مجله علوم کشاورزی ایران

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی
دانشگاه تهران

د ۳۸ | شماره ۱ | سال ۱۳۸۶ | ISSN 1017-5652

ات لرستانی، محمود امید، احمد طباطبائی فر، علیمحمد برقعی و سعید باقری شورکی: طراحی و ارزیابی یک سیستم هوشمند درجه بند سیب لیشز با منطق فازی ۱

کهنه، محمد رضا حق پرست تنها، حسن رمضانپور، احمد شیرین فکر و پریسا علیزاده: بررسی اثر قارچ‌های میکوریزای آربوسکولار و فسفر بر جذب فسفر توسط نهال چای در خاک استریل ۱۱

حسین کیان‌مهر، اسداله حجازی، سیدرضا حسن‌بیگی بیدگلی و غلامعلی اکبری: بررسی اثر دمای هوای ورودی و عمق خشک‌کن بستر ثابت گاهی بر میزان ترک‌خوردگی پوست دو رقم بذر سویا ۱۹

سین پیمان، رضا روحی، محمدرضا علیزاده و سعید مینایی: بررسی اثر رقم ، رطوبت و زمان عملیات برسفید کردن برنج ۲۷

کافی، مرتضی عسکر زاده و سید امیر منصوری: اصول ایمن سنجی در طراحی پارکها ۳۳

خلیقی، یعقوب حجتی، مصباح بابالار و روح انگیز نادری: بررسی اثر نسبت های مختلف عناصر N , P, K بر صفات کمی و کیفی سوخ و در لاله (Tulip cv: hybrid darwin Apledoorn) ۳۹

هبری، محمدافشار اصل، عبدالمجید لیاقت و سید جلال جبلی: شبیه سازی انتقال نیترات به آبهای زیرزمینی ۴۷

شورنگ و علی نیکخواه: تعیین تجزیه‌پذیری ماده خشک و دیواره سلولی برخی از علوفه‌های مرتعی به روش کیسه‌های نایلونی و درون شیشه‌ای ۵۷

تشی، محمد مرادی شهربابک و احمد مقیمی اسفندآبادی: بررسی روند تغییرات تولید شیر در طول دوره شیردهی با استفاده از توابع ریاضی در هلشتاین ایران ۶۷

رشامی، کیم چنگ و حسین اسماعیل زاده: اثرات جهش-ژن «rc» بر خصوصیات سیمن، بافت اسپرماتوژنیک و میزان تستوسترون خون در های نابینا ۷۷

درزی، مجتبی شقاقی، عقیل یاری و رستم پهلوان: ارزیابی روش چاهک وارونه و آنالیزهای پرامتر گلف به منظور برآورد هدایت هیدرولیکی اکهای لومی ۸۵

وذری گزافرودی، بابک ربیعی، رحیم هنرنژاد و صادق پورمرادی: بررسی شاخص‌های انتخاب در ارقام برنج ۹۳

محمدزاده میلانی، زهرا امام جمعه، محمد صفری و منوچهر حامدی: بهینه سازی شرایط استخراج صمغ از گیاه باریجه (Ferula galbar ۱۰۵

ری چایجان، محمدهادی خوش‌تقاضا، غلامعلی منتظر و سعید مینایی: تخمین رطوبت لایه‌های شلتوک در انتهای مرحلهٔ خشک‌شدن به کمک ی عصبی مصنوعی ۱۱۳

هراب‌وندی، محمدعلی موسوی، محمدرضا احسانی، زهرا امام جمعه و امیر مرتضویان: بررسی اثر همگن کردن و پایدار کننده ها بر خواص ریزساختاری دسر خامه‌ای ۱۲۵

جیدی شیلسر، جعفر ارشاد، فریدون پاداشت: معرفی و مطالعه بیماریزایی دو گونه قارچ *Beauveria bassiana* و *Metarhizium aniso* درکرم ساقه‌خوار نواری برنج *Chilo suppressalis* Walker(Lep.,Pyralidae) در گیلان ۱۳۵

فرجی، احمد خیری، سید محمود اخوت و غلامرضا نیکنام: بررسی تعامل نماتد مولد گره ریشه گونه *Meloidogyne javanica* و قارچ *Fusarium oxysporum* روی دو رقم لوبیا در شرایط گلخانه ۱۴۵

جهادی، محمد رضا احسانی، ثریا نواب پور و مهناز هاشمی روان: بررسی میزان باز پس زنی ترکیبات شیر توسط غشاء اولترافیلتراسیون ۱۵۳

هبازی و حسن توفیقی: اثر رژیمهای رطوبتی مختلف بر پتاسیم تبادلی خاک ۱۶۱

دریان، محمد جوان نیکخواه و عباس شریفی تهرانی: بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت قارچ *Aspergillus flavus* Link بر اساس گروه‌های رویشی در منطقه پسته کاری استان کرمان ۱۷۳

مجله علوم کشاورزی ایران
جلد ۳۸، شماره ۱، سال ۱۳۸۶ (۸۳-۷۷)

اثرات جهش ژن «rc» بر خصوصیات سیمن، بافت اسپرماتوژنیک و میزان تستوسترون خون در خروس‌های نابینا

جواد آرشامی*[۱]، کیم چنگ[۲] و حسین اسماعیل زاده[۳]
۱، ۳، عضو هیأت علمی و کارشناس ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲، استاد، دانشگاه بریتیش کلمبیای کانادا
(تاریخ دریافت: ۸۴/۷/۱۹- تاریخ تصویب: ۸۵/۴/۱۴)

چکیده

تعداد ۱٤ قطعه خروس بینا (R^+c/R^+c) و۱٤ قطعه خروس نابینا (r^-c/r^-c) نژاد Rhode Island Red (RIR) در این مطالعه استفاده شد تا اثرات جهش ژن rc در گروه نابینا بر خصوصیات سیمن، میزان تستوسترون خون و بافت اسپرماتوژنیک مورد ارزیابی قرار گیرد. خروس‌ها بطور تصادفی از هر گله بینا و نابینا در سن ۱۲ هفتگی و در شرایط یکسان انتخاب شده و در ۲ قفس بطور مجزا غذای معمول و نور کافی (L:۸ D ١٦) دریافت نمودند. سیمن در هفته‌های ۱۲ تا ۱۸ دوبار در هفته جمع‌آوری گردید و سپس حجم(SV)، غلظت (SC)، تعداد کل اسپرم (TSC)، درصد تحرک اسپرم (SM%)، درصد اسپرم مرده(DS%) وفعالیت متابولیکی اسپرم (SMA) آنها ارزیابی شدند. جهت تعیین غلظت تستوسترون (TC) خون ازجوجه‌ها در سنین ۱۲، ١٦و ۱۸ هفتگی خونگیری به عمل آمد. در پایان دوره‌ی آزمایش (هفته‌ی ۲۰) بافت بیضوی از هر پرنده جمع‌آوری و پس از مراحل بافت شناسی، قطر لوله سمینوفروس (STD)، تعداد اسپرماتید دایره‌ای (RSN)، درصد اسپرم طویل شده (ES%) و طول لوله سمینو فروس(STL) مورد سنجش قرار گرفت. وزن بدن (BW)، بیضه‌ها(TW) و تاج (CW) در هفته‌ی ۲۰ نیز توزین شدند. نتایج بدست آمده افزایش معنی‌دار SV، TSC و SM% در گروه بینا در مقایسه با گروه نابینا را نشان داد (P<۰/۰۵)، در حالیکه DS% بطور معنی‌داری در گروه نابینا افزایش داشت (P<۰/۰۵). میزان SC بین دو گروه تفاوت معنی‌داری نداشتند اما مقدار آنها در خروس‌های بینا بیشتر بود. فعالیت متابولیکی اسپرم در ساعت اول اندازه‌گیری تفاوت معنی‌داری نشان نداد اما بعد از ٢٤ساعت میزان SMA در گروه بینا بطور معنی‌داری افزایش نشان داد (P<۰/۰۵). به استثنای هفته آخر، سطوحTC بین دو گروه در دوره‌های مختلف تفاوت معنی‌داری نشان ندادند اما میزان آنها همواره در گروه بینا بیشتر بودند. در ارزیابی بافت اسپرماتوژنز میزانSTD، RS_N،ES%وSTL در گروه بینا بیشتر بود اما اختلاف آنها معنی‌دار نبود، به استثناء $\%ES$. هم چنین تفاوت معنی‌داری بین دو گروه برایBW، TW و CW مشاهده نشد اما مقادیر آنها در گروه بینا بیشتر از گروه نابینا بودند. محاسبات آماری خصوصیات سیمن، بافت شناسی، سطوح تستوسترون و سایر فاکتورها ،اثرات بالقوه جهش ژن rc درخروس‌های نابینا را بعلت عدم دریافت نور ثابت می‌کند.

واژه‌های کلیدی: جهش ژن rc، خصوصیات سیمن، بافت اسپرماتوژنز، هورمون تستوسترون، خروس نابینا

* نویسنده مسئول: جواد آرشامی تلفن:۰۵۱۱-۸۵۴۲۵۵۷ E-mail:Arsganuhavad@hotmail.com

مقدمه

تاکنون چندین تحقیق در رابطه با نارسایی‌های تولید مثلی حاصل ازاختلالات ژنتیکی انجام شده است. پدیده ژن *rc* که نمایانگر جهش مغلوب آتوزومی است در تحلیل گیرنده‌های نوری شبکیه (Retinal) اولین بار توسط Cheng و همکارانش در جوجه‌های سویه (RIR) Rhode Island Red گزارش شد (۹) . مطالعه دیگرنشان داد که جهش ژن *rc* در جوجه‌های مذکور موجب کاهش شدید سطوح آنزیم GCAP می‌گردد و بر فعالیت آنزیم گوآنیلات سیکلاز(cG) که مستقیماً فعالیت cGMP را کنترل می‌کند، اثر نموده موجب تخریب بافت رتینال و در نتیجه نا بینا یی را در پرنده ایجاد می کند(۲۵). هم چنین Ruckebusch و همکاران (۲۲) گزارش نمودند که عملکرد cAMP و cGMP موجب افزایش میزان کلسیم آزاد در داخل سلول شده در نتیجه با پروتئین کالمادولین (calmodulin) تشکیل کمپلکس کالمادولین ـ کلسیم را می‌دهد. این پروتئین سیستم آنزیم‌های پروتئینی را که مسئول ترشحات خاص سلولی مانند الکترولیت‌ها، هستند، فعال می‌سازد. پیام‌های متفاوت دیگری توسط cGMP حمل می‌شود که بستگی به نوع بافت (مانند اپیتلیوم روده‌ای، قلب، رگ‌های خونی مغز و لوله‌های جمع کننده ادرار در کلیه) دارد (۱۵). سایر مطالعات نشان داده‌اند که جهش ژن *rc* علاوه بر تخریب سلولهای استوانه‌ای (Rode) و مخروطی (Cone) در لایه شبکیه چشم و تولید نابینایی بر غدد کلیه، کبد، تیروئید و گنادهای پرنده (بر اثر عدم دریافت نور تحلیل می‌شوند) نیز اثر می‌گذارد (۷، ۲۱). هدف ازاین تحقیق بررسی اثرات جهش ژن *rc* بر خصوصیات اسپرم، بافت اسپرماتوژنز و سطح تستوسترون خون در جوجه خروس‌های نژاد RIR است.

مواد و روش‌ها

پرندگان ـ در این مطالعه خصوصیات تولید مثلی شامل ارزیابی Semen، بافت اسپرماتوژنز، سطح تستوسترون خون، وزن بدن، تاج و بیضه‌ها در جوجه خروسهای سویه Rhode Island Red(RIR) که تعدادی از آنها در اثر جهش ژن rc از هفته‌ی ۱۰ به بعد نا بینا شده و قادر به دریافت نور نیستند، با گروه بینا ازهمین سویه مقایسه گردیدند. یک کلنی از جوجه‌های نابینا($RIR;r^{-}$) $c/r^{-}c$ و یک کلنی از جوجه‌های بینا ($RIR;R^{+}c/R^{+}c$) از مرکز تحقیقات ژنتیک پرندگان در دانشگاه Columbia British در کشور کانادا مورد استفاده قرار گرفتند.

تعداد ۲۸ قطعه جوجه خروس از دو گله $r^{-}c/r^{-}c$ و $R^{+}c/R^{+}c$ با شرایط یکسان در سن ۱۰ هفتگی انتخاب و در بستر به صورت دو قفس مجزا نگهداری شدند. جوجه‌ها مطابق معمول غذا، آب و نور (۸D : ۱۶L) دریافت نمودند.

نمونه‌گیری خون- به منظور تعیین سطح تستوسترون خون در جوجه خروس‌ها در هفته‌های ۱۲، ۱۶ و ۱۸ میزان ۱ CC خون توسط لوله Vaccutainer از سیاهرگ زیربالی جمع آوری و پس از جداسازی سرم، در ($-۲۰C^{o}$) منجمد گردیدند تا در پایان مطالعه سنجش هورمونی انجام گیرد .

نمونه‌گیری Semen- جمع‌آوری semen از هر جوجه در هفته‌های ۱۶ تا ۱۸ دو بار در هفته به فاصله ۳ روز انجام شد (۶). هر نمونه جمع آوری شده به منظور اندازه‌گیری حجم سیمن (SV)، درصد تحرک اسپرم (%SM)، غلظت اسپرم (SC)، تعداد کل اسپرم در هر انزال (TSC)، درصد اسپرم مرده (%DS) و فعالیت متابولیکی اسپرم (SMA) مورد ارزیابی قرار گرفت. هر نمونه، ابتدا توسط ویال Cryovac جمع آوری و سپس حجم آن توسط سرنگ Tuberculin با دقت۰/۰۱ میلیمتر اندازه‌گیری شد. برای تعیین درجه تحرک اسپرم ابتدا هر نمونه با سه برابر حجم آن از محلول بافر BPSE (Beltsville Poultry Semen Extender) رقیق شد (۲۶). سپس یک قطره از محلول رقیق شده را روی اسلاید قرار داده و توسط تیغه اسلاید پوشاندیم. چندین ناحیه از اسلاید مربوطه زیر میکروسکوپ نوری (بزرگنمایی×۴۰) بر اساس طبقه‌بندی (۱۹۵۹) Wilcox ارزیابی شدند (۲۹). تعیین غلظت اسپرم توسط رقیق شدن آن با BPSE به نسبت ۱:۹۹ (اسپرم 10^{9}/ml) انجام شد و سپس با استفاده از هموسیتومتر شمارش گردید (۱۸). تعداد کل اسپرم در هر انزال توسط (حجم × غلظت اسپرم) بدست آمد. درصد

اسپرم زنده نیز توسط رقیق نمودن نمونه با BPSE به نسبت ۱:۷۹ و مخلوط نمودن آن با یک قطره رنگ Eosin-nigrosin (EN) انجام گردید. سلول‌های مرده اسپرم نسبت به EN نفوذپذیر بوده به رنگ صورتی و سلولهای زنده به رنگ سفید در می‌آیند. درصد سلولهای مرده و زنده از طریق قرار دادن قطره‌ای از نمونه رنگ آمیزی شده بر روی هموسیتومتر و شمارش آنها در زیر میکروسکوپ نوری (بزرگنمایی × ۱۰۰۰، با استفاده از قطره روغن) محاسبه شد. گزارش DS% به این صورت انجام گرفت که ابتدا تعداد ۲۰۰ سلول مرده و زنده شمارش شد و سپس نسبت درصد آنها محاسبه گردید (۱۸).

تعیین فعالیت متابولیکی اسپرم- بدین منظور ابتدا نمونه Semen به نسبت ۱:۳ با BPSE رقیق شد، سپس درصد میزان تولید Formazan درساعت اول و۲۴ ساعت پس از زمان جمع آوری نمونه توسط اسپکتروفتومتر مطابق با روش Chaudhuri and Wishart اندازه‌گیری شد (۸). ابتدا تعداد مول فورمازان تولید شده (X) در طی فعالیت اسپرم با استفاده از معادله تابعیت برای طول موج ۵۲۰ محاسبه شد که برابر است با :

$y = A_{۵۲۰}$

$X_{۵۲۰} = -۰/۰۱۰۵ + ۰/۰۱۳۲A$

۱۰^{۹}/ml عدد اسپرم/ دقیقه/ تعداد مول فورمازان= (SMA) فعالیت متابولیکی اسپرم

۲۵/۶/ غلظت اسپرم/۲۰X/ = فعالیت متابولیکی برای یک نمونه خاص

مطالعه بافتی- در آخر هفته ۲۰، پرندگان ابتدا توزین (BW) و سپس توسط ماده بیهوش کننده پنتوباربیتال کشته شدند و بلافاصله اعضای داخلی بدن آنها مورد معاینه قرار گرفتند. هم چنین وزن تاج و بیضه‌ها در هر خروس پس از جدا سازی، تعیین گردید.

درمطالعه بافتی ابتدا بیضه راست هر خروس جدا نموده بعد از شماره گذاری بلافاصله درمحلول بافری فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت و سپس به قطعات ۵×۱۰×۱۰ میلیمتر تقسیم شده و به مدت ۳ روز در محلول مربوطه باقی ماند (مرحله Fixation). بعد از این مرحله نمونه‌های بافتی به ترتیب درمحلول الکل و زایلین آبگیری (Dehydration)، سپس فیلتراسیون و نهایتاً در واکس پارافین ذخیره (Embeding) شدند (۱). نمونه‌های بافتی به ضخامت ۴ میکرون تهیه و در محلول ائوزین و هموتاکسیلن (H+E) رنگ آمیزی شدند. سپس از هر گروه ۲۰ عدد لوله دایره‌ای سمینوفروس انتخاب و قطر (STD) هر یک توسط قطعه چشمی کالیبر شده میکروسکوپ که دارای میکرومتر بود ، اندازه‌گیری شد. تعداد اسپرماتید دایره‌ای (RSN) و درصد اسپرماتید طویل (ES%) در یک گرم بافت بیضوی شمارش و طول کلی لوله سمینوفروس (STL) در هر گروه اندازه‌گیری شدند. (۴، ۵)

تجزیه داده‌ها- همه داده‌های بدست آمده از خصوصیات semen ، سطح تستوسترون و اندازه‌گیری بافتی توسط آنالیز لاتین اسکوار با استفاده از نرم افزار JMP (۲۳) انجام شد وبرای مقایسه میانگین دو گروه از آزمون دانکن استفاده گردید (۲۷). برای تبدیل داده‌هایی که بصورت درصد گزارش شده اند از فرمول $p= \text{Arc} \sin \sqrt{p\%}$ استفاده شد.

نتایج و بحث

در این مطالعه خصوصیات تولید مثلی در جوجه خروس های سویه RIR که تحت تأثیر جهش ژن rc نابینا شده بودند ($r^{-}c/r^{-}c$) با جوجه خروس های بینا در همین سویه ($R^{+}c/R^{+}c$) مقایسه گردید.

I. خصوصیات Semen

آنالیز آماری داده‌ها کاهش حجم semen ، تعداد اسپرم در هر انزال، درجه تحرک اسپرم و افزایش درصد اسپرم ناهنجار در پرندگان نابینا را در مقایسه با پرندگان بینا نشان داد ($p< ۰/۰۵$). غلظت و فعالیت متابولیکی اسپرم در گروه بینا بیشتر از پرندگان نابینا بود، اما این تفاوت معنی‌دار نبود (جدول ۱).

نتایج بدست آمده مشخص می‌کند که خصوصیات semen درپرندگان نابینا بعلت عدم دریافت نور به طور معنی داری تغییر نموده است. سروتی و همکاران (۱۹۹۷) گزارش نمودند که گنادهای نر و ماده در پرندگان نابینا به دلیل دریافت نکردن نورکه تحت تأثیر جهش ژن *rc* بوجود

می آید دیر به مرحله بلوغ می‌رسند(۷). سایر مطالعات نشان داده‌اند که جهش ژن ***rc*** فعالیت cGMP را کاهش داده، در نتیجه کلسیم در داخل سلول آزاد می‌شود (۲۵). هم چنین گزارش شده است که کلسیم برای تحریک پذیری غشای سلولهای بیضه مورد نیاز می‌باشد (۳). این یافته‌ها نمایانگر عدم دریافت نور بر اثر جهش ژن ***rc*** بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی اسپرم در دوره بلوغ می‌باشد. دیگر تحقیقات پیشنهاد می‌کنند که پروتئین تنظیم کننده کلسیم یا کالما دولین در امر تولید لایه آکروزوم اسپرم نیز دخالت دارد (۲۰). نتایج این مطالعه وجود درصد بالای اسپرم ناهنجار و درصد پائین اسپرم زنده را بعلت عدم دریافت نور در اثر جهش ژن ***rc*** تأیید می‌کند. سایر مطالعات دریافتند که تحرک اسپرم در درجه حرارت بدن پرنده بستگی به میزان کلسیم دارد (۱۰). اثرات کلسیم بقدری است که غلظت بالای آن می‌تواند تحرک از دست رفته اسپرم را که در اثر افزایش درجه حرارت بدن پرنده بوجود می‌آید ترمیم کند (۲). در این مطالعه درجه پایین تحرک اسپرم ممکن است بعلت کاهش غلظت cGMP و هم چنین کاهش میزان کلسیم خون باشد که موجب تفاوت معنی دار آن بین دو گروه بینا و نابینای جوجه‌ها شده است ($P<0/05$).

نتایج بدست آمده در این مطالعه کاهش معنی دار غلظت فورمازان ودر نتیجه فعالیت متابولیکی اسپرم را در ۲۴ساعت اول جمع آوری در پرندگان نابینا در مقایسه با پرندگان بینا نشان داد ($P<0/05$). هم چنین بعلت کاهش کلی تولید semen در گروه نابینا در مقابل گروه بینا معدل کل اسپرم در هر انزال در پرندگان بینا به طور معنی داری بیشتر از پرندگان نابینا بود ($P<0/05$) . سایر محققین طی مطالعات خود دریافتند که بین غلظت و تحرک اسپرم و هم چنین حجم semen با تحرک و درصد اسپرم زنده رابطه مثبت وجود دارد (۱۶). هم چنین آنها بین حجم semen ، تحرک اسپرم و اکسیژن مصرفی با درصد اسپرم ناهنجار رابطه منفی مشاهده کردند. بنابراین می توان چنین بیان کرد که جهش ژن ***rc*** در جوجه های نابینا ممکن است سبب کاهش خصوصیات کیفی و کمی semen گردد.

جدول ۱- میانگین خصوصیات سیمن در خروس‌های نابینا و بینا

گروه/ خصوصیات سیمن*	نابینا (rc-/rc-)	بینا (R^+c/R^+c)
حجم/ cc	۰/۴۱±۰/۰۴ ^{b}	۰/۸۰±۰/۰۴ ^{a}
غلظت 10^9 / cc	۱/۴۲±۰/۱۰ ^{a}	۱/۵۲±۰/۱۰ ^{a}
کل تعداد اسپرم / انزال/ 10^9	۰/۷۲±۰/۱۶ ^{b}	۱/۳۹±۰/۱۶ ^{a}
تحرک اسپرم (٪)	۱/۵۲±۰/۱۱ ^{b}	۲/۲۲±۰/۱۱ ^{a}
اسپرم زنده (٪)	۷۱/۱۰ ^{b}	۷۹/۰۱ ^{a}
اسپرم مرده (٪)	۱۶/۹۰ ^{b}	۱۳/۵۵ ^{a}
فعالیت متابولیکی اسپرم (n mol/min/10^9/ml) ساعت اول	۹/۵۸±۰/۸۰ ^{a}	۱۰/۹۳±۰/۷۸ ^{a}
فعالیت متابولیکی اسپرم (n mol/min/10^9/ml) ساعت ۲۴	۸/۸۵±۰/۷۳	۱۱/۷۲±۰/۷۳ ^{a}

^{ab}(±SE) معدل در هر ردیف با حروف مختلف دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P<0/05$)

II. بافت اسپرماتوژنز

مطالعه بافت بیضه‌ها در این تحقیق نشان داد که STD در پرندگان نابینا به طور قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت. طول کل لوله‌های سمینوفروس (STL) در گروه بینا در مقایسه با گروه نابینا افزایش نشان داد. درصد اسپرماتیدهای طویل شده (%ES) درلوله‌های سمینوفروس پرندگان نابینا نسبت به گروه بینا کاهش معنی‌داری داشت ($P<0/05$). هم چنین تعداد اسپرم دایره‌ای (RSN) در هر گرم بافت بیضه در گروه نابینا در مقایسه با گروه بینا کاهش نشان داد (جدول ۲).

جدول ۲- میانگین خصوصیات بافت اسپرماتوژنز در خروس‌های بینا و نابینا

گروه/خصوصیات بافت اسپرماتوژنز	طول لوله سمینوفروس (متر)	اسپرم طویل شده (٪)	اسپرماتید دایره‌ای (تعداد/گرم)	قطر لوله سمینو فروس (µ)
بینا (R^+c/R^+c)	۱۹۶/۸±۳۲ ^{a}	۸۳±۶۰ ^{a}	۱/۹۵±۰/۷۳ ^{a}	۲۵۲/۶±۴۷/۴ ^{a}
نابینا (r^-c/r^-c)	۹۸/۸±۳۳ ^{a}	۴۳±۸۰ ^{b}	۰/۵۲±۰/۴۱ ^{a}	۲۰۹/۹±۵۳/۳ ^{a}

^{ab}(±SE) معدل در هر ردیف با حروف مختلف دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ($P<0/05$)

مطالعه بافت شناسی در پرندگان نابینا (r^-c/r^-c) نشان داد که ناهنجاری در بافت بیضه ممکن است مربوط به ژن *rc* باشد، زیرا بیضه‌های این پرندگان تخریب شدیدی در سطح سلولهای STD، STL، %ES و RSN در مقایسه با پرندگان بینا (R^+c/R^+c) نشان دادند. بنابراین کاهش در مقادیر فاکتورهای بافتی نمایانگر تأخیر در رشد جنسی در خروس‌های نر (r^-c/r^-c) می‌باشد. این یافته‌ها با نتایج Cerruti et. al.,(۱۹۷۷) که تأخیر در بلوغ و تمایز سلولهای جنسی پایه را درجوجه خروس‌های جوان گزارش نمودند، هم خوانی دارد (۷) . سایر تحقیقات نشان دادند که ناهنجاری لایه سارکولمای سلولهای ماهیچه قلب در جوجه‌های نابینا بدلیل کاهش فسفوتیدیل‌کولین و فسفولیپید آنها می‌باشد و این امر در اثر عدم جذب کولین توسط سلولهای مربوطه اتفاق می‌افتد (۲۱). هم چنین فسفوتیدیل‌کولین برای رشد و نمو حیوانات جوان و حتی جنین نیز مورد نیاز می‌باشد (۱۹). از این رو ممکن است جهش ژن rc در جوجه‌های نر، بوسیله ایجاد اختلال در محیط فیزیولوژیکی اسپرماتوسیت موجب تأخیر در رشد STL، STD، %ES و RSN گردد. بنابراین، تحقیقات بیشتری در زمینه اثرات جهش ژن rc بر اسپرماتوژنز با استفاده از میکروسکوپ الکترونی مورد نیاز است تا بتوان عملکرد دقیق آن را در سطح سلولی مشخص نمود.

III . سطوح خونی تستوسترون و وزن بدن، تاج و بیضه‌ها

محاسبات آماری تفاوت معنی‌داری برای سطوح خونی تستوسترون بین دو گروه r^-c/r^-c و R^+c/R^+c در سنین ۱۴، ۱۶و ۱۸ هفتگی نشان ندادند (جدول ۳). میزان BW در آخر آزمایش در جوجه‌های بینا (R^+c/R^+c) بیشتر بود ؛ اما این تفاوت معنی‌دار نبود. هم‌چنین میزان CW بطور معنی‌دار در جوجه‌های نابینا (r^-c/r^-c) در هفته ۲۰ کاهش نشان داد ($p < 0/05$). میزان TW در جوجه‌های بینا در مقایسه با جوجه‌های نابینا افزایش بیشتری نشان داد.

طبق مطالعات انجام شده، غلظت تستوسترون در خون و بیضه پرندگان با فعالیت دستگاه تولید مثل رابطه مثبت دارد (۱۴) و ممکن است مقدار آن از ۵/ng/۱۰۰ml. (در پرندگان کوچک، Starling) تا ۹۴۲/ng/۱۰۰ml. (در خروس بالغ) باشد (۲۸ و ۲۴ به ترتیب) که این امر بستگی به فصل جفت‌گیری دارد. یافته‌های این مطالعه سطوح مشابه تستوسترون را تا ۱۸ هفتگی در پرندگان بینا نشان میدهند؛ اما پرندگان نابینا بعلت جهش ژن *rc* و تأخیر در بلوغ، سطوح تستوسترون پایین‌تری داشتند؛ ولی در هفته ۱۸ میزان تستوسترون در این پرندگان هنوز افزایش نشان می‌دهد. البته سایر محققین دریافتند که سطوح تستوسترون زمانی به بالاترین سطح خود می‌رسند که پرنده در معرض روشنایی کامل قرار گیرند حتی اگر بیضه‌های پرنده ۱/۴ وزن واقعی خود باشند (۱۲). هم چنین گزارش شده است که افزایش میزان تستوسترون در پرندگان قبل از کاهش وزن بیضه‌ها اتفاق می‌افتد (۱۱). در این مطالعه بعلت تعداد کم پرندگان مورد آزمایش، میزان خطای سطوح تستوسترون نسبتاً زیاد می‌باشد در غیر اینصورت امکان معنی‌دار بودن آن بین دو گروه وجود داشت.

جدول ۳- میانگین غلظت تستوسترون پلاسمای خون در خروس‌های بینا و نابینا

گروه/ سن (هفته)	بینا (R^+c/R^+c)	نابینا (r^-c/r^-c)
۱۲	۰/۸۹±۰/۱۵[a]	۰/۵۸±۰/۱۰[a]
۱۶	۱/۰۷±۰/۲۲[a]	۰/۴۷±۰/۱۵[a]
۱۸	۱/۷۸±۰/۳۲[a]	۱/۱۹±۰/۴۷[a]

(±SE)[ab] معدل در هر ردیف با حروف مختلف دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵)

جدول ۴- میانگین وزن بیضه‌ها، وزن تاج و وزن بدن در خروس‌های بینا و نابینا

گروه/وزن بدن، تاج و بیضه‌ها	وزن بیضه‌ها (گرم)	وزن تاج (گرم)	وزن بدن (کیلوگرم)
بینا (R^+c/R^+c)	۳۳/۰۳±۰/۶۴[a]	۱۶/۶۲±۳/۶[a]	۲/۵۸±۰/۱۲[a]
نابینا (r^-c/r^-c)	۱۶/۰۵±۵/۴۲[a]	۱۲/۹۶±۴/۴۳[a]	۲/۲۲±۰/۰۷[a]

(±SE)[ab] معدل در هر ردیف با حروف مختلف دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵)

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که *BW* و *CW* در پرندگان بینا در طی دورهٔ آزمایش بدلیل زیاد شدن میزان تستوسترون افزایش یافته است. در حالیکه این افزایش برای

گروه نابینا بعلت تأخیر در بلوغ کمتر می باشد، هر چند این تفاوت معنی‌دار نیست (جدول۴). همچنین گزارش شده است که *TW* در پرندگان جوان بستگی به میزان نور و مرحله رشد آنها دارد (۱۳،۱۷). در مطالعه ما، بعلت اینکه پرندگان نابینا نمی‌توانستند مستقیماً نور دریافت کنند، در نتیجه *TW* در آنها کمتر از گروه بینا بود؛ اگر چه سن در هر دو گروه مشابه بود.

سپاسگزاری

اعتبار مالی این مطالعه توسط دانشگاه British Columbia در کشور کانادا تأمین شد که بدینوسیله صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

REFERENCES

1. Arshami ,J.& J.L.Ruttle, 1987. Effects of diets containing gossypol on spermatogenic tissues of young bulls. Theriogenology , 30 : 507-516.
2. Ashizawa , K. & G.H., Wishart, 1987. Resolution of the sperm motility stimulating principle of fowl seminal plasma into Ca^{++} and an unidentified low molecular weight factor. J. Reprod. Fertil . 81: 495-499.
3. Becker,W .M . & D.W. Deamer . 1991. The world of the cell (2nd. Ed.) . California, U.S.A: The Benjamin / Cummings Publishing Co., Inc.
4. Blazak, W .F. & N. S., Fechheimer. 1981. Testicular sperm reserves in cockerels bearing Z-autosome translocations. J. poultry Sci . , 60 :2001-2005 .
5. Brillard, J. P. & G.R., McDaniels. 1986. Influence of spermatozoa numbers and insemination ferquency on fertility in dwarf broiler breeder hens . J. Poultry Sci . , 65: 2330-2334 .
6. Burrows, W.H. & J.P., Quinn. 1937. The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. J. Poultry Sci., 16:19-24.
7. Cerruti-Sola, S., M. Castagnaro, & K.M Cheng. 1997. Histological changes caused by the *rc* mutation in chickens. J. Comp. Path., 116, 329-338.
8. Chaudhuri, D. & G. J. Wishart. 1988. Predicting the fertilizing ability of avian semen: Development of an objective colourimetric method for assessing the metabolic activity of fowl spermatozoa. J. British Poultry Sci., 29:837-845.
9. Cheng K.M., R.N. Shoffner, K. N. Gelatt, & G.G. Gum. 1978. An induced retinal mutation (*rc*) in the chicken. J. Poultry Science, 57, 1127- 1132.
10. Froman, D. P. & D. J. McLean. 1996. Objective measurement of sperm motility based upon penetration of Accudenz 1 . J. Poultry Sci., 75: 776-784.
11. Garier, D. H. & J. Attal. 1970. Variations de la testosterone du Plasma testiculare et des cellules interstitiells chez le Canard pekin au cours du cycle annuel. Compt. Rend. Acad. Sci. Paris, 270:2472-2486.
12. Kerlan, J. T., & R. B. Jaffe. 1974. Plasma testosterone levels during the testiculer cycle of the red-winged blackird (Agelaius phoeniceus). Gen. Comp. Endocrinol., 22:428-432.
13. Kumoran, J. D. S. & C.W. Turner. 1949. The normal development of the testes in the White Plymouth Rock. J. Poultry Sci., 28 : 511- 520.
14. Lake, P. E, & I. A. Furr. 1971. The endocrine testis in reproduction. In Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl, Vol. 3. (D.J. Bell and B. M. Freeman, Eds.) New York: Academic Press, Chapter 62.
15. Lehniger, A.L., D.L. Nelson, & M.M. Cox. 1993. Principles of Biochemistry (2^{nd} ed.). New York: Worth Publishers.
16. Marini, P.J., & B.L. Goodman. 1969. Semen characteristics as influenced by selection of divergent growth rate in chickens. J. Poulty Sci. 48: 85-89.
17. Mather, F .B. & W.O. Wilson. 1964. Post-natal testicular development in Japanese Quail (Coturnix japonica). J. Poultry Sci., 43:860-864.
18. Mortimer, D. 1994. Practical Laboratory Andrology. New York: Oxford University press.

19. Pelech , S.L., E., Power, & D. E., Vance. 1983. Activities of the phosphatidylcholine biosynthetic enzymes in rat liver during development. Can. J. of Biotch and Cell Biol., 61: 1147-1152.
20. Poccia, D. 1994. Molecular Biology Intelligence Unit: Molecular Aspects of Spermatogenesis. Austin: R.G. Landes Co. pp. 8-15.
21. Rabkin, S. W., & K.M., Cheng. 1992. A genetic abnormality of cardiac myocytes from the blind mutant (*rc*)- chick heart: abnormalities of cardiac structure and choline transport. Basic Res. Cardiol., 87 :610-617 .
22. Ruckebusch, Y., L. Phaneuf. & R. Dunlop. 1991. Physiology of small and large animals. Philadelphia: B.C. Decker Inc. pp. 254-255.
23. SAS Institute. 1996 . SAT/ STAT User`s Guide: statistics. SAS. Institute Inc. , Cary, NC.
24. Schanbacher, B. D., W. R. Gomes, & N. L. Van Demark, 1974. Diurnal rhythm in serum testosterone levels and thymidine uptake by testes in the domestic fowl. J. Anim. Sci. 38:1245- 1258.
25. Semple - Rowland, S.L., W.A. Gorczyca, J., Buczylko, B.S., Helekar, C.C., Ruiz, I., Subbaraya, K., Palczewski, & W., Bachr. 1996. Expression of CGAPI and CGAP2 in the retinal degeneration(*rc*) mutant chicken retina. FEBS Letters, 385:47-52.
26. Sexton, T.J. 1977. A new Poultry Extender: 1. Effect of extension on the fertility of chicken semen. J. poultry Sci., 56:1443-1446.
27. Steel, R.G.D., & J.H. Torrie. 1980. Principles and Procedures of Statistics. Mcgraw- Hill Book Co., Inc., New York.
28. Temple S.A. 1974. Plasma testosterone titers during the annual reproductive cycle of starlings (Sturnus vulgaris). Gen. Comp. Endocrinol., 22:470-282.
29. Wilcox, F.H. 1956. Effects of the addition of carbohydrates after storage on the motility and fertilizing ability of chicken sperm. J. Poultry Sci ., 38:1162-1168.