

## ارزیابی سطح تستوسترون خون نوزادان موش صحرایی بدنبال تماس با رایحه والدین و موش‌های غریبه

مژگان رحیمی<sup>۱\*</sup>، حیدر آقابابا<sup>۱</sup> و سید ابراهیم حسینی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

<sup>۲</sup> شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز

تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۱۶

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۱۸

### چکیده

فرمونها به ترشحات برون ریز بدن اطلاق می‌شوند که از یک فرد خاص به اطراف پخش شده و می‌توانند باعث ایجاد پاسخ‌های رفتاری در سایر افراد همان گونه شوند. دریافت فرمون در پستانداران اغلب توسط اندام ویژه ای به نام ومرونازال صورت می‌گیرد. در این تحقیق هدف اصلی بررسی تاثیر فرمون‌های جنسی والدینی و غریبه بر روی زمان شروع بلوغ موش‌های صحرایی نر نابالغ بوده است. آزمایش شامل شش گروه و هر گروه شامل ۸ موش صحرایی بود. در هر گروه موش‌های صحرایی نر از بدو تولد در معرض فرمون‌های جنسی مورد نظر قرار گرفتند، گروه اول فرمون‌های موش صحرایی مادر، گروه دوم فرمون‌های موش صحرایی ماده غریبه، گروه سوم فرمون‌های موش صحرایی پدر، گروه چهارم فرمون‌های موش صحرایی نر غریبه، گروه پنجم فرمون‌های پدر و مادر و نهایتاً گروه ششم فرمون‌های نر و ماده غریبه را دریافت کردند. موش‌های صحرایی نر نابالغ فرمون‌های مورد نظر را از طریق هواکشی که در قفس تعبیه شده بود دریافت کردند. پس از انجام تست هورمونی هیچ تفاوت معناداری در سطح تستوسترون گروه‌های مورد آزمایش مشاهده نشد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که فرمون‌هایی که فقط از طریق هوا استشاق می‌شوند تأثیری در زمان آغاز بلوغ ندارند و به نظر می‌رسد برای اثربخشی فرمون‌ها در پدیده بلوغ، موش‌های صحرایی نابالغ باید فرمون را بطور مستقیم دریافت کنند.

واژگان کلیدی: فرمون‌های جنسی، بلوغ، موش صحرایی.

\* نویسنده مسئول: تلفن ۰۹۱۷۹۵۲۷۰۷۹، پست الکترونیکی: m.rahimi.7079@gmail.com

### مقدمه

چرب و استروئیدها می‌باشند. فرمون‌ها - بجز در میکروارگانسیم‌ها و جلبکها اغلب از مواد حاصل از فعل و انفعالات متابولیکی می‌باشند که از بدن موجود زنده به خارج دفع می‌شوند.

فرمون‌ها قادرند بر روی مراحل تولیدمثلی در پستانداران اثر گذاشته و به جدابیت‌های جنسی و رفتارهای مقاربتی کمک کرده و نیز قادرند فیزیولوژی تولیدمثلی را تعدیل کنند. مشخص شده که فرمون‌های پستانداران می‌توانند اثری طولانی و ماندگار در جانور دریافت کننده ایجاد نماید که

واژه فرمون توسط کارلسون و لوسچر (۱۴) (Karlson & Lüscher) معرفی شد. این واژه از کلمات یونانی pherine (حمل کردن) و hormone (برانگیختن) مشتق شده است. فرمون‌ها به ترشحات برون ریز بدن اطلاق می‌شود که از یک فرد خاص به اطراف پخش می‌شود و می‌تواند باعث ایجاد پاسخ‌های مخصوص رفتاری یا فیزیکی در سایر افراد همان گونه شود (۱۴). فرمون‌ها از نظر ترکیب شیمیایی، طیف گسترده‌ای از مواد آلی را در بر می‌گیرند که شامل هیدروکربنها، پلی‌پپتیدهای کوچک، پروتئین‌ها، اسیدهای

باعث بروز تغییرات نورواندوکرینی و رفتاری می‌گردد. به عنوان مثال دریافت فرمون‌های جنسی نر توسط جنس ماده باعث پیشرفت در بلوغ، القاء سیکل استروس و خاتمه بارداری می‌شود. در عوض، دریافت فرمون‌های ماده از سوی جنس ماده سبب تأخیر در شروع بلوغ و سرکوب استروس می‌گردد. فرمون‌ها با اثر بر عملکرد محور هیپوتالاموس-هیپوفیز آزادسازی هورمون LH (هورمون لوتئوتروفیک) و پرولاکتین را تنظیم می‌کنند، این دو هورمون بر فرآیندهای فوق اثر می‌گذارند (۹). به طور معمول به نظر می‌رسد پاسخ فیزیولوژیکی جنس ماده به فرمون‌های جنس نر به خاطر بالا رفتن سطح LH و کاهش سطح پرولاکتین می‌باشد، در حالی که پاسخ فیزیولوژیکی به فرمون‌های جنس ماده به خاطر افزایش میزان پرولاکتین می‌باشد (۱۰).

در چندین گونه از پستانداران، فرمون‌های آغازگر، نقش مهمی در تنظیم زمان شروع بلوغ بازی می‌کنند (۱۳). در برخی گونه‌ها نشان داده شده که آغاز بلوغ در جنس ماده ناشی از تحریکات جنس نر می‌باشد. بطور کلی به نظر می‌رسد که این پیام‌ها توسط ادرار منتقل می‌شود، ولی در بعضی گونه‌ها مثل بوزینه کوچک آمریکایی، غدد اختصاصی این نقش را ایفا می‌کند (۸). و یا شواهدی که توسط واندنبرگ (۲۶) (Vandenbergh) ارائه شده نشان می‌دهد ترشحات پوست در خز یا پشم جانورانی مثل گوسفند می‌تواند در تنظیم آغاز بلوغ نقش داشته باشد است (۲۶). او دریافت اگر موش‌های ماده نابالغ را در بستر نرهای بالغ قرار دهیم بلوغ آنها حدود ۱۰ روز زودتر از موش‌هایی که در بستر تمیز بودند آغاز می‌شود. عامل مؤثر، ادرار نر بود که باعث می‌شد بلوغ جنسی در ماده‌ها زودتر القا شود. نیاز است که موش‌های ماده بین سنین ۲۹-۲۱ روزه به مدت ۳ روز متوالی در معرض ادرار نر باشند تا نسبت به آن واکنش نشان دهند. حضور ادرار نر به مدت سه روز، حدود ۱۲-۱۰ روز آغاز بلوغ جنسی را تسریع می‌کند (۲۶).

فرمون‌های ادرار موش که به لیپوکالین ۱۹ KD وصل می‌شود به عنوان پروتئین‌های اصلی ادرار (Major MUP (Urinary Proteins) شناخته شده‌اند. تولید این ترکیبات به تستوسترون وابسته است (۲۴). و بنابراین پیام دهی آنها به فعالیت تولیدمثلی جنس نر بستگی دارد. این عوامل می‌توانند بلوغ را در ماده‌های نابالغ سرعت بخشند (۲۰). این ترکیبات شامل 2-sec-3,4-dehydro-exo-(SBT) butyldihydrothiazole 6-hydroxy-6-methyl-3-brevicommin (DHB) heptanone و  $\alpha, \beta$ -farnesenes می‌باشند. آزمایش این ترکیبات ادراری بر روی شیار اورونزال باعث دو برابر شدن وزن حفره شکم می‌گردد (۱۶). افزایش در وزن شکمی به عنوان پیامد تولید استروژن توسط تخمدان در واکنش به هورمون LH اتفاق می‌افتد. رهاسازی LH می‌تواند ۲۰ دقیقه بعد از قرار گرفتن در معرض یک نر بالغ یا ادرار او رخ دهد (۴). نووتنی و همکارانش نشان دادند که ترکیبات تسریع‌کننده بلوغ، وابستگی شدیدی به MUP دارند، پس NUP به عنوان حامل این مولکولها ایفای نقش می‌کند (۱۷).

ماده‌های بالغ نیز می‌توانند شروع بلوغ جنسی را در ماده‌های دیگر جلو بیاورند، البته فقط در مرحله استروس، بارداری یا شیردهی. شاید همانطور که دریکامر (۷) (Drickamer) بیان می‌کند، رهاسازی پیام‌های شیمیایی تسریع‌کننده بلوغ توسط ماده‌هایی که بطور فعال در حال زاد و ولد هستند می‌تواند ماده‌های دیگر را تحریک کند. احتمالاً این پیام‌دهی به ماده‌های خویشاوندی که شرایط تولیدمثل برای آنها مهیاست صورت می‌گیرد. این تفسیر زمانی که دریکامر نشان داد که گروه‌بندی ماده‌های باردار یا شیرده در تراکم‌های مختلف و در ترکیبات متفاوت باعث ناپدید شدن فرمون‌های تسریع‌کننده بلوغ از این ماده‌ها می‌شود، بیشتر مورد تأکید قرار گرفت (۷). لازم به ذکر است که آغاز بلوغ جنسی در موش‌های ماده‌ای که بصورت گروهی پرورش داده می‌شوند، دیرتر از آن دسته از موش‌هایی صورت می‌گیرد که بصورت منفرد پرورش می‌یابند، چرا که

قاعدگی زنان دیگر تأثیر گذاشته و زمینه همزمان سازی سیکل قاعدگی را فراهم کند (۲۵).

فرمون‌های جنسی بر زمان آغاز بلوغ در جنس نر نیز تأثیرگذار هستند. واندنبرگ نشان داد که در موش‌های خانگی نر جوان که با یک نر بالغ پرورش یافته‌اند، توسعه اندام تناسلی همراه با تأخیر صورت گرفته است، درحالی‌که بلوغ جنسی در نرهایی که با ماده‌های بالغ پرورش یافته‌اند با سرعت بیشتری همراه بوده است (۲۷). در موش‌های آهوپی چمنزار وقتی که در گروه‌های مرکب از هر دو جنس یا همگی نر پرورش یافته باشند یا اینکه یک روز در میان در معرض ادرار نر قرار گرفته باشند، بلوغ همراه با تأخیر گزارش شده است (۳). در آزمایشاتی که توسط امیلی ریزمن و همکاران در مورد زمان بلوغ در وول‌های کالیفرنایی صورت گرفت، مشخص شد نرهایی که پس از گرفتن از شیر در بستر خانواده و مخصوصاً مادر پرورش یافته بودند، نسبت به آن دسته از نرهایی که در بستر تمیز یا در بستر وول‌های غریبه رشد کردند دچار تأخیر در بلوغ شدند (۲۲).

گاهی نیز دیده شده که آلودگی‌های زیست محیطی با خواص استروژنی در دوزهای بالا سبب تغییرات دائمی در بافتهای تناسلی نر شده است. در تحقیقات الیور پوتر و همکارانش مشخص شد که ماده استرادیولترینزوات در دوزهای پایین در موش‌های صحرایی ۳۵ روزه، باعث افزایش اندازه اندام تناسلی می‌شود که این می‌تواند پیشرفت احتمالی بلوغ را نشان دهد، اما بکار بردن دوزهای بالا از ماده فوق باعث کاهش عملکرد تناسلی و زنانه شدن ویژگیهای تناسلی می‌شود (۲۱).

براساس مطالعات صورت گرفته رابطه میان فرمونهای جنسی و شروع بلوغ در جانداران مختلف نشان دهنده تأثیر آنها بعنوان یکی از عوامل موثر و قوی در این رابطه می‌باشد.

تعاملات میان این ماده‌ها سبب سرکوبی بلوغ جنسی آنها می‌گردد (۵). مکینتاش (۱۹) و دریکامر نشان دادند که ادرار ماده‌های گروه‌بندی شده نسبت به ادرار ماده‌های منفرد سبب تأخیر ۴-۵ روزه در آغاز اولین استروس ماده‌های نابالغ، می‌شود. برداشتن تخمدان هیچگونه اثری در تولید فرمون جلوگیری کننده از بلوغ ندارد ولی برداشتن آدرنال تأثیر بازدارندگی ادرار ترشح شده از ماده‌های گروه‌بندی شده را از بین می‌برد (۱۹).

نووتنی و همکارانش ثابت کردند که کمپلکسی از شش متابولیت استروئیدی وابسته به آدرنال، در ادرار احتمالاً مسئول جلوگیری از بلوغ در ماده‌های نابالغ می‌باشد و اینجاست که نقش آدرنال نیز در این زمینه تأیید می‌شود (۱۸). تحقیقات دیگری متابولیت واسطه‌ی آدرنال ۲ و ۵ دی متیل پیارزین را بعنوان فرمون مسئول جلوگیری از بلوغ شناختند (۱۹). درک مکانیسم تنظیم مربوط به فرمون جلوگیری از بلوغ بدلیل وجود مدارکی دال بر اینکه این فرمون‌ها ممکن است در تنظیم جمعیت گسترده‌ای از موش‌های خانگی نقش داشته باشند دارای اهمیت زیادی است (۱۲). میزان ترشح فرمون‌های بازدارنده از بلوغ در ماده‌ها بستگی به تراکم جمعیت آنها دارد، بگونه‌ای که هرچه تراکم ماده‌ها بیشتر باشد آنها سریعتر می‌توانند فرمون‌های بازدارنده بلوغ را تولید کنند. وقتی که ماده‌ها را از گروه‌های متراکم جدا کنیم، آنها توانایی تولید فرمون‌های بازدارندگی بلوغ را در ادرارشان ظرف مدت ۱۰ روز از دست می‌دهند (۱۵). در بسیاری از گونه‌ها به محض اینکه پدیده بلوغ رخ می‌دهد، سیگنال‌های شیمیایی به نقش خود در تنظیم عملکرد تخمدانی ادامه می‌دهند. وقتی موش‌های صحرایی ماده با هم زندگی می‌کنند، سیکل استروس آنها بعد از گذشت ۳ دوره همزمان می‌شود و تا ۱۲ دوره این روند حفظ می‌شود (۶). این پدیده در زنانی که در مجاورت هم در یک مکان بسته زندگی می‌کنند نیز مشاهده می‌شود مشخص شده که ترشحات زیر بغل زنان می‌توانند بر طول

قسمتی که موش‌های صحرائی نر نوزاد قرار گرفته‌اند جدا کرده است. در وسط این دیواره فلزی هواکشی تعبیه گردیده که باعث شده بوی موش صحرائی ماده یا نر یا هر دو، به نوزادان نر انتقال یابد. درب قفس‌ها با توری فلزی ساخته شده و درون آنها سوراخ‌هایی جهت در دسترس قرارگیری آب و غذا ایجاد شد. روی درب قفس‌ها با پلاستیک شفاف پوشیده شد تا از اینکه فقط بوی موش‌های صحرائی ماده یا نر همان قفس به نوزادان نر می‌رسد مطمئن شویم. جهت انجام این تحقیق ۸ قفس مخصوص ساخته شد.



شکل ۱- قفس طراحی شده

پس از خریداری موش‌های صحرائی نر و ماده، آنها جهت عادت کردن به محیط حدود یک هفته بصورت جدا از هم در اتاق حیوانات نگهداری شدند و پس از آن جهت شروع کار باید جفت‌ها کنار هم قرار داده می‌شدند. برای اطمینان از انجام جفت‌گیری و ایجاد بارداری همزمان در موش‌های صحرائی ماده، ابتدا به آنها آمپول استرادیول‌الرات و پروژسترون تزریق کردیم. به این صورت که آمپول‌های استرادیول‌الرات را بصورت ۱۰ میلی‌گرمی از داروخانه تهیه و در ۱۸ میلی‌لیتر روغن زیتون خوراکی حل کرده و سپس مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر از محلول حاصل به عضله پای موش‌های صحرائی ماده تزریق کردیم. پس از گذشت ۴۲ ساعت، آمپول پروژسترون را که بصورت ۵۰ میلی‌گرمی از داروخانه تهیه شده بود، در ۱۸ میلی‌لیتر روغن زیتون خوراکی حل و ۰/۲ میلی‌لیتر از آن با سرنگ انسولین به عضله پا تزریق کردیم (۱).

این تحقیق نیز بعنوان ادامه تحقیقات قبلی در پی یافتن رابطه میان فرومون‌های جنسی و سطح هورمون تستوسترون (بعنوان نشانگر آغاز بلوغ) به تفکیک فرومون‌های والدینی و غریبه در موش‌های صحرائی نژاد ویستار می‌باشد. تفاوت عمده پژوهش حاضر نسبت به پژوهش‌های پیشین را می‌توان در دو بخش مختلف عنوان نمود، در این تحقیق برای اولین بار تأثیر فرومون‌های جنسی والدینی و غریبه بر نوزادان نر موش‌های صحرائی نژاد ویستار مورد بررسی قرار می‌گیرد. در ضمن نحوه دریافت فرومون‌ها برخلاف تحقیقات پیشین که عمدتاً از طریق تماس مستقیم بوده، در این تحقیق براساس این فرضیه بوده که فرومون‌ها می‌توانند از طریق جریان هوا انتقال یابند.

## مواد و روشها

تعداد ۲۵ موش صحرائی ماده و ۱۴ موش صحرائی نر در محدوده وزنی ۱۸۰-۲۰۰ گرم از مؤسسه واکسن و سرم‌سازی شیراز خریداری و در اتاق حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان نگهداری شدند. دمای هوای اتاق حیوانات در محدوده ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد حفظ می‌شد و شرایط نوری بصورت ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی تنظیم شده و شرایط تهویه نیز بصورت مطلوبی مهیا شده بود.

برای اینکه بتوانیم تأثیر فرومون‌های جنسی والدینی و غریبه را بر زمان شروع بلوغ نوزادان موش صحرائی نر بررسی کنیم، بایستی قفسی طراحی می‌کردیم که بتواند فقط بوی فرومون‌های فرار و غیرفرار را به نوزادان نر انتقال دهد (همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌گردد) برای این منظور قفس‌هایی فلزی ساخته شد که دارای دو یا سه قسمت مجزا بودند. در یک طرف قفس که خود شامل دو قسمت بود، موش‌های صحرائی نر یا ماده‌ای قرار گرفتند که قرار بود اثر فرومون‌های آنها بر موش‌های صحرائی نر نوزاد مورد بررسی قرار گیرند و یک دیواره فلزی این دو بخش را از

آزمایش هورمونی در تمامی نمونه‌های خونی توسط کیت‌های Free Testosterone بوسیله روش الیزا انجام شد. جهت انجام تجزیه و تحلیل و مقایسه گروهها نیز موش‌های صحرایی به ۶ گروه دسته‌بندی شدند که هر گروه شامل ۸ موش صحرایی بود.

گروه ۱- موش‌های صحرایی نر نوزاد با مادر. این گروه تا زمان خون‌گیری فقط در معرض فرومون‌های مادری بودند. گروه ۲- نوزادان موش صحرایی نر با پدر و مادر. این گروه تا زمان خون‌گیری در معرض فرومون‌های پدر و مادر قرار گرفتند (پس از اتمام شیرخوردن، مادر به قسمتی که پدر در آنجا قرار گرفته بود منتقل شد اما وسط این قسمت توسط یک صفحه فلزی جدا شد تا از جفت‌گیری مجدد پدر و مادر جلوگیری شود)

گروه ۳- نوزادان موش صحرایی نر با ماده غریبه، این گروه از بدو تولد تا زمان خون‌گیری، فرومون‌های یک ماده غریبه را که به دور از نر نگهداری شده بود دریافت کردند. پس از اتمام شیرخوردن، مادر از کنار آنها برداشته شد.

گروه ۴- نوزادان موش صحرایی نر با نر غریبه. این گروه از بدو تولد تا زمان خون‌گیری در معرض فرومون‌های یک نر غریبه که دور از ماده نگهداری شده بود، قرار گرفتند. پس از اتمام شیرخوردن، مادر از کنار آنها برداشته شد.

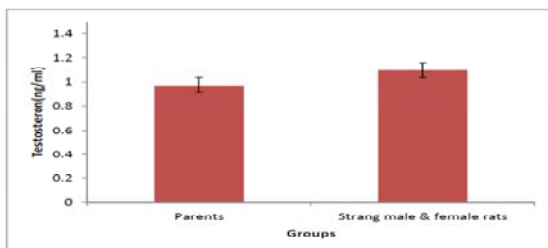
گروه ۵- نوزادان موش صحرایی نر با پدر، این گروه از بدو تولد تا زمان خون‌گیری، فرومون‌های پدری را دریافت کردند. پس از اتمام شیرخوردن، مادر از کنار آنها برداشته شد.

گروه ۶- نوزادان موش صحرایی نر با نر و ماده غریبه، این گروه از بدو تولد تا زمان خون‌گیری، فرومون‌های یک نر و یک ماده غریبه را دریافت کردند و پس از اتمام شیرخوردن، مادر از کنار آنها برداشته شد. لازم به ذکر است فضایی که نر و ماده غریبه در آن قرار گرفته بودند، به دو قسمت تقسیم شد تا از جفت‌گیری نر و ماده مورد نظر جلوگیری شود.

پس از گذشت ۶ ساعت جفت‌ها کنار هم قرارداده شدند. بصورتی که دو موش صحرایی ماده در کنار یک موش صحرایی نر قرار گرفتند. در اکثر آنها عمل جفت‌گیری انجام شد. پس از اتمام دوره بارداری ۲۱ روزه و متولد شدن نوزادان موش صحرایی، آنها از همان بدو تولد در معرض فرومون قرار گرفتند، به‌گونه‌ای که در یک سمت نوزادان به همراه مادر (جهت شیر خوردن) قرار می‌گرفتند و در طرف دیگر موش‌های صحرایی قرار می‌گرفتند که قرار بود تأثیر فرومون‌های آنها روی نوزادان نر مورد بررسی قرار گیرد. غیر از گروهی که بنا بود تأثیر فرومون‌های مادری یا پدر و مادر بر زمان شروع بلوغ آنها مورد بررسی قرار گیرد، در بقیه‌ی گروهها پس از اتمام زمان شیر خوردن (۲۱ روز)، مادر بطور کلی از قفس خارج شده تا فقط تأثیر فرومون‌های پدر یا نر غریبه یا ماده غریبه یا هر دو مورد بررسی قرار گیرد.

لازم به ذکر است که ماده‌های غریبه‌ای که در این تحقیق استفاده شدند نه در حالت شیردهی و نه در حالت بارداری بودند. همچنین نرهای غریبه که از فرومون آنها استفاده شد بصورتی مجزا نه در کنار ماده‌ها نگهداری شده بودند. موش‌های صحرایی نر نابالغ تا ۵۵ روز فرومون‌های مورد نظر را از طریق هواکش تعبیه شده دریافت کردند، و پس از پایان روز ۱۵۵ام، جهت اندازه‌گیری سطح تستوسترون سرم، عمل خون‌گیری از قلب آنها صورت گرفت. مقایسه میزان تستوسترون در گروههای مورد آزمایش می‌تواند نشان‌دهنده‌ی تفاوت احتمالی در زمان شروع بلوغ باشد. خون‌گیری در روز پنجاه و پنجم پس از تولد از موش‌های صحرایی نر صورت گرفت. جهت خون‌گیری، آنها را با کلروفورم بیهوش کرده و از قلب آنها خون گرفته می‌شود. پس از آن، نمونه‌ها سانتریفیوژ شده و سرم آنها جداسازی شد. سرم‌ها تا زمانی که قرار بود همه‌ی آنها به آزمایشگاه فرستاده شوند در دمای ۲۳- درجه سانتی‌گراد منجمد شدند.

ج) نتایج مربوط به مقایسه تأثیرات فرومون‌های (پدر و مادر) و (نر و ماده غریبه) بر میزان پلاسمایی هورمون تستوسترون نوزادان موش صحرایی نر (جدول ۳ و شکل ۴)



شکل ۴- نمودار مقایسه میانگین‌های سطح پلاسمایی هورمون تستوسترون در گروه‌های مورد آزمایش پدر و مادر و موش صحرایی‌های نر و ماده غریبه

با استفاده از آزمون T با دو نمونه مستقل تفاوت‌های میان گروه‌های مورد بررسی از نظر سطح تستوسترون مورد بررسی قرار گرفت. پذیرش فرضیه  $H_0$  در طرح داده‌ها از نمونه‌های مستقل، بیانگر این مطلب است که اختلافی بین مقادیر میانگین‌ها در دو نمونه مستقل از جامعه از لحاظ آماری وجود ندارد ( $P > 0.05$ ). در مقابل این فرض که بین میانگین‌ها اختلاف معنی‌داری وجود دارد فرض  $H_1$  با این سطح معنی‌داری قرار می‌گیرد ( $P > 0.05$ ).

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$$

$\mu_1$  میانگین نمونه اول و  $\mu_2$  میانگین نمونه دوم می‌باشد.

۱- بررسی نتایج حاصل از مقایسه تأثیرات فرومون‌های موش صحرایی مادر و موش صحرایی ماده غریبه بر میزان پلاسمایی هورمون تستوسترون نوزادان موش صحرایی نر.

جدول ۱ نتایج آماری حاصل از مقایسه گروه‌های مورد آزمایش مادر و موش صحرایی ماده غریبه را توسط آزمون تی مستقل نشان می‌دهد، که این نتایج به ترتیب شامل: میانگین، انحراف معیار، خطای معیار میانگین و سطح معنی‌داری دو گروه مورد مقایسه می‌باشد. همانطور که

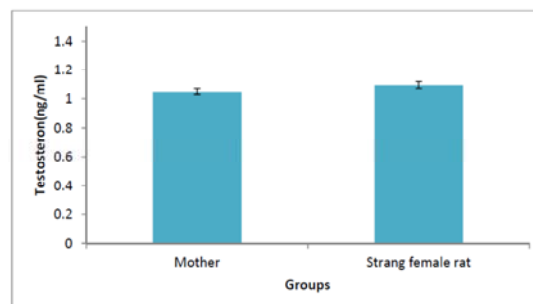
پس از جمع‌آوری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 21 پردازش آنها صورت گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌های موجود از آزمون T مستقل در اختلاف سطح معنی‌داری ( $P=0.05$ ) استفاده شد.

## نتایج

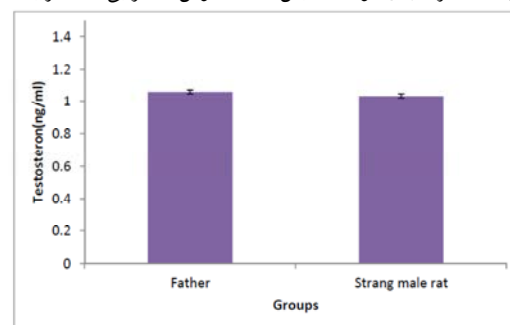
در پژوهش حاضر نتایج بدست آمده به ۳ دسته کلی تقسیم شده و بترتیب هر دسته مورد بررسی قرار گرفته است:

الف) نتایج مربوط به مقایسه تأثیرات فرومون‌های موش صحرایی مادر و موش صحرایی ماده غریبه بر میزان پلاسمایی هورمون تستوسترون نوزادان موش صحرایی نر (جدول ۱ و شکل ۲)

ب) نتایج مربوط به مقایسه تأثیرات فرومون‌های موش صحرایی پدر و موش صحرایی نر غریبه بر میزان پلاسمایی هورمون تستوسترون نوزادان موش صحرایی نر (جدول ۲ و شکل ۳)



شکل ۲- نمودار مقایسه میانگین‌های سطح پلاسمایی هورمون تستوسترون در گروه‌های مورد آزمایش مادر و موش صحرایی ماده غریبه



شکل ۳- نمودار مقایسه میانگین‌های سطح پلاسمایی هورمون تستوسترون در گروه‌های مورد آزمایش پدر و موش صحرایی نر غریبه

است که بین میانگین هورمون تستوسترون موش‌های صحرائی که در معرض فرمونهای مادر و ماده غریبه قرار گرفته‌اند تفاوت معناداری مشاهده نمی‌شود.

ملاحظه می‌شود سطح معنی‌داری این آزمون ( $P > 0.05$ ) است که نشان از پذیرش فرضیه صفر و عدم وجود اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مربوطه می‌باشد. این بدین معنی

جدول ۱- مقایسه سطح پلاسمایی هورمون تستوسترون در گروه‌های مورد آزمایش مادر و موش صحرائی ماده غریبه

تستوسترون	statistics			Sig
	Mean	std.Deviation	Std.Error Mean	
مادر	۱/۰۵۲	۰/۱۶۸	۰/۵۹۴	۰/۷۵۴
ماده غریبه	۱/۰۹۸	۰/۲	۰/۷۰۷	

جدول ۲- مقایسه سطح پلاسمایی هورمون تستوسترون در گروه‌های مورد آزمایش پدر و موش صحرائی نر غریبه

تستوسترون	statistics			Sig
	Mean	std.Deviation	Std.Error Mean	
پدر	۱/۰۵۷	۰/۱۴۶	۰/۰۵۵	۰/۵۷۱
نر غریبه	۱/۰۳۳	۰/۱۷	۰/۰۶۴	

جدول ۳- مقایسه سطح پلاسمایی هورمون تستوسترون در گروه‌های مورد آزمایش پدر و مادر و موش صحرائی های نر و ماده غریبه

تستوسترون	statistics			Sig
	Mean	std.Deviation	Std.Error Mean	
والدین	۰/۹۷	۰/۱۵۳	۰/۶۲۵	۰/۱۷۶
نر غریبه و موش ماده	۱/۰۹	۰/۱۹۵	۰/۸	

۳- بررسی نتایج حاصل از مقایسه تأثیرات هورمون‌های پدر و مادر و نر و ماده غریبه بر میزان پلاسمایی هورمون تستوسترون نوزادان موش صحرائی نر.

جدول ۳ نتایج آماری حاصل از مقایسه گروه‌های مندرج در جدول را توسط آزمون تی مستقل نشان می‌دهد، که این نتایج بترتیب شامل: میانگین، انحراف معیار، خطای معیار میانگین و سطح معنی‌داری دو گروه مورد مقایسه می‌باشد. همانطور که ملاحظه می‌شود سطح معنی‌داری این آزمون ( $P > 0.05$ ) است که نشان از پذیرش فرضیه صفر و عدم وجود اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مربوطه می‌باشد، یعنی اینکه میانگین سطح تستوسترون در بین دو گروه از موش‌های صحرائی که در معرض فرمونهای والدین و نر و ماده‌های غریبه قرار گرفته‌اند تفاوت معناداری ندارد.

۲- بررسی نتایج حاصل از مقایسه تأثیرات هورمون‌های موش صحرائی پدر و موش صحرائی نر غریبه بر میزان پلاسمایی هورمون تستوسترون نوزادان موش صحرائی نر.

جدول ۲ نتایج آماری حاصل از مقایسه گروه‌های مندرج در جدول را توسط آزمون تی مستقل نشان می‌دهد، که این نتایج بترتیب شامل: میانگین، انحراف معیار، خطای معیار میانگین و سطح معنی‌داری دو گروه مورد مقایسه می‌باشد. همانطور که ملاحظه می‌شود سطح معنی‌داری این آزمون ( $P > 0.05$ ) است که نشان از پذیرش فرضیه صفر و عدم وجود اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مربوطه می‌باشد که نشانگر عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین هورمون تستوسترون بین این دو گروه می‌باشد.

در معرض ترشحات واژنی یا در معرض ادرار ماده یا نر قرار نداده‌ایم و فقط تأثیر فرومون‌هایی مورد بررسی قرار گرفت که از طریق هوا قابل انتشار باشد.

در تحقیق امیلی ریزمن، وی به این نتیجه رسید که وولهای نر نابالغ که در بستر خانواده پرورش می‌یابند، دیرتر از آن دسته نرهایی که در بستر تمیز پرورش می‌یابند، به بلوغ می‌رسند. او نیز در این تحقیق نرها را مستقیماً در معرض محلول بستر خانواده قرارداد. او در بررسی تأثیر فرومون‌های نر بالغ غریبه را نیز در زمان شروع بلوغ وول‌های نر کالیفرنایی مورد بررسی قرار داد و در تحقیق خود پی به اثر تسریع‌کنندگی فرومون‌های نر بالغ غریبه بر روند بلوغ وولها برد. اما به هر حال او نیز وول‌های نر را مستقیماً در معرض فرومون قرار می‌داد. به طوری که هر ۵ روز یکبار ۲۰۰ میلی‌لیتر از محلول بستر مادر یا خانواده یا نر غریبه را به قفس وول‌های مورد آزمایش اضافه می‌کرد، که شاید اضافه کردن مستقیم محلول بستر توانسته است فرومون‌های آغازگر را به قفس نرهای نابالغ انتقال دهد. طبق گزارشات ریزمن از آنجایی که تمام جانوران مورد آزمایش در تحقیق او از منبع هوای مشترک استفاده می‌کردند بوهای فرار احتمالاً از اهمیت زیادی برخوردار نیستند (۲۲). در صورتی که ما در تحقیق حاضر فرومون‌های جنسی غیرفرار را بطور مستقیم در اختیار موش‌های صحرائی نر نابالغ قرار نداده‌ایم. شاید اگر آنها در مدت آزمایش بطور مرتب فرومون‌های غیرفرار را از طریق اضافه کردن محلول بستر به قفس یا قرار دادن آنها در معرض پنبه‌های آغشته به فرومون دریافت می‌کردند، تفاوت معناداری در سطوح تستوسترون آنها پس از پایان پنجاه و پنج روزگی دیده می‌شد. علاوه بر آن، عوامل مختلفی می‌توانند پدیده بلوغ را تحت تأثیر قرار دهد. بعنوان مثال در جمعیت‌های طبیعی در وول‌های کالیفرنایی، آغاز فصل تولیدمثل همزمان با آغاز فصل بارش می‌باشد. یعنی زمانی که پوشش گیاهی سرسبز در دسترس است (۱۱).

نتایج کلی تحقیق بیانگر این است که در بین گروه‌های مورد بررسی که در معرض فرومون‌های مادر و ماده غریبه، پدر و نر غریبه و بالاخره والدین و نر و ماده غریبه تفاوتی در میانگین سطح هورمون تستوسترون مشاهده نمی‌گردد. البته بررسی این نتایج به تفکیک جنس (نر و ماده) نیز نشان‌دهنده تفاوت معناداری نمی‌باشد، بعبارت دیگر تفاوت معناداری بین میانگین سطح تستوسترون موش‌های صحرائی نوزاد نری که در معرض فرومون‌های جنس نر قرار گرفته‌اند با نوزادانی که در معرض فرومون‌های جنس ماده قرار گرفته‌اند، مشاهده نمی‌گردد.

### بحث

در تحقیق حاضر همانگونه که گفته شد ما فقط به بررسی تأثیر فرومون‌هایی پرداختیم که از طریق هواکش تعبیه شده قابل انتقال باشد. موش‌های صحرائی نابالغ از بدو تولد تا روز پنجاه و پنجم بعد از تولد در معرض این فرومون‌ها قرار گرفتند و پس از آن در خون‌گیری بعمل آمده از آنها و انجام تست هورمونی توجه شدیم که دریافت این فرومون‌ها تأثیر معناداری بر سطح هورمون تستوسترون در سرم خون آنها نداشته است و بنابراین می‌توان گفت که زمان آغاز بلوغ در تمام گروه‌های مورد آزمایش یکسان بوده است (در این تحقیق ما سطح تستوسترون خون را برای پیشرفت بلوغ ملاک قرار داده‌ایم). در توجیه این نتایج می‌توان گفت که در بررسی‌های قبلی که توسط رازلدی انجام شده بود، تأثیر فرومون‌های غیرفرار در بیان ژن FOS در هسته‌های مختلف مغزی، در هامسترهای نر بالغ و نابالغ مدنظر بوده است. چنانچه هامسترهای نر بالغ و نابالغ را در معرض پنبه‌های آغشته به ترشحات واژنی جنس ماده قرار داد و بیان ژن FOS را در هسته‌های مختلف مغزی در هامسترهای نر بالغ و نابالغ مشاهده کرد که این امر ممکن است در زمان بندی بلوغ در هامسترهای نر تأثیر داشته باشد (۲۳). اما در تحقیق حاضر، اولاً ما در مورد موش صحرائی صحبت می‌کنیم نه هامستر و نه وول، و ثانیاً ما موش‌های صحرائی را مستقیم



نابالغی که به تفکیک در معرض فرمون‌های جنسی مادر- ماده غریبه، پدر-نر غریبه و پدر و مادر- نر و ماده غریبه قرار گرفته‌اند، رد می‌شود که دلایل آن را احتمالاً باید در ویژگی‌های زیستی نوع پستاندار (موش صحرائی نژاد ویستار)، روش انتقال فرمون (از طریق هوا) و یا وضعیت زیستی این پستاندار (نبود تراکم و وجود آب و غذای کافی) جستجو نمود که موضوعات پژوهش‌های آینده در این زمینه را فراهم می‌آورد.

### تشکر و قدردانی

هنری که در امتداد ارزش‌هایش حرکت کند هنری است رهایی بخش که سرچشمه در نور و عشق دارد و به دریای عقل و معرفت راه می‌گشاید. مسئولیت ما تنها در برابر فرهنگ ملی و قومی خودش نیست؛ بلکه مسئولیتی الهی و جهانی دارد. با این مقدمه نیت خود را بر آن می‌دارم تا از اساتید گرامی جناب آقای دکتر حیدریابا و جناب آقای دکتر حسینی که مرا در انجام این مهم یاری کرده‌اند قدردانی کنم.

در وول‌های کوهستانی نشان داده شده است که مواد موجود در گیاهان سبز، عملکرد تولیدمثلی را راحت‌تر می‌کند (۲). در وول‌های کالیفرنایی دوره نوری، در دسترس بودن آب و حضور یا عدم حضور پوشش گیاهی سبز بر بلوغ بیضه‌ها اثر می‌گذارد (۱۶). از طرفی تأثیر فرمون‌ها بر روی شروع بلوغ زمانی می‌تواند تأثیر قوی داشته باشد که آب و مواد غذایی کافی در دسترس نباشد و محدودیت در بدست آوردن آب و غذا وجود داشته باشد (۲۲).

در این پژوهش، موش‌های صحرائی از آب و غذای کافی برخوردار بودند و همچنین هیچ‌گونه فشاری از لحاظ ازدیاد تراکم بر آنها حاکم نبود، اطلاعات درباره وول‌های کالیفرنایی از این فرضیه حمایت می‌کند که علائم شیمیایی می‌توانند در تأخیر بلوغ جنسی در جمعیت‌های متراکم در طبیعت مؤثر باشند. وقتی تراکم جمعیت زیاد باشد، وول‌ها ازدیاد جمعیت را از طریق تأخیر زمان بلوغ کنترل می‌کنند (۴).

بنابراین می‌توان گفت که فرضیه این تحقیق که بیانگر تفاوت بین سطح تستوسترون موش‌های صحرائی نر

### منابع

- Baddaloo EGY, Chulow FV. (1981) Effects of the male on growth, sexual maturation, and ovulation of young female meadow voles, *Microtus pennsylvanicus*. *Canadian Journal of Zoology (Can J Zool)*;59:415-421
- Berger PJ, Negus NC, Sanders EH, Gardner PD. (1981). Chemical triggering of reproduction in *Microtus montanus*. *Science*;124:69-70
- Bradley EL, Terman CR. (1981) Serum testosterone concentrations in male prairie deer mice (*Peromyscus maniculatus bairdii*) from laboratory populations. *Journal of Mammalogy*;62:811-814
- Bronson FH, Macmillan B. (1983) Hormonal responses to primer pheromones. In *Pheromones and Reproduction in Mammals* (ed. Vandenberg JG.). New York: Academic Press;175-199.
- Champlin AK. (1971) Suppression of oestrus in grouped mice: the effects of various densities and the possible nature of the stimulus. *International Journal of Fertility & Sterility*; 27:233-241
- Coppola DM, Vandenberg JG. Effect of density, duration of grouping and age of urine stimulus on the puberty delay pheromone in female mice. *J. Reprod. Fertil.* 1985;73:517-522.
- Drickamer LC. (1983) Effect of period of grouping of donors and duration of stimulus exposure on delay of puberty in female mice by a urinary chemosignals from grouped females. *International Journal of Fertility & Sterility*; 69:723-727
- Eppl G, Katz Y. (1980) Social influences on first reproductive success and related behaviors in the saddle-back tamarin *Saguinus fuscicollis*, *Callitrichidae*. *International Journal of Primatology*; 1:171-175.
- Handelmann G, Ravizza R, Ray WJ. (1980) Social dominance determines estrous entrainment among female hamsters. *Hormones and Behavior*; 14:107-115.

10. Keverne EB, de la Riva C. (1982) Pheromones in mice: reciprocal interaction between the nose and brain. *Nature*. 296:148-150.
11. Lidicker WZ. (1980) The social biology of the California vole. *Biologist*.;62:46-55
12. Lombardi JR, Whitsett JM. (1980) Effects of urine from conspecifics on sexual maturation in female prairie deer mice, *Peromyscus maniculatus bairdii*. *Journal of Mammalogy*.; 61:766-768
13. Mann DR, Plant TM. (2002) Leptin and pubertal development. *Semin Reproductive Medicine*.; 20:93-102.
14. McClintock MK. (2000) Human pheromones: primers, releasers, signalers or modulators? In: Wallen K, Schneider E, editors. *Reproduction in context*. Cambridge:MA: MIT;. 335-420.
15. Meredith M. (1986) Vomeronasal organ removal before sexual experience impairs male hamster mating behavior. *Physiol Behav*.; 36:737-743
16. Nelson RJ, Dark J, Zucker I. (1984) Influence of photoperiod, nutrition, and water availability on reproduction of male California voles (*Microtus californicus*). *International Journal of Fertility & Sterility*.;69:473-477
17. Novotny MV. (2003) Pheromones, binding proteins and receptor responses in rodents. *Biochemical Society Transactions*.; 31:117-122.
18. Novotny M, Jemiolo B, Harvey S, Wiesler D, Marchlewska-Koj A. (1986) Adrenal-mediated endogenous metabolites inhibit puberty in female mice. *Science*.;23:722-725.
19. Novotny M, Jemiolo B, Wiesler D, Ma W, Harvey S, Xu F, Xie T, Carmack M. (1999) A unique urinary constituent, 6-hydroxy-6-methyl-3-heptanone, is a pheromone that accelerates puberty in female mice. *The Journal of Biological Chemistry*; 6:377-383.
20. Novotny MV, Weidong M, Wiesler D, Zidek L. (1999) Positive identification of the puberty-accelerating pheromone of the house mouse: the volatile ligands associating with the major urinary protein. *Proc. Royal. Society. Lond. B. Biology Science*.;266:2017-2022
21. Putz OL, Schwartz CB, LeBlanc GA, Cooper RL, Prins GS. (2001) Neonatal Low-and High-Dose Exposure to Estradiol Benzoate in the male rat. *International Journal of Reproductive BioMedicine*.;65:1506-1517. 210
22. Rissman EF, Sheffield SD, Kretzmann MB, Fortune JE, Johnstone RE. (1984) Chemical Cues From Families Delay Puberty in Male California Voles. *International Journal of Reproductive BioMedicine*.;31:324-331
23. Romeo RD, Wade J, Venier JE, Sisk CL. (1999) Androgenic regulation of hypothalamic aromatase activity in prepubertal and postpubertal male golden hamsters. *Endocrinology*.; 140(1):112-117
24. Schwende FJ, Wiesler D, Jorgenson JW, Carmack M, Novotny MV. (1986) Urinary volatile constituents of the house mouse, *Mus musculus*, and their endocrine dependency. *Journal of Chemical Ecology*.;12:277-296.
25. Stern K, McClintock MK. (1998) Regulation of ovulation by human pheromones. *Nature*; 392: 177-179
26. Vandenberg JG. (1987) Regulation of puberty and its consequences on population dynamics of mice. *American Zoologist*.; 27:891-898
27. Vandenberg JG. (1971) The influence of social environment on sexual maturation in male mice. *International Journal of Fertility & Sterility*.;24:383-390

## Assessment blood testosterone levels in neonatal rats after contact with parental and strangers pheromones

Rahimi M.<sup>1</sup>, Aghababa H.<sup>1</sup> and Hosseini S.E.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Biology Dept., Islamic Azad University, Arsanjan Branch, Arsanjan, I.R. of Iran

<sup>2</sup> Biology Dept., Islamic Azad University, Shiraz Branch, Shiraz, I.R. of Iran

### Abstract

Pheromones are exocrine secretions of the body that has spread from someone around and can cause behavioral responses in other members of the same species. Pheromones in mammals often receipt by special organ called *Vomeronasal*. The main objective of this study was to evaluate the effect of parental and strangers sex pheromones on the puberty beginning in immature male rats. Testing consisted of six groups, each group consisting of 8 rats. In each group male rats were exposed to sexual pheromones from birth. the first group, received maternal pheromones, second group, received the stranger female pheromones, the third group received father pheromones , the fourth group received stranger male pheromones, fifth group received parents pheromones and eventually the six group received strangers male and female pheromones. Immature male rats received pheromones through the ventilator that was placed in the cage. Not found significant difference in testosterone level after hormonal testing in groups. The results of this study indicate pheromones inhaled through the air not have effect on the puberty beginning in immature male rats and it seems pheromones influence puberty beginning in immature male rats if the pheromones directly received by the immature male rats.

**Key words:** Sexual pheromones, puberty, Rat.