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

The role of fennel on DLK1 gene expression in sheep heart tissue

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
Diana Shaban Jorjandy
MSc Student, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail address: dianashabanjorjandy@gmail.com
Zahra Arabpoor Raghabadi
MSc Student, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail address: zahra.arabpoor.da@gmail.com
Fatemeh Abareghi
MSc Student, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail address: fatemeh.abareghi1376@gmail.com
Hosein Ali Sasan
Assistant professor, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail address: hosali_s@uk.ac.ir
Farhad Bordbar
Key Laboratory of Animal Genetics Breeding and Reproduction, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China. E-mail address: farhadbordbar@agr.uk.ac.ir

Abstract

Objective

Fennel in animal diets for various purposes including improving weight gain, oxidative quality of meat, digestion and growth efficiency, closed cell volume, small intestine length and weight, carcass efficiency, feed intake, red blood cells and hemoglobin count, feed conversion, efficiency and health status and reduction of the total number of bacteria have been used. On the other hand, the DLK1 gene plays an important role in controlling various processes throughout the fetus and adulthood. Therefore, this study aimed to investigate the effect of fennel on DLK1 gene expression in Kermani sheep heart using real-time PCR.

Materials and Methods

In this study, 30 male Kermani lambs (6-month-old) with almost the same weight were selected and randomly divided into three experimental groups (10 in each group). Experimental animals were fed freely and separately with three levels of fennel (0, 1, and 2%) for three months. After

slaughtering, the heart weight and fat around the heart were measured and the heart tissue was sampled. RNA extraction and cDNA synthesis were performed using standard kits. The expression of DLK1 genes (target gene) and beta-actin gene (reference gene) was performed using proper primers using real-time PCR method and the results were analyzed with the appropriate software.

Results

The results of the quality assay of extracted RNAs on agarose gel and at A260 / A280 wavelength showed the good quality of total RNA. The results of real-time PCR and electrophoresis of PCR products on agarose gel showed that the DLK1 gene was expressed in heart tissue. Adding fennel to the diet did not significantly change the weight of the heart and the weight of fat around the heart compared to the control diet. The results showed that fennel nutrition at 1% and 2% levels significantly ($P < 0.05$) increased DLK1 gene expression in heart tissue.

Conclusions

Based on the results, it can be concluded that fennel can be used in sheep diet to improve heart structure through positive effects on DLK1 gene expression. Since fennel has increased the expression level of the DLK1 gene in heart tissue, it can be considered to improve heart function. It can be concluded that fennel can be used for different purposes in livestock, but for each effect in each tissue, more research should be done considering different genetic, epigenetic, and physiological conditions to reach a distinct conclusion.

Keywords: DLK1 gene expression, Fennel, Diet, Heart, Heart muscle

Paper Type: Research Paper.

Citation: Mohammadabadi MR, Shaban Jorjandy D, Arabpoor Raghabadi Z, Abareghi F, Sasan HA, Bordbar F (2022) The role of fennel on DLK1 gene expression in sheep heart tissue. *Agricultural Biotechnology Journal* 14 (2), 155-170.

Agricultural Biotechnology Journal 14 (2), 155-170. DOI: 10.22103/jab.2022.19402.1399

Received: March 12, 2022. Received in revised form: April 25, 2022.

Accepted: April 26, 2022. Published online: May 5, 2022

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: ۲۲۲۸-۶۷۰۵ شاپا الکترونیکی: ۲۲۲۸-۶۵۰۰

نقش رازیانه بر بیان ژن DLK1 در بافت قلب گوسفند

محمدرضا محمدآبادی

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

دیانا شبان جرجندی

دانشجوی کارشناسی ارشد بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران. تلفن: ۰۳۴۳۱۳۲۲۶۸۹، ایمیل: dianashabanjorjandy@gmail.com

زهرا عرب پور رق آبادی

دانشجوی کارشناسی ارشد بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران. تلفن: ۰۹۱۳۸۴۰۷۹۹۲، ایمیل: zahra.arabpoor.da@gmail.com

فاطمه ابارقی

دانشجوی کارشناسی ارشد بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران. تلفن: ۰۹۱۳۶۶۳۸۰۷۱، ایمیل: fatemeh.abareghi1376@gmail.com

حسینعلی ساسان

استادیار، بخش زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران. تلفن: ۰۹۱۳۳۸۷۴۷۲۱، ایمیل: hosali_s@uk.ac.ir

فرهاد بردبار

آزمایشگاه کلیدی اصلاح و تولید مثل ژنتیکی حیوانات، وزارت کشاورزی و امور روستایی، موسسه علوم دامی، آکادمی علوم کشاورزی چین، پکن ۱۰۰۱۹۳، چین. و دانشجوی پسادکتری بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران. ایمیل: farhadbordbar@agr.uk.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۲۱ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۱/۰۲/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۰۶

چکیده

هدف: رازیانه در رژیم‌های غذایی حیوانات برای اهداف مختلفی از جمله بهبود افزایش وزن، کیفیت اکسیداتیو گوشت، هضم و بازده رشد، حجم سلول‌های بسته، طول و وزن روده کوچک، کارایی لاشه، مصرف خوراک، گلبول‌های قرمز و تعداد هموگلوبین، تبدیل خوراک، کارایی و وضعیت سلامت و کاهش تعداد کل باکتری‌ها استفاده شده است. از طرفی ژن DLK1 نقش مه‌می‌در کنترل فرآیندهای مختلف در سرتاسر دوران جنینی و بزرگسالی دارد. لذا، هدف این مطالعه بررسی اثر رازیانه بر بیان ژن DLK1 در قلب گوسفند کرمانی با استفاده از real time PCR بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش۳۰ راس بره نر ۶ ماهه از نژاد کرمانی با وزن تقریباً یکسان انتخاب و به طور تصادفی در سه گروه آزمایشی (۱۰ راس در هر گروه) قرار گرفتند. حیوانات آزمایشی به مدت سه ماه با سه سطح رازیانه (۰، ۱ و ۲ درصد) به صورت آزاد و جداگانه تغذیه شدند. پس از کشتار وزن قلب و چربی اطراف قلب اندازه گیری و نمونه برداری از بافت قلب انجام شد. استخراج RNA و ساخت cDNA با استفاده از کیت‌های استاندارد صورت گرفت. با استفاده از آغازگرهای مربوطه بیان ژن‌های DLK1 (ژن هدف) و ژن بتا اکتین (ژن مرجع) با استفاده از روش real-time PCR انجام و نتایج با نرم‌افزارهای مربوطه آنالیز شد.

نتایج: نتایج بررسی کیفیت RNAهای استخراج شده روی ژل آگارز و در طول موج A260/A280 نشان دهنده کیفیت مناسب و مطلوب RNA کل بود. نتایج real time PCR و الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز نشان داد که ژن DLK1 در بافت قلب بیان شده است. افزودن رازیانه به جیره باعث تغییر معنی‌دار وزن قلب و چربی اطراف قلب نسبت به جیره شاهد نشد. نتایج نشان داد که تغذیه رازیانه در سطوح ۱٪ و ۲٪ به طور معنی داری ($P<0.05$) بیان ژن DLK1 را در بافت قلب افزایش می‌دهد.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج می‌توان نتیجه گرفت که رازیانه می‌تواند در رژیم غذایی گوسفند برای بهبود ساختار قلب از طریق اثرات مثبت بر بیان ژن DLK1 استفاده شود. از آنجایی که رازیانه سطح بیان ژن DLK1 را در بافت قلب افزایش داده است، می‌توان آن را برای بهبود عملکرد قلب در نظر گرفت. می‌توان نتیجه گرفت که رازیانه می‌تواند برای مصارف مختلفی در دام استفاده شود، اما برای هر اثر در هر بافت، تحقیقات بیشتری با در نظر گرفتن شرایط مختلف ژنتیکی، اپی‌ژنتیکی و فیزیولوژیکی انجام شود تا به نتیجه نهایی برسیم.

کلمات کلیدی: بیان ژن DLK1، رازیانه، رژیم غذایی، قلب، ماهیچه قلب

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: محمدآبادی محمدرضا، شبان جرجندی دیانا، عرب پور رق آبادی زهرا، ابارقی فاطمه، ساسان حسینعلی، بردبار فرهاد (۱۴۰۱) نقش رازیانه بر بیان ژن DLK1 در بافت قلب گوسفند. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۴(۲)، ۱۵۵-۱۳۳.

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

© the authors

مقدمه

فیتواستروژن‌ها ترکیبات گیاهی هستند که از نظر ساختاری شبیه استروژن در حیوانات هستند و شامل چندین گروه از ترکیبات از جمله لیگنان‌ها، ایزوفلاونوئیدها، لاکتون‌ها، کومت‌ها (comets) و بقایای اسید سیلیسیک هستند و در گیاهان مختلف از جمله غلات، نخود فرنگی و گیاهان علوفه ای وجود دارند (Masoudzadeh et al. 2020b). در قسمت‌های مختلف گیاه و دانه‌ها وجود دارند و بسته به رقم، موقعیت جغرافیایی و سال رشد گیاه ممکن است پس از ورود به دستگاه گوارش دفع یا جذب یا به ترکیباتی تجزیه شوند که فیتواستروژن‌های قوی نیز هستند (Mohammadabadi et al. 2021). فیتواستروژن‌ها به راحتی تجزیه می‌شوند،

در بافت‌ها ذخیره نمی‌شوند و برای مدت کوتاهی در بدن باقی می‌مانند. بنابراین، هنگامی‌که این ترکیبات به عنوان بخشی از یک رژیم غذایی معمولی مصرف شوند، احتمالاً بی خطر و مفید هستند (Shahsavari et al. 2021). گیاه رازیانه با نام علمی Foeniculum vulgare از خانواده Umbrelliferae (Apiaceae) حاوی ترکیبات مه‌می‌مانند آنتول، کامفن، پینن، فنچون و فلاندرن است. فیتواستروژن‌های موجود در رازیانه اثراتی مشابه ۱۷ بتا استرادیول مصنوعی دارند و می‌توانند به عنوان جایگزینی برای کنترل محور هیپوتالاموس–هیپوفیز–گناد (HPG) مورد استفاده قرار گیرند (Hajalizadeh et al. 2019). با توجه به استفاده از رازیانه به عنوان آنتی اکسیدان، ضد قارچ، ضد باکتری، ضد تومور، ضد دیابت، ضد ترومبوز، ضد هیرسوت قلبی عروقی، ضد التهاب، آنتی اکسیدان، گشادکننده کبد، گشادکننده برونش، کنه کش و حشره کش، اهمیت زیست پزشکی و کاربردهای دارویی آن را می‌توان درک کرد (Badgujar et al. 2014; Rather et al. 2016). یکی از عوامل فعال استروژنی رازیانه ترانس آنتول است که فراوان‌ترین و مهم‌ترین ترکیب موجود در روغن رازیانه است (Khazaei et al. 2011). رازیانه در رژیم‌های غذایی حیوانات برای اهداف مختلفی از جمله بهبود افزایش وزن، کیفیت اکسیداتیو گوشت، هضم و بازده رشد، حجم سلول‌های بسته، طول و وزن روده کوچک، کارایی لاشه، مصرف خوراک، گلبول‌های قرمز و تعداد هموگلوبین، تبدیل خوراک، کارایی و وضعیت سلامت و کاهش تعداد کل باکتری‌ها استفاده شده است (El-Deek et al. 2003; Mohammed and Abbas, 2009; Gharaghani et al., 2013; Aćimović et al., 2016; Sotoudeh and Yeganeh 2016). از طرفی، گوسفند یکی از مهم‌ترین نشخوارکنندگان کوچک در مناطق گرم، خشک و بیابانی است، زیرا بقای بسیاری از افراد ساکن در این مناطق به پرورش نژادهای بومی‌این حیوان بستگی دارد (Mohammadabadi et al. 2017). بنابراین بهبود رشد ژنتیکی این حیوانات با استفاده از تمامی‌روش‌های موجود، چه از نظر کـمی‌و چه از نظر کیفی، در اولویت کاری دامداران و محققین این حوزه قرار دارد (Mohammadabadi et al. 2018). بهبود فرآیندهای تولیدمثلی و افزایش عملکرد معمولاً راه‌هایی برای دستیابی به عملکرد گله بالاتر است (Mohammadabadi et al. 2021). گزارش‌ها حاکی از پرورش بیش از ۵۰ میلیون راس گوسفند در ایران است. این گوسفندها از بیست و هفت نژاد و اکوتیپ تشکیل شده‌اند .(Ghotbaldini et al. 2019) یکی از این ۲۷ نژاد و اکوتیپ، گوسفند کرمانی است که نقش مهم و اساسی در دامپروری این منطقه از ایران دارد (Mohammadabadi 2017). منطقه و زیستگاه اصلی این جانور جنوب شرقی ایران است که منطقه ای گرم و خشک با مراتع و پوشش گیاهی ضعیف و ناپایدار است. این گوسفند دم چاق دو منظوره گوشتی شیری با پشم سفید و اندازه متوسط نقش مهمی‌در تامین نیاز عشایر و دامداران این منطقه از ایران دارد (Mohammadifar and Mohammadabadi 2011). بنابراین، به روز رسانی نیازهای این نژاد از طریق اصلاح ژنتیکی و غیر ژنتیکی نقش مهمی‌در توسعه پرورش این گوسفند و حفظ آن دارد (Amiri Roudbar et al. 2018). در تحقیقات گونه‌های داخلی، شناسایی ژن‌های موثر بر صفات مهم تولیدی یکی از زمینه‌های ضروری است (Amiri Roudbar et al. 2017). مطالعات در اواخر دهه ۱۹۸۰ نشان داد که مکانیسم‌های مولکولی یکی از مهم‌ترین فرآیندهای ژنتیکی از جمله همانندسازی DNA، رونویسی، ترجمه و حتی نحوه تنظیم ژن‌ها هستند (Mohammadabadi 2020; Chenani et al. 2021;

Mohammadabadi 2021). ژن DLK1 یا Delta-like homologue 1 یک ژن ایمپرینت شده پدری[1] است که یک پروتئین غشایی متعلق به خانواده شبه فاکتور رشد اپیدرمی[2] (EGF) را کد می‌کند که شامل گیرنده‌های Notch و لیگاندهای آنها است. ژن DLK1 به طور متناوب نسخه برداری و ویرایش می‌شود، و رونوشت‌هایی ایجاد می‌کند که دو ایزوفرم را کد می‌کنند. یک ایزوفرم ترشح شده بزرگ و محلول که حاوی محل برش آنزیم تبدیل کننده فاکتور نکروز تومور (TACE) است و ایزوفرم متصل به غشاء که فاقد ناحیه برش پروتئازی است. نشان داده شده است که DLK1 نقش مهمی‌در کنترل فرآیندهای تمایز سلولی از جمله آدیپوژنز، تمایز عضلانی و عصبی، تمایز استخوانی و خون‌سازی در سرتاسر دوران جنینی و بزرگسالی دارد. به طور جالب توجهی، چندین مطالعه نقش‌های بیولوژیکی مختلفی را برای انواع DLK1 معرفی کرده‌اند. برای مثال DLK1 محلول، تمایز سلول‌های چربی را مهار می‌کند، در حالی که DLK1 متصل به غشاء، تعداد سلول‌های بنیادی عصبی را از طریق مکانیس‌می‌که به DLK1 محلول نیاز دارد، تنظیم می‌کند. این ژن در سلول‌های جنینی، قشر آدرنال بالغ، تومورهای غده فوق کلیوی، بافت‌های غدد درون ریز، به سختی در تومورهای باقی مانده آدرنال بیضه، سلول‌های لیدیگ جنینی و در زیر مجموعه ای از سلول‌های لیدیگ بالغ بیان می‌شود (Lottrup et al., 2015). در پژوهشی Waddell et al. (2010) گزارش کردند که DLK1 در بافت‌های مختلف یک عملکرد تنظیمی مربوط به تمایز نهایی و تصمیم گیری سرنوشت سلولی سلول‌های پیش ساز دارد. DLK1 الگوهای بیان متفاوتی در سلول‌های لیدیگ در طول رشد دارد و الگوهای آن نشان می‌دهد که این ژن به عنوان نشانگر سلول‌های پیش ساز یا نابالغ لیدیگ عمل می‌کند (Lottrup et al., 2015). در مطالعه دیگری، Tanimizu et al. (2003) نشان دادند که DLK1 وظیفه مهمی‌در توسعه کبد انجام می‌دهد و از دو شکل گذرنده از غشا (transmembrane) و محلول تشکیل شده است. در پژوهشی Rocha et al. (2007) بیان DLK1 را در کبد با سطوح پایین تر از آلل مادری مشاهده کردند. الگوهای بیان DLK1 مشابهی توسط Oczkowicz et al. (2010) در بافت کبد و ماهیچه گزارش شده است. Yevtodiyenko and Schmidt (2006) نشان دادند که DLK1 در هپاتوسیت‌های کبد جنین در روز جنینی ۱۲/۵ بسیار بیان می‌شود و در روز جنینی ۱۶/۵ کاهش می‌یابد. این ژن در کپسول بافت همبند کبد نیز بیان می‌شود، اما در سلول‌های خون‌ساز کبد بیان نمی‌شود، اگرچه این سلول‌ها بیش از ۵۰ درصد کبد را تشکیل می‌دهند. در حال حاضر اطلاعات در مورد نقش DLK1 در قلب بسیار اندک است. در مطالعه‌ای Rodriguez et al. (2019) نقش DLK1 در تمایز فیبروبلاست قلبی به میوفیبروبلاست و تنظیم فیبروز میوکارد را بررسی کردند. همچنین مکانیسم مولکولی که زیربنای این اثرات در این فرآیند است را نیز مورد پژوهش قرار دادند. آنها دریافتند که DLK1 یک عامل تعیین‌کننده حیاتی در تمایز فیبروبلاست به میوفیبروبلاست است. زیرا حذف DLK1 منجر به تنظیم پایین miR-370 و افزایش فعالیت پروفیبروتیک TGFb/Smad3 می‌شود که منجر به نفوذ میوفیبروبلاست و افزایش رسوب ماتریکس خارج سلولی (ECM) و

[1] paternally imprinted gene
[2] epidermal growth factor (EGF)-like family

Agricultural Biotechnology Journal; Print ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

اختلال عملکرد قلب می‌شود. بازیابی و تجدید بیان DLK1 یا میکرو RNA-370 (miR-370) فعالسازی فاکتور رشد تغییردهنده بتا/ هم‌ساخت ۳ مادران مخالف دکپنتاپلجیک (TGFb/Smad-3) را سرکوب می‌کند. این یافته‌ها اولین موردی هستند که نقش مهاری DLK1 را در فرآیند تبدیل فیبروبلاست قلبی به میوفیبروبلاست با تداخل در سیگنال‌دهی TGFb/Smad-3 در میوکارد نشان می‌دهند. فیبروز قلبی که با رسوب بیش از حد ماتریکس خارج سلولی (ECM) و تجمع میوفیبروبلاست مشخص می‌شود، یکی از ویژگی‌های جدایی ناپذیر بازسازی قلب نارساست. فیبروبلاست‌های قلبی، که به طور دقیق تخمین زده می‌شود کمتر از ۲۰٪ از کل جمعیت سلولی در قلب موش بالغ را تشکیل می‌دهند، نقش مه‌می‌در ترمیم و بازسازی قلب دارند که پس از انفارکتوس میوکارد (MI)، به خاطر انعطاف پذیری استثنایی آنها برای تبدیل به میوفیبروبلاست‌ها رخ می‌دهد. میوفیبروبلاست‌ها که معمولاً در قلب سالم وجود ندارند، سلول‌های بسیار تخصصی هستند که گردش ECM را تنظیم کرده و بافت را به دلیل ظرفیت انقباضی خود بازسازی می‌کنند. پس از حمله انفارکتوس، میوفیبروبلاست‌ها در ابتدا باعث تشکیل اسکار فیبروتیک محافظ (protective fibrotic scar) می‌شوند که از پارگی دیواره جلوگیری می‌کند. با این حال، حضور مداوم آنها در قلب می‌تواند منجر به فیبروز مزمن قلبی و اختلال عملکرد بعدی شود. فاکتور رشد تغییردهنده بتا۱ (TGF-b1) ترشح شده و فعال شدن مسیر متعارف وابسته به هم‌ساخت ۳ مادران مخالف دکپنتاپلجیک (Smad) در هنگام آسیب، محرک اصلی تولید ECM و تبدیل فیبروبلاست به میوفیبروبلاست است. شواهد قریب به اتفاق کنونی نشان می‌دهد که فعال شدن آبشار Smad2/3، به ویژه Smad-3 ، برای ایجاد فیبروز قلبی ضروری است. به این ترتیب، سیگنالینگ فاکتور رشد تغییردهنده بتا/ هم‌ساخت ۳ مادران مخالف دکپنتاپلجیک (TGFb/Smad-3) در ناحیه مرزی انفارکتوس‌های بهبودی فعال می‌شود که منجر به بازسازی فیبروتیک بطن انفارکتوس شده می‌شود (Rodriguez et al. 2019). تا کنون اثر رازیانه بر بیان ژن DLK1 در قلب حیوانات اهلی، به ویژه گوسفند مطالعه نشده است، لذا هدف این مطالعه بررسی اثر رازیانه بر بیان ژن DLK1 در قلب گوسفند کرمانی با استفاده از real time PCR بود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در ایستگاه آموزشی و تحقیقاتی علوم دامی‌دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شد. ۳۰ راس بره نر از گوسفند کرمانی با وزن تقریباً یکسان (۰/۴۵ ± ۲۷/۵ کیلوگرم) و ۶ ماهه به طور تصادفی در سه گروه آزمایشی (۱۰ راس در هر گروه) قرار گرفتند. بره‌ها در قفس‌های جداگانه (۱,۲ × ۱,۵ متر) با کاه بستر، در جایگاهی با کف سیمانی، روباز، با تهویه مناسب و دسترسی آزاد به خوراک و آب قرار گرفتند. در این مدت ۲۰ روز برای سازگاری و ۹۰ روز برای جمع آوری داده‌ها در نظر گرفته شد. قبل از شروع دوره آزمایش، تمام حیوانات پشم چینی شدند، از داروهای ضد انگل استفاده شد و واکسن آنتروتوکسمی‌نیز انجام شد. حیوانات آزمایشی به مدت سه ماه (۹۰ روز) با سه سطح رازیانه (۰، ۱ و ۲ درصد) به صورت آزاد و جداگانه تغذیه شدند. لازم به ذکر است که برای هر سطح ۱۰ حیوان در نظر گرفته شده بود. خوراک به طور کامل مخلوط شد و بره‌ها دو بار در روز در ساعت ۸:۰۰ و ۱۶:۰۰ تغذیه می‌شدند تا حدود ۵٪ از ORTها (ضایعات یا باقیمانده غذا از یک وعده غذایی) استفاده شود. آب به صورت آزاد در دسترس بود و

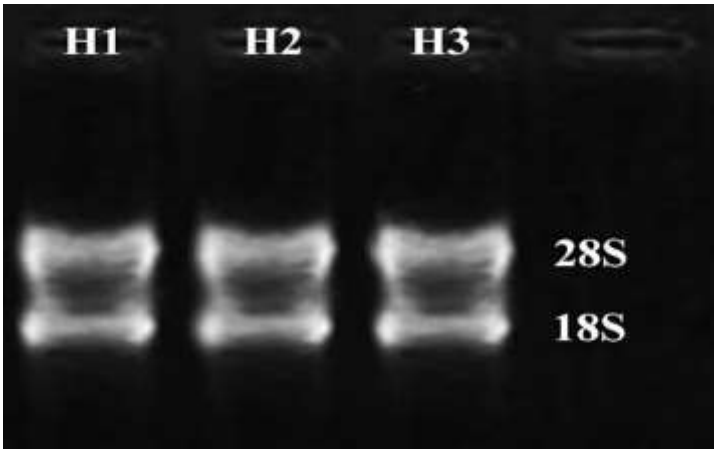
روزی دو بار تعویض می‌شد. تمام جیره‌های آزمایشی دارای انرژی و پروتئین خام یکسان بودند. برخی از پارامترها از قبیل وزن قلب و چربی اطراف قلب اندازه گیری شد. پس از کشتار، نمونه برداری از بافت قلب (با ۳ تکرار) از هر ۳ گروه ۱۰ تایی، در مجموع ۳۰ نمونه) انجام شد. نمونه‌ها به سرعت در نیتروژن مایع قرار گرفتند و سپس ذخیره شدند. کیت One Step RNA Reagent (شرکت بیوباسیک، ایران) برای استخراج RNA کل از بافت استفاده شد و سپس وجود و کیفیت RNA و عدم وجود DNA ژنومی با الکتروفورز روی ژل آگارز و بررسی وجود دو باند 28S و 18S و مقایسه با نشانگر اندازه مورد آزمون قرار گرفت. cDNA با استفاده از کیت استاندارد (#K1631, Fermentase Co., Iran) و پرایمرهای مربوطه از RNA سنتز شد. غلظت RNA کل در هر واکنش ۱ میکروگرم بود. تکنیک RT-PCR با استفاده از پرایمرهای رو به جلو 5'-CGTCTTCCTCAACAAGTGCGA-3' و معکوس 5'-TCCTCCCCGCTGTTGTAGTG-3' (شماره دسترسی NM-174037 ، Tm=57 درجه سانتی گراد و اندازه محصول ۱۰۲ جفت باز) برای ژن DLK1 و پرایمرهای رو به جلو 5'- CCTGGCACCCAGCACAAT -3' و معکوس 5'- GGGCCGGACTCGTCATAC -3' (شماره دسترسی NM_001101.3، Tm=57 درجه سانتی گراد و اندازه محصول ۱۴۴ جفت باز) برای ژن بتا اکتین (به عنوان ژن مرجع) استفاده شدند. واکنش‌ها در حجم ۱۵ میکرولیتر شامل: ۷/۵ میکرولیتر 2X SYBR Green PCR Master Mix (شرکت فرمنتاز، تهران، ایران)، ۱/۵ میکرولیتر cDNA الگو، ۱ میکرولیتر پرایمرهای ۱۰ میکرومولار رو به جلو و معکوس، ۰/۳ میکرولیتر ROX و ۴/۷ میکرولیتر ddH2O در دستگاه Rotor-Gene Q MDx (QIAGEN Hilden, Germany) انجام شد. شرایط دمایی واکنش PCR عبارت بود از: دمای ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه، سپس ۳۵ سیکل ۹۴ درجه سانتیگراد برای ۶۰ ثانیه، ۵۷ درجه سانتیگراد برای ۶۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد برای ۶۰ ثانیه و سپس منحنی ذوب ۵۵ درجه سانتیگراد تا ۹۵ درجه سانتیگراد با افزایش ۰,۵ درجه سانتیگراد در هر ۵ ثانیه انجام شد. تک پیک‌های تیز منحنی‌های ذوب و وجود منحنی‌های تکثیر محصولات DLK1 و بتااکتین حاکی از عدم تشکیل پرایمر–دایمر و همچنین تایید ویژگی پرایمرها، مطابق با عدم تولید محصولات تکثیر منفی است. برای تجزیه و تحلیل داده‌های Real Time PCR از روش Pfaffl et al. (2002) استفاده شد. برای تعیین کارایی واکنش PCR، یک منحنی استاندارد برای DLK1 و بتااکتین با سریال رقت cDNA مجموعه‌ای از نمونه‌ها (۱، ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱) ترسیم شد. راندمان PCR ژن‌های DLK1 و بتااکتین به ترتیب ۹۸ و ۹۹ درصد بود. برای تجزیه و تحلیل داده‌های فیزیولوژیکی از طرح کاملا تصادفی با استفاده از روش MIXED برنامه SAS (2005) استفاده شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها توسط آزمون ©Pair Wise Fixed Reallocation Randomisation Test (REST, 2009) بررسی شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD با سطح احتمال $P<0.05$ استفاده شد. نرم افزار REST (2009) برای تجزیه و تحلیل نتایج Real-Time PCR به دست آمده با استفاده از فرمول Pfaffl (Pfaffl et al., 2002) استفاده شد. همچنین برای ارزیابی اثر اصلی سطح رازیانه و اثر بافتی با اثر متقابل رازیانه x بافت از مدل آماری زیر استفاده شد:

$$X_{ijm} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{m(ij)}$$

که در آن، X_{ijm}=نمره متغیر وابسته برای آزمودنی m در گروه درمانی ij، μ=میانگین، α_i =اثر اصلی بافت در سطح i ، β_j =اثر اصلی رازیانه در سطح j ، $\alpha\beta_{ij}$ =اثر متقابل بافت در سطح i و رازیانه در سطح j و $\varepsilon_{m(ij)}$ =تأثیر همه متغیرهای خارجی دیگر بر آزمودنی m در گروه درمانی ij.

نتایج و بحث

نتایج بررسی کیفیت RNAهای استخراج شده در طول موج A260/A280 (۹/۸-۱/۱) نشان دهنده کیفیت مناسب و مطلوب RNA کل بود. در الکتروفورز RNAهای استخراج شده روی ژل دو باند 18S و 28S مشاهده شد که نشان دهنده سالم بودن RNA و باند اضافی نیز مشاهده نشد که نشان از خلوص RNA داشت (شکل ۱).

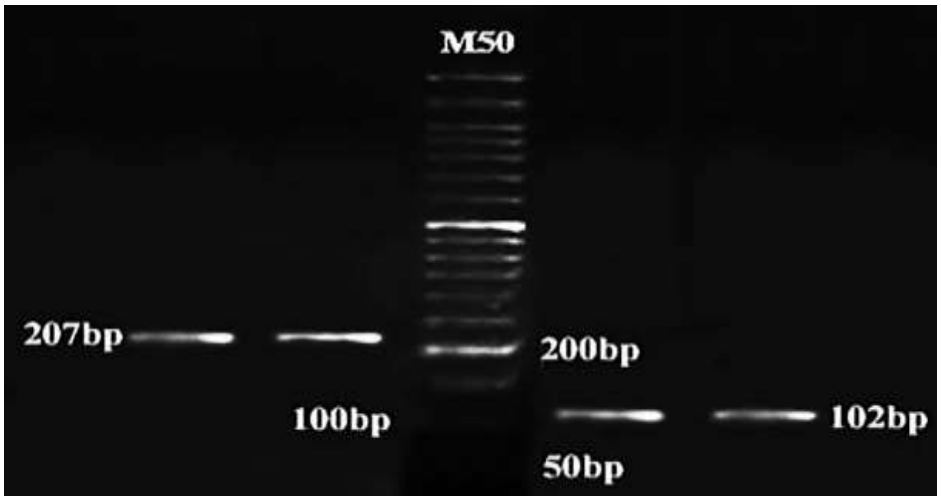


شکل ۱. نمونه‌های RNA استخراج شده (H1، H2 و H3) از بافت قلب گوسفند کرمانی روی ژل آگارز

Figure 1. Samples of extracted RNA (H1, H2 and H3) heart tissue of Kermani sheep on agarose gel

نتایج منحنی‌های real time PCR و الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز شان داد که ژن DLK1 در بافت قلب بیان شده است. مشاهده تک باند در محدوده ۱۰۲bp برای ژن DLK1 و وجود باند در محدوده ۲۰۷bp برای ژن بتااکتین در بافت قلب (شکل ۲)، بیانگر صحت انجام آزمایش و تکثیر قطعه مورد نظر بود. بیان ژن DLK1 در بافت‌های مختلف (کبد، سردست، ران، مغز، چربی، بیضه و شکمبه) گوسفند توسط Masoudzadeh et al. (2020a and b) و Mohammadabadi et al. (2021) گزارش شده است. در پژوهشی دیگر Oczkowicz et al. (2010) نشان دادند که ژن DLK1 در بافت قلب خوک بیان می‌شود. همچنین بیان این ژن در بافت قلب موش نیز توسط Rodriguez et al. (2019) و Lui et al. (2008) گزارش شده است که تایید کننده نتایج پژوهش ما است. افزودن رازیانه به جیره باعث تغییر معنی‌دار وزن قلب و چربی اطراف قلب نسبت به جیره شاهد نشد. تنها ۱۰ گرم از وزن چربی اطراف قلب در حیواناتی که رازیانه مصرف کرده بودند، نسبت به گروهی که رازیانه

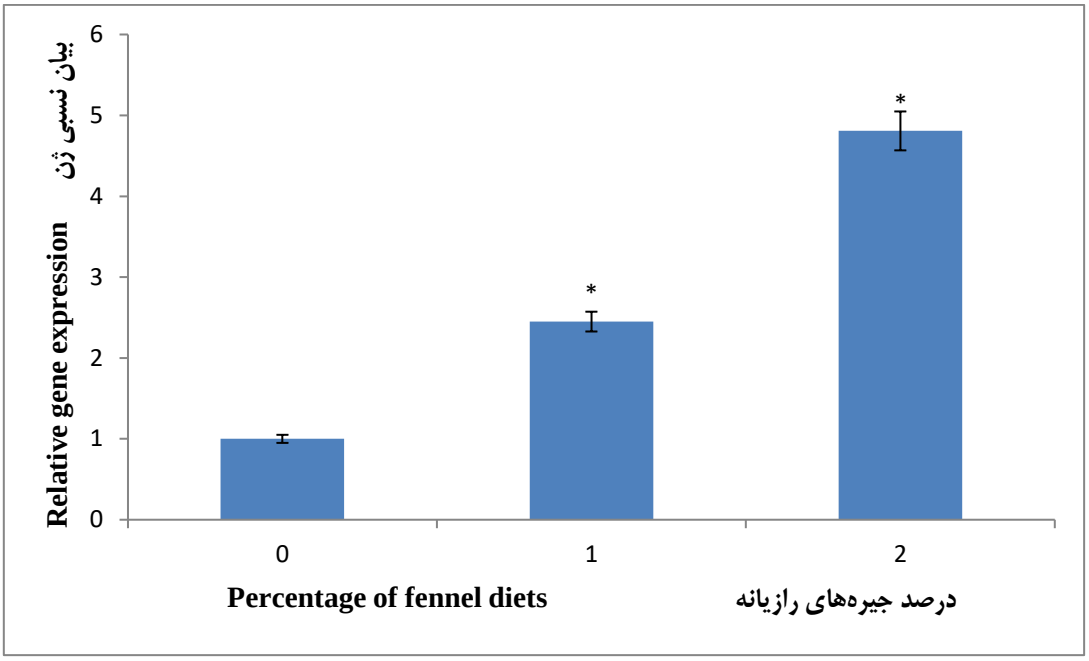
مصرف نکرده بودند کاسته شد. لذا، احتمالا می‌توان از رازیانه برای کاهش چربی اطراف قلب در جیره استفاده نمود، که می‌تواند به دلیل اثر استروژنی رازیانه و اجزای فنلی آن باشد هر چند که برای نتیجه گیری قطعی برای این کاربرد نیاز به تحقیقات تکمیلی می‌باشد.



شکل ۲. الکتروفورز محصول تکثیر ژن‌های DLK1 (۱۰۲ جفت باز) و بتااکتین (۲۰۷ جفت باز) در بافت قلب گوسفندکرمانی روی ژل آگارز.

Figure 2. Electrophoresis of amplified products for DLK1 (102bp) and Beta actin (207bp) genes in heart tissue of Kermani sheep on agarose gel.

در پژوهشی، Karami et al. (2010) گزارش کردند که افزودن آنتی اکسیدان‌های گیاهی به رژیم غذایی، چربی پشت را کاهش می‌دهد. در پژوهشی دیگر Moon et al. (2002) نشان دادند که DLK1 نقش مه‌می‌در بسیاری از جنبه‌های متابولیسم انرژی، به ویژه به عنوان یک مهارکننده چربی زایی ایفا می‌کند. در مطالعه دیگری، Charalambous et al. (2014) به این نتیجه رسیدند که عملکرد DLK1 راه متابولیک را به سمت اکسیداسیون چربی محیطی و جلوگیری از ذخیره سازی چربی اصلاح می‌کند. همچنین Masoudzadeh et al. (2020a) نشان دادند که افزودن رازیانه در جیره غذایی گوسفند در سطح ۱ درصد نسبت به سطح ۰ درصد، بیان ژن DLK1 را در بافت چربی افزایش داده و ضخامت چربی پشت را کاهش می‌دهد که نقش DLK1 را به عنوان یک مهارکننده چربی‌زایی نشان می‌دهد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تغذیه رازیانه در سطوح ۱٪ و ۲٪ به طور معنی داری ($P<0.05$) بیان ژن DLK1 را در بافت قلب افزایش می‌دهد (شکل ۳). شواهد فزاینده ای نقش DLK1 را در مهار تمایز بسیاری از سلول‌ها، از جمله چربی (Laborda 2000)، استئوبلاست (Abdallah et al. 2004)، غضروف (Chen et al. 2011)، سلول‌های خونساز (Sakajiri et al. 2005)، و سلول‌های عصبی (Ferron et al. 2011) نشان داده است.



شکل ۳. تأثیر تغذیه رازیانه بر بیان ژن DLK1 در بافت قلب گوسفند کرمانی با استفاده از real-time PCR. ستاره روی ستون‌ها نشان دهنده تفاوت معنی داری بین تیمارها و شاهد است (P < 0.05).

Figure 3. The effect of fennel feeding on expression of DLK1 gene in heart tissue of Kermani sheep using real-time PCR. The star on the columns indicates a significant difference between the treatments and the control (P < 0.05).

در راستای این گزارش‌ها، Rodriguez et al. (2019) این موضوع را بررسی کردند که آیا DLK1 ممکن است در تمایز فیبروبلاست به میوفیبروبلاست قلبی؛ فرآیندی که پس از انفارکتوس میوکارد آغاز شده و برای بازسازی قلب آسیب دیده حیاتی است (Bujak and Frangogiannis 2007; Travers et al. 2016) نیز نقش داشته باشد؟ پس از این مطالعه آنها برای اولین بار گزارش کردند که میوسیت‌ها و فیبروبلاست‌های قلبی، ایزوفرم‌های مختلف DLK1 را بیان می‌کنند و عدم وجود آن در فیبروبلاست‌ها، روند تمایز به میوفیبروبلاست‌ها را تسریع می‌کند. آنها نشان دادند که میوکارد موشی که DLK1 آن حذف شده است فعال‌سازی مسیر پروفیبروتیک فاکتور رشد تغییردهنده بتا ۱/ هم‌ساخت ۳ مادران مخالف دکپنتاپلجیک (TGFb1/Smad-3) و القای واریانت فیبرونکتین ماتریکس خارج سلولی –دامین A خارجی (ECM EDA) را نشان می‌دهد، که منجر به نفوذ/انباشتگی میوفیبروبلاست‌ها و تشکیل نواحی فیبروتیک می‌شود. این امر به دلیل افزایش بیان فاکتور رشد تغییردهنده بتا ۱ (TGF-b1) در میوکارد در بیماری‌های قلبی حیوانات آزمایشگاهی و انسان جالب است (Li et al. 1997). به طور خاص، فعال شدن سیگنال‌دهی فاکتور رشد تغییردهنده بتا ۱/ هم‌ساخت ۳ مادران مخالف دکپنتاپلجیک (TGFb1/Smad-3) در در مرز انفارکتوس در پاتوژنز بازسازی فیبروتیک قلب حیاتی است و به اختلال عملکرد قلب کمک می‌کند. آنها همچنین نشان دادند که کاردیومیوسیت‌های موش فاقد DLK1 ناهنجاری‌هایی را در تعداد و ترتیب میوفیبریل‌ها و کاهش کلی عملکرد قلب نشان می‌دهند. علاوه بر این، نتایج انها

نشان داد که بیان DLK1 در بافت قلبی بیماران ایسکمیک انسانی در مقایسه با اهداکنندگان سالم و در بافت‌های نواحی مرزی و اسکار در یک مدل خوکی انفارکتوس میوکارد (MI) به میزان قابل توجهی کاهش یافته است. این مشاهدات انها این فرضیه را تقویت کرد که DLK1 ممکن است برای جلوگیری از مرگ بافت قلبی و کاهش عملکرد قلب مورد نیاز باشد. نتایج Rodriguez et al. (2019) نشان می‌دهد که انتقال ژن DLK1 از تمایز فیبروبلاست به میوفیبروبلاست جلوگیری می‌کند، لذا این فرضیه را تایید می‌کند که DLK1 یک واسطه منفی این فرآیند است. با این حال، فیبروبلاست‌های فاقد DLK1 تا حدودی کمتر به بیان بیش از حد DLK1 پاسخ می‌دهند. این اختلاف ممکن است به دلیل شتاب قابل توجه در رسیدن به حالت پایدار از میوفیبروبلاست‌های کاملاً متمایز شده باشد که آنها را نسبت به تغییرات عوامل خارجی غیر حساس می‌کند (Driesen et al. 2014). علاوه بر این، موش‌های فاقد DLK1 رسوب بالایی از دامین A خارجی فیبرونکتین (EDA-FN) در اطراف میوسیت‌ها داشتند و در واقع، میوفیبروبلاست‌ها در این ماتریکس خارج سلولی (ECM) جاسازی شده بودند. مشخص شده است که فاکتور رشد تغییردهنده بتا ۱ (TGF-b1) فیبرونکتین کل را با افزایش تجمع واریانت دامین A خارجی (EDA) افزایش می‌دهد (Kocher et al. 1990) و وجود واریانت دامین A خارجی (EDA) به فاکتور رشد تغییردهنده بتا ۱ (TGF-b1) اجازه می‌دهد تا تمایز فیبروبلاست را القا کند (Serini et al. 1998). در پژوهشی Masoudzadeh et al. (2020a) نشان دادند که با توجه به تاثیر قابل توجه رازیانه بر افزایش بیان ژن DLK1 و نقش این ژن در افزایش سایز عضلانی به ویژه در سنین پایین، می‌توان نتیجه گرفت که رازیانه (به ویژه در سطح ۲٪) می‌تواند در جیره گوسفند به عنوان یک محرک رشد طبیعی مناسب و مفید در صنعت تولید گوسفند استفاده شود. آنها همچنین پیشنهاد کردند که تغذیه رازیانه از فنوتیپ کالیپیج[3] تقلید می‌کند. نتایج آن‌ها نشان داد که تغذیه رازیانه بر بیان ژن DLK1 در بافت عضلانی تأثیر فزاینده‌ای دارد و وزن گوشت بدون چربی[4] برای حیواناتی که با ۲ درصد رازیانه تغذیه شده بودند، در مقایسه با سطح ۰ درصد بیشتر بود. در همین راستا Mohammadabadi et al. (2021) نشان دادند که استفاده از رازیانه در جیره گوسفند بر بیان ژن DLK1 در بافت عضله سردست تأثیر مثبت دارد و باعث رشد و بهبود ماهیچه گوسفند می‌شود. با توجه به ساختار عضلانی قلب و شباهت آن به ماهیچه سردست و ران گوسفند، می‌توان نتیجه گرفت که رازیانه می‌تواند در رژیم غذایی گوسفند، از طریق افزایش بیان ژن DLK1 در بافت عضله برای بهبود ساختار ماهیچه قلب استفاده شود..

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج مطالعه حاضر، می‌توان نتیجه گرفت که رازیانه می‌تواند در رژیم غذایی گوسفند برای بهبود ساختار قلب از طریق اثرات مثبت بر بیان ژن DLK1 استفاده شود. از آنجایی که رازیانه سطح بیان ژن DLK1 را در بافت قلب افزایش داده است، می‌توان آن را برای بهبود عملکرد قلب که در صنعت گوسفند اهمیت دارد، در نظر گرفت. می‌توان نتیجه گرفت که رازیانه می‌تواند برای مصارف مختلفی در دام استفاده شود، اما برای هر اثر در هر بافت، تحقیقات بیشتری با در نظر گرفتن شرایط

[3] callipyge phenotype
[4] lean meat

مختلف ژنتیکی، اپی ژنتیکی و فیزیولوژیکی انجام شود تا به نتیجه نهایی برسیم. علاوه بر این، نتایج جالب مطالعه حاضر در پاسخ به استفاده از سطوح مختلف رازیانه در جیره غذایی گوسفند، مسیر جدیدی را برای تحقیقات گسترده‌تر در این زمینه باز می‌کند.

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

منابع

محمدآبادی محمدرضا (۱۳۹۹) بیان ژن ESR1 در بز کرکی راینی با استفاده از real time PCR. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۲(۱)، ۱۹۲-۱۷۷.

محمدآبادی محمدرضا (۱۳۹۹) پروفایل بیانی mRNA مختص بافت ژن ESR2 در بز. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۲(۲)، ۱۸۴-۱۶۹.

محمدآبادی محمدرضا، کرد محبوبه، نظری محمود (۱۳۹۷) مطالعه بیان ژن لپتین در بافت‌های مختلف گوسفند کرمانی با استفاده از real time PCR. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۰(۳)، ۱۲۲-۱۱۱.

محمدی فر آمنه، محمدآبادی محمدرضا (۱۳۹۰) کاربرد نشانگرهای ریزماهواره برای مطالعه ژنوم گوسفند کرمانی. مجله علوم دامی‌ایران ۴۲(۴)، ۳۴۴-۳۳۷.

References

Abdallah BM, Jensen CH, Gutierrez G, et al. (2004) Regulation of human skeletal stem cells differentiation by DLK1/Pref-1. J Bone Miner Res 19, 841–852.

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.

Amiri Roudbar M, Mohammadabadi MR, Mehrgardi AA, Abdollahi-Arpanahi A (2017) Estimates of variance components due to parent-of-origin effects for body weight in Iran-Black sheep. Small Rum Res 149, 1-5.

Amiri Roudbar M., Abdollahi-Arpanahi R., Ayatollahi Mehrgardi A., et al. (2018) Estimation of the variance due to parent-of-origin effects for productive and reproductive traits in Lori-Bakhtiari sheep. Small Rumin Res 160, 95-102.

Badgujar SB, Patel VV, Bandivdekar AH (2014) Foeniculum vulgareMill: a review of its botany, phytochemistry, pharmacology, contemporary application, and toxicology. Biomed Res Int 2014, 1-32.

Bujak M, Frangogiannis NG (2007) The role of TGF-beta signaling in myocardial infarction and cardiac remodeling. Cardiovasc Res 74, 184–195.

Charalambous M, Da Rocha ST, Radford EJ, et al. (2014) *DLK1*/*PREF1* regulates nutrient metabolism and protects from steatosis. Proc Natl Acad Sci 111, 16088–16093.

Chen L, Qanie D, Jafari A, et al. (2011) Delta-like 1/fetal antigen-1 (DLK1/FA1) is a novel regulator of chondrogenic cell differentiation via inhibition of the Akt kinase-dependent pathway. J Biol Chem 286, 32140–32149.

Chenani H, Nazari M, Nassiri MTB, et al. (2021) Exonic SNP in MHC-DMB2 is associated with gene expression and humoral immunity in Japanese quails. Vet Immunol Immunopathol 239, e110302.

Driesen RB, Nagaraju CK, Abi-Char J, et al. (2014) Reversible and irreversible differentiation of cardiac fibroblasts. Cardiovasc Res 101, 411–422.

EL-Deek AA, Attia YA, Hannfy MM (2003) Effect of anise (Pimpinella anisiumj), ginger (Zingiber officinale roscoe) and fennel (Foeniculum vulgare) and their mixture of performance of Broilers. Arch Geflugelk 67, 92-96.

Ferron SR, Charalambous M, Radford E, et al. (2011) Postnatal loss of DLK1 imprinting in stem cells and niche astrocytes regulates neurogenesis. Nature 475, 381–385.

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.

Ghotbaldini H., Mohammadabadi M.R., Nezamabadi-pour H., et al. (2019). Predicting breeding value of body weight at 6-month age using Artificial Neural Networks in Kermani sheep breed. Acta Scientiarum. Anim Sci 41, e45282.

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.

Karami M, Alimon AR, Yong MG, et al. (2010) Effects of dietary herbal antioxidants supplemented on feedlot growth performance and carcass composition of male goats. Am J Anim Vet Sci 5, 33-39.

Khazaei M, Montaseri A, Khazaei MR, Khanahmadi M. (2011) Study of Foeniculum vulgare Effect on Folliculogenesis in Female Mice. Int J Fertil Steril 5(3), 122-127

Kocher O, Kennedy SP, Madri JA (1990) Alternative splicing of endothelial cell fibronectin mRNA in the IIICS region. Functional significance. Am J Pathol 137, 1509–1524.

Laborda J (2000) The role of the epidermal growth factor-like protein dlk in cell differentiation. Histol Histopathol 15, 119–129.

Li RK, Li G, Mickle DA, et al. (1997) Overexpression of transforming growth factor-beta1 and insulinlike growth factor-I in patients with idiopathic hypertrophic cardiomyopathy. Circulation 96, 874–881.

Lottrup G, Nielsen JE, Skakkebæk NE, et al. (2015) Abundance of *DLK1*, differential expression of *CYP11B*1, *CYP21A*2 and *MC2R*, and lack of *INSL*3 distinguish testicular adrenal rest tumours from leydig cell tumours. Eur J Endocrinol 172, 491–499.

Lui JC, Finkielstain GP, Barnes KM, Baron J (2008) An imprinted gene network that controls mammalian somatic growth is down-regulated during postnatal growth deceleration in multiple organs. Am J Physiol – Regul Integr Comp Physiol 295, R189-196.

Masoudzadeh SH, Mohammadabadi M, Khezri A, et al. (2020a) Effects of diets with different levels of fennel (Foeniculum vulgare) seed powder on DLK1 gene expression in brain, adipose tissue, femur muscle and rumen of Kermani lambs. Small Rumin Res 193, e106276.

Masoudzadeh SH, Mohammadabadi MR, Khezri A, et al. (2020b) DLK1 Gene Expression in Different Tissues of Lamb. Iran J Appl Anim Sci 10 (4), 669-677.

Mohammadabadi M, Bordbar F, Jensen J, et al. (2021) Key genes regulating skeletal muscle development and growth in farm animals. Animals 11 (3), e8.35.

Mohammadabadi M, Masoudzadeh SH, Khezri A, et al. (2021) Fennel (Foeniculum vulgare) seed powder increases Delta-Like Non-Canonical Notch Ligand 1 gene expression in testis, liver, and humeral muscle tissues of growing lambs. Heliyon 7 (12), e08542.

Mohammadabadi MR (2017) Inter-Simple Sequence Repeat loci Associations with Predicted Breeding Values of Body Weight in Kermani Sheep. Genet 3rd Millen 14 (4), 4383-4390.

Mohammadabadi MR (2020) Expression of ESR1 gene in Raini Cashmere goat using real time PCR. Agric Biotechnol J 12 (1), 177-192 (In Persian).

Mohammadabadi MR (2021) Tissue-specific mRNA expression profile of ESR2 gene in goat. Agricultural Biotechnology Journal 12 (4), 169-184 (In Persian).

Mohammadabadi MR, Esfandyarpoor E, Mousapour A (2017) Using Inter Simple Sequence Repeat Multi-Loci Markers for Studying Genetic Diversity in Kermani Sheep. Journal of Research and Development 5 (2), e154.

Mohammadabadi MR, Kord M, Nazari M (2018) Studying expression of leptin gene in different tissues of Kermani Sheep using Real Time PCR. Journal of Agricultural Biotechnology 10 (3), 111-122 (In Persian).

Mohammadifar A, Mohammadabadi MR (2011) Application of Microsatellite Markers for a Study of Kermani Sheep Genome. Iran J Anim Sci 42 (4), 337-344 (In Persian).

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.

Moon YS, Smas CM, Lee K (2002) Mice lacking paternally expressed Pref-1/*DLK1* display growth retardation and accelerated adiposity. Mol Cell Biol 22, 5585–5592.

Oczkowicz M, Piestrzyska-Kajtoch A, Piórkowska K, et al. (2010) Expression of *DLK1* and *MEG*3 genes in porcine tissues during postnatal development. Genet Mol Biol 33, 790-794.

Rather MA, Dar BA, Sofi SN, et al. (2016) Foeniculum vulgare: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety. Arab J Chem 9, S1574-S1583.

Rocha ST, Tevendale M, Knowles E, et al. (2007) Restricted co-expression of *DLK1* and the reciprocally imprinted non-coding RNA, *Gtl*2: Implications for cis-acting control. Dev Biol, 306, 810–823.

Rodriguez P, Sassi Y, Troncone L, et al. (2019) Deletion of delta-like 1 homologue accelerates fibroblast–myofibroblast differentiation and inducesmyocardial fibrosis. Eur Heart J 40, 967–978.

Sakajiri S, O'Kelly J, Yin D, et al. (2005) DLK1 in normal and abnormal hematopoiesis. Leukemia 19, 1404–1410.

Serini G, Bochaton-Piallat ML, Ropraz P, et al. (1998) The fibronectin domain ED-A is crucial for myofibroblastic phenotype induction by transforming growth factor-beta1. J Cell Biol 142, 873–881.

Shahsavari M, Mohammadabadi M, Khezri A, et al. (2021) Correlation between insulin-like growth factor 1 gene expression and fennel (Foeniculum vulgare) seed powder consumption in muscle of sheep. Animal Biotechnology 33, 1-11.

Sotoudeh A, Yeganeh S (2016) Effects of supplementary fennel (Foeniculum vulgare) essential oil in diet on growth and reproductive performance of the ornamental fish, Convict cichlid (Cichlasoma nigrofasciatum). Aquacul Res 2016, 1–8.

Tanimizu N, Nishikawa M, Saito H, et al. (2003) Isolation of hepatoblasts based on the expression of *dlk*/pref-1. J Cell Sci 116, 1775-1786.

Travers JG, Kamal FA, Robbins J, et al. (2016) Cardiac fibrosis: the fibroblast awakens. Circ Res 118, 1021–1040.

Waddell JN, Zhang P, Wen Y, et al. (2010) *DLK1* is necessary for proper skeletal muscle development and regeneration, PLoS One 5, 1–12.

Yevtodiyenko A, Schmidt JV (2006) *DLK1* expression marks developing endothelium and sites of branching morphogenesis in the mouse embryo and placenta. Dev Dyn 235, 1115–1123.