IranJPP
Iranian Journal of
Physiology and Pharmacology

مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران

سال ۱۳۹۹، دوره ٤، شماره ۳ و ٤، پیاپی ١٤، صفحه ١٤٠-١٣١

مقاله پژوهشی

ارزیابی کیفیت منی و باروری خروس گله مادر گوشتی تغذیه‌شده با اسید لینولئیک مزدوج

راضیه ظرافت‌کار یگانه، مهدی ژندی، آرمین توحیدی، مجتبی زاغری

گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

دریافت: ۲۴ اسفند ۱۳۹۹ پذیرش: ۸ تیر ۱۴۰۰

چکیده

زمینه و هدف: مطالعات مختلف نشان داده‌اند که مصرف اسید لینولئیک مزدوج (CLA) می‌تواند منجر به تغییر فرایند تولیدمثلی در حیوانات مختلف شود. لذا، هدف این پژوهش، مطالعه اثر اسید لینولئیک مزدوج بر برخی فراسنجه‌های کیفی اسپرم و باروری در خروس بود.

روش‌ها: شمار ۳۲ قطعه خروس با سن ۵۹ هفته به شیوه‌ی کامل تصادفی به چهار گروه (هشت خروس در هر گروه) تقسیم و به قفس‌های انفرادی منتقل شدند. به همه گروه‌های آزمایشی جیره پایه یکسان داده شد و سطوح مختلف اسید لینولئیک مزدوج : تیمار ۱ (۰ گرم در روز به ازای هر خروس)، تیمار ۲ (۰/۲ گرم در روز به ازای هر خروس)، تیمار ۳ (۰/۴ گرم در روز به ازای هر خروس) و تیمار ۴ (۰/۶ گرم در روز به ازای هر خروس) به صورت کپسول به آن‌ها خورانده شد. آزمایش پس از ۲ هفته عادت‌دهی به مدت ۹ هفته ادامه یافت. فراسنجه‌های کیفی اسپرم شامل: حجم منی، جنبایی کل، جنبایی پیش‌رونده، غلظت منی، درصد اسپرم‌های نابهنجار، درصد اسپرم‌های زنده ،درصد اسپرم‌های دارای غشاء فعال و غلظت مالون دی آلدهید به‌صورت هفتگی ارزیابی شدند. طی دو هفته منی خروس‌ها به منظور ارزیابی نرخ باروری و جوجه درآوری جمع آوری و به ۶۸ مرغ مادر گوشتی (۱۷مرغ در هر گروه) تلقیح شد.

یافته‌ها: مصرف مقادیر مختلف اسید لینولئیک مزدوج تاثیر بر فراسنجه‌های مختلف اسپرم و وزن بدن نداشت ($p >$ ۰/۰۵). اثر زمان آزمایش بر همه فراسنجه‌های اسپرم به غیر از حجم منی معنی‌دار بود. همچنین، اثر متقابل تیمار در زمان بر غلظت اسپرم، جنبایی کل، فعالیت غشاء اسپرم و وزن بدن معنی‌دار بود و بر سایر پارامترها معنی‌دار نبود ($p <$ ۰/۰۵). نتایج باروری نشان می‌دهد که مقادیر مختلف اسید لینولئیک مزدوج اثر معنی‌داری بر میزان باروری و جوجه درآوری نداشت.

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی، نتایج این تحقیق نشان داد که سطوح مختلف اسید لینولئیک مزدوج اثر سودمندی بر کیفیت اسپرم تازه در خروس گله مادر گوشتی نداشته است.

واژه‌های کلیدی: اسپرم، اسید لینولئیک مزدوج، باروری، کیفیت منی

مقدمه

مدیریت فرآیند تولید مثل در مرغ و خروس، اساس پرورش گله‌های مرغ مادر گوشتی می‌باشد. گله‌های مادر گوشتی می‌توانند به سطوح عالی باروری بالای ۹۰ درصد در آغاز دوره‌ی تولید مثلی در سن ۴۰-۳۰ هفتگی دست یابند، اما خروس‌ها با تداوم پایین باروری در سن ۴۰ تا ۵۰ هفتگی مواجه می‌شوند و باروری آن‌ها از سن ۵۰ هفتگی به بعد کاهش می‌یابد [۱]. بررسی‌ها نشان داده است که در گله‌های مرغ مادر گوشتی کشور، خروس‌ها در سن ۴۵ هفته با خروس‌های جوان تعویض می‌شوند. اگر اسپرم در لوله‌های ذخیره‌ی اسپرم موجود باشد و مرغ دارای تخم‌گذاری طبیعی باشد، تخم‌ها به طور معمول بارور خواهند شد. بنابراین، عموماً مشکلات باروری انعکاسی از مسائل مربوط به خروس است و اثر مرغ به مراتب کمتر از خروس است [۲]. یکی از راه‌های بهبود باروری در خروس، داشتن اسپرم تازه و با کیفیت است. بر همین مبنا روش‌های گوناگونی توسعه یافته‌اند. یکی از این روش‌ها تغذیه با اسیدهای چرب ضروری حاوی چند پیوند دوگانه است. یکی

* نویسنده مسئول مکاتبات: mzhandi@ut.ac.ir (ORCID ID: 0000-0003-2886-9747)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2024-07-16]

از انواع اسیدهای چرب، اسید لینولئیک مزدوج (CLA)[1] است که یک اسید چرب موجود در طبیعت بوده و از سال ۱۹۳۰ شناخته شده است [۳]. این اسیدهای چرب، ترکیبی از ایزومرهای جایگاهی و هندسی اسیدلینولئیک هستند که در جایگاه‌های مختلف کربن اسید چرب، دارای پیوند دوگانه مزدوج هستند. نتایج پژوهش‌ها نشان داده است که افزودن CLA در دوره انتقال (سه هفته قبل تا سه هفته بعد از زایمان) به جیره گاوهای شیری می‌تواند عملکرد تولیدمثلی را از راه تغییر هورمون‌های تولیدمثلی و کیفیت اووسیت بهبود بخشد [۳، ۱]. این اثرات تا اندازه‌ای همانند اثر اسیدهای چرب امگا-۳ بر تولید مثل گاوهای ماده است [۳، ۱]. بنابراین، با توجه به آثار سودمند CLA بر دستگاه تولیدمثل ماده و مشابه بودن این آثار با اسیدهای چرب امگا ۳ و از سویی دیگر، با توجه به اثرات مفید تغذیه اسیدهای چرب غیر اشباع در تولیدمثل نر، به نظر می‌رسد افزودن CLA به جیره غذایی خروس بتواند سبب بهبود تولید اسپرم آن‌هاگردد. اسپرم طیور دارای مقادیر بالایی از اسیدهای چرب امگا شش می‌باشد [۴]. در حالی که چربی اسپرم پستانداران عمدتا شامل اسیدهای چرب امگا سه است.

شواهد فراوانی وجود دارد که نشان می‌دهد ترکیب لیپید غشای اسپرم جزو تعیین کننده‌ی اصلی جنبایی و زنده‌مانی کلی می‌باشد [۵]. این اسیدهای چرب غیر اشباع، سیالیت مورد نیاز غشای پلاسمایی را که برای شرکت در فرآیند جوشش در هنگام لقاح به آن نیاز دارد را به اسپرم می‌بخشند، در حالی که، کمبود آن منجر به از دست رفتن جنبایی و افزایش اسپرم‌هایی که از نظر مورفولوژی نابهنجار هستند می‌شود [۶]. با توجه به نتایج بدست آمده از پژوهش‌های قبل، هدف از این مطالعه بررسی تاثیرات احتمالی اسید لینولئیک مزدوج بر فراسنجه‌های اسپرم خروس مادر گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

مواد آزمایش مورد استفاده در این پژوهش از شرکت‌های سیگما[2] و مرک[3] تهیه شد. تعداد ۳۲ قطعه خروس مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸ با سن ۵۹ هفته با میانگین وزن ۴/۵ کیلوگرم از یک گله تجاری انتخاب شد و بطور تصادفی به ۴ گروه مساوی تقسیم شدند (۸ خروس در هر گروه). خروس‌ها به مدت دو هفته عادت‌دهی شدند. پس از عادت دهی به مدت ۹ هفته به هر گروه یکی از تیمارهای حاوی صفر، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ گرم در روز اسید لینولئیک مزدوج (لوترال یا لوتالین از شرکت ب آ اس اف[4] آلمان) به ازای هر خروس به صورت کپسول خوراکی اختصاص داده شد. طی این دوره هر هفته یک‌بار از تمام خروس‌ها اسپرم‌گیری بعمل آمد و فراسنجه‌های حجم منی، غلظت منی، مقدار کل اسپرم در هر انزال، جنبایی پیش‌رونده، یکپارچگی غشاء، زنده‌مانی، ریخت شناسی اسپرم و غلظت مالون دی آلدهید ارزیابی شد. بعد از گذشت ۹ هفته، منی از خروس ها برای تلقیح مصنوعی و تعیین میزان باروری و جوجه درآوری به مدت ۲ هفته گرفته شد. حجم منی با استفاده از میکروتیوب‌های مندرج و غلظت با استفاده از لام هموسایتومتر اندازه‌گیری شد. جنبایی کل و پیش‌رونده اسپرم تازه به روش چشمی سنجش شد. برای ارزیابی چشمی، نمونه‌ای از منی در سرم فیزیولوژیک (نمک طعام ۰/۹ درصد) به نسبت ۱ به ۱۰۰ رقیق شد. سپس ۲۰ میکرولیتر از نمونه اسپرم روی لام تمیز و گرم قرار گرفت و جنبایی نمونه در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی۲۰۰ × مورد ارزیابی قرار گرفت. برای ارزیابی زنده‌مانی از رنگ‌آمیزی ائوزین- نیگروزین استفاده شد. برای ارزیابی نمونه ۱۰ میکرولیتر اسپرم به وسیله سمپلر روی یک لام گرم و تمیز قرار داده شد. سپس ۱۰ میکرولیتر از رنگ ائوزین-نیگروزین با استفاده از سمپلر روی اسپرم ریخته شده با هم مخلوط شدند. با قرار دادن لام دیگری روی نمونه‌ی مخلوط شده‌ی اسپرم و رنگ گسترشی از مخلوط آن ها روی لام تهیه شد. پس از خشک شدن، لام زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی۴۰۰ × قرار داده شد. برای ارزیابی یکپارچگی غشای اسپرم از آزمون هاست استفاده شد. در این آزمون ۳۰ میکرولیتر از منی به ۳۰۰ میکرولیتر از محیط هایپواسموتیک هاست که دارای فروکتوز و سیترات سدیم بود افزوده شد. پس از آن مخلوط حاصل ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از گذشت این زمان ۱۰ میکرولیتر از نمونه انکوبه شده روی لام قرار داده شد و با استفاده از لامل روی لام گسترده شد. بررسی میکروسکوپی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و با بزرگنمایی ۴۰۰× صورت گرفت و اسپرم‌هایی که دم

[1] Conjugated linoleic acid
[2] Sigma Aldrich
[3] Merck
[4] Badische Anilin-und Soda-Fabrik

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2024-07-16]

پیچ‌خورده داشتند به عنوان اسپرم‌هایی با غشاء فعال درنظر گرفته شدند [۷]. اندازه‌گیری غلظت مالون‌دی‌آلدهید با تیوباربیوتوریک اسید که یکی از رایج‌ترین روش‌های بررسی نرخ پراکسیداسیون لیپیدها است. جذب نوری نمونه‌های مختلف با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه گردید و در پایان، غلظت مالون دی آلدهید (نانومول در میلی لیتر منی) محاسبه شد. خروس‌ها در سن ۷۰ هفتگی برای تلقیح مصنوعی انتخاب شدند. منی خروس‌ها به صورت جدا از هم جمع آوری و ارزیابی شد. سپس منی خروس‌های قابل استفاده در هر تیمار با هم مخلوط شده و با استفاده از لام هموسایتومتر غلظت اسپرم تعیین شد. نمونه‌های مایع منی از خروس‌های مربوط به هر تیمار به آرامی ادغام شده و سپس با نسبت ۱ به ۵ با شیر کم‌چرب ۱/۵درصد رقیق شد [۱]. تعداد ۶۸ قطعه مرغ مادرگوشتی در۶۰ هفتگی برای تلقیح مصنوعی تهیه شد. تلقیح مصنوعی مرغ‌ها دو بار در ابتدای هفته اول (روز شنبه ویک شنبه) و یک بار ابتدای هفته دوم (روز شنبه) و در بعدظهر (ساعت پنج) انجام شد. برای ارزیابی باروری، به مدت ۱۴ روز تخم مرغ جمع‌آوری شد.

واکاوی آماری

داده‌های تکرار شونده توسط رویه میکس و داده‌های باروری با استفاده از رویه جینمود مورد آنالیز قرار گرفت. وزن اولیه خروس و تعداد اسپرم، به ترتیب، به‌عنوان کوواریت در ارزیابی تعداد کل اسپرم در هر انزال و غلظت مالون دی آلدهید در نظر گرفته شد. مقایسه‌ی تیمارها نیز با روش حداقل میانگین مربعات انجام شد (p >۰/۰۵). به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. مدل آماری (۱) برای داده‌های تکرارشونده و مدل آماری (۲) برای داده‌های باروری آورده شده است [۷].

(۱) کل فراسنجه‌های مورد ارزیابی به جز باروری = میانگین جامعه + اثر تیمار i ام (i = ۱، ۲، ۳، ۴) + اثر هفته j ام (j = ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶) + اثر خروس (تیمار) + (تیمار × هفته) + اثرات باقیمانده

(۲) باروری = میانگین جامعه + اثر تیمار i ام (i = ۱، ۲، ۳، ۴) + اثرات باقیمانده

یافته‌ها

جنبایی کل

نتایج در جنبایی کل نشان داد که در این فراسنجه تیمار ۲ در هفته‌های ۲، ۴، ۶ و ۸ به طور معنی داری افزایش یافت و همچنین بیشترین میزان جنبایی در هفته ۸ و در تیمار ۲ مشاهده شد (نمودار ۱).

غلظت منی

طبق نمودار ۲ با افزایش سن افزایش غلظت وجود داشته است و اثرات متقابل تیمار در زمان نشان می‌دهد که در طول زمان تیمار ۳ بیشترین میزان غلظت را داشته و کمترین میزان غلظت مربوط به تیمار ۲ است (نمودار ۲) همچنین تیمار ۳ در هفته‌های ۸ و ۹ به طور معنی‌داری افزایش یافت.

جنبایی پیش‌رونده

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تغذیه CLA تاثیر معنی‌داری بر جنبایی پیش‌رونده اسپرم نداشت (جدول ۱). همچنین اثر تیمار در زمان نیز معنی‌دار نبود ولی اثر زمان بر جنبایی پیش‌رونده معنی‌دار بود.

اسپرم ناهنجار

در این مطالعه سطوح مختلف CLA و اثر مقابل آن با زمان تاثیری بر ناهنجاری مورفولوژیکی اسپرم نشان نداد (جدول ۱) ولی اثر زمان بر این فراسنجه معنی‌دار بود.

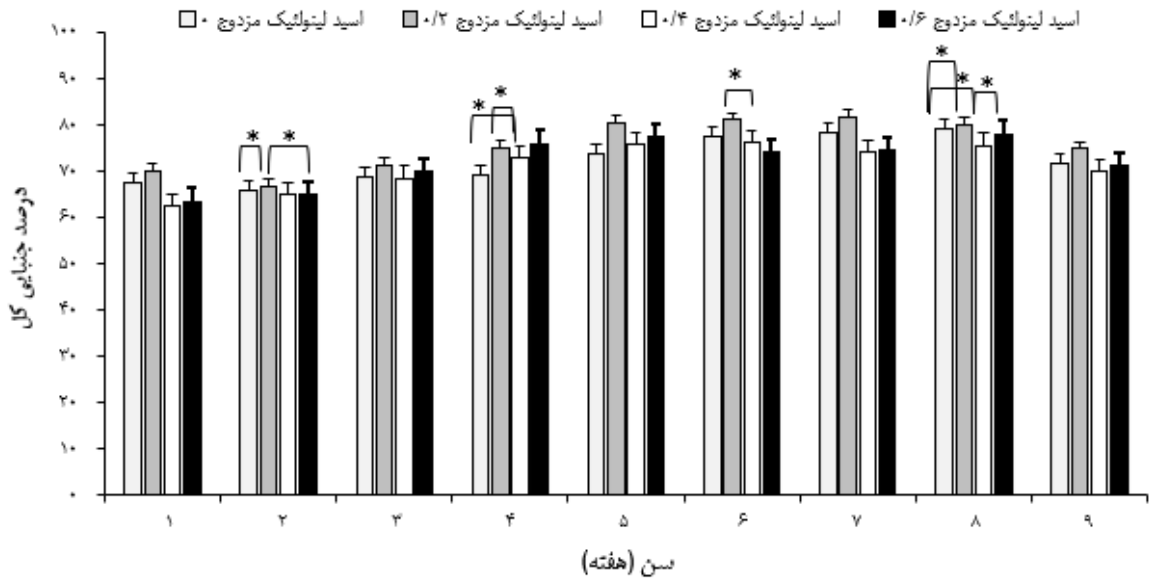
غلظت مالون دی آلدئید

نتایج این پژوهش نشان داد که اثر تیمار (سطوح مختلف CLA) و تیمار در زمان بر سطح مالون دی آلدهید منی معنی‌دار نبود ولی اثر زمان بر این فراسنجه معنی‌دار بوده است (p < ۰/۰۵، جدول ۱)

وزن بدن

نتایج نشان می‌دهد که وزن بدن تحت تاثیر سطوح مختلف CLA قرار نگرفت (p >۰/۰۵) با افزایش سن خروس در طول آزمایش وزن بدن افزایش یافته است. تیمار ۳ و ۴ نسبت به تیمار شاهد افزایش وزن بیشتری را نشان داده‌اند (نمودار ۳).

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2024-07-16]



نمودار ۱– اثر سطوح متفاوت اسید لینولئیک مزدوج (۰ ، ۰/۲ ، ۰/۴ و ۰/۶گرم در روز به ازای هر خروس) بر تغییرات هفتگی جنبایی کل اسپرم هر ستون نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار از میانگین برای ۸ خروس می‌باشد. *: تفاوت معنی‌دار با $p < ۰/۰۵$.

فعالیت غشای اسپرم

میزان فعالیت غشای اسپرم که با آزمون هاست بررسی شده بود بر طبق نمودار نشان می‌دهد با افزایش سن فعالیت غشای اسپرم تا هفته ۴ یک روند افزایشی داشته و بعد از آن تا هفته ۹ یک روند ثابت کاهشی پیدا کرده است. تیمار ۴ در هفته دوم به طور معنی‌دار افزایش یافت و تیمار شاهد کمترین میزان اسپرم دارای غشای فعال را نشان می‌دهد (نمودار ۴).

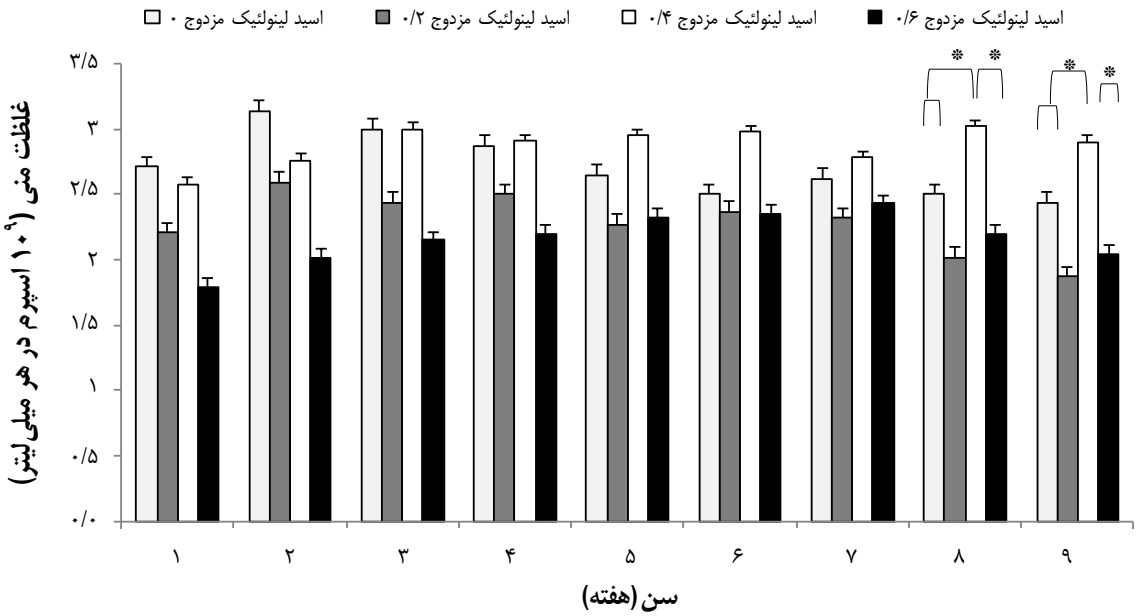
باروری

نتایج ارائه شده در جدول ۲ نشان می‌دهد که سطوح مختلف CLA تاثیر معنی‌داری بر پارامترهای باروری، هچ کل تخم‌مرغ، هچ تخم‌مرغ بارور نداشت.

بحث

در این پژوهش حجم منی در خروس‌های راس ۳۰۸ که با جیره مکمل شده با CLA تغذیه شده بودند تاثیر معنی‌داری در پرنده‌ها نداشت. همسو با نتایج ما، مطالعه کیفیت منی در گاو هلشتاین نشان داد که حجم منی تحت تاثیر CLA قرار نگرفت [۸]. در حالی که در پژوهش دیگر نتایج بدست آمده در گاو هلشتاین تغذیه شده با خوراک ماهی نشان داد که حجم و میزان اسپرم به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود [۹]. به‌نظر می‌رسد که فقدان اثر معنی‌دار اسید لینولئیک بر این فراسنجه احتمالا ناشی از استفاده خروس‌های با باروری طبیعی در مطالعه است و این مکمل برای خروس‌های با کیفیت پایین موثر خواهد بود. با افزودن CLA غلظت منی در تیمار ۳ در دو سوم انتهایی زمان آزمایش از سایر گروه‌ها بالاتر بود. همسو با این نتایج در پژوهشی مشاهده شد اثر متقابل تیمار در زمان و اثر زمان در تغذیه ۲/۵ درصد روغن ماهی به بزهای نژاد مرخز سبب افزایش معنی‌دار غلظت اسپرم شد و نیز در این پژوهش در تضاد با نتایج حاضر اثر تیمار هم افزایش معنی‌داری را نشان داده است [۱۰]. در مطالعه‌ای دیگر روی گاو هلشتاین تغذیه شده با مکمل CLA نشان داده شد که اسید لینولئیک مزدوج تحت تاثیر تیمار و زمان آزمایش قرار نگرفته و تاثیر معنی داری بر غلظت منی نداشته است [۸]. چنین ناسازگاری‌هایی در ویژگی‌های ذاتی اسپرم ممکن است به دلیل نسبت های مختلف اسید چرب امگا سه مانند دکوزاهگزانوئید اسید در ترکیبات لیپیدی غشای پلاسمایی اسپرم این گونه ها باشد. نسبت دکوزاهگزانوئید اسید در لیپیدهای اسپرم بوقلمون، نریان و خروس در مقایسه با نشخوارکنندگان و گراز خیلی کمتر است (۹-۳ ٪ در مقابل ۳۰-۲۰٪ از کل اسید چرب) . نسبت بالای دکوزاهگزانوئید اسید در لیپیدهای اسپرم نشخوارکنندگان وگراز ممکن است نقش مهمی در اسپرماتوژنز داشته باشد و همچنین

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2024-07-16]



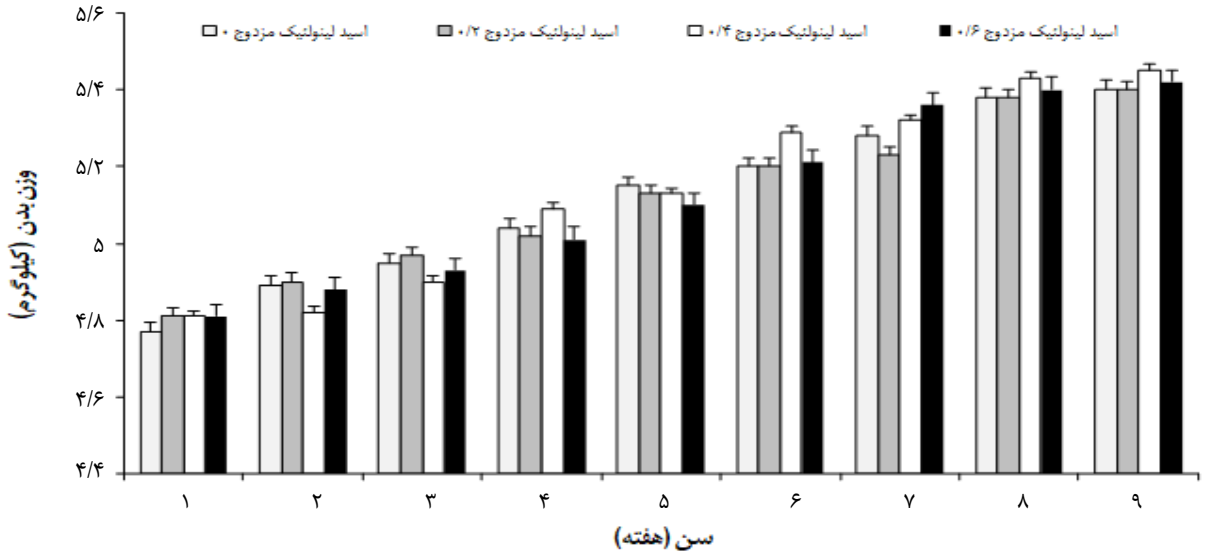
نمودار ۲- اثر سطوح متفاوت اسید لینولئیک مزدوج (۰ ، ۰/۲ ، ۰/۴ و ۰/۶گرم در روز به ازای هر خروس) بر تغییرات هفتگی غلظت منی. هر ستون نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار از میانگین برای ۸ خروس می‌باشد. *: تفاوت معنی‌دار با p >۰/۰۵

جدول ۱- اثر تغذیه سطوح مختلف لینولئیک اسید مزدوج بر فراسنجه های کیفی اسپرم خروس

فراسنجه ها	مقادیر #CLA (گرم در روز)				میزان p		
	CLA 0	CLA 0.2	CLA 0.4	CLA 0.6	تیمار	هفته*	تیمار× هفته
حجم منی (میلی لیتر به ازای میانگین کل)	۰/۴۹ ± ۰/۰۳	۰/۵۰ ± ۰/۰۳	۰/۴۹ ± ۰/۰۳	۰/۴۱ ± ۰/۰۲	۰/۶۱	۰/۷۷	۰/۶۰۱
غلظت اسپرم (۱۰^۹ اسپرم در هر میلی لیتر)	۲/۷۱ ± ۰/۲	۲/۲۳ ± ۰/۱۵	۲/۸۷ ± ۰/۱۱	۲/۲۴ ± ۰/۲	۰/۳۱	<۰/۰۱	<۰/۰۱
جنبایی کل (درصد)	۷۱/۸۴ ± ۲/۰۱	۷۴/۸۸ ± ۱/۹۵	۷۰/۰۶ ± ۲/۳۰	۷۱/۰۸ ± ۲/۶۵	۰/۱۴	<۰/۰۱	<۰/۰۵
جنبایی پیش رونده اسپرم (درصد)	۶۰/۶۹ ± ۲/۳۴	۶۳/۷۰ ± ۲/۲۳	۵۵/۲۷ ± ۲/۵۵	۵۸/۷۹ ± ۳/۱۳	۰/۱۴	<۰/۰۱	۰/۲۵
اسپرم ناهنجار (درصد)	۱۲/۵۴ ± ۰/۷۴	۱۴/۵۵ ± ۰/۷۷	۱۴/۳۱ ± ۰/۶۱	۱۳/۸۸ ± ۰/۶۲	۰/۱۴	<۰/۰۱	۰/۱۳
تست تورم هایپواسموتیک (درصد)	۸۸/۸۸ ± ۱/۹۵	۹۰/۲۵ ± ۱/۵۱	۹۰/۴۴ ± ۱/۴۴	۸۹/۸۶ ± ۱/۷۸	۰/۵۷	<۰/۰۱	<۰/۰۵
تست غلظت مالون دی آلدئید (nmol/ml)	۰/۷۶ ± ۰/۱۵۲	۰/۷۳ ± ۰/۱۵۲	۰/۹۶ ± ۰/۱۶	۰/۹۳ ± ۰/۱۶	۰/۴۷	<۰/۰۱	۰/۱۰
زنده مانی (درصد)	۰/۳۵ ± ۰/۰۱۱	۰/۳۸ ± ۰/۰۱	۰/۳۸ ± ۰/۰۰۹	۰/۳۷ ± ۰/۰۰۹	۰/۱۰۳	<۰/۰۱	۰/۲۱
وزن بدن(kg)	۵/۱۱ ± ۰/۰۵	۵/۱۱ ± ۰/۰۵	۵/۱۳ ± ۰/۰۵	۵/۱۲ ± ۰/۰۵	۰/۹۸	<۰/۰۱	<۰/۰۵

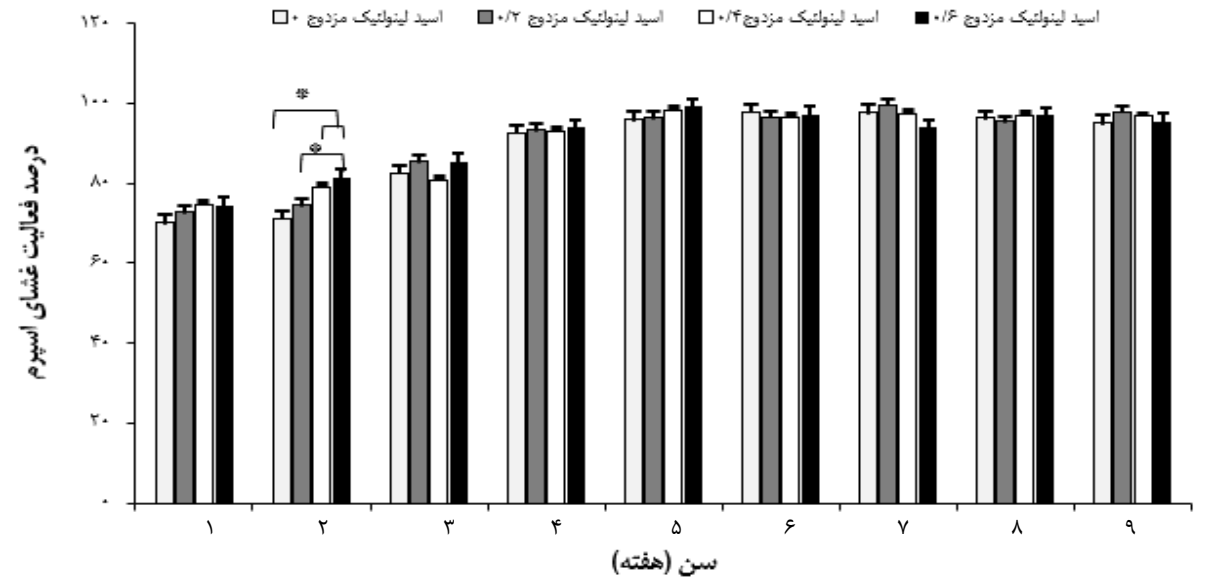
هر داده بیانگر میانگین ± انحراف معیار حاصل از حداقل ۹ تکرار می باشد. # اسید لینولئیک مزدوج. *مدت آزمایش ؛ ۹ هفته (از سن ۶۱ تا ۷۰ هفتگی)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2024-07-16]



نمودار ۳- اثر سطوح متفاوت اسید لینولئیک مزدوج (۰ ، ۰/۲ ، ۰/۴ و ۰/۶گرم در روز به ازای هر خروس) بر تغییرات هفتگی وزن بدن خروس. هر ستون نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار از میانگین برای ۸ خروس می‌باشد.

ممکن است اثر مثبت دکوزاهگزانوئید اسید بر کیفیت مایع منی و زنده‌مانی اسپرم در این گونه ها را توضیح دهد [۱۱]. جنبایی کل با افزودن CLA به طور معنی‌داری تحت تاثیرات متقابل تیمار در زمان قرار گرفت. مطالعاتی روی کیفیت منی در اسب و گراز پس از گذشت ۹ هفته دوره آزمایش انجام شد و پژوهشگران به این نتیجه رسیدند که حرکات اسپرم در گروهی که با روغن ماهی تغذیه شدند بیشتر از گروه کنترل بود [۱۳، ۱۲] ولی مطالعه روی کیفیت منی تازه گاو هلشتاین نشان داد که تغذیه جیره مکمل شده با CLA تحت تاثیر زمان، تیمار و اثر متقابل تیمار در زمان اثر سودمند معنی‌داری بر جنبایی و ویژگی‌های حرکتی اسپرم تازه نداشت [۸]. حرکت اسپرم نسبتا شدید و تند است و برای حفظ تحرک نیاز به تولید



نمودار ٤- اثر سطوح متفاوت اسید لینولئیک مزدوج (۰ ، ۰/۲ ، ۰/۴ و ۰/۶گرم در روز به ازای هر خروس) بر تغییرات هفتگی اسپرم های دارای غشای پلاسمایی فعال. هر ستون نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار از میانگین برای ۸ خروس می‌باشد. *: تفاوت معنی‌دار با p <۰/۰۵.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2024-07-16]

جدول ۲- تاثیر اسید لینولئیک مزدوج بر باروری و جوجه درآوری

فراسنجه ها	مقادیر CLA# (گرم در روز)				
	CLA0	CLA 0.2	CLA 0.4	CLA 0.6	میزان *p*
باروری (درصد)	۶۰ ± ۴/۸	۶۹ ± ۴/۷	۵۹ ± ۵	۶۵ ± ۴/۸	۰/۴۳
جوجه درآوری کل	۲۵ ± ۴/۲	۳۶ ± ۴/۹	۲۹ ± ۴/۶	۳۱ ± ۴/۷	۰/۴۴
جوجه درآوری براساس تعداد تخم مرغ بارور	۴۲ ± ۶/۲	۵۲ ± ۶/۱	۴۹ ± ۶/۶	۴۷ ± ۶/۳	۰/۷۶

#: اسید لینولئیک مزدوج.

آدنوزین تری فسفات زیادی دارد، تعداد زیاد میتوکندری موجود در قطعه میانی اسپرم، این میزان انرژی را فراهم می‌آورد [۱۴]. از طرفی دیگر، انرژی تولید شده در میتوکندری میزان گونه‌های اکسیژن فعال را افزایش داده و باعث آسیب به ساختار و عملکرد غشای سلول می‌شود [۱۴]. همچنین، گونه‌های اکسیژن فعال علاوه بر اختلال در فعالیت میتوکندری و کاهش تولید انرژی، تهدیدی جدی برای پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است [۱۴]. با توجه به اینکه اسپرم غلظت بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع درون غشایی دارد که باعث افزایش پراکسیداسیون اسپرم می‌شود [۱۵] بنابراین، پراکسیداسیون غشای اسپرم یکی از عوامل بسیار مهم درکاهش کیفیت غشای اسپرم است. زمانی که کیفیت غشای اسپرم کاهش می‌یابد به تدریج آدنوزین تری فسفات در دسترس کاهش یافته و در پس آن جنبایی اسپرم نیز کاهش نشان می‌دهد [۸]. از آنجا که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسپرم پایین است، احتمالا افزایش سطوح CLA با حفظ غشای میتوکندری و سلول باعث افزایش معنی‌داری در جنبایی اسپرم می شود. در مطالعه حاضر، جنبایی پیش‌رونده با افزودن CLA به جیره پرنده تحت تاثیر سطوح مختلف CLA و اثر متقابل تیمار در زمان قرار نگرفت ولی اثر زمان معنی‌دار بود. در توافق با این نتایج، مطالعه روی کیفیت منی در گاو هلشتاین نشان داد که تغذیه جیره مکمل شده با CLA اثر معنی‌داری بر جنبایی پیش‌رونده نشان نداده است [۸]. همچنین، در مطالعه‌ای دیگر که روی کیفیت اسپرم گاوهای هلشتاین تغذیه شده با روغن ماهی انجام شده بود نشان داده شد که روغن ماهی، اسید چرب دکوزاهگزانوئید اسید و نسبت اسیدهای چر امگا سه به امگا شش را در لیپیدهای اسپرم طی آزمایش افزایش می‌دهد [۹]. بنابراین، می‌توان پیشنهاد کرد که افزایش دکوزاهگزانوئید اسید در فسفولیپید غشای پلاسما، احتمالا در دم اسپرم می‌تواند جنبایی پیش‌رونده را بهبود بخشد.

علت تفاوت در نتایج به علت تفاوت گونه‌ای یا نوع جیره‌ی خوراکی می‌تواند باشد. بر طبق نتایج این پژوهش، ناهنجاری مورفولوژیکی اسپرم تحت تاثیر تیمار و اثر متقابل تیمار در زمان قرار نگرفت ولی اثر زمان معنی‌دار شد. همسو با نتایج ما، در پژوهشی دیگر روی گاو هلشتاین تغذیه شده با مکمل جیره‌ای CLA، نیز تاثیر معنی‌داری روی ناهنجاری مورفولوژیکی اسپرم مشاهده نشد. ولی در پژوهشی دیگر در خوک کاهش در اسپرم با مورفولوژی غیرطبیعی مشاهده شد [۱۶]. فرضیه احتمالی برای توضیح این نتایج ممکن است اثرات متفاوت اسیدهای چرب امگا سه در گونه‌ها مختلف باشد. زیرا غشای پلاسمایی اسپرم و همچنین اثرات اسیدهای چرب با چند پیوند غیر اشباع طی روند اسپرماتوژنز در گونه‌های مختلف متفاوت است. اگرچه شناخته شده که اسیدهای چرب امگا سه در رژیم‌های غذایی به سلول‌های اسپرم منتقل می‌شوند [۱۸، ۱۷]. نبود تغییر معنی‌دار در درصد اسپرم‌های نابهنجار هم زمان با افزایش میزان مصرف آنها در این آزمایش نشان دهندهٔ فعال شدن یک سازوکار قوی برای انتخاب و حذف اسپرم‌های نابهنجار در منی است. به طور معمول فرآیند حذف اسپرم‌های نابهنجار درون بیضه و در هنگام اتصال آن ها به یاخته‌های سرتولی [۱۹] و به واسطهٔ یوبیکوئیتیناسیون آن‌ها و فاگوسیتوز توسط یاخته‌های اصلی موجود در لوله فرابیضه [۲۰] روی می‌دهد. تستوسترون و سوخت وساز گر (متابولیت) فعال‌تر آن یعنی دی هیدروتستوسترون نقش مهمی در کارکرد درست هر دو جایگاه را بر عهده دارند. در گزارشی رابطهٔ بین غلظت بالای تستوسترون آزاد و قابل دسترس پلاسما و درصد اسپرم‌های با ریخت شناسی سالم بالا تأیید شده است. بنابراین، احتمال دارد CLAبه طور غیرمستقیم و با افزایش غلظت آندروژن‌ها با اثر بر محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- گناد عمل کرده و یا بطور مستقیم بر روی هیپوفیز اثر کرده و سبب بهبود کارایی هر دو

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2024-07-16]

جایگاه در انتخاب و حذف اسپرم‌های نابهنجار شده باشد [۲۱]. نتایج این پژوهش در مورد غشای اسپرم نشان داد که افزودن CLA به طور معنی‌داری تحت تاثیر اثر زمان و اثر متقابل تیمار در زمان قرار گرفت اما تحت تاثیر تیمار قرار نگرفت. در پژوهشی در سگ‌های تغذیه شده با رژیم غنی شده با اسیدهای چرب امگا سه، امگا شش و امگا نه و ویتامین E باعث بهبود فعالیت غشای اسپرم شد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت ندارد [۲۲]. در پژوهشی دیگر که روی اسپرم گاوهای هلشتاین تغذیه شده با مکمل جیره‌ای CLA انجام شد، تیمار و زمان هیچ‌گونه تاثیر معنی‌داری نشان ندادند ولی اثر متقابل تیمار در زمان معنی‌دار بود که با نتایج ما همسو است [۸]. تغییرات مقدار اسیدهای چرب با پیوند دوگانه در رژیم غذایی منجر به تغییرات همزمان در ترکیب اسیدهای چرب امگا سه و امگا شش در غشای پلاسمایی اسپرم گاو شده است [۱۷]. در واقع ترکیب فسفولیپید اسپرم به ویژه محتوای بالای اسیدهای چرب امگا سه در چگالی و یکپارچگی غشای اسپرم دخالت دارد که هر دو به عنوان عامل حیاتی برای باروری اسپرم شناخته می‌شود [۲۴]. همچنین تفاوت در بین پستانداران هم مشاهده شده است که ممکن است به علت تفاوت در نژاد یا نوع جیره‌ی غذایی باشد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تغذیه CLA هیچگونه تاثیر معنی‌داری روی زنده‌مانی اسپرم نداشته است. در پژوهشی در گاو هلشتاین تغذیه شده با جیره مکمل شده با CLA نیز هیچ تاثیر معنی‌داری روی زنده‌مانی مشاهده نشد [۸]. در مطالعه‌ای دیگر در گاو هلشتاین تغذیه شده با روغن ماهی مشاهده شد که پس از گذشت ۹ هفته از دوره آزمایش، زنده مانی در اسپرم بهبود یافت [۹]. علت متفاوت بودن این نتایج را می‌توان به علت تفاوت گونه‌ای یا تفاوت در نوع اسیدچرب تغذیه شده باشد. نتایج این پژوهش نشان داد که تغذیه CLA هیچگونه تاثیر معنی‌داری بر پراکسیداسیون لیپیدی نداشت. همسو با نتایج ما در مطالعه‌ای در گاو هلشتاین تغذیه شده با جیره CLA نشان داد که این ماده تاثیر معنی‌داری در غلظت مالون دی آلدهید نداشته است [۸]. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که زمان و اثر متقابل تیمار در زمان اثر معنی‌داری بر وزن بدن داشته است ولی اثر تیمار معنی‌دار نبوده است. در پژوهشی روی خرگوش تغذیه شده CLA ، رشد خرگوش نر نسبتا افزایش یافته است [۲۴]. نتایج این آزمایش نشان می‌دهد CLA تاثیر معنی‌داری بر باروری و جوجه درآوری نداشته است. در مطالعه‌ای که روی خرگوش تغذیه شده با CLA انجام شد در دوزهای بالای آن، تولید مثل نر تحت تاثیر منفی قرار گرفت که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد [۲۴].

نتیجه‌گیری

در این پژوهش CLA تاثیر کمی بر فراسنجه‌های اسپرم گذاشت و پژوهش‌های محدود در گونه‌های دیگر هم نتایج مبهمی در برداشته است. با توجه به نتایج بدست آمده در این مطالعه پیشنهاد می‌شود CLA در مایع منی و تاثیرات آن در بافت شناسی بیضه مورد ارزیابی قرار گیرد.

ملاحظات مالی

پژوهش حاضر با حمایت مالی دانشگاه تهران صورت گرفته است.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

نقش نویسندگان

ر.ظ.ی: انجام مطالعه و نگارش؛ م.ژ: ایده، طراحی، نظارت بر حسن اجرای مطالعه؛ آ.ت: مشاوره در انجام بخش عملی؛ م.ز: مشاوره در انجام بخش عملی.

فهرست منابع

[1] Borghei-Rad SM, Zeinoaldini S, Zhandi M, Moravej H, Ansari M, Feeding rosmary leaves powder ameliorates roodter age-related subfertility. ***Theriogenology*** 101 (2017) 35-43.

[2] Leeson S, Summers JD, Broiler breeder production. Nottingham University Press, 2010: 338.

[3] Roodbari AR, Towhidi A, Zhandi M, Rezayazdi K, Mianji GR, Dirandeh E, Colazo MG, Effect of conjugated linoleic acid supplementation during the transition period on plasma metabolites and productive and reproductive performances in dairy cows. ***Anim Feed Sci Technol***, 219 (2016) 294-303.

[4] Fujihara N, Howarth Jr B, Lipid peroxidation in fowl spermatozoa. ***Poult Sci***, 57(1987) 1766-1768.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2024-07-16]

[5] Hammerstedt RH, Maintenance of bioenrgetic balance in sperm and prevention of lipid peroxidation: a review of the effect on design of storage preservation systems. ***Reprod Fertil Dev*** 5(1993) 675-690.
[6] Conquer JA, Martin JB, Tummon I, Watson L, Tekpetey F, Fatty acid analysis of blood serum, seminal plasma, and spermatozoa of normozoospermic vs. asthenozoospermic males. ***Lipids*** 34 (1999) 793-799.
[7] Tapeh RS, Zhandi M, Zaghari M, Akhlaghi A, Effects of guanidinoacetic acid diet supplementation on semen quality and fertility of broiler breeder roosters. ***Theriogenology*** 89 (2017) 178-182.
[8] Karimi R, Towhidi A, Zeinoaldini S, Rezayazdi K, Mousavi M, Safari H, Martinez- Pastor F, Effects of supplemental conjugated linoleic acids (CLA) on fresh and post-thaw sperm quality of Holstein bulls. ***Reprod Domest Anim*** 52 (2017) 459-467.
[9] Khoshvaght A, Towhidi A, Zare-shahneh A, Noruozi M, Zhandi M, Davachi ND, Karimi R, Dietary n-3 PUFAs improve fresh and post-thaw semen quality in Holstein bulls via alteration of sperm fatty acid composition. ***Theriogenology*** 85 (2016) 807-812.
[10] Dolatpanah MB, Towhidi A, Farshad A, Rashidi A, Rezayazdi A, Effects of dietary fish oil on semen quality of goats. ***Asian-Australas J Anim Sci*** 21 (2008) 29-34.
[11] Stubbs CD, Smith AD, The modification of mammalian membrane polyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function. ***Biochim Biophys Acta*** 779 (1984) 89-137.
[12] Harris MA, Baumgard LH, Arns MJ, Webel SK, Stallion spermatozoa membrane phospholipid dynamics following dietary n-3 supplementation. ***Anim Reprod Sci*** 89 (2005) 234-237.
[13] Brinsko SP, Varner DD, Love CC, Blanchard TL, Day BC, Wilson ME, Effect of feeding a DHA-enriched nutraceutical on the quality of fresh, cooled and frozen stallion semen. ***Theriogenology*** 63 (2005) 1519-1527.
[14] Guthrie HD, Welch GR, Long JA, Mitochondrial function and reactive oxygen species action in relation to boar motility. ***Theriogenology*** 70 (2008) 1209-1215.
[15] Poulos A, Darin-Bennett A, White IG, The phospholipid-bound fatty acids and aldehydes of mammalian spermatozoa. ***Comp Biochem Physiol B*** 46 (1973) 541-549.
[16] Rooke JA, Shao CC, Speake BK, Effects of feeding tuna oil on the lipid composition of pig spermatozoa and in vitro characteristics of semen. ***Reproduction*** 121 (2001) 315-322.
[17] Maldjian A, Pizzi F, Gliozzi T, Cerolini S, Penny P, Noble R, Changes in sperm quality and lipid composition during cryopreservation of boar semen. ***Theriogenology*** 63 (2005) 411-421.
[18] Castellano CA, Audet I, Bailey JL, Chouinard PY, Laforest JP, Matte JJ, Effect of dietary n-3 fatty acids (fish oils) on boar reproduction and semen quality. ***J Anim Sci*** 88(2010) 2346-2355.
[19] Smith LB, Walker WH, The regulation of spermatogenesis by androgens. ***Semin Cell Dev Biol*** 30 (2014) 2-13.
[20] Sutovsky P, Terada Y, Schatten G, Ubiquitin-based sperm assay for the diagnosis of male factor infertility. ***Hum Reprod*** 16 (2001) 250-258.
[21] Tang WH, Jiang H, Ma LL, Hong K, Zhong Q, Yang CS, Zhao LM, Liu DF, Mao JM, Yang Y, Chen Q, Yuan RP, Zhang X, Li B, Wei N, Relationship of sperm morphology with reproductive hormone levels in infertile men. ***Zhonghua Nan Ke Xue*** 18 (2012) 243-247.
[22] Da Rocha AA, Da Cunha ICN, Ederli BB, Albernaz AP, Quirino CR, Effect of daily food supplementation with essential fatty acids on canine semen quality. ***Reprod Domest Anim*** 44 (2009) 313-315.
[23] Conquer JA, Martin JB, Tummon I, Watson L, Tekpetey F, Effect of DHA supplementation on DHA status and sperm motility in asthenozoospermic males. ***Lipids*** 35 (2000) 149-154.
[24] Abdelatty AM, Badr OAM, Mohamed SA, Khattab MS, Dessouki SM, Farid OAA, Elolimy AA, Sakr OG, Elhady MA, Mehesen G, Bionaz M, Long term conjugated linoleic acid supplementation modestly improved growth performance but induced testicular tissue apoptosis and reduced sperm quality in male rabbit. ***PLoS One*** 15 (2020) e0226070.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2024-07-16]

Research paper

Evaluation of semen quality and fertility in male broiler breedert fed conjugated linoleic acid

Razieh Zerafatkar Yeganeh, Mahdi Zhandi*, Armin Towhidi, Mojtaba Zaghari

Department of Animal Science, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Received: 14 March 2021 Accepted: 29 June 2021

Abstract

Background and aims: Various studies have shown that the use of conjugated linoleic acid (CLA) can alter the reproductive process in different animals. Therefore, the aim of this study was to study the effect of conjugated linoleic acid on some qualitative parameters of sperm and fertility in roosters.

Methods: Thirty-two roosters with 59 week age, were randomly divided into four group (eight roosters in each group) and transferred to individual cages. All experimental groups were given the same basic diet and different levels of conjugated linoleic acid: treatment 1 (0 gr per day per rooster), treatment 2 (0.2 gr per day per rooster), treatment 3 (4 0.0 gr per day per rooster) and treatment 4 (0.6 gr per day per rooster) were given as capsules. The experiment was continued for 9 week after 2 week of habituation. Sperm quality parameters including: semen volume, total motility, progressive motility, semen concentration, percentage of abnormal sperm, percentage of live sperm, active membrane sperm and malondialdehyde concentration were evaluated weekly. During two weeks, semen was collected to assess fertility and hatching rates and inoculated into 68 broiler breeder chicken (17 birds in each group).

Results: CLA did not have a significant effect on sperm parameters and body weight ($p > 0.05$). The effect of test time on all sperm parameters except seminal volume was significant. Also, the interaction effect between treatment and time was significant on sperm concentration, semen total motility, sperm membrane activity and body weight but was not significant on other parameters ($p > 0.05$). Fertility results show that different levels CLA did not have a significant effect on fertility and hatching.

Conclusion: Our results indicate that different levels of conjugated linoleic acids have no beneficial effects on the quality of fresh sperm in broiler breeder flocks.

Keywords: Sperm, Conjugated linoleic acid, Fertility, Semen quality

Please cite this article as follows:

Zerafatkar Yeganeh R, Zhandi M, Towhidi A, Zaghari M, Prevalence of common complications of Therapeutic Plasma Exchange in patients admitted to Neurology ward of Shahid Faghihi and Namazi hospitals in 2018-2019. ***Iran J Physiol Pharmacol*** 4 (2020) 131-140.

*Corresponding author: mzhandi@ut.ac.ir (ORCID ID: 0000-0003-2886-9747)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2024-07-16]