

بررسی تأثیر ملاتونین روی قطر بیضه و پارامترهای منی در فصل غیرجفت‌گیری در قوچ نژاد شال

علی سوخته‌زاری^۱ مهدی وجگانی^{۲*} امیر نیاسری نسلجی^۲ علیرضا باهنر^۳ غلامرضا غلامی^۴

۱) گروه علوم درمانگاهی آموزشکده دامپزشکی دانشگاه لرستان، خرم‌آباد - ایران.

۲) گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

۳) گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

۴) کارشناس مؤسسه تحقیقاتی دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(دریافت مقاله: ۱۵ بهمن ماه ۱۳۸۴، پذیرش نهایی: ۱۵ اسفند ماه ۱۳۸۶)

چکیده

این مطالعه برای ارزیابی اثرات ملاتونین روی قطر بیضه و شاخص‌های منی در بهار سال ۱۳۸۳ بر روی تعداد ۸ رأس قوچ نژاد شال با سابقه تولید مثلی مطلوب و در دو گروه که به شکل کاملاً تصادفی انتخاب شده بودند انجام شد. از اول فروردین ماه هر یک از گروه‌های تیمار (۴ رأس) سه عدد قرص کاشتنی ملاتونین (۱۸ میلی‌گرمی، ملوین) پس از ضد عفونی قاعده گوش بصورت زیر جلدی دریافت داشتند و گروه کنترل (۴ رأس) هیچگونه درمانی دریافت نداشتند. در طول ۱۴ هفته و بصورت هفتگی اندازه‌گیری محیط بیضه و ارزیابی منی صورت گرفت. میانگین قطر بیضه $۳۲/۵۸ \pm ۰/۸۳$ و $۳۲/۸۹ \pm ۰/۳۱$ سانتی‌متر، حجم منی $۰/۹۸ \pm ۰/۱۲$ میلی‌لیتر، حرکت تجمعی $۳/۶۴ \pm ۰/۴۶$ و $۳/۱۱ \pm ۰/۳۱$ و حرکت انفرادی ۷۰ و ۷۱ درصد، غلظت اسپرم $۲/۲۳ \pm ۰/۳۹$ و $۱/۷۲ \pm ۰/۳۱$ میلیاردها در هر میلی‌لیتر و میانگین اسپرم‌های زنده ۷۹ و $۸۲/۴$ درصد به ترتیب در گروه درمان و کنترل بدست آمد. نتایج نشان داد که بر اساس آزمون T اختلاف معنی‌داری بین دو گروه در کلیه موارد اندازه‌گیری شده وجود ندارد ($p > ۰/۰۵$). بنابراین چنین می‌توان اعلام نمود که استفاده از ملاتونین در فصل غیرجفت‌گیری اثر مثبتی بر روی پارامترهای تولید مثلی قوچ نژاد شال ندارد.

واژه‌های کلیدی: ملاتونین، قوچ شال، فصل غیرجفت‌گیری، ارزیابی منی، محیط بیضه.

مقدمه

فعالیت تولید مثلی گوسفند فصلی می‌باشد (۴،۹). مطالعات نشان داده است اسپرماتوژنیزس و فعالیت تولید مثلی در قوچ هرگز متوقف نمی‌شود ولی مقدار شاخص‌های تولید مثلی در فصل جفت‌گیری در حداکثر و در فصل غیرجفت‌گیری در حداقل می‌باشند (۱۹،۲۵). در این راستا بیان شده است که در فصول بهار و تابستان و همزمان با طولانی شدن طول روز فعالیت تولید مثلی قوچ‌ها مقداری کاهش می‌یابد (۱۷،۲۵) و امروزه با توجه به پیشرفت‌های صورت گرفته در صنعت گوسفندداری خصوصاً تلقیح مصنوعی در خارج از فصل جفت‌گیری توجه بیشتری به دام‌نر و مدیریت تولید اسپرم شده است (۶) به طوری که با به کارگیری ملاتونین در خارج از فصل جفت‌گیری در بعضی از نژادها باعث رشد بیضه، بهبود رفتار جنسی، تولید اسپرم بیشتر و افزایش باروری گردیده است (۱،۵). با توجه به اینکه بسیاری از گزارشات اثر ملاتونین را در نژادهای مختلف متفاوت می‌دانند (۱۱،۲۴) و در نژادهای ایرانی هیچگونه تحقیقی در این زمینه صورت نگرفته است لذا این مطالعه در فصل بهار و بر روی قوچ نژاد شال انجام گردید.

مواد و روش کار

آزمایش حاضر در فروردین ماه سال ۱۳۸۳ در مؤسسه تحقیقاتی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و بر روی تعداد ۸ رأس قوچ نژاد شال (با میانگین سن $۳/۲$ سال و میانگین وزن ۷۴ ± ۵ کیلوگرم) انجام شد. گروه‌ها به شکل

کاملاً تصادفی انتخاب شدند. گروه تیمار شامل ۴ رأس قوچ (با میانگین سن $۲/۹$ سال و میانگین وزن ۷۸ ± ۳ کیلوگرم) و گروه شاهد شامل ۴ رأس قوچ (با میانگین سن $۳/۲$ سال و میانگین وزن ۷۳ ± ۴ کیلوگرم) بودند. قوچ‌های گروه تیمار پس از ضد عفونی پوست ناحیه قاعده گوش توسط بنزالکانیوم (Benzalchonium) ۲۰ درصد، تعداد سه قرص ۱۸ میلی‌گرمی ملاتونین (Melovine, Sante, Ceva, France) به صورت زیر جلدی دریافت داشتند. هر دو گروه تیمار و کنترل از تغذیه و مدیریت یکسانی برخوردار بودند. در طول ۱۴ هفته و هر هفته یکبار (۶ هفته قبل از کاشتن ملاتونین و ۸ هفته بعد از کاشتن ملاتونین) آزمایش محیط بیضه (Scrotal Circumference) با استفاده از نوار متر مخصوص (Orchitometer) اندازه‌گیری می‌گردید و با روش الکترواچکولاتور (Electro Ejaculator) منی قوچ‌ها جمع‌آوری شده و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل می‌گردید، سپس سریعاً مقدار ۱۰ میکرولیتر از نمونه را روی لام گرم با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده و با استفاده از میکروسکوپ با صفحه گرم (Hot plate) حرکت تجمعی (برمبنای $۵-۰$) ارزیابی می‌شد.

برای ارزیابی حرکت انفرادی نیز مقدار ۱۰ میکرولیتر از نمونه رقیق شده با محلول تریس (Tris) را روی لام گرم ۳۷ درجه سانتیگراد گذاشته و با قرار دادن لامل روی آن در زیر میکروسکوپ و با بزرگنمایی ۴۰ ارزیابی صورت می‌گرفت و برای تعیین غلظت نیز نمونه را با محلول سیترات سدیم رقیق کرده و شمارش آنها با استفاده از لام نئوبار در زیر میکروسکوپ صورت می‌گرفت، همچنین



جدول ۲- مقایسه تغییرات حرکت جمعی، حرکت انفرادی، غلظت و درصد اسپرم‌های زنده متعاقب تجویز ملاتونین در قوچ نژاد شال در خارج از فصل جفت‌گیری. حرف کوچک a نشان‌دهنده عدم اختلاف در ستون‌ها می‌باشد ($p < 0.05$).

| زنده (%) | غلظت (بیلیون/میلی لیتر) | حرکت انفرادی (%) | حرکت جمعی | تعداد (رأس) | گروه‌های آزمایشی |
|-------------------|--------------------------|------------------|--------------------------|-------------|------------------|
| ۷۹ ^a | ۲/۲۳ ^a ± ۰/۳۹ | ۷۰ ^a | ۳/۶۴ ^a ± ۰/۴۶ | ۴ | تیمار |
| ۸۲/۴ ^a | ۱/۷۲ ^a ± ۰/۳۱ | ۷۱ ^a | ۳/۸۱ ^a ± ۰/۳۱ | ۴ | شاهد |

تحت تأثیر فصل قرار می‌گیرند (۸)، Alamy در سال ۲۰۰۱ نیز گزارش کردند که تغییرات فنوپریودی میزان تولید اسپرم در قوچ نژاد دورست (Dorset) اثر گذاشته در حالی که روی تولید اسپرم قوچ نژاد فین (Finn) اثری نداشته است (۲). علاوه بر این مشاهده شده است که نژادهای مریوس و دورگه‌های مریوس نیز تغییرات فصلی چندانی از خود نشان نمی‌دهند (۴). از سوی دیگر Mukasa و همکاران در سال ۱۹۹۹ اثرات تغذیه را در فعالیت تولیدمثلی قوچ‌ها مهمتر از اثر عوامل فتوپریود دانسته‌اند (۲۲) و همچنین Martin و همکاران در سال ۱۹۹۴ نیز بیان داشتند که در بسیاری از نژادها تغییرات اندازه بیضه ممکن است تنها به علت فتوپریود نباشد بلکه به عوامل محیطی دیگری از جمله تغذیه وابستگی داشته باشد (۲۱).

در این بررسی از نظر اندازه محیط بیضه بین دو گروه تیمار و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$) که با نتایج کار Dacheux و همکاران بر روی قوچ‌های رومانوف و Alamy بر روی نژاد فین هم خوانی داشته‌ولی با نتایج کار Harris و همکاران در سال ۱۹۸۹ در قوچ‌های نژاد رومنی (Romeney) (۱۵)، Hanif و همکاران در سال ۱۹۹۱ در قوچ‌های نژاد سافولک (Soffulk) (۱۳) Chemineau و همکاران در سال ۱۹۹۶ در قوچ‌های نژاد فرانسوی (۶) که پس از تجویز ملاتونین در فصل غیرجفت‌گیری افزایش قطر بیضه را گزارش کردند مغایرت دارد که علت آن را می‌توان براساس اختلاف نژادی (۲) و اثرات تغذیه‌ای (۲۱) دانست زیرا قوچ‌های مورد مطالعه در این بررسی از تغذیه‌ای دستی و با کیفیت خوب برخوردار بودند. علاوه بر این گرچه پارامترهای حجم، غلظت و حرکت جمعی گروه تیمار ظاهراً بیشتر از گروه شاهد به نظر می‌رسید ولی بین دو گروه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.05$). مطالعاتی که در ارتباط با اثر ملاتونین روی پارامترهای گفته شده در سایر نقاط دنیا انجام شده است نتایج متفاوتی به دست آمده است Chemineau و Malpoux در سال ۱۹۹۸ تغییرات اسپرم را به صورت تغییرات کمی و کیفی به دنبال تجویز ملاتونین در فصل غیرجفت‌گیری گزارش کردند (۵) و Lopez و همکاران در سال ۱۹۹۶ افزایش غلظت اسپرم را بدون هیچگونه تغییری در تحرک اسپرم اعلام نمودند (۱۸)، و Mandiki و همکاران در سال ۱۹۹۸ نیز بیان داشتند که تحرک اسپرم تحت تأثیر فصل قرار نمی‌گیرد گرچه به طور انفرادی ممکن است در بهار تغییراتی در آن دیده شود (۲۰). Colas در سال ۱۹۸۰ نیز اعلام داشتند که فصل روی تحرک اسپرم قوچ‌های نژاد ایبله فرانس هیچگونه اثری ندارد (۷) بنابر این همان گونه که ملاحظه می‌شود در نژادهای مختلف اثر فصل روی غلظت و تحرک

جدول ۱- مقایسه تغییرات قطر بیضه و حجم منی متعاقب تجویز ملاتونین در قوچ نژاد شال در خارج از فصل جفت‌گیری. حرف کوچک a نشان‌دهنده عدم اختلاف در ستون‌ها می‌باشد ($p < 0.05$).

| تعداد (رأس) | قطر بیضه (سانتی متر) | حجم (میلی لیتر) | گروه‌های آزمایشی |
|-------------|---------------------------|--------------------------|------------------|
| ۴ | ۳۲/۵۸ ^a ± ۰/۸۳ | ۰/۹۸ ^a ± ۰/۳۱ | تیمار |
| ۴ | ۳۲/۸۹ ^a ± ۰/۲۱ | ۰/۹ ^a ± ۰/۱۲ | شاهد |

برای مشخص نمودن درصد اسپرم‌های زنده و مرده رنگ آمیزی اتوزین نگرزین (Eosin- Negrosin) انجام گردید، که پس از تهیه گسترش و مشاهده در زیر میکروسکوپ اسپرم‌های زنده بدون رنگ و اسپرم‌های مرده به رنگ قرمز یا صورتی دیده می‌شد.

نتایج

میانگین قطر بیضه در گروه تیمار ۳۲/۵۸ ± ۰/۸۳ سانتی متر و در گروه شاهد ۳۲/۸۹ ± ۰/۲۱ سانتی متر، میانگین حجم منی در دو گروه تیمار و شاهد به ترتیب ۰/۹۸ ± ۰/۳۱ میلی لیتر و ۰/۹ ± ۰/۱۲ میلی لیتر بود (جدول ۱) و میانگین حرکت جمعی در گروه تیمار ۳/۶۴ ± ۰/۴۶ و در گروه کنترل ۳/۸۱ ± ۰/۳۱ به دست آمد، و در خصوص حرکت انفرادی میانگین به ترتیب در دو گروه تیمار و شاهد ۷۰ درصد و ۷۱ درصد مشخص گردید و میانگین غلظت اسپرم در گروه تیمار ۲/۲۳ ± ۰/۳۹ میلیارد در هر میلی لیتر و در گروه کنترل ۱/۷۲ ± ۰/۳۱ میلیون در هر میلی لیتر و همچنین میانگین درصد اسپرم‌های زنده در گروه تیمار ۷۹ درصد و در گروه شاهد ۸۲/۴ درصد بدست آمد (جدول ۲). گرچه اختلافات جزئی در موارد پارامترهای ذکر شده در دو گروه تیمار و کنترل مشاهده می‌شود اما بر اساس آزمون آماری T بین گروه‌ها هیچگونه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$).

بحث

فعالیت تولیدمثلی قوچ‌ها تحت تأثیر عواملی از قبیل طول روشنائی، نژاد، سن، تغذیه، میزان بارندگی، رطوبت، درجه حرارت محیط و مدیریت قرار دارد (۳، ۱۰). به طور کلی اثر عوامل فنوپریود بر روی فعالیت تولیدمثلی قوچ‌ها مانند میش‌ها بوده ولی میزان این اثر به مراتب کمتر از میش‌ها می‌باشد، به طوری که فعالیت تولیدمثلی آنها هرگز متوقف نمی‌شود، گرچه معمولاً پارامترهای تولیدمثلی آنها در فصل جفت‌گیری در حد اکثر و در فصل غیرجفت‌گیری در حداقل می‌باشد (۱۴، ۲۳). Karagianidis و همکاران در سال ۲۰۰۰ در بررسی که در فصول مختلف سال روی خصوصیات اسپرم قوچ‌های نژاد چیوس (Chios) و فریزین (Friesian) در شمال یونان انجام دادند بیان داشتند که تولید اسپرم قوچ تحت تأثیر فصل قرار دارد به طوری که کمیت و کیفیت آن نیز در فصل تولیدمثلی بهتر از فصل غیرتولیدمثلی می‌باشد (۱۲، ۱۶).

Dacheux و همکاران در سال ۱۹۸۱ اعلام داشتند که قوچ‌های نژاد رومانوف (Romanove) کمتر از قوچ‌های نژاد ایبله فرانس (Iide-France)



References

1. Abecia, J. A., Zuniga, A., Forcada, F. (2001) Effect of melatonin treatment in spring and feed intake on wool growth and thyroxine secretion in Rosa Aragonesa. *Smal. Rumin.Res.* 41: 265-270.
2. Alamy, M. A., Foote, R.H., Hare, E. (2001) Sperm output and concentration in Finn and Dorset rams exposed to long and short- day lighting. *Theriogenol.* 56: 839-854.
3. Avdi, M., Banos, G., Stefanos, K., Chemineau, P. (2004) Seasonal Variation in testicular Volume, and Sexual behavior of chios and serres rams *Theriogenol.* 62: 275-282.
4. Cheminea, P., Malpoux, B., Delgadillo, Y., Guerin, J. P., Ravault, J., Thimonier, J., Pelletier, J. (1992) Control of sheep and goat reproduction: Use of light and melatonin. *Anim. Reprod. Sci.* 30: 157 - 184.
5. Chemineau, P., Malpoux, B. (1998) Melatonin and reproduction in domestic animals *CR.Séance SOC. Biol. Fil.* 192: 669 - 682.
6. Chemineau, P., Malpoux, B., Pelletier, J., Le Boeuf, B., Deletang, F. (1996) Use of melatonin implants and photoperiodic treatments to control seasonal reproduction in sheep and goats. *INRA Prod. Anim.* 9: 45-60.
7. Colas, G. (1980) Seasonal variations of sperm quality in adult Ile-de-France rams (Study of cellular morphology and massal motility of sperm). *Reprod. Nutr. Dev.* 18: 1789-1799.
8. Dachex, J. L., Pisselet, C., Blanc, M. R., Hocheau-de-Reviere, M. T. (1981) Seasonal variation in rete testis fluid secretion and sperm production in different breeds of ram. *J. Reprod. Fret.* 61:363-371.
9. David, E.N., Timothy, J.P., Gary, C.W. (2001) Arthur, S. *Veterinary Reproduction and obstetrics.* 8rded., W.B. Sanders Comp.philadeiphia, USA. pp.28-30.
10. Gerlach, T., Aurich, J. E. (2000) Regulation of season reproductive activity in the stallion, ram and hamster. *Anim. Reprod. Sci.* 58: 197-213.
11. Graeme, B.M., Hotzel, M.J., Blache, D., Brown, S.W., Margaret, A., Boukhliq, R., Fisher, J.S., Miller, D.W. (2002) Determination the annual pattern of reproduction in mature male Merino and Suffolk Sheep: Modification of responses to photoperiod by

اسپریم کاملاً متفاوت است. لذا نتیجه‌گیری شد که در قوچ نژاد شال با تجویز ملاتونین در فصل غیرجفت‌گیری تغییری در شاخص‌های قطر بیضه، حجم منی، حرکت تجمعی و انفرادی، غلظت منی و درصد اسپرم‌های زنده ایجاد نمی‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهش دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران در تأمین اعتبارات مورد نیاز طرح و همچنین مسئولان محترم موسسه تحقیقاتی دانشکده در اجازه انجام طرح کمال تشکر و قدردانی را می‌نماید.

an annual cycle in food supply. *Reprod. Fertil. Dev.* 14: 165-175.

12. Hafez, E.S.E., Hafez, B. (2000) *Reproduction in form Animals* 7thed., USA. Ch:12. pp. 172-181.
13. Hanif, M., Williams, H. L. (1991) The effects of melatonin on the reproductive performance of yearling Suffolk rams. *Brit. Vet. J.* 147: 49-56.
14. Hare Sign, W. (1990) Controlling Reproduction in sheep. *Brit. Socie. Anim. Prod.* 14: 23 - 36.
15. Harris, P.M., Blair, H.T., Dellow, D.W., McCurcheon, S.N., Cockrem, J. (1989) The effect of exogenous melatonin, administered in summer, on wool growth and testis diameter of rumneys. *Proceed. New Zeal. Socie. Anim. Prod.* 49: 35-38.
16. Karagiannidis, A., Varsakeli, S., Alexopoulos, C., Amarantaddis, I. (2000) Seasonal variation in semen characteristics of Chios and Friesian rams in Greece. *Small. Rumin. Res.* 37: 125 - 130.
17. Lincoln, G.A., Almidao, F., Arendt, J. (1981) Role of melatonin and circadian rhythms in seasonal reproduction in rams. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 30: 23 - 31.
18. Lopez, E., Brea, G., Palomares, M.D., Perez, S.S. Garzon, Gigler, A., Montoro, V. (1996) Sperm Characteristics of Manchego ram Lambs treated by melatonin implants. *Arch de Zootec.* 45: 395-401.
19. Malpoux, B., Viguie, C., Skinner, D. C., Thiry, J. C. Pelletier, J., Chemeneau, P. (1996) Seasonal breeding in sheep, mechanism and action of melatonin. *Anim*



- Reprod Sci. 42: 109 - 117.
20. Mandiki, S.N.M., Derycke, G., Bister, J. L., Paquay, R. (1998) Influence of season and age on sexual maturation parameters of Texal, Suffolk and Ile-de-France rams (Testicular size, semen quality and reproductive capacity, semen quality and reproductive capacity. *Small. Rumin. Res.* 28: 67-79.
 21. Martin, G., Fisher, J., Blackbery, M., Boukhliq, R., Hotzel, M., Miller, D., Shepherd, K., and Walkden-Brown, S. (1994) Nutritional and photoperiodic control of testicular size in suffolk and Merino rams. *Anim. Prod. Aust.* 20: 427
 22. Mukasa-Mugerwa, E., Ezaz, Z. (1992) Relationship of testicular growth and size to body weight and onset of puberty in Menz ram lambs. *Theriogenol.* 38: 979-988.
 23. Rosa, H.D.J., Janiper, D.T., Beryant, M. S. (2000) The effect of exposure to oestrous ewes or rams sexual behavior, plasma testosterone concentration and ability to stimulate ovulation in seasonally anoestrous ewes. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 67: 293 - 305.
 24. Rosa, H. J. D., Beryant, M. J. (2002) Review the ram effect, as a way of modifying the reproductive activity in the ewe. *Small. Rumin. Res.* 45: 250-258.
 25. Rosa, H.J.D., Bryant, M. J. (2003) Seasonality of reproduction in sheep. *Small. Rumin. Res.* 48: 155-171.



INFLUENCE OF MELATONIN TREATMENT ON SCROTAL CIRCUMFERENCE AND SEMEN PARAMETERS IN SHALL RAMS ON OUT OF SEASON

Sookhtehzari, A.¹, Vojgani, M.^{2*}, Niassari Naslaji, A.², Bahonar, A.³, Gholami, G.⁴

¹Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lorestan, Khoram Abad -Iran.

²Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.

³Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.

⁴Research Institute of Veterinary, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.

(Received 3 February 2005 , Accepted 5 March 2007)

Abstract:

An experiment was conducted to evaluate the impact of melatonin on scrotal circumference and semen parameters using 8 shall rams in April until June 2004 (out of season). In the April, the rams were randomly allocated in two groups. Four animal received 3 implants of melatonin tablets (totally 54 mg/ram) at the base of ear and the other 4 rams were considered as control group and kept at the identical circumstances. The scrotal circumference and semen parameters were weekly recorded over of a period of 14 weeks and the data on each variable were compared base on t-test. There was no significant differences between treatment and control group for scrotal circumference (32.8 ± 0.83 vs 32.89 ± 0.21 cm), semen volume (0.98 ± 0.31 vs 0.9 ± 0.12 ml/ejaculation), mass motility (3.64 ± 0.46 vs 3.1 ± 0.31), individual motility (70 vs 71 percent), sperm concentration (2.23 ± 0.39 vs 1.72 ± 0.31 billion/ml) and live sperm per cent (79 vs 82 percent) ($p > 0.05$). It was concluded that to use of melatonin would not improve the semen parameters in out of season reproduction assessment of shall rams.

Key words: shall ram, melatonin, out of season, semen evaluation, scrotal circumference.

*Corresponding author's email: vodjgani@ut.ac.ir, Tel: 021-44121505, Fax: 0661-6200109

Mobil: 09161611290

