

بررسی تغییرات غلظت هورمون ملاتونین تحت اثر سن و فصل در نریان عرب

خلیل میرزاده^۱، عارف مداحی^{۲*}، مرتضی ممویی^۳ و حسین نجف‌زاده‌ورزی^۴

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۲۴

^۱ دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

^۲ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی علوم دام دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

^۳ استاد گروه علوم دامی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

^۴ استاد گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

* مسئول مکاتبه Email: AreFmaddahi@yahoo.com

چکیده

زمینه‌مطالعاتی: هورمون ملاتونین به عنوان هورمون فتوپریودیک نقش بسزایی در فعالیت تولیدمثلی حیوانات مزرعه‌ای، از جمله نریان دارد. هدف: این آزمایش به منظور بررسی تغییرات غلظت هورمون ملاتونین در سه رده سنی ۲ تا ۶، ۶ تا ۱۰ و ۱۰ تا ۱۴ سال، تحت فتوپریود طبیعی در منطقه دزفول بود. روش‌کار: خونگیری از ورید و داج ۳۳ رأس نریان اصیل عرب، در فصول تابستان (تیرماه) و زمستان (دی‌ماه) سال ۱۳۹۱ انجام شد. غلظت هورمون ملاتونین با دستگاه HPLC اندازه‌گیری شد. مقایسه فراسنجه مذکور بین فصول تابستان و زمستان توسط آزمون T و تفاوت آن‌ها در دو فصل، در سه رده سنی با تجزیه واریانس (ANOVA) یک‌طرفه و آزمون چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از برنامه نرم افزار SPSS مورد آنالیز قرار گرفت. **نتایج:** میانگین غلظت ملاتونین سرم خون بین فصول تابستان و زمستان دارای تفاوت آماری معنی‌داری نمی‌باشد ($P > 0/05$). در هر دو فصل میانگین غلظت ملاتونین در نریان‌های ۲ تا ۶ ساله به صورت معنی‌داری بیشتر از ۶ تا ۱۰ و ۱۰ تا ۱۴ ساله‌ها بود ($P < 0/05$). **نتیجه‌گیری نهایی:** نتایج نشان داد که در نریان عرب، فصل تأثیری بر غلظت ملاتونین سرم خون ندارد ولی با افزایش سن غلظت ملاتونین کاهش می‌یابد.

واژگان کلیدی: سن، فصل، ملاتونین، نریان عرب

مقدمه

تولیدمثلی به وسیله پیام‌های فتوپریودیک به واسطه ترشح ملاتونین از غده پینه‌آل در اکثر پستانداران گزارش شده است ولی این ارتباط در اسب به درستی شناخته شده نیست (دیکمن و همکاران ۲۰۰۲) از طرفی ملاتونین یکی از عوامل کلیدی در کنترل فعالیت تولیدمثلی فصلی می‌باشد (ناگی و همکاران ۲۰۰۰) و شواهد متقاعد کننده‌ای وجود دارد که نشان می‌دهند غده‌ی پینه‌آل در

عوامل مختلفی از جمله فتوپریود، دما، تغذیه، وضعیت بدنی و سن در بروز رفتارهای تولیدمثلی حیوانات نقش دارند. عوامل محیطی، فیزیولوژیکی و اجتماعی، شروع و تداوم فصل تولیدمثلی را تنظیم می‌کنند. فتوپریود و دما عوامل محیطی کلیدی بحساب می‌آیند ولی مورد اول مهم‌تر می‌باشد (حافظ و حافظ ۲۰۰۹). تنظیم فعالیت‌های

استفاده شد. از تمام ۳۳ نریان در دو فصل تابستان (تیرماه) و زمستان (دی‌ماه) نمونه‌گیری به عمل آمد.

شیوه اجرای طرح

این تحقیق با استفاده از ۳۳ رأس نریان در سه رده سنی ۲ تا ۶، ۶ تا ۱۰ و ۱۰ تا ۱۴ سال، تحت مدیریت پرورشی و تغذیه‌ای یکسان انجام شد.

خون‌گیری از اسب‌ها

پس از مقید کردن اسب‌ها و معاینه آن‌ها جهت سلامتی، از ورید وداج با استفاده از لوله‌های خلأدار (ونوجکت) بدون ماده ضد انعقاد با سرسوزن‌های یکبار مصرف (نیدل ۱۸) در تیرماه و مجدداً از همان اسب‌ها در دی‌ماه (در هر فصل یکبار در ساعت مشخصی در طول روز) خون‌گیری به عمل آمد. در مجموع ۶۶ نمونه خون گرفته شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده بعد از هر بار خون‌گیری، در دور ۳۰۰۰ در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌شد، سرم حاصل از هر نمونه را در میکروتیوپ‌های یک سی‌سی قرار داده و در کنار یخ خشک به آزمایشگاه مرکزی دانشگاه شهید چمران اهواز جهت اندازه‌گیری غلظت ملاتونین انتقال داده شدند.

اندازه‌گیری غلظت هورمون ملاتونین

غلظت ملاتونین از نمونه‌های سرم خون توسط دستگاه کروماتوگرافی با عملکرد مایع با توجه به پروتکل‌های اصلاح شده توسط دستگاه HPLC اندازه‌گیری شد (بچگارد و همکاران ۱۹۹۸، اتیو و همکاران ۱۹۹۹، پنیستون و همکاران ۱۹۹۳ و گوپتا و همکاران ۲۰۰۶).

آنالیز آماری

داده‌های آماری حاصل از این تحقیق با استفاده از برنامه نرم افزار SPSS (ویرایش ۱۸) مورد آنالیز قرار گرفت. مقایسه غلظت ملاتونین سرم خون بین فصول تابستان و زمستان توسط آزمون T و تفاوت این فراسنجه‌ها در دو فصل، در سه رده سنی ۲ تا ۶، ۶ تا ۱۰ و ۱۰ تا ۱۴ سال با تجزیه واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن مورد آنالیز قرار گرفت.

تنظیم فعالیت‌های تولیدمثلی پستانداران نقش دارد. مطالعات بالینی نشان داده‌اند که مبتلا شدن به بیماری پارانشیم پینه آل ممکن است باعث تأخیر در بلوغ جنسی شود، درحالی که از بین رفتن غده‌ی پینه آل اغلب با بلوغ زودرس همراه است. اگرچه مکانیسم دقیق تنظیم فعالیت‌های تولیدمثلی به وسیله‌ی پینه‌آل هنوز روشن نیست؛ ولی عقیده بر این است که غده‌ی پینه‌آل هورمونی ترشح می‌کند که خواص ضد گنادوتروپیک دارد. تعداد زیادی از آزمایش‌ها؛ ملاتونین را به عنوان ماده‌ی ضد گنادوتروپی پینه‌آل معرفی می‌کنند (هیبرت و همکاران ۲۰۰۶). با توجه به نقش هورمون ملاتونین در روند فعالیت‌های تولیدمثلی، در این تحقیق تصمیم گرفته شد تغییرات غلظت هورمون ملاتونین سرم خون نریان عرب در رده سنی ۲ تا ۱۴ سال، تحت فتوپریود طبیعی در فصول تابستان و زمستان مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

محل و زمان اجرای طرح

مطالعه حاضر، در تیرماه (۱۳۹۱) به عنوان نماینده فصل گرم و دی‌ماه (۱۳۹۱) به عنوان نماینده فصل سرد در مزارع پرورش اسب عربی شهرستان دزفول انجام شد. شهرستان دزفول در طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۲۴ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۲۲ دقیقه شمالی قرار دارد و ارتفاع آن از سطح دریا ۱۴۰ متر می‌باشد. دزفول از نظر آب و هوایی دارای تابستانی گرم و زمستانی مدیترانه‌ای می‌باشد. می‌توان گفت در این منطقه گرم‌ترین و سردترین ماه‌های سال به ترتیب تیرماه و دی‌ماه می‌باشد.

انتخاب اسب‌ها

در این تحقیق از ۳۳ نریان عرب با شناسنامه و تبارنامه مشخص و همچنین دارای داغ ویژه اسب‌های عرب مورد تأیید انجمن جهانی اسب عرب (واهو) و زیر نظر هیأت سوارکاری استان خوزستان و شهرستان دزفول

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که میانگین غلظت هورمون ملاتونین سرم خون در فصل زمستان ($16/4 \pm 97/39$ pg/ml) بیشتر از تابستان ($12/3 \pm 20/11$ pg/ml) می‌باشد ولی این تفاوت معنی‌دار نبود (نمودار ۱) که با نتایج تحقیقات آلتینسات و همکاران (۲۰۰۹)، حافظ و حافظ (۲۰۰۹)، سیگم و همکاران (۲۰۰۹)، گراچ و آریچ (۲۰۰۰)، ناگی و همکاران (۲۰۰۰)، گرین و همکاران (۱۹۹۵) مخالف و با نتایج مطالعه نجف‌زاده و همکاران (۲۰۱۱) همخوانی دارد.

نجف‌زاده و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه‌ای جهت تعیین و بررسی تفاوت غلظت هورمون ملاتونین روی ۸۰ اسب عرب در اهواز نشان دادند که غلظت هورمون ملاتونین در فصل زمستان تفاوت آماری معنی‌داری با تابستان ندارد. آلتینسات و همکاران (۲۰۰۹) در تحقیق خود روی اسب عرب نشان دادند که در دی‌ماه با نه ساعت روشنایی و ۱۵ ساعت تاریکی غلظت هورمون ملاتونین به طور معنی‌داری بالاتر از تیرماه با ۱۵ ساعت روشنایی و نه ساعت تاریکی می‌باشد. گفته شده که در نیمکره شمالی زمین در انتهای پاییز و ابتدای زمستان به صورت معنی‌داری غلظت هورمون ملاتونین افزایش ولی کیفیت اسپرم و غلظت هورمون تستوسترون به شدت کاهش می‌یابد (گراچ و آریچ ۲۰۰۰ و ناگی و همکاران ۲۰۰۰). ناگی و همکاران (۲۰۰۰) طی تحقیقات خود در اسب بیان کردند میانگین روزانه غلظت ملاتونین پلازما در فصل پاییز و زمستان بیشتر از فصل بهار و تابستان می‌باشد و همچنین بیان شد افزایش یافتن ترشح ملاتونین شدیداً در ارتباط با دوره تاریکی می‌باشد.

بیشترین اسپرم با مرفولوژی نرمال و بهترین اسپرم از لحاظ کیفیت و کمیت، بیشترین حجم و اندازه بیضه و غلظت تستوسترون اسب به صورت معنی‌داری در فصل تولید مثل (حافظ و حافظ ۲۰۰۹) همگام با کاهش سطح ملاتونین (خرداد- تیر) مشاهده شد (ناگی ۲۰۰۰). گفته شده است که در کشورهای معتدل شمالی، کاهش سطح تستوسترون و LH خون در اسب‌های نر از مهر تا بهمن

ماه (حافظ و حافظ ۲۰۰۹) همگام با افزایش سطح ملاتونین در این دوره می‌باشد (ناگی و همکاران ۲۰۰۰). در بررسی روی ۲۰ مادیان ۴ تا ۸ ساله در آنکارای کشور ترکیه روی اسب عرب نشان داده شد که در فصول سال با دوره نوری کوتاه ($8L:16D$) نسبت به دوره نوری بلند ($16L:8D$) به صورت معنی‌داری سطح هورمون‌های تولیدمثلی از جمله پروژسترون کاهش یافته و مادیان وارد فاز آنستروس و غیرتولیدمثلی می‌شود. همچنین بیان شد در نیمکره شمالی آغاز مرحله آنستروس مادیان‌ها در اواخر پاییز و اوایل زمستان می‌باشد (سیگم و همکاران ۲۰۰۹) زیرا در نیمکره شمالی حیوانات در زمستان از سطح بسیار بالاتری از ملاتونین پلازما نسبت به فصل تابستان برخوردارند (گراچ و آریچ ۲۰۰۰ و گرین و همکاران ۱۹۹۵).

تغییرات فصلی و طول روز بر فعالیت تولیدمثلی بسیاری از گونه‌ها مؤثر است (کلی و کلی ۱۹۹۲) غده پینه‌آل این توانایی را دارد که اطلاعات را در خصوص طول روز دریافت و ترشح ملاتونین را تنظیم کند (آرندت و ۲۰۰۵ و گویلی و همکاران ۲۰۰۶) ملاتونین یک نقش کلیدی در کنترل فعالیت تولیدمثل، چرخه خواب بیداری و ریتم شبانه روزی دارد (بکر و درایور ۲۰۰۷، گراچ و آریچ ۲۰۰۰ و کف و ترک ۱۹۸۵) بررسی گیرنده ملاتونین در هیپوتالاموس و هیپوفیز نقش ملاتونین را در فعالیت تولیدمثلی اثبات کرده است (استانکو و همکاران ۱۹۹۱ و متوز و همکاران ۱۹۹۳).

در عرض جغرافیایی پایین‌تر از ۱۵° تغییرات سالیانه طول روز کم بوده و اثری بر فعالیت تولید مثل ندارد. در عرض جغرافیایی بالای ۳۰° تغییرات محسوس طول روز اثرات مشخصی بر فعالیت تولیدمثلی دارند. در عرض جغرافیایی میانی و بالا، دوره نوری فاکتور مهم کنترل-کننده جفت‌گیری‌های فصلی در علف‌خواران کوچک است. گونه‌هایی مانند اسب که در فصل بهار و تابستان با افزایش طول روز فعالیت تولید مثل در آنها تشدید می‌شود گونه روز بلند گویند و به گونه‌هایی مثل گوسفند و

می‌شود ولی روزهایی با دوره نوری کوتاه^۲ (۱۶D: ۸L) که باعث افزایش ترشح هورمون ملاتونین می‌شوند، فعالیت جنسی دام کاهش می‌یابد (بن‌سعد و میورال ۲۰۰۴). تنظیم ترشح هورمون ملاتونین توسط سلول‌های سیستم عصبی، بر اثر تحریک گیرنده‌های نوری در چشم صورت می‌گیرد. تاریکی تولید ملاتونین را تحریک و روشنایی ترشح آن را مهار می‌کند. میزان ترشح هورمون ملاتونین ترشح آندروژن‌ها و فعالیت تولیدمثلی را تنظیم می‌کند به طوری که ترشح ملاتونین ترشح GnRH را مهار می‌کند. GnRH آزاد سازی LH و FSH از هیپوفیز پیشین را سبب می‌شود، LH با اثر بر بیضه‌ها، تستوسترون را در نریان تولید کرده و الگوی ترشحات تستوسترون در نریان سبب بروز تغییرات فصلی در گامتوژنز و میل جنسی می‌شود (الیوت ۲۰۱۰). فعالیت فصلی بیضه تحت دوره فتوپریود (داویس مورل ۲۰۰۲) و در ارتباط با میزان ترشح گونادوتروپین‌ها است ترشح گونادوتروپین‌ها با تغییرات فتوپریود تغییر می‌کند. با افزایش طول روز ترشح گونادوتروپین‌ها افزایش یافته و موجب بزرگ شدن بیضه‌ها و افزایش غلظت تستوسترون می‌شود (حافظ و حافظ ۲۰۰۹)؛ در این زمینه مداحی و همکاران (۱۳۹۲) با تحقیق بر روی نریان‌های عرب در منطقه دزفول نشان دادند که محیط کیسه بیضه به طور معنی‌داری در فصل تابستان بزرگتر از فصل زمستان می‌باشد.

بری و همکاران (۲۰۰۰) بیان کردند که تأثیر کاهش دوره نوری و یا افزایش ترشح ملاتونین بر فعالیت تولیدمثلی به وسیله تغییر میزان دسترسی به انرژی با ارسال پیام به محور هیپوتالاموس-هیپوفیزی و کاهش غلظت خونی لپتین صورت می‌گیرد. فعالیت جنسی نریان هم وابسته به برخی شرایط از جمله دره فتوپریود است که بر روی اندازه بیضه و غلظت تستوسترون سرم اثر می‌گذارد.

تحقیقات محققین (کاسائو و همکاران ۲۰۱۰، آلتینسات و همکاران ۲۰۰۹، ایلکون و همکاران ۲۰۱۱، رینچ ۲۰۰۷،

بز که در فصل پاییز و زمستان با کاهش طول روز فعالیت تولیدمثلی خود را آغاز می‌کنند گونه روز کوتاه گویند (برادشاو و هولزفیل ۲۰۰۷).

تأثیر دمای محیط بر فعالیت جنسی اسب از طریق فعالیت غده تیروئید می‌باشد زیرا با کاهش دمای هوا در فصل زمستان فعالیت غده تیروئید و سطح هورمون‌های تیروئیدی در پلاسمای خون افزایش و سطح هورمون‌های تولیدمثلی و فعالیت جنسی کاهش می‌یابد و بالعکس با افزایش دمای هوا در بهار و تابستان سطح هورمون‌های تیروئیدی کاهش و فعالیت تولیدمثلی افزایش می‌یابد (ناگی ۲۰۰۰) ولی دمای محیط نقش مهمی در فعالیت تولیدمثلی اسب ندارد و بیشتر دوره فتوپریود مؤثر است (هوسزنی‌کزا و همکاران ۲۰۰۰). مورفی و همکاران (۲۰۰۷) به منظور بررسی تأثیر تغییر ناگهانی در شرایط نور طبیعی (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) در ۶ رأس مادیا ۲ ساله بر آهنگ تغییرات غلظت ملاتونین و دمای بدن، مدت زمان فاز تاریکی را ۶ ساعت کاهش داده و مشاهده کردند که میزان ملاتونین پس از ۱ روز با تغییرات اعمال شده هماهنگ می‌گردد، در صورتی که دمای بدن مادیان‌ها تا چند روز تحت تأثیر تغییر نوری اعمال شده خواهد بود، آنان به این نتیجه دست یافتند که بر خلاف اختلالی که در دمای بدن رخ می‌دهد، هم‌زمانی سریع آهنگ ملاتونین با تغییرات نوری اعمال شده حاکی از آن است که دستگاه تنظیم شبانه روزی ملاتونین در مغز، توانایی تصحیح سریع پاسخ خود را در قبال تغییرات ناگهانی نوری دارد.

فتوپریود از طریق دو مکانیسم مجزا اثرات خود را اعمال می‌کند. اولاً بر روی محور هیپوتالاموس-هیپوفیزی تأثیر مستقیم اعمال کرده و ثانیاً در حساسیت سیستم عصبی مرکزی به بازخورد منفی استروئیدها تغییرات هم‌زمانی نشان می‌دهد (رینچ ۲۰۰۷). در حیوانات روز بلند، در روزهایی با دوره نوری بلند^۱ (۸D: ۱۶L) ترشح ملاتونین کاهش یافته و موجب افزایش فعالیت تولیدمثلی

² Short- Day Breeder

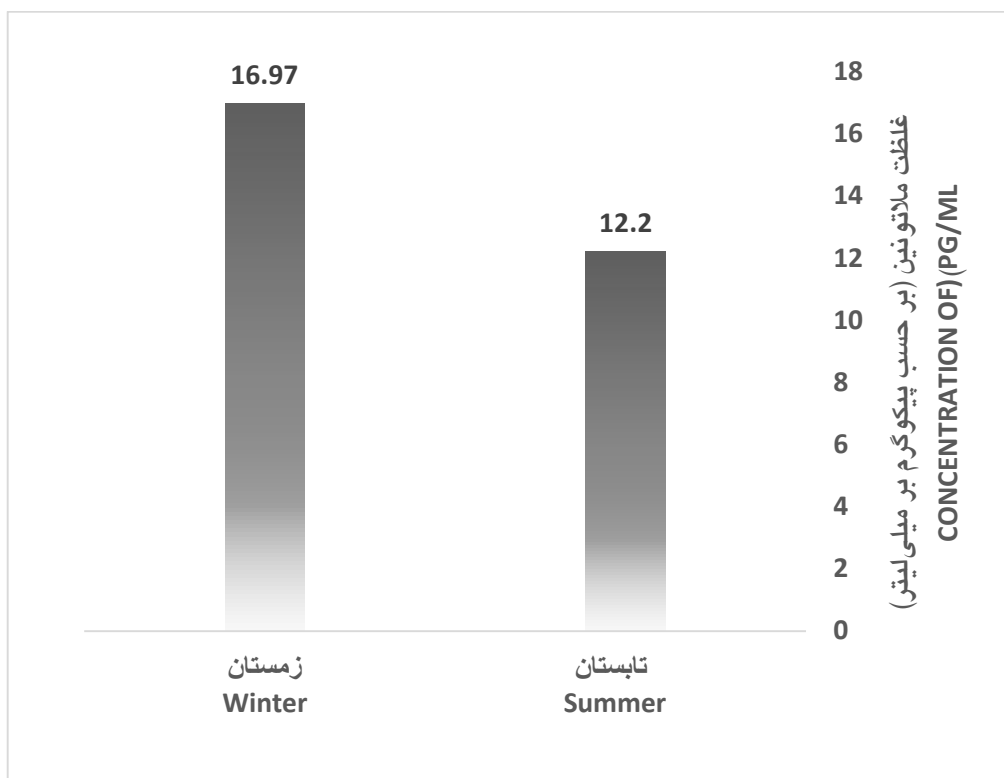
¹ Long- Day Breeder

همکاران (۲۰۰۳) در تحقیقات خود نشان دادند در نریان-های لیپیزین با افزایش سن غلظت هورمون ملاتونین کاهش پیدا می‌کند؛ همچنین در تحقیقاتی بر روی انسان مشاهده شد با افزایش سن غلظت ملاتونین کاهش نشان می‌دهد زیرا با افزایش سن به دلیل فعل و انفعالات غده اپی‌فیز، بافت همبند آن دچار تغییر و تبدیل می‌شود و میزان رسوب در غده اپی‌فیز افزایش و ترشح ملاتونین کاهش می‌یابد. با کاهش میزان ملاتونین، یک کمبود انرژی رو به افزایش در سطح سلولی پیدا می‌شود که این کمبود انرژی بطور مستقیم بر اپی‌فیز اثر گذاشته و رسوب کلسیم را در آن تشدید می‌کند. در این شرایط، تولید ملاتونین در اپی‌فیز بیشتر کاهش می‌یابد (استونس و همکاران ۲۰۰۷).

سیگدم و همکاران ۲۰۰۹، گولاچ و آریچ ۲۰۰۰، ناگی و همکاران ۲۰۰۰ و گرین و همکاران (۱۹۹۵) در خصوص تغییرات غلظت هورمون ملاتونین و تولیدمثل فصلی اسب، اختلاف ۸ ساعته در طول روز بین فصول تابستان و زمستان را عاملی جهت تغییرات معنی‌دار غلظت هورمون ملاتونین و فعالیت تولیدمثلی فصلی اسب دانسته‌اند. از آنجا که در شهرستان دزفول اختلاف طول روز در فصل تابستان (تیرماه) و فصل زمستان (دی ماه) تقریباً برابر چهار ساعت می‌باشد، احتمالاً می‌توان این چنین استدلال کرد که، اختلاف طول روز (مدت زمان روشنایی) در فصل گرم و سرد به شکلی نیست که بتواند تفاوت آماری معنی‌داری در سطح غلظت ملاتونین نریان عرب بین دو فصل ایجاد کند. نتایج نشان می‌دهند که فصل سال روی میزان هورمون‌های خون، رفتار جنسی، خصوصیات فیزیکی و بیوشیمیایی منی و باروری آن اثر گذار بوده (حافظ و حافظ ۲۰۰۹) و فعالیت تولیدمثلی اسب در تمام طول سال ادامه داشته با این واقعیت که اندازه بیضه، تعداد سلول‌های لایدیگ، غلظت تستوسترون و در نتیجه حجم و غلظت اسپرم در فصل زمستان کاهش می‌یابد (رینچ ۲۰۰۷).

بنابراین با توجه به نتایج بیان شده می‌توان گفت که به دلیل وجود دوره نوری کوتاه‌تر زمستان نسبت به تابستان افزایش سطح هورمون ملاتونین را در این فصل شاهد هستیم ولی تغییرات فتوپریودی بین دو فصل آنقدر نیست که هورمون ملاتونین تغییرات معنی‌داری نشان دهد.

در این تحقیق مشاهده شد که در هر دو فصل میانگین غلظت ملاتونین در نریان‌های ۲ تا ۶ ساله به صورت معنی‌داری بیشتر از ۶ تا ۱۰ و ۱۰ تا ۱۴ ساله‌ها بود ($P < 0.05$) و با افزایش سن غلظت ملاتونین کاهش یافته است که موافق با نتایج استونس و همکاران (۲۰۰۷) و کادیونس و همکاران (۲۰۰۳) می‌باشد. کادیونس و



شکل ۱- تغییرات غلظت هورمون ملاتونین در فصل تابستان و زمستان ($P \geq 0/05$)
 Figure 1- The concentration of melatonin in summer and winter ($P > 0/05$)

جدول ۱- تفاوت غلظت هورمون ملاتونین در فصول تابستان و زمستان در سه رده سنی (بر حسب پیکوگرم بر میلی‌لیتر)
 Table 1- Melatonin hormone concentration differences in summer and winter in three age categories (pg. /mL)

	تابستان Summer	زمستان Winter
غلظت ملاتونین در رده سنی ۲ تا ۶ سال Melatonin concentrations in age from 2 to 6 years	22.34±1.71 ^a	34.42±8.55 ^a
غلظت ملاتونین در رده سنی ۶ تا ۱۰ سال Melatonin concentrations in age from 6 to 10 years	7.22±6.51 ^b	7.17±1.65 ^b
غلظت ملاتونین در رده سنی ۱۰ تا ۱۴ سال Melatonin concentrations in age from 10 to 14 years	4.99±1.04 ^b	6.27±1.52 ^b

میانگین فراسنجه (±SE)

Average of parameters (±SE)

* در هر ستون، میانگین‌های با حروف متفاوت اختلاف آماری معنی‌داری دارند ($P < 0/05$).

* In each column, means with different letters are significantly different ($P \leq 0/05$).

منابع مورد استفاده

- Altinsaat C, Aykut GU, Nesrin S and Ahmet E, 2009. Seasonal variation in serum concentration of melatonin, testosterone and progesteron in Arabian horse. Ankara University Veterinary Faculty. Department of Obstetrics and Gynaecology. Veteriner Fakultesi dergisi 56(1): 19-24.
- Arendt G, 2005. Melatonin: characteristics concerns and prospects. Journal of biological Rhythms 20: 291-303.
- Baker FC and Driver HS, 2007. Circadian rhythms, sleep, and the menstrual cycle. Sleep Medicine journal 8: 613-622.
- Barry P, Fitzgerald BP and Mcmanus CG, 2000. Photoperiodic versus metabolic signals as determinants of seasonal anestrus in the mare. Biology of Reproduction 63: 335-340.
- Bechgaard E, Lindhardt K and Martinsen L, 1998. High-performance liquid chromatographic analysis of melatonin in plasma with fluorescence detection. Clinical Chemistry 39: 2242-2247.
- Ben Saad MM and Maurel DL, 2004. Reciprocal interaction between seasonal testis and thyroid activity in Zembra island wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*): Effects of Castration, Thyroidectomy, Temperature, and Photoperiod. Biology of Reproduction 70: 1001-1009.
- Bradshaw WE and Holzapfel CM, 2007. Evolution of animal photoperiodism. The Annual Review of Ecology Evolution and Systematic 38: 1-25.
- Casao A, Cebrian I, Eoda Asumpcao M, Perezpe R, Abecia GA, Forcada F, Perez GC and Blanco TM, 2010. Seasonal variations of melatonin in ram seminal plasma are correlated to those of testosterone and antioxidant enzymes. Reproductive Biology and Endocrinology. pp. 107-109.
- Cigdem A, Aykut GU, Nesrin S and Ahmet E, 2009. Seasonal variations in serum concentration of melatonin, testosterone and progesterone in Arabian horse. Ankara University Veterinary Faculty. Department of Obstetrics and Gynaecology 56: 19-24.
- Clay CM and Clay GN, 1992. Endocrine and testicular changes associated with season, artificial photoperiod, and the peri-pubertal period in stallions. Veterinary Clinics of North America Equine Practics 8: 31-56.
- Davies Morel MCG, 2002. Equine reproductive physiology, breeding and stud management. 2th Ed Cabi Publishing New York .pp. 44-45.
- Diekman MA, Braun W, Peter D and Cook D, 2002. Seasonal serum concentration of melatonin in cycling and non-cycling mares. Journal of Animal Science 80: 2949-2952.
- Elkon II, Heleil BA and Mahmud SA, 2011. Effect of age and season on the testicular sperm reserve and testosterone profile in camel (camels dromedaries). Animal Science Reproduction 8: 68-72.
- Elliott SB 2010. Effects of pituitary pars intermedia dysfunction (PPID), season, and pasture diet on blood adrenocorticotrophic hormone and metabolite concentrations in horses. University of Tennessee – Knoxville. PP. 82-88.
- Gerlach T and Aurich GE, 2000. Regulation of seasonal reproductive activity in the stallion, ram and hamster. Anim Reprod Science 58: 197-213.
- Guerin MV, Deed GR, Kennaway DG and Matthews CD, 1995. Plasma melatonin in the horse: measurements in natural photoperiod and in acutely extended darkness throughout the year. Journal of Pineal Research 19: 7-15.
- Guillaume D, Zarazaga LA, Malpoux B and Chemineau P, 2006. Variability of plasma melatonin level in pony mares (*Equus caballus*), comparison with the hybrid: mules and with jennies (*Equus asinus*). Reproduction Nutrition Development 46: 633-639.
- Gupta M, Kohli K, Kumar D and Gupta YK, 2006. A reverse phase high performance liquid chromatography method for simultaneous estimation of melatonin, carbamazepine epoxide and carbamazepine simultaneously in serum. Indian JPhys Pharmacol 50(4): 427-430.
- Hafez B, Hafez ESE, 2009. Reproduction in farm animals 7 th edition. Lippincott Williams and Wilkins Philadelphia U.S.A pp: 408-452.
- Hiebert SM, Green SA, Yellon SM, 2006 . Daily timed melatonin feedings mimic effects of short days on testis regression and cortisol in circulation in siberian hamsters. General and Comparative Endocrinology 146: 211- 216.
- Huszenicza G, Nagy P, Juhasz G, Korodi P, Kulcsar M, Reiczigel G, Guillaume D, Rudas P and Solti L, 2000. relationship between thyroid function and seasonal reproductive activity in mares. Journal of Reproduction and Fertility Supplement 56: 163-172.

- Itoh MT, Ishizuka B, Kuribayashi Y, Amemiya A and Sumi Y, 1999. Melatonin, its precursors and synthesizing enzyme activities in the human ovary *Mol Hum. Molecular Human Reproduction* 5: 402-408.
- Kadunc N, Ljubljana U, Kosec M and Cestnik V, 2003. Serum thyroid and steroid hormone levels in Lipizzan horses. *Animal physiology-Reproduction. Animal Physiology and Biochemistry*. pp. 221-225.
- Keefe DL and Turek FW, 1985. Circadian time keeping processes in mammalian reproduction. *Oxf Rev Reproductive Biology* 7: 346-400.
- Maddahi Y, Mirzadeh K, Tabatabaei S, Mamouie M and Najafzadeh H, 2014. Studying the effect of age and season on the concentration of testosterone hormone and the size of scrotum circumference in Arabian Stallion. *Journal of Animal Science Researches (Agricultural Science)* 23(4): 151-158.
- Matthews CD, Guerin MV and Deed GR, 1993. Melatonin and photoperiodic time measurement: Seasonal Breeding in the sheep. *Journal of Pineal Research* 14: 105-116.
- Murphy BA, Elliott GA, Sessions DR, Vick MM, Kennedy EL and Fitzgerald BP, 2007. Rapid phase adjustment of melatonin and core body temperature rhythms following a 6-h advance of the light/dark cycle in the horse. *Journal of Circadian Rhythm* 24: 5 (1):5.
- Nagy P, Guillaume D and Daels P, 2000. Seasonality in mares. *Animal Reproduction Science* 61: 245-262.
- Najafzadeh H, Gooraninejad S, Gadrnan A, Fatemi R and Raki A, 2011. Determination Melatonin in Serum of Arabian Horses by HPLC in Summer and Winter Solstices in Ahvas. *Word Applied Sciences Journal* 12 (11): 2988-2091.
- Peniston-Bird JF, Street CA, Kadva A, Stalteri MA and Silman RE, 1993. HPLC assay of Reciprocal interaction between seasonal testis and thyroid activity in Zembra island wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*): Effects of Castration, Thyroidectomy, Temperature and Photoperiod. *Biology of Reproduction Journal* 70: 1001-1009.
- Stankov B, Cozzi B, Lucini V, Fumagalli P, Scaglione F and Fraschini F, 1991. Characterization and mapping of melatonin receptors in the brain of three mammalian species: rabbit, horse and sheep. A comparative in vitro binding study. *Neuro-endocrinology Journal* 53: 214-221.
- Stevens RG, Blask DE, Brainard GC, Hansen G, Lockley SW, Provencio I and et al, 2007. Meeting report: the role of environmental lighting and circadian disruption in cancer and other diseases. *Environ Health Perspect* 115(9): 1357-1362
- Wrench N, 2007. Effect of Season on Sperm Membrane Protein 22 and Selected mRNAs in Fresh and Cryopreserved Stallion Sperm. A Carolina State University in partial fulfillment. *Animal Science Journal* 66: 215-225.

Evaluation of changes in the concentration of melatonin hormone under the influence of age and season in the Arab Stallion

KH Mirzadeh¹, A Maddahi^{2*}, M Mamouie³ and H Najafzadeh⁴

Received: August 14, 2016 Accepted: April 29, 2015

¹Associate Professor, Department of Animal Science, Ramin Agriculture and Natural Resources University of khuzestan, Ahwaz, Iran

²Graduate Student of Animal Science, Ramin Agriculture and Natural Resources University of khuzestan, Ahwaz, Iran

³Professor, Department of Animal Science, Ramin Agriculture and Natural Resources University of khuzestan, Ahwaz, Iran

⁴Professor, Department Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University Ahwaz, Iran

*Corresponding author: E-mail: AreFmaddahi@yahoo.com

Introduction: Various factors, including photoperiod, temperature, nutrition, Body condition and age, are responsible for reproductive behaviors of animals. Environmental, physiological and social factors regulate the onset and sustain of reproductive season. Photoperiod and temperature are key environmental factors, but the first one is more important (Hafez and Hafez 2009). The regulation of reproductive activity by phototherapeutic messages due to secretion of melatonin from the pineal gland in most mammals has been reported, but this relationship is not well known in the horse (Diekman et al., 2002). Regarding the role of the melatonin hormone in the reproductive process, in this study the aim was to investigate the changes in the concentration of the serum melatonin hormone in the Arab stallion, in three age groups including 2 to 6, 6 to 10 and 10 to 14 years old. The study was conducted under natural photoperiod in the seasons of the summer and winter in the Dezful region.

Material and methods: This research was carried out using 33 Arab stallions in three age groups including 2 to 6, 6 to 10 and 10-14 years old under the same nutrition and management condition in the July and January (2012) were as the representative of the heating and cold season, respectively. The experiment done in the Arab horse breeding fields of Dezful. The concentration of melatonin from serum samples was measured by HPLC (Bechgaard et al 1998; Itoh et al 1999; Peniston-Bird et al 1993 and Gupta et al 2006). The results of this research were analyzed using SPSS software (version 18). Comparison of serum melatonin concentration between the summer and winter seasons done by T-test. The difference of these parameters in two seasons, and in three age groups 2 to 6, 6 to 10 and 10 to 14 years old was analyzed with one-way ANOVA and multi-domain tests Duncan.

Results and discussion: The results showed that mean serum concentration of melatonin hormone in winter (97.39 ± 16.4 pg/ml) non significantly was higher than summer (20.11 ± 12.3 pg/ml). Research (Casao et al 2010; Altinsaaf et al 2009; Elkon et al 2011; Wrench 2007; Cigdem et al 2009; Gerlach and Aurich 2000; Nagy et al 2000 and Guerin et al 1995) on changes in melatonin hormone and seasonal reproduction of Horse, were considered 8 hours of difference during the day between summer and winter seasons, as a factor for significant changes in the concentration of melatonin hormone and horse reproductive activity. Since, in the city of Dezful, the difference in the length of the day in summer (July) and winter (January) is approximately four hours, it can probably be argued that the difference in the length of the day (the duration of lighting) in The hot and cold season is not such as to make a statistically significant difference in the level of serum melatonin of Arab stallion between two seasons. The results indicate that the season has affected on the level of blood hormones, sexual behavior, physical and biochemical properties of semen and its fertility (Hafez and Hafez 2009). In addition, reproductive activity of the horse throughout the year continued with the fact that the size of the testicles, the number of Leydig cells, testosterone concentrations, and therefore the volume and concentration of sperm in the winter, decreased (Wrench 2007). In this study, in both

seasons, the mean concentration of melatonin in the 2 to 6 year old stallion was significantly more than 6-10 years old and 10-14 years old ($P < 0.05$), and with increasing age, the concentration of melatonin was decreased, which agrees with Stevens et al (2007) results. As the age increases, the concentration of melatonin decreases, due to the interactions of the epiphyseal gland, its connective tissue changes, and the amount of sediment in the epiphyseal gland increases and therefore the secretion of melatonin decreases. By reducing the amount of melatonin, there is an increasing energy deficiency at the cellular level, which affects the epiphyseal gland directly and exacerbates calcium deposition. In this situation, the production of melatonin in the epiphyseal gland is further reduced (Stevens et al 2007).

Conclusion: Due to the shorter photoperiod in winter than summer, a rise in the level of melatonin in this season was seen, but photoperiodic changes between the two seasons are not so significant that the melatonin hormone exhibits significant changes. Therefore, it can be said that in the Arab stallion, the season has no effect on the concentration of serum melatonin, but it decreases with increasing age of melatonin concentration.

Keywords: Age, Season, Melatonin, Arab Stallion