مکمل‌سازی خوراکی پودر تفاله انگور بر کیفیت منی، غلظت تستوسترون و درصد جوجه‌درآوری در گله مادر گوشتی

- **وحید واحدی***: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
- **فرهاد صمدیان**: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران
- **روشنک نوراحمدی**: گروه علوم دامی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
- **مرتضی بهروزلک**: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۸

چکیده

در پژوهش حاضر تاثیر پودر تفاله انگور بر خصوصیات منی، سطح سرمی تستوسترون و باروری خروس‌های گله مادر گوشتی بررسی شد. تعداد ۲۴۰ قطعه مرغ مادر و ۲۴ قطعه خروس از سویه راس ۳۰۸ با سن ۳۱ هفتگی، در قالب طرح کاملاً تصادفی به سه گروه آزمایشی در ۱۰ تکرار (۸ قطعه مرغ و ۱ قطعه خروس در هر تکرار) تقسیم‌بندی شد. پرندگان از هفته ۳۲ تا هفته ۴۱ در گروه شاهد از جیره استاندارد و در گروه‌های تیماری با جیره‌های دارای ۱/۵٪ و ۳٪ تفاله خشک انگور (برحسب ماده خشک) تغذیه شدند. در انتهای آزمایش (هفته ۴۱) برخی خصوصیات کیفی منی، مقادیر تستوسترون سرمی خروس‌ها و میزان جوجه‌درآوری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مکمل‌سازی تفاله انگور اثر معنی‌داری بر حجم منی و غلظت اسپرم خروس‌ها نداشت (P>۰/۰۵). جنبایی کل، جنبایی پیش‌رونده و درصد زنده‌مانی اسپرم در پرندگان دریافت‌کننده ۱/۵ و ۳ درصد تفاله انگور خوراکی نسبت به گروه شاهد بالاتر بود (P<۰/۰۵)، اما ریخت‌شناسی و یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم‌ها تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت. علاوه بر این، مکمل‌سازی سه درصد تفاله انگور، به‌طور مؤثری (P<۰/۰۵) باعث افزایش تستوسترون سرمی و درصد جوجه‌درآوری نسبت به گروه شاهد شد (P<۰/۰۵). در نتیجه افزودن خوراکی فیبرهای آنتی‌اکسیدان مثل پودر تفاله انگور، ممکن است باعث بهبود کیفیت اسپرم و درصد جوجه‌درآوری در گله‌های مادر گوشتی شود.

کلمات کلیدی: خروس گله مادر، تفاله انگور، سطح سرمی تستوسترون، خصوصیات منی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: vvahedi@uma.ac.ir

مقدمه

باروری در مرغ مادر عبارت است از نسبتی از تخم‌مرغ‌های تولیدی نطفه‌دار که به جوجه تبدیل می‌شوند. به آن سهم از تخم‌مرغ‌های بارور که به جوجه تبدیل می‌شوند، به اصطلاح درصد هچ یا جوجه‌درآوری گفته می‌شود(Bramwell و همکاران، ۱۹۹۶). یکی از مهم‌ترین زیان‌های اقتصادی مربوط به تولید در صنعت طیور، ناباروری است، به‌طوری‌که در گله‌های مادر گوشتی، کاهش شدید باروری به‌ویژه پس از ۵۰ هفتگی به‌عنوان یک نارسایی مهم مطرح است (Romero-Sanchez و همکاران، ۲۰۰۸). کاهش باروری در گله‌های مرغ مادر بیش‌تر به پرندگان نر مربوط می‌شود. حجم بدنی بالا و عدم تناسب اندام خروس‌ها، موجب عدم انتقال مطلوب اسپرم در حین آمیزش می‌شود. هم‌چنین با بالاتر رفتن سن، از کیفیت منی خروس‌ها و حتی میل جنسی آن‌ها کاسته می‌شود. علاوه بر این، طیور در صنعت در سامانه‌های فشرده و بسته پرورش داده می‌شوند و از این‌رو شرایط تنش‌زای محیطی و نرخ سریع رشد، منجر به حساسیت بیش‌تر پرندگان به تنش می‌شود. تنش با تولید رادیکال‌های فعال اکسیژنی (ROS)، منجر به برخی تغییرات نامطلوب فیزیولوژیکی در خصوصیات اسپرم خروس‌ها می‌شود که مشکلات ناباروری و کم‌باروری را در گله‌های مادر گوشتی به‌همراه دارد (Karaca و همکاران، ۲۰۰۲). علاوه‌براین، غشاهای سلولی اسپرم پرندگان حاوی سطوح بالایی از اسیدهای چرب چندغیراشباع طویل زنجیر است که در مقابل تنش اکسیداتیو آسیب‌پذیرتر می‌باشند و این امر علت اصلی ناباروری در پرندگان عنوان شده است (Cecil و Bakst ، ۱۹۹۳). تنش اکسیداتیو هم‌چنین با کاهش سطوح آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی در سلول‌های لایدیگ، موجب کاهش ترشح تستوسترون در جنس نر می‌شود (Cao و همکاران، ۲۰۰۴). یکی از راهکارهای مقابله با تنش اکسیداتیو استفاده از مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی در جیره طیور است. تفاله انگور یک پسماند لیگنوسلولزی و باقی‌مانده فرآیند آبگیری از میوه انگور است که حاوی خواص قوی آنتی‌اکسیدانی است. واریته‌های مختلف انگور منبع غنی از ترکیبات فنلی محسوب می‌شوند و حدود ۷۵ درصد از این ترکیبات، در پوست و دانه انگور موجود می‌باشند (Sanchez-Alonso و همکاران، ۲۰۰۸). تفاله انگور هم‌چنین حاوی مقادیر نسبتاً زیادی قند (عمدتاً گلوکز، فروکتوز و ساکارز)، تارتارات، آنتوسیانین و فیبر خام است (Sanchez-Alonso و همکاران، ۲۰۰۸). تحقیقات نشان می‌دهد فلاونوئیدها و پروآنتوسیانین‌های موجود در تفاله انگور، به‌عنوان آنتی‌اکسیدان قوی عمل نموده و موجب پاکسازی رادیکال‌های آزاد و خاتمه‌دادن به تنش اکسیداتیو می‌شوند (González-Paramás و همکاران، ۲۰۰۴). فعالیت آنتی‌اکسیدانی تفاله انگور در جیره و ماهیچه سینه پرندگان در اثر مکمل‌سازی خوراکی آن تأیید شده‌است(Jakubcova و همکاران، ۲۰۱۵). در پژوهش‌های قبلی افزودن پودر دانه انگور به جیره خروس‌های گله مادر گوشتی، موجب بهبود فراسنجه‌های منی گردید(Manju و همکاران، ۲۰۱۰؛ Priya و همکاران، ۲۰۱۲). هم‌چنین مکمل‌سازی پودر هسته انگور به جیره خروس‌های گوشتی، منجر به افزایش معنی‌دار غلظت تستوسترون پلاسمایی در هفته دوم و سوم مکمل‌سازی نسبت به گروه شاهد می‌شود (Priya و همکاران، ۲۰۱۲). گزارش شده است که مکمل‌سازی یک درصد پودر دانه انگور به جیره‌خروس‌های مادر گوشتی، موجب افزایش حجم منی و بهبود کیفیت اسپرم می‌شود (Manju و همکاران ۲۰۱۰). بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر مکمل‌سازی پودر هسته انگور بر روی خصوصیات منی و غلظت تستوسترون پلاسمایی در خروس‌های گوشتی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

تفاله انگور از کارخانه آبمیوه‌گیری سارونه واقع درکیلومتر ۱۰ جاده ارومیه مهاباد خریداری شد و آزمایش در شرکت مرغ مادر آذر شباهنگ ارومیه واقع در اول جاده مهاباد ارومیه انجام گرفت. تفاله‌های انگور که شامل هسته، دانه، پوسته و ساقه میوه انگور بود، در مقابل نورخورشید روی زمین پهن شد تا کاملاً خشک شوند. ترکیب شیمیایی تفاله خشک انگور با روش‌های AOAC (۱۹۹۰) تعیین شد که حاوی ۹۳/۴ درصد ماده خشک، ۱۰/۵درصد پروتئین خام، ۹/۵ درصد چربی خام، ۵/۳ درصد خاکستر بود. تعداد ۲۴۰ قطعه مرغ و ۲۴ قطعه خروس نژاد راس (۳۰۸) به سه گروه آزمایشی تقسیم شدند که هر گروه شامل ۱۰ تکرار (پن) و ۸ قطعه مرغ در هر تکرار بود. یک قطعه خروس بالغ (با سن ۳۱ هفته) نیز به‌منظور بررسی خصوصیات اسپرم و میزان تستوسترون در هر کدام از پن‌ها به‌طور کاملاً تصادفی قرار داده شد. پرندگان در هر سه تیمار، جیره‌های مشابه اما سطوح مختلف صفر، ۱/۵ درصد و ۳ درصد پودر خشک تفاله انگور را از سن ۳۲ هفتگی تا ۴۱ هفتگی دریافت کردند. جیره‌های آزمایشی با انرژی قابل متابولیسم و پروتئین خام یکسان طبق احتیاجات مرغ‌های مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸ با استفاده از نرم‌افزار WUFFDA تنظیم شدند. اجزای تشکیل‌دهنده جیره در جدول ۱ آورده شده است. تغذیه پرندگان با جیره‌های آزمایشی به‌مدت نه هفته از سن ۳۲ تا ۴۱ هفتگی انجام شد. بستر تمامی پن‌ها با پوشال چوب پوشانده شد و غذادهی به‌صورت دستی انجام می‌شد. دوره نوری مورد استفاده شامل ۱۵ ساعت روشنایی و نه ساعت تاریکی بود و دمای سالن در محدوده ۲۲ درجه سلسیوس حفظ شد. مرغ‌ها در داخل لانه‌های تخم‌گذاری که در داخل هر پن تعبیه شده بود تخم‌گذاری می‌کردند.

جدول۱: اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

اجزای جیره (٪)	جیره شاهد (۰٪ تفاله انگور)	۱/۵٪ تفاله انگور	۳٪ تفاله انگور
ذرت	۵۶/۱۱	۵۸/۱۰	۵۶/۱۶
کنجاله سویا	۲۴/۵۱	۲۴/۰۲	۲۴/۲۹
سبوس گندم	۲/۵	۱	۱
پودر صدف	۱۱/۴۳	۱۰/۴۵	۱۰/۴۳
روغن سویا	۲/۰۱	۱/۳۴	۱/۸۹
دی‌کلسیم فسفات	۲/۰	۲/۰	۲/۱
بی‌کربنات سدیم	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵
تفاله انگور	۰	۱/۵	۳
نمک	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴
متیونین	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶
لیزین	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴
مکمل ویتامینی و معدنی	۰/۶	۰/۶	۰/۶
مواد مغذی محاسبه شده			
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم)	۲۷۰۵	۲۷۱۱	۲۷۰۸
پروتئین خام (٪)	۱۵/۹	۱۵/۹	۱۵/۹
فیبر خام (٪)	۳/۱	۳/۹	۴/۵
کلسیم (٪)	۴/۴	۴/۴	۴/۴
فسفر (٪)	۰/۶۵	۰/۶۸	۰/۶۶
متیونین + سیستین (٪)	۰/۷۲	۰/۷۲	۰/۷۲

به منظور بررسی میزان جوجه درآوری تخم‌مرغ‌ها از همه پن‌ها در دو مرحله جمع‌آوری شد: ۱- در فاصله بین ۳۱ تا ۳۲ هفته‌ای (قبل از دوره مکمل‌سازی تفاله انگور به گروه‌های تیماری)، ۲- در فاصله بین ۴۰ تا ۴۱ هفته‌ای (هفته پایانی آزمایش). تخم‌مرغ‌ها بعد از جمع‌آوری به سالن جوجه‌کشی انتقال داده شدند و آن‌هایی که در مسیر انتقال شکسته یا معیوب شده بود حذف شدند. پس از درجه‌بندی، تخم‌مرغ‌ها ضدعفونی شدند سپس تخم‌مرغ‌های مربوط به تکرارهای هر تیمار به‌صورت جداگانه در سبدهای مخصوص جوجه‌کشی قرار گرفتند و در دستگاه جوجه‌کشی قرار داده شدند. تخم‌مرغ‌های سالم به‌مدت ۱۸ روز در دستگاه ستر (جیمزوی مدل میکروپی‌تی-۱۰۰) با دمای ۳۷/۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۰ درصد قرار گرفتند و از روز نوزدهم تخم‌مرغ‌ها به سینی‌های هچری با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰ درصد منتقل شدند. در روز بیست و یکم جوجه‌کشی، جوجه‌های هچ شده در هر گروه به‌منظور تعیین نرخ جوجه‌درآوری شمارش شدند. در پایان ۴۱ هفتگی از خروس‌های موجود در هر پن خونگیری به‌عمل آمد. خونگیری با استفاده از سرنگ از رگ وداجی زیر بال صورت گرفت و برای جلوگیری از انعقاد خون از لوله‌های حاوی ماده ضدانعقاد EDTA استفاده شد. لوله‌های حاوی خون با استفاده از فلاسک سیار حاوی یخ به آزمایشگاه مرکزی دانشگاه ارومیه منتقل شدند و پلاسمای نمونه‌های خون به‌وسیله سانتریفیوژ با ۱۵۰۰ دور در دقیقه در مدت ۱۰ دقیقه جداسازی شد و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. غلظت هورمون تستوسترون به‌وسیله دستگاه الایزا ریدر (Stat Fax® 3200 Microplate Reader, Awareness Technology, USA) و با استفاده از کیت تجاری مونوبایند (Monobind Inc. Lake Forest CA 92630, USA) اندازه‌گیری شد. حدود دو هفته قبل از اتمام دوره آزمایش، خروس‌ها با مالش شکمی برای اسپرم‌دهی عادت‌دهی شدند. اسپرم‌گیری در ۴۱ هفتگی از همه خروس‌ها صورت گرفت. جهت نمونه‌گیری اسپرم، پس از مالش شکمی و در زمان انزال یک میکروتیوب مدرج زیر مجرای دفران قرار گرفته و اسپرم داخل آن جمع‌آوری شد و حجم منی آن‌ها تعیین گردید. برای تعیین فراسنجه‌های تحرک کل و تحرک پیش‌رونده، یک قطره از منی رقیق‌سازی شده با سدیم سیترات ۲/۹ درصد (به نسبت ۱ به ۱۰۰) روی لام قرار داده شد. برای جلوگیری از شوک سرمایی به اسپرم، محلول سیترات سدیم قبل از استفاده در حمام بن ماری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد. تحرک کل و تحرک پیش‌رونده با استفاده از میکروسکوپ فازکنتراست (Labomed Inc., Los Angeles, USA) با بزرگ‌نمایی ۴۰۰× و به شیوه چشمی تعیین شد (Akhlaghi و همکاران، ۲۰۱۴). برای تعیین غلظت اسپرمی مقدار ۱۰ میکرولیتر از منی با ۹۹۰ میکرولیتر آب مقطر رقیق شد. سپس با استفاده از یک سمپلر مقدار ۹ میکرولیتر از مخلوط آب مقطر و منی در فضای بین لامل و لام هماسیتومتر قرار داده شد. با شمارش اسپرم‌های موجود در حداقل چهار مربع اصلی لامل غلظت اسپرمی در منی محاسبه شد. برای ارزیابی زنده‌مانی اسپرم، یک قطره از مایع منی رقیق شده روی لام قرارداده شد و سپس با یک قطره کوچک از رنگ ائوزین- نیگروزین مخلوط شد. سپس گسترش تهیه شده با میکروسکوپ فازکنتراست و بزرگ‌نمایی ۴۰۰× بررسی شد. در این رنگ‌آمیزی سر اسپرم‌های مرده به‌دلیل نقص در غشا، رنگ را جذب کرده و به رنگ قرمز مایل به بنفش دیده می‌شوند درحالی‌که اسپرم‌های زنده رنگی را به‌خود نمی‌گیرند. از هر اسلاید ۲۰۰ اسپرم شمارش شد و درصد اسپرم‌های زنده و مرده مشخص شدند (Lukaszewicz و همکاران ۲۰۰۸). برای بررسی ریخت‌شناسی اسپرم و تعیین درصد اسپرم‌های غیرطبیعی از اسلایدهای تهیه شده برای ارزیابی زنده‌مانی استفاده شد. به‌طوری‌که با شمردن ۲۰۰ اسپرم در هر اسلاید اسپرم‌های با دم پیچیده، دم دوتایی، دم‌های غیرطبیعی، سرهای بدون دم و سر دوتایی به‌عنوان اسپرم ناهنجار و غیرطبیعی درنظر گرفته شدند. جهت اندازه‌گیری یکپارچگی غشای

پلاسمایی اسپرم از تست HOST استفاده شد. ترکیبات محلول این تست شامل فروکتوز (۹ گرم در لیتر) و سیترات سدیم (۴/۹ گرم در لیتر) می باشد که اسمولاریته این محلول ۱۰۰ میلی اسمول است. برای انجام این تست ابتدا ۵۰ میکرولیتر از نمونه منی به‌آرامی با ۵۰۰ میکرولیتر محلول هیپواسموتیک مخلوط شده و به‌مدت ۶۰ دقیقه در حمام آب‌گرم (۳۷ درجه سانتی‌گراد) انکوبه شد. سپس مقدار ۵ میکرو لیتر از این نمونه روی لام قرار داده‌شد و با لامل پوشانده شد و به‌وسیله میکروسکوپ فاز کنتراست تعداد ۲۰۰ اسپرم با بزرگ‌نمایی ۴۰۰× شمارش شد. اسپرم‌های با دم متورم و تاب خورده به‌عنوان اسپرم‌های با غشای پلاسمایی سالم درنظر گرفته شدند. این مطالعه با ۳ تیمار و در ۱۰ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. داده‌های حاصل از فراسنجه‌های حرکتی اسپرم، زنده‌مانی، ریخت‌شناسی اسپرم و تست HOST ابتدا با Arcsin به عدد واحد تبدیل شده و سپس تجزیه واریانس تمامی پارامترهای مورد ارزیابی توسط برنامه SAS 9.2 و با استفاده از رویه GLM مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون دانکن در سطح احتمال α=۰/۰۵ استفاده شد. مدل آماری به‌کار رفته در این آزمایش عبارت است از $Y_{ij}=\mu+T_i+e_{ij}$ که در آن Y_{ij} مشاهدات، μ میانگین مشاهدات، T_i اثر تیمارها و e_{ij} اثر اشتباه آزمایشی بود. هم‌چنین آزمون کای اسکوئر برای مقایسه نرخ جوجه‌درآوری مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

اثر سطوح مختلف تفاله خشک انگور (شاهد، ۱/۵ و ۳ درصد) بر برخی فراسنجه‌های کمی و کیفی اسپرم در جدول ۲ ارائه شده است.

بر این اساس سطوح مختلف تفاله انگور، پارامترهای حجم منی و غلظت اسپرم را تحت تاثیر قرار ندادند (P>۰/۰۵). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تحرک کل اسپرماتوزئیدها در خروس‌هایی که ۱/۵ و ۳ درصد تفاله (به‌ترتیب ۳/۴۱±۸۵/۹۶ و ۳/۱۳±۸۸/۴۷) دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد (۳۶/۴۳±۷۵/۲) افزایش معنی‌داری نشان دادند (P<۰/۰۵). هم‌چنین میانگین درصد تحرک پیش‌رونده در گروه شاهد معادل ۲/۵۹±۶۳/۹۲، در سطح ۱/۵ درصد معادل ۲/۶۳±۷۵/۶۰ و در سطح ۲ درصد معادل ۲/۸۴±۷۷/۷۹ می‌باشد. به‌طوری‌که مصرف تفاله انگور در سطح ۱/۵ و ۳ درصد، تحرک پیش‌رونده را به‌طور معنی‌دار نسبت به گروه شاهد افزایش داد (P<۰/۰۵). افزودن سطوح ۱/۵ و ۳ درصد تفاله به جیره، به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) باعث افزایش زنده‌مانی اسپرم‌ها نسبت به گروه شاهد شد (P<۰/۰۵). به طوری‌که بالاترین درصد زنده‌مانی مربوط به تیمار ۳ درصد(۸۲/۳۵٪) و پایین‌ترین درصد مربوط به تیمار شاهد (۷۴/۲۰٪) می‌باشد. هم‌چنین استفاده از سطوح مختلف تفاله خشک انگور در تغذیه خروس‌ها تاثیری بر ویژگی‌های یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم و درصد اسپرم‌های غیرطبیعی نداشت (P>۰/۰۵). میانگین غلظت تستوسترون در سطوح مختلف تفاله‌انگور در جدول ۲ گزارش شده است. همان‌طورکه مشاهده می‌شود بیش‌ترین غلظت این هورمون (۰/۲۷±۵/۰۶ نانوگرم/میلی لیتر) در خروس‌هایی که با جیره حاوی ۳ درصد تفاله انگور تغذیه شده بودند به‌دست آمد که نسبت به گروه شاهد (۰/۲۶±۳/۷۸ نانوگرم/میلی‌لیتر) اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد (P<۰/۰۵). اما بین سطح ۱/۵ درصد (۰/۳۲±۴/۰۳۶ نانوگرم/میلی‌لیتر) و سطوح صفر و ۳ درصد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

جدول ۲: تأثیر سطوح مختلف تفاله انگور بر خصوصیات منی و سطوح تستوسترون در خروس‌های سویه راس ۳۰۸ مادر گوشتی (میانگین± خطای استاندارد)

صفات	سطوح تفاله انگور (٪)			P-Value
	صفر (گروه شاهد)	۱/۵	۳	
حجم منی (میلی‌لیتر)	۰/۰۸±۰/۳۸	۰/۰۸±۰/۳۹	۰/۰۹±۰/۴۳	۰/۰۹
غلظت اسپرم (×۱۰^{۹} اسپرم/میلی‌لیتر)	۰/۱۲±۳/۲۱	۰/۱۳±۳/۲۹	۰/۱۵±۳/۵۳	۰/۱۱
تحرک کل (٪)	۲/۴۳±۷۵/۳۶^{b}	۳/۴۱±۸۵/۹۶^{a}	۳/۱۳±۸۸/۴۷^{a}	۰/۰۰۱
تحرک پیش‌رونده (٪)	۲/۵۹±۶۳/۹۲^{b}	۲/۶۳±۷۵/۶۰^{a}	۲/۸۴±۷۷/۷۹^{a}	<۰/۰۰۰۱
زنده‌مانی (٪)	۲/۶۸±۷۴/۲۰^{b}	۳/۲۷±۸۱/۶۲^{a}	۳/۶۵±۸۲/۳۵^{a}	۰/۰۰۷
یکپارچگی غشای پلاسمایی (٪)	۱/۸۴±۶۵/۱۳	۲/۲۸±۶۶/۶۵	۲/۱۱±۶۸/۲۱	۰/۲۱
اسپرم غیرطبیعی (٪)	۰/۶۴±۹/۳۲	۰/۵۶±۹/۵۴	۰/۷۳±۸/۵۱	۰/۳۴
غلظت تستوسترون (نانوگرم/میلی‌لیتر)	۰/۲۶±۳/۷۸^{b}	۰/۳۲±۴/۳۶^{ab}	۰/۲۷±۵/۰۶^{a}	<۰/۰۰۰۱

حروف غیرمشابه در یک ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین سطوح است (P<۰/۰۵).

تأثیر سطوح مختلف تفاله انگور بر درصد جوجه‌درآوری در جدول ۳ نشان داده شده است. در هفته انتهایی آزمایش (هفته ۴۰-۴۱) بالاترین درصد جوجه‌درآوری مربوط به تیمار ۳ درصد تفاله (۳/۰۲±۷۴/۵ درصد) و پایین‌ترین درصد آن مربوط به گروه شاهد (۲/۶۵±۶۶/۴ درصد) بود به‌طوری‌که افزودن سطح ۳ درصد تفاله به جیره، نرخ جوجه‌درآوری را نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بهبود داد (P<۰/۰۵).اما بین سطح ۱/۵ درصد و سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری در این صفت مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

جدول ۳: تأثیر مکمل‌سازی خوراکی پودر تفاله انگور بر درصد جوجه‌درآوری (میانگین± خطای استاندارد)

جوجه‌درآوری (٪)	سطوح تفاله انگور (٪)			P-Value
	صفر (گروه شاهد)	۱/۵	۳	
تعداد تخم‌مرغ در شروع آزمایش (هفته ۳۱-۳۲)	۲۷۶	۲۸۲	۲۷۰	-
درصد جوجه‌درآوری در شروع آزمایش (هفته ۳۱-۳۲)	۶۸/۴±۲/۵۳	۷۰/۵±۲/۳۲	۶۸/۹±۲/۴۴	۰/۸۲
تعداد تخم‌مرغ در هفته انتهایی آزمایش (هفته ۴۰-۴۱)	۲۶۸	۲۹۳	۲۷۳	-
درصد جوجه‌درآوری در هفته انتهایی آزمایش (هفته ۴۰-۴۱)	۶۶/۴^{b}±۲/۶۵	۷۱/۸^{ab}±۳/۱۳	۷۴/۵^{a}±۳/۰۲	۰/۰۲۳

حروف غیرمشابه در یک ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین سطوح است (P<۰/۰۵).

بحث

نتایج نشان داد که مکمل‌سازی خوراکی پودر تفاله انگور به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) موجب افزایش سطوح سرمی تستوسترون در خروس‌های گله مادر گوشتی در مقایسه با شاهد گردید. نتایج پژوهش حاضر با مطالعات قبلی (Manju و همکاران، ۲۰۱۰؛ Priya و همکاران، ۲۰۱۲) در انطباق است که گزارش کردند که افزودن پودر تفاله انگور موجب افزایش سطوح تستوسترون و بهبود کیفیت منی و باروری خروس‌های گوشتی می‌شود. نشان داده شده است که مکمل‌سازی یک درصد پودر هسته انگور موجب افزایش غلظت تستوسترون پلاسمایی می‌شود (Priya و همکاران، ۲۰۱۲)، به‌طوری‌که غلظت تستوسترون در طول هفته دوم و سوم دوره مکمل‌سازی افزایش یافت و در طول دوره پس از آن کاهش نشان داد. این محققین چنین عنوان کردند که اسید اسکوربیک موجود در پودر هسته انگور می‌تواند بر فعالیت آنزیم استروئید دهیدروژناز بیضه‌ای (۳βHSD) اثر تحریک کنندگی داشته باشد (Biswas و همکاران، ۱۹۹۶)، به‌طوری‌که به‌نظر می‌رسد استروئیدوژنز به‌ویژه در مراحل هیدروکسیلاسیون، وابسته به اسیدآسکوربیک باشد. هم‌چنین گزارش شده است که اسیدآسکوربیک توسط تحریک آزادسازی نیتریک اکساید، آزادسازی LH از هیپوفیز قدامی را فعال می‌سازد، هورمون LH نیز به نوبه خود موجب آزادسازی تستوسترون از سلول‌های لایدیگ می‌شود(Karaca و همکاران، ۲۰۰۲). گزارش شده است که ماده Trans-reveratrol موجود در تفاله انگور، موجب افزایش غلظت سرمی تستوسترون در موش‌های آزمایشگاهی شده است (Juan و همکاران، ۲۰۰۵). گیاهان دیگری نیز بر ترشح تستوسترون اثرگذار گزارش شده است. برای مثال نشان داده شده است که عصاره گیاه *Withania somnifera* حاوی عوامل ضدتنشی از قبیل Sitoindosides و acylsterylglucosides می‌باشد، این عوامل با بروز اثر مشابه تستوسترون بر روی لوله‌های اسپرم‌ساز موش‌های آزمایشگاهی نابالغ، تأثیر مستقیم اسپرماتوژنیکی بر جای می‌گذارد. (Abdel-Magied و همکاران، ۲۰۰۱). نتایج نشان می‌دهد که حجم منی در اثر تیمار خوراکی معنی‌دار نبود هر چند از نظر عددی حجم منی در ۳ درصد تفاله افزایش یافته است. در مطالعه‌ای‌گزارش شده است که افزودن پودر دانه انگور به جیره خروس‌های گوشتی، با تحریک‌شدن سنتز تستوسترون، موجب افزایش ترشحات غدد ضمیمه جنسی و افزایش حجم منی می‌شود که به نوبه خود ممکن است موجب بهبود باروری گردد. اثرات مثبت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مثل پودر دانه انگور بر خصوصیات اسپرم، به کاهش تنش اکسیداتیو و حفظ یکپارچگی غشای سلول اسپرم نسبت داده شده است (Manju و همکاران، ۲۰۱۰). نتایج درصد جوجه‌درآوری در مطالعه حاضر در جدول ۳ ارائه شده است. در مطالعه حاضر پودر تفاله انگور باعث افزایش جوجه‌درآوری در گله مادر گوشتی شده است. بهبود باروری می‌تواند به افزایش تستوسترون و بهبود کیفیت منی خروس‌ها نسبت داده شود. در گله‌های مادر، باروری در اوایل شروع تولید در حدود ۹۵ درصد و یا حتی بالاتر است، اما باروری به سرعت و به‌ویژه پس از ۵۰ هفتگی کاهش پیدا می‌کند. با این‌حال، روند کاهشی متناسب با بالاتر رفتن سن در گله مورد مطالعه، اندکی بالاتر از حد استاندارد بود که ممکن است به‌روش‌های مدیریتی مرتبط باشد. اثر مثبت تفاله انگور بر باروری به تأثیر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در آن نسبت داده شده است (Manju و همکاران، ۲۰۱۰؛ Priya و همکاران، ۲۰۱۲).

ماده Trans-reveratrol یک فنل طبیعی است که در دانه انگور موجوداست.این‌فنل می‌تواند از غشای اسپرم در مقابل پروکسیداسیون

لیپیدی و آسیب‌های ایجاد شده توسط رادیکال‌های آزاد اکسیژنی (ROS) به DNA محافظت به‌عمل بیاورد (Roemer و Roemar، ۲۰۰۲). رادیکال‌های فعال اکسیژن (ROS) محصولات جانبی متابولیسم هوازی می‌باشند که نقش‌های مهمی در پیام‌رسانی سلولی و هوموستازی ایفا می‌کنند (Devasagayam و همکاران، ۲۰۰۴). کنش طبیعی اسپرم نیز به سطوح پایینی از ROS برای تحریک مسیرهای انتقال پیام مرتبط با کاپاسیتاسیون وابسته است (Mahat و همکاران، ۲۰۱۵)، ولی اسپرم به‌علت فقدان حفاظت آنتی‌اکسیدانی لازم بسیار به تنش اکسیداتیو آسیب‌پذیر است. علت کمبود حفاظت آنتی‌اکسیدانی اسپرم فضای محدود سیتوپلاسمی آن برای جای دادن آنزیم‌های دفاعی عنوان شده است (Bansal و Bilaspuri، ۲۰۱۱). سطوح ROS به‌طور چشمگیری در طول تنش محیطی افزایش می‌یابد و فزونی ROS با راه‌اندازی آسیب اکسیداتیو و اختلال در کنش سلول‌ها به سلامت حیوانات و انسان آسیب می‌رسانند (Schiebe و Chandel، ۲۰۱۴). هم‌چنین فزونی ROS در اسپرم باعث آسیب اندامکی آن شده و موجب آغاز آبشار آپوپتوزی ذاتی در سلول اسپرم می‌شود که در نتیجه اسپرماتوزوآ جنبایی، یکپارچگی DNA و زنده‌مانی خود را از دست داده و رخنمای اپی‌ژنتیک آن تغییر می‌یابد (Aitken و همکاران، ۲۰۱۲). علاوه بر این، رادیکال‌های فعال اکسیژنی (ROS) می‌توانند با تغییر و تبدیل اسکلت سلولی و اکسونم اسپرم موجب کاهش جنبایی اسپرم شوند (De Lamirande و Gagnon، ۱۹۹۲). رادیکال‌های آزاد هم‌چنین با القای آسیب به ژنوم منجر به کاهش عملکرد تولیدمثلی دام و طیور می‌شوند. در مطالعات مختلف گزارش شده است که بین بالا بودن سطوح ROS و پایین بودن سطوح آنتی‌اکسیدان‌ها در سلول اسپرم و ضعف جنبایی و پایین بودن جنبایی اسپرم ارتباط معنی‌داری وجود دارد (Baumber و همکاران، ۲۰۰۰). به‌نظر می‌رسد دفاع آنتی اکسیدانی بر علیه ROS به‌شدت با تغذیه تحت تأثیر قرار گیرد و آنتی‌اکسیدان‌های بسیاری برای به کمینه رساندن تنش اکسیداتیو و بهبود کیفیت منی مورد استفاده قرار گرفته است. گزارش شده است که خوراندن ویتامین E به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در خروس‌های تحت تنش اکسیداتیو موجب بهبود کمی و کیفی اسپرم خروس شده است (Eid و همکاران، ۲۰۰۶). در انسان‌ها مصرف کارتنوئید خوراکی با افزایش جنبایی اسپرم همراه بوده و مصرف لیکوپن نیز منجر به بهبود ریخت‌شناسی اسپرمی شده است (Zareba و همکاران، ۲۰۱۳). عصاره‌های چای سبز و سفید با افزایش پتانسیل آنتی‌اکسیدانی اسپرم و کاهش پروکسیداسیون لیپیدی در اسپرم‌ها منجر به بهبود زنده‌مانی اسپرم موش‌های آزمایشگاهی شده است (Dias و همکاران، ۲۰۱۴). در موش‌های آزمایشگاهی عصاره پروسیانیدین دانه انگور تنش اکسیداتیو القا شده با سولفات نیکل را خفیف نموده و جنبایی اسپرم‌ها را افزایش داده است (Su و همکاران، ۲۰۱۱). خوراندن یک ترکیب دیگر مشتق از انگور (Resveratol) از آسیب‌های بافتی ناشی از تنش مزمن بی‌تحرکی بر روی بیضه موش‌های آزمایشگاهی جلوگیری نموده است (Bitgul و همکاران، ۲۰۱۳). در مطالعه‌ای مشخص شد که تغذیه ۱۰ و ۲۰ درصد تفاله انگور به خرگوش‌های نر نیوزیلندی به‌مدت ده هفته، با تأثیر مثبت آنتی‌اکسیدانی بر منی منجر به افزایش معنی‌دار حجم منی و جنبایی اسپرم و کاهش درصد اسپرم‌های مرده گردید (Eid، ۲۰۱۰). در این مطالعه افزایش جنبایی اسپرم خرگوش در اثر تغذیه تفاله انگور با افزایش میزان فروکتوز در پلاسمای منی در اثر مکمل‌سازی با تفاله انگور مرتبط دانسته شده است (Eid، ۲۰۱۰). گزارش شده است که تغذیه تفاله انگور به قوچ‌های نگه‌داری شده در شرایط تنش‌زای محصور در جایگاه، با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی موجب افزایش جنبایی، غلظت و یک‌پارچگی آکروزومی اسپرم شده و بدشکلی‌های اسپرمی را کاهش می‌دهد (Zhao و همکاران، ۲۰۱۷). علاوه بر این، آنتی‌اکسیدان‌ها از اثر مضر رادیکال‌های فعال اکسیژنی حاصل از لوکوسیت‌های پلی‌مورفونوکلئار بر جنبایی اسپرم جلوگیری نمودند (Baker و همکاران، ۱۹۹۶). گزارش شده است که آنتی‌اکسیدان‌ها با اتصال به اندوپروکسیدها و جلوگیری از آسیب غشایی موجب بهبود جنبایی و ریخت‌شناسی اسپرم می‌شوند (Marin-Guzman و همکاران، ۲۰۰۰). هم‌چنین گزارش شده است که بین شاخص پروکسیداسیون لیپیدی (TBARs) و زنده‌مانی اسپرم ارتباط مثبت معنی‌داری وجود دارد و بنابراین پروکسیداسیون لیپیدی یکی از عوامل اصلی تخریب سلول اسپرم محسوب می‌شود (Eid، ۲۰۱۰). در کل آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی مثل تفاله انگور می‌توانند با روش‌های مختلفی موجب کاهش آسیب به اسپرم شوند: ۱- مداخله در واکنش‌های اولیه دخیل در تولید ROS، ۲- جاروب یا حذف مولکول‌های آزاد اکسیژنی که برای شروع تولید ROS ضروری هستند، ۳- کلاته نمودن فلزاتی که منجر به سرعت بخشیدن به فرایندهای اکسیداتیو می‌شوند (Sgorlon و همکاران، ۲۰۰۵).

فنل‌های طبیعی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان، علاوه بر محافظت از غشا و DNA اسپرم، ممکن است با سازوکار متمایزی موجب بهبود باروری شوند، به‌طوری‌که گزارش شده است که آنتی‌اکسیدان‌ها با تحریک بیان ژن GlUT-5 موجب تسهیل انتقال گلوکز به سلول در طی تنش اکسیداتیو می‌شوند. ناقل تسهیل‌کننده انتقال گلوکز موجود در غشای اسپرم (GLUT-5) به انتقال گلوکز به سلول اسپرم کمک می‌کند که سپس گلوکز به‌عنوان سوبسترایی برای تولید انرژی به‌کار می‌رود. بیان GLUT-5 به عوامل هورمونی و محیطی مثل تنش اکسیداتیو حساس و آسیب‌پذیر است. شایان ذکر است که بیان متمایز این ناقل در پاسخ به عوامل مخرب تأثیرگذار مثل حضور رادیکال‌های

فعال اکسیژنی، با چندین اختلال فیزیولوژیکی دیگر همراه می‌گردد (Vaze، ۲۰۰۷).

در پایان نتیجه‌گیری می‌شود که مکمل‌سازی خوراکی پودر تفاله انگور، به‌دلیل ارزان بودن قیمت آن و خصوصیات مثبت نشان داده شده در پژوهش حاضر، در مزارع پرورش مرغ مادر گوشتی قابل توصیه می‌باشد.

منابع

۱. **Abdel-Magied, E.M.; Abdel-Rahman, H.A. and Harraz, F.M., 2001.** The effect of aqueous extracts of Cynomorium coccineum and Withania somnifera on testicular development in immature Wistar rats. Journal of Ethnopharmacology. Vol. 75, pp: 1-4.

۲. **Aitken, R.J.; Jones, K.T. and Robertson, S.A., 2012.** Reactive oxygen species and sperm function-in sickness and in health. Journal of Andrology. Vol. 33, No. 6, pp: 1096-1106.

۳. **Akhlaghi, A.; Jafari Ahangari, Y.; Zhandi, M. and Peebles, E.D., 2014.** Reproductive performance, semen quality, and fatty acid profile of spermatozoa in senescent broiler breeder roosters as enhanced by the long-term feeding of dried apple pomace. Animal Reproduction Science. Vol. 147, pp: 64-73.

۴. **Baker, H.W.; Brindle, J.; Irvine, D.S. and Aitken, R.J., 1996.** Protective effect of antioxidants on the impairment of sperm motility by activated polymorphonuclear leukocytes. Fertility and sterility. Vol. 65, No. 2, pp: 411-419.

۵. **Bansal, A.K. and Bilaspuri, G., 2011.** Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. Veterinary Medicine International. pp: 1-7.

۶. **Baumber, J.; Ball, B.A.; Gravance, C.G.; Medina, V. and Davies-Morel, M.C., 2000.** The effect of reactive oxygen species on equine sperm motility, viability, acrosomal integrity, mitochondrial membrane potential and membrane lipid peroxidation. Journal of Andrology. Vol. 21, No. 6, pp: 895-902.

۷. **Biswas, N.M.; Chaudhuri, A.; Sarkar M. and Biswas, R., 1996.** Effect of ascorbic acid on *in vitro* synthesis of testosterone in rat's testis. Indian Journal of Experimental Biology. Vol. 34, pp: 612-613.

۸. **Bitgul, G.; Tekmen, I.; Keles, D. and Oktay, G., 2013.** Protective effects of resveratrol against chronic immobilization stress on testis. ISRN urology.

۹. **Bramwell, R.K.; McDaniel, C.D.; Wilson, J.L. and Howarth, B., 1996.** Age effect of male and female broiler breeders on sperm penetration of the privitelline layer overlaying the germinal disc. Poultry Science. Vol. 75, pp: 755-76.

۱۰. **Cao, L.; Leer Suchetha, S. and Azhar, S., 2004.** Aging alters the functional expression of enzymatic antioxidant defense systems in testicular rat Leydig cell. Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology. Vol. 88, pp: 61-67.

۱۱. **Cecil, H.C. and Bakst, M.R., 1993.** In vitro lipid peroxidation of turkey spermatozoa. Poultry Science. Vol. 72, pp: 1370-1378.

۱۲. **De Lamirande, E. and Gagnon, C., 1992.** Reactive oxygen species and human spermatozoa. II. Depletion of adenosine triphosphate (ATP) plays an important role in the inhibition of sperm motility. Journal of Andrology. Vol. 13, No. 5, pp: 379-386.

۱۳. **Devasagayam, T.; Tilak, J.; Boloor, K.; Sane, K.S.; Ghaskadbi, S.S. and Lele, R., 2004.** Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. Journal of Association Physicians India. Vol. 52, pp: 4.

۱۴. **Dias, T.R.; Alves, M.G.; Tomás, G.D.; Socorro, S.; Silva, B.M. and Oliveira, P.F., 2014.** White tea as a promising antioxidant medium additive for sperm storage at room temperature: a comparative study with green tea. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 62, No. 3, pp: 608-617.

۱۵. **Eid, Y.; Ebeid, T. and Younis, H., 2006.** Vitamin E supplementation reduces dexamethasone–induced oxidative stress in chicken semen. British Poultry Science. Vol. 47, pp: 350-356.

۱۶. **Eid, Y.Z., 2010.** Dietary grape pomace affects lipid peroxidation and antioxidative status in rabbit semen. World Rabbit Science. Vol. 16, No. 3, pp: 157-164.

۱۷. **González-Paramás, A.M.; Esteban-Ruano, S.; Santos Buelga, C.; de Pascual-Teresa, S. and Rivas-Gonzalo, J.C., 2004.** Flavanol content and antioxidant activity in winery byproducts. Journal of Agricultrual and Food Chemitry. Vol. 52, No. 2, pp: 234-8.

۱۸. **Jakubcova, Z.; Horky, P.; Dostalova, L.; Sochor, J.; Tomaskova, L. and Baron, M., 2015.** Study of antioxidant and antimicrobial properties of grapevineseeds, grape and rosehip pressings. Potravinarstvo® Scientific Journal for Food Industry. Vol. 9, No. 1, pp: 382-387.

۱۹. **Juan, M.E.; Gonzalez-Pons, E.G.; Munuera, T.; Ballester, J.; Rodriguez-Gil, J.E. and Planas, J.M., 2005.** Trans Resveratrol a natural antioxidant from grapes increases sperm output in healthy rats. Journal of Nutrition. Vol. 135, pp: 757-760.

۲۰. **Karaca, A.G.; Parke, H.M. and McDaniel, C.D., 2002.** Elevated body temperature directly contributes to heat stress infertility of broiler breeder males. Poultry Science. Vol. 81, pp: 1892-1897.

۲۱. **Lukaszewicz, E.; Jersey, A.; Partyka, A. and Siudzinska, A., 2008.** Efficacy of evaluation of rooster sperm morphology using different staining methods. Research of Veterinary Science. Vol. 85, pp: 583-588.

۲۲. **Mahat, R.K.; Kumar, S.; Arora, M.; Bhale, D.V.; Mehta, R. and Batra, J., 2015.** Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility. Int J Health Sci Res. Vol. 5, No. 3, pp: 324-33.

۲۳. **Manju, D.K.E.; Thangave, A.; Leela, V. and Kalatharan, J., 2010.** Effect of dietary supplementation of amla and grape seed on semen characteristics of broiler breeder cocks. Tamilnadu Journal of Veterinary and Animal Sciences. Vol. 6, No. 2, pp: 65-70.

۲۴. **Marin-Guzman, J.; Mahan, D.C. and Pate, J.L., 2000.** Effect of dietary selenium and vitamin E on spermatogenic development in boars. Journal of Animal Science. Vol. 78, pp: 1537-1543.

۲۵. **Priya, K.T.; Manju, D.K.E.; Thangave. A. and Leela, V., 2012.** Dietary supplementation of alma and grape seed on testosterone concentration and semen characteristics in broiler breeders. Tamilnadu Journal of Veterinary and Animal Sciences. Vol. 8, No. 5, pp: 253-258.

۲۶. **Roemer, K. and Roemar, M.M., 2002.** The basis for the chemopreventive action of resveratrol. Drugs Today. Vol. 38, pp: 571-580.

۲۷. **Romero-Sanchez, H.; Plumstead, P.W.; Leksrisompong, N.; Brannan, K.E. and Brake, J., 2008.** Feeding broiler breeder males. Deficient feed allocation reduces fertility and broiler progeny body weight. Poultry Science. Vol. 87, pp: 805-811.

۲۸. **Sanchez-Alonso, I.; Jimenez-Escrig, A.; Saura-Calixto, F. and Borderias, A.J., 2008.** Antioxidant protection of white grape pomace on restructured fish products during frozen storage. LWT-Food Science and Technology. Vol. 41, pp: 42-50.

۲۹. **Schieber, M. and Chandel, N.S., 2014.** ROS function in redox signaling and oxidative stress. Current Biology. Vol. 24, pp: R453-R462.

۳۰. **Sgorlon, S.; Stradaioli, G.; Stefanon, B.; Altimer, G. and Della-Loggia, R., 2005.** Dietary grape polyphenols modulate oxidative stress in ageing rabbits. In Proc. 16th Nat. Congr. Aspa, Torino, Italy, Italian Journal of Animal Science. Vol. ٤, No. ٢, pp: ٥٤١-٥٤٣.

۳۱. **Su, L.; Deng, Y.; Zhang, Y.; Li, C.; Zhang, R. and Sun, Y., 2011.** Protective effects of grape seed procyanidin extract against nickel sulfate-induced apoptosis and oxidative stress in rat testes. Toxicology Mechanisms and Methods. Vol. 21, No. 6, pp: 487-494.

۳۲. **Vaze, A., 2007.** Double-blind comparative trial of herbomineral antioxidant formulation with ubiquinone in oligoasthenospermia. Lancet Infectious Disease. Vol. 7, pp: 1057-1058.

۳۳. **Zareba, P.; Colaci, D.S.; Afeiche, M.; Gaskins, A.J.; Jørgensen, N.; Mendiola, J.; Swan, S.H. and Chavarro, J.E., 2013.** Semen quality in relation to antioxidant intake in a healthy male population. Fertility and sterility. Vol. 100, No. 6, pp: 1572-1579.

۳۴. **Zhao, J.; Jin, Y.; Du, M.; Liu, W.; Ren, Y.; Zhang, C. and Zhang, J., 2017.** The effect of dietary grape pomace supplementation on epididymal sperm quality and testicular antioxidant ability in ram lambs. Theriogenology. Vol. 97, pp: 50-56.