



مقاله علمی - پژوهشی

تأثیر مکمل دانه کتان در جیره بر ترکیب اسیدهای چرب، خصوصیات کیفی اسپرم و برخی پارامترهای خونی در قوچ کردی

سعید فیروزه^۱، امیر هوشنگ فلاح راد^{۲*}، پژمان میر شکرایی^۲، عباس پرهام^۳، محسن دانش مسگران^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۲۸

چکیده

دانه کتان منبع غنی از اسید آلفا لینولنیک (امگا۳) با خاصیت آنتی اکسیدانی بالا می‌باشد، که می‌تواند در سنتز هورمون‌های جنسی و بهبود کیفیت اسپرم در گونه‌های مختلف نقش داشته باشد. مطالعه حاضر اثرات دانه کتان بر خصوصیات کمی و کیفی اسپرم و برخی پارامترهای خونی را بررسی می‌کند. در این تحقیق که در مدت ۱۲ هفته اجرا گردید ۱۵ راس قوچ نژاد کردی انتخاب و به صورت تصادفی به سه گروه تقسیم شدند. گروه شاهد دریافت کننده جیره پایه و گروه دوم که شامل جیره پایه و ۵ درصد دانه کتان و گروه سوم محتوی جیره پایه و ۱۰ درصد دانه بود. نتایج نشان داد که غلظت اسپرم، نسبت اسپرم زنده، تحرک کل و عملکرد غشای پلازما در تیمار ۱۰ درصد دانه کتان در مقایسه با سایر گروه‌ها بیشتر بود ($P < 0.05$). دانه کتان باعث افزایش درصد اسپرم با آکروزوم نرمال شد ($P < 0.01$). با این حال، درصد اسپرم‌های غیر طبیعی پس از دریافت ۱۰ درصد دانه کتان و در پایان هفته ۱۲ در مقایسه با سایر گروه‌های مربوطه کاهش یافت ($P < 0.05$). نتایج نشان داد که مکمل دانه کتان بر قطر بیضه اثری نداشت اما غلظت تستوسترون پلازما را در گروه ۱۰ درصد نسبت به گروه شاهد افزایش داد ($P < 0.05$). اثر افزودن مکمل دانه کتان، اثر زمان و اثر متقابل آنها بر فعالیت آنزیم گلوکوتائون پراکسیداز معنی دار نبود. جیره ۱۰ درصد کتان موجب افزایش معنی داری اسید چرب DHA (دوکوزاهگزانوئیک DHA=Docosahexaenoic acid) در چربی اسپرم شد ($P < 0.05$). نسبت اسیدهای چرب امگا سه به شش افزایش یافته و نیز نسبت اسیدهای چرب اشباع به اسیدهای چرب با چند باند مضاعف در گروه ۱۰ درصد در مقایسه با سایر گروه‌ها کاهش یافت ($P < 0.05$). نتایج نشان داد که افزودن ۱۰ درصد دانه کتان به جیره پایه قوچ‌های کردی در خارج از فصل تولید مثل می‌تواند سبب بهبود کمی و کیفی شاخص‌های ازربایی اسپرم و در نهایت بهبود باروری آنها گردد.

کلمات کلیدی: اسپرم، اسید چرب، امگا ۳، دانه کتان، قوچ کردی.

مقدمه

دارند همچنین نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع (UFA) ممکن است در خصوصیات فیزیکی مانند سیالیت غشاء نقش داشته باشد (۲). اسپرم اکثر پستانداران مانند انسان، گاو، میمون و قوچ دارای سهم بالایی از دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) می‌باشد. پستانداران قادر به ساخت اسیدهای چرب n-3 نیستند لذا این اسیدهای چرب ضروری باید از طریق جیره تامین گردد (۱۱). پس از تامین اسیدهای چرب کوتاه زنجیر ALA از طریق جیره غذایی، پستانداران قادر می‌باشند اسیدهای چرب بلند زنجیر DHA و EPA را در بدن خود از ALA طی مراحل دی سچوراز و طولیل سازی سنتز کنند (۱۷).

تحقیقات نشان داده است که چندین عامل مانند نژاد، سن، فصل و مدیریت تغذیه ای بر کیفیت اسپرم تولید شده و به تبع آن بر باروری قوچ‌ها تأثیر می‌گذارد (۳). اسیدهای چرب بخش عمده سلول‌های جانوری را در بر می‌گیرد و در سلول‌های اسپرماتوزوا نه تنها منبع انرژی می‌باشد بلکه در کلیه رخدادهایی که منجر به باروری می‌شود دخالت دارد (۳۶). یافته‌ها نشان می‌دهد که چربی‌های اسپرماتوزوا در اعمالی مانند تحرک، قابلیت زنده ماندن و بلوغ اهمیت

۴ - استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(Email: umfallah@um.ac.ir)
* - نویسنده مسئول

DOI: 10.22067/ijasr.v13i3.87332

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- دانشیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

اکسیدانی در فرایند استرس اکسیداتیو در خارج از فصل تولید مثل مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به مدت ۲ ماه در مرکز اصلاح نژاد گوسفند کردی واقع در شهرستان شیروان استان خراسان شمالی انجام گرفت. در این تحقیق ۱۵ راس قوچ نژاد کردی با میانگین سنی ۳-۵ ساله و میانگین وزن $65 \pm 2/5$ کیلوگرم انتخاب شده و بصورت کاملاً تصادفی در ۳ گروه با جایگاه جداگانه مطابق جیره طرح نگهداری شدند. گروه‌های آزمایشی جیره پایه با انرژی و پروتئین یکسان دریافت می‌کردند (انرژی متابولیسمی ۲/۴۵ مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک و پروتئین خام ۱۲/۱ درصد ماده خشک).

دانه کتان یا (flax seed)، یکی از مهمترین منابع گیاهی n-3 PUFA است (۳۱). روغن دانه کتان حاوی ۹۰٪ PUFA است که حدود ۵۰٪ آن اسید α -لینولیک است (۲۶). دانه کتان به‌عنوان منبع امگا ۳ می‌تواند کیفیت اسپرم را بهبود بخشد و اسپرم را بر علیه شرایط استرس با حفظ یکپارچگی غشاء و قدرت زنده مانی محافظت کند (۱۷) مطالعات نشان می‌دهد که DHA می‌تواند سبب بهبود تحرک اسپرم و افزایش سطح تستوسترون در خون گوسفند و بز گردد و دانه کتان یک منبع مناسب از DHA است (۱۰).

با توجه به تاثیرات تغذیه و فصل بر راندمان باروری قوچ‌ها، در این تحقیق اثر دانه کتان به عنوان منبع اسید چرب غیر اشباع (امگا ۳) با خاصیت آنتی اکسیدانی بر روی شاخص‌های کمی و کیفی اسپرم قوچ و تغییرات آنزیم گلوکوتیون پراکسیداز به‌عنوان یکی از فاکتورهای آنتی

جدول ۱- اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره‌ها
Table 1- Ingredient and chemical composition of the experimental diets

اجزاء Ingredients (%)	جیره پایه Basal diet	جیره پایه + ۵٪ دانه کتان Basal diet + 5% flaxseed	جیره پایه + ۱۰٪ دانه کتان Basal diet + 10% flaxseed
یونجه Alfalfa	17.3	17.3	17.3
سیلاژ ذرت Corn silage	27.2	27.2	27.2
کاه گندم Wheat straw	12.5	12.5	12.5
جو barley	23	18	13
سوس گندم Wheat bran	13	13	13
کنجاله کلزا Canola meal	5	5	5
دانه کتان flaxseed	0	5	10
مکمل دامی Premix	1	1	1
نمک salt	1	1	1
اجزای شیمیایی جیره‌ها Chemical composition			
انرژی متابولیسمی (مگا کالری در کیلوگرم ماده خشک) Metabolizable energy (Mcal/ Kg DM)	2.36	2.36	2.36
پروتئین خام (%) Crud protein(%)	12.2	12.2	12.2

۱ - ترکیب مکمل دامی در کیلوگرم: ویتامین A ۵۰۰ هزار واحد بین المللی، ویتامین D3، ۱۰۰ هزار واحد بین المللی، ویتامین E، ۲۵۰ هزار واحد بین المللی، آهن، ۳ هزار میلی گرم، منگنز، ۲ هزار میلی گرم، روی ۳ هزار میلی گرم، کبالت، ۱۰۰ میلی گرم، فسفر، ۹۰ هزار میلی گرم، کلسیم، ۱۸۰ هزار میلی گرم، سدیم، ۶۰ هزار میلی گرم

¹Composition of animal meat per kilogram: Vitamin A 500 thousand international units, Vitamin D3, 100 thousand international units, Vitamin E, 250 thousand international units, Iron, 3 thousand mg, Manganese, 2 thousand mg, Zinc 3 thousand, Cobalt, 100 Mg, phosphorus, 90 thousand mg, calcium, 180 thousand mg, sodium, 60 thousand mg

جدول ۲- ترکیب اسیدهای چرب دانه کتان جیره (درصدی از چربی در ترکیب چربی کل جیره)

Table 2- Fatty acids composition of the flaxseed diet (as the proportion of the total fat in the diet)

اسید چرب Fatty acids	درصد %
اسید میرستیک: C14:0 Myristic (C14:0)	0.08
اسید پالمیتیک C16:0 Palmitic acid (C16:0)	6.3
اسید استئاریک C18:0 Stearic acid (C18:0)	4.19
اسید اولئیک C18:1 Oleic acid (C18:1)	26.08
اسید لینئولیک C18:2 Linoleic acid (C18:2)	13.7
اسید آلفا لینولیک C18:3 α -Linolenic acid (C18:3)	44.64

BCF (beat-cross frequency) فرکانس نو سانات سرا سپرم که با استفاده از نرم افزار CASA انجام شد. قبل از ارزیابی اسپرمها با نسبت ۲۵ میکرولیتر اسپرم به ۹۷۵ میکرولیتر مایع رقیق کننده برای بدست آوردن غلظت حدود $10^6 \times 25$ اسپرم در هر میلی لیتر رقیق شدند. سپس نمونهها در میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری در بن ماری ۳۷ درجه نگهداری شد. برای هر ارزیابی ۵ میکرولیتر از اسپرم رقیق شده را در اسپرم چمبر لجا با عمق ۲۰ میکرون (leja products B. V., Nieuw-Venep قرار داده و فیلد میکروسکوپی برای حداقل ۱۰۰۰ اسپرم آنالیز شد. پارامترهای تحرک بوسیله نرم افزار CASA (Computer-assisted sperm analysis) مورد ارزیابی قرار گرفت. درصد زنده و مرده بودن اسپرم و مورفولوژی آن به کمک رنگ آمیزی ائوزین- نیگروزین با بررسی حداقل ۲۰۰ اسپرم رقیق شده بوسیله میکروسکوپ نوری ارزیابی شد. آکروزوم از طریق رنگ آمیزی diffQuik و به کمک میکروسکوپ نوری سه چشمی متصل به دوربین و کامپیوتر انجام شد. حداقل ۱۰۰ اسپرم بر روی هر لام با بزرگنمایی ۱۰۰ مورد ارزیابی قرار گرفتند. (۲۷)

برای تعیین یکپارچگی غشاء اسپرم آزمون تورم هیپواسمزی (HOS test) انجام شد. ابتدا ۲۰ میکرولیتر منی با ۲۰۰ میکرولیتر محلول هیپواسمزی ۱۰۰ میلی اسمول (۹ گرم فروکتوز و ۴۶ گرم سیترات سدیم در یک لیتر آب مقطر) به مدت ۶۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط بر روی لام گرم قرار داده شد و پس از لامل گذاری در زیر میکروسکوپ مورد ارزیابی قرار گرفتند که حداقل ۲۰۰ اسپرم در ۵ فیلد بررسی گردید. درصد اسپرمها با دم متورم و گرد ثبت شدند (۲۱).

جداکردن چربی اسپرم و آنالیز آن

نمونه های منی ۲ بار با حجم برابر محلول نمکی

جیره حیوانات بر اساس جدول احتیاجات غذایی (NRC 1985) تنظیم شده بود. جیره های طرح شامل (۱) گروه کنترل جیره پایه بدون دانه کتان (۲) جیره پایه + ۵٪ دانه کتان و گروه سوم جیره پایه + ۱۰٪ دانه کتان و همه گروهها بطور آزاد به آب دسترسی داشتند. جیره به صورت مخلوط کامل و ۲ بار در روز در ساعات ۸ و ۱۷ در اختیار حیوانات قرار می گرفت. جدول (۱) درصد و ترکیب شیمیایی اجزای موجود در جیره و جدول (۲) پروفایل اسیدهای چرب جیره و دانه کتان را نشان می دهد.

جمع آوری منی و ارزیابی آن

نمونه منی بوسیله دستگاه الکترواجاکولاتور در ابتدا، پایان هفته ۱ و پایان هفته ۱۲ از تمامی قوچها گرفته شد. نمونهها بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و در بن ماری ۳۷ درجه قرار گرفت. همه نمونهها برای غلظت، تحرک، درصد مرده و زنده بودن و غشای آکروزوم مورد ارزیابی قرار گرفتند. غلظت اسپرم به کمک لام هموسایتومتر پس از رقیق کردن با ائوزین ۲٪ (۱:۲۰۰) محاسبه شد. برای بررسی تحرک اسپرم از سیستم CASA (test sperm 2.1 videotest) (st.petersburg Russia) استفاده شد. این سیستم شامل یک میکروسکوپ فاز کنتراست (model LX400. Lambomed inc) و یک دوربین (SDC-313B, Samsung Techwin co., Gyeong korea straight-velocity) می باشد. ویژگی های حرکتی شامل (curvilinear velocity) VCL (line velocity) میانگین سرعت در مسیر منحنی، (average path velocity) VAP میانگین سرعت حرکتی اسپرم در مسیر مستقیم، (linearity) LIN (خطی بودن حرکت، (straightness) STR در صد مستقیم بودن، (amplitude of lateral head displacement) دامنه نوسانات جانبی سر اسپرم،

گرفت (۳۵). نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk و روش UNIVARIATE انجام شد. داده‌های اندازه‌گیری شده در طول زمان با استفاده از روش MIXED که در آن زمان نمونه برداری در عبارت REPEATED مورد استفاده قرار گرفت، تجزیه و تحلیل شد و حیوان در مدل معادله به عنوان یک عامل تصادفی در نظر گرفته شد. مقدار اولیه هر پارامتر اندازه‌گیری شده در ابتدای آزمایش در این مدل به عنوان متغیرهای متغیر برای پارامتر مربوط به آنها درج شده است. نتایج به عنوان میانگین و خطای استاندارد میانگین (SEM) گزارش شده است. از آزمون توکی برای مقایسه چند متغیره از میانگین استفاده شد و اختلاف آماری در $P < 0.05$ اعلام شد.

نتایج و بحث

ویژگی‌های منی

اسیدهای چرب اشباع نشده تأثیر زیادی بر خصوصیات کیفیت اسپرم در گونه‌های مختلف دارند. در تلاش برای بهبود کیفیت اسپرم قوچ، یک جیره پایه با مقادیر مختلف دانه کتان تهیه شده و طی ۱۲ هفته از دوره آزمایشی مورد استفاده قرار گرفت.

مکمل دانه کتان بر محیط بیضه، غلظت پلاسمایی تستوسترون و فعالیت گلوکوتائین پراکسیدها در جدول (۳) نشان داده شده است. ($P < 0.05$). اثر جیره، طول زمان و اثر متقابل آنها بر فعالیت آنزیم گلوکوتائین پراکسیداز معنی دار نبود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تغذیه قوچ‌ها با جیره پایه همراه با دانه کتان تأثیری بر قطر بیضه نداشته است. در مقابل، در گاوهایی که روغن بذر کتان دریافت کرده اند، افزایش در قطر اسکروتوم دیده شد (۳۰). این تفاوت را می‌توان به اختلاف بین گونه‌ها و تولید مثل فصلی در گاو سفندان نسبت داد. در این مطالعه استفاده از ۱۰ درصد دانه کتان اثر معنی داری بر افزایش سطح هورمون تستوسترون داشت و این مشابه نظر حسین شاه و همکاران (۲۰) است که اعلام کردند استفاده از روغن این دانه موجب افزایش سطح تستوسترون سرم در بوفالوی نیلی می‌شود.

نتایج ما نشان داد که افزودن ۱۰٪ دانه کتان به جیره غذایی، غلظت اسپرم را بعد از ۱۲ هفته افزایش می‌دهد. این افزایش غلظت اسپرم به مرور زمان با افزایش سطح تستوسترون همسو است. این یافته‌ها در هماهنگی نزدیکی با مطالعه دیگری است که گزارش کرده، رژیم غذایی N-3 PUFA باعث افزایش اسپرماتوزن از طریق محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بیضه می‌شود (۳).

اثر افزودن دانه کتان در صفات کیفی اسپرم قوچ در جدول (۴) نشان داده شده است. غلظت اسپرم، نسبت اسپرم زنده، تحرک کل، شاخص‌های عملکرد غشای پلازما در جیره حاوی ۱۰ درصد دانه کتان در مقایسه با گروه‌های ۵ درصد و صفر درصد بالاتر بود ($P < 0.05$). مکمل دانه کتان باعث افزایش در صد اسپرم با آکروزوم نرمال

دالبکو (DPBS)(sigma.aldrich) شستشو شد. سپس لوله‌های حاوی اسپرم به مدت ۲۰ دقیقه با $250 \times g$ سانتریفیوژ شدند. ایجاد دو فاز در لوله به ازاء هر نیم گرم فاز پایینی در هر لوله آزمایش، ۱۰ میکرولیتر محلول کلروفورم:متانول (۱:۲) و ۲ میلی لیتر محلول نمک طعام ۰.۹٪ اضافه شد (۱۸). سپس هر کدام از لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در ورتکس قرار گرفت. برای ترانس متیله کردن از محلول متانول:هگزان (نسبت ۲:۱) استفاده شد. اسپرم‌های ترانس متیله شده به منظور تعیین ترکیب اسیدهای چرب به آزمایشگاه بخش بیوشیمی دانشکده علوم پزشکی منتقل شد. اسیدهای چرب بوسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی (مدل ۱۰۰۰ GC ساخت کمپانی DANI ایتالیا) اندازه‌گیری شد. در این تحقیق از ستون کاپیلاری EC-1000 با ماهیت قطبی از جنس شیشه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰.۳۲ میلی متر که ضخامت فاز یال آن ۰.۲۵ میکرومتر بود استفاده شد. دمای قسمت تزریق ۲۵۰ درجه سانتی گراد، آشکار ساز یونیزاسیون شعله‌ای با سوخت هیدروژن و اکسیداسیون هوا بود و برنامه دمایی به ۲۰۰ درجه رسیده و تا پایان باقی می‌ماند. محنی‌های مربوطه رسم شده و زمان بازداری مربوط به هر اسید چرب با منحنی مربوط به اسید چرب استاندارد مقایسه گردید و نوع و میزان اسیدهای چرب موجود در نمونه‌ها مشخص شد.

بررسی میزان آنزیم گلوکوتائین پراکسیداز و هورمون

تستسترون در خون

نمونه‌های خون در همزمان با نمونه‌گیری اسپرم از طریق ورید گردن گرفته و درون لوله‌های هپارینه ریخته شدند. پس از انتقال به آزمایشگاه نمونه‌ها در $1096 \times g$ و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. پلاسمای جدا شده تا زمان آنالیز در یخچال ۲۰- نگهداری شد. رسوب گلبول‌های قرمز پس از جداسازی پلازما ۳ الی ۴ بار با سرم فیزیولوژی شسته و جهت لیزه شدن به آنها آب مقطر سرد اضافه و به مدت ۱۰-۲۰ دقیقه در هوای اتاق نگداری می‌شدند. پس از گذشت زمان مذکور مجدداً ۱۰ دقیقه دیگر در سانتریفیوژ قرار گرفتند. محلول شفاف رویی بدست آمده در حجم‌های نیم میلی لیتر تقسیم شدند. فعالیت آنزیم گلوکوتائین پراکسیداز به روش پالیجا و ولنتین (۲۹) و با کیت‌های تجاری (Ransel, Randox, UK) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیمی در واحد گرم در هموگلوبین سنجش شد. هموگلوبین از طریق روش اس‌تا ندارد سیانوهموگلوبین تعیین گردید. میزان هورمون تستسترون خون نیز با استفاده از کیت‌های تجاری RIA (پارس آزمون، تهران) اندازه‌گیری شد.

تحلیل آماری

داده‌ها توسط نرم افزار SAS 9.2 مورد تجزیه و تحلیل قرار

دانه کتان در هر دوسطح ۵ و ۱۰ درصد موجب بهبود کیفیت غشاء اسپرم نسبت به تیمار شاهد می شود که این افزایش کیفیت را شاید بتوان به PUFAs موجود در دانه کتان دانست که با تحقیقات دیگر همخوانی دارد (کارگر و همکاران (۲۲)؛ موریکاوی و همکاران (۲۸)). تیمار، طول زمان و اثر متقابل طول زمان و تیمار تأثیری بر LIN، STR، ALH و VCL نداشت ($P > 0.05$ ؛ جدول ۵). با این حال، BCF و VSL در گروه ۱۰ درصد دانه کتان در مقایسه با گروه ۵ درصد و شاهد بهبود یافته بود ($P < 0.05$). تأثیر متقابل معنی داری از طول زمان و تیمار برای VAP مشاهده شد، که مکمل دانه کتان در هفته اول آزمایش بر VAP تأثیر نمی گذارد اما VAP بالاتر در ۱۰ درصد در مقایسه با گروه های ۵ درصد و شاهد پس از ۱۲ هفته از دانه کتان ثبت شد ($P < 0.05$). تأثیر مکمل دانه کتان در ترکیب اسیدهای چرب اسپرم قوچ در جدول (۶) نشان داده شده است. مکمل دانه کتان بر درصد میریستیک، پالمیتیک، استئاریک، اولئیک، لینولئیک، EPA و DPA تأثیر نگذاشت، اما میزان DHA و نسبت PUFA n-6: n-3 و نسبت SFA: PUFA تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت ($P < 0.05$). گنجاندن جیره حاوی دانه کتان باعث افزایش DHA و نسبت n-3: n-6 PUFA و کاهش نسبت SFA: PUFA در گروه ۱۰ درصد در مقایسه با سایر گروه ها شد ($P < 0.05$). اثر متقابل طول زمان و تیمار در DHA، n-6: n-3 و نسبت SFA: PUFA نشان داد که در پایان هفته اول آزمایشات تاثیر معنی دارها وجود ندارد. با این حال، DHA و نسبت n-6: n-3 PUFA بالاتر و نسبت SFA: PUFA در تیمار ۱۰ درصد دانه کتان در مقایسه با سایر تیمارها پایین تر بود ($P < 0.05$).

برخی از شواهد حاکی از آن است که امگا ۳ دارای خاصیت ضد التهابی و کاهش استرس اکسیداتیو می باشد (۴). گلووتاتیون پراکسیداز از آنزیم های آنتی اکسیدانی مهمی است که هیدروژن پراکسیداز را در حضور گلووتاتیون احیاء شده کاتالیز می کند (۳۳). در این تحقیق میزان آنزیم گلووتاتیون پراکسیداز مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که افزودن دانه کتان نمی تواند به طور معنی داری باعث افزایش این آنزیم در خون بشود. در مطالعه حاضر، همانطور که انتظار می رفت اسید چرب DHA در گروه تیمار ۱۰ درصد دانه کتان نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی داری نشان داد که مشابه نتیجه ای بود که صمدیان و همکاران (۳۴) و جعفرآوقلی و همکاران (۲۱) از تأثیر روغن ماهی به عنوان منبع امگا ۳ بر اسیدهای چرب اسپرم بدست آورده بودند.

می شود و همچنین در صد اسپرم های غیر طبیعی در گروه ۱۰ درصد دانه کتان در مقایسه با سایر گروه های مربوطه کاهش یافته است ($P < 0.05$).

حسین شاه و همکاران (۲۰) نیز اعلام کردند استفاده از روغن این دانه موجب افزایش سطح تستوسترون سرم در بوفالوی نیلی می شود. علاوه بر این، ارتباط معنی داری بین اضافه کردن ۱۰٪ از دانه کتان و اکثر خصوصیات اسپرم که مورد ارزیابی قرار گرفتند از جمله اسپرم زنده، تحرک کل، عملکرد غشای پلاسمایی و وضعیت آکروزوم بعد از ۱۲ هفته تغذیه با آن دیده شد که با یافته های قبلی در گاو نر (۳۰)، بز (۲۲) و خرگوش (۲۸) سازگار بود. تحرک و زنده ماندن بالاتر اسپرم که در گروه های ۱۰ درصد دانه کتان مشاهده می شود، که با غلظت بالاتری از PUFA ها از جمله DHA همراه است که می تواند موجب انعطاف پذیری و سیالیت غشای پلاسمایی که قبلاً توضیح داده شده بود گردد. مشخص شده است که تبدیل اسیدهای چرب n-3 به DHA نقش مهمی در عملکرد فلاژلا و حرکت اسپرم ها دارد (۱۹). همایون خان و همکاران (۲۴) نیز اعلام کردند که دانه کتان به عنوان منبع امگا ۳ می تواند سبب اثرات مثبتی در پارامترهای تحرک اسپرم در گاو نر بشود که این درصد تحرک بیشتر شاید ناشی از ترکیب اسید چرب دم اسپرم که تحت تاثیر اسید چرب دانه کتان است باشد. مطالعات نشان داد که بیشترین تاثیر PUFAs در اسیدهای چرب دم اسپرم که عامل اصلی تحرک است می باشد (۲۸). جعفرآوقلی و همکاران (۲۱) اعلام کردند احتمالاً تاثیرات بیشتر منابع امگا ۳ بروری اسپرم های ضعیف و یا خارج از فصل تولید مثل می باشد. مطالعات دیگر همچنین نشان دادند که این افزایش تعداد اسپرم های زنده می تواند ناشی از مهار اپاپتوز بوسیله فعالیت PUFAs باشد (۱۰ و ۲۸). سایر محققین نیز اعلام کردند DHA می تواند سبب افزایش سطح تستوسترون سرم و تحرک اسپرم در انسان، خوک، بز و گوسفند گردد و دانه کتان یک منبع غنی از DHA می باشد (۹، ۱۰ و ۲۷).

یکپارچگی غشاء اسپرم یکی از پیش فاکتورهای مهم برای کیفیت اسپرم و انجام واکنش آکروزومی جهت لقاح و باروری می باشد (۷). در این مطالعه مورفولوژی و غشاء آکروزوم در تیمار ۱۰ درصد دانه کتان به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل بهبود یافته بود که این یافته با تحقیقاتی که جعفرآوقلی و همکاران (۲۱) بر روی اسپرم قوچ، غلامی و همکاران (۱۶) بر اسپرم گاو هولشتاین و ادل و همکاران (۱) بر روی اسپرم بوفالو که پیشتر از روغن ماهی به عنوان منبع امگا ۳ استفاده کرده بودند مطابقت داشت. تست هیپوسموتیک (HOST) که نشان دهنده یکپارچگی کل غشاء اسپرم می باشد انجام شد و نتایج نشان داد

جدول ۳- تأثیر مکمل جیره دانه کان بر قطر بیضه، غلظت تستوسترون پلازما و گلوکاتیون پراکسیداز (GPX) در قوچهای کردی در پایان هفته‌های ۱ و ۱۲^۱
Table 3- Effect of dietary flaxseed supplementation on testis circumference and plasma concentrations of testosterone and glutathione peroxidases (GPX) in Kurdish rams at the end of 1 and 12 weeks¹

متغیرها Variables	هفته اول First week						هفته ۱۲ 12 week						کل Total		P value	
	0% دانه کان FLS0% ³		5% دانه کان FLS5%		10% دانه کان FLS10%		0% دانه کان FLS0%		5% دانه کان FLS5%		10% دانه کان FLS10%		SEM ⁴	Treat ment	Time	Treatment × Time
	27.07	27.88	27.67	28.99	29.00	29.82	28.03	28.44	28.73	0.80	0.54	0.68	0.01	0.78		
محیط بیضه Testis circumference ² (cm)	27.07	27.88	27.67	28.99	29.00	29.82	28.03	28.44	28.73	0.80	0.54	0.68	0.01	0.78		
تستوسترون Testosterone (nM/L)	4.53 ^b	4.82 ^b	4.87 ^b	5.22 ^{ab}	5.52 ^{ab}	6.54 ^a	4.87 ^b	5.17 ^{ab}	5.71 ^a	0.07	0.06	0.05	<0.01	0.29		
گلوکاتیون پراکسیداز GSX (Hb/g)	385.00 ^{ab}	379.20 ^b	391.60 ^{ab}	388.60 ^b	391.00 ^{ab}	446.00 ^a	386.80	385.10	418.80	20.15	14.25	0.19	0.17	0.41		

^۱ میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P<0.05).

^۲ محیط هر دو بیضه

^۳ دانه کان

^۴ خطای استاندارد از میانگین

¹ Means in column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

² Circumference of both testicles

³ Flaxseed

⁴SEM, standard error of the mean

جدول ۴- تأثیر مکمل جیره دانه کتان در صفات کیفی اسپرم قوچ
Table 4. Effect of dietary flaxseed supplementation on quality attributes of ram sperm

متغیرها	هفته اول			هفته ۱۲			کل			P value			
	First week			12 week			Total			Treatment × Time			
	0% کتان FLS0%	5% کتان FLS5%	10% کتان FLS10%	0% کتان FLS0%	5% کتان FLS5%	10% کتان FLS10%	دانه کتان FLS10%	دانه کتان FLS5%	دانه کتان FLS0%	SEM Total	Treatment	Time	
غلظت اسپرم Semen concentration (×109/ml)	2.92 ^b	3.15 ^b	3.31 ^b	2.93 ^b	3.26 ^b	4.10 ^a	2.93 ^b	3.20 ^b	3.70 ^a	0.23	<0.01	0.12	0.21
اسپرم زنده (% Live sperm)	59.00 ^b	60.60 ^b	61.84 ^b	62.60 ^b	64.80 ^b	78.47 ^a	60.80 ^b	62.70 ^b	70.16 ^a	2.90	<0.01	<0.01	0.06
تحرک کلی Total motility (%)	53.80 ^b	54.60 ^b	55.28 ^b	55.40 ^b	57.34 ^b	78.47 ^a	54.60 ^b	55.97 ^b	62.24 ^a	3.01	0.04	0.02	0.09
عملکرد غشای پلاسمایی Plasma membrane functionality (%)	71.80 ^b	72.60 ^b	73.75 ^b	72.20 ^b	74.56 ^b	82.51 ^a	72.00 ^b	73.58 ^b	78.13 ^a	1.93	0.01	0.03	0.10
اسپرم غیر نرمال Abnormal sperm (%)	27.20 ^b	26.72 ^b	25.86 ^b	26.70 ^b	25.00 ^b	19.00 ^a	26.95 ^b	25.86 ^b	22.43 ^a	1.70	1.20	0.04	0.16
آکروزوم نرمال Normal acrosome (%)	84.60 ^b	85.40 ^b	85.80 ^b	86.38 ^b	87.64 ^b	91.68 ^a	85.49 ^b	86.52 ^b	88.74 ^a	1.42	1.01	<0.01	0.30

میانگینهای هر سطر با حروف غیر مشترک معنی دار می باشند (P<0.05)
 ۱ قوچ تغذیه نشده با جیره پایه همراه با سطوح مختلف دانه کتان (0، 5 و 10 درصد) طی ۱۲ هفته
 ۲ خطای استاندارد از میانگین

The averages of each line with non-common letters are significant (P<0.05)
 1 Rams fed with basic diet with different levels of flaxseed (0, 5 and 10%) during 12 weeks
 2 Note: SEM, standard error of the mean

جدول ۵- تأثیر مکمل خیره دانه کان بر ویژگیهای حرکتی اسپرم قوچ
Table 5. Effect of dietary flaxseed supplementation on motion characteristics of ram sperm

متغیرها	هفته اول						هفته ۱۲						P value		
	First week			12 week			Total			SEM Total	Treatment	Time	Treatment× Time		
	0% ¹ کان	5% کان	10% کان	0% کان	5% کان	10% کان	0% کان	5% کان	10% کان						
خطی بودن حرکت	61.90	62.56	63.60	63.48	63.60	64.00	62.69	63.08	63.80	1.93	1.37	0.53	0.21		
LIN(%)															
درصد مستقیم بودن	87.00	87.80 ^{ab}	88.20 ^{ab}	89.46 ^{ab}	90.00 ^{ab}	93.20 ^a	88.23	88.90	90.70	1.94	0.22	0.43	0.71		
STR(%)															
دامنه نوسانات جانبی سر اسپرم	2.91	2.89	2.80	3.07	2.83	2.66	2.99	2.87	2.73	0.21	0.15	0.48	0.77		
ALH(μm)															
فرکانس نوسانات سر اسپرم	9.30 ^c	9.87 ^{bc}	10.32 ^b	9.60 ^{bc}	9.90 ^{bc}	11.31 ^a	9.45 ^b	9.89 ^b	10.82 ^a	0.31	0.22	<0.01	0.09		
BCF (Hz)															
میانگین سرعت در مسیر منحنی	149.00 ^b	148.00 ^b	151.20 ^b	149.60 ^b	150.60 ^b	159.20 ^a	149.30	149.30	155.20	3.07	2.17	0.11	0.47		
VCL(μm/s)															
میانگین سرعت حرکتی اسپرم در مسیر مستقیم	104.20 ^b	105.00 ^b	106.36 ^b	104.30 ^b	105.20 ^b	110.88 ^a	104.25 ^b	105.10 ^b	108.62 ^a	1.16	0.82	<0.01	0.10		
VSL(μm/s)															
میانگین سرعت اسپرم در میانگین مسیر	101.00 ^b	103.00 ^b	101.00 ^b	103.60 ^b	104.20 ^b	119.00 ^a	102.30 ^b	103.60 ^b	110.00 ^a	1.49	1.05	<0.01	<0.01		
VAP(μm/s)															

(P<0.05) میانیهای هر ستون یا حروف غیر مشترک معنی دار می باشد

دانه کان

میانگین سرعت در مسیر منحنی، میانگین سرعت حرکتی اسپرم در مسیر مستقیم، میانگین سرعت اسپرم در میانگین مسیر واقعی، خطی بودن حرکت، درصد مستقیم بودن، دامنه نوسانات جانبی سر اسپرم، فرکانس نوسانات سر اسپرم

The averages of each line with non-common letters are significant (P<0.05)

¹ Flaxseed

(VSL) straight-line velocity, (VAP) average path velocity, (LIN) linearity, (STR) straightness, (ALH) amplitude of lateral head displacement, (BCF) beat-cross frequency

جدول ۶- تأثیر مکمل جیره دانه کتان بر ترکیب اسیدهای چرب (درصد) اسپرم قوچ
 Table 6. Effect of dietary flaxseed supplementation on fatty acid composition (%) of ram sperm

مشغیرها	کل												P value	
	هفته اول				12 هفته				Total				SEM Total	Treatment× Time
	0% دانه کتان FLS0 % ¹	5% دانه کتان FLS5 %	10% دانه کتان FLS10 %	0% دانه کتان FLS0 %	5% دانه کتان FLS5 %	10% دانه کتان FLS10 %	0% دانه کتان FLS0 %	5% دانه کتان FLS5 %	10% دانه کتان FLS10 %	SEM	Treatment			
میرستیک Myristic C14:0	7.12	7.32	7.56	7.21	7.04	6.88	7.17	7.18	7.22	0.54	0.38	0.99	0.51	0.77
پالمیتیک Palmitic C16:0	28.13 ^{bc}	28.93 ^{abc}	29.19 ^{ab}	31.64 ^a	21.97 ^{bc}	25.72 ^{bc}	29.88 ^a	28.08 ^{ab}	27.45 ^b	1.22	0.87	0.14	0.57	0.02
استئاریک Stearic C18:0	19.50	18.50	17.69	19.00	17.61	16.03	19.24	18.06	16.86	1.25	0.88	0.19	0.33	0.89
اولئیک Oleic C18:1	8.01	7.24	7.07	8.23	7.89	7.12	8.12 ^a	7.56 ^{ab}	7.09 ^b	0.52	0.36	0.16	0.47	0.84
لینولیک C18:2 (n - 6)	5.88 ^a	5.59 ^a	5.39 ^a	5.30 ^{ab}	4.92 ^{ab}	4.35 ^b	5.58 ^a	5.25 ^{ab}	4.87 ^b	0.34	0.24	0.14	0.01	0.87
ایکوزاپنتانویک اسید EPA ¹ C20:4 (n - 6)	2.52	2.81	2.96	2.44	2.89	3.11	2.48 ^b	2.85 ^{ab}	3.03 ^a	0.26	0.18	0.11	0.81	0.89
دوکوزاپنتانویک اسید (DPA20:5 (n - 3	0.60	0.54	0.54	0.63	0.64	0.70	0.62	0.59	0.62	0.06	0.04	0.90	0.07	0.54
دوکوزاهگزانویک اسید DHA22:6 (n - 3)	22.18 ^b	22.52 ^b	22.90 ^b	23.08 ^b	24.54 ^b	31.47 ^a	22.63 ^b	23.53 ^b	27.19 ^a	0.84	0.60	<0.01	<0.01	<0.01
n-3/n-6 SFA/PUFA ³	2.79 ^b 1.75a ^b	2.73 ^b 1.81 ^{ab}	2.84 ^b 1.78 ^{ab}	3.10 ^b 1.83 ^a	3.21 ^b 1.63 ^b	4.33 ^a 1.27 ^c	2.94 ^b 1.78 ^a	2.97 ^b 1.72 ^a	3.59 ^a 1.52 ^a	0.17 0.09	0.12 0.06	<0.01 <0.01	<0.01 <0.01	<0.01 <0.01

خطای استاندارد از میانگین،
¹ ایکوزاپنتانویک اسید،
² دوکوزاهگزانویک اسید،
³ اسید چرب اشباع، اسید چرب غیر اشباع با ماند مضاعف

Note: SEM, standard error of the mean;

¹ EPA, Eicosapentaenoic acid

² DHA, Docosahexaenoic acid

³ SFA, Saturated fatty acid, PUFA, Polyunsaturated fatty acid.

نتیجه‌گیری کلی

می‌توان نتیجه‌گیری کرد که افزودن ۱۰ درصد دانه کتان به جیره قوچ کردی در خارج از فصل تولید مثل می‌تواند سبب بهبود کیفیت اسپرم گردد. همچنین ترکیب اسید چرب اسپرم می‌تواند تحت تاثیر چربی جیره قرار گیرد. اما تحقیقات بیشتری نیاز است تا بتوان اثرات دیگر اشکال دانه کتان مانند روغن و پودر را بررسی کرد. همچنین پیشنهاد می‌شود در فصل تولید مثل و با مقادیر دیگر نیز مطالعات مشابهی انجام گیرد.

در پژوهش Fair و همکاران (۱۴) که در آن قوچ‌ها با مکمل روغن ماهی تغذیه شده بودند، اختلاف معنی‌داری در میزان DHA مشاهده نشد اما بیان کردند که غلظت EPA اسپرم‌ها افزایش یافته است این اختلاف یافته شاید به دلیل فصل آزمایش و یا میزان اسید چرب امگا ۳ جیره باشد. نسبت اسیدهای چرب اشباع به PUFA کمی کاهش یافته بود اما این تفاوت در هر دو سطح ۵ و ۱۰ درصد معنی‌دار نبود.

منابع

1. Adeel, M. I. A. 2009. Improvement of liquid and frozen-thawed semen quality of Nili-Ravi buffalo bulls (*Bubalus bubalis*) through supplementation of fat. *Theriogenology*, 71:1220–1225.
2. Aksoy, Y., H. Aksoy, K. Altinkaynak, H. R. Aydin, and A. Ozkan. 2006. Sperm fatty acid composition in subfertile men. Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids. 75(2): 75-79
3. Al-Anazi, Y., M. Al-Mutary, M. Al-Ghadi, M. Alfuraiji, A. Al-Himaidi, and A. Ammari. 2017. Seasonal variations in scrotal circumference and semen characteristics of Naimi and Najdi rams in Saudi Arabia. *South African Journal of Animal Science*, 47: 454-459.
4. Aliasghari, F., M. H. Eftekhari, M. A. Babaei Beigi, J. Hasanzadeh, and N. Mazooji. 2013. The effect of conjugated linoleic acids and omega-3 fatty acids supplementation on some inflammatory and oxidative stress markers in atherosclerosis. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 4:35-44.
5. Alizadeh, A., V. Esmaili, A. Shahverdi, and M. Rashidi. 2014. Dietary Fish Oil Can Change Sperm Parameters and Fatty Acid Profiles of Ram Sperm during Oil Consumption Period and after Removal of Oil Source. *Cell Journal*, 16(3): 289-298.
6. Bouwens, M. V. D. 2009. Fish-oil supplementation induce antiinflammatory gene expression profiles in human blood mononuclear cells. *American Journal of Clinical Nutrition*, 90:415-424.
7. Brinsko, S. P., D. D. Varner, C. C. Love, T. L. Blanchard, and Day. 2005. Effect of feeding a DHA-enriched nutraceutical on the quality of fresh, cooled and frozen stallion semen. *Theriogenology*, 63: 1519–1527.
8. Cerolini, S., L. Zaniboni, A. Maldjian, and T. Gliozzi. 2006. Effect of docosahexaenoic acid and [alpha]-tocopherol enrichment in chicken sperm on semen quality, sperm lipid composition and susceptibility to peroxidation. *Theriogenology*, 66: 877–886.
9. Conquer, J. A., J. B. Martin, I. Tummon, L. Watson and Tekp. 1999. Fatty acid analysis of blood serum, seminal plasma, and spermatozoa of normozoospermic vs Asthernozoospermic males. *Lipids*, 34: 793–799.
- 10-. Dolatpanah, M. B., A. Towhidi, A. Farshad, Rashidi A, and A. Ezayazdi. 2008. Effect of fish oil on semen quality of goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 21:29–34.
11. Drokin, S. I, T. N. Vaisberg, E. F. Kopeika, K. D. Miteva, and G. L. Pironecheva. 1999. Effect of cryopreservation on lipids and some physiological features of spermatozoa from rams pastured in highlands and in valleys. *Cytobioscience*, 100(393):27-36
12. Eslamian, G., N. Amirjannati, M. R. Sadeghi, Rashidkhani, B, S. Pahlavan, A. Hooshangi, and A. Hekmatdoost 2013. The effects of combined supplementation of docosahexaenoic acid and vitamin E on fatty acid changes in sperm membrane in asthenozoospermic men. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 8 (1): 125-129.
- 13-. Esmaili, V., A. Shahverdi, A. R. Alizadeh, H. Alipour, and A. Towhidi. 2012. Fatty acid profiles of ram's sperm after removing some fatty acid sources from the diets and persistency of fatty acids in sperm. *International Journal of Fertility and Sterility*, 5(4): 211-216.
14. Fair, S., D. N. Doyle, M. G. Diskin, and A. A. Hennessy. 2014. The effect of dietary n – 3 polyunsaturated fatty acids supplementation of rams on semen quality and subsequent quality of liquid stored semen. *Theriogenology*, 81: 210–219.
15. Folch, J. L. S. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226: 497–509.
16. Gholami, H., M. Chamani, A. Towhidi, M. H. Fazeli. 2010. Effect of feeding a docosahexaenoic acid-enriched nutraceutical on the quality of fresh and frozen-thawed semen in Holstein bulls. *Theriogenology*, 74:1548–58.

17. Gulliver, C. E., M. A. Friend, B. J. King, and E. T. Clayton. 2012. The role of omega-3 polyunsaturated fatty acids in reproduction of sheep and cattle. *Animal Reproduction Science*, 131: 9–22.
18. Hamilton, S., R. J. Hamilton, and P. A. Sewell. 1992. Extraction of lipids and derivative formation. In: *Lipid Analysis—A Practical Approach*. University Press, Oxford, UK, pp.13–64.
19. Hedayat-Evrigh, N., F. Moradi, V. Vahedi, B. Navidshad, and A. Seifi-Jamadi. 2019. Influence of various dietary fat sources on freezing capacity of Moghani ram semen. *South African Journal of Animal Science*, 49: 505-512.
20. Hussain Shah, S. M., A. Shujait, M. Zubair, H. Jamil, and A. Nazir. 2016. Effect of supplementation of feed with Flaxseed (*Linum usitatissimum*) oil on libido and semen quality of Nilli-Ravi buffalo bulls. *Journal of Animal Science and Technology*, 58:25.
21. Jafaroghli, M., H. Abdi-Benemar, M. J. Zamiri, B. Khalili, A. Farshad, and A. Shadparvar. 2014. Effects of dietary n-3 fatty acids and vitamin C on semen characteristics, lipid composition of sperm and blood metabolites in fat-tailed Moghani rams. *Animal reproduction science*, 147: 17-24.
22. Kargar, R., M. Forouzanfar, G. Ghalamkari, and M. H. Nasr Esfahani. 2017. Dietary flax seed oil and/or Vitamin E improve sperm parameters of cloned goats following freezing-thawing. *Cryobiology*, 74: 110-114.
23. Kesavulu, M. K. B. 2002. Effect of w-3 fatty acids on lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in type2 diabetic patients. *Diabetesmetab (paris)*, 28:20-26.
24. Khan, H., S. M. Qureshi, I. Khan, S. U. Rehman, and U. L. T. Mehsud. 2015. Dietary Flaxseed supplementation effect on bovine semen quality parameters. *Veterinaria*, 3: 9-13.
25. Khosroshahi, H., J. Houshyar, A. Tabrizi, A. Vatankhah, and N. Zonouz. 2010. Effect of omega-3 fatty acid on oxidative stress in patients on hemodialysis. *Iranian Journal of Kidney Diseases*, 4:322-327.
26. Mania, S., R. Tylingo, and A. Michałowska. 2018. The drop-in-drop encapsulation in chitosan and sodium alginate as a method of prolonging the quality of linseed oil. *Polymers*, 10:1355.
27. Mehdizadeh haft cheshmeh, K., F. Farokhi Ardebili, and A. Bernoosi. 2011. Effect of staining method on morphometry of Ghezel sperm head with using CASA. *First National Congress of Agricultural Science & Technology (MAST)*. University of Zanjan, 19 to 21 September.
28. Mourvaki, E., R. Cardinali, A. Dal Bosco, L. C. Corazzi, and C. Castellini. 2010. Effects of flaxseed dietary supplementation on sperm quality and on lipid composition of sperm subfractions and prostatic granules in rabbit. *Theriogenology*, 73: 629-637.
29. Paglia, D. E., and W. N. Valentine. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 70: 158-169
30. Perumal, P., S. Chang, K. Kobu, K. Vupru, and S. Bag. 2019. Flaxseed oil modulates semen production and its quality profiles, freezability, testicular biometrics and endocrinological profiles in mithun. *Theriogenology* 136:47-59.
31. Piornos, J. A., C. Burgos-Diaz, E. Morales, M. Rubilar, and F. Acevedo. 2017. Highly efficient encapsulation of linseed oil into alginate/lupin protein beads: Optimization of the emulsion formulation. *Food Hydrocolloids*, 63: 139-148.
32. Rooke, J. A., C. C. Shao, and B. K. Speake. 2001. Effects of feeding tuna oil on the lipid composition of pig spermatozoa and in vitro characteristics of semen. *Reproduction*, 121: 315–322.
33. Rush, J., and S. H. Sandiford. 2003. Plasma glutathione peroxidase in healthy young adults: influence of gender and physical activity. *Clinical Biochemistry*, 36:345-351.
34. Samadian, F., A. Towhidi, K. Rezayazdi, and M. Bahreini. 2010. Effects of dietary n-3 fatty acids on characteristics and lipid. *Animal*, 4 (12), 2017–2022.
35. SAS (2004) 'Statistical Analysis Software.' (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA).
36. Zaniboni, L., R. Rizzi, and S. Cerolini. 2006. Combined effect of DHA and -tocopherol enrichment on sperm quality and fertility in the turkey. *Theriogenology*, 65: 1813–1827.



The effect of dietary flaxseed supplementation on sperm fatty acid composition, semen quality attributes and some blood parameters in Kurdish ram

Saeed Firouzeh¹, Amir Hooshang Fallah rad^{2*}, Pezhman Mirshokraei², Abbas Parham³ and Mohsen Danesh mesgaran⁴

Submitted: 14-06-2020

Accepted: 19-10-2020

Introduction Reproductive performance of domestic animals has a great impact on the profitability of the farms. It has been shown that several factors such as breed, age, season and nutritional management affect the quality of the produced semen and consequently fertility of rams. Among various nutritional factors influencing semen quality, fat has a great impact on both quantity and quality of produced spermatozoa so that its value is correlated with cell membrane fluidity, potent intracellular signal transduction molecules, and susceptibility to oxidative damage. It has been postulated that by participating in sperm plasma membrane fatty acids (FA), the ingested fat can change the ratio of polyunsaturated to saturated fatty acids (PUFA: SFA) and thereby improve several aspects of sperm quality. Also, lipids comprise a wide-range class of molecules that not only is served as a source of energy but also play a crucial role in the structure and function of spermatozoa. Dietary n³ PUFA supplementation has also shown to improve semen quality parameters in rams. Flaxseed oil contains up to 90% PUFAs, of which about 50% is α -linolenic acid. Several studies conducted during past decades indicate that dietary flaxseed supplementation improves sperm parameters of different species such as bovine, goat and rabbit.

Materials and Methods Fifteen mature 3-5 years old Kurdish ram weighing 65 \pm 2.5 kg (mean \pm SE) were randomly allocated into three groups during 12 weeks of the experimental period. Animals were individually fed a standard basal diet supplemented with different levels of flaxseed. Treatment included FLS-0 (basal diet; control), FLS-5 (basal diet containing 5% flaxseed) and FLS-10 (basal diet containing 10% flaxseed). Blood and fresh semen samples were collected at weeks 1 and 12 of the experiment. The collected samples were examined for sperm concentrations, sperm motility, viability, acrosome integrity, host test and fatty acids profiles. The testis circumference was measured with flexible cloth tape. The largest circumference of the testes and both scrotum was measured after pushing the testes firmly into the scrotum. To measure plasma concentrations of glutathione peroxidase and testosterone, blood samples were collected from the jugular vein of all the rams at the beginning and after 1 and 12 weeks of feeding experimental diet.

Results and Discussion Flaxseed supplementation did not affect testicles circumference, however, supplementation of flaxseed increased plasma concentrations of testosterone in (10% flaxseed) FLS-10 group compared to (5% flaxseed) FLS-0 ($P < 0.05$). Treatment, time and their interaction did not affect glutathione peroxidase (GPX) activity. Semen concentration, proportion of live sperm, total motility and plasma membrane functionality was higher in FLS-10 compared to FLS-5 and FLS-0 groups ($P < 0.05$). Flaxseed supplementation tended to increase percentage of sperm with normal acrosome ($P < 0.01$); however, percentage of abnormal was decreased in FLS-10 compared to the other corresponding groups ($P < 0.05$). Treatment, time and interaction effect of treatment \times time did not affect LIN, STR, ALH and VCL ($P > 0.05$). However, BCF and VSL were improved in FLS-10 group as compared to the FLS-5 and FLS-0 group ($P < 0.05$). A significant interactive effect of treatment

1-Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2- Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine; Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

3- Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine; Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

4-Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

(*- Corresponding Author Email: umfallah@um.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.v13i3.87332

× time was noted for VAP, where flaxseed supplementation did not affect VAP at first week of the experiment but higher VAP was recorded in FLS-10 compared to FLS-0 and FLS-0 groups after 12 weeks of flaxseed feeding ($P<0.05$). Flaxseed supplementation did not affect percentage of myristic, palmitic, stearic, oleic, linoleic, EPA and DPA, but the proportion of DHA, and the ratio of n-3:n-6 PUFA and SFA:PUFA was affected by the treatments ($P<0.05$). Dietary inclusion of flaxseed increased proportion of DHA and n-3: n-6 PUFA ratio and decreased SFA: PUFA ratio in FLS-10 compared to FLS-5 and FLS-0 ($P<0.05$). The interactive effect of treatment × time on DHA, n-3: n-6 and SFA: PUFA ratio revealed that there was no significant effect between treatment after first week of the experiment; however, proportion of DHA and n-3: n-6 PUFA ratio was higher and SFA: PUFA ratio was lower in FLS-10 compared to FLS-5 and FLS-0 ($P<0.05$). the significant correlations between addition of 10% flaxseed and most of the evaluated semen characteristics including live sperm, total motility, plasma membrane functionality, and acrosome status following 12 weeks of treatment feeding was in agreement with previous findings in male goat and rabbit. Other fatty acids concentrations, such as, linoleic acid, and docosahexaenoic acid (DHA) was improved by dietary flaxseed supplementation.

Conclusion It can be concluded that adding 10% flaxseed to the Kurdish ram diet out of the breeding season can improve sperm quality. Sperm fatty acid composition can also be affected by dietary fat. But more research is needed to look at the effects of other flaxseed products, such as oil and powder. It is recommended that similar studies be conducted during the breeding season and with other amounts of flaxseed.

Keywords: Fatty acid, Flaxseed, Omega-3, Kurdish Ram, Sperm