Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Research on Animal Production, Vol. 17, Issue 1, 2026 p: 162-172

OPEN ACCESS

Research Paper

Nutritional Effect of Serine Amino acid and Choline Supplementation on the Expression of Choline Phosphotransferase 1 (CHPT1) and Phosphatidylserine Synthase 1 (PTDSS1) Genes in the Testicular Tissue of Old Broiler Breeder Roosters

Mhkam Alizadeh[1], Ali Aghaei[2], Saleh Tabatabaei Vakili[3] and Mahmoud Nazari[4]

1- Ph.D. Student in poultry nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran, (Corresponding author: aghaei@asnrukh.ac.ir)
3- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
4- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

Received: 05 October, 2025 Revised: 03 December, 2025 Accepted: 30 December, 2025

Extended Abstract

Background: Reduced fertility at the end of the reproductive cycle of roosters is directly related to structural and compositional changes in sperm membrane phospholipids and a decrease in long-chain unsaturated fatty acids, especially in phosphatidylethanolamine. At the end of the reproductive period, the ratio of phosphatidylcholine increases, and phosphatidylethanolamine and phosphatidylserine decrease. Hence, nutrition has a significant influence on sperm quality and quantity in improving sperm quality in older roosters. Therefore, enriching the diet with multifunctional compounds that maintain this for a longer period is beneficial to maximize economic benefits. Adding the amino acid serine and choline supplements to the diet of older roosters can be an effective strategy to increase sperm quality. Serine is traditionally considered a non-essential amino acid; however, it plays vital roles in protein synthesis and cell signal transduction within the body. Serine can reduce oxidative stress and increase the activity of antioxidant enzymes. Increased oxidative stress causes damage to testicular cells in birds, resulting in reduced testicular weight and sperm production. The choline supplement is a nutrient with essential metabolic functions and is a key component of membrane phospholipids. It has also been linked to fertility, as choline supplementation can enhance the expression of genes involved in spermatogenesis. Choline plays a crucial role in synthesizing cell membrane phospholipids, particularly in sperm cells. Key genes involved in the biosynthesis pathways for phosphatidylcholine and serine include choline phosphotransferase 1 (CHPT1) and phosphatidylserine synthase 1 (PTDSS1). The enzyme choline phosphotransferase 1 catalyzes the transfer of a phosphocholine group from CDP-choline to diacylglycerol. This reaction produces phosphatidylcholine, which is one of the most essential phospholipids in cell membranes. Phosphatidylcholine plays a crucial role in maintaining the structure and function of cells. Phosphatidylcholine is a key component of cell membranes and serves as a precursor for acetylcholine. It also plays important roles in metabolic functions and cell signaling. The PTDSS1 gene encodes an enzyme called phosphatidylserine synthase 1, which is essential for the production of phosphatidylserine, a crucial phospholipid found in cell membranes. This enzyme is situated in the endoplasmic reticulum membrane and catalyzes the conversion of either phosphatidylcholine or phosphatidylethanolamine into phosphatidylserine. Research has indicated that aging is associated with an increase in phosphatidylcholine levels and a decrease in phosphatidylserine levels, which may contribute to reduced fertility. Thus, the present study was conducted to investigate the effect of adding the amino acid serine and choline supplementation to the diet of old broiler breeder roosters on the expression of choline phosphotransferase 1 (CHPT1) and phosphatidylserine synthase 1 (PTDSS1) genes, which are important and effective in the phosphatidylcholine and serine biosynthesis pathway.

Methods: An experiment was conducted involving 36 Ross 308 broiler breeder roosters, approximately 45 weeks old. The study utilized a completely randomized design (CRD) with a

Copyright ©2026 Alizadeh et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License which allows users to read, copy, distribute and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited properly.

3×2 factorial arrangement of the treatments. This setup included six treatments and six replications, and the experiment lasted for 10 weeks. The experimental treatments included 1) a basal diet without serine and choline, 2) supplementation with 470 mg/kg of choline in the diet, 3) 0.15% serine amino acid in the diet, 4) 0.15% serine amino acid combined with 470 mg/kg of choline supplementation, 5) 0.3% serine amino acid in the diet, and 6) 0.3% serine amino acid combined with 470 mg/kg of choline supplementation. These treatments were designed to assess the individual and combined effects of serine and choline supplementation in the feed. At the end of the experiment, four birds from each treatment were euthanized for gene analysis. A portion of their testicular tissue was promptly removed and transported to the laboratory in liquid nitrogen, where it was stored at -80 °C. Following the extraction of total RNA, the quality and quantity of the RNA were assessed using electrophoresis and a Nanodrop device. To confirm the specific amplification of the target genes, the polymerase chain reaction (PCR) using designed primers was first performed in a thermal cycler. After that, real-time PCR was performed on the samples with two experimental replicates for the CHPT1 and PTDSS1 genes, and the beta-actin gene as a reference gene.

Results: Electrophoresis of the PCR products revealed fragments of 127, 109, and 145 base pairs for CHPT1, PTDSS1, and β-actin, respectively. The observation of only one peak in the melting curves confirmed the specificity of the designed primers. The analysis of variance results indicated that adding the amino acid serine at two concentrations, 0.15% and 0.3%, resulted in a significant decrease in the relative expression of the CHTP1 gene ($P < 0.05$). In contrast, adding 470 mg/kg of choline did not significantly affect the expression of this gene ($P > 0.05$). Moreover, real-time PCR results showed that adding 0.3% of the amino acid serine and adding 470 mg/kg of choline alone led to a significant increase in the relative expression of the PTDSS1 gene ($P < 0.05$), but adding 0.15% of the amino acid serine did not cause a significant change in the expression of this gene ($P > 0.05$). Simultaneous addition of 0.3% of the amino acid serine with 470 mg/kg of choline resulted in an increase in the relative expression of the PTDSS1 gene ($P < 0.05$), but no significant effect was observed by adding 0.15% of the amino acid serine with choline ($P > 0.05$). Furthermore, the addition of two levels (0.15 and 0.3%) of serine with choline resulted in a decrease in the relative expression of the CHTP1 gene, and the presence of choline failed to prevent this decrease.

Conclusion: Adding 0.3% of the amino acid serine along with 470 mg/kg of choline to the diet of old broiler breeder roosters resulted in a decrease in the relative expression of the CHPT1 gene and an increase in the relative expression of the PTDSS1 gene. A decrease in the relative expression of the CHPT1 gene and an increase in the relative expression of the PTDDS1 gene, respectively, resulted in a decrease in phosphatidylcholine and an increase in phosphatidylserine in the rooster testis. Therefore, it can be concluded that adding serine and choline to the diet could possibly increase sperm quality by increasing phosphatidylserine and decreasing phosphatidylcholine.

Keywords: Choline, Gene expression, Old broiler breeder roosters, Serine

How to Cite This Article: Alizadeh, M., Aghaei, A., Tabatabaei Vakili, S., & Nazari. M. (2026). Nutritional Effect of Serine Amino acid and Choline Supplementation on the Expression of Choline Phosphotransferase 1 (CHPT1) and Phosphatidylserine Synthase 1 (PTDSS1) Genes in the Testicular Tissue of Old Broiler Breeder Roosters. *Res Anim Prod,* 17(1), 162-172. DOI: 10.61882/rap.2026.1557

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مقاله پژوهشی

اثر تغذیه ای اسید آمینه سرین و مکمل کولین بر بیان ژن‌های کولین فسفوترانسفراز ۱ و فسفاتیدیل سرین سنتاز ۱ در بافت بیضه خروس‌های مسن مادرگوشتی

مه‌کام علیزاده[۱]، علی آقائی[۲]، صالح طباطبائی وکیلی[۳] و محمود نظری[۴]

۱- دانشجوی دکتری تغذیه طیور، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
۲- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران،
(نویسنده مسوول: aghaei@asnrukh.ac.ir)
۳- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
۴- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۱۳ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۹/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۰۹
صفحه: ۱۶۲ تا ۱۷۲

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: کاهش باروری در انتهای چرخه تولیدمثلی خروس‌ها با تغییرات ساختاری و ترکیبی فسفولیپیدهای غشای اسپرم و کاهش اسیدهای چرب غیر اشباع بلندزنجیره، به‌ویژه در فسفاتیدیل اتانول آمین، ارتباط مستقیم دارد. در انتهای دوره تولید مثلی، نسبت فسفاتیدیل کولین افزایش و فسفاتیدیل اتانول آمین و فسفاتیدیل سرین کاهش می‌یابند. از این‌رو، در بهبود کیفیت اسپرم در خروس‌های مسن‌تر، تغذیه تأثیر زیادی بر کیفیت و کمیت اسپرم دارد. بنابر این، غنی‌سازی رژیم غذایی با ترکیبات چندمنظوره که این امر را برای مدت طولانی‌تری حفظ می‌کنند، برای به حداکثر رساندن مزایای اقتصادی مفید است. افزودن اسیدامینه سرین و مکمل کولین در جیره خروس‌های مسن می‌تواند یکی از راهکارهای موثر برای افزایش کیفیت اسپرم باشد. سرین به‌طور سنتی به‌عنوان یک آمینواسید غیرضروری شناخته می‌شود، اما نقش‌های حیاتی از جمله شرکت در سنتز پروتئین و انتقال سیگنال‌های سلولی در بدن ایفا می‌کند. افزودن سرین می‌تواند استرس اکسیداتیو را کاهش و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد. افزایش استرس اکسیداتیو باعث آسیب به سلول‌های بیضه پرندگان و در نتیجه کاهش وزن بیضه و تولید اسپرم می‌شود. مکمل کولین نیز ماده مغذی دارای عملکرد متابولیک ضروری و جزء فسفولیپیدهای غشایی است. همچنین، کولین با باروری مرتبط است. مکمل کولین می‌تواند بیان ژن‌های دخیل در اسپرم‌زایی را افزایش دهد. کولین برای سنتز فسفولیپیدهای غشای سلولی به‌ویژه در سلول‌های اسپرم مهم است. از ژن‌های مهم و مؤثر در مسیر بیوسنتز فسفاتیدیل کولین و سرین ژن‌های کولین فسفوترانسفراز ۱ (CHPT1) و فسفاتیدیل سرین سنتاز ۱ (PTDSS1) هستند. آنزیم کولین فسفوترانسفراز ۱ واکنش انتقال گروه فسفوکولین از CDP -کولین به دی‌آسیل‌گلیسرول را کاتالیز می‌کند و در نتیجه فسفاتیدیل کولین تولید می‌شود، که یکی از مهم‌ترین فسفولیپیدهای غشای سلولی است و نقش حیاتی در حفظ ساختار و عملکرد سلول‌ها دارد. فسفاتیدیل کولین علاوه بر این که بخش عمده‌ای از غشای سلولی را تشکیل می‌دهد، پیش‌ساز استیل کولین نیز است و در عملکردهای متابولیک و سیگنالینگ سلولی نقش دارد. ژن PTDSS1 کدکننده آنزیم فسفاتیدیل سرین سنتاز ۱ است که نقش کلیدی در سنتز فسفاتیدیل سرین، یکی از فسفولیپیدهای مهم غشای سلولی، ایفا می‌کند. این آنزیم در غشای شبکه آندوپلاسمی قرار دارد و واکنش تبدیل فسفاتیدیل کولین یا فسفاتیدیل اتانول آمین به فسفاتیدیل سرین را کاتالیز می‌کند. مطالعات نشان داده‌اند که افزایش سن با افزایش فسفاتیدیل کولین و کاهش فسفاتیدیل سرین همراه است که می‌تواند منجر به کاهش باروری شود. بر این اساس، مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر افزودن اسیدآمینه سرین و مکمل کولین در جیره خروس‌های مسن گله‌های مادر گوشتی بر بیان نسبی ژن‌های کولین فسفوترانسفراز ۱ (CHPT1) و فسفاتیدیل سرین سنتاز ۱ (PTDSS1) از ژن‌های مهم و مؤثر در مسیر بیوسنتز فسفاتیدیل کولین و سرین انجام شد.

مواد و روش: این پژوهش بر روی ۳۶ قطعه خروس مسن مادر گوشتی راس ۳۰۸ با سن حدود ۴۵ هفته به‌صورت آزمایش فاکتوریل ۲×۳ در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار و شش تکرار و به‌مدت ۱۰ هفته انجام شد. تیمارهای پژوهش شامل ۱) جیره پایه (بدون سرین و کولین)، ۲) تامین ۴۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین در جیره، ۳) ۱۵/ ۰ درصد اسید آمینه سرین در جیره، ۴) ۱۵/ ۰ درصد اسید آمینه سرین + تامین ۴۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین در جیره، ۵) ۳/ ۰ درصد اسید آمینه سرین در جیره، و ۶) ۳/ ۰ درصد اسید آمینه سرین در جیره + تامین ۴۷۰ میلی‌گرم کولین در جیره بودند. در انتهای پژوهش برای بررسی ژن، چهار پرنده از هر تیمار کشتار و قسمتی از بافت بیضه سریعا جدا شد و در ازت مایع به آزمایشگاه منتقل و در دمای ۸۰- ذخیره شدند. پس از استخراج RNA کل، کیفیت و کمیت RNA با الکتروفورز و دستگاه نانودراپ تعیین شدند. سپس، واکنش سنتز cDNA انجام گرفت. به‌منظور تأیید تکثیر اختصاصی ژن‌های مورد نظر، واکنش زنجیره ای پلیمراز با استفاده از آغازگرهای طراحی شده ابتدا در دستگاه ترمال سایکلر انجام شد. پس از آن، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی (Real-time PCR) نمونه‌ها با دو تکرار آزمایشی برای ژن‌های CHPT1، PTDSS1 و ژن بتا اکتین به‌عنوان ژن مرجع اجرا شد.

یافته‌ها: الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به‌ترتیب قطعات ۱۲۷، ۱۰۹ و ۱۴۵ جفت باز را برای CHPT1، PTDSS1 و β-actin نشان داد. مشاهده تنها یک قله در منحنی‌های ذوب، تاییدکننده اختصاصی بودن پرایمرهای طراحی شده بود. نتایج تجزیه واریانس نشان دادند که افزودن اسیدآمینه سرین در دو سطح ۰/۱۵ و ۰/۳ درصد منجر به کاهش معنی‌دار بیان نسبی ژن CHTP1 شد ($P < 0.05$)، در صورتی‌که با افزودن ۱۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین اثر معنی‌داری بر بیان نسبی این ژن مشاهده نشد ($P > 0.05$). همچنین، نتایج ریل تایم نشان داد که افزودن ۰/۳ درصد اسیدآمینه سرین و افزودن ۴۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین به‌تنهایی منجر به افزایش معنی‌دار بیان نسبی ژن PTDSS1 شدند ($P < 0.05$)، اما افزودن ۰/۱۵ درصد اسید آمینه سرین روی بیان این ژن تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد ($P > 0.05$). افزودن همزمان ۰/۳ درصد اسیدآمینه سرین به‌همراه ۴۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین منجر به افزایش بیان نسبی ژن PTDSS1 شد ($P < 0.05$)، اما با افزودن ۰/۱۵ درصد اسیدآمینه سرین همراه با کولین اثر معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). علاوه بر این، افزودن دو سطح ۰/۱۵ و ۰/۳ درصد سرین با وجود کولین سبب کاهش بیان نسبی ژن CHTP1 شد و حضور کولین نتوانست از این کاهش جلوگیری کند.

نتیجه‌گیری: افزودن همزمان ۰/۳ درصد اسیدآمینه سرین به‌همراه ۴۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین به جیره خروس‌های مسن گله گوشتی منجر به کاهش بیان ژن CHPT1 و افزایش بیان نسبی ژن PTDSS1 می‌شود. کاهش بیان نسبی ژن CHPT1 و افزایش بیان نسبی ژن PTDDS1 می‌توانند به ترتیب سبب کاهش فسفاتیدیل کولین و افزایش فسفاتیدیل سرین در بیضه خروس شوند. پس، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالا افزودن سرین و کولین جیره می‌تواند با افزایش فسفاتیدیل سرین و کاهش فسفاتیدیل کولین منجر به افزایش کیفیت اسپرم شود.

واژه‌های کلیدی: سرین، کولین، بیان ژن، خروس مسن مادر گوشتی

مقدمه

باروری یکی از مهمترین ویژگی‌هایی است که سودآوری در صنعت طیور را تضمین می‌کند و خروس‌ها نقش برجسته‌ای در این امر دارند (Ahsan *et al*., 2014). خروس‌ها در سن ۳۲ تا ۴۰ هفتگی به حداکثر باروری خود می‌رسند، اما باروری آنها در حدود ۴۵ هفتگی کاهش می‌یابد که می‌تواند تأثیر منفی بر سودآوری گله‌ها داشته باشد (Qazi *et al*., 2019). این تغییرات با تغییر ترکیب فسفولیپیدهای غشای اسپرم همراه است، به طوری که نسبت فسفاتیدیل کولین (PC) افزایش و فسفاتیدیل اتانول آمین (PE) و فسفاتیدیل سرین (PS) کاهش می‌یابد. اسید چرب بلندزنجیره غیر اشباع C22:4n-6 که عمدتاً در فسفاتیدیل اتانول آمین وجود دارد، به‌طور قابل‌توجهی کاهش می‌یابد و این کاهش با افت تحرک و باروری اسپرم مرتبط است. سهم بالای اسیدهای چرب امگا-۶ در فسفولیپیدهای اسپرم، به‌ویژه آراشیدونیک و دکوزاتترانوئیک اسید، نقش مهمی در کیفیت اسپرم و باروری دارد و کاهش این اسیدهای چرب بلندزنجیره غیر اشباع باعث کاهش جنبانی و عملکرد اسپرم می‌شود (Cerolini *et al*., 1997). همچنین، جیره غذایی و ترکیب اسیدهای چرب امگا-۳ و امگا-۶ می‌توانند بر ترکیب فسفولیپیدها و کیفیت اسپرم تأثیر بگذارند و بهبود باروری را تسهیل کنند. بنابر این، کاهش باروری در انتهای چرخه تولید مثلی با تغییرات ساختاری و ترکیبی فسفولیپیدهای غشای اسپرم و کاهش اسیدهای چرب غیر اشباع بلندزنجیره، به‌ویژه در فسفاتیدیل اتانول آمین، ارتباط مستقیم دارد (Esmaeili *et al*., 2015). از این رو، در بهبود کیفیت اسپرم در خروس‌های مسن‌تر، تغذیه تأثیر زیادی بر کیفیت و کمیت اسپرم دارد و بنابر این، غنی‌سازی رژیم غذایی با ترکیبات چندمنظوره که این امر را برای مدت طولانی‌تری حفظ می‌کنند، برای به حداکثر رساندن مزایای اقتصادی مفید است (Alavi *et al*., 2020).

سرین به‌طور سنتی به‌عنوان یک آمینواسید غیر ضروری شناخته می‌شود، اما نقش‌های حیاتی در بدن ایفا می‌کند؛ از جمله شرکت در سنتز پروتئین و انتقال سیگنال‌های سلولی، که این دومی عمدتاً از طریق فسفوریلاسیون پس از ترجمه انجام می‌شود (Plattner and Bibb, 2012). افزودن سرین می‌تواند استرس اکسیداتیو را کاهش و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد (Wu *et al*., 2021). همچنین، افزایش استرس اکسیداتیو باعث آسیب به سلول‌های بیضه پرندگان و در نتیجه کاهش وزن بیضه و تولید اسپرم می‌شود (Fragoso *et al*., 2013). سرین پیش‌ساز گلیسین و سیستئین است و می‌تواند برای سنتز گلوتاتیون به‌منظور کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار گیرد (Wu *et al*., 2021). با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، سرین با شرکت در سنتز گلوتاتیون و چرخه متیونین، به‌ویژه از طریق ترکیب با هموسیستئین برای ساخت سیستئین و تأمین واحدهای تک‌کربنی برای متیلاسیون مجدد هموسیستئین، موجب بهبود فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز می‌شود. این فرایندها می‌توانند با افزایش بیان ژن‌های مرتبط با سنتز گلوتاتیون، افزایش غلظت گلوتاتیون، کاهش مالون‌دی‌آلدئید و افزایش سطح سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز، استرس اکسیداتیو کبد را کاهش دهند (Meiser *et al*., 2013).

کولین نیز ماده مغذی دارای سه عملکرد متابولیک ضروری و جزء فسفولیپیدهای غشایی است. همچنین، کولین با باروری مرتبط است. در زمینه بافت بیضه، مکمل کولین می‌تواند بیان ژن‌های دخیل در اسپرم‌زایی را افزایش دهد. به‌عنوان مثال، کولین برای سنتز فسفولیپیدهای غشای سلولی به‌ویژه در سلول‌های اسپرم مهم است. علاوه بر این، نقش کولین در اپی‌ژنتیک و تنظیم بیان ژن می‌تواند بر باروری تأثیر بگذارد و همچنین در فرآیند متیلاسیون، که برای تنظیم ژن ضروری است، نقش دارد. الگوهای متیلاسیون مناسب برای رشد و عملکرد طبیعی سلول‌های بیضه، از جمله تنظیم ژن‌های مرتبط با باروری، حیاتی هستند (Mečionytė *et al*., 2022).

بیان ژن‌های Choline Phosphotransferase (CHPT1) 1 و Phosphatidylserine Synthase 1 (PTDSS1) نقش حیاتی در بیوسنتز فسفولیپید، به ویژه در سنتز فسفاتیدیل کولین و فسفاتیدیل‌سرین، ایفا می‌کنند. این ژن‌ها برای تشکیل و عملکرد غشای سلولی ضروری هستند و بر فرآیندهای بیولوژیکی مختلف تأثیر می‌گذارند (Korbecki *et al*., 2024). ژن CHPT1 کدکننده آنزیمی است که در مسیر بیوسنتز فسفاتیدیل کولین نقش کلیدی دارد. این آنزیم، واکنش انتقال گروه فسفوکولین از CDP-کولین به دی‌آسیل‌گلیسرول را کاتالیز می‌کند و در نتیجه فسفاتیدیل کولین (PC) تولید می‌شود، که یکی از مهم‌ترین فسفولیپیدهای غشای سلولی است و نقش حیاتی در حفظ ساختار و عملکرد سلول‌ها دارد (Wang & Zhou, 2023). فسفاتیدیل کولین علاوه بر این که بخش عمده‌ای از غشای سلولی را تشکیل می‌دهد، پیش‌ساز استیل کولین نیز است و در عملکردهای متابولیک و سیگنالینگ سلولی نقش دارد (Cui & Houweling, 2002). ژن PTDSS1 نیز کدکننده آنزیمی است که نقش کلیدی در سنتز فسفاتیدیل سرین، یکی از فسفولیپیدهای مهم غشای سلولی ایفا می‌کند. این آنزیم در غشای شبکه آندوپلاسمی قرار دارد و واکنش تبدیل فسفاتیدیل کولین یا فسفاتیدیل اتانول آمین به فسفاتیدیل سرین را کاتالیز می‌کند که نقش حیاتی در حفظ ساختار غشا، سیگنال‌دهی سلولی و فرآیندهای زیستی مانند آپوپتوز و انتقال پیام‌های عصبی دارد. کاهش یا نقص در فعالیت PTDSS1 می‌تواند منجر به اختلالات در ترکیب غشای سلولی و عملکرد سلولی شود (Sekar *et al*., 2022).

همان طور که بیان شد، ژن‌های CHPT1 وPTDSS1 به‌طور مستقیم در سنتز فسفولیپیدهای مهم غشای سلولی مانند فسفاتیدیل کولین و فسفاتیدیل سرین نقش دارند که ترکیبات کلیدی در ساختار و عملکرد اسپرم هستند. تغییرات در ترکیب این فسفولیپیدها می‌تواند کیفیت اسپرم و به تبع آن باروری مردان را تحت تأثیر قرار دهد. مطالعات نشان داده‌اند که ترکیب فسفولیپیدهای اسپرم، به‌ویژه نسبت فسفاتیدیل کولین و سرین، با قابلیت باروری مرتبط است و کاهش کیفیت این ترکیبات می‌تواند منجر به کاهش باروری شود. بر این اساس، مطالعه حاضر به‌منظور اثر افزودن اسیدآمینه سرین و کولین در جیره

خروس‌های مسن گله‌های مادر گوشتی بر بیان نسبی ژن‌های CHPT1 و PTDSS1 طراحی شده است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، تعداد ۳۶ قطعه خروس مسن مادر گوشتی راس ۳۰۸ با سن حدود ۴۵ هفته به‌صورت آزمایش فاکتوریل ۲×۳ در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار و شش تکرار به‌مدت ۱۰ هفته انجام شد. تیمارهای پژوهش شامل ۱) جیره پایه (بدون سرین و کولین)، ۲) تامین ۴۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین، ۳) ۱۵/ ۰ درصد اسید آمینه سرین، ۴) ۰/۱۵ درصد اسید آمینه سرین + تامین ۴۷۰ میلی گرم بر کیلوگرم کولین، ۵) ۰/۳ درصد اسید آمینه سرین + جیره حاوی صفر درصد مکمل کولین و ۶) ۰/۳ درصد اسید آمینه سرین + تامین ۴۷۰ میلی‌گرم کولین بودند. در طول دوره پژوهش، خروس‌ها در پن‌های انفرادی قرار داده شدند و به آب آشامیدنی تازه و خوراک دسترسی داشتند و تحت شرایط محیطی کنترل‌شده با دمای استاندارد ۲۱ درجه سانتی‌گراد و یک برنامه روشنایی ۱۴ ساعت روشنایی، ۱۰ ساعت خاموشی پرورش یافتند و با جیره‌های مشابه بر اساس کتاب مدیریت ROSS 308 (2016) تغذیه شدند (جدول ۱). در انتهای کار برای بررسی بیان نسبی ژن‌های CHPT1 و PTDSS1، چهار حیوان از هر تیمار کشتار و نمونه‌برداری از بافت بیضه انجام گرفت. به این منظور، با استفاده از تیغ استریل قسمتی از بافت بیضه سریعا جدا شد و درون میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی لیتری و بدون RNase قرار گرفتند و به‌همراه ازت مایع به آزمایشگاه منتقل و در دمای ۸۰- ذخیره گردیدند.

جدول ۱- اجزاء و ترکیبات شیمیایی جیره آزمایشی خروس‌ها

Table 1. Composition and nutrients of experimental diets for roosters

ماده خوراکی	درصد
ذرت Maize	56.00
کنجاله سویا Soybean meal	9
سبوس گندم Wheat bran	19.25
جو Barley	10.00
روغن Oil	2.25
جوش شیرین Sodium bicarbonate	0.2
متیونین Methionine	0.18
صدف Oyster shell	1.05
دی‌کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.3
نمک Salt	0.27
مکمل ویتامینه [1]Vitamin[1]	0.25
مکمل مواد معدنی[2] Mineral[2]	0.25
ترکیب شیمیایی (Composition)	
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم) Metabolizable Energy (Kcal/kg)	2800
پروتئین خام (٪) Crude protein	12.62
لیزین (٪) Lysine	0.55
متیونین Methionine	0.39
متیونین + سیستئین (٪) Methionine + Cysteine	0.64
ترئونین (٪) Threonine	0.45
کلسیم (٪) Calcium	0.75
فسفر قابل دسترس (٪) Available phosphorus	0.37
سدیم Sodium	0.19
کلر Chlorine	0.19

[1] مکمل ویتامینه (به‌ازای هر کیلوگرم جیره) حاوی ۹۰۰۰ ویتامین A، ۲۰۰۰ IU ویتامین D3، ۱۸ IU ویتامین E، ۲ میلی‌گرم ویتامین K، ۱/۸ میلی‌گرم ویتامین B1، ۵/۵ میلی‌گرم ویتامین B2، ۱۰ میلی‌گرم ویتامین B3، ۳۰ میلی‌گرم ویتامین B5، ۳ میلی‌گرم ویتامین B6، ۱ میلی‌گرم ویتامین B9، ۰/۰۱۵ میلی‌گرم ویتامین B12 و ۰/۲ میلی‌گرم ویتامین H2 بود.

[2] مکمل مواد معدنی (به ازای هر کیلوگرم جیره) حاوی ۱۲۰ میلی‌گرم منگنز، ۴۰ میلی‌گرم آهن، ۱۲۰ روی، ۱۶ میلی‌گرم مس، ۲ میلی‌گرم ید ۰/۳ میلی‌گرم سلنیم بود.

[1] The vitamin supplement (per kilogram of diet) contained 9000 IU of vitamin A, 2000 IU of vitamin D3, 18 IU of vitamin E, 2 mg of vitamin K, 1.8 mg of vitamin B1, 5.5 mg of vitamin B2, 10 mg of vitamin B3, 30 mg of vitamin B5, 3 mg of vitamin B6, 1 mg of vitamin B9, 0.015 mg of vitamin B12, and 0.2 mg of vitamin H2.

[2] The mineral supplement (per kilogram of diet) contained 120 mg manganese, 40 mg iron, 120 mg zinc, 16 mg copper, 2 mg iodine, and 0.3 mg selenium.

برای استخراج RNA کل بافت‌ها، از کیت شرکت دنازیست مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد و کیفیت و کمیت RNA استخراج شده با الکتروفورز روی ژل آگارز ۲ درصد و دستگاه نانودراپ تعیین گردید. سپس، برای سنتز cDNA، از RNA با کیفیت مناسب استفاده شد و واکنش سنتز cDNA با استفاده از کیت شرکت سیناکلون انجام گرفت. توالی آغازگرهای استفاده شده برای ژن‌های مورد بررسی در جدول ۲ ارائه شده است. در این مطالعه، طراحی پرایمرها با کمک نرم‌افزار Vector NTI نسخه ۱۱ انجام شد و ساخت آن‌ها توسط شرکت سیناکلون در ایران صورت گرفت.

جدول ۲- لیست توالی و خصوصیات پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه
Table 2. The list of sequences and properties of the primers used in this study

نام ژن Gene name	توالی Sequence	طول قطعه (جفت باز) Piece length (bp)	دمای اتصال Annealing temperature
CHPT1	F (رفت): 5'- TACTGGGGCTGGTGGTGGA -3' R (برگشت): 5'- AGGAGGCGATGAGCGGCA -3'	109	68
PTDSS1	F(رفت): 5'- CGCCTGCATTTCCGCATG -3' R(برگشت): 5'- AGGAGGCGATGAGCGGCA -3'	127	60
β-actin	F(رفت): 5'-ACGTCGCACTGGATTTCGAG-3' R(برگشت): 5'- AAAGATGGCTGGAAGAGGGC-3'	145	60

به‌منظور تأیید تکثیر اختصاصی ژن‌های مورد نظر، واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای طراحی شده ابتدا در دستگاه ترمال سایکلر (مدل Thermalcycler Mini ساخت آلمان) انجام شد. جهت انجام واکنش Real Time PCR نیز از کیت Real IQ plus Master Mix Green High Rox (ساخت شرکت آمپلیکون دانمارک) استفاده شد. واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵ میکرولیتر Master Mix Green، ۱ میکرولیتر از هریک از آغازگرهای رفت و برگشت، ۲ میکرولیتر cDNA الگو و ۸/۵ میکرولیتر آب دوبار تقطیر بود. لازم به ذکر است که نمونه‌ها با دو تکرار آزمایشی برای ژن‌های CHPT1، PTDSS1 و ژن β-actin به‌عنوان مرجع، در پلت‌های مجزا و با استفاده از دستگاه (StepOne Plus Real-Time PCR System. ساخت کشور آمریکا) اجرا شد. جدول ۳ جزئیات مراحل دمایی انجام واکنش را به‌طور کامل نمایش می‌دهد.

جدول ۳- چرخه دمایی مورد استفاده در واکنش Real-time PCR
Table 3. The temperature cycle used in the real-time PCR reaction

مراحل Steps	تعداد چرخه‌ها Number of the cycle		دما (°C) Temperature (°C)	زمان Time
مرحله اول Step 1	1	واسرشت سازی اولیه Primary Denaturation	95	15 min
مرحله دوم Step 2	40	واسرشت سازی Denaturation	95	15-30 S
		اتصال پرایمر Annealing	68 or 60	30 S
مرحله سوم Step 3		بسط Extension	72	30 S
		(رسم منحنی تفکیک) Plotting the melting curve	55-59	10 S

برای آنالیز داده‌های به‌دست‌آمده از Real-time PCR، ابتدا با استفاده از نرم‌افزار StepOne ABI، گزارش کاملی از اطلاعات به صورت فایل Excel (نسخه ۲۰۱۶) استخراج شد. در ادامه، تغییرات نسبی بیان ژن‌ها نسبت به ژن β-actin (ژن مرجع) نرمال شدند. بیان نسبی ژن‌های مورد نظر نسبت به ژن مرجع با فرمول $2^{-(\Delta\Delta CT)}$ به روش Pfaffl و همکاران (۲۰۰۲) انجام شد.

پس از محاسبه‌ی مقدار Fold Change، کلیه‌ی داده‌های این طرح با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹.۴) و با رویه‌ی آماری GLM، فاکتوریل ۲×۳ در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. جهت مقایسه میانگین تیمارها از آزمون LSD با سطح احتمال ۵ درصد مطابق با رابطه زیر استفاده شد.

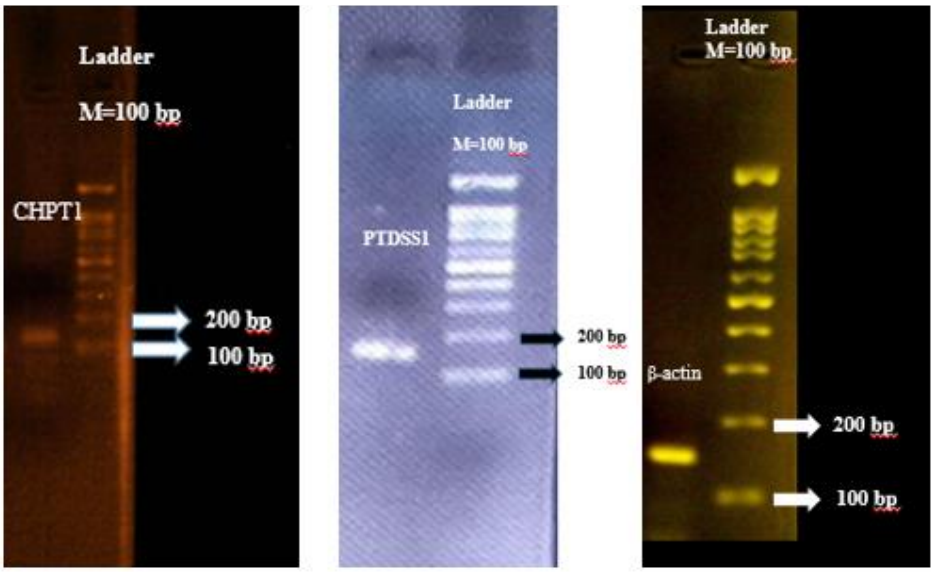
$$y_{ijk} = \mu + C_i + T_j + (CT)_{ij} + e_{ijk}$$

در این رابطه: y_{ijk} مقدار هر مشاهده، μ میانگین کل، C_i اثر سطوح کولین، T_j اثر سطوح سرین، $(CT)_{ij}$ اثر متقابل سرین و کولین و e_{ijk} اثر خطای آزمایش هستند.

نتایج و بحث

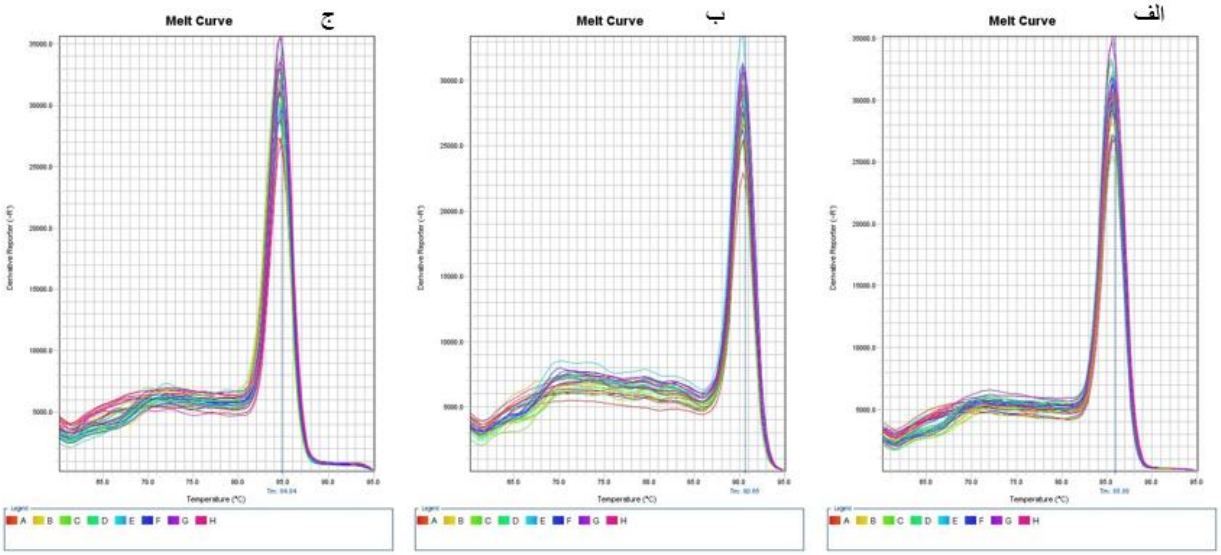
نتایج حاصل از بررسی ژل الکتروفورز RNAهای استخراج شده نشان دادند که همه نمونه‌ها از کیفیت خوبی برخوردار بودند به طوری که باندهای 18S و 28S مربوط به RNA ریبوزومی در همه نتایج به وضوح قابل مشاهده بودند. علاوه بر این، نتایج نانودراپ نیز خلوص RNAهای استخراج شده را تایید کردند؛ به‌طوری که نسبت جذب نوری ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر در محدوده ۱/۸ تا ۲/۲ قرار داشت که نشان‌دهنده عدم وجود آلودگی قابل توجه است. شکل ۱ نتایج حاصل از تکثیر ژن‌های CHPT1، PTDSS1 و β-actin بر روی ژل آگارز را نشان می‌دهد. مشاهده باندهای مشخص در محدوده‌های طول باندهای ۱۰۹، ۱۲۷ و ۱۴۵ به‌ترتیب برای CHPT1، PTDSS1 و β-actin

نشان‌دهنده صحت انجام کار و تکثیر اختصاصی ژن‌های ذکر شده است.



شکل ۱- نتیجه الکتروفورز ژل افقی محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای ژن‌های CHPT1، PTDSS1 و β-actin روی ژل آگارز ۲ درصد.
Figure 1. Results of the electrophoresis of polymerase chain reaction products for CHPT1, PTDSS1, and β-actin genes on the 2% agarose gel.

نتایج واکنش Real-time PCR در این مطالعه نشان دادند که تنها یک قله در منحنی‌های ذوب محصولات PCR ژن‌های PTDSS1، CHPT1 و β-actin مشاهده شد. این نتایج که به‌ترتیب در بخش‌های الف، ب و ج شکل ۲ ارائه شده‌اند، نشان‌دهنده تولید محصول اختصاصی در واکنش هستند.



شکل ۲- منحنی ذوب مربوط به ژن‌های الف) PTDSS1، ب) CHPT1 و ج) β-actin
Figure 2. Melting curves of A) PTDSS1, B) CHPT1, and C) β-actin genes

اثر افزودن سرین و کولین بر بیان نسبی ژن‌های CHTP1 و PTDSS1

نتایج اثر افزودن اسیدآمینه سرین و کولین بر بیان نسبی ژن‌های CHTP1 و PTDSS1 در جدول ۴ ارائه شده‌اند. اعداد داخل جدول بر اساس روش واحد اختیاری (Arbitrary unit) ارائه شده‌اند (Rabieh *et al*., 2020). در این روش، میزان بیان گروه کنترل ۱ در نظر گرفته می‌شود و بقیه تیمارها نسبت به آن سنجیده می‌شود. نتایج این پژوهش نشان دادند که افزودن اسیدآمینه سرین در دو سطح ۰/۱۵ و ۰/۳ درصد منجر به کاهش معنی‌دار بیان نسبی ژن CHTP1 شد ($P < 0.05$)، در

صورتی که با افزودن ۴۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین اثر معنی‌داری روی بیان نسبی این ژن مشاهده نشد ($P > 0.05$). همچنین، نتایج ریل تایم نشان دادند که افزودن ۰/۳ درصد اسیدآمینه سرین و همچنین افزودن ۴۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین به تنهایی منجر به افزایش معنی‌دار بیان نسبی ژن PTDSS1 شدند ($P< 0.05$)، اما افزودن ۰/۱۵ درصد اسید آمینه سرین روی بیان نسبی این ژن تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد ($P> 0.05$).

افزودن همزمان ۰/۳ درصد اسیدآمینه سرین به‌همراه ۴۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین منجر به افزایش بیان نسبی ژن PTDSS1 شد ($P< 0.05$)، اما با افزودن ۰/۱۵ درصد اسیدآمینه سرین همراه با کولین اثر معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). علاوه بر این، افزودن دو سطح ۰/۱۵ و ۰/۳ درصد سرین با وجود کولین سبب کاهش بیان نسبی ژن CHTP1 شد و حضور کولین نتوانست از این کاهش جلوگیری کند.

جدول ۴- تاثیر اسیدآمینه سرین و کولین بر بیان نسبی ژن‌های CHTP1 و PTDSS1

Table 4. Effects of the amino acid serine and choline on the expression of CHTP1 and PTDSS1 genes

PTDSS1	CHTP1	اثرات اصلی Main effects		تیمار Treatment
1.16 b	0.86 a	0		جیره پایه+ اسید آمینه سرین
1.02 b	0.55 b	0.15		Basal diet + amino acid serine
1.65 a	0.6 b	0.3		
0.04	0.04			SEM
<.0001	0.00			P-Value
1.2 b	0.7	0		جیره پایه+ ۴۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین
1.36 a	0.64	470		Basal diet + 470 mg/kg choline
0.03	0.03			SEM
0.01	0.33			P-Value
				اثرات متقابل Interactions
1 d	1 a	0	0	جیره پایه (کنترل) Basal diet (control)
1.33 bc	0.73 ab	470	0	جیره پایه+ ۴۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین Basal diet + 470 mg/kg choline
1.01 d	0.56 b	0	0.15	جیره پایه+ ۰/۱۵ درصد اسید آمینه سرین Basal diet + 0.15% amino acid serine
1.04 cd	0.54 b	470	0.15	جیره پایه+ ۰/۱۵ درصد اسید آمینه سرین +۴۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین Basal diet + 0.15% amino acid serine + 470 mg/kg choline
1.06 ab	0.53 b	0	0.3	جیره پایه+ ۰/۳ درصد اسید آمینه سرین Basal diet + 0.3% amino acid serine
1.71 a	0.66 b	470	0.3	جیره پایه+ ۰/۳ درصد اسید آمینه سرین + ۴۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین Basal diet + 0.3% amino acid serine + 470 mg/kg choline
0.09	0.03			P-Value

نتایج این تحقیق نشان می‌دهند که افزودن سرین منجر به کاهش بیان نسبی ژن CHPT1 و افزایش بیان نسبی ژن PTDDS1 می‌شود. همچنین، افزودن کولین به جیره تاثیری بر بیان نسبی ژن CHPT1 نداشت ولی بیان نسبی ژن PTDDS1 را افزایش داد. ژن CHPT1 کدکننده آنزیمی است که در مسیر بیوسنتز فسفاتیدیل کولین نقش کلیدی دارد. این آنزیم، واکنش انتقال گروه فسفوکولین از CDP– کولین به دی‌آسیل‌گلیسرول را کاتالیز می‌کند و در نتیجه فسفاتیدیل کولین تولید می‌شود (McMaster *et al*., 2018). ژن PTDDS1 آنزیم فسفاتیدیل سرین سنتاز ۱ را سنتز می‌کند. این انزیم واکنش تبدیل فسفاتیدیل کولین یا فسفاتیدیل اتانول آمین به فسفاتیدیل سرین را کاتالیز می‌کند (Wang & Zhou, 2023؛ Korbecki *et al*., 2024). نتایج نشان دادند که افزودن سرین و کولین به جیره با کاهش بیان نسبی ژن CHPT1 و افزایش بیان نسبی ژن PTDDS1 به ترتیب سبب کاهش فسفاتیدیل کولین و افزایش فسفاتیدیل سرین در بیضه خروس گردید. این تغییرات می‌توانند مبین افزایش کیفیت اسپرم با افزوده شدن سرین و کولین به جیره باشند. تحقیقات نشان داده‌اند که میزان فسفاتیدیل کولین و سرین در اسپرم با سن مرتبط است. خروس‌ها در سن ۳۲ تا ۴۰ هفتگی به حداکثر باروری خود می‌رسند، اما باروری آنها در حدود ۴۵ هفتگی کاهش می‌یابد که می‌تواند تأثیر منفی بر سودآوری گله‌ها داشته باشد (Qazi *et al*., 2019). محققین نشان دادند که در مقادیر انواع مختلف فسفولیپیدهای اسپرم با افزایش سن تغییرات شدیدی به وجود می‌آیند. با نزدیک شدن به انتهای چرخه تولید مثلی، مقدار فسفاتیدیل کولین (به صورت نسبتی از فسفولیپید تام) به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد که این رویداد با کاهش معنی‌دار مقادیر فسفاتیدیل اتانول آمین و فسفاتیدیل سرین همراه است (Kelso *et al*., 1996). فعالیت ویژه PC صفراوی ترشح شده توسط کبد بزرگسالان بسیار کمتر از کبد جوانان بود. این نشان می‌دهد که افزایش وابسته به سن در ترشح فسفولیپید صفراوی توسط PC تازه سنتز شده و ذخایر داخل کبدی PC پشتیبانی می‌شود. همچنین، نتایج این پژوهش‌ها نشان می‌دهند که این تفاوت‌ها در ترشح لیپوپروتئین PC با تغییرات در ترشح PC تازه سنتز شده همراه هستند. علاوه بر این، نتایج آزمایشات، مشاهدات قبلی در داخل بدن و در شرایط آزمایشگاهی را تأیید می‌کنند که فرآیند پیری با کاهش جریان صفرا و افزایش خروجی فسفولیپید صفراوی در موش‌ها مرتبط است (Ferland *et al*., 1989؛ Tuchweber *et al*., 1987). لذا می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش سن، انتظار کاهش فسفاتیدیل کولین و افزایش فسفاتیدیل سرین در بیضه خروس را باید داشت و نتیجه تحقیق ما نشان می‌دهد که

افزودن سرین و کولین جیره می‌تواند با افزایش فسفاتیدیل سرین و کاهش فسفاتیدیل کولین منجر به افزایش کیفیت اسپرم گردد. پارامترهای کمیت و کیفیت اسپرم که قبلا در پژوهشی دیگر مورد بررسی قرار گرفتند این نتایج را تایید می‌کنند. نتایج نشان دادند که غلظت اسپرم، جنبش پیش‌رونده، تحرک کل، سلامت غشا و زنده‌مانی اسپرم، به‌طور معنی‌داری در تیمارهای حاوی سرین و کولین نسبت به گروه شاهد بالاتر بودند. غلظت اسپرم، جنبایی پیشرونده و سلامت غشای اسپرم با تیمارهای حاوی ۰/۳ درصد مکمل سرین به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بودند. درصد تحرک کل و زنده‌مانی اسپرم با تیمارهای حاوی ۰/۱۵ و ۰/۳ درصد سرین و ۴۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مکمل کولین به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه فاقد سرین و کولین افزایش پیدا کرد. درصد اسپرم‌های با ریخت‌شناسی ناهنجار در تیمارهای حاوی ۰/۱۵ و ۰/۳ درصد سرین به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود. همچنین، بیشترین مقدار غلظت اسپرم در تیمار حاوی ۰/۳ درصد سرین و ۴۷۰ میلی‌گرم کولین مشاهده شد که نشان‌دهنده تأثیر مثبت این ترکیبات بر اسپرماتوژنز و افزایش تولید اسپرم بود. نتایج تحقیق قبلی نشان می‌دهند که استفاده از سطوح مورد مطالعه اسید آمینه ال–سرین و مکمل کولین در جیره غذایی، موجب بهبود کیفیت اسپرم و افزایش باروری در خروس‌های مسن گله‌های مادر گوشتی می‌شود (Alizadeh *et al*., 2025).

البته کاهش بیان نسبی ژن CHTP1 در بیضه که یکی از کلیدی‌ترین مراحل تبدیل کولین به فسفاتیدیل کولین است را به شکل دیگری هم می‌توان توجیه کرد. احتمالا علت کاهش این مسیر می‌تواند این باشد که با واردشدن سرین و کولین به بدن پرنده این مسیر در کبد فسفاتیدیل کولین را به مقدار زیاد می‌سازد و برای اندام‌های دیگر از جمله بیضه انتقال می‌دهد، پس اندام‌ها به این مسیر نیاز ندارند و آن را کاهش می‌دهند. افزایش بیان نسبی ژن فسفاتیدیل سنتاز ۱ در این تحقیق مبین همین موضوع است که فسفاتیدیل کولین در بافت به میزان زیاد حضور دارد لذا بافت آنرا تبدیل به فسفاتیدیل سرین می‌کند.

کبد مرکز متابولیسم کولین است، جایی که به فسفوکولین و متعاقباً به فسفاتیدیل کولین تبدیل می‌شود (Bernhard *et al.,* 2022؛ Osipova *et al*., 2022؛ Ducker & Rabinowitz, 2017؛ Li & Vance, 2008). با این وجود، سرنوشت اصلی کولین تبدیل به PC است و این در تمام سلول‌های پستاندارانی که هسته دارند رخ می‌دهد. PC به‌عنوان یک لیپید اولیه در غشاهای سلولی عمل می‌کند و پیش‌ساز مولکول‌های سیگنالینگ است. PC می‌تواند به فسفاتیدیل سرین یا اسفنگومیلین تبدیل شود یا توسط فسفولیپازها تجزیه شود. در کبد، سرنوشت اصلی PC ترشح به صفرا، ترشح به VLDL و استفاده برای تشکیل لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا در پلاسما است. تقریباً ۹۵٪ از PC صفراوی توسط روده بازجذب می‌شود، اما تنها ۴۰٪ از این PC به کبد بازگردانده می‌شود (Cole *et al*., 2012). بنابر این، برای هر ۱۰۰ مولکول PC ترشح شده به صفرا، تنها ۴۰ مولکول PC به کبد باز می‌گردند، پنج مولکول دفع می‌شوند و ۵۵ مولکول در بافت‌های دیگر استفاده می‌شوند. همچنین، عدم تعادل کولین می‌تواند با تغییرات متابولیسم کولین کبدی معکوس شود. کبد که فعال‌ترین اندام برای متابولیسم کولین است، در مواجهه با استرس محرومیت کامل کولین، بازیافت کولین می‌تواند در آن افزایش یابد (Li *et al*., 2005). بازیافت کولین شامل استفاده مجدد از کولین در یک بافت خاص، به‌عنوان مثال، پس از کاتابولیسم PC و اسفنگومیلین در کبد، است. به‌علاوه، توزیع مجدد کولین می‌تواند در پاسخ به محرومیت از کولین رخ دهد. در این حالت، کولین از یک بافت به بافت دیگری منتقل می‌شود (Li *et al*., 2007). لذا، می‌توان نتیجه گرفت که کبد به‌میزان کافی فسفاتیدیل کولین را تولید و به بافت بیضه منتقل می‌کند و بافت بیضه چون نیازی به تولید فسفاتیدیل کولین ندارد تولید آن را از طریق کاهش بیان نسبی ژن‌های کلیدی مؤثر در مسیر بیوسنتز فسفاتیدیل کولین مثل CHTP1 کنترل می‌کند و با افزایش بیان نسبی ژن فسفاتیدیل سنتاز ۱ (PTDDS1) آن را تبدیل به فسفاتیدیل سرین می‌کند.

نتیجه‌گیری کلی

افزودن همزمان ۰/۳ درصد اسیدآمینه سرین به‌همراه ۴۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کولین به جیره خروس‌های مسن گله گوشتی منجر به کاهش بیان نسبی ژن CHPT1 و افزایش بیان نسبی ژن PTDSS1 می‌گردد. کاهش بیان نسبی ژن CHPT1 و افزایش بیان نسبی ژن PTDDS1 می‌تواند به‌ترتیب سبب کاهش فسفاتیدیل کولین و افزایش فسفاتیدیل سرین در بیضه خروس گردد. پس، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً افزودن سرین و کولین جیره می‌تواند با افزایش فسفاتیدیل سرین و کاهش فسفاتیدیل کولین منجر به افزایش کیفیت اسپرم گردد.

تشکر و قدردانی

از مسئولین دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جهت فراهم نمودن امکانات پژوهش، تشکر و قدردانی می گردد.

References

Ahsan, U., Kamran, Z., Raza, I., Ahmad, S., Babar, W., Riaz, M. H., & Iqbal, Z. (2014). Role of selenium in male reproduction—A review. *Animal Reproduction Science*, *146*(1-2), 55-62. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.01.009.

Alavi, M. H., Allymehr, M., Talebi, A., & Najafi, G. (2020, June). Comparative effects of nano-selenium and sodium selenite supplementations on fertility in aged broiler breeder males. In *Veterinary Research Forum* (Vol. 11, No. 2, p. 135). https://doi.org/10.30466/vrf.2018.83172.2093.

Alizadeh, M., Aghaei, A., Tabatabaei Vakili, S., & Nazari, M. (2025). Effect of L-serine amino acid and choline supplementation on sperm quality of aged broiler breeder roosters. *Iranian Journal of Animal Science Research*. In press. https://doi.org/10.22067/ijasr.2025.94457.1260 [In Persian]

Bernhard, W., Raith, M., Shunova, A., Lorenz, S., Böckmann, K., Minarski, M., & Franz, A. R. (2022). Choline kinetics in neonatal liver, brain and lung—lessons from a rodent model for neonatal care. *Nutrients*, *14*(3), 720. https://doi.org/10.3390/nu14030720.

Cerolini, S., Kelso, K. A., Noble, R. C., Speake, B. K., Pizzi, F., & Cavalchini, L. G. (1997). Relationship between spermatozoan lipid composition and fertility during aging of chickens. *Biology of Reproduction*, 57(5), 976-980. https://doi.org/10.1095/biolreprod57.5.976.

Cole, L. K., Vance, J. E., & Vance, D. E. (2012). Phosphatidylcholine biosynthesis and lipoprotein metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, *1821*(5), 754-761. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2011.09.009.

Cui, Z., & Houweling, M. (2002). Phosphatidylcholine and cell death. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, *1585*(2-3), 87-96. https://doi.org/10.1016/S1388-1981(02)00328-1.

Ducker, G. S., & Rabinowitz, J. D. (2017). One-carbon metabolism in health and disease. *Cell Metabolism*, 25(1), 27-42. http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2016.08.009.

Esmaeili, V., Shahverdi, A. H., Moghadasian, M. H., & Alizadeh, A. R. (2015). Dietary fatty acids affect semen quality: a review. *Andrology*, *3*(3), 450-461. https://doi.org/10.1111/andr.12024.

Ferland, G., Tuchweber, B., Perea, A., & Yousef, I. M. (1989). Effect of aging and dietary restriction on bile acid metabolism in rats. *Lipids*, 24(10), 842-848. https://doi.org/10.1007/BF02535757.

Fragoso, J. S., Dıaz, M. P., Moreno, J. C. A. Infesta, P. C., Rodriguez-Berto, A., & Barger, K. 2013. Relationships between fertility and some parameters in male broiler breeders (body and testicular weight, histology and immunohistochemistry of testes, spermatogenesis and hormonal levels). *Reproductio in Domestic Animals*, 48, 345–352. https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02161.x.

Kelso, K. A., Cerolini, S., Noble, R. C., Sparks, N. C., & Speake, B. K. (1996). Lipid and antioxidant changes in semen of broiler fowl from 25 to 60 weeks of age. *Reproduction*, 106(2), 201-206. https://doi.org/10.1530/jrf.0.1060201.

Korbecki, J., Bosiacki, M., Kupnicka, P., Barczak, K., Ziętek, P., Chlubek, D., & Baranowska-Bosiacka, I. (2024). Biochemistry and Diseases Related to the Interconversion of Phosphatidylcholine, Phosphatidylethanolamine, and Phosphatidylserine. *International Journal of Molecular Sciences*, *25*(19), 10745. https://doi.org/10.3390/ijms251910745.

Li, Z., & Vance, D. E. (2008). Thematic review series: glycerolipids. Phosphatidylcholine and choline homeostasis. *Journal of Lipid Research*, 49(6), 1187-1194. https://doi.org/10.1194/jlr.R700019-JLR200

Li, Z., Agellon, L. B., & Vance, D. E. (2005). Phosphatidylcholine homeostasis and liver failure. *Journal of Biological Chemistry*, 280(45), 37798-37802. https://doi.org/10.1074/jbc.M508575200.

Li, Z., Agellon, L. B., & Vance, D. E. (2007). Choline redistribution during adaptation to choline deprivation. *Journal of Biological Chemistry*, 282(14), 10283-10289. https://doi.org/10.1074/jbc.M611726200.

McMaster, C. R. (2018). From yeast to humans—roles of the Kennedy pathway for phosphatidylcholine synthesis. *Federation of European Biochemical Societies*. 592, 1256–1272. https://doi.org/10.1002/1873-3468.12919.

Mečionytė, I., Palubinskas, G., Anskienė, L., Japertienė, R., Juodžentytė, R., & Žilaitis, V. (2022). The effect of supplementation of rumen-protected choline on reproductive and productive performances of dairy cows. *Animals*, *12*(14), 1807. https://doi.org/10.3390/ani12141807.

Meiser, J., Delcambre, S., Wegner, A., Jäger, C., Ghelfi, J., d'Herouel, A. F., & Hiller, K. (2016). Loss of DJ-1 impairs antioxidant response by altered glutamine and serine metabolism. *Neurobiology of disease*, *89*, 112-125. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2016.01.019.

Osipova, D., Kokoreva, K., Lazebnik, L., Golovanova, E., Pavlov, C., Dukhanin, A., & Starostin, K. (2022). Regression of liver steatosis following phosphatidylcholine administration: a review of molecular and metabolic pathways involved. *Frontiers in Pharmacology*, *13*, 797923. https://doi.org/10.3389/fphar.2022.797923.

Pfaffl, M. W., Horgan, G. W., & Dempfle, L. (2002). Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Research*, *30*(9), e36-e36. https://doi.org/10.1093/nar/30.9.e36.

Plattner, F., & Bibb, J. A. (2012). Serine and threonine phosphorylation. In *Basic Neurochemistry* (pp. 467-492). *Academic Press*. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374947-5.00025-0.

Qazi, I. H., Angel, C., Yang, H., Zoidis, E., Pan, B., Wu, Z., & Zhou, G. (2019). Role of selenium and selenoproteins in male reproductive function: a review of past and present evidences. *Antioxidants*, *8*(8), 268. https://doi.org/10.3390/antiox8080268.

Rabieh, M.H., Rooshanfekr, M., Nazari, M., & Ghorbani, M.R. (2020) Gene expression of antioxidant enzymes fed wild pistachio (*Pistachio atlantica*), purslane (*portulaca oleracea*) extract and vitamin E under in broiler chickens under heat stress condition. *Iranian Veterinary Journal*, 17(2), 51-60. https://doi.org/ 10.22055/ivj.2019.154392.2084 [In Persian]

Sekar, D., Dillmann, C., Sirait-Fischer, E., Fink, A. F., Zivkovic, A., Baum, N., & Weigert, A. (2022). Phosphatidylserine synthase PTDSS1 shapes the tumor lipidome to maintain tumor-promoting inflammation. *Cancer Research*, *82*(8), 1617-1632. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-20-3870.

Tuchweber, B., Perea, A., Ferland, G., & Yousef, I. M. (1987). Dietary restriction influences bile formation in aging rats. *Life Sciences*, 41(18), 2091-2099. https://doi.org/10.1016/0024-3205(87)90526-1.

Tuchweber, B., Perea, A., Ferland, G., & Yousef, I. M. (1987). Dietary restriction influences bile formation in aging rats. *Life Sciences*, 41(18), 2091-2099. https://doi.org/10.1016/0024-3205(87)90526-1.

Wang, L., & Zhou, M. (2023). Structure of a eukaryotic cholinephosphotransferase-1 reveals mechanisms of substrate recognition and catalysis. *Nature Communications*, *14*(1), 2753. https://doi.org/10.1038/s41467-023-38003-9.

Wu, X., Liu, C., Yang, S., Shen, N., Wang, Y., Zhu, Y., & Xiang, H. (2021). Glycine-Serine-Threonine Metabolic Axis Delays Intervertebral Disc Degeneration Through Antioxidant Effects: An Imaging and Metabonomics Study. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2021*(1), 5579736. https://doi.org/10.1038/s41467-023-38003-9.