

بررسی سطح سرمی هورمون‌های تولیدمثلی در بره‌های نر سالم و اخته شده قزل در دوره قبل از بلوغ

لطیفه مرادی^۱، غلامعلی مقدم^۲، حسین دقیق کیا^۳، غلامرضا حمیدیان^۴ و فرشید نظری زنونز^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۷/۹

^۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

^۲ استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

^۳ استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز

^۴ دانشجوی دکتری دام گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

*مسئول مکاتبه: Email: ghmoghaddam@tabrizu.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بیضه، از طریق مسیرهای عصبی و اندوکرینی فعالیت تولیدمثلی حیوان را هدایت می‌کنند. اختلال در هر یک از این مسیرها منجر به ناکارآمدی سیستم تولیدمثلی می‌شود. هدف: ارزیابی الگوی تغییر هورمون‌های جنسی در بره‌های سالم و اخته شده قزل در دوره قبل از بلوغ در سنین مختلف هدف عمده بود. روش کار: در این بررسی ۲۰ راس بره نژاد قزل در ۴ رده سنی (۱-۴ ماهه) انتخاب و به روش جراحی باز اخته شدند و همزمان ۴ راس بره یک ماهه به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. بره‌های پنج گروه با یک جیره یکسان مطابق احتیاجات NRC,2007 تا رسیدن به سن ۹ ماهگی تغذیه شدند. خونگیری از بره‌ها به صورت ماهانه تا نه ماهگی انجام شد و پس از جداسازی سرم، سطح هورمون‌های تستوسترون، LH و FSH توسط الایزا اندازه‌گیری شدند. **نتایج:** در بره‌های نر سالم غلظت تستوسترون از سن ۴ ماهگی (۰/۶۵ نانوگرم در میلی‌لیتر) شروع به افزایش کرده و در ۹ ماهگی به ۲/۳۳ نانوگرم در میلی‌لیتر رسید، غلظت FSH در بره‌های سالم در دوره پس از شیرواری و ابتدای بلوغ بیشترین بود ($P < 0/05$). غلظت LH در سن سه ماهگی در نرهای سالم به یکباره افزایش قابل توجهی داشت. در گروه اخته شده یک ماهه غلظت تستوسترون اختلاف معنی‌داری با ماه‌های دیگر نداشت ($P > 0/05$). مقایسه غلظت تستوسترون در گروه‌های اخته یک‌ماهه، دو ماهه، سه ماهه با هم اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند ($P > 0/05$). افزایش مقدار LH و FSH در فاصله یک ماه پس از اخته شدن در گروه‌های اخته نسبت به گروه شاهد چشمگیر بود. نتیجه‌گیری نهایی: نقطه برجسته مطالعه حاضر ویژگی افزایش گنادروتروپین‌ها در انتهای دوره شیرواری (۲-۴ ماهگی) است که نشان‌دهنده شروع بلوغ هورمونی در نژاد قزل می‌باشد.

واژگان کلیدی: اخته کردن، بره‌های نژاد قزل، تستوسترون، LH، FSH

مقدمه

کننده هورمون‌های گنادروتروپین در هیپوفیز و سلول‌های سنتز کننده هورمون‌های استروئیدی در بیضه دارد. بلوغ با تغییر در الگوی ترشح گنادروتروپین‌ها در

بلوغ جنسی و تکامل دستگاه تولیدمثلی در جنس نر وابسته به هماهنگی و همکاری دقیق سلول‌های سنتز

شدن رفتارهای جنسی در نرهای اخته شده به فاصله زمانی بین بیضه برداری و به وجود آمدن شرایط برای جفت‌گیری بستگی دارد. اگر این فاصله زیاد باشد میل جنسی بسیار کاهش می‌یابد و گاهی دوباره پدیدار نخواهد شد، همینطور تزریق استروئیدها به نرهای گنادربرداری شده رفتارهای جنسی را در آنها برقرار می‌کند (الفتی و همکاران ۱۳۹۲، ضمیری ۱۳۸۸ و نظری و همکاران ۲۰۱۴). تاثیر فاکتورهای متاثر از بیضه بر روی مکانیسم‌های هیپوفیزی تغییر دهنده LH و FSH در سطح سیستمیک در دوران قبل از بلوغ هنوز بطور کامل شناخته شده نیست. در این تحقیق روند تغییرات ترشح گنادروتروپین‌ها در دوره قبل از بلوغ در پاسخ به قطع منبع تستوسترون در سنین مختلف بر روی بره‌های نژاد قزل بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۰ راس بره نر از گروه ژنتیکی قزل در ۴ گروه سنی گروه ۱: یک‌ماهه ($n=4$)، گروه ۲: دوماهه ($n=4$)، گروه ۳: سه‌ماهه ($n=4$)، گروه ۴: چهارماهه ($n=4$)، انتخاب شدند. بره‌های ۴ گروه به روش جراحی باز توسط دامپزشک جراحی شدند، ابتدا توسط زایلازین گوسفندها آرام شده سپس بیضه هر دو سمت خارج شد و به مدت پنج روز آنتی‌بیوتیک عمومی به همراه فلونکیس به بره‌ها تزریق شد. گروه ۵ مربوط به ۴ بره یک‌ماهه قزل اخته نشده که به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. تمامی گروه‌ها با یک جیره یکسان تا سن ۹ ماهگی در شرایط داخل اصطبل پروار تغذیه شدند. جیره مصرف شده توسط بره‌ها از اقلام موجود در جدول ۱ بود که به صورت کاملاً مخلوط در دو وعده بصورت آزاد در اختیار دام‌ها قرار گرفت.

نابالغ‌ها به الگوی ترشح در بالغین شروع می‌شود. ترشح LH از زمان جنینی در گوسفند آغاز می‌شود یافته‌های قبلی نشان می‌دهد برخلاف LH، ترشح FSH تنها تا مدت کوتاهی بعد از تولد تغییرات عمده‌ای نشان نمی‌دهد (وان کوسکا و همکاران ۲۰۱۰). بلوغ جنسی شامل تغییرات متاثر از استروئیدهای جنسی و فاکتورهای غیر استروئیدی بر روی ترشح LH و FSH می‌باشد، فیدبک منفی کارامدی بین تستوسترون و ترشح LH (رام‌سایرم و کریشنامورتی ۲۰۰۱)، استرادیول و LH (وان کوسکا و همکاران ۲۰۱۰)، اینهیبین و FSH (هدگر و وینال ۲۰۱۲) قبل از بلوغ در گوسفند وجود دارد. تاثیر هیپوفیزیوتروپیکی اینهیبین تولید شده از بیضه‌ها بر روی هیپوفیز تا زمان بلوغ افزایش می‌یابد (تیلبروک و همکاران ۱۹۹۹). ویژگی اساسی شروع بلوغ دستگاه تولیدمثلی کاهش حساسیت محور هیپوتالاموس-هیپوفیز به فیدبک منفی هورمون‌های بیضه است که منجر به افزایش غلظت LH و FSH می‌شود. این روند عصبی-هورمونی در هنگام بلوغ موجب تمایز و تکامل سلول‌های بیضه، یعنی بلوغ می‌شود (کیلگور و همکاران ۱۹۹۹، وتسون و همکاران ۲۰۰۳، آلکر و همکاران ۲۰۰۵). از این رو میزان و نوع پاسخ به گنادربرداری در حیوانات مزرعه‌ای در دوره قبل از بلوغ و بعد از آن می‌تواند متفاوت باشد. گنادربرداری در حیوانات اهلی بالغ تاثیری بر ترشح GnRH ندارد ولی باعث افزایش پالس‌های LH از هیپوفیز قدامی می‌شود. بیضه‌ها به عنوان منبع اصلی تستوسترون در حیوان نر مطرح هستند که باعث شروع فعالیت‌های جنسی و رفتارهای پرخاشگرانه می‌شود. حضور استروئیدهای جنسی (استرادیول در ماده و تستوسترون در نر) برای پیدایش رفتارهای جنسی الزامی است. برای نمونه اخته کردن نرها، رفتارهای جنسی را به میزان قابل توجهی کاهش می‌دهد. ناپدید

Table 1- The composition of diet based on dry matter (percent)

Alfalfa	Barley Grain	Corn	Soybean meal	Wheat bran	*Complement	Salt
28	31	20	10	10	0.8	0.2

*Complement: NaHCO₃, CaCO₃, Vit ADEK

طرح آزمایشی مورد استفاده در این تحقیق، طرح کاملاً تصادفی با مدل آماری زیر بود:

$$Y_{ijk} = \mu + a_i + z_j + az_{ij} + e_{ijk}$$

متغیرهای این مدل عبارتند از: Y_{ijk} = متغیر وابسته،

μ = میانگین کل، a_i = اثر i امین حیوان، z_j = اثر زمان نمونه

گیری، az_{ij} = اثر متقابل حیوان i ام در زمان j ام، e_{ijk} =

اثر اشتباه آزمایشی بود. داده‌ها با نرم افزار SAS و با

رویه Mixed مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در این

آزمایش $P < 0.05$ به عنوان معنی‌داری در نظر گرفته

شد. نتایج و بحث

میانگین غلظت‌های سرمی هورمون‌های تستوسترون،

LH و FSH بین گروه شاهد و اخته شده در جداول ۳

و ۴ و نمودارهای ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده است. در گروه

شاهد میانگین غلظت تستوسترون از ۴ ماهگی (۰/۶۵) نانو

گرم در میلی‌لیتر) تا سن ۶ ماهگی (۱/۶۹) نانوگرم در

میلی‌لیتر) شروع به افزایش کرده سپس بین سنین ۶ تا ۸

ماهگی اندکی کاهش یافته و در ۹ ماهگی (۲/۳۳) نانوگرم

در میلی‌لیتر) به حدکثر میزان خود رسید. نتایج این تحقیق

نشان می‌دهد که نژاد قزل از نظر الگو و میزان ترشح

تستوسترون در دوره قبل از بلوغ شباهت زیادی با نژاد

اووایی دارد ولی میزان ترشح تستوسترون در نژادهای

رومانوف و کارولایز بیشتر می‌باشد (کریدلی و همکاران

۲۰۰۶).

Table 2- Chemical composition of diet fed to lambs

	ME Mcal/day	MP g/day	Ca g/day	P g/day
Intake	2.787	116	8	4
Total Requirement	2.787	90	8	4
Maintenance	1.071	49	3	2
Growth	1.716	41	4	2
Balance	0.000	26	1	0

نمونه خون از بره‌های تمامی گروه‌ها بصورت ماهانه از

یک‌ماهگی تا ۹ ماهگی توسط ونوجکت حاوی EDTA، به

مقدار ۵ سی سی از سیاهرگ و داج گرفته شد. پلاسمای

نمونه‌های خونی توسط سانتریفیوژ با دور ۳۵۰۰ دور در

۱۰ دقیقه جدا شده و پس از ذخیره‌سازی در میکروتیوپ

منجمد شد و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری

شدند. در پایان آزمایش غلظت هورمون‌های

تستوسترون، LH و FSH توسط کیت‌های مربوطه و

الایزا ریدر اندازگیری گردید. غلظت تستوسترون با کیت

تستوسترون شرکت (Monobind Inc. Lake Forest,

CA 92630, USA) با ضریب تغییرات بین گروه ۴/۸

درصد و داخل گروه ۹/۷ درصد با حساسیت ۰/۵۷۶

نانوگرم در میلی‌لیتر اندازگیری شد. غلظت LH با کیت

شرکت پیشتاز طب با ضریب تغییرات بین گروهی ۳/۱ و

داخل گروهی ۴/۹ با حساسیت ۰/۱۴۰ نانوگرم در

میلی‌لیتر اندازگیری شد. غلظت FSH با کیت شرکت

پیشتاز طب با ضریب تغییرات بین گروهی ۲/۹ و داخل

گروهی ۳/۸ درصد با حساسیت ۰/۱۱۳ نانوگرم در

میلی‌لیتر اندازگیری شد.

Table 3- Least-square means of hormone concentrations in intact male Ghezel lambs

Different ages	Mean of testosterone concentration (ng/ml)	Mean of LH concentration (ng/ml)	Mean of FSH concentration (ng/ml)
1 months of age	0.400 ^a	0.809 ^a	50.500 ^a
2 months of age	0.500 ^a	1.010 ^{ab}	56.518 ^b
3 months of age	0.580 ^a	1.920 ^c	57.810 ^{bc}
4 months of age	0.650 ^b	2.040 ^{cd}	61.473 ^d
5 months of age	0.960 ^c	1.970 ^{cde}	50.490 ^{ae}
6 months of age	1.690 ^d	1.470 ^f	46.120 ^f
7 months of age	1.270 ^e	1.022 ^{abg}	30.520 ^g
8 months of age	1.150 ^f	1.576 ^{fh}	33.250 ^h
9 months of age	2.330 ^g	1.030 ^{abgi}	30.380 ^{gi}

Means with different superscripts in each column are significantly different ($P < 0.05$).

Table 4- Least-squares means of hormone concentrations in one-month- old castrated lambs until the end of the experiment

Different ages	Mean of testosterone concentration (ng/ml)	Mean of LH concentration (ng/ml)	Mean of FSH concentration (ng/ml)
1 months of age	0.400 ^a	0.780 ^a	41.089 ^a
2 months of age	0.600 ^a	0.778 ^a	52.456 ^b
3 months of age	0.480 ^a	1.360 ^b	87.746 ^c
4 months of age	0.430 ^a	2.010 ^c	78.728 ^d
5 months of age	0.500 ^a	2.540 ^d	90.023 ^e
6 months of age	0.460 ^a	2.440 ^d	80.286 ^f
7 months of age	0.430 ^a	1.990 ^{ce}	75.240 ^{dg}
8 months of age	0.450 ^a	2.260 ^{bf}	83.523 ^{fh}
9 months of age	0.510 ^a	2.280 ^{bg}	94.666 ⁱ

Means with different superscripts in each column are significantly different ($P < 0.05$).

مشاهده شد اولین فاز پیک LH که در ۱-۴ ماهگی (۲/۰۴ نانوگرم در میلی‌لیتر) مشاهده شد و فاز دوم در ۷-۸ ماهگی (۱/۰۵۷۶ نانوگرم در میلی‌لیتر) مشاهده شد (شکل ۳). کاهش ترشح LH بین فاز اول و دوم همبستگی بالایی با افزایش غلظت تستوسترون خون داشت ($r = 0.96$ ، $P < 0.05$). فیدبک منفی کنترل کننده ترشح LH توسط فاکتورهای بیضه در دوره قبل از بلوغ در گوسفند به اثبات رسیده است، با شروع بلوغ فیدبک منفی بین فاکتورهای بیضه و ترشح LH فعال شده و حساسیت ترشح LH به بازخورد منفی فاکتورهای بیضه در هنگام بلوغ قوی‌تر از هر موقع دیگر است (کیم و همکاران ۲۰۰۸). با شروع ترشح تستوسترون در ۴ ماهگی از پیک LH کاسته شده و تراوش‌های LH نزدیک به حالت پایه

در مطالعه‌ای بر روی نژاد قزل تمایز سلول‌های مزانشیمی به سلول‌های لایدیگ که مسئول اصلی تولید تستوسترون هستند در ۴ ماهگی گزارش شده است (نظری و همکاران ۲۰۱۶). در مطالعه حاضر تغییرات تستوسترون نیز در ۴ ماهگی شروع می‌شود و در سن ۸-۹ ماهگی میزان ترشح تستوسترون خون به بیش از ۲ نانوگرم در میلی‌لیتر رسید، که نشان دهنده کامل شدن بلوغ هورمونی در این نژاد می‌باشد (شکل ۱). تغییر در ترشح LH، FSH و تستوسترون در دوره قبل از بلوغ برای تکثیر و تمایز سلول‌های سرتولی ولایدیگ همچنین برای بلوغ و ترشح بیوشیمیای این سلول‌ها و نهایتاً اسپرماتوزن مهم و ضروری است (مورا و همکاران ۲۰۱۱). در این مطالعه دو فاز پیک تراوش برای LH

گرفت که هر دو فیدبک منفی FSH و LH در دوره قبل از بلوغ به صورت فعال ترشح این دو هورمون را تنظیم می‌کنند. افزایش میزان گنادروتروپین‌ها در حیوانات اخته شده نشان می‌دهد که با برداشت کامل گنادها در دوره قبل از بلوغ فاکتورهای بیضه‌ای کنترل کننده فیدبک منفی برداشته می‌شود. در مطالعات قبلی نشان داده شده که ارکیدوکمی باعث کاهش پالس‌های LH می‌شود ولی تاثیری بر روی دامنه پالس‌ها ندارد (وانکوسکی و همکاران ۲۰۱۰). افزایش تدریجی LH پس از اخته شدن این تئوری را قوت می‌بخشد که هر چه از اخته شدن حیوان فاصله گرفته می‌شود و تستوسترون در گردش کاهش می‌یابد از حساسیت آدنوهیپوفیز به فیدبک منفی تستوسترون کاسته می‌شود (پرایس ۱۹۹۱). افزایش ترشح FSH از همان سنین ابتدایی پس از اخته شدن (۲ ماهگی) زمانی که هنوز ترشح تستوسترون در سطح پایه است نشان می‌دهد که فیدبک منفی FSH تنها مربوط به تستوسترون نمی‌باشد و وابسته به سایر فاکتورهای مربوط به بیضه می‌باشد. این فاکتور ممکن است مربوط به اینهیبین باشد، در مطالعه دیگر بر روی بره‌های پشیمی مشخص شد که ارکیدوکمی باعث توقف ترشح اینهیبین مترشح از بیضه می‌شود، پروتئینی که به صورت فیدبک منفی بر روی FSH تاثیر می‌گذارد (وانکوسکی ۲۰۱۰، هداد و همکاران ۲۰۰۶). اینهیبین به صورت فیدبک منفی می‌تواند قبل از بلوغ بر ترشح FSH تاثیر گذارد و با بلوغ حیوان حساسیت محور هیپوفیزی بر فیدبک منفی اینهیبین افزایش می‌یابد، با توجه به نمودار تراوش FSH در بره‌های سالم شاهد، از سن ۵ ماهگی سیر نزولی دارد که می‌تواند در نتیجه افزایش حساسیت آدنوهیپوفیز به فیدبک منفی اینهیبین باشد. در حالی که در بره‌های اخته شده غلظت FSH به دلیل عدم حضور اینهیبین خیلی بیشتر از گروه شاهد بود ($P < 0.05$).

می‌رسد. تفاوت غلظت تستوسترون بین گروه شاهد با گروه اخته یک‌ماهه، دوماهه، سه‌ماهه از سن ۴ ماهگی به بعد اختلاف معنی‌داری با هم داشتند ($P < 0.05$). در مورد اخته‌های چهارماهه از ماه پنجم به بعد اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشتند ($P < 0.05$). در همه گروه‌های اخته پس از خروج بیضه‌ها سطح تستوسترون در سطح پایه خود (۰/۵ نانو گرم در میلی لیتر) تا سن ۹ ماهگی باقی ماند (شکل ۱). سطح سرمی LH در گروه اخته یک ماهه از سن دو ماهگی شروع به افزایش کرده و در سن ۴ ماهگی (۲/۰۱ نانو گرم در میلی لیتر) به بالاتر از گروه شاهد رسید ($P < 0.05$) (شکل ۳). سطح سرمی LH بین سنین ۵ تا ۹ ماهگی همواره در گروه‌های اخته بالاتر از گروه شاهد بود. به نظر می‌رسد با خروج کامل بیضه‌ها از اسکروتوم فاکتورهای منجر به فیدبک منفی LH برداشته شده و ترشح LH در سطح بالاتری از نرهای سالم قرار می‌گیرد (ایان و همکاران ۲۰۱۲). در مطالعه دیگر در گوسفندانی که بر علیه GnRH واکسینه شده بودند، به علت عدم قطع کامل منبع تستوسترون بره‌های واکسینه شده سطح مابینی از ترشح LH را بین اخته شده‌ها و سالم‌ها نشان دادند (کویی و همکاران ۲۰۰۳). سطح سرمی FSH نیز همانند LH پس از اخته کردن افزایش یافته و همواره در گروه اخته شده‌ها بالاتر از گروه شاهد بود ($P < 0.05$). غلظت FSH در گروه شاهد از یک ماهگی (۵۰/۵ نانوگرم در میلی لیتر) تا ۴ ماهگی (۶۱/۴۷۳ نانوگرم در میلی لیتر) افزایش داشت سپس به تدریج کم شده و به کمترین میزان خود در ۹ ماهگی (۳۰/۳۸ نانوگرم در میلی لیتر) رسید. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که همانند LH فیدبک منفی بین فاکتورهای بیضه با ترشح FSH وجود دارد چرا که با حذف بیضه‌ها در گروه‌های اخته سطح سرمی FSH همواره بالاتر از گروه شاهد است که با نتایج وانکوسکی و همکاران ۲۰۱۰ مطابقت داشت. بنابراین می‌توان نتیجه

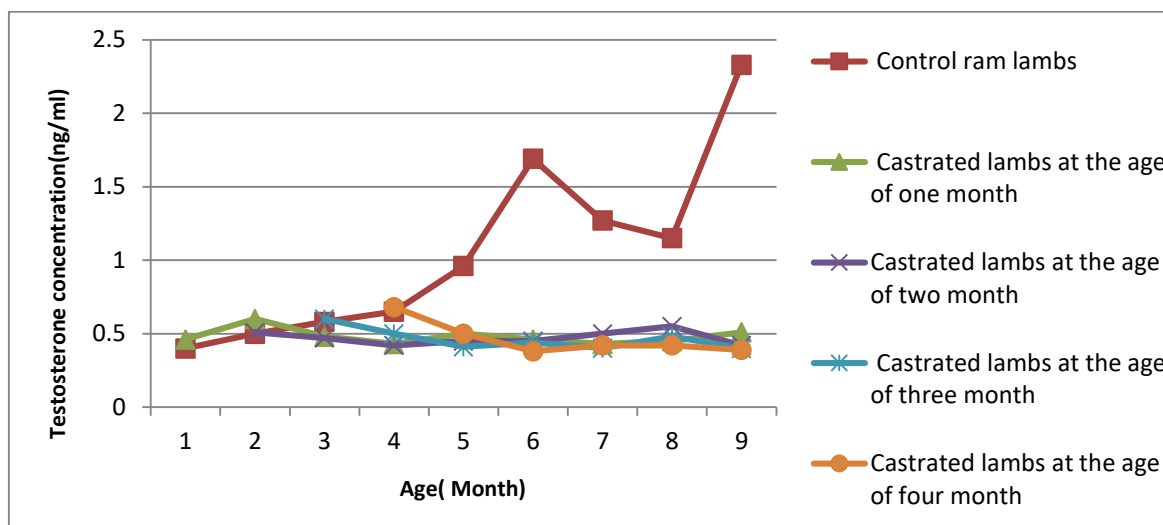


Figure 1- Plasma levels of testosterone in castrated and intact lambs groups

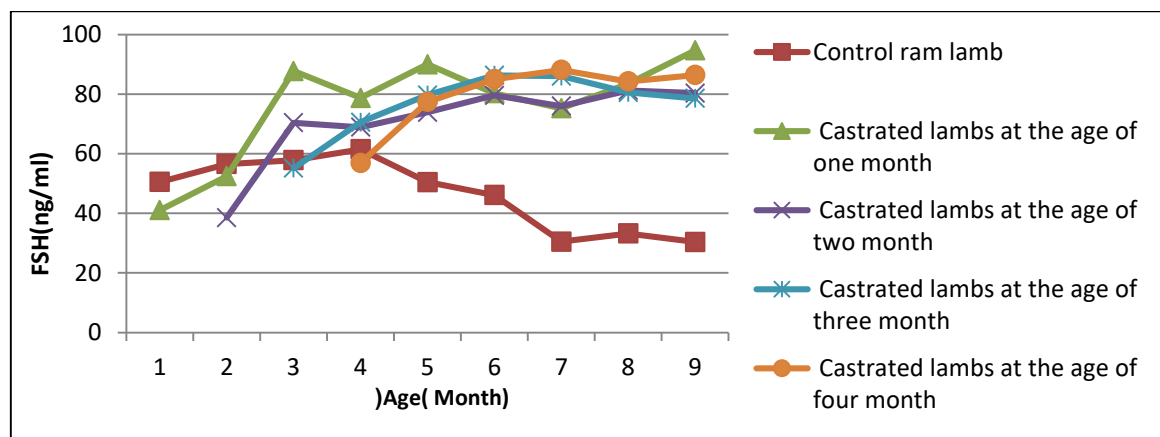


Figure 2- Plasma levels of FSH in castrated and intact lambs group

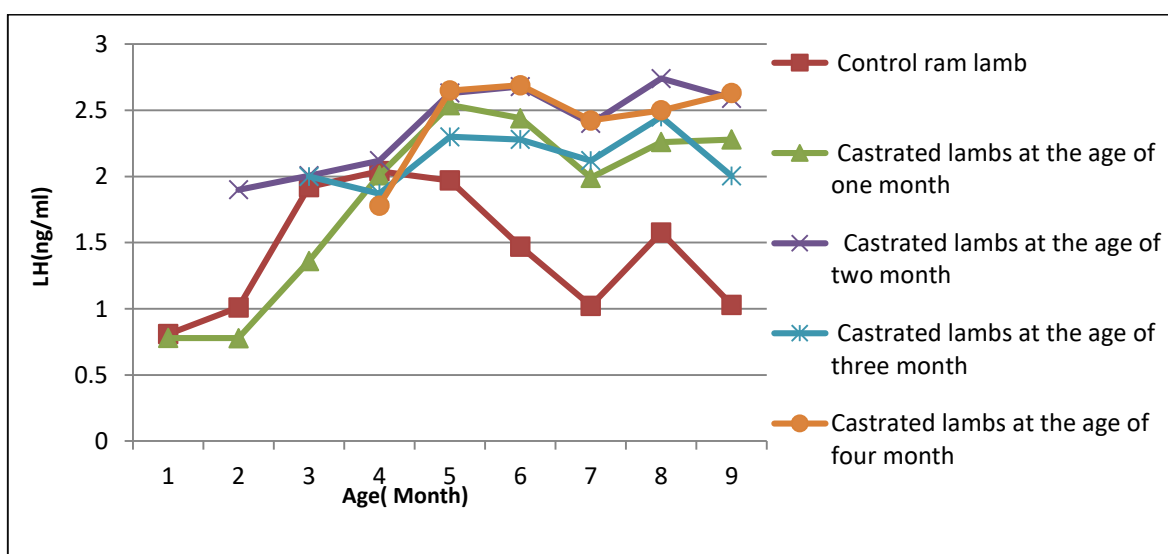


Figure 3- Plasma levels of LH in castrated and intact lambs groups

حیوانات اخته شده غلظت گنادروتروپین‌ها در سطح بالایی می‌ماند.

نتیجه‌گیری کلی

سن شروع بلوغ هورمونی در نژاد قزل از ۴-۲ ماهگی با تغییر در محور ترشح LH و FSH در انتهای دوره شیردهی شروع می‌شود و در ۹-۸ ماهگی حاصل می‌شود. توصیه می‌شود با تاثیر تستوسترون بر روی رفتارهای پرخاشگرانه بهتر است اخته کردن در مراحل اولیه بعد تولد (۱ تا ۳ ماهگی) زمانی که سطح تستوسترون پایین تر است و همچنین حیوان تحت استرس کمی قرار می‌گیرد انجام شود.

بدین ترتیب تغییرات برجسته بیشتر در حلقه فیدبکی در دوره بلوغ (۴-۹ ماهگی) نسبت به دوره پس از شیرگیری (۳-۱ ماهگی) را می‌توان با افزایش تستوسترون در گردش و توسعه کامل سیستم فیدبک منفی برای کنترل شدید LH و FSH در دوره بلوغ توضیح داد. نقطه برجسته مطالعه حاضر ویژگی افزایش گنادروتروپین‌ها در انتهای دوره شیرواری (۴-۲ ماهگی) است که نشان‌دهنده شروع بلوغ هورمونی در نژاد قزل می‌باشد و کاهش گنادروتروپین‌ها در هنگام بلوغ (۷-۵ ماهگی) بود که به نظر می‌رسد ناشی از عوامل مهاری بیضه‌ها بر روی گنادروتروپین‌ها باشد که با حذف عوامل مهاری در

منابع مورد استفاده

- Cui S, Chen Y, Yue H, He Y and McNeilly A, 2003. Sexual development and the effects of active immunization against GnRH in Chinese Tanyang ram lambs. *Animal reproduction science* 77(3): 129-139.
- Davari F, Khazali H, Rokni H, Fatehi Z, 2012. Effects of Testosterone and Growth Hormone on Plasma Concentrations of Orexin in Diet Restricted Rams. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism* 14(1): 81-88. (In Persian)
- Haddad SG, Husein MQ and Sweidan RW, 2006. Effects of castration on growth performance and carcass characteristics of Awassi lambs fed high concentrate diet. *Small Ruminant Research* 65: 149-153.
- Hedger M P, and Wendy R W, 2012. Regulation of activin and inhibin in the adult testis and the evidence for functional roles in spermatogenesis and immunoregulation. *Molecular and cellular endocrinology* 359(1): 30-42.
- Ian G, Colditz DR and Paull CL, 2012. Social transmission of physiological and behavioral responses to castration in suckling Merino lambs. *Applied Animal Behavior Science* 136:136-145
- Kilgour RJ, Pisselet C, Dubois MP and Courot M, 1998. Ram lambs need FSH for normal testicular growth, Sertoli cell numbers and onset of spermatogenesis. *Reproduction and Nutrition Development* 38: 539-550
- Kim MN, Park MN, Jung HK, Cho C, Mayo KE and Cho BN, 2008. Changes in the reproductive function and developmental phenotypes in mice following intramuscular injection of an activin betaA-expressing plasmid. *Reproductive Biology and Endocrinology* 6: 63-73.
- Kridli R, Abdullah A, Shaker M and Al-Momani A, 2006. Age at puberty and some biological parameters of Awassi and its first crosses with Charollais and Romanov rams. *Italian Journal of Animal Science* 5(2):193-202.
- Moura AA, Souza CEA and Erickson BH, 2011. Early prepubertal testis criteria, seminiferous epithelium and hormone concentrations as related to testicular development in beef bulls. *Animal Reproduction Science* 124(1): 39-47
- Nazari Zenouz F, Moghaddam Gh and Abdi Z, 2014. Weight Changes and Sexual Behavior in Ghezel Intact and Castrated Male Lambs. *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research* 2(5): 1761-1767.
- Nazari-Zenouz F, Moghaddam Gh, Hamidian G, Ashrafi J, Rafat S and Qasemi-Panahi B. 2016. Postnatal testicular development and testosterone changes in Ghezel ram lambs. *Small Ruminant Research* 141: 70-76.
- Olfati A and Moghaddam Gh, 2013. Effects of change of the stimulus ewe on sexual performance of crossbred rams. *Journal of Animal Science Researches (Agricultural Science)* 28(2):11-22. (In Persian)

- Price CA, 1991. The control of FSH secretion in the larger domestic species. *Journal of Endocrinology* 131: 177–184.
- Sairam MR and Hanumanthappa K, 2001. The role of follicle-stimulating hormone in spermatogenesis: lessons from knockout animal models. *Archives of Medical Research* 32(6): 601-608.
- Sofikitis N, Giotitsas N, Tsounapi P, Baltogiannis D, Giannakis D and Pardalidis N, 2008. Hormonal regulation of spermatogenesis and spermiogenesis. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 109(3): 323-330.
- Tilbrook AJ, de Kretser DM and Clarke IJ, 1999. Changes in the suppressive effects of recombinant inhibin A on FSH secretion in ram lambs during sexual maturation: evidence for alterations in the clearance rate of inhibin. *Journal of Endocrinology* 161: 219–229.
- Ülker H, Kanter M, Gökdal Ö, Aygün T, Karakuş F, Sakarya ME. and Reeves J, 2005. Testicular development, ultrasonographic and histological appearance of the testis in ram lambs immunized against recombinant LHRH fusion proteins. *Animal Reproduction Science* 86(3):205-219.
- Wańkowska M, Polkowska J, Wójcik-Gładysz A and Romanowicz K, 2010. Influence of gonadal hormones on endocrine activity of gonadotroph cells in the adenohipophysis of male lambs during the postnatal transition to puberty. *Animal Reproduction Science* 122(3):342-52.
- Wheaton JE and Godfrey RW, 2003. Plasma LH, FSH, testosterone, and age at puberty in ram lambs actively immunized against an inhibin α -subunit peptide. *Theriogenology* 60(5): 933-941.
- Zamiri MJ, 2005. *Physiology of reproduction*. Haghshenas Publication. (In Persian)

Evaluation of reproductive hormones levels in intact and castrated Ghezel lambs at pre-puberty period

L Moradi ¹, Gh Moghaddam², H Daghigh Kia², Gh Hamidian³ and F Nazari Zonouz⁴

Received: January 8, 2018

Accepted: October 1, 2018



¹MSc student of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz Iran

²Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran

³Assistant Professor, Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Iran

⁴PhD Student of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran

Corresponding author: Email: ghmoghaddam@tabrizu.ac.ir

 <p>پژوهش‌های علوم دامی Animal Science Researches</p>	<p>Journal of Animal Science/vol.30 No.1/ 2020/pp 57-66 https://animalscience.tabrizu.ac.ir</p>	 <p>OPEN ACCESS</p>
<p>© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran. This is an open access article under the CC BY license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0)</p>		

Introduction: Biosynthesis and storage of gonadotropins in farm animals begin at the same embryonic stage. The hypothalamus-pituitary-testicle axis controls animal reproductive activity through complex neurological and endocrine pathways. Disturbance in any of these pathways results in the inadequacy of the reproductive system and as a result, lower reproductive performance. Puberty is the end point of a series of events affecting the development of the ‘hypothalamo–pituitary–gonadal’ axis leading to reproductive competence. The changes in GnRH pattern release during puberty are under steroid-dependent and steroid-independent control mechanisms (reference?). Steroid-dependent mechanisms involve changes in sensitivity to gonadal steroid negative-feedback regulation of GnRH neurons (reference?). Although the ability to release high frequency GnRH pulses is inherent from an early age in sexually immature sheep, because of the presence of gonadal steroids and the greater sensitivity of the GnRH system to these steroids. As the time of puberty approaches, sensitivity to gonadal steroids decreases, which allows GnRH pulse frequency to increase. This remarkable change in the ‘gonadostat’ clearly underlies with pubertal increasing in GnRH/LH pulse frequency, which appears to be the key determinant of reproductive function. However, there are sexual differences in the responsiveness of GnRH system to inhibit by steroids, which underlie the different timing of puberty onset in male and female animals. Before puberty, a functional negative feedback system exists between testosterone and LH, estradiol and LH, and between inhibin and FSH in male sheep. Male lambs have a similar degree of responsiveness to estradiol and testosterone with regard to the regulation of LH pulse frequency. In view of these observations we have tested the hypothesis that the differences in the patterns of gonadotrophin secretions might be related to the influence of the testosterone on changes in the castrated males and accumulation of LH and FSH during the postnatal transition to puberty in male lambs. The main objective of this study was to evaluate the pattern of changes in sex hormones in intact and castrated Ghezel lambs during pre-puberty at different ages.

Material and methods: In this study, 20 Ghezel lambs were considered in four age groups included: group 1 (one-month-old castrated lambs, n = 4), group 2 (two-months-old castrated lambs n = 4), group 3 (three-months-old castrated lambs n = 4), group 4 (four-months-old castrated lambs n = 4), group 5: (one-month-old non-castrated lambs as the control group, n = 4). Lambs of the five groups were fed with the same diet according to the NRC 2007 until the age of nine months. Blood samples

from lambs were taken monthly until the age of nine months. After serum isolation, serum levels of testosterone, LH, and FSH were measured by ELISA.

Results and discussion: In intact lambs, testosterone concentrations increased at the age of four months (0.65 ng/ml) and peaked at nine months of age (2.33 ng/ml). In intact male lambs, FSH concentrations were the highest levels after weaning and early puberty periods ($P < 0.05$). The LH concentration increased significantly in intact males at three months of age, while the testosterone concentration in the one-month group showed a significant difference there were no other months ($P > 0.05$). In this study, two phases of surging for LH were observed. The first phase of the LH peak was observed at 1-4 months of age (2.4 ng/ml) and the second phase was observed at 7-8 months of age (1.576 ng/ml). Reducing LH secretion between the first and second phases had a high correlation with increasing in testosterone concentration ($r = -0.96$, $p < 0.05$) Testosterone concentrations were not significantly different in the one-month-old, two-months-old, and three-months-old castrated groups ($P > 0.05$).

Conclusion: Puberty related hormonal changes in the Ghezel breed begins at 2-4 months with a change in the secretion of LH and FSH at the end of weaning and then, puberty achieved at 8-9 months of age. According to the effect of testosterone on aggressive behaviors, castration is recommended in the early stages of birth (1-3 months), when the testosterone level is lower and the animal is under a little stress. The outstanding point of the present study is observing the increase in gonadotropins at the age of 2-4 months, which indicates the beginning of puberty related hormonal changes in the Ghezel breed.

Keywords: Castration, FSH, Ghezel ram lamb, LH, Testosterone