



اثر زرده تخم مرغ در رقیق کننده تریس بر تحرک اسپرم قوچ دالاق در شرایط انجماد

*مهناز احمدی همدانی

دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

نویسنده مسئول: مهناز احمدی همدانی mahmadih@yahoo.com

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی اثر زرده تخم مرغ در رقیق کننده تریس بر روی خصوصیات حرکتی اسپرم قوچ دالاق در شرایط پس از انجماد بود. نمونه های منی از ۴ راس قوچ سالم و بالغ با میانگین وزنی 5 ± 45 کیلوگرم و با استفاده از شوک الکتریکی جمع آوری شدند و با رقیق کننده تریس به نسبت ۱ به ۴ مخلوط شده و پس از ۲ ساعت سردسازی و رسیدن به دمای ۵ درجه سانتی گراد بدون پایوتهای نیم میلی لتری پر شدند و ابتدا بر روی بخار ازت مایع منجمد و پس از آن در ازت مایع نگهداری گردیدند. پس از ۱۰ روز پایوتهای یخگشایی شدند و میزان حرکت موجی، درصد تحرک و حرکت پیشرونده آنها بررسی شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲ تیمار شامل تیمار فاقد زرده و تیمار حاوی زرده تخم مرغ و ۷ تکرار صورت گرفت. نتایج نشان داد که حضور زده تخم مرغ در رقیق کننده بر حرکت موجی، میزان تحرک و حرکت پیش رونده اسپرماتوزوا معنی دار بود ($P < 0/05$). بنابراین به منظور نگهداری اسپرم قوچ دالاق در شرایط انجماد، بکارگیری زرده تخم مرغ در رقیق کننده تریس پیشنهاد می-گردد.

واژگان کلیدی: تحرک، اسپرم، زرده تخم مرغ، قوچ

مقدمه

تلقیح مصنوعی یکی از روش های سودمند و مؤثر برای بهبود کارایی تولید دامها است که لازمه استفاده بهینه از آن، ذخیره سازی اسپرم به صورت مایع و منجمد می باشد. انجماد اسپرم در پیشرفت ژنتیکی گله، جلوگیری از انقراض نژادهای بومی و انتقال مایع منی از مرکز تولید و جمع آوری به دورترین مکان ها نقش مهمی دارد. اما از مشکلات انجماد اسپرم می توان به کاهش تحرک، آسیبهای عملکردی و ساختاری غشاء و کاهش توان باروری اشاره نمود. بنابراین حضور محافظت کننده های انجمادی در رقیق کننده به منظور کاهش آسیبهای حاصل از سرد سازی، انجماد و یخگشایی امری ضروری است. زرده تخم مرغ نیز یکی از محافظت کننده های انجمادی است که با عمل بر غشای سلولی، اسپرم را در برابر شوک سرمایی محافظت می کند که لیپوپروتئینهای با دانسیته پایین^۱ LDL، ترکیبات مهم در زرده تخم مرغ هستند که مسئولیت حفاظت از اسپرم را بر عهده دارند. LDL در حدود دو سوم بخش جامد زرده تخم مرغ را تشکیل می دهد که دارای هسته ای از تری گلیسرید و کلسترول است که به وسیله فسفولیپید و پروتئین احاطه شده است (سالامون و ماکسول، ۱۹۸۷). باتوجه به کاهش خصوصیات حیاتی اسپرم در طی انجماد، می بایست ترکیبات رقیق کننده ها، به گونه ای انتخاب گردد که اسپرم را نسبت به شرایط متغیر بوجود آمده حفاظت کند. بنابراین هدف از انجام این مطالعه، بیان نقش زرده تخم مرغ بر تحرک اسپرم قوچ دالاق در شرایط انجماد بود.

مواد و روشها

این تحقیق در ایستگاه تحقیقات علوم دام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان صورت گرفت. از ۴ رأس قوچ دالاق ۳ تا ۴ ساله با وزن 5 ± 45 کیلوگرم، اسپرم گیری به وسیله دستگاه شوک الکتریکی انجام شد. نمونه های مناسب انتخاب و به نسبت ۱ به ۴ اسپرم به رقیق کننده

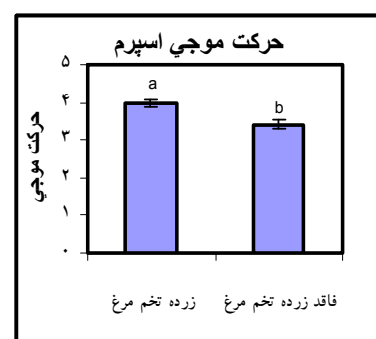
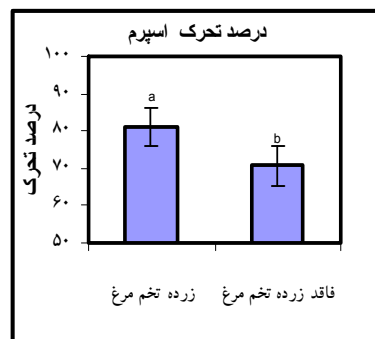
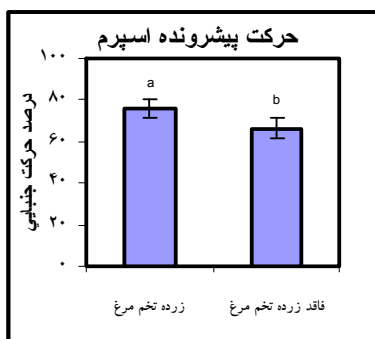
^۱ - Low density lipoprotein



اضافه گردید. تیمارها شامل رقیق کننده تریس فاقد زرده و حاوی زرده تخم مرغ بودند. ابتدا نمونه ها تا دمای ۵ درجه سانتی گراد سرد، سپس به درون پایوتهای ۰/۵ میلی لیتری پر و ابتدا بر روی بخار ازت مایع منجمد و سپس در ازت مایع نگهداری شدند. پایوتهای حاوی اسپرم منجمد پس از ۱۰ روز یخگشایی شدند. ارزیابی خصوصیات حیاتی شامل تعیین حرکت موجی، درصد اسپرم متحرک و حرکت پیشرونده با شمارش میکروسکوپی انجام شد. به منظور تعیین حرکت موجی، یک قطره اسپرم را بر روی یک لام با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد بدون لامل گذاشته و با بزرگنمایی ۱۰۰X حرکت موجی مورد مشاهده قرار گرفت که برای بیشترین حرکت، امتیاز ۵ و فاقد حرکت، امتیاز صفر در نظر گرفته شد. به منظور تعیین درصد تحرک اسپرماتوزوا یک قطره اسپرم و یک قطره سرم فیزیولوژی بر روی لام قرار داده و با مشاهده مستقیم و شمارش سلولهای اسپرماتوزوای دارای حرکت در میدان دید میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰X، تعداد اسپرم متحرک شمارش و برای تعیین حرکت پیشرونده، تعداد اسپرمهای دارای حرکت مستقیم به جلو شمارش شدند (سالامون و ماکسول، ۱۹۸۷). این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. داده های آزمایش با استفاده از نرم افزار آماری SAS آنالیز شد. میانگین داده ها با آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند و به دلیل درصدی بودن داده ها در این آزمایش از تست نرمالیت استفاده گردید و چون دارای توزیع نرمال بودند از تبدیل زاویه ای استفاده نشد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که اثر زرده تخم مرغ بر حرکت موجی، تحرک اسپرم و حرکت پیشرونده اسپرم در شرایط انجماد معنی دار بوده است ($P < 0/05$) و بالاترین میزان حرکت موجی، تحرک و حرکت پیشرونده با میانگین $4 \pm 0/2$ ، $81 \pm 1/29$ درصد و $75 \pm 0/92$ درصد به ترتیب در تیمار حاوی زرده تخم مرغ بدست آمد (نمودار ۱، ۲ و ۳). اسپرم در نبود ترکیبات محافظ، زمانی که دمای آن به میزان قابل ملاحظه ای از دمای بدن کمتر شود به شوک سرمایی مبتلا می شود که این شوک سبب کاهش تحرک و افزایش نفوذ پذیری غشاء اسپرمها نسبت به آلودگیها، یونها، ATP، آنزیمها، آزاد شدن فسفولیپیدها از اسپرم و کاهش سیالیت غشاء می گردد که برای جلوگیری از آن از زرده تخم مرغ استفاده می شود. فسفولیپیدهای موجود در LDL زرده تخم مرغ با تشکیل لایه محافظتی بر غشاء و رقابت با پپتیدهای زیانبار در پلاسما منی که سبب خروج کلسترول از سطح غشاء و حساسیت اسپرم به شوک سرمایی می شوند، از سلول اسپرم محافظت و به این طریق به ذخیره سازی جامد اسپرم کمک می کند (برگرون و منجونات، ۲۰۰۶). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که حضور زرده تخم مرغ در رقیق کننده تریس سبب افزایش تحرک، حرکت پیشرونده و حرکت موجی اسپرم قوچ گردید. سالامون و ماکسول (۱۹۹۵) بهترین درصد زنده مانی و بهبودی را برای اسپرم قوچ در رقیق کننده حاوی زرده تخم مرغ و گلیسرول بدست آوردند. فرناندزستنز و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند که حضور زرده تخم مرغ به طور معنی داری خصوصیات حیاتی (زنده مانی و تحرک) اسپرماتوزوا را بهبود می بخشد.



نمودار ۱- حرکت موجی (± انحراف استاندارد) نمودار ۲- درصد تحرک اسپرم (± انحراف استاندارد) نمودار ۳- درصد حرکت پیشرونده (± انحراف استاندارد)



نتیجه گیری کلی

با توجه به اینکه مهمترین احتیاج سلول به انرژی بمنظور تحرک اسپرم است و زرده تخم مرغ حاوی مقداری گلوکز و برخی ترکیبات انرژی زا است و بدلیل مقاومت در برابر شوک سرمایی، بکارگیری زرده تخم مرغ در رقیق کننده تریس برای نگهداری طولانی مدت اسپرم قوچ دالاق پیشنهاد می گردد.

منابع

1. Evans G, Maxwell C. 1987. Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats. Sydney: Butterworths. pp:194.
2. Bergeron, A and Manjunath P. 2006. New insights towards understanding the mechanisms of sperm protection by egg yolk and milk. Molecular Reproduction and Development Volume 73 (10): 1338 – 1344.
3. Fernández-Santos M.R, Estes MC, Soler AJ, Montoro V, Garde JJ. 2006. Effects of EggYolk and Cooling Rate on the Survival of Refrigerated Red Deer (*Cervus elaphus hispanicus*) Epididymal Spermatozoa. Reproduction in Domestic Animals. 41(2):114 – 118.
4. Salamon S, Maxwell WMC, 1995. Frozen storage of ram semen I. Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination (review). Animal Reproduction Science. 37:185–249.

The effect of egg yolk in Tris extender on spermatozoa motility of Dallagh ram in frozen condition

Mahnaz Ahmadi Hamedani*

Student M.S.c, Animal of Physiology, Gorgan Of Agriculture Science and Natural Resources University

Corresponding author: Mahnaz Ahmadi Hamedani

Email: mahmadih@yahoo.com

Abstract:

The objective of this study was to investigate the effect egg yolk in Tris extender on motility characteristics of spermatozoa in Dallagh ram in post frozen condition. Semen samples were collected from 4 healthy and mature rams using an electro ejaculator with average 45 ± 5 Kg and were mixed with Tris extender in a ratio of 1:4 semen, after 2 hours, cooled to 5°C . Then, 0.5 ml of straws were filled with diluted semen and freeze above liquid nitrogen vapor and kept in liquid nitrogen. After 10 days straw were thawed and wave motion, motility and progressive motility were investigated. This experiment was carried out on the basis of completely randomized design with 2 treatments include treatment of egg yolk and non egg yolk with 7 replications. Results showed that the egg yolk on wave motion, motility and progressive motility was significant ($P < 0.05$). Therefore using egg yolk in Tris extender is recommend for storage Dallagh rams in frozen condition.

Key words: motility, spermatozoa, egg yolk, ram