Archive of SID

تولیدات دامی
دوره ۱۸ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۵
صفحه‌های ۴۰۸-۳۹۷

تأثیر آلبومین سرم گاوی (BSA) بر فراسنجه‌های جنبایی اسپرم و باروری خروس بومی

صالح طباطبائی وکیلی[1*]، مرتضی ممویی[2]

۱. دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز، ایران
۲. استاد گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز، ایران

تاریخ وصول مقاله:۱۳۹۴/۰۱/۲۰ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۷/۱۰

چکیده

هدف از انجام تحقیق حاضر، بررسی اثر آلبومین سرم گاوی (BSA) بر تحرک و باروری اسپرم خروس با استفاده از ۲۰ قطعه خروس و ۴۸ قطعه مرغ بومی بود. منی جمع‌آوری شده از خروس‌ها با هم مخلوط شدند. برای آزمایش اول، منی مخلوط پس از رقیق‌سازی به چهار قسمت تقسیم شد. تیمارها عبارت بودند از منی رقیق شده بدون BSA و دارای یک درصد BSA. در هر گروه، ارزیابی تحرک اسپرم طی ۳۰ دقیق پس از اسپرم‌گیری و ۲۴ ساعت پس از نگهداری منی در دمای چهار درجه سلسیوس انجام شد. ارزیابی فراسنجه‌های تحرک اسپرم‌ها با روش کامپیوتری (کاسا) و میکروسکوپی (روش معمول) انجام گرفت. برای آزمایش دوم، مرغ‌ها به چهار گروه با ۱۲ قطعه مرغ در هر گروه تقسیم شدند و منی رقیق شده تازه بدون BSA و دارای یک درصد BSA و نیز منی رقیق ذخیره شده ۲۴ ساعته بدون BSA و حاوی یک درصد BSA را با تلقیح مصنوعی دریافت کردند. پس از انکوباسیون تخم‌مرغ‌ها، میزان تخم‌های بارور در هر تیمار ثبت شد. سطح یک درصد BSA تأثیری بر تحرک اسپرم و باروری آن در منی تازه نداشت، اما ۲۴ ساعت پس از نگهداری منی به حالت مایع، BSA باعث حفظ تحرک (۷۱/۵۰ در مقابل ۲۸/۶۲ درصد) و باروری (۶۱/۴۴ در مقابل ۳۴/۴۳ درصد) اسپرم‌ها شد (P<۰/۰۵). براساس نتایج حاصل، افزودن BSA به منی رقیق شده، تحرک و باروری اسپرم خروس بومی را پس از ۲۴ ساعت نگهداری در دمای چهار درجه سلسیوس بهبود بخشید.

کلیدواژه‌ها: آلبومین سرم گاوی، باروری، تلقیح مصنوعی، تولیدمثل، خروس بومی

* نویسنده مسئول Email: tabatabaei@ramin.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

تلقیح مصنوعی می‌تواند به‌عنوان بخشی از نظام بسیار پیچیده و مؤثر مدیریت، درجهت به حداکثر رساندن توانایی تولیدمثلی در مرغان مادر گوشتی به‌حساب آید. با این وجود، به دلیل پیچیدگی فنی برای هدایت یک برنامه تلقیح مصنوعی مؤثر و نیز هزینه‌بر بودن آن، کاربرد این فناوری در پرندگان محدود می‌باشد. عدم توانایی روش‌های نگهداری فعلی برای حفظ قدرت باروری اسپرم در مایع منی ذخیره شده به حالت مایع یا منجمد، از دیگر عوامل محدودکننده به‌شمار می‌رود [۲]. به منظور به‌دست آوردن نتایج مناسب در عمل تلقیح مصنوعی طیور، اطمینان از کیفیت خوب منی ضروری است [۲۳]. باتوجه به پیشرفت‌های اخیر در اسپرم‌گیری و تکنیک تلقیح مصنوعی پرندگان، به نظر می‌رسد حفظ کیفیت اسپرم‌ها تا زمان تلقیح به مرغ‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار باشد. درک بیشتر روش‌های نگهداری منی، شرایط مناسب برای حفظ آن به مدت ۲۴ ساعت بدون کاهش در باروری را فراهم نموده است. این امر برای مراکز پرورش مرغان مادر گوشتی که در فاصله‌ای کمتر از ۲۴ ساعت از مراکز تهیه منی قرار دارند، می‌تواند بسیار مفید و اقتصادی باشد. در این صورت، به جای حمل خروس‌ها و هزینه پرورش آن‌ها می‌توان تنها به حمل مایع منی اکتفا نمود [۳].

آلبومین سرم گاوی (BSA) پروتئینی است که در سرم خون گاوها یافت می‌شود. آلبومین سرم گاوی می‌تواند میزان تحرک اسپرم‌ها را در رقیق‌کننده‌های حاوی این پروتئین افزایش دهد. آلبومین به عنوان جانشین زرده تخم‌مرغ می‌تواند در زمان سرد کردن و ذخیره منی با حفاظت از غشای اسپرم از آسیب سلولی جلوگیری کرده و تحرک اسپرم را بهبود بخشد [۱۹]. آلبومین سرم گاوی توانایی ورود به غشای پلاسمایی اسپرم را دارد که ممکن است بر فعالیت اسپرم تأثیرگذار باشد [۷]. یکی از مهمترین خصوصیات آلبومین سرم گاوی این است که به عنوان حذف‌کننده یا مهارکننده رادیکال‌های آزاد تولید شده توسط واکنش اکسیژنی و واکنش‌های اکسیداتیوی فعالیت می‌نماید و باعث افزایش استحکام غشای سلول‌های اسپرمی از پرکسیداسیون لیپیدی و تنش حرارتی در طول نگهداری منی تحت شرایط سرمایی می‌شود [۱۷]. آلبومین به عنوان پروتئین کوچک موجود در مایع منی و با عمل جاروب‌گری خود، یون‌های فلزی عامل پیشرفت و گسترش واکنش‌های پراکسیداسیون سلولی را جذب و حذف می‌نماید [۲۱]. به‌طورکلی، تحقیقات در زمینه استفاده از آلبومین سرم گاوی در منی پرندگان در مقایسه با پستانداران محدود می‌باشد. آلبومین تخم‌مرغ باعث افزایش تحرک و باروری اسپرم خروس می‌شود [۱۰]. آلبومین سرم میزان تحرک اسپرم خروس را افزایش می‌دهد. این اثر پس از ۲۴ ساعت نگهداری منی به حالت مایع، نیز مشاهده می‌شود [۹]. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر آلبومین سرم گاوی (BSA) بر تحرک و باروری اسپرم خروس بومی قبل و بعد از نگهداری ۲۴ ساعته در دمای چهار درجه سلسیوس بود.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۰ قطعه خروس بومی خوزستان و ۴۸ قطعه مرغ بومی خوزستان با متوسط سن ۲۵ هفتگی و وزن دو کیلوگرم برای مرغ‌ها و ۲/۵ کیلوگرم در خروس‌ها از مرکز تکثیر و پرورش مرغ بومی جهاد کشاورزی استان خوزستان تهیه شدند. روش نگهداری پرندگان سیستم قفس بوده و در مدت آزمایش، مرغ‌ها جدا از خروس‌ها نگهداری شدند. ترکیبات مواد غذایی پرندگان در جدول ۱ آمده است. پرندگان تحت برنامه نوری ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی قرار گرفتند. دمای سالن‌ها در حدود ۲۱ درجه سلسیوس با رطوبت نسبی تقریباً ۶۰ درصد حفظ

www.SID.ir

Archive of SID

شـد. از خـروس‌هـا بـه‌طریـق مـالش پشـتی - شـکمی اسپرم‌گیری شـد [۱۸]. در کلیـه مراحـل جمع‌آوری منـی، ارزیابی منی و تلقیح مصنوعی، دمای محیط و وسایلی که با منی در تماس بودند در حدود ۱۰ تا ۱۵ درجـه سلسـیوس که دمای بهینه برای فعالیت اسپرم پرندگان می‌باشد، حفظ - شد [۱]. منی اخذ شـده از تمـام خـروس‌هـا در یـک لولـه آزمایش جمع‌آوری شده و به خوبی با هم مخلوط شدند.

جدول ۱. اجزای تشکیل‌دهنده و مواد مغذی جیره‌های مورد استفاده پرندگان

مواد خوراکی (درصد)	خروس	مرغ
ذرت	۵۷/۸۰	۵۸/۸۵
کنجاله سویا	۱۱/۲۴	۲۴/۲۹
سبوس گندم	۶/۷۰	–
سبوس جو	۲۰/۰۰	۶/۹۸
صدف	۲/۱۲	۷/۲۵
دی‌کلسیم فسفات	۱/۳۵	۱/۷۲
نمک	۰/۳۴	۰/۳۴
دی ال- متیونین	۰/۰۲	۰/۰۷
مکمل ویتامینی[۱]	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل مواد معدنی[۱]	۰/۲۵	۰/۲۵
مقدار مواد مغذی محاسبه شده		
انرژی قابل متابولیسم (Kcal/Kg)	۲۸۰۰	۲۷۰۰
پروتئین خام (درصد)	۱۳/۰۰	۱۶/۵۰
متیونین + سیستئین (درصد)	۰/۴۸	۰/۶۲
لیزین (درصد)	۰/۵۷	۰/۸۳
آرژنین (درصد)	۰/۹۶	۰/۹۶
کلسیم (درصد)	۱/۰۰	۳/۰۱
فسفر قابل دسترس (درصد)	۰/۳۵	۰/۴۰
کلر (درصد)	۰/۲۱	۰/۲۱
سدیم (درصد)	۰/۱۶	۰/۱۵
لینولئیک اسید (درصد)	۱/۵۰	۱/۴۵

۱ - جیره به ازای هر کیلوگرم حاوی: ویتامین A ۱۱۰۰۰ واحد بین‌المللی، کوله کلسیفرول ۲۳۰۰ واحد بین‌المللی، ویتـامین E ۱۲۱ واحـد بـین‌المللـی، ویتامین K3 دو میلی‌گرم، ویتامین B12 ۰/۰۲ میلی‌گرم، تیامین چهار میلی‌گرم، ریبوفلاوین ۴۰ میلی‌گرم، اسید فولیک ۰/۷۵ میلی‌گرم، D-بیوتین ۰/۰۷۵ میلی‌گرم، پیرودوکسین چهار میلی‌گرم، کولین کلراید ۸۴۰ میلی‌گرم، اتوکسی کوئین ۰/۱۲۵ میلی‌گرم، منگنز ۱۰۰ میلی‌گرم، آهن ۸۰ میلی‌گـرم، روی ۶۰ میلی‌گرم، مس هشت میلی‌گرم، ید ۰/۵ میلی‌گرم، کبالت ۰/۲ میلی‌گرم و سلنیوم ۰/۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

جهت بررسی تأثیر آلبومین سرم گاوی بر فراسنجه‌های جنبایی اسپرم قبل و بعد از نگهداری منی در دمای چهار درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت، به منی مخلوط شده خروس‌ها، محلول رینگر اصلاح شده به نسبت یک قسمت منی و ۲۰۰ قسمت رقیق‌کننده، افزوده و منی رقیق شده به چهار گروه در لوله‌های آزمایش تقسیم شدند. رقیق‌کننده رینگر اصلاح شده شامل کلرید سدیم (۶/۸ گرم)، کلرید پتاسیم (۱/۷۳ گرم)، کلریدکلسیم (۰/۶۴ گرم)، سولفات منیزیم (۰/۲۵ گرم)، بی‌کربنات سدیم (۲/۴۵ گرم) و آب مقطر (یک لیتر) بود [۲۳]. گروه‌های اول و دوم (بدون آلبومین سرم گاوی) به ترتیب ۳۰ دقیقه پس از اسپرم‌گیری و ۲۴ ساعت پس از نگهداری منی در دمای چهار درجه سلسیوس از نظر میزان تحرک اسپرم بررسی شدند. به گروه‌های سوم و چهارم یک درصد آلبومین سرم گاوی [V] (وزنی حجمی) ساخت شرکت سیگما آلدریچ، فرکسیون V (کد محصول ۸-۴۶-۹۰۴۸) افزوده شد و به ترتیب ۳۰ دقیقه پس از اسپرم‌گیری و پس از ۲۴ ساعت نگهداری در دمای چهار درجه سلسیوس مورد ارزیابی میزان تحرک اسپرم قرار گرفتند.

فراسنجه‌های تحرک اسپرم نظیر: سرعت میانگین حرکت اسپرم‌ها (Average pass velocity; VAP)، سرعت حرکت مستقیم اسپرم‌ها (Velocity of straight line; VSL) ، سرعت اسپرم‌ها در مسیرهای واقعی طی شده (Curvilinear velocity; VCL)، دامنه نوسانات حرکت اسپرم‌ها (Lateral amplitude; ALH) ، فرکانس نوسانات اسپرم‌ها (Beat frequency; BCF)، درصد مستقیم‌الخط بودن حرکت اسپرم‌ها (Strightness; STR) و درصد خطی بودن حرکت اسپرم‌ها (Linearity; LIN) به صورت انفرادی به کمک دستگاه آنالیز اسپرم با کامپیوتر (CASA) ساخت کشور روسیه (Test Sperm 1.2; Video Test T) اندازه‌گیری شد [۲۴].

تحرک پیشرونده اسپرم‌ها به صورت گروهی به روش معمول چشمی به کمک میکروسکوپ نوری با چهار تکرار بررسی شد. این آزمایش به طور هفتگی و به مدت چهار هفته انجام شد. در بخش دوم آزمایش، تأثیر BSA بر قدرت باروری اسپرم خروس بومی قبل و بعد از نگهداری ۲۴ ساعته منی رقیق شده در دمای چهار درجه سلسیوس مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور، تعداد ۴۸ قطعه مرغ بومی در چهار تیمار و ۱۲ قطعه مرغ در هر تیمار با متوسط تولید تخم‌مرغ ۷۵ درصد به‌کار رفت. نمونه‌های منی مخلوط خروس‌ها با محلول رینگر اصلاح شده به نسبت یک به سه رقیق شدند. مرغ‌های گروه اول و دوم به ترتیب پس از ۳۰ دقیقه و ۲۴ ساعت از اسپرم‌گیری مورد تلقیح با منی رقیق شده بدون آلبومین سرم گاوی قرار گرفتند. مرغ‌های گروه سوم و چهارم نیز به ترتیب پس از ۳۰ دقیقه و ۲۴ ساعت از اسپرم‌گیری مورد تلقیح با منی رقیق شده حاوی یک درصد آلبومین سرم گاوی قرار گرفتند. حجم منی تلقیحی به تمام مرغ‌ها ۰/۱ میلی‌لیتر بود. تلقیح مصنوعی مرغ‌ها به طور هفتگی به مدت چهار هفته ادامه یافت. تخم‌مرغ‌ها از روز دوم پس از اولین تلقیح روزانه جمع‌آوری شد و تا هفت روز پس از آخرین تلقیح ادامه یافت. تخم‌مرغ‌های جمع‌آوری شده به دستگاه جوجه‌کشی منتقل شدند. یک هفته پس از انکوباسیون تخم‌ها در بخش ستر دستگاه با دمای ۳۷/۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۵ درصد و سیستم چرخان اتوماتیکی، عمل کندلینگ تخم‌ها انجام و نطفه‌دار یا بی-نطفه‌دار بودن آن‌ها تعیین شد.

www.SID.ir

Archive of SID

مقایسه داده‌ها در بین تیمارهای BSA و بدون BSA در هر زمان با استفاده از برنامه نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۶) برای مدل ۱ تجزیه و میانگین‌ها به کمک آزمون t نمونه‌های مستقل مقایسه شدند:

رابطه (۱) $Y_{ij} = \mu + a_i + e_{ij}$

در این رابطه، Y_{ij} میزان صفت اندازه‌گیری شده، μ میانگین صفت در جامعه موردنظر، a_i اثر تیمار و e_{ij} اثر خطای آزمایشی است.

نتایج و بحث

تأثیر آلبومین سرم گاوی بر میزان تحرک پیشرونده اسپرم‌های خروس بومی در جدول ۲ ارائه شده است. درصد تحرک پیشرونده اسپرم ۳۰ دقیقه پس از اسپرم‌گیری در تیمار دارای یک درصد آلبومین سرم گاوی، با شاهد تفاوت نداشت، اما ۲۴ ساعت پس از نگهداری منی تحت دمای چهار درجه سلسیوس، درصد تحرک اسپرم در تیمار حاوی یک درصد آلبومین سرم گاوی از سایر تیمارها بیشتر بود ($P<۰/۰۵$).

جدول ۲. تأثیر آلبومین سرم گاوی (BSA) بر درصد جنبایی پیشرونده اسپرم خروس بومی* قبل و بعد از نگهداری ۲۴ ساعته منی در دمای چهار درجه سلسیوس (± خطای معیار)

صفت	رقیق‌کننده بدون **BSA**	رقیق‌کننده حاوی یک درصد **BSA**
درصد تحرک پیشرونده اسپرم ۳۰ دقیقه پس از اسپرم‌گیری	^{a}۸۲/۲۴ ± ۴/۳۷	^{a}۸۴/۱۵ ± ۵/۶۱
درصد تحرک پیشرونده اسپرم ۲۴ ساعت پس از اسپرم‌گیری	^{b}۲۸/۶۲ ± ۶/۱۲	^{a}۷۱/۵۰ ± ۵/۹۲

a-b – تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ردیف معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).

* – ارزیابی به روش چشمی توسط میکروسکوپ نوری

میزان انواع فراسنجه‌های حرکتی اسپرم‌های خروس بومی ثبت شده با استفاده از دستگاه آنالیز اسپرم با کامپیوتر (کاسا) طی ۳۰ دقیقه پس از اسپرم‌گیری و نگهداری ۲۴ ساعته منی در دمای چهار درجه سلسیوس در جداول ۳ و ۴ ارائه شده است. اثر آلبومین سرم گاوی بر فراسنجه‌های اسپرم ۳۰ دقیقه پس از اسپرم‌گیری معنی‌دار نبود. پس از ۲۴ ساعت از نگهداری منی تحت دمای چهار درجه سلسیوس، آلبومین سرم گاوی باعث بهبود معنی‌دار اغلب فراسنجه‌های حرکتی اسپرم نسبت به شاهد شد ($P<۰/۰۵$).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳. تأثیر آلبومین سرم گاوی بر میزان انواع فراسنجه‌های جنبایی اسپرم‌های خروس بومی ۳۰ دقیقه پس از اسپرم‌گیری (± خطای معیار)

* کلاس حرکتی اسپرم	نمونه منی	فراسنجه‌های حرکتی اسپرم						
		VAP (µm/s)	VSL (µm/s)	VCL (µm/s)	ALH (µm)	BCF (Hz)	STR (%)	LIN (%)
A	بدون BSA	۸۶/۱۲ ± ۳/۱۹	۷۹/۴۴ ± ۴/۶۵	۱۲۵/۳۴ ± ۷/۵۴	۳/۱۸ ± ۰/۸۳	۱۱/۱۰ ± ۲/۰۷	۸۸/۵۸ ± ۳/۷۱	۵۱/۳۸ ± ۳/۶۵
	دارای یک درصد BSA	۸۴/۸۵ ± ۲/۸۰	۸۰/۶۷ ± ۴/۳۸	۱۲۲/۲۶ ± ۸/۳۲	۳/۳۱ ± ۰/۷۱	۱۱/۴۷ ± ۱/۸۸	۸۷/۳۰ ± ۳/۵۸	۵۰/۶۱ ± ۳/۸۳
B	بدون BSA	۴۱/۶۳ ± ۲/۴۵	۲۷/۳۱ ± ۲/۸۰	۷۲/۱۳ ± ۳/۲۶	۳/۸۶ ± ۱/۰۵	۱۰/۶۳ ± ۱/۹۰	۶۲/۱۱ ± ۲/۶۸	۳۷/۲۰ ± ۳/۰۶
	دارای یک درصد BSA	۴۲/۳۲ ± ۲/۵۲	۲۸/۵۳ ± ۳/۱۱	۷۱/۴۲ ± ۲/۸۹	۳/۷۸ ± ۱/۱۸	۱۱/۰۸ ± ۱/۷۹	۶۰/۲۲ ± ۲/۸۰	۳۸/۹۴ ± ۳/۴۹
C	بدون BSA	۱۷/۰۶ ± ۳/۱۸	۸/۷۴ ± ۱/۶۰	۶۶/۳۰ ± ۵/۱۱	۵/۵۰ ± ۱/۲۴	۱۰/۰۹ ± ۱/۶۳	۵۸/۴۲ ± ۲/۶۷	۱۴/۳۶ ± ۱/۷۲
	دارای یک درصد BSA	۱۵/۹۰ ± ۳/۷۶	۹/۱۳ ± ۲/۰۳	۶۸/۱۱ ± ۶/۲۰	۵/۶۳ ± ۱/۳۰	۹/۸۱ ± ۱/۲۰	۵۹/۳۸ ± ۲/۸۱	۱۴/۸۶ ± ۲/۰۶
D	بدون BSA	۴/۶۲ ± ۱/۳۱	۱/۷۰ ± ۰/۴۹	۲۶/۲۲ ± ۳/۷۷	۱/۷۲ ± ۰/۲۱	۱۲/۳۰ ± ۰/۹۵	۳۵/۱۸ ± ۱/۸۶	۷/۱۳ ± ۰/۸۸
	دارای یک درصد BSA	۴/۰۷ ± ۱/۴۵	۱/۵۹ ± ۰/۶۰	۲۵/۱۳ ± ۳/۶۱	۱/۶۶ ± ۰/۲۸	۱۲/۵۲ ± ۱/۰۳	۳۴/۷۹ ± ۲/۰۴	۷/۴۸ ± ۰/۷۵

* – کلاس A: اسپرم‌های با حرکت رو به جلوی سریع (درجه ۴)، کلاس B: اسپرم‌های با حرکت رو به جلوی آهسته (درجه ۳)، کلاس C: اسپرم‌های دارای حرکت ولی نه رو به جلو (درجه ۲) و کلاس D: اسپرم‌های بدون حرکت یا با حرکت نوسانی درجا (درجه ۱)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴. تأثیر آلبومین سرم گاوی بر میزان انواع فراسنجه‌های جنبایی اسپرم‌های خروس بومی بعد از نگهداری ۲۴ ساعته منی در دمای چهار درجه سلسیوس (± خطای معیار)

کلاس حرکتی اسپرم	نمونه منی	فراسنجه‌های حرکتی اسپرم							
		VAP (µm/s)	VSL (µm/s)	VCL (µm/s)	ALH (µm)	BCF (Hz)	STR (%)	LIN (%)
A	بدون BSA	۵۰/۴۴ ± ۴/۸۳^{b}	۴۵/۶۳ ± ۳/۸۱^{b}	۷۳/۲۶ ± ۴/۲۲^{b}	۱/۵۷ ± ۰/۲۴^{b}	۴/۶۷ ± ۰/۸۶^{b}	۸۸/۵۸ ± ۳/۷۱	۵۱/۳۸ ± ۳/۶۵
	دارای یک درصد BSA	۷۲/۱۷ ± ۵/۶۹^{a}	۶۴/۷۱ ± ۳/۵۹^{a}	۱۰۱/۱۸ ± ۶/۹۰^{a}	۲/۶۳ ± ۰/۱۹^{a}	۸/۳۸ ± ۱/۱۴^{a}	۸۷/۳۰ ± ۳/۵۸	۵۰/۶۱ ± ۳/۸۳
B	بدون BSA	۲۷/۶۱ ± ۲/۱۴^{b}	۱۷/۱۹ ± ۱/۵۱^{b}	۴۰/۰۸ ± ۲/۲۳^{b}	۱/۵۵ ± ۰/۱۶^{b}	۱۰/۶۳ ± ۱/۹۰	۶۲/۱۱ ± ۲/۶۸	۳۷/۲۰ ± ۳/۰۶
	دارای یک درصد BSA	^{a}۴۰/۷۲ ± ۳/۰۶	۲۶/۶۶ ± ۲/۳۸^{a}	۵۹/۱۹ ± ۱/۴۵^{a}	۲/۸۹ ± ۰/۲۰^{a}	۱۱/۰۸ ± ۱/۷۹	۶۰/۲۲ ± ۲/۸۰	۳۸/۹۴ ± ۳/۴۹
C	بدون BSA	۹/۱۸ ± ۱/۶۷^{b}	۵/۱۰ ± ۰/۴۷^{b}	۳۴/۱۲ ± ۳/۶۰^{b}	۲/۱۴ ± ۰/۱۸^{b}	۱۰/۰۹ ± ۱/۶۳	۵۸/۴۲ ± ۲/۶۷	۱۴/۳۶ ± ۱/۷۲
	دارای یک درصد BSA	۱۶/۶۳ ± ۲/۵۲^{a}	۸/۷۲ ± ۱/۰۳^{a}	۵۲/۴۷ ± ۴/۰۹^{a}	۳/۸۹ ± ۰/۵۱^{a}	۹/۸۱ ± ۱/۲۰	۵۹/۳۸ ± ۲/۸۱	۱۴/۸۶ ± ۲/۰۶
D	بدون BSA	۱/۳۴ ± ۰/۲۷^{b}	۰/۶۱ ± ۰/۱۸^{b}	۱۰/۴۲ ± ۲/۱۵^{b}	۰/۵۳ ± ۰/۰۶^{b}	۱۲/۳۰ ± ۰/۹۵	۳۵/۱۸ ± ۱/۸۶	۷/۱۳ ± ۰/۸۸
	دارای یک درصد BSA	۳/۷۷ ± ۰/۴۸^{a}	۱/۱۳ ± ۰/۲۹^{a}	۲۳/۱۳ ± ۳/۲۹^{a}	۰/۹۴ ± ۰/۱۱^{a}	۱۲/۵۲ ± ۱/۰۳	۳۴/۷۹ ± ۲/۰۴	۷/۴۸ ± ۰/۷۵

a-b: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ردیف معنی‌دار است ($P<0/05$).

* کلاس A: اسپرم‌های با حرکت رو به جلوی آهسته (درجه ۳)، کلاس B: اسپرم‌های با حرکت رو به جلوی سریع (درجه ۴)، کلاس C: اسپرم‌های دارای حرکت ولی نه رو به جلو (درجه ۲) و کلاس D: اسپرم‌های بدون حرکت یا با حرکت نوسانی درجا (درجه ۱)

www.SID.ir

Archive of SID

در تلقیح منی تازه (۳۰ دقیقه پس از اسپرم‌گیری)، افزودن آلبومین سرم گاوی تأثیر معنی‌داری بر درصد باروری تخم‌مرغ‌ها در مقایسه با گروه شاهد (بدون آلبومین سرم گاوی) نداشت (جدول ۵). با این حال، میزان باروری تخم‌مرغ‌ها در تیمار حاوی BSA به‌طور عددی بیشتر از شاهد بود. ۲۴ ساعت پس از نگهداری منی حاوی یک درصد BSA و تلقیح مصنوعی، درصد باروی تخم‌مرغ‌ها بیشتر از گروه شاهد بدون BSA بود (P<۰/۰۵).

جدول ۵. تأثیر افزودن آلبومین سرم گاوی (BSA) به منی خروس بومی بر میزان باروری تخم‌مرغ‌ها پس از تلقیح مصنوعی مرغان (± خطای معیار)

صفت	رقیق‌کننده بدون BSA	رقیق‌کننده به علاوه یک درصد BSA
درصد تخم‌های بارور در مرغان تلقیح شده با منی تازه	۶۹/۸۶ ± ۶/۲۱[a]	۸۱/۳۴ ± ۶/۸۷[a]
درصد تخم‌های بارور در مرغان تلقیح شده با منی ذخیره شده به مدت ۲۴ ساعت تحت دمای ۴ درجه سلسیوس	۳۴/۴۳ ± ۵/۷۳[b]	۶۱/۴۴ ± ۵/۷۲[a]

a-b: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ردیف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

بنابراین در مطالعه حاضر، BSA باعث بهبود تحرک اسپرم خروس بومی پس از نگهداری منی به صورت مایع شد. تحقیقات بر روی پستانداران مختلف [۱۶، ۱۴] و نیز بوقلمون [۷] نشان داد که افزودن آلبومین سرم گاوی به منی باعث افزایش تحرک اسپرم شد، ولی سازوکار دقیق آن مشخص نیست. البته دلایل احتمالی برای این اثر بیان شده است: زمانی‌که BSA به منی اضافه می‌شود، غشای سلولی اسپرم‌ها را پوشانده و از خاصیت چسبندگی فیزیکی اسپرم‌ها به محیط اطراف جلوگیری می‌شود، درنتیجه با کاهش اصطکاک بین اسپرم و محیط (از جمله لام)، سرعت حرکت پیشرونده اسپرم‌ها افزایش پیدا می‌کند. همچنین پوشیده شدن غشای پلاسمایی سر اسپرم توسط BSA، اثر عوامل مضر محیطی روی سر اسپرم را مهار کرده و قدرت زنده‌مانی اسپرم در محیط آزمایشگاه افزایش پیدا می‌کند [۷]. اضافه کردن آلبومین سرم گاوی به منی قوچ در مرحله قبل انجماد باعث کاهش میزان آسیب وارده به اسپرم‌ها طی روند انجماد شد که با بالا بودن میزان حرکت پیشرونده اسپرم‌ها در مقایسه با گروه کنترل مشخص گردید [۱۹ و ۲۵]. در مقابل، افزودن آلبومین سرم به محیط مخصوص کشت اختصاصی از طریق افزایش فسفریلاسیون پروتئین تایروزین و تحریک واکنش آکروزومی باعث کاهش تحرک اسپرم هامستر پس از انکوباسیون نمونه در ۳۷ درجه سلسیوس شد [۱۳].

افزودن سه میلی‌گرم در میلی‌لیتر آلبومین سرم گاوی در بافر یون فسفات پتاسیم، باعث تحرک رو به جلوی اسپرم اپیدیدیمی خرگوش شده که دلیل جلوگیری از کاهش تحرک به بازدارندگی پراکسیداسیون لیپیدها توسط آلبومین سرم گاوی نسبت داده شده است [۵]. اسپرم‌های جدا شده از اپیدیدیمیس خرگوش وقتی در معرض آلبومین سرم گاوی قرار گرفتند، میزان تحرک آنها نسبت به گروه شاهد بیشتر بود [۱۴]. رقیق‌کننده‌های حاوی آلبومین سرم گاوی بهتر از محیط‌های فاقد آلبومین سرم گاوی باعث بهبود

www.SID.ir

Archive of SID

درصد تحرک و میزان تحرک پیشرونده اسپرم‌های اسب می‌شود [۱۶]. در مقابل، در شرایط آزمایشگاهی نشان داده شده است که آلبومین سرم گاوی با تغییر در ترکیب لیپیدهای غشای سلولی، به‌ویژه با کاهش نسبت کلسترول به فسفولیپید در غشای پلاسمایی اسپرم منجر به نفوذپذیری یون های کلسیم به درون غشای پلاسمایی اسپرم شده و درنتیجه منجر به شروع واکنش آکروزومی و مرگ اسپرم می‌شود [۲۵]. احتمالاً تفاوت‌های موجود در نحوه فرآوری منی حاوی آلبومین سرم گاوی از نظر نوع رقیق‌کننده‌های به‌کار رفته، دما و شرایط انکوباسیون نمونه-ها، میزان آلبومین سرم افزوده شده و حتی گونه جانور مورد تحقیق از جمله دلایل این تناقض باشند. اسپرم‌ها به پراکسیداسیون چربی به دلیل وجود غلظت بالایی از اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه در فسفولیپیدهای غشای آن‌ها حساس می‌باشند. فسفولیپیدها در غشای پلاسمایی اسپرم تحت روند پراکسیداسیون قرار گرفته و گونه‌های اکسیژن آزاد (ROS) و هیدروپراکسیدهای چربی تولید می‌شود [۴].

اسپرم‌ها دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به عنوان سیستم دفاعی در مقابل پراکسیداسیون چربی منی می‌باشند. با این وجود، قدرت آنتی‌اکسیدانی اسپرم‌ها در پیشگیری از پراکسیداسیون چربی ضعیف می‌باشد. براین اساس، افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها به رقیق‌کننده منی قبل از ذخیره آن باعث حفظ کیفیت اسپرم‌ها می‌شود [۲۲]. در پژوهش حاضر، علاوه بر اینکه افزودن یک درصد آلبومین سرم گاوی به منی خروس و ذخیره ۲۴ ساعته آن به حالت مایع در شرایط سرما منجر به بالاتر بودن معنی‌دار فراسنجه‌های حرکتی اسپرم نسبت به گروه شاهد شد، میزان باروری تخم‌مرغ‌ها نیز پس از تلقیح مصنوعی با منی حاوی یک درصد آلبومین سرم گاوی به‌طور چشم‌گیری بیشتر از شاهد بود. چهار میلی‌گرم در میلی‌لیتر آلبومین سرم گاوی در منی اسب موجب کاهش نفوذپذیری غشای تخمک بدون پرده شفاف (زوناپلوسیدا) به اسپرم شد [۱۲]. رقیق‌کننده دارای آلبومین سرم گاوی باعث بهبود درصد اسپرم‌های متحرک طی ۴۸ ساعت از ذخیره منی خرگوش به حالت مایع نشد. اما، اثر معنی‌داری بر حفظ سلامتی غشای پلاسمایی اسپرم و قدرت باروری آن در این مدت داشت [۱۹]. افزودن آلبومین سرم گاوی به منی بز باعث حفظ تحرک اسپرم و سلامتی آکروزوم در روند انجماد منی شد که می‌تواند بر توان باروری آن مؤثر باشد [۲۶]. آلبومین سرم تمایل بالایی در اتصال به سوبستراهای با وزن مولکولی پایین دارد. بنابراین آلبومین علاوه بر حفاظت از غشای پلاسمایی اسپرم و نیز حذف رادیکال‌های آزاد آسیب‌رسان، حفظ ترکیبات مفید در محیط اسپرم را موجب می‌شود [۱۳]. اسپرماتوزوئیدها برای زنده ماندن در طی ذخیره نیاز به عوامل محافظتی علیه رادیکال‌های آزاد تولید شده دارند. پروتئین‌هایی از جمله کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و نیز آلبومین در حذف این رادیکال‌های آزاد تولید شده نقش دارند [۸]. ۳۰ درصد پروتئین‌های منی، آلبومین می‌باشد. آلبومین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان، می‌تواند مانع از پراکسیداسیون لیپیدهای غشای اسپرم شود [۲۱].

سلامتی DNA اسپرم شاخص مهمی در پتانسیل باروری جنس نر محسوب می‌شود. آسیب جدی به DNA ممکن است توسط پراکسیداسیون چربی صورت گیرد. بنابراین، افزودن برخی ترکیبات محافظ‌کننده به رقیق‌کننده، باعث کاهش آسیب DNA در طی ذخیره درازمدت منی می‌شود [۱۱]. آلبومین سرم گاوی در قدرت باروری جنس نر از طریق ظرفیت‌دار کردن اسپرم و آماده‌سازی آن برای لقاح نقش مهمی دارد [۶]. آلبومین سرم گاوی ممکن است خصوصیات میکروسکوپیک و اکسیداتیو اسپرم‌های ذخیره شده گاو نر در سرما را با افزایش فعالیت‌های آنزیمی و

www.SID.ir

Archive of SID

توان آنتی‌اکسیدانی تام حفظ کند که نتیجه آن افزایش توان باروری جنس نر می‌باشد. همچنین، افزودن آلبومین سرم گاوی در رقیق‌کننده منی گاو ویژگی‌های حرکتی اسپرم و زنده‌مانی آن را افزایش داد [۶]. افزودن BSA به منی انسان باعث بهبود زنده‌مانی اسپرم‌ها توسط خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن شد. علاوه بر زنده‌مانی اسپرم، سلامتی DNA اسپرم‌ها نیز در قدرت باروری آن مؤثر است. همبستگی منفی معنی‌داری بین آسیب DNA اسپرم و باروری آن وجود دارد [۲۰]. لیزوزوم که از اسپرم‌های مرده آزاد می‌شود، خود در تخریب غشای پلاسمایی اسپرم‌های دیگر نقش دارد. آنزیم‌های پروتئولیتیک و تجمع اسیدلاکتیک درنتیجه متابولیسم اسپرم‌ها در طی نگهداری منی، اثرات نامطلوبی بر سلامتی غشای اسپرم دارند. زمانی‌که pH منی خیلی اسیدی شود، مابقی اسپرم‌ها نیز تحرک خود را از دست داده و درصد اسپرم‌های مرده افزایش می‌یابد. بر این اساس، افزودن آلبومین به مایع منی می‌تواند اثرات زیادی در حفظ و زنده مانی اسپرم‌ها و افزایش قدرت باروری آن‌ها داشته باشد [۱۵]. در مطالعه‌ای که در خصوص اثر آلبومین سرم گاوی بر تحرک و زنده-مانی اسپرم‌های گاو میش انجام شد، تحرک پیشرونده اسپرم تحت تأثیر تیمار با این پروتئین قرار نگرفت، ولی این ماده باعث حفظ و زنده‌مانی اسپرم‌ها شد که احتمالاً افزایش توان باروری اسپرم‌ها را می‌تواند به دنبال داشته باشد [۳].

به‌طورکلی براساس نتایج این پژوهش، افزودن یک درصد BSA به منی خروس بومی، ضمن افزایش فراسنجه-های تحرک اسپرم، موجب بهبود باروری آن متعاقب تلقیح مصنوعی به مرغان شد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان از بابت همکاری در اجرای پروژه تحقیقاتی حاضر قدردانی به عمل می‌آید.

منابع

۱. استورکی پ د (۱۹۹۳) فیزیولوژی پرندگان. انتشارات واحد آموزش و پژوهش معاونت کشاورزی، سازمان اقتصادی کوثر. ۶۰۰ ص.

۲. بویه م (۱۳۸۳) مبانی اصلاح طیور کاربردی. انتشارات جهاد دانشگاهی، گیلان. صص. ۷۵-۵۵.

3. Akhter SH, Allah Rakha B, Iqbal R and Ansari MS (2014) Effect of bovine serum albumin on motility, plasmalemma, viability and chromatin integrity of buffalo bull spermatozoa. Pakistan Journal of Zoology. 46(1): 115-120.

4. Alvarez JG and Storey BT (2005) Differential incorporation of fatty acids into and peroxidative loss of fatty acids from phospholipids of human spermatozoa. Molecular Reproduction and Development. 42: 334-346.

5. Alvarez JO and Storey BT (1983) Taurine, hypotaunne, epinephrine and albumin inhibit lipid peroxidation in rabbit spermatozoa and protect against loss of motility. Biology of Reproduction. 29: 548-555.

6. Ashrafi I, Kohram H and Tayefi-Nasrabadi H (2013) Antioxidant effects of bovine serum albumin on kinetics, microscopic and oxidative characters of cryopreserved bull spermatozoa. Spanish Journal of Agricultural Research. 11(3): 695-701.

7. Bakst MR and Cecil HC (1992) Effect of bovine serum albumin on motility and fecundity of turkey spermatozoa before and after storage. Journal of Reproduction and Fertility. 94: 287-293.

www.SID.ir

Archive of SID

8. Ball BA (2008) Oxidative stress, osmotic stress and apoptosis: impacts on sperm function and preservation in the horse. Animal Reproduction Science. 107(3-4): 257-267.

9. Blesbois E and Caffin JP (1992) Serum like albumin of fowl seminal plasma and effects of albumin on fowl spermatozoa stored at 4°C. British Poultry Science. 33: 663-670.

10. Blesbois E and Mauger I (1987) Effects of ovalbumin on the motility and fertilizing ability of fowl spermatozoa stored for 24 h at 4°C. British Poultry Science. 28: 483-492.

11. Bucak MN, Tuncer PB, Sariozkan S, Baspinar N, Taspinar M, Coyan K, Bilgili A, Akalin PP, Buyukleblebici S, Aydos S, Iigaz S, Sunguroglu A and Oztuna D (2010) Effects of antioxidants on post-thawed bovine sperm and oxidative stress parameters: antioxidants protect DNA integrity against cryodamage. Cryobiology. 61(3): 248-253.

12. Choi YH, Landim-Alvarenga FC, Seidel GE and Squires EL (2003) Effect of capacitation of stallion sperm with polyvinylalcohol or bovine serum albumin on penetration of bovine zona-free or partially zona-removed equine oocytes. Journal of Animal Science. 81: 2080-2087.

13. Dow MPD and Bavister BD (1989) Direct contact is required between serum albumin and hamster spermatozoa for capacitation *in vitro*. Gamete Resources. 23: 171-180.

14. Harrison RA, Dott HM and Foster GC (1982) Bovine serum albumin, sperm motility, and the dilution effect. Journal of Experimental Zoology. 222(1): 81-88.

15. Jones JM and Bavister BD (2000) Acidification of intracellular pH in bovine spermatozoa suppresses motility and extends viable life. Journal of Andrology. 21(5): 616.

16. Klem ME, Kreider JL, Pruitt JB and Potter GD (1986) Motility and fertility of equine spermatozoa extended in bovine serum albumin and sucrose. Theriogenology. 26: 569-576.

17. Kreider JL, Tindall WC and Potter GD (1985) Inclusion of bovine serum albumin in semen extenders to enhance maintenance of stallion sperm viability. Theriogenology. 23: 399-408.

18. Lake PE (1957) The male reproductive tract the fowl. Journal of Anatomy. 91: 116-129.

19. Matsuoka T, Imai H, Kohno H and Fukui Y (2006) Effects of bovine serum albumin and trehalose in semen diluents for improvement of frozen-thawed ram spermatozoa. Journal of Reproduction and Development. 52: 675-683.

20. Osman K, Nang CF, Ibrahim SF, Budin SB, Jaffar FHF and Wahab NAA (2012) Albumin improved spermatozoa quality and DNA integrity for freezing-free preservation. International Journal of Biological and Medical Research. 3(2): 1670-1679.

21. Owen DH and Katz DF (2005) A review of the physical and chemical properties of human semen and the formulation of a semen simulant. Journal of Andrology. 26(4): 459.

22. Sariozkan S, Bucak MN, Tuncer PB, Ulutas PA and Bilgen A (2009) The influence of cysteine and taurine on microscopic-oxidative stress parameters and fertilizing ability of bull semen following cryopreservation. Cryobiology. 58: 134-138.

23. Tabatabaei S and Aghaei A (2012) Effect of L-carnitine on sperm quality during liquid storage of chicken semen. Comparative Clinical Pathology. 21: 711-717.

24. Tangpakdeewijit S, Ponchunchoovong S and Vongpralub T (2015) Effect of extenders on frozen semen quality of Thai native chicken (Lueng hang kao). Khon Kaen Agriculture Journal. 43(2): 86-89.

www.SID.ir

Archive of SID

25. Uysal O and Bucak MN (2007) Effects of oxidized glutathione, bovine serum albumin, cysteine and lycopene on the quality of frozen-thawed ram semen. Acta Veterinaria Brno. 76: 383-390.

26. Yamashiro H, Wang H, Yamashita Y, Kumamoto K and Terada T (2006) Enhanced freezability of goat spermatozoa collected into tubes containing extender supplemented with bovine serum albumin. Journal of Reproduction and Development. 52: 407-414.

www.SID.ir