

بررسی اثر اسیدهای چرب پلی انوئیک بلند زنجیر سری ۳-n و ۶-n و ویتامین E بر ترکیب اسیدهای چرب، حساسیت به پراکسیداسیون چربی و باروری اسپرم خروس

ناصر میدانی^۱ شعبان رحیمی^{۲*} علی اکبر قره داغی^۳ محمد امیر کریمی ترشیزی^۲

دریافت مقاله: ۲۷ بهمن ماه ۱۳۸۳
پذیرش نهایی: ۲۷ اسفند ماه ۱۳۸۴

THE EFFECTS OF DIETARY N-3 AND N-6 POLYUNSATURATED FATTY ACIDS ON FATTY ACID COMPOSITION AND FERTILITY OF SPERMATOZOA IN ROOSTERS

Meydani, N.¹, Rahimi, Sh.^{2*}, Gharahdaghi, A. A.³, Karimi Torshizi, M. A.²

¹Graduated from the College of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran- Iran. ²Department of Poultry Sciences, College of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran- Iran. ³Department of Animal Breeding and Genetic, Animal Science Research Institute of Iran, Karaj- Iran.

Effects of n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acids alone or in combination with vitamin E on male breeders' fatty acid composition of spermatozoa, fertility and lipid peroxidation were studied. Fish oil increased C22:6 n-3 and decreased C22:4 n-6 in the spermatozoa ($p < 0.05$). Susceptibility of spermatozoa to lipid peroxidation was higher in treatments containing either corn oil or fish oil ($p < 0.05$). The fish oil treatments had higher fertility rate compared to the other treatments ($p < 0.05$). The results of this study suggest that changes in fatty acids profile of roosters's spermatozoa via manipulation of diet is possible and may have significant influence on fertility. *J. Vet. Res.* 62,1:81-85,2007.

Key words: fertility, spermatozoa, lipid manipulation, lipid peroxidation, chicken.

*Corresponding author's email: rahimi-s@modares.ac.ir, Tel: 021-66026522, Fax: 021-66026524

Cerolini و همکاران در سال ۲۰۰۳ گزارش نمودند که در انسان و پرندگان جنبه‌های خاص متابولیسم چربی نظیر پراکسیداسیون یکی از علل مهم ناهنجاری‌های باروری است (۴). در اسپرماتوزوئید پرندگان نیز حضور فسفولیپیدهایی با تراکم بالا از اسیدهای چرب پلی انوئیک ۲۰ و ۲۲ کربنی عامل خطر مهمی برای توسعه پراکسیداسیون لیپید و آسیب پراکسیداتیو به غشاءهای اسپرماتوزوا می‌باشد. ویتامین E با عمل به عنوان یک آنتی‌اکسیدان محلول در چربی موجود در غشاء و بنابراین به عنوان یک جلوگیری‌کننده از شروع واکنش زنجیری اکسیداسیون نقش کلیدی در محافظت چربی‌های اسپرم در مقابل پراکسیداسیون بازی می‌کند. لذا به منظور بررسی نیاز به افزودن ویتامین E به خوراک پرندگان در خوراک‌های حاوی چربی مکمل از یک سطح افزایش یافته ویتامین E نیز استفاده شده است.

به منظور مقایسه اثر اسیدهای چرب بلند زنجیر سری ۳-n و ۶-n و ویتامین E بر ترکیب اسیدهای چرب، حساسیت به پراکسیداسیون چربی و باروری اسپرم خروس، روی خروس‌های مادرگوشتی انجام شد. جیره‌های آزمایشی دارای روغن ذرت یا روغن ماهی به تنهایی و یا همراه با ویتامین E بودند. روغن ماهی موجب افزایش ۳-n C22:6 و کاهش ۶-n C22:4 در اسپرم خروس‌ها شد. میزان باروری در گروه‌های حاوی روغن ماهی به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) بالاتر از سایر تیمارها بود. در اسپرم تیمارهای حاوی روغن ماهی اسید دوکوزا هگزانوئیک به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) بود. میزان حساسیت اسپرم به پراکسیداسیون چربی در تیمارهای دارای روغن و مکمل‌سازی شده با سطح بالای ویتامین E با تیمار شاهد تفاوتی نداشت، ولی در تیمارهای حاوی روغن و سطح پایین ویتامین E به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) بالاتر از تیمار شاهد بود. به طور کلی ترکیب اسید چرب اسپرم بر باروری تأثیر گذارد. مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۸۶، دوره ۶۲، شماره ۱، ۸۵-۸۱.

واژه‌های کلیدی: باروری، اسپرم، دستکاری چربی، پراکسیداسیون چربی، ماکیان.

غشاء پلاسمایی اسپرم نقش بسیار فعالی در توانایی بارور سازی اسپرم بازی می‌کند و ساختار بیوشیمیایی آن یکی از زمینه‌های اصلی مطالعه در خصوص فیزیولوژی و پاتولوژی اسپرم است. تئوری‌های رایج دربارهٔ امتزاج غشاء پیشنهاد می‌کنند که سیالیت غشاء پیش نیاز عملکرد طبیعی سلول است و سیالیت و انعطاف پذیری غشاءهای سلولی عمدتاً به ترکیب لیپیدی آنها بستگی دارد. Cerolini و همکاران در سال ۲۰۰۳ گزارش نمودند ترکیب لیپید منی ماکیان شاخص مهمی در مورد تعیین کیفیت و توانایی بارور سازی آن است (۴).

اسپرماتوزوا دارای یک ترکیب لیپیدی غیر معمول است. ترکیب لیپیدی اسپرم حاوی مقدار بسیار بالایی از گروه‌های آسیل اسیدهای چرب پلی انوئیک ۲۰ و ۲۲ کربنی است. در پستانداران اسید چرب اصلی فسفولیپید اسپرماتوزوا، اسید دوکوزا هگزانوئیک (۳-n-۲۲) است. در حالی که در اسپرم پرندگان اسید آراشیدونیک (۶-n-۲۰) و اسید دوکوزا تترانوئیک (۶-n-۲۲) برتری نشان می‌دهد. بنابراین اسپرم پستانداران از نظر اسیدهای چرب پلی انوئیک ۲۰ و ۲۲ کربنی نوع ۳-n غنی است در حالی که نوع ۶-n مشخصه اسپرم پرندگان است. باید یاد آور شد که پرندگانی که تاکنون چنین اطلاعاتی برای آنها قابل دسترس شده است شامل گونه‌های اهلی شده طیور می‌باشد.

۱) دانش آموخته دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران- ایران.

۲) گروه پرورش و تولید طیور دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران- ایران.

۳) بخش ژنتیک و اصلاح نژاد دام موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج- ایران.

* نویسنده مسؤول: تلفن: ۰۲۱-۶۶۰۲۶۵۲۲، فاکس: ۰۲۱-۶۶۰۲۶۵۲۴.

Email: rahimi-s@modares.ac.ir



جدول ۱- درصد اسیدهای چرب خوراک.

| اسیدهای چرب | تیمار | | | | | |
|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | شاهد | ش ۳۰۰ | ۶۰ذ | ۳۰۰ذ | ۶۰م | ۳۰۰م |
| ۱۶:۰۰ | ۲۰/۱۲ | ۱۹/۶۵ | ۱۳/۱۰ | ۱۶/۵۴ | ۲۳/۶۴ | ۲۴/۰۷ |
| ۱۸:۰۰ | ۲/۷۳ | ۲/۸۰ | ۳/۴۸ | ۲/۲۶ | ۴/۳۱ | ۴/۰۹ |
| ۱۸:۱n-۹ | ۲۸/۷۵ | ۳۰/۰۱ | ۳۰/۷۰ | ۲۸/۴۶ | ۲۹/۱۵ | ۲۷/۴۴ |
| ۱۸:۲n-۶ | ۴۶/۱۶ | ۴۵/۵۹ | ۵۱/۴۳ | ۵۱/۱۵ | ۲۳/۲۳ | ۲۸/۰۰ |
| ۱۸:۳n-۳ | ۱/۸۳ | ۱/۹۳ | ۱/۲۶ | ۱/۳۴ | ۲/۶۰ | ۲/۳۳ |
| ۲۰:۰۰ | ۰/۳۸ | ۰ | ۰ | ۰/۲۲ | ۰/۳۵ | ۰/۱۴ |
| ۲۰:۵n-۳ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۵/۰۴ | ۴/۱۶ |
| ۲۲:۴n-۶ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ |
| ۲۲:۶n-۳ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ | ۱۱/۶۵ | ۹/۷۲ |
| نسبت ۱۸:۲n-۶:۱۸:۳n-۳ | ۲۵/۲۲ | ۲۳/۶۰ | ۴۰/۵۵ | ۳۷/۹۱ | ۱/۲۰ | ۱/۷۲ |

هدف دیگر این طرح بررسی امکان افزایش اسیدهای چرب زنجیر بلند نوع ۳-۱۸ و ۶-۱۸ در غشاء پلاسمایی اسپرم با استفاده از غنی سازی خوراک با این اسیدهای چرب توسط منابع خوراکی غنی از آنها (روغن ذرت به عنوان منبع اسیدهای چرب سری ۶-۱۸ و روغن ماهی به عنوان منبع اسیدهای چرب سری ۳-۱۸ و بررسی اثرات ناشی از تغییر پروفیل اسیدهای چرب غشاء اسپرم بر توانایی بارورسازی اسپرم خروس می باشد.

مواد و روش کار

۲۴ قطعه خروس گله مادر گوشتی سویه هوبارد کلاسیک که در قفس های انفرادی نگهداری می شدند به ۶ گروه با ۴ پرنده در هر گروه تقسیم شدند. به هر گروه به طور تصادفی یکی از این خوراک ها اختصاص یافت: ۱- خوراک حاوی ۶۰ واحد بین المللی مکمل ویتامین E (نیاز استاندارد) (شاهد)، ۲- خوراک حاوی روغن ذرت (۳ درصد جیره) و ۶۰ واحد بین المللی مکمل ویتامین E (۶۰ذ)، ۳- خوراک حاوی روغن ماهی (۳ درصد جیره) و ۶۰ واحد بین المللی مکمل ویتامین E (۶۰م)، ۴- خوراک حاوی ۳۰۰ واحد بین المللی مکمل ویتامین E (ش ۳۰۰)، ۵- خوراک حاوی روغن ذرت (۳ درصد جیره) و ۳۰۰ واحد بین المللی مکمل ویتامین E (۳۰۰ذ)، ۶- خوراک حاوی روغن ماهی (۳ درصد جیره) و ۳۰۰ واحد بین المللی مکمل ویتامین E (۳۰۰م)، خوراک های حاوی روغن ذرت غنی از اسید لینولئیک (۶-۱۸:۲n) و خوراک های حاوی روغن ماهی غنی از اسیدهای ایکوزاپنتانوئیک (۲۰:۵n، ۳) و دوکوزاهگزانوئیک (۲۲:۶n-۳) بودند. ترکیب اسیدهای چرب خوراک های شاهد و آزمایشی در جدول ۱ و اجزاء تشکیل دهنده خوراک ها در جدول ۲ نشان داده شده است. همه خوراک ها دارای انرژی قابل متابولیسم و پروتئین خام مساوی بودند. میزان خوراک اختصاص داده شده به هر پرنده محدود و بر اساس وزن بدن و توصیه های راهنمای مدیریت و پرورش مرغ مادر سویه هوبارد کلاسیک بود. همچنین برنامه نوردی نیز بر اساس توصیه های همین راهنما بود. در شروع عرضه

جدول ۲- اجزاء تشکیل دهنده خوراک های مختلف (درصدی از جیره).

| مواد خوراکی | تیمار | | | | | |
|-----------------------------------|-------|-------|-------|-------|------|-------|
| | شاهد | ش ۳۰۰ | ۶۰ذ | ۳۰۰ذ | ۶۰م | ۳۰۰م |
| ذرت | ۴۸/۶۲ | ۵۱/۲۳ | ۳۵/۳۶ | ۳۷/۹۲ | ۳۵/۷ | ۳۹/۶۳ |
| کنجاله سویا | ۱۳/۴۸ | ۱۵/۷۳ | ۱۴/۳۱ | ۱۵/۳۳ | ۱۳/۸ | ۱۵/۳ |
| جو | ۲۶ | ۲۳/۸۴ | ۳۰ | ۲۷/۷۸ | ۳۰ | ۲۵/۵۷ |
| سیوس | ۶ | - | ۱۰ | ۵/۵۴ | ۱۰ | ۶/۱ |
| روغن ماهی | - | - | - | - | ۳ | ۳ |
| روغن ذرت | - | - | - | ۳ | - | - |
| شن | ۱/۵۵ | ۰/۵۵ | ۲/۵۵ | ۱/۵۵ | ۲/۵۵ | ۱/۵۵ |
| لیزین | ۰/۰۹ | ۰/۰۶ | ۰/۰۸ | ۰/۰۸ | ۰/۰۱ | ۰/۰۸ |
| متیونین | ۰/۰۸ | ۰/۰۸ | ۰/۰۹ | ۰/۰۹ | ۰/۰۱ | ۰/۰۹ |
| دی کلسیم فسفات | ۰/۰۶ | - | ۰/۲۷ | ۰/۲۱ | ۰/۵۳ | ۰/۱ |
| صدف | ۲/۴۲ | ۲/۴۶ | ۰/۲۸ | ۰/۳۱ | ۰/۳۲ | ۰/۳۲ |
| بی کرینات سدیم | ۰/۲۵ | ۰/۲۴ | ۰/۲۸ | ۰/۲۲ | ۰/۳۱ | ۰/۳۲ |
| نمک | ۰/۱۳ | ۰/۱۵ | ۰/۲۱ | ۰/۲۲ | ۰/۲۱ | ۰/۲۲ |
| پیش مخلوط ویتامین ^۱ | ۰/۷۵ | ۰/۷۵ | ۰/۷۵ | ۰/۷۵ | ۰/۷۵ | ۰/۷۵ |
| پیش مخلوط مواد معدنی ^۲ | ۰/۵ | ۰/۵ | ۰/۵ | ۰/۵ | ۰/۵ | ۰/۵ |
| مولتی آنزیم | ۰/۰۵ | ۰/۰۵ | ۰/۰۵ | ۰/۰۵ | ۰/۰۵ | ۰/۰۵ |
| پیش مخلوط ویتامین E | - | ۴/۳۶ | - | ۴/۳۶ | - | ۴/۳۶ |

۱- هر کیلوگرم پیش مخلوط ویتامین حاوی: ۲۸۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۸۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D3، ۸۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین E، ۱۰۰۰ میلی گرم ویتامین K3، ۷۸۸ میلی گرم تیامین، ۲۴۰۰ میلی گرم ریبوفلاوین، ۴۸۰۰ میلی گرم نیاسین، ۱۰۰۰۰ میلی گرم اسید پانتوتنیک، ۱۲۰۰ میلی گرم پیریدوکسین، اسید فولیک، ۵/۶ میلی گرم ویتامین B12، ۴۰ میلی گرم بیوتین و ۲۰۰۰۰ میلی گرم کولین کلراید می باشد.

۲- هر کیلوگرم پیش مخلوط مواد معدنی حاوی: ۲۲۰۰۰ میلی گرم منگنز، ۳۲۰۰۰ میلی گرم آهن، ۲۴۰۰۰ میلی گرم روی، ۲۴۷/۲ میلی گرم ید و ۸۰ میلی گرم سلنیوم می باشد.

خوراک های آزمایشی پرندگان در سن ۳۲ هفتگی بودند. Blesbois و همکاران در سال ۱۹۹۷ گزارش نمودند که برای تثبیت پروفیل اسیدهای چرب اسپرم ۵ هفته کافی می باشد (۱). لذا برآورد میزان باروری و نیز جمع آوری اسپرم جهت تجزیه اسیدهای چرب آن و تعیین حساسیت آن به پراکسیداسیون چربی از سن ۳۸ هفتگی شروع شد و تا سن ۴۲ هفتگی ادامه یافت.

جمع آوری منی: منی ۳ بار در هفته باروش ارائه شده توسط Burrows و Quinn در سال ۱۹۳۷ جمع آوری می شد (۳). بلافاصله پس از هر بار جمع آوری غلظت اسپرم توسط اسپکتروفتومتر کالیبره شده ($\lambda = 525\text{nm}$) اندازه گیری می شد. در هر هفته یک نوبت از جمع آوری منی جهت تلقیح مصنوعی به کار گرفته می شد و دو نوبت دیگر آن جهت جدا سازی اسپرم از پلاسمای منی سانتری فوژ شده (۵۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه) و سپس اسپرم برای آزمایش های بعدی در ۲۰- درجه سانتیگراد منجمد می شد.



جدول ۳- درصد اسیدهای چرب (میانگین \pm مشاهده \pm انحراف معیار) اسپرم.

| اسید چرب | تیمار | | | | | |
|------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | شاهد | ش ۳۰۰ | ن ۶۰ | ن ۳۰۰ | م ۶۰ | م ۳۰۰ |
| ۱۴:۰۰ | ۲/۹۶ \pm ۰/۷۹ | ۳/۱۷ \pm ۰/۸۷ | ۲/۴۹ \pm ۱/۰۵ | ۲/۵۰ \pm ۰/۷۵ | ۳/۲۷ \pm ۱/۳۱ | ۳/۳۰ \pm ۱/۰۳ |
| ۱۶:۰۰ | ۳۲/۸۵ \pm ۴/۵۶ | ۳۲/۱۰ \pm ۳/۱۰ | ۳۳/۲۶ \pm ۴/۲۵ | ۳۲/۵۱ \pm ۴/۸۸ | ۳۳/۶۵ \pm ۲/۸۲ | ۳۲/۸۴ \pm ۲/۰۲ |
| ۱۸:۰۰ | ۲۶/۶۶ \pm ۵/۱۶ ^{ab} | ۲۵/۷۸ \pm ۲/۲۳ ^{ab} | ۲۷/۸۹ \pm ۲/۱۱ ^{ab} | ۲۶/۸۸ \pm ۴/۶۴ ^{ab} | ۲۵/۱۹ \pm ۲/۰۷ ^b | ۲۸/۲۲ \pm ۱/۹۷ ^a |
| ۱۸:۱n-۹ | ۱۹/۰۶ \pm ۴/۷۹ | ۲۰/۴۹ \pm ۲/۵۷ | ۱۷/۸۶ \pm ۱/۸۱ | ۱۹/۷۲ \pm ۵/۸۷ | ۲۰/۴۸ \pm ۲/۱۲ | ۱۹/۱۴ \pm ۲/۲۷ |
| ۱۸:۲n-۶ | ۴/۹۵ \pm ۱/۳۸ ^{ab} | ۴/۴۵ \pm ۱/۳۵ ^b | ۵/۲۰ \pm ۰/۸۸ ^{ab} | ۶/۷۹ \pm ۵/۰۸ ^a | ۵/۱۰ \pm ۱/۷۶ ^{ab} | ۴/۰۷ \pm ۰/۸۲ ^b |
| ۱۸:۳n-۳ | ۳/۲۳ \pm ۳/۵۷ | ۴/۲۰ \pm ۳/۵۵ | ۴/۲۱ \pm ۳/۳۴ | ۲/۵۴ \pm ۲/۵۸ | ۳/۷۹ \pm ۳/۰۰ | ۳/۳۹ \pm ۲/۳۷ |
| ۲۰:۵n-۳ | ۰/۱۳ \pm ۰/۲۸ | ۰/۱۰ \pm ۰/۰۴ | ۰/۱۶ \pm ۰/۳۳ | ۰/۱۹ \pm ۰/۵۳ | ۰/۳۶ \pm ۰/۶۹ | ۰/۱۳ \pm ۰/۱۴ |
| ۲۲:۴n-۶ | ۸/۸۹ \pm ۵/۳۹ ^a | ۹/۳۴ \pm ۳/۰۱ ^a | ۸/۵۶ \pm ۳/۰۶ ^a | ۸/۴۶ \pm ۲/۷۷ ^a | ۵/۷۸ \pm ۱/۸۷ ^b | ۵/۸۶ \pm ۱/۶۸ ^b |
| ۲۲:۶n-۳ | ۰/۳۲ \pm ۰/۸۰ ^c | ۰/۰۷ \pm ۰/۱۲ ^c | ۰/۰۳ \pm ۰/۱۱ ^c | ۰ ^c | ۲/۰۸ \pm ۰/۶۷ ^b | ۲/۵۵ \pm ۰/۹۱ ^a |
| نسبت ۱۸:۳n-۳-۶:۱۸-۲n-۶ | ۳/۰۵ ^a | ۲/۸۶ ^a | ۲/۸۶ ^a | ۵/۲۳ ^a | ۱/۶۸ ^b | ۱/۵۹ ^b |

^{a-c} میانگین‌های موجود در یک سطر با حروف نامشابه به طور معنی‌داری با یکدیگر تفاوت دارند ($p < 0.05$).

تجزیه آماری: آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. نتایج با استفاده از روش GLM نرم افزار آماری SAS (۹) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و با مشاهده وجود تفاوت معنی‌دار، میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با یکدیگر مقایسه شدند. مقادیر ارائه شده به صورت میانگین \pm انحراف معیار مشاهدات می‌باشد.

نتایج

ترکیب اسید چرب خوراک‌ها (جدول ۱) نشان می‌دهد که بیشترین اسید چرب دریافتی توسط پرندگان تیمارهای مختلف، اسید لینولئیک (۳-۱۸:۲n) می‌باشد. با این حال نسبت ۳-۶:n و نیز میزان اسیدهای چرب پلی انوئیک ۲۰ و ۲۲ کربنی دریافت شده توسط تیمارهای روغن ماهی به طور قابل توجهی با سایر تیمارها تفاوت دارد.

تجزیه اسیدهای چرب اسپرم نشان دهنده اثرات تفاوت‌های موجود در ترکیب اسیدهای چرب خوراک بر ترکیب اسید چرب اسپرم می‌باشد (جدول ۳). خوراک حاوی روغن ماهی باعث افزایش میزان اسید دوکوزاهگزانوئیک در چربی اسپرم شد ($p < 0.05$). میزان اسید دوکوزاترآنوئیک (۶-۲۲:۴n) در تیمار خوراک حاوی روغن ماهی به طور معنی‌داری پایین‌تر از تیمارهای دیگر بود ($p < 0.05$). با این حال این اسید چرب به عنوان فراوان‌ترین اسید چرب بلند زنجیر غیر اشباع در اسپرم پرندگان کلیه تیمارها باقی ماند. این اسید چرب در خوراک‌ها تشخیص داده نشد و در بدن از اسید لینولئیک سنتز شده است. همچنین نسبت اسیدهای چرب ۳-۶:n در اسپرم پرندگانی که از خوراک محتوی روغن ماهی استفاده می‌کردند کاهش یافت ($p < 0.05$). استفاده از روغن ذرت در خوراک اثر معنی‌داری در میزان اسیدهای چرب اسپرم در مقایسه با تیمار شاهد نداشت. همچنین استفاده از مکمل ویتامین E در سطح بالاتر از نیاز توصیه شده توسط راهنمای مدیریت و پرورش سویه مورد استفاده در این آزمایش به تنهایی و یا در خوراک غنی شده با اسیدهای چرب سری ۶-n اثر معنی‌داری بر ترکیب اسیدهای چرب در مقایسه با تیمار شاهد

تجزیه چربی: چربی اسپرم توسط روش ارائه شده توسط Folch و همکاران در سال ۱۹۵۷ و با استفاده از کلروفرم-متانول استخراج شد (۶). پس از هیدرولیز و متیل استر نمودن اسیدهای چرب با روش ارائه شده توسط Metcalf و همکاران در سال ۱۹۹۶ میزان آن‌ها توسط گاز کروماتوگرافی مدل Unicam 4600 اندازه‌گیری شد (۸). ستون مورد استفاده BPX 70 (بسیار قطبی) با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۲ میلی‌متر، ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر، دمای محل تزریق ۲۴۰ درجه سانتیگراد و دمای آشکارساز ۲۸۰ درجه سانتیگراد بود. از گاز هلیوم به عنوان حامل استفاده شد. برنامه دمایی مورد استفاده به این صورت بود: دمای اولیه ۱۴۰ درجه سانتیگراد به مدت ۶ دقیقه، سپس دما با سرعت ۴۰ درجه سانتیگراد در دقیقه به ۱۸۰ درجه سانتیگراد افزایش یافته و به مدت ۸ دقیقه در همین دما باقی مانده و مجدداً دما با سرعت ۲۰ درجه سانتیگراد در دقیقه به ۱۹۰ درجه سانتیگراد افزایش یافته و به مدت ۲۶ دقیقه در همین دما باقی می‌ماند. در ابتدای هر زمان اجرا، اسپلیت به مدت ۲۴ ثانیه بسته و سپس باز می‌شد.

حساسیت اسپرم به پراکسیداسیون چربی: میزان حساسیت اسپرم به پراکسیداسیون چربی با استفاده از روش Botsoglou و همکاران در سال ۱۹۹۴ اندازه‌گیری شد (۲). میزان حساسیت به صورت نسبی و براساس درصد حساسیت اسپرم هر یک از تیمارها به پراکسیداسیون چربی نسبت به گروه شاهد بیان شده است.

تلقیح مصنوعی و ارز یابی باروری: میزان باروری توسط تلقیح مصنوعی ۹ مرغ به ازای هر خروس ارز یابی شد. هر مرغ هفته‌ای یک بار تلقیح می‌شد. دز تلقیح 10×1200 اسپرم بود. تخم مرغ‌های جمع‌آوری شده از روز دوم تا روز ۸ بعد از هر تلقیح جهت محاسبه باروری منتج از همان تلقیح مورد استفاده قرار گرفت. هفت روز بعد از شروع انکوباسیون تخم مرغ‌ها در دستگاه جوجه‌کشی، تخم مرغ‌های بارور توسط نوربینی شمارش شده و میزان باروری با تقسیم تعداد تخم مرغ‌های بارور بر تعداد تخم‌های انکوبه شده و ضرب نتایج در ۱۰۰ محاسبه گردید.



جدول ۴- اثر خوراک بر میزان باروری.

| تیمار | باروری (%) |
|-------|-------------------------|
| شاهد | ۷۶/۵۶±۰/۶۰ ^b |
| ش ۳۰۰ | ۷۶/۳۹±۰/۴۲ ^b |
| ۶۰ذ | ۷۵/۵۱±۰/۷۵ ^b |
| ۳۰۰ذ | ۷۵/۶۷±۰/۶۳ ^b |
| ۶۰م | ۷۹/۷۸±۱/۰۹ ^a |
| ۳۰۰م | ۸۰/۰۵±۰/۵۵ ^a |

a,b حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها است ($p < 0.05$).

جدول ۵- حساسیت اسپرم به پراکسیداسیون چربی.

| تیمار | حساسیت به پراکسیداسیون (%) |
|-------|----------------------------|
| شاهد | ۱۰۰ ^b |
| ش ۳۰۰ | ۸۴ ^b |
| ۶۰ذ | ۱۵۶ ^a |
| ۳۰۰ذ | ۱۰۰ ^b |
| ۶۰م | ۱۶۴ ^a |
| ۳۰۰م | ۶۰ ^b |

a,b حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها است ($p < 0.05$).

کننده سرعت واکنش است باشد. این آنزیم برای تبدیل اسید لینولئیک به اسید دوکوزاترانوئیک لازم است.

Connor و همکاران در سال ۱۹۹۸ با تجزیه اسید چرب قسمت سر و دم اسپرماتوزوئید میمون نشان دادند که اسید دوکوزاهگزانوئیک به ترتیب ۱/۱ و ۱۹/۶ درصد مجموع اسیدهای چرب سر و دم اسپرماتوزوئید را تشکیل می‌دهد (۵). به عبارت دیگر ۹۹ درصد مجموع اسید دوکوزاهگزانوئیک اسپرم در قسمت دم آن قرار دارد. از آنجا که چربی‌ها نقش مهمی در تمامیت، سیالیت، ثبات و نفوذپذیری غشاء دارند این تفاوت در ترکیب لیپیدی بین اسپرم دم آن ممکن است به اعمال منحصر به فرد آن‌ها کمک نماید. این محققین پیشنهاد می‌کنند که ممکن است تراکم انتخابی اسید دوکوزاهگزانوئیک با داشتن پیوندهای دوگانه بیشتر در دم اسپرم برای افزایش سیالیت غشاء، که لازمه خمش و انعطاف دم است مورد نیاز باشد. این خمش و انعطاف برای تحرک اسپرم لازم است. اگرچه چنین مطالعه‌ای در مورد پرندگان توسط نویسندگان مشاهده نشده است اما ممکن است بتوان افزایش باروری در پرندگان تیمارهای حاوی روغن ماهی را به افزایش در تحرک اسپرم که ناشی از افزایش انعطاف دم اسپرم به واسطه افزایش در میزان غیراشباع بودن غشاء آن است نسبت داد. در بررسی Zaniboni و همکاران در سال ۲۰۰۴ نیز خوردن روغن ماهی باعث افزایش تحرک پیش رونده به سمت جلودر اسپرم شد (۱۱).

همان گونه که انتظار می‌رود میزان حساسیت به پراکسیداسیون چربی در اسپرم پرندگان تیمارهایی که یکی از روغن‌ها را بدون افزایش سطح ویتامین E دریافت می‌کردند نسبت به تیمارهای دیگر افزایش پیدا کرده است. اگرچه این تفاوت حداقل در مورد تیمار حاوی روغن ماهی و بدون افزایش سطح ویتامین E (۶۰م) در میزان غیر اشباع‌ترین اسید چرب (اسید دوکوزاهگزانوئیک) منعکس شده است اما اثری بر میزان باروری نداشته است. این موضوع به علاوه مطلب دیگر یعنی عدم وجود تفاوت در میزان باروری در تیمار شاهد با تیمار مکمل سازی شده با ۳۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E و بدون روغن (ش ۳۰۰) می‌تواند بیانگر کفایت سطح ویتامین E توصیه شده توسط راهنمای مدیریت و پرورش این سویه حتی در هنگام مصرف ۳ درصد چربی در خوراک جهت حفظ میزان مطلوب باروری آن باشد.

نداشت. اثر ترکیب اسیدهای چرب خوراک بر میزان باروری در جدول ۴ نشان داده شده است. همان گونه که ملاحظه می‌گردد میزان باروری در تیمارهای حاوی روغن ماهی به طور معنی داری با سایر تیمارها تفاوت دارد ($p < 0.05$). جدول ۵ نشان دهنده حساسیت اسپرم در تیمارهای مختلف به پراکسیداسیون چربی می‌باشد.

بحث

در این آزمایش همانند آزمایشاتی که توسط Zaniboni و همکاران در سال ۲۰۰۴، Surai و همکاران در سال ۲۰۰۰، Kelso و همکاران در سال ۱۹۹۷ و Blesbois و همکاران در سال ۱۹۹۷ انجام گرفته است خوردن منابع غنی از اسیدهای چرب بلند زنجیر سری ۳-n مانند روغن ماهی باعث کاهش قابل توجهی در نسبت ۳-n:۶-n در چربی اسپرم شده است (جدول ۳) (۱۰، ۱۱، ۱۷). این تغییر در نتیجه افزایش سهم اسید دوکوزاهگزانوئیک و کاهش سهم اسید دوکوزاترانوئیک در چربی اسپرم پرندگان تیمارهای حاوی روغن ماهی می‌باشد. میزان اسید دوکوزاهگزانوئیک در اسپرم پرندگان تیمار حاوی روغن ماهی و ۳۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E به طور معنی داری ($p < 0.05$) بیشتر از اسپرم پرندگان تیمار حاوی روغن ماهی و ۶۰ واحد بین‌المللی ویتامین E بود که احتمالاً مربوط به اثر محافظتی ویتامین E بر این اسید چرب می‌باشد. در جدول ۵ نیز وجود تفاوت در حساسیت به پراکسیداسیون در بین این دو تیمار به وضوح قابل مشاهده است. با وجود میزان بالایی از اسید ایکوزاپنتانوئیک در روغن ماهی، میزان آن در چربی اسپرم پرندگان تیمارهای حاوی روغن ماهی افزایش پیدا نکرده است. Blesbois و همکاران در سال ۱۹۹۷، Kelso و همکاران در سال ۱۹۹۷، Surai و همکاران در سال ۲۰۰۰ نیز در بررسی‌های خود به همین نتیجه رسیده‌اند (۱۰، ۱۱، ۱۷). اما Zaniboni و همکاران در سال ۲۰۰۴ با خوردن یک درصد روغن ماهی موفق به افزایش قابل توجهی در سهم این اسید چرب در فسفولیپید اسپرم شدند. با وجود تفاوت موجود بین تیمار شاهد و تیمارهای حاوی روغن ذرت در میزان اسید لینولئیک که پیش ساز اسید دوکوزاترانوئیک می‌باشد (جدول ۱)، در میزان اسید چرب اخیر در اسپرم پرندگان این تیمارها تفاوتی مشاهده نمی‌شود. این موضوع می‌تواند به دلیل محدودیت ناشی از وجود آنزیم Δ^6 desaturase که یک آنزیم محدود



References

1. Blesbois, E., Lessire, M., Grasseau, I., Hallouis, J.M. and Hermier, D.(1997) Effects of dietary fat on the fatty acid composition and fertilizing ability of fowl semen. *Biol. Reprod.* 56: 1216-1220.
2. Botsoglou, N.A., Fletouris, D.J., Papageorgiou, G.E., Vassiliopoulos, V.N., Mantis, A.J., and Trakatellis, A.G.(1994) Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. *J. Agricul. Food Chem.* 42:1931-1937.
3. Burrows, W.H., Quinn, J.P.(1937) The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. *Poult Sci.* 26: 19-24.
4. Cerolini, S., Pizzi, F., Gliozzi, T., Maldigian, A., Zaniboni, L. and Parodi, L.(2003) Lipid manipulation of chicken semen by dietary means and its relation to fertility: a review. *World's Poult. Sci. J.* 59: 65-75.
5. Connor, W.E., Lin, D.S., Wolf, D.P., Alexander, M.(1998) Uneven distribution of desmosterol and docosahexaenoic acid in the heads and tails of monkey sperm. *J. Lipid Res.* 39:1404-1411.
6. Folch, J., Less, M., Sloane-Stanley, G.H.(1957) A simple method isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226:497-509.
7. Kelso, K.A., Cerolini, S., Noble, R.C., Sparks, N.H.C. and Speake, B.K.(1997) The effect of dietary supplementation with docosahexaenoic acid on the phospholipid fatty acid composition of avian spermatozoa. *Comp. Biochem. Physiol.* 118B: 65-69.
8. Metcalf, L.C., Schmitz, A.A., Pelka, J.R.(1996) Rapid preparation of methyl esters from lipid for gas chromatography analysis. *Analy Chem.* 38:514-515.
9. SAS institute,(1990) SAS/STAT[®] user's guide: Statistics. Release 6.04. SAS institute, Cary, NC.
10. Surai, P.F., Noble, R.C., Sparks, N.H.C. and Speake, B.K.(2000) Effect of long-term supplementation with arachidonic or docosahexaenoic acids on sperm production in the broiler chicken. *J. Reprod. Fertil.* 120: 257-264.
11. Zaniboni, L., Parodi, L., Maldjian, A., Gliozzi, T., Pizzi, F., and Cerolini, S.(2004) Combined effect of DHA and α -tocopherol enrichment on quality and susceptibility to oxidation in chicken

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان دهنده امکان دستکاری پروفیل اسید چرب اسپرم از طریق تغییر در ترکیب اسید چرب خوراک می‌باشد. این تغییر در ترکیب اسید چرب اسپرم ممکن است بر میزان باروری اثر داشته باشد. اگرچه مکانیسم این اثر کاملاً روشن نشده است اما تغییر در سیالیت غشاء اسپرم می‌تواند توضیحی برای این موضوع باشد. لذا به منظور یافتن دلایل روشن‌تر نیاز به تحقیقات بیشتر به خصوص در مورد نحوه توزیع اسیدهای چرب در قسمت‌های مختلف اسپرم پرنده‌گان می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان صمیمانه از حسن همکاری و مساعدت‌های فراوان آقای مهندس هادی کاظمی، کارشناس محترم آزمایشگاه دام و طیور دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، آقای دکتر هوشنگ لطف‌الهیان، ریاست محترم بخش طیور موسسه تحقیقات علوم دامی کشور و آقای دکتر احمد میرهادی، ریاست محترم آزمایشگاه مرکزی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور تشکر می‌نمایند.

spermatozoa. Proceedings of XXII World's Poultry Science Congress, Istanbul, Turkey (on CD).

