رشد سنتز کبدی و ترشح IGF-1 را از طریق ارتباط با گیرنده‌های هورمون رشد در کبد تحریک می‌کند. سنتز فاکتور رشد ۱ شبه انسولین (IGF-1) نیز با

وجود این ماده معدنی تنظیم می‌شود. اثرات آنابولیک IGF-1 در سلول‌های استئوبلاستیک با حضور روی افزایش می‌یابد (Turgut et al. 2006). همچنین عنصر روی بر غیر اشباع‌سازی اسید لینولئیک موثر است. عنصر روی می‌تواند از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری کند. به طور کلی ارتباط قابل توجهی بین متابولیسم چربی و عنصر روی وجود دارد (Rashidi et al. 2010). در گذشته اسیدهای چرب ضروری (اسید لینولئیک و اسید لینولنیک) اگر چه عامل کلیدی برای رشد و تولیدمثل طبیعی دام‌ها بودند اما یک موضوع مهم برای تغذیه حیوانات به‌شمار آورده نمی‌شدند (Woods et al. 2009). بخاطر اهمیت این اسید چرب در تغذیه انسان و امکان دریافت آن که از طریق فرآورده‌های دامی میسر می‌باشد، در همین راستا طی دهه‌های اخیر توجه محققان تغذیه برای افزایش سهم این نوع اسیدهای چرب خاص در محصولات دامی جلب شده است. دانه کتان با داشتن اسید لینولنیک بالا به‌عنوان یک سوبسترا برای تولید اسید چرب بلند زنجیر امگا ۳ می‌باشد که پیش‌سازی برای تولید اسید ایکوزاپنتانوئیک (EPA) و اسید دکوزا هگزانوئیک (DHA) خود پیش‌ساز ایکوزانوئیدها می‌باشد (Kronberg et al. 2011). بذر کتان در قرن‌های متوالی در طب سنتی مدیترانه‌ای به عنوان دارو استفاده شده است. روغن به‌دست آمده از این بذر نیز حاوی بخش عمده‌ای از خواص و فواید بذر کتان می‌باشد. این گیاه حاوی ریزمغذی‌های زیادی همچون فیبر خوراکی، منگنز، ویتامین B1 و اسیدچرب ضروری آلفالینولینک اسید (امگا۳) است که به‌نظر می‌رسد با عملکردهای IGF-1 در بدن (افزایش عضله، کاهش چربی، اعمال قلبی عروقی) مرتبط باشد (Kakilashvili et al. 2014). گوشت قرمز حاوی سطوح بالایی از اسیدهای چرب اشباع (SFAs) و سطوح پایین اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه (PUFAs) است و این نیز با افزایش کنسانتره در رژیم غذایی مرتبط است. سنتز اسیدهای چرب اشباع با بیوهیدروژناسیون گسترده اسیدهای چرب غیر اشباع در رژیم غذایی که توسط جمعیت میکروبی در شکمبه انجام می‌شود، مرتبط است. سپس این SFA ها جذب شده و به‌عنوان چربی در گوشت رسوخ می‌کنند (Miltko et al. 2019). مطالعات و تحقیقات جدید بر بهبود کیفیت و کمیت بهتر تولید گوشت از طریق استفاده از تکنیک‌های جدید در تغذیه مانند استفاده از گیاهان دارویی و گیاهان به عنوان مکمل‌های خوراک متمرکز شده است (Rabieh et al. 2020). استفاده از بذر کتان و روغن کتان در جیره‌های حیوانی به این علت مورد توجه قرار گرفته‌اند که می‌توان از آن‌ها برای تغییر ترکیب اسیدهای چرب فرآورده‌های گوشتی استفاده کرد و در نتیجه فواید سلامت عملکردی را برای مصرف‌کننده به ارمغان آورد. طبق گزارشات، چربی داخل عضله زمانی که جیره نهایی حاوی دانه کتان آسیاب شده است افزایش یافته است (Ponnampalam et al. 2024). علاوه‌براین، اپی‌ژنوم شامل مکانیسم‌های مختلفی است، به عنوان مثال متیلاسیون DNA، بازسازی مجدد، اصلاحات دم هیستون، microRNAهای کروماتین و RNA های بلند غیر کدکننده، با عوامل محیطی مانند تغذیه، عوامل بیماری‌زا، و آب و هوا برای تأثیر بر مشخصات بیان ژن‌ها و ظهور فنوتیپ‌های خاص در تعامل هستند (Barazandeh et al. 2016). تعاملات چند سطحی بین ژنوم، اپی‌ژنوم و عوامل محیطی ممکن است رخ دهد (Amiri Roudbar et al. 2020). همچنین، شواهد متعددی حاکی از تأثیر تنوع اپی‌ژنوم بر سلامت و تولید است (Mohammadinejad et al. 2024). مطالعات و بررسی‌های به‌عمل آمده در اواخر دهه ۸۰ میلادی روشن نمود که

مکانیسم‌های مولکولی در زمره مهم‌ترین فرایندهای ژنتیکی (مشتمل بر همانندسازی DNA، رونویسی، ترجمه و حتی نحوه تنظیم ژن‌ها) هستند (Safaei et al. 2022). بیان ژن‌های یوکاریوتی به طور موقت و چند بعدی کنترل می‌شود. تنها مجموعه نسبتاً کوچکی از کل ژنوم در هر نوع بافت بیان می‌شود و بیان ژن‌ها به مرحله رشد بستگی دارد (Khabiri et al., 2023; Jafari Ahmadabadi et al. 2023). بنابراین، بیان ژن در یوکاریوت‌ها برای هر بافت خاص است (Mohammadabadi 2016; Safaei et al. 2023). همچنین میزان فراورده‌های ژنی که در همان بافت و همچنین سایر بافت‌های سازنده آن محصول ساخته می‌شود، بیان آن ژن را تنظیم می‌کند. تولید متابولیت‌ها تحت کنترل ژنتیکی است ولی عوامل محیطی بویژه شرایط تنش‌زا نقش عمده‌ای در کمیت و کیفیت این مواد به‌عهده دارند (Mohammadinejad et al. 2022; Mohammadabadi et al. 2023). یکی از اقدامات اساسی در به‌نژادی ملکولی مطالعه ژن‌ها، پروتئین‌های و متابولیت‌های مرتبط با صفات مهم و مطالعه آنها در سطح سلولی یا کروموزومی است (Shahsavari et al. 2023; Shokri et al. 2023). بنابراین در دسترس بودن ابزارهای ژنومی می‌تواند اصلاح نژاد را در زمان کوتاه‌تر تا حد زیادی افزایش دهد (Bordbar et al. 2022). این ابزارها از جمله آنالیز بیان ژن برای تسهیل شناسایی ژن‌های مقاوم در حال توسعه هستند و بررسی الگوی بیان ژن‌ها و مشخص کردن ژن‌های مقاوم به خشکی، شوری، سرما، گزما، یسماری‌ها و بسیاری از ناملایمات دیگر در این راستا انجام می‌گیرد (Mohammadabadi et al. 2024). لذا، در این پژوهش تاثیر افزودن مکمل آلی روی–متیونین به جیره‌های با و بدون مکمل نمک کلسیمی روغن کتان بر بیان ژن IGF-1 در بافت کبد بره‌های نر پرواری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش تعداد ۴۴ راس بره نر عربی دو تا سه ماهه، آزمایش فاکتوریل ۲*۲ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۱۱ تکرار در یک آزمایش پرواری مورد استفاده قرار گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل، ۱) جیره پایه بدون مکمل کلسیمی روغن کتان و بدون مکمل روی– متیونین (گروه شاهد)، ۲) جیره پایه بدون مکمل کلسیمی روغن کتان حاوی ۰/۰۸ درصد مکمل روی– متیونین (معادل ۱۰۰ میلی‌گرم روی در کیلوگرم ماده خشک)، ۳) جیره پایه حاوی ۳ درصد مکمل کلسیمی روغن کتان بدون مکمل روی–متیونین، ۴) جیره پایه حاوی ۳ درصد مکمل کلسیمی روغن کتان بعلاوه ۰/۰۸ درصد مکمل روی–متیونین. بره‌ها در طول دوره آزمایش در قفس‌های انفرادی قرار گرفته بودند و به آب آشامیدنی تازه و خوراک دسترسی داشتند. مقدار خوراک عرضه شده روزانه به گونه‌ای تنظیم شده بود که حداقل مقدار ۱۰ درصد از خوراک در آخور باقی می‌ماند. طول دوره آزمایش ۹۴ روز شامل ۱۰ روز عادت‌پذیری و ۸۴ روز آزمایش اصلی بود حیوانات به مدت ۸۴ روز با جیره‌های آزمایشی با ۸۵ درصد کنسانتره تغذیه شدند. در انتهای آزمایش برای بررسی ژن IGF-1 نمونه‌برداری از بافت کبد بره نر ۳ حیوان از هر تیمار کشتار شد، بلافاصله پس از کشتار دام قطعات کوچکی از بافت‌ها توسط تیغ جراحی استریل جدا شد و در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری بدون RNase قرار داده شدند و به سرعت در داخل تانک ازت گذاشته شدند. نمونه‌های منجمد در دمای ۸۰– درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

جدول ۱. اجزای تشکیل‌دهنده (درصد در ماده خشک) و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی بره‌های پرواری
Table 1. Constituent components (percentage in dry matter) and chemical composition of experimental diets for fattening lambs

جیره‌ها[1] Diets				اجزای جیره Diet ingredients
چربی + روی- متیونین +Fat +Zn	چربی +Fat	روی- متیونین +Zn	شاهد Control	
15	15	15	15	یونجه Alfalfa
44	44	44	44	جو Barley grain, ground
12.42	12.50	14.72	14.80	ذرت Com grain, ground
9	9	9	9	کنجاله سویا Soybean meal
15	15	15	15	سبوس Bran
3	3	0	0	نمک کلسیمی روغن کتان[2] Ca salt of flaxseed oil
0.7	0.7	1.4	1.4	کلسیم کربنات Calcium carbonate
0.08	0	0.08	0	مکمل روی-متیونین[3] Availa Zn-120
0.3	0.3	0.3	0.3	نمک Salt
0.5	0.5	0.5	0.5	مکمل ویتامینی- معدنی[4] Vitamins and minerals permix
				ترکیب شیمیایی (درصد در ماده خشک) Chemical composition
89.0	89.0	88.8	88.8	ماده خشک (درصد) Dry matter (%)
15.9	15.9	16.1	16.1	پروتئین خام Crud protein (%)
5.8	5.8	3.0	3.0	چربی خام (درصد) Ether extract (%)
24.4	24.4	24.7	24.7	الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral Detergent Fiber
13.2	13.2	13.3	13.3	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid Detergent Fiber
46.9	46.9	49.5	49.5	کربوهیدرات‌های غیر الیافی Non-fiber carbohydrates (%)
0.93	0.93	0.88	0.88	کلسیم (درصد) Calcium (%)
0.57	0.57	0.54	0.54	فسفر (درصد) Phosphorus (%)
129.0	30.5	130.9	31.4	روی (میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) Zinc (mg/kg DM)
3.25	3.25	3.14	3.14	انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک)[5] Net energy lactation (Mcal/kg DM)

۱- جیره‌های آزمایشی به‌ترتیب شامل: جیره بدون مکمل نمک کلسیمی روغن کتان و مکمل روی-متیونین، جیره بدون مکمل چربی نمک کلسیمی روغن کتان حاوی ۰/۰۸۳ درصد مکمل روی-متیونین، جیره با ۳ درصد مکمل چربی نمک کلسیمی روغن کتان، بدون مکمل روی-متیونین، جیره با ۳ درصد مکمل نمک کلسیمی روغن کتان بعلاوه ۰/۰۸۳ درصد مکمل روی-متیونین. ۲- نمک کلسیمی روغن کتان، پرشیالین، شرکت کیمیا دانش الوند، ایران. حاوی ۸۵ درصد چربی و ۸ درصد کلسیم (۱۰ درصد C۱۶:۰، ۷ درصد C۱۸:۰، ۲۱ درصد C۱۸:۱، ۱۸درصد C۱۸:۲ و ۴۲ درصد C۱۸:۳). ۳- کمپلکس آلی روی-متیونین، شرکت زینپرو، آمریکا، حاوی ۱۲۰ گرم عنصر روی در کیلوگرم ماده خشک. ۴- هر کیلوگرم مکمل حاوی ۸۰۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۵۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین D، ۲ هزار واحد بین‌المللی و یتامین E، ۲ گرم آنتی‌اکسیدان، ۱۶۰ گرم کلسیم، ۲۰ گرم فسفر، ۴۰ گرم منیزیم، ۴ گرم منگنز، ۳ گرم آهن، ۳ گرم مس، ۳ گرم روی، ۸۰ میلی‌گرم ید، ۵۰ میلی‌گرم کبالت و ۶۰ میلی‌گرم سلنیوم. ۵- محاسبه شده با National Research Council (2007).

برای استخراج RNA کل بافت، از کیت ستونی Animal Tissue RNA Isolation ساخت شرکت دنازیست استفاده شد. پس از استخراج و تخلیص RNA، کمیت و کیفیت RNA استخراج‌شده با الکتروفورز روی ژل آگارز ۱٪ با بافر TBE 1X (۵۰ دقیقه با ولتاژ ۹۴ ولت) و روش نانودراپ مورد بررسی قرار گرفت. در روش نانودراپ از میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۶۴ نانومتر جهت تعیین میزان غلظت و از نسبت جذب ۲۶۰/۲۸۰ و ۲۶۰/۲۳۰ نیز برای تعیین میزان آلودگی به پروتئین و الکل (کیفیت RNA) استخراج‌شده استفاده گردید. در مورد RNA این نسبت به ترتیب باید بین ۲ – ۱/۸ باشد. RNA استخراج شده به فریزر ۸۰- منتقل شد تا در مراحل بعدی آزمایش مورد استفاده قرار گیرد. برای سنتز cDNA از کیت First strand cDNA synthesis شرکت سیناکلون استفاده شد. جهت یکسان کردن RNA به‌کار رفته در ساخت cDNA از مقدار ۱ میکروگرم RNA استفاده شد زیرا ممکن است حین استخراج مقادیر متفاوتی RNA از هر بافت به دست آید. در نهایت محصول واکنش نسخه برداری معکوس در دمای ۲۴- درجه سانتیگراد نگهداری شد. به منظور بررسی بیان ژن‌های مورد مطالعه در این تحقیق توالی آغازگرها توسط نرم افزار Vector NTI 11 طراحی و توسط شرکت سیناکلون (ایران) ساخته شد. توالی آغازگرهای استفاده شده برای بیان ژن‌های مورد مطالعه در جدول ۲ نشان داده شده است. جهت انجام واکنش Real Time PCR از کیت Real IQ plus Master Mix Green High Rox (آمپلیکون، دانمارک) استفاده شد. واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵ میکرولیتر Master Mix Green ، ۱ میکرولیتر آغازگر رفت و ۱ میکرولیتر آغازگر برگشت، ۲ میکرولیتر cDNA الگو و ۸/۵ میکرولیتر آب دوبار تقطیر بود. در ادامه نمونه‌ها در دستگاه ترموسایکلر شرکت بیوراد با برنامه حرارتی زیر جهت اندازه‌گیری سطوح بیان ژن‌ها قرار داده شدند. واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد برای ۵ دقیقه، ۴۰ سیکل واسرشت‌سازی در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد برای ۱۵ ثانیه، دمای اتصال ۶۰ برای ۴۵ ثانیه و گسترش در ۷۲ درجه سانتیگراد برای ۳۰ ثانیه، و در نهایت یک سیکل گسترش نهایی در ۷۲ درجه سانتیگراد برای ۵ دقیقه انجام شد. نمودار ذوب برای بررسی اختصاصی بودن پرایمرها رسم شد. در پژوهش حاضر، تغییرات نسبی بیان ژن‌ها نسبت به ژن GAPDH (ژن مرجع) نرمال شد. بیان نسبی ژن نسبت به GAPDH با فرمول $2^{-(\Delta\Delta CT)}$ به روش Pfaffl et al. (2002) انجام شد.

تحلیل آماری داده‌ها: پس از محاسبه‌ی مقدار Fold Change، داده‌های این طرح با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۴) و با رویه‌ی آماری GLM، فاکتوریل ۲*۲ در قالب طرح کاملا تصادفی مورد تجزیه واریانس قرار گرفت و جهت مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

$$Y_{ijk}= \mu+ A_i+ B_j+AB_{ij}+ e_{ijk}$$

Y_{ijk}= مشاهدات مربوط به صفات، μ= میانگین کل مشاهدات، A_i = اثر فاکتور A، B_j= اثر فاکتور B، AB_{ij}= اثر متقابل دو فاکتور، e_{ijk} = اثر خطای آزمایشی

جدول۲. لیست توالی و خصوصیات پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه

Table 2. The sequence and characteristics of the primer used in this study.

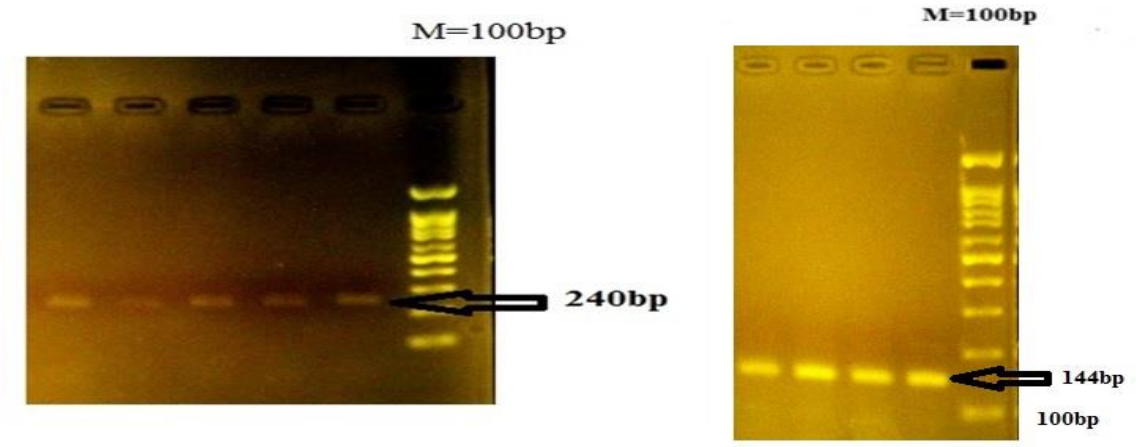
نام ژن Gene name	توالی آغازگر Primer sequence		طول قطعه تکثیری Amplicon size
فاکتورهای رشد شبه انسولین (IGF-1)	آغازگر رفت SensePrimer	F: 5- TCGCATCTCTTCTATCTGGCCCT-3	240
	آغازگر برگشت Antisense Primer	R: 5- ACAGTACATCTCCAGCCTCCTCA-3	
GAPDH	آغازگر رفت Sense Primer	F:5 CCAGGCAGAGAACGGGAAG -3	144
	آغازگر برگشت Antisense Primer	R:5- GCCTTCTCCATGGTAGTGAAG-3	

نتایج و بحث

کیفیت‌سنجی RNA با الکتروفورز ژل آگارز: جهت تعیین کیفیت RNA استخراج‌شده، الکتروفورز نمونه‌های RNA روی ژل آگارز ۲ درصد و با استفاده از الکتروفرز افقی انجام شد. نتایج ژل الکتروفورز نشان داد که کیفیت RNA های استخراج شده خوب بود. باندهای RNA ریبوزومی ۱۸s و ۲۸s قابل تشخیص بوده و اسمیر میان این دو باند مربوط به mRNA ها بود که نشاندهنده کیفیت مناسب RNA استخراج شده بود. همچنین نتایج نانودراپ نشان داد که نمونه‌های RNA استخراج شده فاقد آلودگی بودند، زیرا نسبت ۲۶۰ نانومتر: ۲۸۰ نانومتر از ۱/۷۷ تا ۱/۹۰ متغیر بود. محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز با ژل اگارز (۲٪) مورد بررسی قرار گرفتند. مشاهده تک باند در محدوده‌ی ۲۴۰ جفت نوکلئوتید برای ژن IGF-1 و در محدوده‌ی ۱۴۴ جفت نوکلئوتید برای ژن GAPDH در مورد همه نمونه‌ها، بیانگر صحت انجام آزمایش و تکثیر قطعه‌ی مورد نظر می‌باشد (شکل ۱). با توجه به نتایج بدست آمده در این مطالعه، تنها یک قله در منحنی‌های ذوب ژن IGF-1 محصولات PCR مشاهده شد که نشان‌دهنده تولید یک محصول اختصاصی در این واکنش است (شکل ۲).

اثر افزودن نمک کلسیمی روغن کتان و مکمل آلی روی–متیونین بر بیان ژن IGF-1: نتایج اثر افزودن نمک کلسیمی روغن کتان و مکمل آلی روی–متیونین بر بیان ژن IGF-1 در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، افزودن مکمل روی منجر به افزایش معنی‌دار بیان ژن IGF-1 شده (P< ۰/۰۱)، به طوری که از ۱ به ۴/۲۸ رسیده است. همچنین اثر مکمل چربی نمک کلسیمی روغن کتان بر بیان ژن IGF-1 معنی‌دار یوده به طوری که از ۱ به ۳/۵۲ رسیده است.

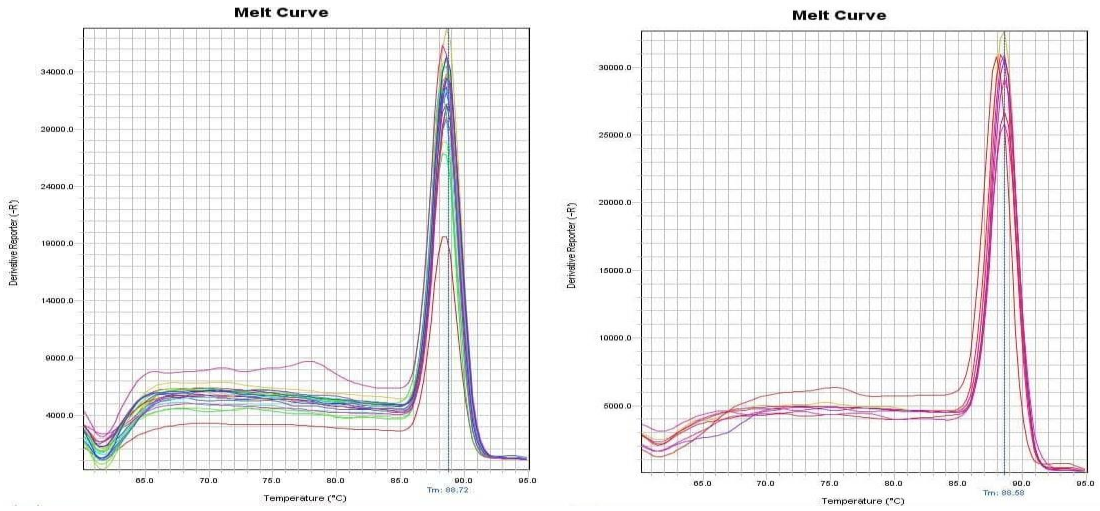
اثرات متقابل مکمل روی- متیونین و مکمل چربی نمک کلسیمی روغن کتان معنی‌دار نشد. افزودن همزمان مکمل روی- متیونین و مکمل چربی نمک کلسیمی روغن کتان سبب افزایش بیان ژن IGF-1 می‌گردد.



الف-ژن GAPDH ب- ژن IGF-1

شکل ۱. الکتروفورز محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ژن‌های الف) GAPDH ب) IGF-1 روی ژل آگارز ۲ درصد. M: مارکر bp ۱۰۰

Figure 1. A sample of electrophoresis of PCR products for (A) GAPDH (B) IGF-1 on the 2% Agarose gel. M: size marker 100bp



الف-ژن GAPDH ب- ژن IGF-1

شکل ۲. منحنی ذوب ژن‌های الف) GAPDH ب) IGF-1

Figure 2. Melting curve of A) GAPDH (B) IGF-1 genes.

جدول ۳. اثر تیمارهای مختلف بر بیان ژن IGF-1

Table 3. The effect of different treatments on the expression of IGF-1 gene

سطح احتمال Probability level	Standard error means (SEM)	IGF-1	اثرات اصلی Main effects		تیمار Treatments
0.0001	0.18	2.26[b]		0	مکمل روی- متیونین Zinc-methionine supplement
0.0001	0.18	5.06[a]		0.08	
0.0001	0.18	2.64[b]		0	مکمل نمک کلسیمی روغن کتان Ca-salt of flaxseed oil supplement
0.0001	0.18	4.68[a]		3	
	Interaction effects اثرات متقابل				
0.1028	0.26	1.00[c]	0	0	جیره پایه (کنترل) Control Diet
0.1028	0.26	4.28[b]	0	0.08	جیره پایه+ ۰/۰۸ درصد مکمل روی- متیونین Control Diet + 0.08 % zinc-methionine supplement
0.1028	0.26	3.52[b]	3	0	جیره پایه+ ۳ درصد مکمل نمک کلسیمی روغن کتان Control Diet + 3 % Ca-salt of flaxseed oil supplement
0.1028	0.26	5.84[a]	3	0.08	جیره پایه+ ۰/۰۸ درصد مکمل روی- متیونین + ۳ درصد مکمل چربی نمک کلسیمی روغن کتان Control Diet + 0.08 % zinc-methionine+ 3 % Ca-salt of flaxseed oil supplement

بافت کبد در تولید IGF ها نقش اساسی دارد (Thissen et al. 1994) وظایف اندوکرینی کبد تحت تاثیر وضعیت تغذیه‌ای و متابولیکی حیوان قرار می‌گیرد (Rhoads et al. 2008). محور سوماتوتروپین (هورمون رشد، گیرنده هورمون رشد در کبد و IGF-1) بسیاری از جنبه‌های رشد و شیرواری را در گاوها کنترل می‌کند (Radcliff et al. 2003). گاوهایی که در بالانس منفی انرژی شدید قرار می‌گیرند تولید IGF-1 در کبد به شدت کاهش می‌دهند (Fenwick et al. 2008). ژن IGF-1 نقش مهمی در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها در بافت چربی، ماهیچه‌های اسکلتی و کبد ایفا می‌کند (LeRoith and Yakar, 2007). گرسنگی منجر به کاهش سطح IGF-1 در ماهیچه (Guernec et al. 2004) و در کبد (Heck et al. 2003) جوجه‌های گوشتی می‌شود. آزمایشات متعددی در این زمینه انجام شده که نشاندهنده کاهش IGF-1 هنگام تغذیه با جیره‌های دارای کمبود روی در مقایسه با جیره‌های دارای عنصر روی کافی می‌باشد (Ninh et al. 1995). کمبود عنصر روی در موش با کاهش مصرف غذا، کاهش رشد، کاهش تولید IGF-1 در کبد، کاهش در گیرنده‌های هورمون رشد و پروتئین‌های باند شونده با آن همراه بوده است. در این مطالعه تاثیر افزودن مکمل آلی روی-متیونین به جیره‌های حاوی چربی غیر اشباع بر بیان ژن IGF-1 در بافت

کبد بره پرواری مورد بررسی قرار گرفت، و سعی بر آن شد که نتایج بدست آمده از این پژوهش با مقالات و پژوهش‌هایی که مرتبط با مکمل‌های موثر بر بیان ژن IGF-1 در بره و گونه‌های دیگر است مورد مقایسه و بررسی قرار بگیرد و بهترین مکمل موثر بر بیان این ژن شناسایی شود. در این تحقیق از مکمل عنصر روی استفاده شده که عنصر روی با متیونین به صورت کیلات شده حضور دارد. فراهمی زیستی، به میزان ماده معدنی که توسط حیوان قابل استفاده است اشاره می‌کند و عوامل مختلفی شامل مقدار مواد معدنی کم نیاز در جیره غذایی، pH شکمبه و شیردان، تعاملات آنتاگونیستی با دیگر مواد معدنی و تنوعات ژنتیکی و نژادی در جذب و متابولیسم مواد معدنی، فراهمی زیستی مواد معدنی کم نیاز را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Suttle 2010). منابع مواد معدنی کم نیاز از نظر فراهمی زیستی برای حیوانات به دو فرم غیر آلی و آلی تقسیم می‌شوند که پیشنهاد شده فرم آلی مواد معدنی کم نیاز فراهمی زیستی بیشتری نسبت به فرم غیر آلی خود دارد (Spears 1996). مکمل‌های غیر آلی مواد معدنی کم نیاز معمولا شامل سولفات و اکسید مواد معدنی کم نیاز می‌باشند، در حالیکه منابع آلی موجود شامل مواد معدنی کم نیاز به شکل پروتئینات، کیلات‌های اسیدآمینه، کیلات‌های هیدروکسیل و مخمرهای غنی‌شده با متیونین هستند. مواد معدنی کم نیاز آلی به صورت کیلات یا کمپلکس در نتیجه اتصال یک فلز (معدنی) به یک لیگاند به وسیله دو یا چند اتم اهدا شده به وجود می‌آیند و حلقه‌های هتروسیکلی را تشکیل می‌دهند که شامل اتم فلزی هستند (Andrieu 2008). نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از مکمل روی–متیونین باعث افزایش میزان IGF-1 می‌شود که با نتایج دیگر محققان همخوانی دارد. مطالعات زیادی نشان دادند که استفاده از عنصر روی به فرم آلی فراهمی زیستی بیشتری نسبت به فرم غیر آلی عنصر روی دارد. تغذیه گوساله‌های گوشتی آنگوس بدون مکمل روی، یا مکمل اکسید روی غیر آلی و روی متیونین آلی برای ۱۱۲ روز اثرات مختلفی بر صفات لاشه نشان داد. گوساله‌هایی که مکمل حاوی روی متیونین را مصرف کرده بودند، درجه کیفت USDA، امتیاز ماربلینگ، چربی خارجی و چربی کلیه، لگن و قلب بالاتری نسبت گوساله های گروه کنترل و اکسید روی داشتند (Greene et al. 1988). تحقیقات نشان داده که استفاده از روی–متیونین در جیره موش در مقایسه با سولفات روی، موجب افزایش بیشتر بیان ژن IGF-1 در کبد می‌شود (Yu et al. 2005). در پژوهشی Yu et al. (2005) اثر روی متیونین (Zn-Met) بر رشد و غلظت هورمون رشد پلاسما (GH) گیرنده هورمون رشد (GHR) و فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-I) در موش بررسی کردند و اظهار داشتند که افزودن مکمل روی باعث افزایش IGF-1 می‌شود، همچنین روی–متیونین باعث افزایش چشمگیر mRNA IGF-I را در موش‌ها می‌شود. محققین نشان دادند که افزایش غلظت روی–متیونین در جیره گوسفند باعث افزایش روزانه مصرف ماده خشک (DMI) و غلظت فاکتور رشد شبه انسولین ۱ پلاسما می‌شود اما هورمون رشد پلاسما (GH) را کاهش می‌دهد (Jafarpour et al. 2015). در مطالعه ای تاثیر اکسید روی در جیره غذایی خوک برای سنجش فاکتور رشد شبه انسولین ۱ بررسی شد. نتایج نشان داد که این مکمل باعث افزایش وزن، مصرف خوراک روزانه راندمان تبدیل خوراک می‌شود و همچنین تغذیه سطوح بالای روی به‌طور قابل توجهی باعث افزایش سطح mRNA و پروتئین IGF-I و IGF-IR در روده کوچک می‌شود (Li et al. 2006). در تحقیق دیگری مشخص شد که عنصر روی تشکیل IGF-1 را همراه با تحریک گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی در مسیرهای سیگنالینگ سلولی افزایش می‌دهد. تصور می‌شود که عنصر روی این کار را با

افزایش فسفوریلاسیون انسولین و گیرنده‌های IGF-1 در سلول‌های گلیوما موش انجام می‌دهد. همچنین کمبود عنصر روی می‌تواند تشکیل DNA را محدود و در دسترس بودن IGF-1 را مختل کند (Haase et al. 2003). همچنین در مطالعه دیگری نشان داده شده که کمبود عنصر روی اثرات نامطلوبی بر پاسخ انسولین دارد. بره‌های دارای عنصر روی کافی نسبت به بره‌های فاقد روی، بیشترین بیانIGF-1 را داشتند (Droke et al. 1993). نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از مکمل نمک کلسیمی روغن کتان، بیان ژن IGF-1 در بافت کبد بره‌های نر پرواری را افزایش می‌دهد. رژیم‌های غذایی دارای PUFA ω-3 بالاتر می‌تواند بر بیان IGF-1 تأثیر بگذارد زیرا سطح IGF-1 در کبد و ماهیچه به وضعیت تغذیه بستگی دارد (Heck et al. 2003; Guernec et al. 2004). روغن استخراج‌شده از کتان حاوی تقریبا ۵۰ درصد اسید لینولنیک از خانواده اسیدهای چرب امگا ۳ می‌باشد. در بین منابع خوراکی، روغن ماهی و روغن کتان منبع غنی اسیدهای چرب امگا ۳ محسوب می‌شوند و با توجه به عدم دسترسی بعضی از مصرف‌کنندگان به ماهی، منابع دیگری برای مصرف این اسیدهای چرب می‌تواند استفاده گردد. چنانچه دام‌ها از علوفه سبز و یا روغن کتان به عنوان بخشی از جیره مصرف کنند، اسید آلفا لینولنیک بیشتری دریافت می‌کند (Chalupa et al. 1985). اسیدهای چرب ضروری اسیدلینولئیک و اسید لینولنیک اگر چه عامل کلیدی برای رشد و تولیدمثل طبیعی دام‌ها می‌باشند اما یک موضوع مهم برای تغذیه حیوانات به شمار آورده نمی‌شدند. به خاطر اهمیت این اسید چرب در تغذیه انسان و امکان دریافت آن که از طریق فرآورده‌های دامی میسر می‌باشد، در همین راستا طی دهه‌های اخیر توجه محققان تغذیه برای افزایش سهم این نوع اسیدهای چرب خاص در محصولات دامی جلب شده است (Kronberg et al. 2011). در مطالعه‌ای Gerard et al. (2011) گزارش کردند در گاوهای تغذیه‌شده با دانه کتان، بیان ژن‌های تولیدمثلی IGF-2 نسبت به IGF-1 به طور معنی‌داری بالاتر است. مکمل کردن جیره گاو با دانه کتان (غنی از اسیدهای چرب امگا ۳)، رونویسی ژن‌های درگیر در سیستم IGF را تحت تاثیر قرار داد و بیان ژن‌های IGF-1 را در کبد افزایش داد. بعلاوه Wei et al. (2016) مشاهده کردند خوک‌هایی که به مدت ۳۰ و ۶۰ روز از رژیم غذایی غنی‌شده با بذر کتان تغذیه شدند، بیان بیشتری از IGF-1 را داشتند ولی در مقابل خوک‌هایی که جیره آن‌ها فاقد بذر کتان بود بیان این ژن مشاهده نشد. در مطالعه‌ای اثر مصرف دانه کتان به‌عنوان منبع اسید چرب امگا۳ بر بیان ژن‌های مؤثر در رشد و نمو بافت پستان (IGF-1، IGFBP3 ، IGFBP5) در بزهای سانن آبستن بررسی شد (Seyedabadi et al. 2020). سه جیره غذایی استفاده شد. گروه اول جیره‌ای فاقد هرگونه منبع چربی، گروه دوم دریافت کننده جیره حاوی چربی اشباع پالم و گروه سوم دریافت کننده دانهٔ بزرک (کتان) اکسترود شده به عنوان منبع امگا۳ بود. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بین تیمارها از نظر بیان ژن‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. همچنین، محققین نشان دادند که مقادیر تولید شیر، چربی، پروفایل اسیدهای چرب و IGF-1 با تغذیه رژیم غذایی بذر کتان اکسترود شده افزایش می‌یابد. آنها نشان دادند که مقادیر IGF-1 در گروه دریافت کننده کتان اکسترود شده بیشتر از گروه دریافت کننده سالمات (روغن ماهی خشک‌شده به عنوان اسیدچرب غیراشباع طبیعی سرشار از امگا ۳) و شاهد بود (Mohammed et al. 2024). به نظر می‌رسد که مقادیر IGF-1 از منحنی تولید شیر در

گاو پیروی می‌کند که در آن مقادیر IGF-1 تا هفته ۶ افزایش و پس از آن در همه گروه‌ها کاهش یافت. این با نقش مستقیم و غیرمستقیم IGF-1 بر تولید شیر از طریق رشد غدد پستانی، سنتز شیر، جذب مواد مغذی، تنظیم هورمونی و تعادل انرژی می‌تواند مطابقت داشته باشد (Meyer et al. 2017). در مطالعه‌ای دیگر اثر رژیم غذایی غنی شده با امگا-۳ و امگا-۶ PUFA بر غلظت IGF-1 و تستوسترون پلاسما، بلوغ، پروفایل اسیدهای چرب اسپرم و کیفیت مایع منی در گاومیش نر بررسی کردند و مشخص شد رژیم غذایی سرشار از امگا-۳ PUFA ، غلظت IGF-1 و تستوسترون در پلاسما در مقایسه با دو رژیم غذایی دیگر به طور قابل توجهی افزایش یافت. این یافته‌ها نشان می‌دهد که تغذیه با رژیم غذایی غنی‌شده با n-3 PUFA باعث افزایش ترشح IGF-1 می‌شود (Tran et al. 2016). در تحقیق دیگری .Fair et al (2014) مشاهده کردند مکمل روغن ماهی n-3 PUFA دارای بیان IGF-I بالاتری در مقایسه با گروه شاهد (مکمل اسید پالمیتیک اشباع) بود. همچنین، گاوهایی که با رژیم غذایی n-3 PUFA تغذیه شده بودند، منجر به تغییرات بیشتر در سنتز IGF-1 کبدی در مقایسه با گروه شاهد یا جیره n-6 PUFA شدند (Dirandeh et al. 2016).

نتیجه‌گیری: کتان به شکل‌های مختلف (بذر – روغن- اکسترود شده و غیره) به دفعات زیاد بر روی دام‌های مختلف مورد آزمایش قرار گرفته است. آزمایشات متعدد نشان داده است که استفاده از مکمل نمک کلسیمی روغن کتان در جیره نشخوارکنندگان مفید است. در این تحقیق از نمک کلسیمی روغن کتان به عنوان منبع اسیدچرب غیراشباع استفاده شد. مصرف نمک کلسیمی اسیدهای چرب می‌تواند بدون تأثیر منفی بر جمعیت میکروبی شکمبه و قابلیت هضم فیبر، اثرات منفی ناشی از توازن منفی انرژی را کاهش دهد. با در نظر گرفتن نقش بسیار مهم عنصر روی در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و ارتباط قابل توجهی که بین متابولیسم چربی و عنصر روی وجود دارد، در این ازمایش از مکمل آلی روی-متیونین استفاده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن مکمل آلی روی-متیونین به جیره‌های حاوی مکمل نمک کلسیمی روغن کتان سبب افزایش بیان ژن IGF-1 می‌گردد. افزایش بیان ژن IGF-1 در کبد احتمالا منجر به افزایش رشد و در نهایت تولید دام خواهد شد. در نهایت، افزودن مکمل آلی روی-متیونین به جیره‌های حاوی مکمل نمک کلسیمی روغن کتان در بره‌های پرواری توصیه می‌گردد.

سپاسگزاری: از مسئولین محترم پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان که هزینه این تحقیق را تامین نمودند تشکر بعمل می‌آید.

منابع

سیدآبادی حمیدرضا، عسگری جعفرآبادی قباد، محمودی امیررضا، جواهری بارفروش هدی (۱۴۰۰) تاثیر استفاده از دانه کتان بعنوان منبع امگا ۳ برمیزان تولید شیر و بیان ژن های درگیر در رشد و نمو بافت پستان در بزهای سانن. نشریه دامپزشکی ایران ۱۳۳، ۳۲-۴۴.

ربیعه مولود، روشنفکر هدایت‌الله، نظری محمود، قربانی محمدرضا (۱۴۰۰) بررسی بیان ژن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با ویتامین E، عصاره‌ی گیاه خرفه و پسته‌ی وحشی تحت استرس گرمایی. نشریه دامپزشکی ایران ۱۷(۲)، ۵۱-۶۰.

نظری محمود، سالاری سمیه، قربانی محمدرضا (۱۳۹۶) اثر مکمل عنصر روی و جایگزینی بتائین با بخشی از متیونین بر بیان ژن بتایین هموسیستئین متیل ترانسفراز و ژنهای لیپوژنیک کبدی مرغ تخمگذار تحت شرایط تنش گرمایی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۹(۱)، ۱۱۰-۹۵.

نظری محمود، سالاری سمیه، قربانی محمدرضا (۱۳۹۹) اثر مکمل روی و جایگزینی بتائین جیره با متیونین بر عملکرد و فراسنجه‌های خونی مرغان تخمگذار در شرایط استرس گرمایی. تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک ۳۳(۱)، ۷۰-۶۱.

References

Amiri Roudbar M, Mohammadabadi MR, Ayatollahi Mehrgardi A, et al. (2020) Integration of single nucleotide variants and whole-genome DNA methylation profiles for classification of rheumatoid arthritis cases from controls. Heredity 124 (5), 658-674.

Andrieu S (2008) Is there a role for organic trace element supplements in transition cow health? Vet J 176, 77–83.

Barazandeh A, Mohammadabadi MR, Ghaderi-Zefrehei M, Nezamabadi-Pour H (2016) Genome-wide analysis of CpG islands in some livestock genomes and their relationship with genomic features. Czech J Anim Sci 61(11), 487–495.

Bordbar F, Mohammadabadi M, Jensen J, et al. (2022) Identification of candidate genes regulating carcass depth and hind leg circumference in Simmental beef cattle using Illumina Bovine Bead chip and next-generation sequencing. Animals 12 (9), e1103.

Chalupa WB, Vecchiarelli B, Sklan D, Kronfeld, DS (1985) Response of rumen microorganisms and lactating cows to calcium salts of long chain fatty acids. J Dairy Sci 68 (Suppl.1), e110.

Devine A, Rosen C, Mohan S, et al. (1998) Effects of zinc and other nutritional factors on insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding proteins in postmenopausal women. Am J Clinic Nutr 68(1), 200-206.

Dirandeh E, Towhidi A, Ansari Z, et al. (2016) Effects of dietary supplementation with different polyunsaturated fatty acids on expression of genes related to somatotropic axis function in the liver, selected blood indicators, milk yield and milk fatty acids profile in dairy cows. Annals of Anim Sci 16(4), 1045-1058.

Droke EA, Spears JW, et al. (1993) in vitro and in vivo immunological measurements in growing lambs fed diets deficient, marginal or adequate in zinc. J Nutri Immuno 2, 71-90.

Fair S, Doyle DN, Diskin MG, et al. (2014) Theeffect of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids supplementation oframs on semen quality and subsequent quality of liquid storedsemen. Theriogenology 81(2), 210–219.

Fenwick MA, Fitzpatrick R, Kenny DA, et al. (2008) Interrelationships between negative energy balance (NEB) and IGF regulation in liver of lactating dairy cows. Domest Anim Endocrin 34(1), 31– 44.

Gerard S, David A, Sinead M (2011) Effect of dietary n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on bovine uterine endometrial and hepatic gene expression of the insulin-like growth factor system. Therogenology 75, 500-512.

Greene LW, Lunt DK, Byers FM, et al. (1988) Performance and carcass quality of steers supplemented with zinc oxide or zinc methionine. J Anim Sci 66(7), 1818-1823.

Guernec A, Chevalier B, Duclos MJ (2004) Nutrient supply enhances both IGF-I and MSTN mRNA levels in chicken skeletal muscle. Domest Anim Endocrin 26, 143-54.

Haase H, Maret W (2003) Intracellular zinc fluctuations modulate protein tyrosine phosphatase activity in insulin/insulin-like growth factor-1 signaling. Exp Cell Res 291, 289–98.

Heck A, Metayer S, Onagbesan OM, Williams J (2003) mRNA expression of components of the IGF system and of GH and insulin receptors in ovaries of broiler breeder hens fed ad libitum or restricted from 4 to 16 weeks of age. Domest Anim Endocrin 25, 287-94.

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 Biotech J 15 (1), 217-234.

Jafarpour N, Khorvash M, Rahmani HR, et al. (2015) Dose–responses of zinc–methionine supplements on growth, blood metabolites and gastrointestinal development in sheep. J Anim Physio and Anim Nutr 99, 668–675.

Kakilashvili B, Zurabashvili DZ, Turabelidze DG, et al. (2014) The fatty acid composition of ordinary flax seed oil (Linum usitatissimum L.) cultivated in Georgia and its byological activity. Georgian medical news 227, 86-88.

Khabiri A, Toroghi R, Mohammadabadi M, Tabatabaeizadeh SE (2023) Introduction of a Newcastle disease virus challenge strain (sub-genotype VII. 1.1) isolated in Iran. Vet Res Forum 14 (4), e221.

Kronberg SL, Scholljegerdes EJ, Lepper AN, Berg EP (2011) The effect of flaxseed supplementation on growth, carcass characteristics, fatty acid profile, retail shelf life and sensory characteristics of beef from steers finished on grasslands of the northern Great Plains. J Anim Sci 89(9), 2892-2903.

LeRoith D, Yakar S (2007) Mechanisms of disease: metabolic effects of growth hormone and insulin-like growth factor 1. Nat Clin Pract Endocrinol Metab 3, 302-10.

Li X, Yin J, Li D, et al. (2006) Oxide Increases IGF-I and IGF-I Receptor Gene Expression in the Small Intestine of Weanling Piglets. J Nutr 136, 1786–1791.

MacDonald R.S (2000) The Role of Zinc in Growth and Cell Proliferation. J Nutr 130, 1500S-1508S.

Matar M, Al-Shaar L, Maalouf J, et al. (2016) The Relationship Between Calciotropic Hormones, IGF-1, and Bone Mass Across Pubertal Stages. J clin endo and meta 101(12), 4860-4870.

Meyer Z, Höflich C, Wirthgen E, et al. (2017) Analysis of the IGF-system in milk from farm animals–Occurrence, regulation, and biomarker potential. Growth Hormone IGF Res 35, 1-7.

Miltko R, Majewska M P, Bełżecki G. et al. (2019) Growth performance, carcass and meat quality of lambs supplemented different vegetable oils. Asian-Australasian J Anim Sci 32(6), 767.

Mohamadinejad F, Mohammadabadi M, Roudbari Z, et al. (2024) Analysis of liver transcriptome data to identify the genes affecting lipid metabolism during the embryonic and hatching periods in ROSS breeder broilers. J Livest Sci Technol 12(2), 61-67.

Mohammadabadi M, Babenko O, Borshch OO, et al. (2024) Measurement of the relative expression pattern of the UCP2 gene in different tissues of the Raini Cashmere goat. Agric Biotech J 16 (3), 317-332.

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. Agric Biotech J 15, 239-256.

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, e3471.

Mohammed AA, Al-Shaheen T, Al-Saiady M, El-Waziry A (2024) Effect of dietary source of omega-3 fatty acids on milk production, fatty acid profiles and IGF-1 of lactating dairy cows in arid subtropics. Pakistan J Zoo 56(5), 2319-2326.

National Research Council, NRC (2007) Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. The National Academies Press, Washington DC, USA.

Nazari M, Salari S, Ghorbani MR (2017) Effects of zinc supplementation and betaine substitution to methionine on hepatic betaine - homocysteine methyltransferase and lipogenic genes expression in laying hens under heat stress. Agric Biotech J 9(1), 95-110 (In Persian)

Nazari M, Sallari S, Ghorbani MR (2020) Effect of Zinc supplementation and Betaine substitution to methionine on performance and blood parameters of laying hens under heat stress. Vet Res & Bio Prod 33(1), 61-70 (In Persian)

Ninh NX, Thissen JP, Maiter D, et al. (1995) Reduced liver insulin-like growth factor-I gene expression in young zinc-deprived rats is associated with a decrease in liver growth hormone (GH) receptors and serum GH-binding protein. J Endocrin 144, 449–56.

Pfaffl M, Horgan G, Dempfle L (2002) Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. Nuc Acids Res 30, 1-10.

Ponnampalam EN, Priyashantha H, Vidanarachchi JK, et al. (2024) Effects of Nutritional Factors on Fat Content, Fatty Acid Composition, and Sensorial Properties of Meat and Milk from Domesticated Ruminants: An Overview. Animals (Basel) 14(6), 840.

Rabieh MH, Rooshanfekr M, Nazari M, Ghorbani MR (2020) Gene expression of antioxidant enzymes fed wild pistachio (Pistachio atlantica), purslane (portulaca oleracea) extract and vitamin E under in broiler chickens under heat stress condition. Iranian Vet J 17(2), 51-60 (In Persian).

Radcliff RP, McCormack BL, Crooker BA, Lucy MC (2003) Growth hormone (GH) binding and expression of GH receptor 1AmRNA in hepatic tissue of periparturient dairy cows. J Dairy Sci 86, 3933– 40.

Rashidi AA, Ivari YG, Khatibjoo A, Vakili R (2010) Effects of dietary fat, vitamin E and zinc on immune response and blood parameters of broiler reared under heat stress. Res J Poultry Sci 3(2), 32-38.

Reyna XF, Montoya HM, Castrellon VV, et al. (2010) Polymorphisms in the IGF1 gene and their effect on growth traits in Mexican beef cattle. Gene and Mol Res 9(2), 875-83.

Rhoads ML, Meyer JP, Lamberson WR, et al. (2008) Uterine and hepatic gene expression in relation to days postpartum estrus and pregnancy in postpartum dairy cows. J Dairy Sci 91, 140 –50.

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, 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.

Salabi F, Boujarpoor M, Fayazi J, et al. (2011) Effects of different levels of zinc on the performance and carcass characteristics of broiler reared under heat stress condition. J Anim and Vet Adv 10(10), 1332-1335.

Salabi F, Nazari M, Chen Q, et al. (2014) Myostatin knockout using zinc-finger nucleases promotes proliferation of ovine primary satellite cells in vitro. J Biotech 192, 268-280.

SAS Institute (2016) Statistical Analysis Software (SAS) User's Guide Version 9.4. Cary, NC: SAS Institute, Inc.

Sellier P (2000) Genetically caused retarded growth in animals. Domest Anim Endocrin 19, 105-119.

Seyedabadi HR, Asgari Jafarabadi Gh, Mahmoodi AR, Javaheri Barforosh H (2020) Effect of using flaxseed as omega-3 source on mammary gland growth and development gene expression in Saanen goat at their first pregnancy and lactation. Iranian Vet J 133, 32-44 (In Persian).

Shahsavari M, Mohammadabadi M, Khezri A, et al. (2023) Effect of Fennel (Foeniculum Vulgare) Seed Powder Consumption on Insulin-like Growth Factor 1 Gene Expression in the Liver Tissue of Growing Lambs. Gene Expr 21, 21-26.

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 Biotech J 15 (2), 217-236.

Spears JW (1996) Organic trace minerals in ruminant nutrition. Anim Feed Sci and Techno. 58, 151-163.

Starks TP (2006) Focus on Nutrition Research. Nova Publishers

Suttle NF (2010) The Mineral Nutrition of Livestock. CABI Publishing, New York.

Thissen JP, Ketelslegers JM, Underwood LE (1994) Nutritional regulation of the insulinlike growth factors. Endocr Rev 15, 80-101.

Tran LA, Malla BA, Sharma AN, et al. (2016) Effect of omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acidenriched diet on plasma IGF-1 and testosteroneconcentration, puberty and semen quality in male buffalo. Anim Repro Sci 173, 63-72.

Turgut S, Kaptanoglu B, Emmungil G, Turgut G (2006) Increased plasma levels of growth hormone, insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein 3 in pregnant rats with exercise. Tohoku J Exp Med 208, 75e81.

Wei H, Zhou Y, Jiang S, et al. (2016) Transcriptional response of porcine skeletal muscle to feeding a linseed-enriched diet to growing pigs. J Anim Sci Biotech 7, 6.

Woods VB, Fearon AM (2009) Dietary sources of unsaturated fatty acids for animals and their transfer into meat, milk and eggs: A review. Livest Sci 126(1-3), 1-20.

Yu ZP, Le GW, Shi YH (2005) Effect of zinc sulphate and zinc methionine on growth, plasma growth hormone concentration, growth hormone receptor and insulin-like growth factor-I gene expression in mice. Clin and Exper Pharma and Physio 32, 273–278.