مقایسه اثر سه رقیق‌کننده لسیتین، شیر و زرده تخم‌مرغ بر نگه‌داری منی قوچ نژاد زندی در شرایط سرد

- **فاطمه فولادوند:** گروه علوم‌دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا
- **کاظم کریمی*:** گروه علوم‌دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا
- **مهدی ژندی:** گروه علوم‌دامی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع‌طبیعی دانشگاه تهران، کرج، صندوق‌پستی: ٤١١١
- **کامبیز توفیقی:**گروه علوم‌دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت‌مدرس، تهران، صندوق‌پستی: ٣٣٦-١٤١١٥

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۲

چکیده

به‌منظور بررسی اثرات رقیق‌کننده‌های مختلف برای نگه‌داری منی قوچ نژاد زندی در شرایط سرد منی چهار رأس قوچ جمع‌آوری شد. انزال‌ها با هم مخلوط و به سه قسمت مساوی تقسیم شدند و هر قسمت با یکی از رقیق‌کننده‌های شیر، زرده تخم‌مرغ و لسیتین سویا رقیق ودر دمای ٥ درجه سانتی‌گراد برای مدت ٤٨ ساعت نگه‌داری شدند. جنبایی کل، جنبایی پیش‌رونده و زنده‌مانی حالت آکروزوم (سالم و ناسالم)، سالم بودن غشای اسپرم‌ها در زمان‌های ٠، ٣، ٦، ٢٤ و ٤٨ ساعت بعد از شروع نگه‌داری مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که جنبایی کل و پیش‌رونده در همه تیمارها با افزایش زمان نگه‌داری، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. زنده‌مانی در هر سه تیمار با افزایش زمان نگه‌داری به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ولی در زمان‌های مختلف تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف وجود نداشت. سالم بودن غشای اسپرم در لسیتین در زمان‌های ٣و ٢٤ ساعت بعد از شروع نگه‌داری به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. سالم بودن آکروزوم در لسیتین در زمان‌های ٢٤ و ٤٨ و در دو تیمار دیگر در زمان ٤٨ ساعت بعد از شروع نگه‌داری کاهش معنی‌داری مشاهده شد. در مجموع عمده فراسنجه‌های اسپرم در رقیق‌کننده حاوی لسیتین سویا در مقایسه با رقیق‌کننده حاوی زرده تخم‌مرغ و شیر در زمان‌های مختلف تغییر معنی‌داری نشان نداد. پس رقیق‌کننده حاوی لسیتین سویا می‌تواند جایگزین مناسبی برای رقیق‌کننده‌های حاوی شیر و زرده تخم‌مرغ برای نگه‌داری منی قوچ در شرایط سرد باشد.

کلمات کلیدی: رقیق‌کننده، سردسازی، منی، قوچ نژاد زندی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: karimikazem@gmail.com

مقدمه

تلقیح مصنوعی یک تکنیک تولیدمثلی مهم در صنعت پرورش دام می‌باشد. از منی قوچ‌های برتر ذخیره شده به‌صورت سرد در تلقیح مصنوعی برای تولید انبوه گوسفند استفاده می‌شود (Salamon و Maxwell، ۱۹۹۵).از این‌رو بارور نمودن تعداد زیادی میش با استفاده از اسپرم قوچ‌های برتر نیازمند انتقال منی از مراکز تولید و جمع‌آوری به مزارع دور دست می‌باشد. هدف از ذخیره‌سازی منی، طولانی کردن طول عمر اسپرماتوزا در درجه حرارت پایین است، زیرا اسپرم قوچ در دمای اتاق سریعاً از بین رفته در نتیجه امکان انتقال به نقاط دوردست غیرممکن می‌شود. منی ذخیره شده به‌صورت سرد در دمای صفر تا پنج درجه سانتی‌گراد نسبت به منی تازه برای مدت زمان طولانی‌تری قابل استفاده است (Menchaca و همکاران، ۲۰۰۵). موفقیت تلقیح مصنوعی در دام‌ها تا حد زیادی بستگی به نوع رقیق‌کننده منی دارد، زیرا رقیق‌کننده شرایطی را فراهم می‌کند که به اسپرم اجازه می‌دهد تا شرایط غیرطبیعی مرتبط با نگه‌داری و تلقیح مصنوعی را تحمل کند (Ohl و Menge، ۱۹۹۶). بر اساس آزمایش‌های صورت گرفته، اسپرم قوچ را می‌توان پس از رقیق کردن با رقیق‌کننده‌های مناسب تا مدت ۴۸ ساعت در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری کرد بدون آن‌که اثرات نامطلوبی بر خصوصیات کمی و کیفی اسپرم از جمله جنبایی و زنده‌مانی ایجاد شود (Mohit و همکاران، ۲۰۱۱). هدف از این تحقیق مقایسه سه رقیق‌کننده لسیتین، شیر و زرده تخم‌مرغ از نظر تأثیر بر پارامترهای اسپرم قوچ نژاد زندی در زمان‌های مختلف پس از اسپرم‌گیری و نگه‌داری نمونه در شرایط سرد (دمای ۵ درجه سانتی‌گراد) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در ایستگاه پرورش و اصلاح‌نژاد قوچ زندی واقع در پیشوا وابسته به جهادکشاورزی استان تهران در طی ماه‌های آذر و دی صورت گرفت. برای انجام این تحقیق از ۴ رأس قوچ نژاد زندی استفاده شد. جمع‌آوری منی به‌صورت هفته‌ای ۲ بار با یک یا دو انزال پی در پی از هر قوچ با استفاده از مهبل مصنوعی انجام شد. انزال‌ها بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند و فقط انزال‌هایی با حجم بین ۲ –۱ میلی‌لیتر، غلظت بیش‌تر از سه میلیارد اسپرم در هر میلی‌لیتر، جنبایی بیش‌تر از ۷۰ درصد و مورفولوژی اسپرم غیرطبیعی کم‌تر از ۱۰ درصد به‌عنوان منی طبیعی در نظر گرفته شدند. نمونه‌های انزال بعد از مخلوط شدن به سه قسمت مساوی تقسیم شدند و در هر قسمت به نسبت یک به ۲۰ با رقیق‌کننده‌های ذیل رقیق شدند:

۱) محیط پایه تریس (۲/۷ گرم تریس، ۱/۴ گرم اسید سیتریک، ۱ گرم فروکتوز و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر) حاوی ۲۰ درصد (حجمی/حجمی) زرده تخم‌مرغ

۲) محیط پایه تریس حاوی یک در صد لسیتین سویا و ۳) شیر پاستوریزه و هموژنیره کم‌چرب. سپس لوله‌های مخروطی ۵۰ میلی‌لیتری حاوی نمونه‌های مایع منی رقیق‌شده، در ظرف حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (برای سرد شدن تدریجی) و در یخچال با دمای ۵ درجه سانتی‌گراد برای مدت زمان ۴۸ ساعت نگه‌داری شدند. نمونه‌های هر تیمار در زمان‌های ۰، ۳، ۶، ۲۴ و ۴۸ از لحاظ درصد جنبایی کل و پیش‌رونده (به‌روش چشمی) و زنده‌مانی (رنگ‌آمیزی ائوزین نگروزین) و حالت آکروزوم (محیط هانکوک) و در بعضی زمان‌ها سالم بودن غشا (محیط هاست) مورد ارزیابی قرار گرفتند. داده‌های حاصل از این پژوهش با نرم‌افزار آماری SAS (موسسه SAS، ۲۰۰۳) و با رویه MIX و آنالیز مشاهدات تکرارشونده مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. داده‌ها به‌صورت Lsmean و SEM نمایش داده شده‌اند.

نتایج

جنبایی کل و پیش‌رونده در هر سه رقیق‌کننده با افزایش زمان به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. جنبایی کل و پیش‌رونده بین رقیق‌کننده‌های مختلف در زمان‌های مختلف به‌غیر از زمان ۳ ساعت بعد از شروع نگه‌داری، تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند (جداول ۱ و ۲). هم‌چنین، میزان زنده‌مانی در هر سه رقیق‌کننده با افزایش زمان به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد (جدول ۳). سالم بودن غشا در هر سه رقیق‌کننده با گذشت زمان کاهش یافت اما این کاهش جزء درلسیتین سویا در زمان‌های ۳ و ۶ نسبت به شروع نگه‌داری، در سایر رقیق‌کننده‌ها در زمان‌های مختلف این کاهش معنی‌دار نبود (جدول ۴). سالم بودن آکروزوم در لسیتین سویا در زمان‌های ۲۴ و۴۸ و در زرده تخم‌مرغ و شیر در زمان ۴۸ ساعت بعد از شروع نگه‌داری کاهش معنی‌داری یافت (جدول ۵). ناسالم بودن آکروزوم در لسیتین سویا در زمان ۴۸ ساعت و در شیر در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از شروع نگه‌داری افزایش معنی‌داری یافت (جدول۶). ناسالم بودن دم

در لسیتین سویا در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از شروع نگه‌داری افزایش معنی‌داری یافت اما بین این دو زمان اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در دو رقیق‌کننده دیگر در زمان‌های مختلف بعد از نگه‌داری افزایش معنی‌داری مشاهده نشد (جدول۷).

جدول ۱: درصد جنبایی کل اسپرم‌های قوچ زندی در زمان‌های مختلف در رقیق‌کننده‌های متفاوت

نوع رقیق‌کننده	ساعت پس از اسپرم‌گیری					SEM
	۰	۳	۶	۲۴	۴۸	
لسیتین	۸۱/۹۱^{a}	۷۲/۰۸^{bA}	۵۵/۴۱^{c}	۴۴/۵۸^{d}	۲۹/۹۹^{e}	۳/۶۸
زرده تخم‌مرغ	۷۷/۴۹^{a}	۶۴/۹۹^{BAb}	۵۰/۴۱^{c}	۳۹/۱۶^{d}	۲۹/۹۹^{e}	۳/۶۸
شیر	۷۷/۶۶^{a}	۶۰/۵۸^{Bb}	۴۸/۷۴^{c}	۳۷/۵۸^{d}	۳۲/۰۸^{d}	۳/۶۸

اعداد شامل میانگین ± میانگین خطای استاندارد می باشند.

$^{a, b, c, d, e}$ اعداد دارای حروف غیر مشترک در هر سطر دارای دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

$^{A, B}$ اعداد دارای حروف غیر مشترک در هر ستون دارای دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

جدول ۲: درصد اسپرم‌های دارای جنبایی پیش‌رونده قوچ‌های زندی در زمان‌های مختلف پس از اسپرم‌گیری و در رقیق‌کننده‌های متفاوت

نوع رقیق‌کننده	ساعت پس از اسپرم‌گیری					SEM
	۰	۳	۶	۲۴	۴۸	
لسیتین	۵۸/۸۳^{a}	۴۶/۶۷^{bA}	۳۲/۴۹^{c}	۱۹/۵۸^{d}	۷/۰۸^{e}	۳/۸۹
زرده تخم‌مرغ	۵۷/۴۹^{a}	۴۳/۳۳^{ABb}	۳۱/۲۵^{c}	۱۸/۷۵^{d}	۴/۵۸^{e}	۳/۸۹
شیر	۵۴/۱۶^{a}	۳۴/۱۷^{Bb}	۲۲/۴۹^{c}	۱۳/۷۵^{d}	۱/۶۷^{e}	۳/۸۹

اعداد شامل میانگین ± میانگین خطای استاندارد می باشند.

$^{a, b, c, d, e}$ اعداد دارای حروف غیر مشترک در هر سطر دارای دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

$^{A, B}$ اعداد دارای حروف غیر مشترک در هر ستون دارای دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

جدول ۳: درصد اسپرم‌های زنده قوچ‌های زندی در زمان‌های مختلف پس از اسپرم‌گیری و در رقیق‌کننده‌های متفاوت

نوع رقیق‌کننده	ساعت پس از اسپرم‌گیری					SEM
	۰	۳	۶	۲۴	۴۸	
لسیتین	۸۶/۲۳^{a}	۷۷/۹^{b}	۷۳/۷۴^{b}	۶۲/۰۵^{c}	۵۱/۹۹^{d}	۳/۹۵
زرده تخم‌مرغ	۸۵/۶۲^{a}	۷۳/۷۴^{b}	۶۹/۵۹^{b}	۵۹/۰۷^{c}	۴۴/۱^{d}	۳/۹۵
شیر	۸۴/۳۶^{a}	۷۲/۹^{b}	۶۷/۶۲^{cb}	۶۰/۲۸^{c}	۴۱/۳۶^{d}	۳/۹۵

اعداد شامل میانگین ± میانگین خطای استاندارد می باشند.

$^{a, b, c, d, e}$ اعداد دارای حروف غیر مشترک در هر سطر دارای دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

$^{A, B}$ اعداد دارای حروف غیر مشترک در هر ستون دارای دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

جدول ۴: درصد اسپرم‌های دارای غشای سالم قوچ‌های زندی در زمان‌های مختلف پس از اسپرم‌گیری و در رقیق‌کننده‌های متفاوت

نوع رقیق‌کننده	ساعت پس از اسپرم‌گیری					SEM
	۰	۳	۶	۲۴	۴۸	
لسیتین	۹۲/۴^{a}	۸۵/۳۷^{bA}	۸۳/۸۷ ^{bA}	۸۲/۵۷^{bA}	۸۱/۹۲ ^{bA}	۳/۶۸
زرده تخم‌مرغ	۸۶/۷۹^{a}	۸۳/۴۶^{a}	۸۳/۰۰ ^{a}	۸۲/۳۰^{a}	۸۱/۸۷ ^{bA}	۳/۶۸
شیر	۸۴/۹۵^{a}	۸۱/۲۸^{a}	۸۱/۱۰ ^{a}	۸۰/۸۱^{a}	۷۹/۸۵ ^{a}	۳/۶۸

اعداد شامل میانگین ± میانگین خطای استاندارد می باشند.

^{e,d,c,b,a} اعداد دارای حروف غیر مشترک در هر سطر دارای دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

^{B,A} اعداد دارای حروف غیر مشترک در هر ستون دارای دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

جدول ۵: درصد اسپرم‌های با آکروزوم سالم قوچ‌های زندی در زمان‌های مختلف پس از اسپرم‌گیری در زمان‌های مختلف در رقیق‌کننده‌های متفاوت

نوع رقیق‌کننده	ساعت پس از اسپرم‌گیری					SE
	۰	۳	۶	۲۴	۴۸	
لسیتین	۲۸/۲۷^{a}	۱۵/۳۳^{abA}	۱۲/۵۶^{abA}	۸/۸۸^{bA}	۵/۴۱^{bA}	۷/۵۲
زرده تخم‌مرغ	۱۹/۶۸^{a}	۹/۳۵^{abA}	۴/۹۶^{abA}	۳/۸۲^{abA}	۲/۱۷^{bA}	۷/۵۲
شیر	۲۲/۲۲^{a}	۷^{abA}	۶/۳۴^{abA}	۷/۳۳^{abA}	۴/۶۵^{bA}	۷/۵۲

اعداد شامل میانگین ± میانگین خطای استاندارد می باشند.

^{e,d,c,b,a} اعداد دارای حروف غیر مشترک در هر سطر دارای دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

^{B,A} اعداد دارای حروف غیر مشترک در هر ستون دارای دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

جدول ۶: درصد اسپرم‌های با آکروزوم ناسالم قوچ‌های زندی در زمان‌های مختلف پس از اسپرم‌گیری و در رقیق‌کننده‌های متفاوت

نوع رقیق‌کننده	ساعت پس از اسپرم‌گیری					SEM
	۰	۳	۶	۲۴	۴۸	
لسیتین	۸/۹۷^{a}	۹/۳۰^{a}	۹/۶۱^{abA}	۱۱/۴۶^{abA}	۱۵/۰۹^{bA}	۲/۴۵
زرده تخم‌مرغ	۸/۷۱^{a}	۱۰/۴۸^{a}	۱۲/۵۷^{a}	۱۲/۸۷^{a}	۱۳/۱۷^{a}	۲/۴۵
شیر	۸/۲۸^{a}	۱۱/۲۷^{abA}	۱۲/۶۳^{abA}	۱۷/۱۱^{cA}	۱۸/۱^{bcA}	۲/۴۵

اعداد شامل میانگین ± میانگین خطای استاندارد می باشند.

^{e,d,c,b,a} اعداد دارای حروف غیر مشترک در هر سطر دارای دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

^{B,A} اعداد دارای حروف غیر مشترک در هر ستون دارای دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

جدول ۷: درصد اسپرم‌های با دم ناسالم قوچ‌های زندی در زمان‌های مختلف پس از اسپرم‌گیری و در رقیق‌کننده‌های متفاوت

نوع رقیق‌کننده	ساعت پس از اسپرم‌گیری					SEM
	۰	۳	۶	۲۴	۴۸	
لسیتین	۶۲/۷۹^{a}	۷۷/۶۶^{abA}	۷۷/۸۴^{abA}	۸۰/۷۲^{bA}	۸۲/۵۱^{bA}	۸/۲۸
زرده تخم‌مرغ	۷۱/۶۲^{a}	۸۰/۱۷^{a}	۸۰/۱۷^{a}	۸۴/۲۹^{a}	۸۵/۲۶^{a}	۸/۲۸
شیر	۶۹/۵۱^{a}	۸۱/۷۳^{a}	۸۲/۸۲^{a}	۸۵/۱۰^{a}	۸۷/۱۰^{a}	۸/۲۸

اعداد شامل میانگین ± میانگین خطای استاندارد می باشند.

^{e,d,c,b,a} اعداد دارای حروف غیر مشترک در هر سطر دارای دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

^{B,A} اعداد دارای حروف غیر مشترک در هر ستون دارای دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

بحث

در این آزمایش مشخص شد که جنبایی کل در هر سه نوع رقیق‌کننده با افزایش زمان به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. آسیب‌های ساختاری و غیرساختاری غشاء به‌علت نگهداری در سرما و کاهش فسفریلاسیون پروتئین آکسونم طی نگه‌داری در سرما می‌توانند از دلایل کاهش جنبایی اسپرم باشد (Baumber و همکاران، ۲۰۰۰). هم‌چنین، در آزمایش حاضر جنبایی کل و پیش‌رونده در رقیق‌کننده‌های حاوی لسیتین سویا، زرده تخم‌مرغ و شیر به‌غیر از زمان ۳ ساعت بعد از شروع نگه‌داری در سایر ساعات (۰، ۶، ۲۴ و ۴۸) تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. یک دلیل کاهش تحرک پیش‌رونده اسپرم می‌تواند اثر فرآیند سردسازی باشد (Maxwell و Watson، ۱۹۹۶). در مطالعه‌ای بر اسپرم قوچ مشخص شد که در روز ۲ نگهداری اسپرم در ۴ درجه سانتی‌گراد میزان جنبایی پیش‌رونده در رقیق‌کننده شیر نسبت به رقیق‌کننده حاوی زرده تخم‌مرغ و رقیق‌کننده حاوی لسیتین‌سویا به‌طور معنی‌داری کاهش پیداکرد (Kasimanickam و همکاران، ۲۰۱۱) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت ندارد. دلیل این تفاوت می‌تواند اختلاف در روش نگه‌داری اسپرم و هم‌چنین اختلاف در نژاد گوسفند باشد. هم‌چنین در پژوهشی دیگر نشان داده شد که رقیق‌کننده حاوی زرده تخم‌مرغ توانایی بهتری برای نگه‌داری اسپرم بعد از ۳۰ ساعت نگه‌داری داشت (Paulenz و همکاران، ۲۰۰۳). در پژوهشی دیگر مشخص شد که نرخ عدم بازگشت به فحلی در روز ۲۵ و میزان برەزایی هنگامی‌که از منی رقیق‌شده با رقیق‌کننده بر پایه شیر استفاده شد در مقایسه با رقیق‌کننده‌های بر پایه زرده تخم‌مرغ بهتر بود (Paulenz و همکاران، ۲۰۰۲). در مطالعه حاضر، زنده‌مانی اسپرم با گذشت زمان در هر سه نوع رقیق‌کننده کاهش یافت اما در زمان‌های مختلف تفاوتی بین تیمارها مشاهده نشد. یک دلیل برای کاهش زنده‌مانی اسپرم با گذشت زمان می‌تواند تأثیر رادیکال‌های آزاد بر ساختار غشاء بوده (Ball، ۲۰۰۱) و هم‌چنین ممکن است به‌علت تنش‌های سرمایی باشد. سالم بودن غشا در هر سه رقیق‌کننده با گذشت زمان کاهش یافت. شوک‌های سرمایی (Amann و Graham، ۱۹۹۳)، پیر شدن اسپرماتوزوا در طی ذخیره‌سازی (Watson، ۱۹۸۱) و افزایش تولید اکسیژن‌های واکنش‌پذیر (Alvarez و همکاران، ۱۹۸۷) می‌تواند از دلایل خسارت غشایی اسپرم باشد. در آزمایش حاضر سالم بودن غشای اسپرم در لسیتین سویا نسبت به دو رقیق‌کننده دیگر تا حدی بهتر حفظ شده است که با نتایج پژوهش‌های Paulenz و همکاران (۲۰۰۲)، Bohlooli و همکاران (۲۰۱۲) و Gill و همکاران (۲۰۰۰) مطابقت دارد. در آزمایش حاضر سالم و ناسالم بودن آکروزوم در هر سه رقیق‌کننده با گذشت زمان به‌ترتیب کاهش و افزایش یافت. تولید اکسیژن‌های واکنش‌پذیر در طی ذخیره‌سازی (Aitken، ۱۹۹۴)، ویسکوزیته بالا (Viviana و همکاران، ۲۰۰۳) و سردسازی که سبب تولید اسپرم‌هایی با واکنش آکروزومی و در نتیجه خسارت‌های آکروزومی نسبت به اسپرم تازه، می‌تواند از دلایل خسارت‌های آکروزومی باشد. سالم بودن آکروزوم در لسیتین سویا نسبت به دو رقیق‌کننده دیگر تا حدی بهتر حفظ شده است که با نتایج پژوهش‌های Gill و همکاران(۲۰۰۰)؛ Hinsch و همکاران (۱۹۹۷)؛ Kasimanickam و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد.

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که استفاده از رقیق‌کننده حاوی لسیتین سویا در مقایسه با رقیق‌کننده‌های حاوی زرده تخم‌مرغ و شیر تفاوت معنی‌داری بر فراسنجه‌هایی همانند جنبایی کل و پیش‌رونده و زنده‌مانی اسپرم ایجاد نمی‌کند و با توجه به این‌که خطر انتقال آلودگی به‌وسیله رقیق‌کننده‌های دارای پروتئین با منشاء حیوانی وجود دارد، استفاده از رقیق‌کننده‌های دارای پروتئین با منشاء گیاهی (لسیتین سویا) بعد از انجام آزمایش‌های تکمیلی پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

از کارکنان ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد گوسفند زندی واقع در پیشوا- ورامین و هم‌چنین از آقایان مجتبی امام‌وردی و ابوذر نجفی، دانشجویان گروه علوم دامی دانشگاه تهران که در انجام این پژوهش همکاری داشته‌اند، تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع

1. **Aitken, R.J., 1994.** A free radical theory of male in Fertility. Reprod. Fertil. Dev. Vol. 6, pp: 19-23.
2. **Alvarez, JG.; Touchstone, J.C.; Blasco, L. and Storey, B.T., 1987.** Spontaneous lipid peroxidation and production of hydrogen peroxide and superoxide in human spermatozoa: superoxide dismutase as a major

enzyme protectant against oxygen toxicity. J. Androl. Vol. 23, pp: 338-348.

3. **Amann, R.P. and Graham, J.K., 1993.** Spermatozoa function in: MC Kinnor.A.O., J.L.Voss., Equine reproduction. Philadelpha: Lea and Febiger. pp: 715-745.
4. **Ball, B.A.; Medina, V.; Gravance, C.G. and Bumber, J., 2001.** Effect of antioxidants on preservation of motility, viability and acrosomal integrity of equine spermatozoa during storage at 5 degree C. Theriogenology. Vol. 56, No. 4, pp: 577-589.
5. **Baumber, J.; Ball, B.A.; Gravance, C.G.; Medina, V. and Davies, M.C.G., 2000.** The effect of reactive oxygen Species on equine sperm motility, viability, acrosomal integrity, mitochondrial membrane potential and membrane lipid peroxidation. Andrology. Vol. 21, No. 6, pp: 895-902.
6. **Bohlooli, S.; Cedden, F.; Pisjang, J.; Razzaghzadeh, S. and Bozoglu, S., 2012.** The effect of different extenders .on post thaw sperm viability, motility and membrane integrity in cryopreserved semen of zandi ram. J. Basic. Appl. Sci. Vol. 2, pp: 1120-23.
7. **Gill, J.; Januskausks, A.; Haard, M.C.; Haard, M.G.M.; Johanisson, A.; Soderquist, L. and Rodriguez-Martinez, H., 2000.** Functional sperm parameters and fertility of bull semen extended in biociphos Plus. Reprod. Dom. Anim. Vol. 35, pp: 69-77.
8. **Hinsch, E.; Hinsch, K.D.; Boehm, J.G.; Schill, W.B. and Muller–schoesser, F., 1997.** Functional parameters and Fertilization success of bovine semen cryopreserved in egg yolk–containing extenders. Reprod Domest. Anim. Vol. 32, pp: 143 -9.
9. **Kasimanickam, R.; kasimanickam, V.; Tibary, A. and Pelzer, K., 2011.** Effect of semen extenders on sperm parameters of ram semen during liquid storage at 4°C. Small Ruminant Research. Vol. 99, No. 2-3, pp: 208-213.
10. **Maxwell, W.M.C. and Watson, P.F., 1996.** Recent progress in the preservation of ram semen. Animal Reproduction Science. Vol. 42, No. 1-4, pp: 55-65.
11. **Menchaca, A.; Pinczak, A. and Queirolo, D., 2005.** Storage of ram semen at 5°C: Effect of preservation period and timed artificial insemination on pregnancy rate in ewes. Animal Reproduction. Vol. 2, No. 3, pp: 195-198.
12. **Mohit, A.; Mohammadi, M. and Shahbazi, M., 2011.** Effect of different levels of vitamins E and C on quality of diluted sperm of Taleshi ram during storage at 5°C. Journal of Veterinary Research. Vol. 66, No. 2, pp: 161-164.
13. **Ohl, D.A. and Menge, A.C., 1996.** Assessment of sperm functions and clinical aspects of impaired sperm function. Frentiersin Bioscience. Vol. 1, No. 1, pp: 96-108.
14. **Paulenz, H.; Soderquist, L.; Adnoy, T.; Fossen, O.H. and Berg, K.A., 2003.** Effect of milk- and TRIS-based extenders on the fertility of sheep inseminated vaginally once or twice with liquid semen. Theriogenology. Vol. 60, No. 4, pp: 759-766.
15. **Paulenz, H.; Soderquist, L.; Perez-Pe, R. and Berg, K.A., 2002.** Effect of different extenders and storage temperatures on sperm viability of liquid ram semen. Theriogenology. Vol. 57, No. 2, pp: 823-836.
16. **Viviana, A.; Hinsch, K.D.; Muller-Schloesser, F.; Bogner, K.; Muller-schloesser, S. and Hinsch, E., 2003.** In vitro and in vivo comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of bovine semen. Theriogenology. Vol. 60, pp: 269-79.
17. **Salamon, S. and Maxwell, W.M.C., 1995.** Frozen storage of ram semen. Cause of low fertilitafter cervical insemination and metod of improvement. Animal Reproduction Science. Vol. 38, No. 1-2, pp: 1-36.
18. **SAS Institute. 2003.** SAS/STAT User's Guide. Version 9.1. SAS Institute Inc., Cary, NC.
19. **Watson, P.F., 1981.** The effect of cold shock on sperm cell membranes. In: Morris. G. J.A. Clarke, editors.The effect of low temperatures on biological membranes. London: Academic. Press. pp: 189 – 218.

Comparison the effects of lecitine, egg yolk and milk as extenders on preservation of Zandi ram semen in cool condition

- **Fatemeh Fouladvand:** Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University Varamin-Pishva Branch, Pishva, Iran
- **Kazem Karimi*:** Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University Varamin-Pishva Branch, Pishva, Iran
- **Mahdi Zhandi:** Department of Animal Science, Faculty of Science and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, Tehran University, PO Box: 4111, Karaj, Iran
- **Kambiz Tofighi:** Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modarres University, PO Box 336-14115, Tehran, Iran

Received: May 2013 Accepted: August 2013

Key words: Extender, Cooling condition, Semen, Zandi ram

Abstract

The goal of this study was investigation of the effect of different semen extender including milk (M), Tris-egg yolk (TEY), and Tris-soybean lecithin (TSL) on ram sperm quality during cool storage condition. Semen was collected from four rams using artificial vagina. Afterward, ejaculates were pooled and then divided into three aliquots. Aliquots were diluted with either M, TEY or TSL based extenders and stored at 5°C for 48 hours. Total motility, progressive motility, and sperm viability were evaluated at 0, 3, 6, 24, and 48 hours after starting the experiment. The results showed as the experiment proceeds, the total and progressive motility significantly decreased in each three treatments. Also, total and progressive motility had no significant difference between three treatments, in exception of 3 hours after starting the experiment. Sperm viability as the experiment proceeds, significantly decreased in each three treatments, but there was no significant difference between different treatments. The results of this experiment show total motility, progressive motility, and sperm viability when semen was diluted with TSL extender had no significant difference in comparison with M and TEY extenders. So, TSL as an animal protein free extender can be an appropriate substitute for semen extenders containing milk and egg yolk to store ram semen in cool condition.

* Corresponding Author's email: karimikazem@gmail.com