Iranian Journal of Animal Science
Vol 51, No 1, Spring 2020 (37-44)
DOI: 10.22059/ijas.2020.289119.653736

علوم دامی ایران
دورۀ ۵۱، شمارۀ ۱، بهار ۱۳۹۹ (ص ۴۴-۳۷)

تغییرات غلظت استروئیدهای جنسی و بیان ژن گیرنده‌های آنها در دوره بلوغ خروس‌های بومی

سینا لوهاری‌ییلاقی[۱]، مهرداد معمار[۲*]، مصطفی محقق دولت‌آبادی[۳] و رضا نقی‌ها نجف‌آبادی[۲]
۱، ۲ و ۳. دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۷/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۲/۶)

چکیده

به‌منظور بررسی تغییرات غلظت استروئیدهای جنسی و بیان ژن گیرنده‌های آنها در بیضه‌های خروس‌های بومی فارس، ۲٤ قطعه خروس ۵، ٦، ۷ و ۸ ماهه به‌طور تصادفی انتخاب شدند. در هر نوبت نمونه‌برداری شش خروس کشتار و نمونه‌های خون برای اندازه‌گیری غلظت هورمون‌های تستوسترون، استرادیول و پروژسترون و نمونه‌های بافت بیضه برای اندازه‌گیری میزان بیان ژن گیرنده‌های این هورمون‌های جنسی جمع‌آوری شدند. نتایج نشان داد که غلظت تستوسترون و پروژسترون خون خروس‌ها در سن ۷ و ۸ ماهگی به‌طور معنی‌داری بیشتر از سن ۵ و ٦ ماهگی بود. بیشترین غلظت استرادیول خون در ۵ ماهگی و کمترین آن در ۷ و ۸ ماهگی مشاهده شد. میزان بیان ژن گیرنده‌های تستوسترون و استرادیول در بیضه خروس‌های ٦، ۷ و ۸ ماهه نسبت به خروس‌های ۵ ماهه افزایش یافت ولی میزان بیان ژن گیرنده پروژسترونی در خروس‌های ٦ ماهه نسبت به ۵ ماهه کاهش و در خروس‌های ۷ و ۸ ماهه نسبت به خروس‌های ۵ ماهه تغییر نکرد. نتایج به‌طور کلی نشان داد که غلظت هورمون تستوسترون و بیان ژن گیرنده آن در دوره بلوغ‌جنسی خروس‌های بومی فارس افزایش و علی‌رغم کاهش غلظت هورمون استرادیول بیان ژن گیرنده آن در این دوره افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: استرادیول، بیان ژن، تستوسترون، خروس، گیرنده‌های تستوسترون و استرادیول.

Investigation the changes of sexual steroids concentrations and their receptors gene expression during the sexual maturity of native roosters

Sina Lohari Yeylaghi[1], Mehrdad Meamar[2*], Mostafa Mohaghegh Dolat Abadi[3] and Reza Naghiha Najafabadi[2]
1, 2, 3. M.Sc. Student, Assistant Professor and Associate Professor, Department of Animal Science, Yasouj University, Yasouj, Iran
(Received: Oct. 2, 2019 - Accepted: Apr. 25, 2020)

ABSTRACT

In order to investigate the changes of sexual steroids concentrations and expression of their receptors' gene in the testes of Fars native roosters, 24 roosters in the age of 5, 6, 7 and 8 months were selected randomly. In each date of sampling, 6 roosters were slaughtered and blood samples for measuring the concentration of testosterone, estradiol and progesterone, and testis samples for evaluating the level of receptors gene expression of these sexual hormones, were collected. The results indicated that testosterone and progesterone concentrations in the blood of 7 and 8-month roosters were significantly higher compared to 5 and 6-month roosters. The maximum concentration of estradiol in blood was observed in 5 –month roosters and the minimum concentration was observed in 7 and 8-month roosters. The level of testosterone and estradiol receptors gene expression in the testes of 6, 7 and 8-month roosters were increased significantly compared to 5-month roosters, but the level of progesterone receptor gene expression decreased in 6-month roosters compared to 5-month ones. Progesterone receptor gene expression in 7 and 8-month roosters was not changed significantly compared to 5-month roosters. In conclusion the results indicated that both of the testosterone concentration in blood and the expression of its receptor gene in testis, were increased during the sexual maturity period of Fars native roosters but the estradiol concentration decreased while its receptor gene expression increased in the mentioned period.

Keywords: Estradiol, gene expression, roosters, testosterone, testosterone and estradiol receptors.

* Corresponding author E-mail: meamar@yu.ac.ir

مقدمه

نژادهای بومی هر کشور به‌عنوان ذخایر ژنتیکی ارزشمندی هستندکه با توجه به سازگاری داشتن با شرایط اقلیمی خاص هر منطقه، یک منبع درآمد و تامین خوراک برای خانواده‌های روستایی محسوب می‌شوند (Shahri *et al*., 2015). نزدیک به دو دهه است که پژوهش‌های هدفمندی در زمینه شناخت ویژگی‌های تولیدمثلی طیور بومی در کشور آغاز شده است (Meamar & Zamiri, 2005). فعالیت تولیدمثلی پرنده با ورود به دوره بلوغ جنسی آغاز می‌شود (Sturkie, 2016). دوره بلوغ جنسی (Avital-Cohen *et al*., 2013) با پیوبرتی (Puberty) یعنی سنی که برای نخستین بار امکان تولیدمثل فراهم می‌شود، آغاز و با گذشت زمان و تکامل دستگاه تولیدمثلی به بلوغ جنسی (Sexual maturity) ختم می‌شود (Zamiri, 2012). استروئیدهای جنسی و گیرنده‌های آنها نقش بسیار مهمی در تنظیم تولیدمثل خروس دارند (González-Morán *et al*., 2008). حضور گیرنده‌های آندروژنی در سلول‌های لایدیگ، سلول‌های سرتولی و حتی سلول‌های میوئید خروس به اثبات رسیده است (Dorans *et al*., 2008). آندروژن‌ها به‌واسطه حضور گیرنده‌های خود سبب بروز رفتارهای جنسی، رشد ماهیچه‌های اسکلتی و بیضه‌ها نیز می‌شوند (González-Morán *et al*., 2008).

تستوسترون یکی از ترکیبات آندروژنی است که نقش بالایی در تغییر نرخ سوخت‌وساز و سنتز پروتئین در بافت‌ها دارد. از دیگر نقش‌های مهم این هورمون تنظیم فرآیند اسپرماتوژنز است، به‌طوری‌که تقسیم سلول‌های اسپرماتوگونی به‌طور کامل وابسته به غلظت این هورمون در خون است (Gryzińska *et al*., 2011). استروژن از دیگر هورمون‌های جنسی بیضه است که در سلول‌های سرتولی تولید شده و به‌طور نسبی با غلظت بالا در تراوش‌های ریته وجود دارد و گیرنده‌های آن در افرنت و اپی‌دیدیمیس نیز وجود دارد و مهم‌ترین عملکرد آن روی سلول‌های جنسی است. در بیضه‌های کاملاً رشد یافته استروژن سبب تکمیل فعالیت سلول‌های سرتولی و همچنین باعث اتصال سلول‌های جنسی به سلول‌های سرتولی می‌گردد (Hess, 2003). پروژسترون یکی دیگر از هورمون‌های جنسی است که در تنظیم تخمک‌ریزی، رفتارهای جنسی و لانه‌گزینی پرندگان نقش دارد (Johnson *et al*., 1985). گیرنده‌های این هورمون در بافت‌های متعددی نظیر مغز (Camacho-Arroyo *et al*., 2003) تخمدان (González-Morán & Camacho-Arroyo, 2001) اویدوکت (González-Morán & Camacho-Arroyo, 2003) و بیضه (González-Morán *et al*., 2008) پرندگان وجود دارد.

در پژوهشی که به‌منظور بررسی تغییرات LH، تستوسترون و استروژن خون خروس‌های بومی کره‌ای در حال بلوغ انجام شد، بیشینه تراوش این هورمون در هفته ۳۲ و کمینه مقدار آن در هفته دوم مشاهده شد (Tae *et al*., 2005). نشان داده شده است که در خروس‌های مسن کاهش بیان ژن LH و غلظت LH پلاسما با کاهش معنی‌داری در میزان پروژسترون، تستوسترون و استرادیول همراه بوده است (Avital-Cohen *et al*., 2013). بررسی ویژگی‌های تولیدمثلی خروس‌های بومی بالغ کامرونی از لحاظ بلوغ‌جنسی، باروری، غلظت هورمون‌ها و مدت زنده‌مانی اسپرم در دستگاه تولیدمثلی مرغ‌ها نشان داد که مقدار تستوسترون و LH به‌طور معنی‌داری از هفته ۲۰ تا ۳۰ افزایش پیدا می‌کند و در ۴۰ هفتگی نیز کاهش می‌یابد (Tadondjou *et al*., 2014).

استروژن‌ها روی فعالیت‌های بیضه‌ها در پرندگان نر تأثیر می‌گذارد علاوه بر این تعادل بین غلظت استرادیول و سطح بیان گیرنده‌های استروژن اهمیت زیادی برای عملکرد بیضه‌ها دارد در آزمایشی که روی غلظت استرادیول و بیان گیرنده‌های استروژن در بافت بیضه غازهای اهلی در طول چرخه تولیدمثل سالانه انجام گرفت، نشان داده شده که نوسانات فصلی در غلظت استرادیول و بیان ژن گیرنده‌های استروژن (ERα و ERβ) در بیضه‌ها وجود دارد (Leska *et al*., 2015). بیان گیرنده‌های استروئیدی با توجه به سن پرنده می‌تواند تغییر کند و تفاوت‌هایی از این لحاظ بین خروس‌های نابالغ، بالغ و مسن وجود دارد، به‌طوری‌که بیان ژن گیرنده‌های آندروژنی در

خروس‌های بالغ و مسن نسبت به نابالغ کمتر بود، درحالی‌که بیان گیرنده‌های استروژن و پروژسترون در خروس‌های بالغ نسبت به بقیه گروه‌ها بیشتر بود (González-Morán *et al*., 2008) لذا هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی تغییرات گیرنده‌های هورمون‌های استروئیدی در بازه زمانی دوره بلوغ است که در آن پرنده ضمن افزایش سن با تغییرات قابل توجهی در ویژگی‌های تولیدمثلی خود نیز مواجه است. مشخص‌شدن تغییرات غلظت هورمون‌های جنسی و گیرنده‌های آنها می‌تواند در تفسیر رفتارهای جنسی و زمان بروز آنها و همچنین ویژگی‌های تولید مثلی و توانایی باروری پرنده در این دوره مؤثر بوده و برای تصمیم‌گیری‌های مربوط به زمان استفاده از خروس‌ها در گله مرغ مادر و اطمینان از باروری بهینه گله مؤثر باشد، لذا پژوهش حاضر که تاکنون روی خروس‌های بومی فارس انجام نشده است برای رسیدن به اهداف ذکرشده طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۲۴ قطعه خروس بومی فارس با ۴ تیمار و ۶ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی در این پژوهش سن خروس‌ها (۵، ۶، ۷ و ۸ ماهگی) در نظر گرفته شد و در هر تیمار نیز ۶ خروس به عنوان تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شدند. خروس‌ها از سن ۲۰ هفتگی تحت تأثیر برنامه نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفته، و با جیره خروس‌های مولد (۱۲/۲۸ درصد پروتئین و ۲۹۸۰ کیلوکالری انرژی در کیلوگرم) تغذیه شدند.

خروس‌ها در هر نوبت نمونه‌برداری (۵، ۶، ۷ و ۸ ماهگی) کشتار شده و نمونه خون از طریق رگ‌های گردنی جمع‌آوری شد آن‌گاه نمونه‌هایی از بافت بیضه پس از شستشو با سرم فیزیولوژیک و جداسازی بافت جنب بیضه و دیگر بافت‌های همراه برای استخراج ژن‌ها جمع‌آوری و به تانک ذخیره نیتروژن منتقل شدند. بی‌درنگ پس از خون‌گیری نمونه‌های حاوی خون به صورت مورب برای دو ساعت در دمای اتاق قرار گرفتند و بعد از آن به همان صورت برای ۴ ساعت درون یخچال (دمای ۶ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. برای جداسازی سرم خون، نمونه‌ها سانتریفیوژ شده (۲۵۰۰ دور به‌مدت ۷ دقیقه) و تا زمان اندازه‌گیری غلظت هورمون‌های استروئیدی (تستوسترون، استرادیول و پروژسترون) در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. غلظت هورمون‌های استروئیدی با استفاده از دستگاه الایزا ریدر (Biotek, ELX 800, USA) اندازه‌گیری شد. در ارزیابی غلظت هورمون‌های تستوسترون، استرادیول و پروژسترون از کیت‌های الایزای ساخت شرکت آمریکایی مونوبایند به ترتیب با حساسیت ۰/۰۵ pg/ml، ۶/۵ pg/ml و ۰/۰۴ ng/ml استفاده شد.

برای بررسی تغییرات، بیان نسبی mRNA ژن گیرنده آندروژن توالی ژن هدف و بتا-اکتین (به عنوان کنترل داخلی) از پایگاه داده NCBI به‌دست آمد (جدول ۱) سپس آغازگرها توسط نرم‌افزار آنلاین Primer3 Plus طراحی شد. جداسازی RNA کل سلول‌های بیضه با استفاده از کیت RNX-Plus تولیدی شرکت سیناکلون (شماره کاتالوگ، EX6101) انجام شد. غلظت و خلوص RNA با استفاده از اسپکتروفتومتریک تعیین شد و یکپارچگی RNA با استفاده از الکتروفورز تأیید شد. برای سنتز cDNA از کیت WizScriptTM RT Master تولیدی شرکت سیناکلون (شماره کاتالوگ، W2203) استفاده شد. جهت واکنش Real Time PCR از مسترمیکس QuantiFast SYBR® Green PCR ساخت شرکت کیاژن (شماره کاتالوگ، ۲۰۴۰۵۴) استفاده شد و برای تعیین بازده تکثیر از روش منحنی استاندارد استفاده شد. برنامه حرارتی بهینه برای ژن‌های مورد استفاده در واکنش q-PCR در این پژوهش به صورت زیر بود.

واکاوی آماری

تجزیه و تحلیل نتایج پژوهش حاضر در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. بدین منظور محاسبات مربوط به آنالیز بیان ژن‌های هدف با استفاده از نرم‌افزار REST, 2009, V2.0.13 انجام شد و داده‌های مربوط به غلظت هورمون‌های جنسی در خون با استفاده از نرم‌افزار SAS و با رویه PROC GLM آنالیز شدند. سپس میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح آماری ۵ درصد مقایسه شدند.

جدول ۱. اطلاعات مربوط به آغازگر مورداستفاده در Real-time PCR

Table 1. Details of primer sequences used for quantitative real-time PCR

Gene	Sequences Primer	Access number	Annealing temperature (ºC)
Testosterone receptor	5'-AGATCTGTCTGGCAGGCTGT-3' 5'-TGTGACAAGCAATGTGCTGA-3'	AB193190.1	60
Estradiol receptor	5'-TGAGCTGGAGACTCTGAGCA-3' 5'-AGGCTCCCTTTCTCATTGGT-3'	HQ340611.1	65
Progesterone receptor	5'-GTGGTGATGAGGCTTCTGGT-3' 5'-GGACAGCCTTTGCGTTAGAG-3'	NM_205262.1	63
β-Actin	5'-ATGAAGCCCAGAGCAAAAGA-3' 5'-GGGGTGTTGAAGGTCTCAAA-3'	NM_205518.1	60

نتایج و بحث

نتایج آورده‌شده در جدول ۲ در ارتباط با مقایسه میانگین غلظت هورمون‌های استروئیدی در خروس‌های بومی فارس در سنین ۵ تا ۸ ماهگی، نشان داد که غلظت تستوسترون خون در این خروس‌ها با افزایش سن، افزایش یافت به‌طوری که غلظت این هورمون در سنین ۷ و ۸ ماهگی به‌طور معنی‌داری بیشتر از سنین ۵ و ۶ ماهگی بود. بیشینه غلظت استرادیول در خون خروس‌ها در سن ۵ ماهگی مشاهده شد و کمینه غلظت این هورمون در سنین ۷ و ۸ ماهگی مشاهده شد. غلظت استرادیول در خون این خروس‌ها با افزایش سن کاهش یافت به‌طوری‌که در نوبت اول با نوبت‌های دوم، سوم و چهارم تفاوت معنی‌دار داشت. این تفاوت همچنین بین سنین ۶ و ۷ ماهگی، ۶ و ۸ ماهگی نیز مشاهده شد، درصورتی‌که بین سنین ۷ و ۸ ماهگی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج در جدول ۲ همچنین نشان داد که غلظت هورمون پروژسترون با افزایش سن افزایش یافته به‌طوری که کمینه غلظت این هورمون در سنین ۵ و ۶ ماهگی و بیشینه غلظت‌های این هورمون نیز در سنین ۷ و ۸ ماهگی مشاهده شد.

استرادیول آثار گوناگونی بر فرایند اسپرماتوژنز دارد و وجود آن برای اسپرماتوژنز طبیعی مورد نیاز است (Dimitriadis *et al.*, 2015). البته محققان گزارش کرده‌اند که استرادیول باعث کاهش کیفیت اسپرم می‌شود (Verma & Krishna, 2017). در گزارش Ali *et al.* (2017) نشان داده شد که افزایش غلظت تستوسترون با کاهش غلظت استرادیول همراه بوده است. در پژوهشی دیگر گزارش شده‌است که میزان غلظت استرادیول قبل از بلوغ‌جنسی (۲۰ هفتگی) بالا بوده و به‌طور پیوسته با افزایش سن از بلوغ‌جنسی (۲۷ هفتگی) تا اوج باروری (۳۷ هفتگی) کاهش یافته است سپس در هفته‌های ۵۷ و ۶۷ ثابت باقی مانده است اما بعد از آن به‌طور قابل توجهی در ۷۲ هفتگی افزایش پیدا کرده است که نتایج این آزمایش با نتایج به‌دست‌آمده در آزمایش حاضر در سنین مشابه همسو می‌باشد (Weil *et al.*,1999). نتایج گزارش Avital-Cohen *et al.* (2012) نیز نشان داد میزان استرادیول در خون خروس‌های مسن ۹۵ هفته نسبت به خروس‌های ۷۵ هفته کاهش یافت. همین محققین در پژوهش بعدی (Avital-Cohen *et al.*, 2013) نشان دادند که میزان غلظت استرادیول در خروس‌های جوان بین سنین ۳۳ تا ۴۴ هفتگی تغییر معنی‌داری نکرد. در پژوهش Leska *et al.* (2015) گزارش شد که در فصل تولیدمثل غلظت استرادیول ثابت مانده است اما غلظت استرادیول درون بیضه به مراتب بیشتر از غلظت استرادیول پلاسما بود این محققین همچنین نشان دادند که میزان غلظت استرادیول خون در فصل تولیدمثلی بیشتر از فصل غیر تولیدمثلی است. در خروس‌ها، استرادیول با تأثیر بر غده هیپوفیز مانع از تراوش گونادوتروپین‌ها می‌شود (Rosenstrauch, 1991).

کاهش باروری در خروس‌های مسن با کاهش LH و تستوسترون و افزایش استرادیول بیضه و پلاسما همراه است (Rosenstrauch *et al.*, 1998). تستوسترون به‌عنوان یکی از هورمون‌های اصلی در فرآیند تولیدمثل محسوب می‌شود. افزایش آن در پلاسمای خون با بلوغ جنسی همبستگی مثبتی دارد (Baszczyk *et al.*, 2006). در مطالعه Leska *et al.* (2015) نشان داده شد که غلظت تستوسترون خون در پرندگانی که تولیدمثل فصلی دارند در فصل تولیدمثل به‌طور معنی‌داری به بالاترین میزان خود رسیده اما در فصل غیر تولیدمثلی به کمترین میزان خود رسید.

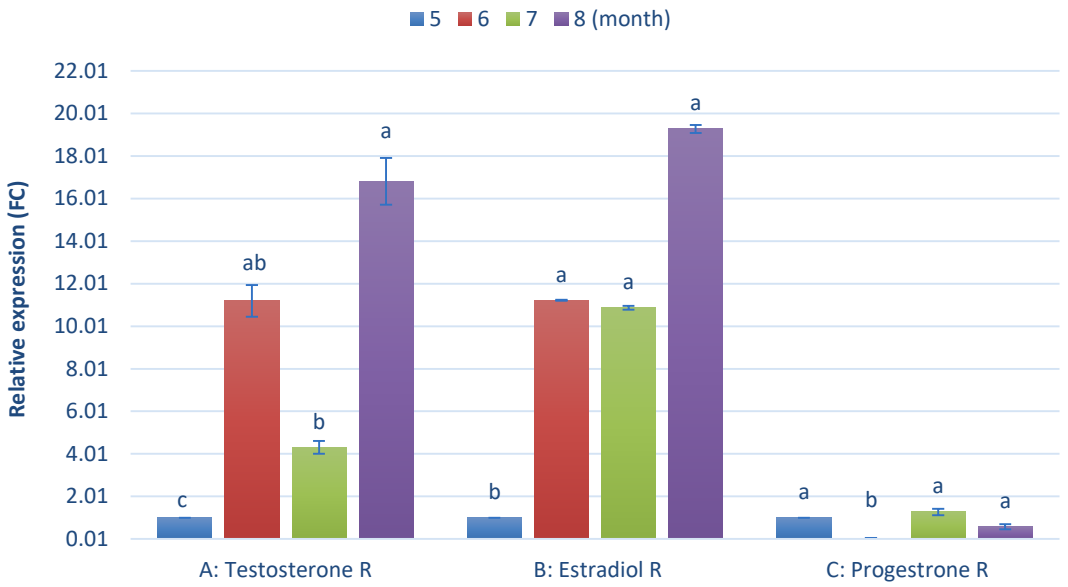
جدول ۲. میانگین (± انحراف معیار) غلظت هورمون‌های جنسی خروس‌های ۵ تا ۸ ماهه بومی فارس.

Table 2. Mean (± standard deviation) of sex hormones concentration in 5th, to 8th-month, Fars native roosters

Hormone	Age (month)			
	5	6	7	8
Testosterone (ng/ml)	1.55 ± 0.34[b]	1.76 ± 0.28[b]	2.11 ± 0.18[a]	2.26±0.22[a]
Estradiol (pg/ml)	41.97 ± 4.43[a]	25.23 ± 2.28[b]	19.59 ± 4.22[c]	15.59±1.78[c]
Progesterone (ng/ml)	0.19 ± 0.02[b]	0.20 ± 0.01[b]	0.28 ± 0.01[a]	0.30±0.02[a]

a،b و c: در هر ردیف، میانگین‌های با حروف غیر همسان اختلاف معنی‌داری دارند (p≤۰/۰۵).

a, b, c: Means with different letters within a row are significantly different (P≤0.05).



شکل ۱. بیان نسبی ژن‌های گیرنده‌های هورمون‌های جنسی در بیضه‌های خروس‌های ۵ تا ۸ ماهه بومی فارس. A: گیرنده تستوسترون. B: گیرنده استرادیول. C: گیرنده پروژسترون. حروف متفاوت بالای ستون‌ها در هر بخش، نشان دهنده تفاوت‌های معنا دار (P≤۰/۰۵) بین ماه‌ها است. FC: چند برابر تغییر، R: گیرنده.

Figure 1. The relative expression of sex hormones genes receptors in the testes of 5th to 8th- month Fars native roosters. A: Testosterone receptor B: Estradiol receptor C: Progesterone receptor. Different letters on the top of the columns in each section, indicate significant differences (P≤0.05) among months. FC: Fold change, R: Receptor.

محققان گزارش کردند که میزان تستوسترون جوجه خروس‌ها از سن ۳ تا ۳۵ هفتگی به تدریج افزایش یافت (Vizcarra *et al.*, 2010). در پژوهشی دیگر Tadondjou *et al.* (2014) گزارش کردند که میزان تستوسترون در سنین ۲۰ و ۳۰ هفتگی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که از این لحاظ با نتایج پژوهش حاضر در خروس‌های بومی فارس مشابهت دارد.

شکل ۱ نشان می‌دهد که میزان نسبی بیان ژن‌های گیرنده‌های تستوسترون و استرادیول در خروس‌های ۶، ۷ و ۸ ماهه نسبت به خروس‌های ۵ ماهه به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است، درحالی‌که میزان نسبی بیان ژن گیرنده پروژسترون در خروس‌های ۶ ماهه نسبت به خروس‌های ۵ ماهه به‌طور معنی‌داری کمتر شده (۰/۰۳۵ برابر) و بیان نسبی این ژن در خروس‌های ۷ و ۸ ماهه نیز نسبت به ۵ ماهه تفاوت معنی‌داری نداشت. این نگاره همچنین نشان می‌دهد که میزان بیان نسبی ژن‌های گیرنده‌های تستوسترون و استرادیول در خروس‌های ۷ و ۸ ماهه نسبت به خروس‌های ۶ ماهه تفاوت معنی‌داری نداشت ولی میزان نسبی بیان ژن گیرنده پروژسترون در خروس‌های ۷ و ۸ ماهه نسبت به ۶ ماهه به‌طور معنی‌داری بیشتر شد. از طرف دیگر شکل ۱ نشان می‌دهد که تنها میزان نسبی بیان ژن گیرنده

تستوسترون در خروس‌ها ۸ ماهه نسبت به ۷ ماهه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و در سایر ژن‌ها (گیرنده‌های پروژسترون و استرادیول) تفاوت معنی‌داری بین خروس‌های ۸ و ۷ ماهه وجود نداشت.

مشاهدات پیشین نشان داد که کاهش بیان گیرنده‌های استرادیول (ER) نقش مهمی در کاهش حساسیت بافت بیضه به استروژن‌ها در فصل تولیدمثلی دارد (Oliveira *et al*., 2004; Canoine *et al*., 2007). آزمایش Opałka *et al*. (2008) نشان داد که میزان بیان mRNA ژن ER در بیضه غازهای گروه شاهد در دوره‌های مختلف تولیدمثلی متفاوت بود . با تغییر سن پرنده نیز میزان بیان ژن ER تغییر می کند به طوری که میزان بیان این ژن در بیضه خروس‌های مسن (۴۸ ماهه) نسبت به خروس‌های بالغ (۱۲ ماهه) کاهش یافت (González-Morán *et al*., 2008). آندروژن‌ها از جمله تستوسترون برای بلوغ، باروری و عملکرد جنسی ضروری هستند. فعالیت بیولوژیکی این هورمون‌ها از طریق گیرنده‌های آندروژن (AR) صورت می‌گیرد. گونادوتروپین‌ها و آندروژن‌ها بیان AR را در غدد تناسلی تنظیم می‌کنند (Centenera *et al*., 2008). محققین نشان داده اند که سامانه‌های تنظیم کننده بیان ژن AR درانواع پرندگان متفاوت است (Kiezun *et al*., 2015). در قناری افزایش سطح mRNA ژن AR در بیضه طی فصل تولیدمثل مشاهده شد (Nastiuk & Clayton, 1994). در مقابل بالاترین سطح mRNA ژن AR در غازهای نر در فصل غیر تولیدمثلی گزارش شد (Leska *et al*., 2015). در مطالعه Kiezun *et al*. (2015) بیان mRNA ژن AR در بیضه بوقلمون‌ها دردوره‌های مشخص فعالیت جنسی افزایش یافته است در این مطالعه میزان بیان mRNA ژن AR در بوقلمون‌ها طی دوره رشد متفاوت بود و بیشترین میزان آن در ۲۰، ۲۴ و ۲۸ هفتگی بوده است. افزایش بیان mRNA ژن AR بیضه با افزایش بیان پروتئین AR در بیضه و افزایش غلظت گونادوتروپین‌های پلاسما و سطح آندروژن پلاسما و بیضه همراه بود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که سطح بالای پروتئین AR در بیضه یک عامل جدایی‌ناپذیر است که باعث بلوغ سیستم تولیدمثلی در نرها می‌شود .بررسی بیان ژن گیرنده آندروژنی در خروس نیز نشان داد که میزان بیان ژن این گیرنده در بیضه‌های خروس‌های بالغ و مسن در مقایسه با جوجه‌های نابالغ کمتر بود (González-Morán *et al*., 2008).

گیرنده‌های جنسی استروئیدی نقش مهمی در تولیدمثل خروس‌ها دارند. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که عملکرد ژن‌های مربوط به گیرنده‌های هورمون‌های جنسی در بیضه جوجه‌های نابالغ، بالغ و مسن توسط استرادیول، پروژسترون و تستوسترون تنظیم می‌شوند و تغییر در گیرنده‌های آنها با تغییرات بافتی و تعداد انواع سلول‌های مختلف در بافت بیضه ارتباط دارد (González-Morán *et al*., 2008). پروژسترون و گیرنده‌های آن نیز نقش مهمی در فیزیولوژی و رفتار نرها دارند (Wagner, 2006). گیرنده‌های پروژسترون در بیضه‌های نابالغ تشخیص داده شده‌اند (González-Morán *et al*., 2008). با این‌حال در دیگر پژوهش‌ها آثار زیان‌بار پروژسترون بر تولیدمثل سایر گونه‌ها نشان داده شده است. موش‌هایی که دارای گیرنده‌های پروژسترون نبودند، دارای بیضه بزرگ‌تر و تعداد بیشتری از سلول‌های لایدیگ و سرتولی بوده و اسپرم بیشتری نیز تولید می‌کردند (Lue *et al*., 2013).

در پژوهش حاضر بررسی کلی روند تغییرات غلظت هورمون‌های جنسی در خون و بیان نسبی گیرنده‌های آنها در بیضه نشان داد که تغییرات غلظت هورمون تستوسترون با تغییرات بیان نسبی گیرنده‌های آن همسو بود، به این‌صورت که با افزایش معنی‌دار غلظت تستوسترون در ماه‌های ۷ و ۸ ماهگی نسبت به ماه ۵، بیان نسبی ژن گیرنده آن نیز در سنین ۷ و ۸ ماهگی نسبت به ماه ۵ به‌طور معنی‌داری افزایش یافت در یک اظهارنظر کلی دلیل افزایش بیان نسبی گیرنده‌های تستوسترون پیروی از الگوی خودتنظیمی هورمون‌ها و گیرنده‌های آنها می‌باشد که در این مورد هورمون تستوسترون سبب افزایش شمار گیرنده‌های خود (Up regulation) در بافت بیضه گردیده است (Zamiri, 2012). از طرف دیگر در دوران بلوغ با افزایش سن پرنده تعداد سلول‌های سرتولی و لایدیگ که دارای گیرنده‌های تستوسترون می‌باشند نیز افزایش می‌یابد که ممکن است دلیل دیگر برای

افزایش بیان نسبی گیرنده‌های هورمون تستوسترون در سنین ۷ و ۸ ماهگی نسبت به ۵ ماهگی باشد (González-Morán *et al*., 2008). در مورد تغییرات بیان نسبی ژن گیرنده استروژن در مقایسه با تغییرات غلظت استرادیول از ماه پنجم تا هشتم دوره بلوغ خروس‌ها نیز همان‌طوری‌که نتایج نشان داد غلظت هورمون استرادیول پلاسما در ماه‌های هفتم و هشتم به‌طور معنی‌داری نسبت به ماه پنجم کاهش یافت، درحالی‌که بیان نسبی ژن گیرنده آن در این مدت روند افزایشی را نشان داد. در این مورد نیز چنین می‌توان گفت که تغییرات یک هورمون در پلاسما از طریق سامانه فیدبک منفی سبب تنظیم گیرندهای آن در بافت‌های هدف خود خواهد شد. به‌نظر می‌رسد کاهش غلظت استرادیول در خون سبب افزایش بیان گیرنده‌های آن گردیده است به‌کمک این سامانه سلول می‌تواند هرچه بیشتر هورمون مربوطه را جذب کند و البته تأثیر غلظت یک هورمون بر تنظیم گیرنده‌های هورمون دیگر می‌تواند فرضیه‌ای دیگر برای توضیح علت افزایش گیرنده استرادیول باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج بررسی تغییرات غلظت هورمون‌های جنسی و گیرنده‌های آن در دوره بلوغ جنسی خروس‌های بومی فارس به‌طورکلی نشان داد که علی‌رغم آغاز دوره بلوغ جنسی خروس‌های بومی فارس در ۵ ماهگی و امکان استفاده آنها در گله‌های مرغ مادر، با توجه به افزایش غلظت هورمون تستوسترون و گیرنده‌های آن و کاهش هم‌زمان غلظت استرادیول خون در سنین ۷ و ۸ ماهگی، استفاده از خروس‌های بومی فارس درگله‌های مرغ مادر از سن ۷ ماهگی به بعد به‌دلیل افزایش غلظت هورمون تستوسترون و گیرنده آن در بیضه، فعالیت‌های تولید مثلی نظیر تولید اسپرم و رفتارهای جنسی نیز افزایش یافته که سبب بهینه‌شدن باروری گله مرغ مادر نیز خواهد.

REFERENCES

1. Ali, E. A., Zhandi, M., Towhidi, A., Zaghari, M., Ansari, M., Najafi, M. & Deldar, H. (2017). Letrozole, an aromatase inhibitor, reduces post-peak age-related regression of rooster reproductive performance. *Animal Reproduction Science*, 183, 110-117.
2. Avital-Cohen, N., Heiblum, R., Argov, N., Rosenstrauch, A., Chaiseha, Y., Mobarkey, N. & Rozenboim, I. (2012). The effect of active immunization against vasoactive intestinal peptide (VIP) & inhibin on reproductive performance of aging White Leghorn roosters. *Poultry Science*, 91(1), 161-174.
3. Avital-Cohen, N., Heiblum, R., Argov-Argaman, N., Rosenstrauch, A., Chaiseha, Y., Mobarkey, N. & Rozenboim, I. (2013). Age-related changes in gonadal & serotonergic axes of broiler breeder roosters. *Domestic Animal Endocrinology*, 44(3), 145-150.
4. Baszczyk, B., Tarasewicz, Z., Udaa, J., Gczarzewicz, D., Stankiewicz, T., Szczerbiñska, D. & Jasieniecka, J. (2006). Changes in the blood plasma testosterone and cholesterol concentrations during sexual maturation of Pharaoh quail. *Animal Science Papers and Reports*, 24(3), 259-266.
5. Camacho-Arroyo, I., Gonzalez-Arenas, A., Gonzalez-Aguero, G., Guerra-Araiza, C. H. & Gonzalez-Moran, G. (2003). Changes in the content of progesterone receptor isoform and estrogen receptor alpha in the chick brain during embryonic development. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 136:447-452.
6. Canoine, V., Fusani, L., Schlinger, B. & Hau, M. (2007). Low sex steroids, high steroid receptors, increasing the sensitivity of the nonreproductive brain. *Developmental Neurobiology*, 67(1), 57-67.
7. Centenera, M. M., Harris, J. M., Tilley, W. D. & Butler, L. M. (2008). The contribution of different androgen receptor domains to receptor dimerization and signaling. *Molecular Endocrinology*, 22, 2373-2382.
8. Dimitriadis, F., Tsiampali, C., Chaliasos, N., Tsounapi, P., Takenaka, A. & Sofikitis, N. (2015). The Sertoli cell as the orchestra conductor of spermatogenesis, spermatogenic cells dance to the tune of testosterone. *Hormones (Athens, Greece)*, 14(4), 479–503.
9. Dorans, R. A., Oliveira, A. G., Dias, M. O., Mahecha, G. A. & Oliveira, C. A. (2008). Comparative expression of androgen receptor in the testis and epididymal region of roosters (*Gallus damesticus*) and drakes (*Anas platyrhynchos*). *General and Comparative Endocrinology*, 155(3),773-779.
10. González-Morán, G. & Camacho-Arroyo, I. (2001). Changes immunohistochemical localization of progesterone receptors isoforms in the chick pre-follicular ovary. *Anatomia Histologica Embroyologia*, 30, 153-158.

11. González-Morán, G. & Camacho-Arroyo, I. (2003). Changes in the presence of progesterone receptors isoforms in the oviduct magnum of newly-hatched chicks after gonadotropins treatment. *Life science*, 73, 871-882.
12. González-Morán, M. G., Guerra-Araiza, C., Campos, M. G. & Camacho-Arroyo, I. (2008). Histological and sex steroid hormone receptor changes in testes of immature, mature & aged chickens. *Domestic Animal Endocrinology*, 35(4), 371-379.
13. Gryzińska, M., Strachecka, A. & Krauze, M. (2011). Concentration of testosterone in blood serum in roosters of the Polbar breed depending on age. *Annales UMCS, Zootechnica*, 29(4), 46-50.
14. Hess, R. A. (2003). Estrogen in the adult male reproductive tract, a review. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 1(1), 5-30.
15. Johnson, P. A., Johnson, A. L. & Van Tienhoven, A. (1985). Evidence for positive feedback interaction between progesterone and luteinizing hormone in the induction of ovulation in the hen (*Gallus damesticus*). *General and Comparative Endocrinology*, 58, 478-485.
16. Kiezun, J., Leska, A., Kaminska, B., Jankowski, J. & Dusza, L. (2015). Expression of the androgen receptor in the testes and the concentrations of gonadotropins and sex steroid hormones in male turkeys (*Meleagris gallopavo*) during growth and development. *General and Comparative Endocrinology*, 214, 149-156.
17. Leska, A., Kiezun, J., Kaminska, B. & Dusza, L. (2015). Estradiol concentration and the expression of estrogen receptors in the testes of the domestic goose (*Anser anser f. domestica*) during the annual reproductive cycle. *Domestic Animal Endocrinology*, 51, 96-104.
18. Lue, Y., Wang, C., Lydon, J. P., Leung, A., Li, J. & Swerdloff, R. S. (2013). Functional role of progestin & the progesterone receptor in the suppression of spermatogenesis in rodents. *Andrology*, 1(2), 308-317.
19. Meamar, M. & Zamiri, M. J. (2005). Seasonal variation of semen characteristics of Fars native chickens. *Journal of Iran Agricultural Science*, 36(3), 581-590. (in Farsi)
20. Nastiuk, K.L. & Clayton, D.F. (1994). Seasonal and tissue-specific regulation of canary androgen receptor messenger ribonucleic acid. *Endocrinology*, 134, 640-649.
21. Oliveira, C. A., Mahech, G. A. B., Crnes, K., Prins, G. S., Saunders, P. T. K., Franca, L. R., & Hess, R. A. (2004). Differential hormonal regulation of estrogen receptors ERα, ERβ & androgen receptor expression in the rat efferent ductules. *Reproduction*, 128(1), 73-86.
22. Opalka, D. L., Leska, M. A. & Kaminska, B. (2008). Oestrogen receptor α & β mRNA expression in the testis of ganders fed diets containing different levels of phytoestrogens. *Journal of Animal Food Science*, 17, 600-607.
23. Rosenstrauch, A. (1991). *Reduced Fertility in Roosters with an Increase in Age, Hormonal Control and Effect of the Antiestrogen, Clomiphene Citrate*. Ph.D. thesis, Ben-Gurion University of the Negev, Beer Sheva, Israel.
24. Rosenstrauch, A., Weil, S., Degen, A. A. & Friedländer, M. (1998). Leydig cell functional structure & plasma Androgen level during the decline in fertility in aging roosters. *General and Comparative Endocrinology*, 109(2), 251-258.
25. Shahri, L., Alijani, S., Janmohammadi, H., Daghigh Kia, H., Bostanchi, P. & Alizadeh, A. (2015). Evaluation the genetically and phenotypic characteristics of internal quality if Azarbayejan native eggs. *Journal of Animal Sciences Researches*, 3(1), 49-55. (In Farsi).
26. Sturkie, P. A. (2016). *Sturkie's Avian Physipology*, (6th ed.). Academic Press, San Diego, USA.
27. Tadondjou, D. A. C., Ngoula, F., Kana, J. R., Mube, H. K. & Teguia, A. (2014). Characterization of reproduction of local barred male chicken of the western highl&s of Cameroon, Sexual maturity, fertility & sperm storage term in female. *Journal of Physiology and Pharmacology Advances*, 4(2), 323-331.
28. Tae, H. J., Jang, B. G., Choi, C. H., Park, Y. J., Yang, H. H. & Kim, I. S. (2005). Changes in the profiles of serum LH, testosterone, estrogen & IGF-I during sexual development in male Korean native chickens. *Korean Journal of Poultry Science*, 32(2), 135-141.
29. Verma, R. & Krishna, A. (2017). Effect of Letrozole, a selective aromatase inhibitor, on testicular activities in adult mice, both *in vivo* & *in vitro* study. *General and Comparative Endocrinology*, 241, 57-68.
30. Vizcarra, J. A., Kirby, J. D. & Kreider, D. L. (2010). Testis development & gonadotropin secretion in broiler breeder males. *Poultry Science*, 89(2), 328-334.
31. Wagner, C. K. (2006). The many faces of progesterone, a role in adult & developing male brain. *Neuroendocrinology*, 27(3), 340-359.
32. Weil, S., Rozenboim, I., Degen, A. A., Dawson, A., Friedländer, M. & Rosenstrauch, A. (1999). Fertility decline in aging roosters is related to increase testicular & plasma levels of estradiol. *General and Comparative Endocrinology*, 115(1), 23-28.
33. Zamiri, M. J. (2012). *Reproductive Physiology*. (3th ed.). Hagh Shenas Publishing. (in Farsi)