

SID



سرویس های ویژه



سرویس ترجمه تخصصی



کارگاه های آموزشی



بلاگ مرکز اطلاعات علمی



عضویت در خبرنامه



فیلم های آموزشی

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی



کارگاه آنلاین آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترند های جستجو



مباحث پیشرفته یادگیری عمیق؛ شبکه های توجه گرافی (Graph Attention Networks)



کارگاه آنلاین مقاله نویسی IEEE و ISI ویژه فنی و مهندسی



تأثیر زرده تخم مرغ محلی و صنعتی در رقیق کننده تریس بر زنده‌مانی و ناهنجاری‌های مورفولوژی اسپرم قوچ عربی

شهرام شمسی‌گرافی^۱، مرتضی مموتی^۲، صالح طباطبائی وکیلی^۳، خلیل میرزاده^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان ۲- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان ۳- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز، ایران

نویسنده مسئول: Email: sh.shamsi1367@gmail.com

چکیده

به منظور بررسی اثرات زرده تخم مرغ صنعتی و محلی در رقیق‌کننده تریس بر زنده‌مانی و ناهنجاری‌های مورفولوژی اسپرم قوچ در شرایط مایع، منی از ۱۰ رأس قوچ نژاد عربی بارو در فصل تولیدمثلی (فروردین و اردیبهشت) با استفاده از دستگاه الکترواجاکولاتور جمع‌آوری شد. سپس نمونه‌ها بلافاصله با هم مخلوط و به دو قسمت مساوی تقسیم شدند و به هر قسمت یکی از رقیق‌کننده‌های تریس حاوی زرده تخم (صنعتی و محلی) اضافه گردید و در چهار زمان (۱، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت) پس از نگهداری منی بحالت مایع، گسترش تهیه و درصد زنده‌مانی و ناهنجاری‌های مورفولوژی اسپرم بررسی شد. این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که درصد زنده‌مانی در زمان اول (یک ساعت پس از اختلاط اسپرم با رقیق‌کننده)، در تخم مرغ صنعتی (۸۰/۸۳ درصد) بود که در مقایسه با مرغ محلی (۸۶/۸۸ درصد) به طور معنی‌داری کمتر بود به همین ترتیب در زمان‌های دوم، سوم و چهارم (۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت) آمار تفاوت معنی‌داری بین این دو وجود داشت. درصد ناهنجاری‌های مورفولوژی با گذشت زمان افزایش یافت اما از این حیث بین دو رقیق‌کننده اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. بطور کلی، نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از زرده تخم مرغ محلی در مقایسه با مرغ صنعتی در رقیق‌کننده تریس، سبب افزایش درصد زنده‌مانی اسپرم قوچ عربی در شرایط نگهداری مایع شد.

کلید واژه‌ها: اسپرم‌گیری، رقیق‌کننده تریس، زنده‌مانی، قوچ عربی، ناهنجاری‌های مورفولوژی

مقدمه:

پژوهشگران صنعت تلقیح مصنوعی دریافتند اسپرم در منی رقیق نشده فقط برای مدت کوتاهی زنده مانده و از طرفی خنک کردن آهسته منی رقیق‌نشده تا پنج درجه سانتی‌گراد باعث مرگ تعداد زیادی از اسپرم‌ها می‌شود. روش‌های مختلفی جهت کاهش خسارت‌های ناشی از شوک سرما طی ذخیره‌سازی پیشنهاد شده است. کنترل سرعت سرد شدن و استفاده از زرده تخم‌مرغ از جمله ابزار مقابله با آسیب‌های شوک سرما هستند (۵). زرده تخم‌مرغ یکی از اجزاء معمول محافظت‌کننده در رقیق‌کننده منی پستانداران است (۴) که مکانیسم حفاظتی آن را به لیپوپروتئین‌ها و لیسیترین موجود در فسفولیپیدهای زرده تخم‌مرغ نسبت می‌دهند (۱). هدف از پژوهش کنونی مقایسه تأثیر زرده تخم‌مرغ محلی و صنعتی بر زنده‌مانی و ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم قوچ عربی طی نگهداری در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد بود.



مواد و روش‌ها

عمل اسپرم‌گیری با استفاده از ۱۰ رأس قوچ نژاد عربی بارور در فصل تولید مثلی (فروردین و اردیبهشت ماه) با استفاده از دستگاه اجاکولاتورالکتريکی انجام گردید و نمونه منی به دو بخش مساوی تقسیم و به هر کدام، رقیق‌کننده پایه تریس- فروکتوز-زرده تخم‌مرغ صنعتی یا محلی (۱۴٪) افزوده شد و سپس در ۴ زمان نگهداری منی بحالت مایع (۱، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت)، گسترش تهیه شد و درصد زنده‌مانی و ناهنجاری‌های مورفولوژی اسپرم‌ها مشخص گردید. برای ارزیابی میزان اسپرم‌های زنده و مرده از رنگ‌آمیزی حیاتی ائوزین-نیگروزین استفاده گردید. پس از تهیه گسترش، لام را زیر میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی $\times 400$ قرار داده و از هر نمونه ۲۰۰ اسپرم شمارش شد و درصد اسپرم‌های رنگی (مرده) و رنگ نشده (زنده) محاسبه شد. ارزیابی درصد ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم با استفاده از لام‌های رنگ‌آمیزی شده با ائوزین-نیگروزین تحت بزرگ‌نمایی بالای میکروسکوپ نوری ($\times 1000$) انجام گرفت. حداقل تعداد ۲۰۰ اسپرم زنده در میدان‌های میکروسکوپی مختلف در هر نمونه مورد ارزیابی قرار گرفته و سپس میزان اسپرم‌های ناهنجار مشاهده شده بر حسب درصد بیان گردید. برای ارزیابی مورفولوژی اسپرم نقایصی چون، سر جداشده، قطره سیتوپلاسمی دور، دم پیچ خورده، سر باریک و سر بزرگ مدنظر قرار گرفت آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. برای این منظور از نرم افزار SAS و رویه GLM استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج آزمایش نشان داد که با گذشت یک ساعت پس از اعمال تیمار، درصد زنده‌مانی اسپرم در رقیق‌کننده حاوی تخم‌مرغ صنعتی معادل $80/83$ درصد و با استفاده از رقیق‌کننده حاوی تخم‌مرغ محلی در حدود $86/88$ درصد بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در این زمان بین درصد زنده‌مانی اسپرم‌ها اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$)، بطوریکه درصد زنده‌مانی اسپرم‌ها در رقیق‌کننده حاوی تخم‌مرغ محلی در حدود ۷ درصد بیشتر از رقیق‌کننده حاوی تخم‌مرغ صنعتی بود. نتایج مشابهی با گذشت ۶ ساعت پس از اعمال تیمارها بین رقیق‌کننده حاوی تخم‌مرغ صنعتی و رقیق‌کننده حاوی تخم‌مرغ محلی مشاهده شد. در این زمان، درصد زنده‌مانی اسپرم‌ها در رقیق‌کننده حاوی تخم‌مرغ محلی در حدود ۸ درصد بیشتر از رقیق‌کننده حاوی تخم‌مرغ صنعتی بود که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0/05$). در زمان سوم (۱۲ ساعت) پس از نگهداری، اختلافی در حدود ۸ درصد بین دو تیمار مشاهده شد که درصد زنده‌مانی در رقیق‌کننده حاوی تخم‌مرغ صنعتی به $61/67$ درصد، و مرغ محلی به $69/38$ درصد رسید ($P < 0/05$). ۲۴ ساعت پس از نگهداری اختلاف بین دو تیمار بیشتر شد (حدود ۲۰ درصد) و به $39/17$ درصد در مرغ محلی و $59/38$ درصد در مرغ محلی رسید که این اختلاف از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نشان داد (جدول-۱، $P < 0/05$).



جدول ۱- درصد زنده‌مانی اسپرم در رقیق‌کننده تریس در چهار زمان نگهداری

تیمار	زمان اول	زمان دوم	زمان سوم	زمان چهارم
تخم مرغ صنعتی	۸۰/۸۳ ^b	۷۰/۰۰ ^b	۶۱/۶۷ ^b	۳۹/۱۷ ^b
تخم مرغ محلی	۸۶/۸۸ ^a	۷۸/۱۳ ^a	۶۹/۳۸ ^a	۵۹/۳۸ ^a

a, b- میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک بر اساس آزمون دانکن دارای اختلاف معنی دار هستند ($P < 0.05$).

زمان اول، دوم، سوم و چهارم به ترتیب؛ یک، شش، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از نگهداری پس از اعمال تیمار می‌باشد

یکی از عوامل عمده کاهش تحرک و زنده‌مانی اسپرم، افزایش زمان نگهداری در دماهای پایین می‌باشد. از طرفی مشخص شده است که با افزایش مدت نگهداری اسپرم در دماهای پایین، تولید انواع اکسیژن‌های واکنش پذیر افزایش می‌یابد که اثرات مخربی بر روندهای متابولیکی می‌گذارند و می‌توانند باعث شروع پراکسیداسیون لیپید و تخریب ساختار میتوکندری اسپرم و در نهایت منجر به مرگ سلول شوند (۶). ترکیبات حاوی کیلات (مانند فسوتین، سرولوپلاسمین، اوالبومین و اوترنسفرین) موجود در زرده تخم مرغ با اتصال به یون‌های فلزی آزاد مانع تولید رادیکال‌های آزاد می‌شوند (۳). احتمالاً دلیل عدم تفاوت در زنده‌مانی اسپرم در منابع مختلف زرده ناشی از مجاورت زود هنگام زرده تخم مرغ و اسپرم در هنگام جمع‌آوری منی می‌باشد.

مقایسه درصد ناهنجاری‌های مورفولوژیکی در رقیق‌کننده تریس حاوی زرده‌های تخم مرغ محلی و صنعتی طی زمان‌های نگهداری در جدول ۲- ارائه شده است. نتایج نشان داد که در هیچ یک از زمان‌های نگهداری (۱، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت) بین دو رقیق‌کننده تریس حاوی این دو زرده تخم مرغ (محلی و صنعتی)، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$). اما بطور کلی درصد ناهنجاری‌های مورفولوژی اسپرم در هر دو رقیق‌کننده با گذشت زمان افزایش یافت (جدول ۲).

حضور زرده تخم مرغ طی ذخیره‌سازی در سرما مانع از خروج کلسترول از غشا اسپرم می‌شود (۲)، و از طریق جایگزینی فسفاتیدیل کولین به جای فسفولیپیدهای خارج شده از غشاء موجب پایداری غشای پلاسمایی اسپرم در طی مدت زمان ذخیره‌سازی آن می‌شود (۷). نتایج نشان داد که زرد تخم مرغ محلی و صنعتی نتوانست اثر مثبتی بر ناهنجاری‌های مورفولوژیکی مورد ارزیابی در زمان‌های مختلف (۱، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت) پس از نگهداری ایجاد کنند، که شاید به این دلیل باشد که آسیب‌های حاصل از کاهش دما و نگهداری نمونه اسپرم در طی زمان (شش، ۱۲ و ۲۴ ساعت)، بر میتوکندری، DNA و یا ساختار داخلی غشاء اسپرماتوزوآ ایجاد شده باشد که با میکروسکوپ نوری و با روش رنگ آمیزی ائوزین-نیگروزین قابل رؤیت نباشد و این محافظت‌کننده تأثیری بر آسیب ظاهری سلول اسپرم نداشته باشد.

جدول ۲- درصد ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم در رقیق‌کننده تریس حاوی زرده‌های مختلف طی زمان‌های نگهداری

تیمار	زمان اول	زمان دوم	زمان سوم	زمان چهارم
تخم مرغ صنعتی	۵/۱۷	۶/۱۷	۷/۵۰	۸/۳۳
تخم مرغ محلی	۵/۵۰	۷/۱۳	۸/۱۳	۸/۳۸

a, b- میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی دار هستند ($P < 0.05$).

زمان‌های اول، دوم، سوم و چهارم به ترتیب یک، شش، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از اعمال تیمار می‌باشد.



منابع

1. Bergeron, A and P. Manjunath. 2006 .New insights towards understanding the mechanisms of sperm protection by egg yolk and milk. *Molecular Reproduction and Development* Volume 73 Issue 10, Pages 1338 – 1344
2. Bergeron, A., Villemure, M., Lazure, C. and Manjunath, P. 2005. Isolation and characterization of the major proteins of ram seminal plasma. *Molecular Reproduction Development* 71: 461-470.
3. Mann, K. and M. Mann. 2008. The chicken egg yolk plasma and granule proteomes. *Proteomics*. 8: 178-191.
4. Sansone, G., M.J.F. Natri. and A. Fabbrocini,. 2000. Storage of buffalo (*Bubalus bubalis*) semen. *Animal Reproduction Science* 62: 55–76.
5. Secer, S., N, Tekin., Y, Bozkurt., N, Bukan. and E, Akcay. (2004). Corrlation between biochemical and spermatological parameter in Rainbow trout semen. *Aquaculture* 56: 274 – 280.
6. Trincherro, G.D., M.A. Affranchino, L.M. Schang and M.T. Beconi. 1990. Antioxidant effect of bovine spermatozoa on lipid peroxidation. *Comp. Biol.* 8:339-350
7. Witte TS and Schafer-Somi S (2007) Involvement of cholesterol, calcium and progesterone in the induction of capacitation and acrosome reaction of mammalian spermatozoa. *Animal Reproduction Science* 102: 181–193.

The effect of egg yolk of indigenous and industry chickens in Tris diluents on the viability and morphology of spermatozoa abnormalities Arabic ram

Shahram Shamsi Gazafi¹, Morteza Mamouei², Saleh Tabatabaei Vakili³, Khalil Mirzadeh³

1. Graduate student of Animal Physiology
2. Associated Professors, Department of Animal Science
3. Assistant Professors Department of Animal Sciences, Faculty of Animal Science, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan.

Abstract

Running a successful artificial insemination needs the correct semen collection and assessment. To investigate the effect of egg yolks from industry and Local chickens in Tris extender on viability and morphological abnormalities of Arabic ram spermatozoa in liquid condition, semen samples from 10 Arabic rams in breeding season (April and May) with using Electro ejaculator and immediately mixed. Semen samples were divided in 2 parts and were extended with Tris dilution contains egg yolks of industry and indigenous chickens (14%). The spermatozoa viability was assessed after semen storage in liquid condition for 1, 6, 12 and 24 hours. This experiment was conducted in a factorial experiment with using completely randomized design. The comparison of means showed that the survival rate of spermatozoa in industry and indigenous chickens reduced during storage of semen. In first time (1 hour after mixing sperm with diluent), the survival reduction of spermatozoa in industry chicken egg yolk (80.83%) was higher than indigenous egg yolk (86.88%) ($P < 0.05$). Similarly, in the second, third and fourth times (6, 12 and 24 hours), this reduction of spermatozoa viability was significant. The percentage of morphological abnormalities at all times (1, 6, 12 and 24 hours) increased, but this difference was not significant. Overall, results of this study showed that the use of indigenous chicken egg yolk in comparison with industry chicken egg yolk caused the above spermatozoa viability rate in Arabic ram under liquid storage of semen.

Keywords: Arabic Ram, Semen collection, Morphological abnormalities, Sperm Viability, Tris dilution.

SID



سرویس های ویژه



سرویس ترجمه تخصصی



کارگاه های آموزشی



بلاگ مرکز اطلاعات علمی



عضویت در خبرنامه

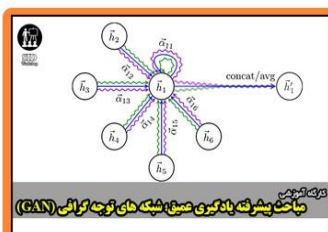


فیلم های آموزشی

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی



کارگاه آنلاین آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترند های جستجو



مباحث پیشرفته یادگیری عمیق؛ شبکه های توجه گرافی (Graph Attention Networks)



کارگاه آنلاین مقاله نویسی IEEE و ISI ویژه فنی و مهندسی