2026, 2(2): 25-30

JAER

Journal of Animal Environmental Reaserch

Journal homepage: http://www.journalaer.com

Research Article

Investigation of Androgen Receptor Gene Expression in Response to Predator Density and Male Density Variation in Guppy Fish (*Poecilia reticulata*)

Mahdi Katebi [1], Amir Reza Abed-Elmdoust [1*], Hamid Farahmand [1], Ali Momeninejad [2]

[1] *Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran*

[2] *Department of Fisheries, Baharavaran Faculty of Agricultural, University of Applied Science, Qom, Iran*

Key Words

Guppy fish
Androgen receptor
Predator
Reproduction
Gene expression

Abstract

Introduction: Due to its broad range of reproductive behaviors and availability of genetic and genomic resources, the guppy fish is a model species for studying the evolution of reproductive behavior. Androgens are the primary hormones regulating spermatogenesis and bind to androgen receptors on cells to control reproductive function across different growth stages. Given the importance of androgens in reproductive processes, the present study aims to examine the expression of the androgen receptor gene in response to varying predator densities and different male guppy densities. The findings of this research offer insights into how predator and male guppy densities affect androgen receptor gene expression, as well as the interaction between environmental factors and reproductive regulation in this model species.

Materials & Methods: Sampling of male and female guppies was conducted 5 minutes, 5 hours, 5 days, and 15 days after exposure to predators. The samples were immediately placed in liquid nitrogen tanks and stored at -80°C until RNA extraction. The data related to the target gene were analyzed using the comparative method 2^(-ΔΔct) with the s18 reference gene. Subsequently, the normality of the data and two-sided statistical analysis were performed to determine the significant effects of treatments.

Results: The expression of the target gene indicated that varying predator densities at different exposure times had a significant effect on androgen receptor gene expression levels ($P<0.05$).

Conclusion: Androgen receptor gene expression decreased in the presence of predators, leading to a reduction in reproductive behavior in guppies.

Article info

* Corresponding Author's email: amirabed@ut.ac.ir

Received: 6 March 2025
Reviewed: 6 April 2025
Revised: 8 June 2025
Accepted: 10 July 2025

[Downloaded from journalaer.com on 2026-06-13]

مقاله علمی - پژوهشی

بررسی بیان ژن گیرنده آندروژن در پاسخ به تغییرات تراکم شکارچی و تراکم نر در ماهی گوپی (*Poecilia reticulata*)

مهدی کاتبی[۱]، امیرضا عابد علم‌دوست[۱*]، حمید فرحمند[۱]، علی مومنی‌نژاد[۲]

[۱] گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

[۲] گروه شیلات، دانشکده کشاورزی بهارآوران، دانشگاه علمی کاربردی استان قم، قم، ایران

کلمات کلیدی

ماهی گوپی
گیرنده آندروژن
شکارچی
تولیدمثل
بیان ژن

چکیده

مقدمه: ماهی گوپی به‌دلیل داشتن طیف گسترده‌ای از رفتارهای تولیدمثل و وجود منابع ژنتیکی و ژنومی یک گونه مدل برای مطالعه تکامل رفتار تولیدمثل می‌باشد. آندروژن‌ها هورمون تنظیم‌کننده اولیه اسپرماتوژنزیز هستند و برای کنترل عملکرد تولیدمثل در مراحل مختلف رشد توسط گیرنده آندروژن به سلول متصل می‌شود. با توجه به اهمیت هورمون آندروژن در فرایند تولیدمثل، پژوهش حاضر به‌منظور بررسی بیان ژن گیرنده آندروژن در مواجهه با تراکم مختلف شکارچی و تراکم متفاوت ماهی گوپی نر انجام گرفت. نتایج این تحقیق بینش‌هایی را در مورد این‌که چگونه تراکم ماهی‌های شکارچی و گوپی نر بر بیان ژن گیرنده آندروژن تأثیر می‌گذارد وهم‌چنین تأثیر متقابل بین عوامل محیطی و تنظیم تولیدمثل در این گونه مدل را ارائه می‌کند.

مواد و روش‌ها: نمونه‌برداری از ماهیان نر و ماده گوپی پس ۵ دقیقه، ۵ ساعت، ۵ روز و ۱۵ روز پس از مواجهه با گونه شکارچی صورت گرفت. نمونه‌ها بلافاصله در تانک ازت مایع قرار گرفته و تا زمان استخراج RNA در یخچال ۸۰- نگه‌داری شدند. داده‌های مربوط به ژن هدف به‌وسیله ژن رفرنس ۱۸s با روش محاسباتی $2^{(-\Delta\Delta ct)}$ تحلیل شد. در ادامه نرمال بودن داده‌ها و آنالیز آماری دوطرفه جهت معنی‌دار بودن اثر تیمارها صورت گرفت.

نتایج: بیان ژن مورد نظر نشان داد که اثر تراکم مختلف شکارچی در زمان‌های متفاوت مواجهه با گونه شکارچی، اثر معنی‌داری در میزان بیان ژن گیرنده آندروژن داشته است ($P<0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری: بیان ژن گیرنده آندروژن با حضور شکارچی کاهش یافته و این تغییر موجب کاهش رفتار تولیدمثلی در گوپی‌ها می‌شود.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول:
amirabed@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۶ اسفند ۱۴۰۳
تاریخ داوری: ۱۷ فروردین ۱۴۰۴
تاریخ اصلاح: ۱۸ خرداد ۱۴۰۴
تاریخ پذیرش: ۱۹ تیر ۱۴۰۴

[Downloaded from journalaer.com on 2026-06-13]

مقدمه

به‌طورکلی ماهی‌ها با چالش‌های مختلفی روبه‌رو می‌شوند که باعث می‌شود به‌طور موثر از زیستگاه خود برای کسب انرژی استفاده کنند و یاد بگیرند که منابع غذایی مغذی را شناسایی و مصرف کرده، با رقبا تعامل داشته باشند و شرکای تولیدمثل مناسب پیدا کنند (۱). درحالی‌که عدم توجه به این چالش‌ها به‌طور فوری به مرگ نمی‌انجامد، اما فرصت‌هایی برای بهبود مهارت‌های تولیدمثل وجوددارد. هم‌چنین پاسخ‌های ناکافی به شکارچیان می‌تواند منجر به مرگ شود، به گونه‌ای که رفتار ضدشکارچی در مقایسه با جنبه‌های دیگر رفتاری، مؤلفه ژنتیکی مهم‌تری داشته باشد (۲). فشارهای تکاملی ناشی از خطر شکار نقش اساسی در تشکیل ویژگی‌های سازگار گونه‌های طعمه دارد. درحالی‌که برخی از گونه‌ها از دفاع‌های فیزیکی مختص خود در برابر شکارچیان استفاده می‌کنند، استراتژی دفاع رفتاری راهکاری انعطاف‌پذیرتر و بهره‌ورتری ارائه می‌دهد. این رویکرد به طعمه اجازه می‌دهد تا به‌طور موثر چالش‌های فرار از شکارچیان را کنترل کرده و در عین‌حال به فعالیت‌های ضروری مانند جستجوی غذا و تولیدمثل بپردازد (۳). ماهی گوپی (*Poecilia reticulata*) به‌عنوان یک گونه مدل ارزشمند برای تحقیق در زمینه انتخاب طبیعی در زیستگاه طبیعی خود شناخته شده است. شواهد قابل توجهی نشان می‌دهد که ویژگی‌های مختلف گوپی‌ها، ازجمله تاریخچه زندگی، رنگ‌آمیزی و رفتار (شامل رفتار تولیدمثل)، در پاسخ به شکارچی غالب و عوامل محیطی مرتبط، تحت تأثیر قرار گرفته و به تغییرات تکاملی منجر شده‌اند (۴). در بین گروه‌های مختلف حیوانات، اغلب تفاوت‌های چشمگیری بین نر و ماده در ظاهر، عملکرد بدنی و رفتار وجود دارد. با این‌حال، زمانی‌که به درک چگونگی ارزیابی و واکنش به خطرات در حیوانات می‌پردازیم، تمایزات بین نر و ماده را به اندازه کافی موردبررسی قرار نداده‌ایم (۵). آندروژن‌ها هورمون تنظیم‌کننده اولیه اسپرماتوژنزیز هستند (۶). هم‌چنین با فرایندهای توسعه، نگه‌داری و تمایز مرتبط می‌باشد. درطول بلوغ، آندروژن برای کنترل عملکرد تولید مثل در مراحل مختلف رشد توسط گیرنده آندروژن (AR: Androgen receptor) به سلول متصل می‌شود (۷). آندروژن هم‌چنین می‌تواند بر محور هیپوتالاموس، هیپوفیز،گناد در مهره‌داران اثرگذار باشد و به عنوان واسطه در رفتارهای اجتماعی و تولیدمثل از جمله قلمروطلبی، پرخاشگری و خواستگاری عمل کند (۸). تاکنون AR هسته‌ای و AR غشایی در ماهی‌ها شناسایی شده است (۹). پاسخ‌های فنوتیپی و فیزیولوژیکی به آندروژن‌ها توسط گیرنده آندروژن، که به خانواده گیرنده‌های هسته‌ای تعلق دارد، انجام می‌شود (۱۰). تاکنون پژوهش‌هایی در مورد شناسایی گیرنده آندروژن و میزان بیان ژن و عملکرد آن در تولیدمثل، تغییرات جنسی و رفتار ماهی‌ها انجام گرفته است. در پژوهشی به بررسی کنش‌های رفتاری آندروژن‌ها و بیان گیرنده آندروژن در سیستم ارتباط الکتریکی یک ماهی الکتریکی (*Eigenmannia virescens*) پرداخته شد (۱۱). در مطالعه دیگری، ارتباط بین بیان ژن گیرنده آندروژن با تغییرات فصلی در رفتار ماهی الکتریکی (*Brachyhypopomus gauderio*) بررسی شد (۱۲). هم‌چنین تفاوت‌های جنسی در بیان گیرنده‌های آندروژن عصبی-عضلانی و رفتار اجتماعی جنسی در ماهی درحال تغییر جنسیت مورد مطالعه قرار گرفت (۱۳). در مطالعه‌ای، بیوسنتز آندروژن در ماهی‌ها مورد بررسی قرار گرفت و ساختار مولکولی AR هسته‌ای در گونه‌های مدل پستانداران و ماهی‌ها مقایسه شد و مکانیسم‌های عمل آلاینده‌های محیطی را که به طور متفاوت سیگنال‌دهی آندروژن را در تولیدمثل ماهی مختل می‌کنند، بررسی شد (۹). در پژوهش‌دیگری، شناسایی مولکولی یک گیرنده آندروژن و تأثیر برهمکنش تهاجمی طولانی مدت بر بیان ژن‌های هیپوتالاموس در ماهی سنگ سیاه (*Sebastes schlegelii*) انجام گردید (۱۴). مطالعه تنظیم آندروژن تولیدمثل در یک گونه خاص می‌تواند در ماهی‌ها انجام گیرد. علاوه بر این، ماهی را می‌توان به عنوان ارگانیسم مدل بیولوژیکی مناسب برای بررسی سیگنال‌دهی آندروژن از دیدگاه محیط‌زیست درنظر گرفت (۹). باتوجه به اهمیت هورمون آندروژن در فرایند تولیدمثل تاکنون مطالعه‌ای در مورد اثر عامل شکار و تراکم نر بر میزان بیان ژن گیرنده آندروژن در زمان‌های مختلف مواجهه با شکارچی انجام نگرفته است زیرا در پژوهش حاضر اثر تراکم متفاوت شکارچی و تراکم مختلف نر در بیان ژن گیرنده آندروژن در ماهی گوپی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی محیط آزمایش: مطالعه حاضر، در زمستان ۱۴۰۲در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی آقای مومنی‌نژاد واقع در استان قم، شهرستان قنوات انجام پذیرفت. تعداد ۱۰۸۰ ماهی گوپی با وزن ۰/۱±۰/۴گرم به تعداد مساوی نر و ماده از کارگاه محل انجام آزمایش خریداری شد و پس از ۲۴ ساعت هوادهی جهت کلرپرانی و یکسان‌سازی دمای آب به آکواریوم‌های مورد نظر منتقل گردیدند. تمامی ماهیان گوپی مورداستفاده در این آزمایش هیچ‌کدام از قبل جفت‌گیری نکرده بودند. این آزمایش در آکواریوم‌های ۸۰ لیتری با ابعاد ۳۵×۳۰×۱۲۰ سانتی‌متر انجام گردید. ماهیان گوپی به‌عنوان گونه مورد مطالعه در داخل محفظه شیشه‌ای با ابعاد ۳۵×۳۰×۳۰ سانتی‌متر در داخل آکواریوم ۱۱۰ لیتری همراه آب با PH میانگین ۷/۵ با دمای ۱±۲۶ درجه سلسیوس و میزان اکسیژن ۷/۸ ppm به‌مدت دو هفته جهت سازگاری با محیط

[Downloaded from journalaer.com on 2026-06-13]

آزمایش نگه‌داری شدند. این دیواره شیشه‌ای در داخل آکواریوم به عنوان حائل عمل کرده و مانع برخورد فیزیکی گونه شکارچی با گونه شکار می‌شود، به‌صورتی‌که تبادل دمایی و اکسیژن در کل آکواریوم به‌طور یکسان وجود دارد. در داخل هر آکواریوم از تزئینات گیاهان مصنوعی با چیدمان یکسان به‌عنوان پناهگاه استفاده شد. هوادهی به وسیله هواده مرکزی کارگاه به‌طور کامل در طول روز انجام گردید. در ادامه به تعداد ۶۰ عدد ماهی اسکار (*Astronotos ocellatus*) با وزن ۲±۸ گرم از کارگاه تهیه گردید و به‌عنوان گونه شکارچی در آکواریوم‌ها توزیع شدند. ماهیان گوپی در داخل محفظه شیشه‌ای قرارگرفته و توسط گونه شکارچی اسکار رویت شدند. ماهیان گوپی با جیره غذایی آغازگر سه صفر شرکت فرادانه سه‌وعده در روز غذادهی شدند. ماهیان به‌مدت ۱۵ روز در آکواریوم‌ها جهت سازگاری با محیط آزمایشی نگه‌داری شده و سپس نمونه‌برداری از ماهیان گوپی نر و ماده در چهار دوره زمانی متفاوت انجام گردید. مبنای تشخیص جنسیت سایز بدنشان بود. به گونه‌ای که نرها لاغرتر و کوچک‌تر از ماده‌ها هستند و هم‌چنین باله دمی در جنس نر بزرگ‌تر و رنگارنگ‌تر از ماده‌ها است.

طراحی آزمایش و معرفی تیمارها: در این آزمایش از یک طرح فاکتوریل ۲×۳ استفاده شد. به‌صورت سه سطر خطر شکار (بدون خطر، کم خطر، پرخطر) و دو سطح تراکم نر ماهی گوپی(کم، زیاد). هر تیمار داری سه تکرار بود و ۱۸ واحد آزمایشی (آکواریوم) آماده شد. هر واحد آزمایشی شامل یک تانک ۸۰ لیتری که حاوی دو سطح از تراکم ماهی گوپی (تراکم کم: ۲۰ نر و۴۰ ماده و تراکم زیاد: ۴۰ نر و ۲۰ ماده) و سه سطح از تراکم گونه شکارچی (ماهی اسکار) (بدون شکارچی، ۴ شکارچی، ۶ شکارچی) بوده است. پس از مرور منابع در مطالعات پیشین در روش‌های آزمایشگاهی (۱۵)، تعداد تیمارهای آزمایش شده طبق جدول ۱، شش مورد و هر کدام با سه تکرار می‌باشد.

جدول۱: تیمارهای آزمایش

Table 1: Experimental treatments

Treatment 1	Treatment 2	Treatment 3
No predators, low male density	4 predators, low male density	8 predators, low male density
Treatment 4	**Treatment 5**	**Treatment 6**
No predators, high male density	4 predators, high male density	8 predators, high male density

نمونه‌برداری: نمونه‌برداری از ماهیان گوپی نر و ماده در چهار دوره زمانی صورت گرفت و در هر نمونه‌برداری تعداد ۳ نمونه (دو نر و یک ماده) از هر آکواریوم توسط تور صید شده و به تانک‌ازت منتقل شد. دوره‌های زمانی نمونه‌برداری به‌شرح زیر است: ۱) پنج دقیقه پس از مواجهه اولیه با گونه شکارچی، ۲) پنج ساعت پس از مواجهه اولیه با گونه شکارچی، ۳) پنج روز پس از مواجهه اولیه با گونه شکارچی، ۴) پانزده روز پس از مواجهه اولیه با گونه شکارچی

آنالیز بیان ژن: دراین تحقیق تکنیک Real-time PCR به‌منظور بررسی بیان نسبی ژن AR در حضور ژن کنترل داخلی ۱۸ S برای نمونه‌های مورد تیمار ماهی گوپی در ۳ تکرار تکنیکی اجرا شد.

استخراج RNA: نمونه‌ها با استفاده از ازت مایع به‌صورت پودر شده و ۵۰ میلی‌گرم از هر نمونه به تیوب‌های RNAse free حجم ۲ میلی‌لیتر منتقل شدند. تمام وسایل مورد نیاز ازجمله میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتر، هاون، دسته هاون و پنس از پیش با اتوکلاو استریل شده بودند و سپس با ازت مایع سرد شسته شدند تا از هرگونه حرارتی که ممکن بوده و موجب آسیب به RNA می‌شد، جلوگیری شود. RNA استخراج شده بر روی ژل آگاروز ۱ درصد بررسی و نمونه‌ها جهت ارزیابی کمی و کیفی دقیق‌تر با استفاده از دستگاه نانودراپ در طول موج‌های ۲۳۰، ۲۶۰ و ۲۸۰ مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که نمونه‌ها از نظر غلظت و کیفیت، مناسب بوده و برای مراحل بعدی آماده بودند.

تیمار DNase: پس از بررسی غلظت RNA با استفاده از دستگاه نانودراپ، برای حذف هرگونه آلودگی ممکن، نرمال‌سازی با مقدار ۵۰۰۰ نانوگرم انجام شد. به این منظور، µg ۵ از RNA استخراج شده با ۱ میکرولیتر DNase (Fermentase, USA) و ۱ میکرولیتر بافر مخلوط و با استفاده از آب مقطر به حجم ۱۵ میکرولیتر رسانده شدند. سپس در دستگاه Thermo cycler (PeQlab, 96Grad) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه برای فعال‌سازی آنزیم DNase قرار گرفتند. در پایان، ۱ میکرولیتر EDTA 50 میلی‌مولار جهت غیرفعال‌سازی آنزیم DNase اضافه شده و در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه نگه‌داری شدند.

سنتز cDNA: برای سنتز cDNA، غلظت RNA براساس ۱۰۰۰ نانوگرم نرمال‌سازی شد. ۱µg از RNA استخراج شده با ۱ میکرولیتر آغازگر OligodT ۵۰ uM و ۱ میکرولیتر Random primer 10 uM ترکیب شد و با استفاده از آب DEPC به حجم ۱۲ میکرولیتر رسانده شد. سپس در دمای ۶۵ درجه به‌مدت ۱۰ دقیقه انکوبه گردید تا RNAها ساختار ثانویه خود را از دست داده و آغازگرهای dT بتوانند مستقر شوند (مرحله اتصال آغازگر). سپس نمونه‌ها به‌مدت ۱ دقیقه روی یخ قرار گرفتند و به آن‌ها مخلوط آنزیم Reverse transcriptase (SMOBio, Taiwan)(۱ میکرولیتر آنزیم RT، ۲ میکرولیتر Buffer10X، ۴ میکرولیتر dNTPs 10mM، ۰/۵ میکرولیتر RNase inhibitor و ۰/۵ میکرولیتر H_2O) که در مجموع ۲۰ میکرولیتر شده و به‌مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه انکوبه شدند (مرحله سنتز cDNA).

[Downloaded from journalaer.com on 2026-06-13]

واکنش با قرار دادن نمونه‌ها در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه پایان یافت (مرحله‌اتمام و توقف‌واکنش). cDNAهای ساخته شده تا انجام فرآیند Real-time PCR در فریزر ۸۰- درجه نگه‌داری شدند.

طراحی آغازگر (Primer): با استفاده از نرم‌افزار primer3 که به‌طور خاص بر روی نرم‌افزار Geneious IR9.1.8 قابل‌استفاده است، آغازگرها با درنظر گرفتن دمای ذوب‌بهینه بین ۶۰-۵۸ درجه و طول قطعه کم‌تر از ۱۵۰ جفت باز طراحی شدند. سپس سنتز آغازگرها در شرکت متابیون آلمان صورت گرفت. واکنش PCR در دستگاه Thermocycler با حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر اجرا شد که شامل ۷/۵ میکرولیتر میکس Taq DNA polymerase (Ampliqon 2x)، ۰/۵ میکرولیتر آغازگرهای رفت و برگشت و ۱ میکرولیتر از cDNA سنتز شده (رقت ۱/۵) بود. شرایط واکنش دمایی شامل دمای ۹۵ درجه به‌مدت ۱۵ دقیقه، ۴۰ سیکل شامل دمای ۹۴ درجه به‌مدت ۱۵ ثانیه، دمای ۵۹ درجه به‌مدت ۴۰ ثانیه، دمای ۷۲ درجه به‌مدت ۲۰ ثانیه بوده است. سپس ۵ میکرولیتر از محصول به‌دست آمده بر روی ژل آگاروز ۲ درصد در حضور مارکر وزن مولکولی SMOBIO ۱Kb) (1kb ladder با جریان ۸۰ ولت به‌مدت ۴۵ دقیقه الکتروفورز شدند.

جدول ۲ : لیست آغازگرهای مورد استفاده برای آنالیز بیان نسبی ژن‌های هدف در این پژوهش

Table 2: List of primers used to analyze the relative expression of target genes in this study

Primer name	sequence	Tm*	product	Accession
AR-F	CAAGGAGCTGGACCGCTTAG	60	109	XM_008419624.2
AR-R	CAGCTTTCTCACGACCGACT	60		
18s-F	GTTCGAAGACGATCAGATACCGT	60	371	XR_008605766.1
18s-R	CCGCGTAACTAGTTAGCATGCCG	60		

* Melting temperature

واکنش Real Time PCR: واکنش Real-time PCR در دستگاه RotorGene real-time PCR (Qiagen, Germany) با حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر انجام شد که شامل ۱۰ میکرولیتر میکس Taq SYBR green (Ampliqon 2x SYBR green Lowrox)، ۰/۵ میکرولیتر آغازگرهای رفت و برگشت و ۱ میکرولیتر از cDNA سنتز شده بود. شرایط واکنش دمایی شامل دمای ۹۵ درجه به‌مدت ۱۵ دقیقه، ۴۰ سیکل شامل دمای ۹۴ درجه به‌مدت ۱۵ ثانیه، دمای ۵۹ درجه به‌مدت ۴۰ ثانیه، دمای ۷۲ درجه به‌مدت ۲۰ ثانیه بوده است. در نهایت، منحنی ذوب از دامنه دمایی ۶۵ تا ۹۵ درجه با شیب ۰/۳ درجه سانتی‌گراد ترسیم شد.

آنالیز داده‌ها: نتایج بیان ژن به‌روش Real-time PCR با استفاده از روش محاسباتی $2^{(-\Delta\Delta ct)}$ برای محاسبه مقدار تغییرات نسبی بیان ژن AR گزارش شد (۱۶). این نتایج به‌صورت میانگین±انحراف معیار گزارش شدند. پس از بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون‌های کولموگروف-اسپیرنوف و شاپیرو-ویلک، وجود یا عدم‌وجود اختلاف بین گروه‌های آزمون و بررسی سطح معنی‌داری اثر متغیرهای تراکم نسبی نر و تعداد شکارچی بر روی تیمارها، توسط آنالیز ANOVA دو طرفه با استفاده از نرم‌افزار SPSS 27، انجام گردید. در ادامه، وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد ($P<0/05$) محاسبه‌شد. این آنالیزها برای هر پنج زمان نمونه‌برداری (پنج دقیقه، پنج ساعت، پنج روز و پانزده روز) به‌صورت جداگانه محاسبه گردید.

نتایج

طبق نتایج به‌دست آمده، اثر متغیرهای تراکم نسبی نر و تعداد شکارچی بر تیمارهای مورد آزمایش در زمان‌های نمونه‌برداری ۵ دقیقه، ۵ ساعت پس از مواجهه ماهی گوپی با گونه شکارچی و جنس نر رقیب، معنی‌دار بوده است ($P<0/05$). اما در زمان‌های نمونه‌برداری ۵ روز و ۱۵ روز پس از مواجهه، اثر معنی‌دار مشاهده نشد ($P>0/05$).

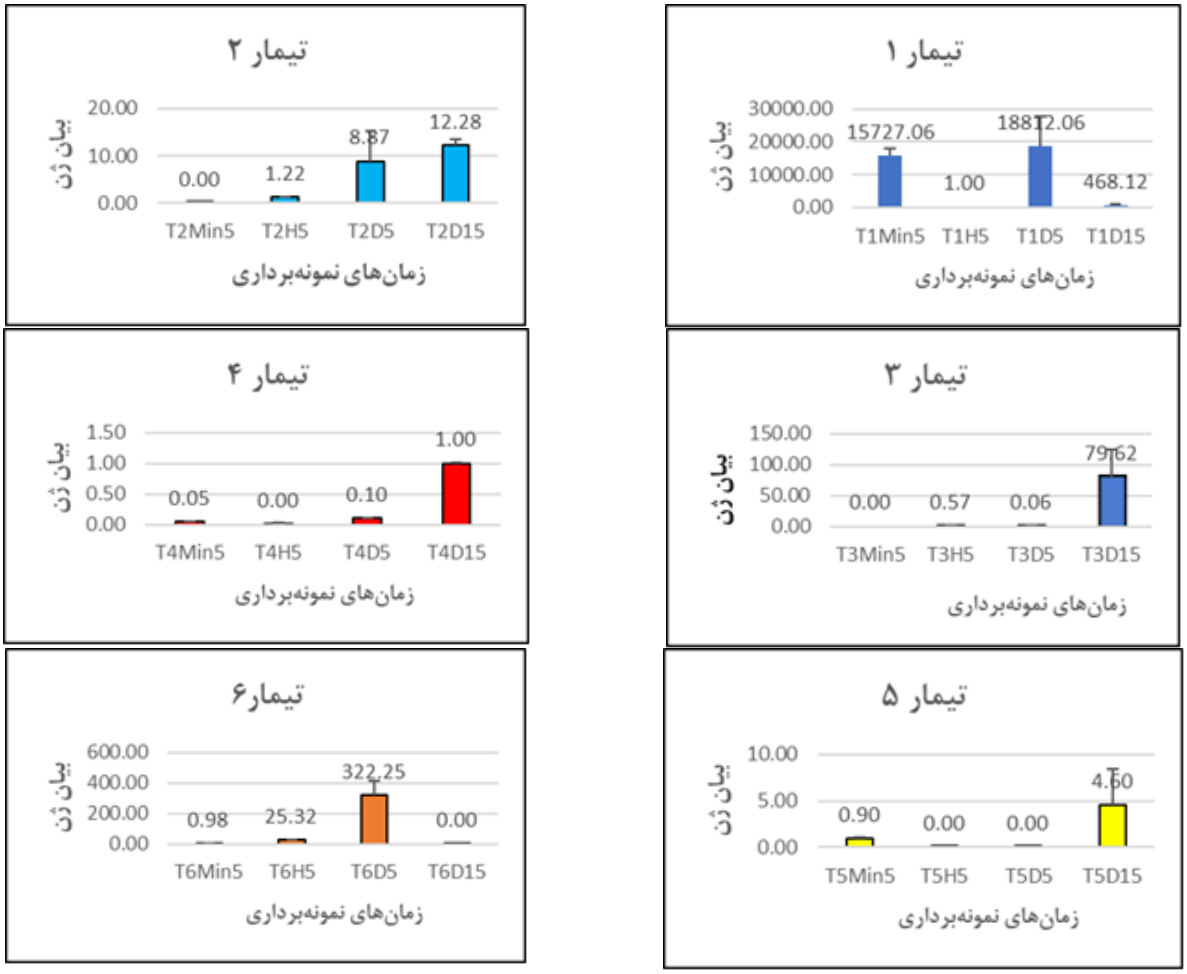
جدول ۳: نتایج آماری آزمون نرمال بودن داده‌های ژن AR

Table 3: Statistical results of the normality test for AR gene data

Predator density	Shapiro-Wilk			Kolmogorov-Spirinov		
	Statistic	Degree of freedom	Sig.	Statistic	Degree of freedom	Sig.
High density	0.41	16	<0.001	0.60	16	<0.001
Medium density	0.35	16	<0.001	0.68	16	<0.001
Low density	0.38	16	<0.001	0.55	16	<0.001

طبق شکل ۱، ۵ دقیقه پس از مواجهه، بیان ژن گیرنده آندروژن در تیمارهای با تعداد شکارچی بالا و متوسط و تراکم نسبی نر کم نسبت به تیمار بدون شکارچی (شاهد)، کاهش معنی دار نشان داد ($P<0/05$). در ادامه پس از ۵ ساعت از مواجهه با گونه شکارچی و جنس نر رقیب، بیان این ژن در تیمار با تعداد شکارچی بالا و تراکم زیاد به نسبت تیمار با تعداد شکارچی متوسط و تراکم نر زیاد و تیمار بدون شکارچی (شاهد)، افزایش معنی دار داشته است ($P<0/05$).

[Downloaded from journalaer.com on 2026-06-13]



T: تیمار، 5 min: ۵ دقیقه، 5 H: ۵ ساعت، 5D: ۵ روز، 15D: ۱۵ روز

شکل۱: بیان نسبی ژن AR در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری در ماهی گوپی

Figure 1: Relative expression of the AR gene at different sampling times in Guppy fish

بحث

در این پژوهش رفتارشناسی مولکولی ژن AR در حضور تراکم مختلف متفاوت شکارچی و تراکم مختلف نر در ماهی گوپی مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه‌ای در ماهی برقی (*Gymnotus omarorum*) نشان داد که آندروژن‌ها می توانند اثرات سریعی در تهاجم غیرمولد اعمال کنند. هم‌چنین مشخص شد که آندروژن‌ها تاثیرات سریعی بر سیگنال‌های اجتماعی در نرها و ماده‌ها دارد و این اثرات در دوجنس نر و ماده ثابت است (۱۷). آندروژن پاسخ بویایی محیطی را به یک ترکیب خاص و مرتبط با محیط زیست افزایش می‌دهد و پاسخ‌های افزایش یافته در سطح گیرنده دارای عملکرد است و اثر فعال آندروژن بر گیرنده‌های بویایی با رفتار جنسی مرتبط است (۱۸). نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد اثر تراکم مختلف شکارچی در زمان‌های متفاوت مواجهه با گونه شکارچی، اثر معنی‌داری در میزان بیان ژن AR داشته است. مطالعات نشان می‌دهد ماده‌هایی که در معرض نشانه‌های کم خطر شکارچی قرار می‌گیرند واکنش ضدشکارچی از خود نشان می‌دهند درحالی‌که ماده‌هایی که با پس زمینه شکار پرخطر مواجه می‌شوند چنین واکنشی نشان نمی‌دهند. اما نرها بدون در نظر گرفتن سطح خطر شکار واکنش معنی‌داری از خود نشان نمی‌دهند. این یافته نشان می‌دهد که گوپی‌های نر و ماده به‌طور متفاوتی تعادل رفتاری برقرار می‌کنند (۱۵). هم‌چنین گوپی‌های نر تلاش می‌کنند با چندین ماده جفت‌گیری کنند بنابراین تلاش زیادی جهت جذب جنس مخالف از خود نشان می‌دهند که از نظر زمان و انرژی پر هزینه می‌باشد (۱۹). بنابراین مبادله بین رفتار جفت‌گیری و ضدشکارچی در نرها قوی‌تر است. در مطالعه‌ای نشان داد که گوپی‌های نر کم‌تر از ماده‌ها به زیر آب می‌روند و محیط خود را کاوش می‌کنند و تعداد دفعات جفتگیری پنهان خود را در حضور شکارچی افزایش می‌دهند (۲۰، ۲۱). در مطالعه‌ای بیان شده است که گوپی‌های ماده باردار در محیط‌های پر شکار در مقایسه با ماده‌های جفت‌گیری نکرده به خطر شکار حاد

[Downloaded from journalaer.com on 2026-06-13]

پاسخ قوی‌تری نشان می‌دهند (۲۲). در این مطالعه، نتایج نشان داد که بیان‌ژن AR در ماهی‌گوپی پس از ۵دقیقه از مواجهه با شکارچی و جنس نر رقیب در تیمار ۲ با تراکم شکارچی متوسط و تراکم نر کم، نسبت به تیمار شاهد (تیمار ۱) کاهش معنی‌داری داشته است. این تغییرات به کاهش رفتار تولیدمثلی در اثر حضور شکارچی منجر شد. هم‌چنین با گذشت ۵ ساعت از مواجهه، روند کاهشی بیان ژن در تیمار ۳ با تراکم شکارچی بالا و تراکم نر کم نسبت به تیمار شاهد ادامه پیدا کرده‌است. عوامل استرس‌زا بسته به ماهیت و شدت عامل استرس‌زا به طرق مختلف بر تولیدمثل ماهی اثر می‌گذارد. این اثرات از طریق انتشار هورمونی که با درک عالم استرس‌زا آغاز شده، منتقل می‌شود و شامل محور هیتوتالاموس-هیپوفیز-فوق‌کلیه، کتکولامین‌ها می‌باشد. ایجاد یک پاسخ استرس و مقاومت در برابر عامل استرس (مانند شکارچی یا گونه رقیب) یک فرایند پرهزینه است، از جمله این هزینه‌ها، تلاش موجود زنده برای تنظیم مجدد هومئوستازی‌است (۲۳). در مطالعات آینده پیشنهاد می‌شود تغییرات ژن‌های دیگری مرتبط با تغذیه به همراه رفتارشناسی مشاهده‌ای در تراکم مختلف شکارچی مدنظر قرار گیرد.

منابع

1. **Odling-Smee, L. and Braithwaite, V.A., 2003.** The role of learning in fish orientation. *Fish and Fisheries*. 4(3): 235-246. doi: 10.1046/J.1467-2979.2003.00127.X
2. **Frommen, J.G., Thünken, T., Santostefano, F., Balzarini, V. and Hettyey, A., 2022.** Effects of chronic and acute predation risk on sexual ornamentation and mating preferences. *Behavioral Ecology*. 33(1): 7-16. doi: 10.1093/BEHECO/ARAB116
3. **Chuard, P.J.C. and Brown, G.W.A., 2018.** Competition for food in 2 populations of a wild-caught fish. Retrieved from https://academic.oup.com/cz/article-abstract/64/5/615/4797078
4. **Magurran, A., 2005.** Evolutionary ecology: the Trinidadian guppy. Retrieved from https://books.google.ca/books?hl=en&lr=&id=8uXcIb_E6TMC&oi=fnd&pg PR9&dq=Evolutionary+ecology:+the+Trinidadian+guppy&ots=eEz93HkMLr&sig=UP73bR42mnyCdO6GVk1JeJwScCM
5. **Chuard, P.J.C., 2017.** Competition in Trinidadian guppies, *Poecilia reticulata*: Effects of competitor-to resource ratio, sex, resource type, and tempo of predation risk.
6. **Singh, R., Shastry, P.K., Rasalkar, A.A., Singh, L. and Thangaraj, K., 2006.** A novel androgen receptor mutation resulting in complete androgen insensitivity syndrome and bilateral Leydig cell hyperplasia. *Journal of Andrology*. 27(4): 510-516. doi: 10.2164/JANDROL.05181
7. **Borg, B., 1994.** Androgens in teleost fishes. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: *Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*. 109(3): 219-245. doi: 10.1016/0742-8413(94)00063-G
8. **Breton, B., 1996.** Steroid Activation of the Brain Pituitary Complex Gonadotropic Function in the Triploid Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*. *Elsevier*. Retrieved from https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016648096900179
9. **Golshan, M. and Alavi, S.M.H., 2019.** Androgen signaling in male fishes: Examples of anti-androgenic chemicals that cause reproductive disorders. *Theriogenology*. 139: 58-71. doi: 10.1016/J.Theriogenology.2019.07.020
10. **Ogino, Y., Ansai, S., Watanabe, E., Yasugi, M., Katayama, Y., Sakamoto, H., Okamoto, K., Okubo, K., Yamamoto, Y., Hara, I., Yamazaki, T., Kato, A., Kamei, Y., Naruse, K., Ohta, K., Ogino, H., Sakamoto, T., Miyagawa, S., Sato, T. and Iguchi, T., 2023.** Evolutionary differentiation of androgen receptor is responsible for sexual characteristic development in a teleost fish. *Nature Communications*. 14(1): 1-16. doi: 10.1038/s41467-023-37026-6
11. **Dunlap, K.D. and Zakon, H.H., 1998.** Behavioral Actions of Androgens and Androgen Receptor Expression in the Electrocommunication System of an Electric Fish, *Eigenmannia virescens*. *Hormones and Behavior*. 34(1): 30-38. doi: 10.1006/HBEH.1998.1460
12. **Pouso, P., Quintana, L., Bolatto, C. and Silva, A.C., 2010.** Brain androgen receptor expression correlates with seasonal changes in the behavior of a weakly electric fish, *Brachyhypopomus gauderio*. *Hormones and Behavior*. 58(5): 729-736. doi: 10.1016/J.YHBEH.2010.07.005
13. **Schuppe, E.R., Pradhan, D.S., Thonkulpitak, K., Drilling, C., Black, M. and Grober, M.S., 2017.** Sex differences in neuromuscular androgen receptor expression and sociosexual behavior in a sex changing fish. *PLOS ONE*. 12(5): e0177711. doi: 10.1371/Journal.PONE.0177711
14. **Xu, X., Sun, X., Bai, Q., Zhang, Y., Qin, J. and Zhang, X., 2021.** Molecular identification of an androgen receptor and the influence of long-term aggressive interaction on hypothalamic genes expression in black rockfish (*Sebastes schlegelii*). *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*. 207(3): 401-413. doi: 10.1007/S00359-021-01480-8/FIGURES/6
15. **Brusseau, A.J.P., Feyten, L.E.A., Groves, V., Felismino, M.E.L., Cao Van Truong, D., Crane, A.L., Ramnarine, I.W. and Brown, G.E., 2023.** Sex and background risk influence responses to acute predation risk in Trinidadian guppies. *Behavioral Ecology*. doi: 10.1093/beheco/arad055
16. **Schmittgen, T.D. and Livak, K.J., 2008.** Analyzing real time PCR data by the comparative CT method. *Nature Protocols*. 3(6): 1101-1108. doi: 10.1038/nprot.2008.73
17. **Valiño, G., Dunlap, K. and Quintana, L., 2024.** Androgen receptors rapidly modulate non-breeding aggression in male and female weakly electric fish (*Gymnotus omarorum*). *Hormones and Behavior*. 159: 105475. doi: 10.1016/J.YHBEH.2023.105475
18. **Cardwell, J., Stacey, N. and Lang, S., 1995.** Androgen increases olfactory receptor response to a vertebrate sex pheromone. *Springer JR Cardwell, NE Stacey, SLC Lang, ESP Tan, DSO McAdam Journal of Comparative Physiology A,* 176(1): 55-61. doi: 10.1007/BF00197752
19. **Griffiths, S.W., 1996.** Sex differences in the trade-off between feeding and mating in the guppy. *Journal of Fish Biology*. 48(5): 891-898. doi: 10.1111/J.1095-8649.1996.TB01484.X
20. **Chuard, P.J.C., Grant, J.W.A., Ramnarine, I.W. and Brown, G.E., 2020.** Exploring the threat-sensitive predator avoidance hypothesis on mate competition in two wild populations of Trinidadian guppies. *Behavioural Processes*. 180. doi: 10.1016/J.BEPROC.2020.104225
21. **Magurran, A.E. and Nowak, M.A., 1991.** Another battle of the sexes: The consequences of sexual asymmetry in mating costs and predation risk in the guppy, *Poecilia reticulata*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 246(1315): 31-38. doi: 10.1098/Rspb.1991.0121
22. **Katwaroo-Andersen, J., Elvidge, C.K., Ramnarine, I. and Brown, G.E., 2016.** Interactive effects of reproductive assets and ambient predation risk on the threat-sensitive decisions of Trinidadian guppies. *Current Zoology*. 62(3): 221-226. doi: 10.1093/CZ/ZOW062
23. **Schreck, C.B., 2010.** Stress and fish reproduction: The roles of allostasis and hormesis. *General and Comparative Endocrinology*. 165(3): 549-556. doi: 10.1016/j.ygcen.2009.07.004

[Downloaded from journalaer.com on 2026-06-13]