نشریه علوم دامی

شماره ۹۵، تابستان ۱۳۹۱

(پژوهش و سازندگی)

بررسی کیفیت اسپرم بلدرچین‌های ژاپنی تغذیه شده با سطوح مختلف ال–کارنیتین در شرایط نگهداری مایع

• **یوسف جعفری آهنگری**

دانشیار دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

• **بهمن پریزادیان کاوان** (نویسنده مسئول)

دانشجوی دکتری تغذیه دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

• **امیر اخلاقی**

استادیار دانشکده علوم دامی، دانشگاه شیراز

• **علی سردارزاده مجد**

دانش‌آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: آذر ماه ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: اسفند ماه ۱۳۹۰

تلفن تماس: ۰۹۱۱۸۲۳۱۰۳۹

Email: bahman.kavan@gmail.com

چکیده

تأثیر سطوح مختلف ال-کارنیتین (۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) بر خصوصیات اسپرم بلدرچین، با استفاده از ۹۶ قطعه بلدرچین ژاپنی در قالب طرح کاملاً تصادفی بررسی شد. برای هر تیمار آزمایشی، ۴ تکرار و در هر تکرار، ۶ قطعه بلدرچین در نظر گرفته شد. نمونه‌های منی به روش مالش شکمی جمع‌آوری و نمونه‌های هر تکرار با یکدیگر مخلوط شدند. خصوصیات اسپرم‌ها شامل درصد حرکت پیش‌رونده، زنده‌مانی، غیرطبیعی، pH، حجم و غلظت ارزیابی شد. نتایج نشان داد که تأثیر ال-کارنیتین بر غلظت منی معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). بلدرچین‌های تغذیه شده با ۱۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم ال-کارنیتین، غلظت منی بیشتری (۶۰۳/۰۸ میلیون در میلی‌لیتر) در مقایسه با سایر گروه‌ها داشتند. کمترین غلظت منی در گروه شاهد مشاهده شد (۵۱۸/۷۶ میلیون در میلی‌لیتر). تأثیر ال-کارنیتین بر حجم منی و pH معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵). تأثیر ال-کارنیتین بر اسپرم‌های متحرک و زنده نگهداری‌شده در رقیق‌کننده تریس، در مدت صفر و ۴ ساعت پس از نگهداری معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). بلدرچین‌های تغذیه شده با ۱۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم ال-کارنیتین، اسپرم‌های متحرک (۸۶/۹۲ درصد) و زنده (۸۹/۵۵ درصد) بیشتری در مدت صفر و ۴ ساعت پس از نگهداری در مقایسه با سایر گروه‌ها داشتند. تأثیر ال-کارنیتین بر درصد اسپرم‌های متحرک و زنده نگهداری‌شده در رقیق‌کننده تریس، ۸، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از نگهداری در شرایط مایع معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵). تأثیر ال-کارنیتین بر درصد اسپرم‌های غیرطبیعی نگهداری‌شده در رقیق‌کننده تریس در شرایط مایع معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵). بطور کلی، استفاده از ال-کارنیتین در سطح ۱۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم برای تغذیه بلدرچین ژاپنی جهت بهبود کیفیت اسپرم نگهداری شده در شرایط مایع، توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: اسپرم، بلدرچین ژاپنی، ال-کارنیتین، پراکسیداسیون

www.SID.ir

Animal Sciences Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 95 pp: 33-40

Investigation the quality of Japanese quail sperm were fed with various levels of L-carnitine in liquid conditions

By: Y. Jafari Ahangari,Associate Prof., Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, B. Parizadian Kavan, Ph.D Student of Animal Nutrition, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, (Corresponding Author; Tel: +989118231059) A. Akhlaghi Assistant Prof., Faculty of Animal Science, Shiraz University, Iran, and A. Sardarzadeh Majd Former M.Sc. Student, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran

The effects of various levels of dietary L-carnitine supplements (125, 250 and 500 mg/kg) on quail sperm characteristics during liquid storage was investigated. This experiment was arranged on the basis of completely randomized design using 96 Japanese quails with 4 replicates in each treatment and 6 quails in each replicate. Semen samples were collected from male quails using abdominal massage and samples per replication mixed together. Sperm characteristics including percentage of motile, viable, abnormal, pH, volume and concentration were assessed. Results showed that the effect of L-carnitine on semen concentration was significant ($p<0.05$). Quails were fed rations containing 125 mg/kg L-carnitine had higher semen concentration (603.08 million/ml) compared with other groups. The lowest semen concentration was observed in control group (518.76 million/ml). The effect of L-carnitine on semen pH and volume were not significant ($p>0.05$). The effect of L-carnitine on motility and viability percentage of sperm in Tris extender was significant ($p<0.05$). Quails were fed rations included 125 mg/kg L-carnitine had higher motile (86.92 %) and viable (89.55 %) sperms, after 0 and 4 hours compared to other groups. The lowest motile (80.71 %) and viable (83.77 %) sperms were observed for control group. The effect of L-carnitine on motility and viability percentage of sperm in Tris extender, 8, 12 and 24 hours after preservation were not significant ($p>0.05$). The effect of L-carnitine on abnormal percentage of sperms 0, 4, 8, 12 and 24 hours of storage were not significant ($p>0.05$). Lengths of storages had a significant effect on semen characteristics ($p<0.05$). In conclusion, the use of L-carnitine supplement for improving quality of Japanese quail sperm for liquid storage is recommended.

Keywords: Sperm, Japanese quail, L-carnitine, Peroxidation

Archive of SID

مقدمه

ذخیره و نگهداری مناسب اسپرم، انتقال موفقیت‌آمیز اسپرم را از مناطق دورتر تسهیل می‌کند و گسترش استفاده از ذخایر ژنتیکی بهتر را امکان‌پذیر می‌سازد (۴). اما معمولاً خواص حیاتی مثل تحرک و زنده‌مانی اسپرم در طی نگهداری در دماهای پایین کاهش می‌یابد که این امر می‌تواند یک عامل نامطلوب در توسعه استفاده از تلقیح مصنوعی باشد (۲۳). از عوامل عمده پایین‌تر بودن تحرک و زنده‌مانی اسپرم‌های نگهداری شده در دماهای پایین، انواع اکسیژن‌های واکنش‌پذیر می‌باشند (۱۲). اکسیژن‌های واکنش‌پذیر اثرات مخربی بر روندهای متابولیکی می‌گذارند و می‌توانند باعث شروع پراکسیداسیون لیپید و تخریب ساختار DNA اسپرم و در نهایت منجر به مرگ سلول شوند. تحت این شرایط استفاده از مواد آنتی‌اکسیدانی می‌تواند در بهبود خصوصیات اسپرم موثر باشد (۶). ال-کارنیتین یک شبه ویتامین است که به آسانی در آب حل می‌شود و دارای نقش‌های متعددی از جمله محافظت و تنظیم غشاهای سلولی، افزایش ایمنی، نقش متابولیکی و همچنین نقش کاتالیتیکی می‌باشد. در سال‌های اخیر نشان داده شده است که نیاز به ال-کارنیتین تحت برخی شرایط از جمله محدود بودن سنتز ال-کارنیتین در حیوانات جوان، مصرف جیره‌هایی با مقدار چربی بالا و دارای ال-کارنیتین کم و همچنین جذب روده‌ای کم، افزایش یافته است، بنابراین افزودن آن به‌صورت مکمل به خوراک می‌تواند موثر باشد (۱۸).

امروزه سرعت رشد در طیور افزایش یافته است. این پیشرفت نیاز به مواد غذایی را مخصوصاً در اوایل زندگی افزایش داده است. کارنیتین یک آمین نوع چهارم با وزن مولکولی پایین و محلول در آب است که به‌طور طبیعی در میکروارگانیسم‌ها و حیوانات سنتز می‌گردد. کارنیتین از کلمه کارنیس[1] یا کارو[2] مشتق شده که در زبان لاتین به معنی گوشت می‌باشد و چون غلظت‌های بالایی از این ماده در ماهیچه حیوانات مهره‌دار وجود دارد، این نام برای آن انتخاب شد. در سال ۱۹۵۵، نقش آن در متابولیسم چربی‌ها کشف شد (۱۱). فرمول بسته کارنیتین $C_7H_{15}NO_3$ است، که نام شیمیایی آن به‌صورت بتاهیدروکسی-گاما- تری‌متیل‌آمینوبوتیرات خوانده می‌شود (۵)، که به‌طور گسترده‌ای در بافت‌های حیوانات، گیاهان و میکروارگانیسم‌ها پراکنده است (۱۴).

جیره‌های پرندگان اساساً حاوی مقدار زیادی غلات می‌باشد که دارای ال-کارنیتین کمی هستند. همچنین این جیره‌ها از نظر محتوی

نشریه علوم دامی www.SID.ir

پیش نیازهای سنتز ال-کارنیتین یعنی لیزین و متیونین نیز محدودیت دارند و حیوان جهت تأمین نیاز خود به کارنیتین تنها متکی به سنتز داخلی می‌باشد. بنابراین افزایش نیاز متابولیکی حیوان و سنتز ناکافی ال-کارنیتین در بدن به همراه تأمین کم ال-کارنیتین از طریق جیره می‌تواند محدودیتی از نظر تأمین نیاز متابولیکی حیوان به‌وجود آورد که نهایتاً این عدم کفایت ال-کارنیتین منجر به بازدهی کمتر حیوان می‌گردد. بنابراین افزودن ال-کارنیتین به جیره می‌تواند در افزایش عملکرد تولید مثلی پرنده موثر باشد (۱۶).

در تحقیق انجام شده توسط Neuman و همکاران (۱۶) خروس‌های تغذیه شده با ال-کارنیتین (۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) از غلظت اسپرم بیشتر و اسپرم‌های آسیب دیده کمتری نسبت به گروه شاهد برخوردار بودند و میزان لیپید پراکسیداسیون آنها نیز کمتر بوده است. آزمایش انجام شده توسط Cerovsky و همکاران (۸) نشان داد که استفاده از ال-کارنیتین به میزان ۲ گرم در روز برای خوک‌ها تأثیر معنی‌داری بر کیفیت اسپرم (درصد تحرک و زنده‌مانی) نداشته است.

در تحقیق دیگر Sarica و همکاران (۱۸) مشاهده کردند که استفاده از ال-کارنیتین در سطوح ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره به‌طور معنی‌داری تحرک و زنده‌مانی اسپرم بلدرچین ژاپنی را افزایش می‌دهد و درصد اسپرم‌های مرده نیز نسبت به گروه شاهد کمتر می‌شود. در تحقیق انجام شده توسط Zhai و همکاران (۲۵) استفاده از ال-کارنیتین در سطوح ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره غلظت اسپرم خروس‌های لگهورن را افزایش و میزان پراکسیداسیون لیپید را کاهش داد. تحقیقات کمی در زمینه اثرات ال-کارنیتین بر کیفیت اسپرم بلدرچین وجود دارد، لذا این مطالعه به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف ال-کارنیتین بر کیفیت اسپرم بلدرچین‌های ژاپنی طراحی شد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این آزمایش، ۹۶ قطعه بلدرچین ژاپنی نر بدون هیچ گونه بیماری و یا عارضه مشخصی به‌طور تصادفی از مرکز اصلاح نژاد بلدرچین ژاپنی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان واقع در آق‌قلا انتخاب و به‌طور تصادفی در ۱۶ پن ۶ قطعه‌ای توزیع شدند (۴ تکرار برای هر تیمار).

تیمارهای مورد استفاده عبارت از شاهد (جیره بدون ال-کارنیتین) و سطوح مختلف ال-کارنیتین (۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) بودند. آب، خوراک و رژیم نوری بر اساس برنامه استاندارد پرورش بلدرچین تنظیم شد. بلدرچین‌ها به مدت ۷ روز به جمع‌آوری منی به روش مالش شکمی عادت داده شدند و در مرحله بعد اسپرم‌گیری انجام شد. سیستم نوردهی در سالن به‌صورت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود. آغاز روشنایی در ساعت ۶ بامداد و پایان آن در ساعت ۲۲ بود. جیره‌های مورد نظر بر مبنای احتیاجات غذایی بلدرچین ژاپنی و مطابق جداول انجمن ملی تحقیقات (۱۷) تنظیم شد. برای تنظیم جیره‌ها از نرم‌افزار UFFDA استفاده شد. ترکیب جیره‌های آزمایشی و مواد مغذی مورد نیاز در جدول ۱ ارائه شده است. بلدرچین‌های نر جدا از ماده‌ها در قفس‌ها نگهداری شدند. نحوه قرار گرفتن بلدرچین‌های نر و ماده به این صورت بود که در قفس‌هایی منفک و در مقابل هم قرار داشتند. در هنگام تهیه نمونه منی، بلدرچین نر و ماده در محفظه خاصی قرار می‌گرفتند، و در زمان شروع جفت‌گیری نر با ماده، بلدرچین نر جدا شده و فوراً تحت مالش شکمی قرار گرفته و نمونه منی با سرنگ جمع‌آوری می‌شد. بلافاصله بعد از اسپرم‌گیری، مایع منی برای صفاتی نظیر حجم منی (برحسب میلی‌لیتر)، غلظت (برحسب میلیون در میلی‌لیتر)، درصد تحرک، زنده‌مانی و اسپرم‌های غیرطبیعی در آزمایشگاه در زمانهای متفاوت نگهداری (صفر، ۴، ۸، ۱۲ و ۲۴ ساعت) مورد ارزیابی قرار گرفتند. نمونه‌های منی به منظور نگهداری، در رقیق‌کننده تریس به نسبت ۳ به ۱ (سه قسمت محلول رقیق‌کننده و یک قسمت منی) رقیق‌سازی شده و در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد یخچال مورد نگهداری قرار گرفتند. به منظور تعیین درصد تحرک اسپرماتوزوا، یک قطره کوچک از نمونه منی رقیق شده بر روی یک لام تمیز گرم شده قرار داده شد.

سپس بر روی آن یک لامل گذاشته شد تا نمونه بطور یکنواخت در زیر سطح لامل پخش شود. در مرحله بعد با استفاده از بزرگنمایی ۴۰× (۴۰ برابر) میکروسکوپ و با بررسی چند ناحیه از لام درصد اسپرم‌هایی که حرکت پیشرونده داشتند شمارش شدند. برای اندازه‌گیری درصد اسپرم‌های زنده از محلول رنگ‌آمیزی ائوزین و نکروزین استفاده شد. برای ساخت این محلول ابتدا ۵ گرم نکروزین و ۰/۸۵ گرم ائوزین و ۱/۴۵ گرم سیترات سدیم آنیدرات را در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل نموده و محلول به دست آمده برای مدت ۲۰ دقیقه جوشانده شد. پس از رسیدن دمای محلول به دمای محیط، محلول دوبار از فیلتر عبور داده شد و در شیشه‌ای تیره ریخته شد و دور از نور خورشید در دمای اتاق نگهداری شد.

برای رنگ‌آمیزی ابتدا یک قطره از منی رقیق شده در یکی از دو انتهای لام تمیز و گرم شده قرار داده شد و سپس یک قطره از رنگ بر روی منی رقیق شده ریخته شد. بعد از مدت یک دقیقه، توسط لبه لام دیگری گسترش نازکی از آن تهیه شد و سپس به مدت ۵ دقیقه لام در مجاورت هیتر قرار داده شد تا خشک شود. اسپرم‌های زنده به دلیل داشتن غشاهای سالم در مقایسه با اسپرم‌های مرده، محلول رنگ‌آمیزی ائوزین و نکروزین رنگی را به خود جذب نکرده و از این طریق از اسپرم‌های مرده قابل تشخیص بودند. در مرحله بعد با استفاده از بزرگنمایی ۴۰× (۴۰ برابر) میکروسکوپ در چند ناحیه از لام تعداد اسپرم‌های زنده شمارش شدند. برای تعیین فاکتور کیفیت منی از فرمول زیر استفاده شد (۹):

$$\text{فاکتور کیفیت منی} = \frac{\text{(درصد اسپرم‌های زنده نرمال× غلظت× حجم منی)}}{۱۰۰}$$

داده‌ها در ابتدا با استفاده از آزمون نرمالیته بررسی شدند و به علت نرمال بودن داده‌ها، با استفاده از نرم افزار SAS (۱۹) تجزیه و تحلیل آماری شدند و میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با همدیگر مقایسه شدند.

www.SID.ir
Archive of SID

جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیب جیره‌ی مورد آزمایش (برحسب درصد هوا خشک)

اجزای جیره	مقدار
ذرت	۵۲/۱۱
کنجاله سویا	۲۵/۴۱
روغن سویا	۱/۹۸
پودر ماهی	۲
دی‌کلسیم فسفات	۰/۴۸
کربنات کلسیم	۱/۲
نمک	۰/۳۱
مکمل ویتامینی[۱]	۰/۲۵
مکمل معدنی[۲]	۰/۲۵
سالینومایسین	۰/۰۵
DL- متیونین	۰/۱۲
ال-کارنیتین	-
مواد مغذی محاسبه شده (درصد)	
انرژی قابل سوخت و ساز (کیلوکالری در کیلوگرم)	۲۹۰۰
پروتئین	۲۴
کلسیم	۰/۸
فسفر قابل استفاده	۰/۳
سدیم	۰/۱۵
لیزین	۱/۳۳
متیونین	۰/۵
متیونین + سیستین	۰/۸۸

۱- هـر کیلوگـرم مکمل ویتامینی تأمین‌کننده موارد زیر اسـت: ۳۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامیـن A، ۱۰۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3، ۹۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۱۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین K_3، ۹۰۰ میلی‌گرم ویتامین B_1، ۳۳۰۰ میلی‌گرم ویتامین B_2، ۵۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B_3، ۱۵۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B_5، ۱۵۰ میلی‌گرم ویتامین B_6، ۵۰۰ میلی‌گرم ویتامین B_9، ۷/۵ میلی‌گرم ویتامین B_{12}، ۲۵۰۰۰۰ میلی‌گرم کولین، ۵۰۰ میلی‌گرم بیوتین.

۲- هـر کیلوگـرم از مکمل معدنی تأمین کننده مواد زیر اسـت: ۵۰۰۰۰ میلی‌گـرم منگنز، ۲۵۰۰۰ میلی‌گرم آهـن، ۵۰۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۵۰۰۰ میلی‌گرم مس، ۵۰۰ میلی‌گرم ید، ۱۰۰ میلی‌گرم سلنیوم.

نشریه علوم دامی www.SID.ir

نتایج و بحث

خصوصیات اسپرم بلدرچین شامل حجم، pH، غلظت و فاکتور کیفیت منی

داده‌هـای مربـوط به تأثیـر ال-کارنیتین بر خصوصیات اسـپرم بلدرچین در جدول ۲ گزارش شـده اسـت. نتایج نشان داد که تأثیر ال-کارنیتیـن بر غلظت منی معنی‌دار بـود ($p<0/05$). بلدرچین‌های تغذیه شده با ۱۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم ال-کارنیتین، غلظت منی بیشتری در مقایسـه با سایر گروه‌ها داشتند (۶۰۳/۰۸ میلیون در میلی‌لیتر در مقابل ۵۲۹/۹۷ و ۵۶۱/۳۲ میلیـون در میلی‌لیتر). کمترین غلظت منی در گروه شاهد مشاهده شد (۵۱۸/۷۶ میلیون در میلی‌لیتر). تأثیر ال-کارنیتین بر حجم منی، pH و فاکتور کیفیت منی معنی‌دار نبود.

اسپرم‌های متحرک نگهداری شده در رقیق‌کننده تریس در زمان‌های مختلف نگهداری

داده‌هـای مربوط به تأثیـر ال-کارنیتین بر اسـپرم‌های متحرک نگهداری شـده در رقیق‌کننده تریـس در زمان‌های مختلف نگهداری در جدول ۳ گزارش شـده اسـت. نتایج نشـان داد که تأثیر ال-کارنیتین بر اسـپرم‌های متحـرک، در بازه‌های زمانی ۰ و ۴ سـاعت پس از نگهداری معنـی‌دار بود ($p<0/05$). بلدرچین‌های تغذیه شـده بـا ۱۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم ال-کارنیتین، اسـپرم‌های متحرک بیشـتری در این شرایط در مقایسـه با سـایر گروه‌ها داشـتند (۸۶/۹۲ درصد در مقابل ۸۴/۳۲ و ۸۴/۹۷ درصد در زمان نگهداری صفر). کمترین درصد تحرک اسـپرم‌ها در بلدرچین‌های گروه شـاهد که از ال-کارنیتین اسـتفاده نکرده بودند، مشـاهده شد (۸۰/۷۱ درصد در زمان نگهداری صفر). تأثیر ال-کارنیتین بر درصد اسـپرم‌های متحرک، ۸، ۱۲ و ۲۴ سـاعت پس از نگهداری در شرایط مایع معنی‌دار نبود.

اسپرم‌های زنده نگهداری شده در رقیق‌کننده تریس در زمان‌های مختلف نگهداری

داده‌های مربوط به تأثیر ال-کارنیتین بر اسپرم‌های زنده نگهداری شـده در رقیق‌کننده تریس در زمان‌هـای مختلف نگهداری در جدول ۴ گزارش شـده است. نتایج نشـان داد که تأثیر ال-کارنیتین بر اسپرم‌های زنـده ، در بازه‌هـای زمانی ۰ و ۴ سـاعت پس از نگهـداری معنی‌دار بود ($p<0/05$). بلدرچین‌های تغذیه شـده با ۱۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم ال-کارنیتین، اسـپرم‌های زنده بیشـتری در این شـرایط در مقایسه با سایر گروه‌ها داشتند (۸۹/۵۵ درصد در مقابل ۸۷/۶۱ و ۸۸/۱۷ درصد در زمان نگهداری صفر). کمترین درصد زنده‌مانی اسپرم‌ها در بلدرچین‌های گروه شـاهد که از ال-کارنیتین اسـتفاده نکرده بودند، مشـاهده شد (۸۳/۷۷ درصـد در زمان نگهداری صفر). تأثیر ال-کارنیتین بر درصد اسـپرم‌های زنـده، ۸، ۱۲ و ۲۴ سـاعت پـس از نگهداری در شـرایط مایع معنی‌دار نبود.

اسپرم‌های غیرطبیعی نگهداری شده در رقیق‌کننده تریس در زمان‌های مختلف نگهداری

داده‌هـای مربوط به تأثیر ال-کارنیتین بر اسـپرم‌های غیرطبیعی نگهداری شـده در رقیق‌کننده تریـس در زمان‌های مختلف نگهداری در جدول ۵ گزارش شـده اسـت. نتایج نشـان داد که تأثیر ال-کارنیتین بر درصد اسپرم‌های غیرطبیعی نگهداری‌شده در شرایط مایع معنی‌دار نبود. اگرچه اسـتفاده از ال-کارنیتین در تغذیه بلدرچین سبب کاهش عددی تعداد اسپرم‌های غیرطبیعی در بازه‌های زمانی مختلف شد، اما این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود.

اسـپرم پرندگان حاوی مقدار زیادی از اسـیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه در غشـاء پلاسما می‌باشد که همین امر دلیل اصلی حساسیت آنها نسـبت به آسیب‌های ایجاد شـده توسط پراکسیداسیون لیپیـد می‌باشـد (۱۲). یکـی از عوامل مهـم در کاهش تحرک اسـپرم، خسارت‌های ساختاری ناشی از فشارهای اکسیداتیو می‌باشد، زیرا کاهش تمامیت غشـاء منجر به افزایش نفوذپذیری غشاء و کاهش توانایی تنظیم سطوح داخل سلولی یون‌ها می‌شود که مجموعه این شرایط برای تحرک اسـپرم مضر می‌باشـند (۱۰). از عوامل عمده کاهش تحرک و زنده‌مانی اسپرم‌های نگهداری‌شـده در دماهای کم، انواع اکسیژن‌های واکنش‌پذیر می‌باشـند (۱۲). از عمده‌تریـن اکسـیژن‌های واکنش‌پذیـر می‌توان به رادیکال هیدروکسـیل، پراکسـید هیدروژن و سوپر اکسـید آنیون اشاره کرد. از طرفی مشخص شـده است که نگهداری اسپرم در دماهای پایین تولید ایـن ترکیبات را افزایش می‌دهد (۱۵). اکسـیژن‌های واکنش‌پذیر اثرات مخربی بر روندهای متابولیکی می‌گذارند و می‌توانند باعث شـروع پراکسیداسـیون لیپید و تخریب ساختار DNA اسپرم و در نهایت منجر به مرگ سـلول شوند. از جمله خسـارات پراکسیداسیون لیپید بر اسپرم را می‌تـوان بـه نقص‌های مرفولوژیـک، کاهش تحرک، کاهـش باروری، کاهش سـیالیت غشاء، کاهش عملکرد آکروزوم، تخریب کروماتین اسپرم و کاهش همجوشی اسپرم با اووسیت اشاره کرد (۲۰). از سویی، مشخص شده اسـت که سیالیت غشـای پیش نیاز عملکرد طبیعی سلول است و سـیالیت و انعطاف‌پذیری غشاهای سـلولی عمدتاً به ترکیب لیپیدی آنها بسـتگی دارد. در گزارشـی Cerolini و همـکاران (۷) اعلام کردند که ترکیب لیپیدی منی ماکیان شاخص مهمی برای تعیین کیفیت و توانایی بارورسـازی آن است. در اسـپرم پرندگان وجود فسفولیپیدهایی با تراکم زیاد از اسـیدهای چرب پلی انوئیـک ۲۰ و ۲۲ کربنی عامل مهمی برای توسعه پراکسیداسـیون لیپید و آسیب پراکسیداتیو به غشاء می‌باشد. در این شـرایط استفاده از مواد آنتی‌اکسیدانی می‌تواند در بهبود خصوصیات اسپرم موثر باشد (۶). آنتی‌اکسیدان‌ها موادی هستند که با کاهش سرعت اکسیداسـیون، باعث حفظ سـلول از آسـیب‌های شـدید اکسیده شدن می‌شوند. مکانیزم اثر این ترکیبات به این صورت است که با دادن یک اتم هیدروژن به رادیکال آزاد تشکیل شده، از گسترش واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون جلوگیری می‌کنند. مواد آنتی‌اکسیدانی در منی وجود دارند، اما به دلیل ضعیف بودن خصوصیات آنتی‌اکسـیدانی اکثر رقیق‌کننده‌ها و کاهش ظرفیت آنتی‌اکسـیدانی منی در طی نگهداری در شرایط سرمایی، اسـتفاده از این ترکیبات می‌تواند در بهبود خصوصیات اسپرم موثر باشد (۱ T ۲۰). پژوهش‌ها نشـان داده‌اند که مواد آنتی‌اکسیدانی هم در جیره غذایی (۱۳) و هم در محلول‌های نگهداری (۱۲) می‌توانند اثرات مفیدی بر تحرک و زنده‌مانی اسـپرم‌های نگهداری شده در دماهای پایین داشته باشـند. در تحقیق حاضر استفاده از ال-کارنیتین باعث افزایش تحرک و

Archive of SID

زنده‌مانی اسپرم بلدرچین در شرایط نگهداری به‌صورت مایع در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد گردید.

در زمینه استفاده از ال-کارنیتین، آزمایشات انجام شده توسط Jacyno و همکاران (۱۳)، یاری و همکاران (۲) و Stradaioli و همکاران (۲۱) نشان دهنده بهبود خصوصیات اسپرم (تحرک و زنده‌مانی) و کاهش آسیب‌های ساختاری به اسپرم با استفاده از ال-کارنیتین تحت شرایط مایع بود. بهبود تحرک نمونه‌های اسپرم در حیوانات تغذیه شده با ال-کارنیتین اینگونه می‌تواند توضیح داده شود که به‌دلیل توانایی‌های آنتی‌اکسیدانی ال-کارنیتین، انواع اکسیژن‌های فعال اثرات مخرب کمتری بر غشاء اسپرم و ساختار میتوکندری وارد می‌کنند. به‌علاوه، ال-کارنیتین سبب افزایش فعالیت آنزیم‌هایی مانند کاتالاز و پراکسیداز می‌شود که به واسطه داشتن خصوصیات آنتی‌اکسیدانی، تعداد رادیکال‌های آزاد جهت شروع پراکسیداسیون لیپید را کاهش می‌دهند (۱۸). میتوکندری دربرگیرنده مسیرهایی برای تولید انرژی می‌باشد و به نظر می‌رسد که حساس‌ترین بخش ساختار اسپرم نسبت به نگهداری در دماهای پایین باشد. انواع اکسیژن‌های فعال می‌توانند تغییراتی را در عملکرد میتوکندری ایجاد کنند که نتیجه آن در تحرک اسپرم بروز می‌نماید (۳). از دیگر فرضیات موجود در زمینه کاهش تحرک اسپرم در طی نگهداری سرمایی، کاهش فسفوریلاسیون پروتئین‌های اکسونم می‌باشد که برای جابجایی اسپرم ضروری هستند. انواع اکسیژن‌های واکنش‌پذیر از توانایی لازم جهت جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های موثر در فرآیندهای فسفوریلاسیون اکسیداتیو، گلیکولیز یا دیگر مسیرهای تولیدکننده ATP برای سلول اسپرم برخوردار می‌باشند. استفاده از ال-کارنیتین می‌تواند سبب خنثی شدن اثر اکسیژن‌های فعال بر این آنزیم‌ها شود و از این طریق از کاهش تحرک اسپرم جلوگیری نماید (۲۲). در تحقیق حاضر استفاده از ال-کارنیتین در تغذیه بلدرچین ژاپنی سبب بهبود تحرک و زنده‌مانی اسپرم در شرایط نگهداری مایع در زمان‌های صفر و ۴ ساعت پس از نگهداری شد اما در سایر زمان‌های نگهداری تأثیر معنی‌داری بر تحرک و زنده‌مانی نمونه‌های اسپرم نداشت، به نظر می‌رسد که اثر ال-کارنیتین بر شاخص‌هایی مانند تحرک و زنده‌مانی عمدتاً در اوایل نگهداری در شرایط مایع باشد، این موضوع شاید به واسطه استفاده تغذیه‌ای آن باشد. اگر ال-کارنیتین و سایر مواد آنتی‌اکسیدانی در رقیق‌کننده مورد استفاده جهت نگهداری نمونه‌های اسپرم به کار گرفته شوند، می‌توانند برای مدت زمان بیشتری کیفیت اسپرم را بهبود دهند، در آزمایش حاضر ال-کارنیتین از طریق جیره مورد استفاده قرار گرفت و شاید به همین دلیل اثر آن بر شاخص‌های کیفیت اسپرم برای مدت زمان کمتری نمود پیدا کرد. گزارش شده است که یکی از نتایج تخریب اکروزوم، ترشح مواد آنزیمی است. ترشح ۵ آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، هیالورونو گلوکوزآمینداز، اسید فسفاتاز و آلکالین فسفاتاز در اثر تخریب اکروزوم گزارش شده است و مشخص شده است که ارتباط منفی بین آزاد شدن این آنزیم‌ها و تحرک اسپرم وجود دارد (۲۴).

افزایش غلظت اسپرم در بلدرچین‌های تغذیه شده با ال-کارنیتین می‌تواند به دلیل محافظت بهتر ساختار غشاء اسپرم باشد که باعث افزایش طول عمر اسپرم خواهد شد. در این ارتباط نتایج تحقیق حاضر با نتایج گزارش شده توسط Neuman و همکاران (۱۶) و Zhai و همکاران (۲۵) همخوانی دارد. Neuman و همکاران (۱۶) مشاهده کردند که مکمل‌سازی جیره غذایی خروس با ال-کارنیتین (۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) غلظت منی را افزایش می‌دهد. در آزمایش Zhai و همکاران (۲۵) افزودن ۱۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم ال-کارنیتین غلظت منی را در مقایسه با سایر گروه‌ها افزایش داد. با توجه به نتایج این آزمایش، می‌توان گفت که استفاده از ال-کارنیتین (۱۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم) در تغذیه بلدرچین ژاپنی سبب بهبود عملکرد تولید مثلی می‌شود.

جدول ۲- تأثیر ال-کارنیتین (میلی‌گرم در کیلوگرم) بر خصوصیات اسپرم بلدرچین

	حجم (ml)	pH	غلظت ($n\times10^6$)	فاکتور کیفیت منی
ال-کارنیتین				
صفر	۰/۰۲	۶/۸۹	۵۱۸/۷۶ b	۱۱/۶۲
۱۲۵	۰/۰۲	۶/۹۲	۶۰۳/۰۸ a	۱۵/۵۶
۲۵۰	۰/۰۲	۶/۹۶	۵۶۱/۳۲ ab	۱۲/۵۰
۵۰۰	۰/۰۲	۶/۹۵	۵۲۹/۹۷ b	۱۳/۸۱
SEM	۰/۰۰۲	۰/۱۲	۱۸/۵۶	۰/۸۲

اعداد با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد ($p<0/05$) می‌باشند.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۳- تأثیر ال-کارنیتین (میلی‌گرم در کیلوگرم) بر درصد اسپرم‌های متحرک نگهداری شده در زمان‌های مختلف نگهداری

	زمان‌های نگهداری (ساعت)					
ال-کارنیتین	صفر	۴	۸	۱۲	۲۴
صفر	۸۰/۷۱ b	۷۱/۹۶ b	۶۶/۴۴	۴۰/۱۱	۱۵/۶۳
۱۲۵	۸۶/۹۲ a	۷۶/۹۴ a	۶۷/۷۳	۴۲/۴۱	۱۶/۳۳
۲۵۰	ab	۷۴/۴۹ ab	۶۶/۸۹	۴۱/۳۵	۱۷/۱۶
۵۰۰	ab	۷۵/۶۰ ab	۶۷/۹۰	۴۱/۴۴	۱۷/۶۶
SEM	۱/۵۱	۰/۹۱	۰/۹۸	۱/۱۷	۱/۰۵

اعداد با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد (p<۰/۰۵) می‌باشند.

جدول ۴- تأثیر ال-کارنیتین (میلی‌گرم در کیلوگرم) بر درصد اسپرم‌های زنده نگهداری شده در زمان‌های مختلف نگهداری

	زمان‌های نگهداری (ساعت)				
ال-کارنیتین	صفر	۴	۸	۱۲	۲۴
صفر	۸۳/۷۷ b	۷۴/۵۰ b	۶۸/۷۵	۴۲/۷۲	۱۸/۰۵
۱۲۵	۸۹/۵۵ a	۷۹/۹۴ a	۶۹/۹۶	۴۴/۹۷	۱۹/۵۱
۲۵۰	۸۷/۶۱ ab	۷۷/۱۸ ab	۶۹/۵۰	۴۴/۴۱	۲۰/۱۱
۵۰۰	۸۸/۱۷ a	۷۸/۱۵ a	۷۰/۴۶	۴۴/۷۳	۲۰/۶۶
SEM	۱/۱۷	۱/۲۰	۱/۱۲	۱/۱۰	۱/۲۷

اعداد با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد (p<۰/۰۵) می‌باشند.

جدول ۵- تأثیر ال-کارنیتین (میلی‌گرم در کیلوگرم) بر درصد اسپرم‌های غیرطبیعی نگهداری شده در زمان‌های مختلف نگهداری

	زمان‌های نگهداری (ساعت)				
ال-کارنیتین	صفر	۴	۸	۱۲	۲۴
صفر	۹/۲۷	۱۱/۹۷	۱۶/۲۲	۱۹/۹۷	۲۹/۲۲
۱۲۵	۸/۵۶	۱۱/۶۰	۱۴/۶۰	۱۹/۶۰	۲۷/۳۵
۲۵۰	۸/۳۲	۱۰/۶۶	۱۵/۱۶	۱۹/۴۱	۲۸/۹۷
۵۰۰	۸/۸۹	۱۱/۶۹	۱۴/۱۹	۱۸/۶۶	۲۶/۸۸
SEM	۰/۷۷	۰/۹۲	۱/۲۴	۱/۰۳	۱/۲۳

اعداد با حروف متفاوت در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد (p<۰/۰۵) می‌باشند.

www.SID.ir

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشـــی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گـــرگان به خاطر مســـاعدت و حمایت‌های مالی از طرح پژوهشـــی اخیر صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نماید.

پاورقی‌ها

1- Carnis

2- Caro

منابع مورد استفاده

۱- ضمیری، م.ج.، هاشمی م.ر. و بوستانی. ع. (۱۳۸۴) ارزیابی چندین رقیق‌کننده برای نگهداری اســـپرم خروس‌های بومی فـــارس در دمای ۵-۴ و ۲۴-۱۹ درجه سانتی‌گراد. مجله علوم کشاورزی ایران. جلد ۳۶. شماره ۳. صفحه ۶۱۲-۶۰۳.

۲- یاری، ا.، اسدی.، م.ح. بهادران.، ح. دشت نورد.، ح. ایمانی.، ح. کریمی زارچی ع.ا. و ابوعلی. ف. (۱۳۸۸) اثرات ال-کارنیتین بر پارامترهای منی موش صحرایی نر بالغ در معرض کادمیوم. مجله پزشـــکی کوثر. جلد چهاردهم. شماره ۱. صفحه ۲۴-۱۹.

3- Aitken, R.J. (1995) Free radicals lipid peroxidation and sperm function. *Reprod. Fertil. Dev*. 7: 659-668.

4- Baily, J.F., Bilodeau., J.F. and Cormier. N. (2000) Semen cryopreservation in domestic animals. *Andrology*. 21: 1-7.

5- Battelli, D., Bellei., H. Arrigoni-Martelli., E. Muscatello., U. and Bubyleva. V. (1992) Interaction of carnitine with mitochondrial cardiolipin. *Biochem. Biop. Acta*. 117: 33-36.

6- Breque, C., Surai., P.E. and Brillard. J.P. (2003) Roles of antioxidants on prolonged storage of avian spermatozoa in vivo and *in vitro. Mol. Reprod. Dev*. 66: 314-323.

7- Cerolini, S., Pizzi., F. Gliozzi., T. Maldigian., A. Zaniboni., L. and Parodi. L. (2003) Lipid manipulation of chicken semen by dietary means and its relation to fertility: A review. *World Poult. Sci*. J. 59: 65-75.

8- Cerovsky, J., Frydrychova., S. Lustykova., A. Lipensky., J. and Rozkot. M. (2009) Semen characteristics of boars receiving control diet and control diet supplemented with L-carnitine. Czech. *J. Anim. Sci.* 54: 417-425.

9- Chelmonska, B., Jerysz., A. Lukaszewicz., E. Kowalczyk., A. and Malecki. I. (2008) Semen collection from Japanese quail (Coturnix japonica) using a teaser female. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 32: 19-24.

10- Christine, A. (2008) Recent advances in cooled-semen technology. *Anim. Reprod. Sci*. 107: 268–275.

11- Friedman, S.F., and G. Fraenkel. (1995) Reversible enzymatic acetylation of carnitine. Arch. Biochem. Biophys. 59: 491-501.

12- Funahashi, H., and Sano. T. (2005) Selected antioxidants improve the function of extender boar semen stored at 10 degree C. *Theriogenology*. 63: 1605-1616.

13- Jacyno, E., Kolodziej., A. Kamyczek., M. Kawecka., M. Dziadek., K. and Pietruszka. A. (2007) Effect of L-carnitine supplementation on boar semen quality. *Acta vet. Brno*. 76: 595-600.

14- Kamm, B., Kamm., M. Kiener., A. and Meyer. H.P. (2005) Polycarnitine- a new biomaterial. *Appl. Microbiol. biot.* 67: 1-7.

15- Massaeli, H., Sobrattee., S. and Pieree. G.N. (1999) The importance of lipid solubility in antioxidants and free radical generating systems for determining lipoprotein peroxidation. *Free. Radic. Biol. Med*. 26: 1524-1530.

16- Neuman, S.L., Lin., T. and Hester. P.Y. (2002) The effect of dietary carnitine on semen traits of white leghorn roosters. *Poult. Sci*. 81: 495-450.

17- NRC. (1994) *Nutrient Requirement of Poultry*. 9th rev. National Academy Press. Washington, DC.

18- Sarica, S., M. Corduk., M. Suicmez., F. Cedden., Yildirim., M. and Kiline. K. (2007) The effect of dietary L-carnitine supplementation on semen traits, reproductive parameters and testicular histology of Japanese quail breeders. *J. Appl. Poults. Res*. 16: 178-186.

19- SAS Institute. (2003) SAS/STAT® User's guide, release 9.1 edition. SAS institute Inc., Cary, NC.

20- Sonmez, M., and Demirci. E. (2004) The effect of ascorbic acid on the freezability of ram semen diluted with extenders containing different proportions of glycerol. *Turk. J. Anim. Sci.* 28: 893-899.

21- Stradaioli, G., Zelli., R. Chiodi., P. and Monaci. M. (2004) Effect of L-carnitine administration on the seminal characteristics of oligoasthenospermic stallions. *Theriogenology*. 62: 761-777.

22- Surai, P.E., Blesbois., E. Grasseau., I. Chalah., T. Brillard., J.P. Wishart., G.J. Cerolini., S. and Sparks. N.H.C. (1998) Fatty acid composition, glutathione peroxidase and superoxide dismutase activity and total antioxidant activity of avian semen. *Comp. Biochem. Physiol*. 120: 527-533.

23- Trinchero, G.D., Affranchino., M.A. Schang., L.M. and Beconi. M.T. (1990) Antioxidant effect of bovine spermatozoa on lipid peroxidation. *Comp. Biol.* 8: 339-350.

24- Yousef, M.I., Abdollad., G.A. and Kamel. K.I. (2003) Effect of ascorbic acid and vitamin E supplementation on semen quality and biochemical parameters of male rabbits. *Anim. Reprod. Sci.* 76: 99-111.

25- Zhai, W., Neuman., S.L. Latour., M.A. and Hester. P.Y. (2007) The effect of L-carnitine on semen traits of white leghorns. *Poult. Sci*. 86: 2228-2235.

Archive of SID

نشریه علوم دامی www.SID.ir