

بررسی تأثیر ملاتونین بر روی قطر بیضه و خصوصیات منی در فصل غیر تولید مثلی در قوچ نژاد لری بختیاری

جمشید فضلی نژاد^{۱*} مرتضی ممویی^۲ آرش خردمند^۳ علی سوخته زاری^۳

۱) گروه فیزیولوژی دام، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین، اهواز، خوزستان - ایران

۲) گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین، اهواز، خوزستان - ایران

۳) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه لرستان، خرم آباد - ایران

(دریافت مقاله: ۳۰ آذر ماه ۱۳۹۴، پذیرش نهایی: ۱۴ دی ماه ۱۳۹۴)

چکیده

زمینه مطالعه: به منظور بررسی تأثیر ملاتونین بر تغییرات کمی و کیفی منیو افزایش بازده تولید مثلی در قوچ لری بختیاری در فصل غیر تولیدمثلی این مطالعه انجام شده است. **هدف:** هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر ملاتونین روی قطر بیضه و تغییرات کمی و کیفی منی در فصل غیر تولیدمثلی در قوچ نژاد لری بختیاری بوده است. **روش کار:** این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۸ رأس (۴ رأس گروه کنترل و ۴ رأس گروه درمان) قوچ نژاد لری بختیاری به مدت ۱۰ هفته در بهار ۱۳۹۲ صورت پذیرفت. قوچ‌های گروه درمان هر کدام ۳ عدد قرص ملاتونین ۱۸ میلی گرمی را به شکل کاشتنی در زیر قاعده گوش بعد از گذشت ۵ هفته از شروع آزمایش تا پایان دوره دریافت نمودند. **نتایج:** بررسی شاخص‌های منی و اندازه گیری قطر بیضه به صورت هفتگی صورت گرفت. هیچگونه تفاوت معنی داری در مورد شاخص‌های اندازه گیری شده بین گروه کنترل و گروه درمان قبل از کاشت ملاتونین مشاهده نگردید. بعد از کاشت ملاتونین، تفاوت معنی داری در میانگین قطر بیضه بین دو گروه درمان (۳۳/۵۰ ± ۰/۲۵ cm) و کنترل (۳۰/۶۷ ± ۰/۰۷ cm) و در حجم منی بین دو گروه درمان (۱/۳۴ ± ۰/۰۳ ml) و کنترل (۰/۸۷ ± ۰/۰۴ ml) و در غلظت اسپرم بین دو گروه درمان (۱/۷۶ ± ۰/۰۵) و کنترل (۱/۳۷ ± ۰/۰۴) میلیارد در هر میلی لیتر مشاهده گردید ($p > 0.05$). ولی در سایر پارامترها از قبیل میانگین درصد اسپرم‌های زنده، میانگین حرکات پیش‌رونده اسپرم، میانگین درصد حرکات تجمعی اسپرم و میانگین درصد ناهنجاری اسپرم تفاوت معنی داری بین دو گروه مشاهده نگردید ($p < 0.05$). **نتیجه گیری نهایی:** نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از ملاتونین در فصل غیر تولیدمثلی سبب افزایش قطر بیضه، حجم منی و غلظت اسپرم در قوچ نژاد لری بختیاری شد ولی بر روی بقیه پارامترهای مورد آزمایش در قوچ‌های این نژاد بومی ایران اثری نداشت.

واژه‌های کلیدی: قوچ لری بختیاری، ملاتونین، فصل غیر تولیدمثلی، ارزیابی منی، قطر بیضه

مقدمه

بر روی تولیدمثلی می‌باشد. ملاتونین باعث تحریک درجاتی از فعالیت گنادوتروپین‌ها شده، اما این مقدار برای تخم‌کریزی کافی نمی‌باشد (۸). یکی از این روش‌ها که ارزان بوده و در سطح دنیا نیز رایج گردیده استفاده از ملاتونین در فصل غیر تولیدمثلی در میش و قوچ به تنهایی و یا بصورت توأم می‌باشد. مطالعات در زمینه تأثیر این هورمون بر روی شاخص‌های تولید مثلی گوسفند نشانگر این واقعیت است که ملاتونین در فصل غیر تولیدمثلی باعث بهبود شاخص‌های تولید مثلی می‌گردد. ولی میزان این اثر بر حسب نژاد، سیستم مدیریتی، شرایط آب و هوایی متغیر می‌باشد (۹). هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر ملاتونین روی قطر بیضه و تغییرات کمی و کیفی منی در فصل غیر تولیدمثلی در قوچ نژاد لری بختیاری بود.

مواد و روش کار

حیوانات و دارو: آزمایش حاضر در فروردین ماه سال ۱۳۹۲ در شهرستان خرم‌آباد و با همکاری دانشکده دامپزشکی دانشگاه لرستان بر روی تعداد ۸ رأس قوچ نژاد لری بختیاری با میانگین سنی ۲-۳ سال و میانگین وزنی $5kg \pm 74$ انجام شد. گروه‌ها به شکل کاملاً تصادفی انتخاب شدند. گروه

از ویژگی‌های قوچ لری بختیاری جثه سنگین، سربزرگ، نیم‌رخ محدب بینی دارای انحنای گوش‌ها بلند، گردن و ران عضلانی است. رنگ حیوان کم و بیش سفید با گرایش مختصر به رنگ شکاری و کرمی است. دارای لکه‌های خرمایی رنگی در اطراف چشم‌ها، قسمت انتهایی گوش و در ناحیه مفصل خرگوشی است (۲۰). فعالیت تولیدمثلی در حیواناتی مانند گوسفند و بز فصلی می‌باشد (۴). مطالعات نشان داده است که اسپرماتوزن و فعالیت تولید مثلی در قوچ هرگز متوقف نمی‌شود ولی مقدار شاخص‌های تولید مثلی در فصل جفت‌گیری در حداکثر میزان خود و در فصل غیرتولید مثلی در حداقل می‌باشند (۱۶، ۱۴). امروزه با توجه به پیشرفت‌های صورت گرفته در صنعت گوسفندداری خصوصاً تلقیح مصنوعی در خارج از فصل تولیدمثلی توجه بیشتری به دام‌نر و مدیریت تولید اسپرم شده است (۷). به طوری که بکارگیری ملاتونین در خارج از فصل تولیدمثلی در بعضی از نژادها باعث رشد بیضه، بهبود رفتار جنسی، تولید اسپرم بیشتر و افزایش باروری گردیده است (۱). درمان با ملاتونین سبب کاهش غلظت پرولاکتین می‌شود و ارزیابی شده است که پرولاکتین دارای اثرات منفی یا مهاری



محاسبه می‌گردید. همچنین برای مشخص نمودن درصد اسپرم‌های زنده و مرده رنگ آمیزی ائوزین-نیگروزین انجام گردید، که پس از تهیه گسترش و مشاهده در زیر میکروسکوپ سر اسپرم‌های زنده بدون رنگ و اسپرم‌های مرده به رنگ قرمز یا صورتی دیده می‌شد. تعیین درصد اسپرم‌های دارای ناهنجاری‌های شکلی به این شیوه صورت گرفت که $10 \mu\text{L}$ اسپرم رقیق شده با محلول سیترات سدیم ۲/۹٪ بر روی لام تمیزی قرار داده شده و با استفاده از لام بعدی گسترشی از نمونه مورد نظر تهیه گردید. در این روش سعی گردید تا حجم بسنده‌ای از مایع بین دو لام قرار گیرد تا در حین تهیه گسترش، اسپرم‌ها فشرده نشده و درصد ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم افزایش نیابد. پس از تهیه گسترش اسپرم‌ها با بزرگنمای ۴۰۰ بررسی شده و با شمارش ۱۰۰ اسپرم‌ها در هر لام، درصد اسپرم‌های ناهنجار تعیین می‌گردید.

آنالیز داده‌ها: در پایان داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین پارامترهای مختلف اسپرم بین گروه کنترل و درمان در هر هفته به شکل جداگانه و پس از ارزیابی نرمال بودن داده‌ها، با استفاده از آزمون t -test independent sample انجام شد. داده‌ها نیز به شکل میانگین \pm خطای استاندارد نشان داده شده اند. سطح $p < 0.05$ نیز به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

قبل از کاشت ملاتونین: میانگین قطر بیضه در گروه کنترل $31/17 \pm 0/08 \text{ cm}$ و در گروه درمان $31/57 \pm 0/02 \text{ cm}$ بود که اختلاف معنی‌داری نداشت ($p > 0/05$). میانگین حجم منی در گروه کنترل $0/85 \pm 0/02 \text{ ml}$ و در گروه درمان $0/91 \pm 0/02 \text{ ml}$ بود که اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($p > 0/05$). از طرف دیگر میانگین درصد زنده بودن اسپرم در گروه کنترل $84/0 \pm 2/14\%$ و در گروه درمان $86/95 \pm 1/04\%$ محاسبه شد که این اختلاف نیز از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p > 0/05$). همچنین میانگین حرکت جمعی اسپرم در گروه کنترل $77/0 \pm 2/37\%$ و در گروه درمان $79/16 \pm 1/20\%$ بدست آمد که اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($p > 0/05$). میانگین حرکت پیش‌رونده اسپرم در گروه کنترل $64/50 \pm 2/18\%$ و در گروه درمان $64/0 \pm 1/91\%$ محاسبه شد که اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($p > 0/05$). میانگین غلظت اسپرم در گروه کنترل $1/53 \pm 0/09$ و در گروه درمان $1/53 \pm 0/09$ میلیارد در هر میلی‌لیتر محاسبه شد که اختلاف معنی‌دار نبود ($p > 0/05$). میانگین درصد ناهنجاری‌های اسپرم در گروه کنترل $6/90 \pm 0/95\%$ و در گروه درمان $6/70 \pm 0/71\%$ بدست آمد که اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد ($p > 0/05$ ، جدول ۱).

بعد از کاشت ملاتونین: نتایج پارامترهای مختلف ارزیابی اسپرم بعد از

درمان شامل ۴ رأس قوچ با میانگین سن ۲/۹ و میانگین وزن $74 \pm 3 \text{ kg}$ و گروه کنترل شامل ۴ رأس قوچ با میانگین سن ۲/۸ و میانگین وزن 4 kg $72 \pm$ بودند. قوچ‌های گروه درمان تعداد سه قرص ۱۸ میلی‌گرمی ملاتونین (Melovine, Sante, Ceva, France) به صورت زیر جلدی دریافت داشتند. هر دو گروه درمان و کنترل از تغذیه و مدیریت یکسانی بهرمنند بودند. نمونه‌گیری از منی قوچ‌ها هر هفته یکبار به مدت پنج هفته قبل از کاشت ملاتونین و پنج هفته بعد از کاشت ملاتونین با استفاده از واژن مصنوعی انجام گرفت. در طول مدت اجرای طرح تا حد امکان سعی گردید که نمونه‌گیری در روز مشخصی از هفته و در زمان ثابت (صبح‌ها) انجام گیرد، تا تغییرات ناشی از دمای هوا و تأثیرات آن بر روی آزمایش به حداقل ممکن کاهش یابد. پس از ۵ بار اسپرم‌گیری در ۵ هفته قبل از کاشت ملاتونین، قوچ‌های گروه درمان پس از ضدعفونی پوست ناحیه قاعده هر دو گوش تعداد ۳ قرص کوچک ملاتونین با طول چند میلی‌متر جمعاً به میزان 54 mg به صورت دو قرص در زیر پوست قاعده یک گوش و یک قرص در زیر پوست قاعده گوش دیگر به وسیله اپلیکاتور مخصوص کاشته شد. پس از کاشت ملاتونین برای آزاد شدن و جذب بهتر که نیازی به برداشت آن نیز نبود به مدت ۶ هفته (۴۲ روز) اسپرم‌گیری انجام نشد و بعد از آن به مدت ۵ هفته، هر هفته یک بار اسپرم‌گیری به عمل آمد. در طول ۱۰ هفته هر هفته یکبار (۵ هفته قبل از کاشت ملاتونین و ۵ هفته بعد از کاشت ملاتونین) اندازه‌گیری قطر بیضه با استفاده از نوار متر انجام گردید. سپس با استفاده از واژن مصنوعی منی قوچ‌ها جمع‌آوری و بلافاصله مورد ارزیابی قرار می‌گرفت.

ارزیابی اسپرم: در ابتدا مقدار $10 \mu\text{L}$ از نمونه را روی لام گرم با دمای 37°C قرار داده و با استفاده از میکروسکوپ حرکت جمعی یا کلی بصورت درصد ارزیابی می‌شد. برای ارزیابی حرکت پیش‌رونده نیز مقدار $10 \mu\text{L}$ از نمونه رقیق شده با محلول سالین نرمال را روی یک قطعه لام گرم 37°C گذاشته و با قرار دادن لام بر روی آن در زیر میکروسکوپ و با بزرگنمایی ۴۰ ارزیابی صورت گرفته و بصورت درصد گزارش گردید. همچنین در این مطالعه برای تعیین غلظت اسپرم در نمونه منی از روش میکروسکوپی و با استفاده از لام هموسیتومتر استفاده شد. برای این منظور ابتدا $10 \mu\text{L}$ از مایع منی را با سمپلر برداشته و با 5 ml فرمالین سالین مخلوط می‌گردید که در این صورت نمونه مورد استفاده 500 بار رقیق شده است. علت استفاده از فرمالین در محلول سالین، کشتن اسپرم‌ها و بی‌حرکت کردن آنها و سهولت در شمارش آنها بوده است. به دنبال این کار، با پیپت پاستور به اندازه کافی از منی رقیق شده روی لام هموسیتومتر پخش می‌شد و با بزرگ‌نمایی چهارصد، ۵ مربع از بیست و پنج (۲۵) خانه میانی آن را که روی هم رفته یک دهم ($0/1 \text{ mm}$) میلی‌متر مکعب حجم دارند شمارش گردیدند. پس از هر بار استفاده از لام هموسیتومتر با پنبه کاملاً خشک می‌شد و با توجه به درجه رقیق سازی نمونه منی، غلظت اسپرم در یک سانتی‌متر مکعب



جدول ۱. شاخص‌های تولیدمثلی قوچ لری بختیاری در فصل غیر تولیدمثلی قبل از کاشت ملاتونین. هیچکدام از پارامترها در مقایسه گروه درمان با کنترل تفاوت معنی‌دار را نشان ندادند ($p > 0.05$).

گروه آزمایش	ملاتونین	قطر بیضه (Cm)	حجم منی (mL)	اسپرم زنده (%)	حرکت تجمعی اسپرم (%)	حرکت پیش رونده اسپرم (%)	غلظت اسپرم (10 ⁹ /mL)	ناهنجاری اسپرم (%)
کنترل	-	3.717 ± 0.08	0.85 ± 0.02	84/0 ± 2/14	77/0 ± 2/37	64/5 ± 2/18	753 ± 0.3	6/9 ± 0/95
درمان	-	3.757 ± 0.02	0.91 ± 0.02	86/95 ± 7/04	79/16 ± 7/20	64/0 ± 7/91	753 ± 0.9	6/7 ± 0/71

جدول ۲. شاخص‌های تولید مثلی قوچ لری بختیاری در فصل غیر تولیدمثلی بعد از کاشت ملاتونین. میانگین‌های باحروف غیر مشابه در هر ستون، با هم اختلاف معنی‌داری دارند ($p < 0.05$).

گروه آزمایش	ملاتونین	قطر بیضه (Cm)	حجم منی (mL)	اسپرم زنده (%)	حرکت تجمعی اسپرم (%)	حرکت پیش رونده اسپرم (%)	غلظت اسپرم (10 ⁹ mL)	ناهنجاری اسپرم (%)
درمان	+	3.3/5 ± 0.25 ^a	1.34 ± 0.03 ^a	82/70 ± 1/92	76/0 ± 1/39	66/04 ± 7/56	776 ± 0.5 a	3/6 ± 0/32
کنترل	-	3.0/67 ± 0.07 ^b	0.87 ± 0.04 ^b	83/75 ± 3/10	75/5 ± 1/96	59/68 ± 2/17	737 ± 0.4 b	4/8 ± 0/41

استفاده کردند. همچنین قابلیت زنده ماندن اسپرم‌های منجمد قوچ‌های که ملاتونین دریافت کرده بودند پس از یخ‌گشایی بدون تغییر در تحرک اسپرم بهبود یافت (۳). Gerlach و همکاران در سال ۲۰۰۰ گزارش کردند که فعالیت تولیدمثلی قوچ‌ها تحت تأثیر عواملی از قبیل طول روشنایی، نژاد، سن، تغذیه، میزان بارندگی، رطوبت و مدیریت قرار دارد (۹). در بررسی Karagianidis و همکاران که در سال ۲۰۰۰ 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 غیر تولیدمثلی می‌باشد (۱۲). Alamy و همکاران در سال ۲۰۰۱ گزارش کردند که تغییرات فتوپریود روی میزان تولید اسپرم در قوچ نژاد دورست اثر گذاشته در حالی که روی تولید اسپرم قوچ نژاد فین اثری نداشته است (۲).

در خصوص بکارگیری ملاتونین در جهت افزایش راندمان تولید مثلی در فصل غیر تولید مثلی در نژادهای مختلف گوسفند مطالعاتی وجود دارد، اما تاکنون درباره اثرات کاشت این هورمون بر پارامترهای کیفیت منی در قوچ نژاد لری بختیاری کاری صورت نگرفته است. Martin و همکاران در سال ۱۹۹۴ بیان داشتند که در بسیاری از نژادها تغییرات اندازه بیضه ممکن است تنها به علت فتوپریود نباشد بلکه به عوامل دیگری از جمله تغذیه بستگی داشته باشد (۱۶). Chemineau و همکاران در سال ۱۹۹۱ افزایش تولید اسپرم و افزایش باروری را در مراکز تلقیح مصنوعی پس از به کارگیری هورمون ملاتونین در قوچ گزارش کردند (۷). Russel و همکاران در سال ۲۰۱۳ گیرنده‌های ملاتونین را در غشا اسپرم قوچ با استفاده از ایمونوسیتوشیمی شناسایی کردند که این گیرنده‌ها بیشتر در منطقه استوایی و دم اسپرم وجود دارند. همچنین اعلام کردند که تعداد اسپرم‌های آسیب دیده در قوچ‌هایی که ملاتونین در فصل تولید مثلی دریافت کردند به طور معنی‌داری نسبت به قبل از کاشت ملاتونین کاهش یافت. اما درصد اسپرم متحرک پیش رونده در این قوچ‌ها افزایش یافته بود. همچنین اسپرم‌های که از این قوچ‌ها بدست آمد با سهولت بیشتری به تخمک متصل می‌شوند

کاشت ملاتونین در جدول شماره ۲ خلاصه شده است. میانگین قطر بیضه در گروه کنترل ۳۰/۶۷ ± ۰/۰۷ cm و در گروه درمان ۳۳/۵۰ ± ۰/۲۵ cm که بطور معنی‌داری افزایش ($p < 0.05$) داشت. میانگین حجم منی در گروه کنترل ۰/۸۷ ± ۰/۰۴ ml و در گروه درمان ۱/۳۴ ± ۰/۰۳ ml بدست آمد که نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش ($p < 0.05$) یافت. میانگین درصد زنده بودن اسپرم در گروه کنترل ۸۳/۷۵ ± ۳/۱۰٪ و در گروه درمان ۸۲/۷۰ ± ۱/۹۲٪ حاصل شد که اختلاف معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$). از طرف دیگر میانگین حرکت تجمعی اسپرم در گروه کنترل ۷۵/۵ ± ۱/۹۶٪ و در گروه درمان ۷۶/۰ ± ۱/۳۹٪ بود که اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p > 0.05$). همچنین میانگین درصد حرکت پیش رونده اسپرم در گروه کنترل ۵۹/۶۸ ± ۲/۱۷٪ و در گروه درمان ۶۶/۰۴ ± ۱/۵۶٪ ثبت شد که دارای اختلاف معنی‌داری نبودند ($p > 0.05$). اگر چه میانگین غلظت اسپرم در گروه کنترل ۷۳۷ ± ۰/۰۴ و در گروه درمان ۷۷۶ ± ۰/۰۵ میلیارد در سی سی محاسبه شد که نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش ($p < 0.05$) یافت. اما میانگین درصد ناهنجاری اسپرم در گروه کنترل ۴/۸ ± ۰/۰۴۱٪ و در گروه درمان ۳/۶ ± ۰/۰۳۲٪ بدست آمد که اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($p > 0.05$).

بحث

نتایج مطالعه حاضر که برای اولین بار در نژاد قوچ لری بختیاری در ایران انجام می‌شود نشان داد که قطر بیضه و فراسنجه‌های منی در این طرح تابع ملاتونین می‌باشد. به طوری که قطر بیضه در گروه درمان بعد از کاشت ملاتونین افزایش معنی‌داری نسبت به قبل از کاشت آن نشان داده و حجم منی بعد از کاشت ملاتونین افزایش معنی‌داری نسبت به قبل از کاشت ملاتونین نشان داد. همچنین غلظت اسپرم بعد از کاشت ملاتونین افزایش معنی‌داری نسبت به قبل از کاشت ملاتونین نشان داد، بطوریکه با گروه کنترل اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت. Casao و همکاران در سال ۲۰۱۰ از ملاتونین بعنوان آنتی اکسیدان در افزایش ظرفیت پذیری اسپرم قوچ در شرایط آزمایشگاهی و لقاح خارج رحمی



References

1. Abecia, J.A., Zuniga, O., Forcada, F. (2001) Effect of melatonin treatment in spring and feed intake on wool growth and thyroxin secretion in Rasa Aragones ewes. *Small Ruminant Res.* 41: 265-270.
2. Alamy, M.A., Foote, R.H., Hare, E. (2001) Sperm output and hormone concentration in Finn and Dorset ram s exposed to long and short day lighting. *Theriogenology.* 56: 839-854.
3. Casao, A., Mendoza, N., Patricia, G., Abecia, J., Forcada, F., Muino-Blanco, T. (2010) Melatonin prevents capcitation and apoptotic- Like changes of ram spermatozoa and increases fertility rate. *J Pineal Res.* 48: 39-46.
4. Chemineau, P., Malpoux, B. (1998) Melatonin and reproduction in domestic animals. *C R Seances Soc Biol Fil. Review.* (Article in French). 192: 669-82.
5. Cheminea, P., Malpoux, B., Delgadillo, Y., Guerin, J.P., Ravault, J., Thimonier, J. (1992) Control of sheep and goat reproduction: Use of light and melatonin. *Anim Reprod Sci.* 30: 157-184.
6. Chemineau, P., Malpoux, B., Pelletiet, J., Le-Boeuf, B., Deletang, F. (1996) Use of melatonin implants and photoperiodic treatments to control seasonal reproduction in sheep and goats. *J Prod Anim.* 9: 45-60.
7. Chemineau, P., Vandaq, E., Brice, G., Jardon, C. (1991) Utilization des implants melatoninides performance de reproduction. *Vet Rec.* 167: 227-239
8. Denicolo, G.S.T., Morris, P.R., Kenyon, M. (2007) Melatonin-Improved Reproductive performance in sheep out of season. *Anim Reprod Sci.* 10: 3420-3424.
9. Gerlach, T., Aurich, J.O. (2000) Regulation of seasonal reproductive activity in the stallion, ram and hamster. *Anim Reprod Sci.* 58: 197-213.
10. Hanif, M., Williams, H.L. (1991) The effects of melatonin on the reproductive performance of yearling Suffolk rams. *Br Vet J.* 147: 49-56.
11. Harris, P.M., Blair, H.T., Dellow, D.W., Mccurcheon, S.N., Cockrem, J. (1989) The effect of

که در اثر تغییر در عملکرد محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گنادهاست (۱۸). نتیجه مطالعه حاضر نشان داده که از نظر افزایش اندازه محیط بیضه بین گروه‌های درمانی و کنترل اختلاف معنی‌داری وجود دارد که با نتایج کار Harris و همکاران در سال ۱۹۸۹ در قوچ‌های نژاد رامنی و همچنین Hanif و Williams در سال ۱۹۹۱ در قوچ‌های نژاد سافوک و نیز Chemineau و همکاران در سال ۱۹۹۶ در قوچ‌های نژاد فرانسوی که پس از تجویز ملاتونین در فصل غیر تولیدمثلی افزایش قطر بیضه را گزارش کردند مطابقت دارد (۱۱، ۱۰، ۶). میانگین و خطای استاندارد درصد زنده بودن اسپرم در گروه کنترل $۷۵/۵۰ \pm ۱/۹۶$ و در گروه درمان $۷۶/۰ \pm ۱/۳۹$ بدست آمد که اختلاف معنی‌داری نداشت که با مطالعه Sookhtezary و همکاران در سال ۲۰۰۹ در قوچ نژاد شمال مطابقت دارد (۱۹). از طرف دیگر در مطالعه حاضر بین میانگین حجم منی در گروه کنترل و درمان اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت. دلیل احتمالی این موضوع اینکه ملاتونین باعث افزایش قطر بیضه و در نتیجه افزایش میزان اسپرماتوژنز می‌شود که در پی آن افزایش حجم منی را بدنبال خواهد داشت. اما بر عکس بین حرکت جمعی، حرکت پیش رونده، درصد اسپرم‌های زنده، و درصد ناهنجاری اسپرم قوچ‌های گروه درمان با قوچ‌های گروه کنترل از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

در مطالعاتی که در ارتباط با اثر ملاتونین بر روی پارامترهای گفته شده در سایر نقاط دنیا گزارش شده است نتایج متفاوتی به دست آمده است. نتایج آزمایش اخیر در مورد افزایش غلظت اسپرم بدون هیچ گونه تغییری در تحرک اسپرم با نتایج Lopes و همکاران در سال ۱۹۹۶ مطابقت داشت (۱۴). این یافته با مطالعه Sookhtezary و همکاران در سال ۲۰۰۹ که غلظت اسپرم را در گروه کنترل و تیمار به ترتیب $۱/۷۲$ و $۲/۲۳$ میلیارد در میلی لیتر گزارش شد مغایرت دارد (۱۹) که Alamy و همکاران در سال ۲۰۰۳ علت آن را تفاوت نژادی ذکر کردند. Chemineau و Malpoux در سال ۱۹۹۸ تغییرات اسپرم را به صورت تغییرات کمی و کیفی به دنبال تجویز ملاتونین در فصل غیرتولیدمثلی گزارش کردند که در نژادهای مختلف اثر فصل روی قطر بیضه و شاخص‌های منی کاملاً متفاوت است (۵).

با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از ملاتونین در فصل غیرتولیدمثلی سبب افزایش قطر بیضه، حجم منی و غلظت اسپرم می‌شود. از سوی دیگر بر طبق نتایج آزمایش تفاوتی بین بقیه پارامترهای مورد آزمایش در قوچ نژاد لری بختیاری مشاهده نشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همکاری صمیمانه آقای مهندس منصوری کارشناس محترم جهاد کشاورزی استان لرستان در جهت تأمین حیوانات این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.



- exogenous melatonin, administered in summer, on wool growth and testis diameter of rumneys. *Anim Reprod Sci.* 49: 35-38.
12. Karagiannidis, A., Varsakeli, S., Alexopoulos, C., Amarantaddis, A. (2000) Seasonal variation in semen characteristics of chiosand Friesian rams in Greece. *Small Ruminant Res.* 37: 125-130.
 13. Lincoln, G.A., Almidao, F., Arendt, J. (1981) Role of melatonin and circadian rhythms in seasonal reproduction in rams. *J Reprod Fertil.* 30: 23-31.
 14. Lopez-Brea, J.J., Palomares, M.D., Perez, S.S., Garzon, G.A., Montoro, V. (1996) Sperm characteristics of manchego ram lambs treated by melatonin implants. *Arch Zootec.* 45: 395-401.
 15. Malpex, B., viguie, C., Skinner, D., Thiry, J. C., pelletier, J., Chemeneau, P. (1996) Seasonal breeding in sheep, mechanism and action of melatonin. *Anim Reprod Sci.* 42: 109-117.
 16. Martin, G., Fisher, J., Blackberry, M., Boukhliq, R., Hotzel, M., Miller, D., Shepherd, K., Walkden-Brown, S. (1994) Nutritional and photoperiodic control of testicular size in Suffolk and Merino rams. *Anim Reprod Sci.* 20: 426.
 17. Rosa, H.J.D., Bryant, M.J. (2003) Seasonality of reproduction in sheep. *Small Ruminant Res.* 48: 155-171.
 18. Russel, J., Reiter, F., Sergio, A., Rosales - Corral, B., Lucien, C. (2013) Peripheral Reproductive Organ Health and Melatonin: Ready for Prime Time. *J Mol Sci.* 14: 7231-7272.
 19. Sookhtehzari, A., Vojgani, M., NiassariNaslaji, A., Bahonar, A., Gholami, G. (2009) Influence of melatonin treatment on scrotal circumference and semen parameters in shall rams on out of season. *J Vet Res.* 63: 297-300.
 20. Valizadeh, R. (2011) *Sheep and Goat Production.* (1st ed.) Ferdowsi University of Mashhad Press, Mashhad, Iran.



The effect of melatonin on testicular circumference and semen characteristics in non-breeding season in Lori-Bakhtiari ram

Fazli-nezad, J.^{1*}, Mamoeii, M.², Kheradmand, A.³, Sookhtezary, A.³

¹Department of Animal Physiology, School of Animal and Food Science, Agriculture University of Ramin, Ahwaz- Iran

²Department of Animal Sciences, School of Animal and Food Science, Agriculture University of Ramin, Ahwaz- Iran

³Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorram Abad- Iran

(Received 21 December 2015, Accepted 4 January 2016)

Abstract:

BACKGROUND: This study was conducted to evaluate the effect of melatonin on semen quality and quantity changes and increase of reproductive efficiency in Lori-Bakhtiari ram in the non-reproductive season. **OBJECTIVES:** The purpose of this study was to investigate the effect of melatonin on testicular size and semen qualitative and quantitative changes in the non-breeding season is Lori-Bakhtiari rams. **METHODS:** This study was designed to evaluate the effects of melatonin on the quantity and quality of semen and testicular diameter in 8 Lori- Bakhtiari rams (4 control rams and 4 treatment rams) for 10 weeks during spring 2013. Each ram in the treatment group was received three tablets of 18 mg implantable melatonin subcutaneously at the base of ear after 5 weeks from the start of the trial. **RESULTS:** Semen parameters and testicular diameter measurements were evaluated on a weekly basis. No significant differences were observed between 2 groups before melatonin implanting. A significant difference was observed after melatonin implanting between 2 groups in the mean of testicular diameter (treatment: 33.5 ± 0.25 and control: 30.67 ± 0.07 cm), in semen volume (treatment: 1.34 ± 0.03 and control: 0.87 ± 0.04 ml) and in sperm concentration (treatment: 1.76 ± 0.05 and control: 1.37 ± 0.04 10⁹/ml) ($p < 0.05$). However, other parameters including average of lives sperm percentage, total sperm motility, sperm progressive movement and percentage of abnormal sperm were not significant ($p > 0.05$). **CONCLUSIONS:** The results of this experiment showed that the use of melatonin in the non-reproductive season resulted in increase of testicular size, semen volume and sperm concentration in Lori-Bakhtiari ram. However, the rest of the semen parameters have not been affected.

Keyword: Lori-Bakhtiari ram, melatonin, non breeding season, semen evaluation, testicular diameter

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Reproductive parameters in Lori-Bakhtiari ram in non breeding season before melatonin implantation. Non of parameters were statistically significant in the treated group compared to the control animals ($p > 0.05$).

Table 2. Reproductive parameters in Lori-Bakhtiari ram in non breeding season after melatonin implantation. The means with different superscripts in each column are significantly different ($p < 0.05$).

*Corresponding author's email: Jamshid_Fazli@yahoo.com, Tel: 066-33120109, Fax: 066-33120109

J. Vet. Res. 71, 1, 2016

