Sari Agriculture Sceinces and Natural Resources University

Research on Animal Production, Vol.14, No. 41, Autumn 2023 p: 89-97

"Research Paper"

Effect of Different Sources of n-3 Unsaturated Fatty Acids on the Fatty Acid Profile and Biochemical and Physiological Characteristics of Qezel Ram Sperm

Asef AhmadFazel[1], Hossein DaghighKia[2], Ali HosseinKhani[3], Gholamreza Hamidian[4] and Hamed Khalilvndi Behrouzyar[5]

1- Ph.D. student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tabriz University, Tabriz, Iran
2- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tabriz University, Tabriz, Iran,
(Corresponding author: hdk6955@gmail.com)
3- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tabriz University, Tabriz, Iran
4- Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz University, Tabriz, Iran
5- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
Received: 05 February, 2023 Accepted: 24 May, 2023

Extended Abstract

Introduction and Objectives: Recent studies have shown that consuming different sources of omega-3 fatty acids can play an important role in improving sperm quality in different species. The purpose of this study was to investigate the effects of using different sources of omega-3 fatty acids in the diet of Qezel ram, on volume and concentration of semen, fatty acid profile and characteristics of fresh and frozen-thawed sperm.

Material and Methods: In this study, which was carried out for three months, 16 adult rams of Qezel breed were selected and randomly divided into 4 groups, and each group received one of the diets, all of which were isocaloric and isonitrogenous. The first group: diet without oil (control), the second group: diet with palm oil, the third group: diet with flax oil and the fourth group: diet with fish oil. After habituation of the rams, sperm collection was done weekly with an artificial vagina for 13 weeks. After evaluating the appearance and measuring the sperm volume, sperm concentration and motility in the fresh sperm samples, the sperm samples were frozen packing in straws. Physiological and biochemical characteristics of sperms after freezing-thawing, including sperm motility parameters (CASA), viability percentage, HOST and Hancock test and fatty acid profile were evaluated.

Results: The results showed that the concentration, viability and integrity of sperm plasma membrane in the third and fourth groups were significantly increased compared to the control and second groups ($P<0.01$). Also, the abnormal morphology in the third and fourth groups was significantly reduced compared to the control and palm oil receiving groups ($P<0.01$). Motility parameters such as total motility, straight line velocity (VSL), curvilinear velocity (VCL) and average path velocity (VAP) in the third and fourth groups showed a significant increase compared to the control and the second group ($P<0.05$). Also, there was a significant increase in progressive motility in the fourth group compared to the first and second groups, and in the third group compared to the second group ($P<0.05$). Diet containing palm oil caused a significant increase in sperm palmitic acid in week 12 ($P<0.05$). Eicosapentaenoic and docosahexaenoic fatty acids increased significantly in the groups receiving fish oil and flax compared to the group receiving palm oil and control (without oil) ($P<0.01$). The rest of the measured fatty acids did not show any significant changes.

Conclusion: The results showed that adding fish and flax oil to the diet of Qezel rams for 3 months improves the quality of physico-chemical characteristics and improves the freezing ability of sperm.

Keywords: Fish oil, Flax oil, Omega-3, Semen, Sperm collection,

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-04-05]

[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.41.9.4]

[DOI: 10.61186/rap.14.41.89]

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

"مقاله پژوهشی"

تاثیر منابع مختلف اسیدهای چرب غیر اشباع n-3 بر پروفایل اسید چرب و خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی اسپرم قوچ قزل

آصف احمدفاضل[۱]، حسین دقیق‌کیا[۲]، علی حسین‌خانی[۳]، غلامرضاحمیدیان[۴] و حامد خلیلوندی بهروزیار[۵]

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۲- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران، (نویسنده مسوول: hdk6955@gmail.com)
۳- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۴- گروه دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۵- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۳/۳
صفحه: ۸۹ تا ۹۷

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: مطالعات اخیر نشان داده‌اند که مصرف منابع مختلف اسیدهای چرب امگا ۳ می‌تواند در بهبود کیفیت اسپرم در گونه‌های مختلف نقش مهمی داشته باشد. هدف از اجرای این طرح بررسی اثرات استفاده از منابع مختلف اسید چرب امگا ۳ در جیره قوچ قزل، بر حجم و غلظت مایع منی، پروفایل اسیدهای چرب اسپرم، خصوصیات اسپرم تازه و منجمد-یخ‌گشایی شده بود.

مواد و روش‌ها: در این طرح که به‌مدت سه ماه اجرا شد، تعداد ۱۶ راس قوچ نربالغ نژاد قزل انتخاب و به‌صورت تصادفی به ۴ گروه تقسیم شده و هر گروه یکی از جیره‌ها که همه ایزوکالریک و ایزونیتروژنیک بودند شامل: گروه اول: جیره بدون روغن (شاهد)، گروه دوم: جیره با روغن پالم، گروه سوم: جیره با روغن کتان، گروه چهارم: جیره با روغن ماهی، دریافت نمودند. اسپرم‌گیری پس از عادت‌دهی قوچ‌ها، به‌صورت هفتگی با مهبل مصنوعی و به‌مدت ۱۳ هفته انجام شد. پس از ارزیابی ظاهری و اندازه‌گیری حجم منی، غلظت اسپرم و میزان تحرک در نمونه‌های منی تازه، نمونه‌های منی داخل پایوت‌ها منجمد شدند. خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی اسپرم‌ها پس از انجماد-یخ‌گشایی شامل، فراسنجه‌های جنبایی اسپرم (CASA)، درصد زنده‌مانی، تست HOST و هانکوک و پروفایل اسیدهای چرب ارزیابی شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد غلظت، زنده‌مانی اسپرم و یک پارچگی غشاء پلاسمایی اسپرم در گروه‌های سوم و چهارم نسبت به گروه شاهد و دوم افزایش معنی‌داری داشتند ($p<0/01$). همچنین مورفولوژی غیرطبیعی در گروه سوم و چهارم نسبت به دو گروه شاهد و دریافت کننده روغن پالم کاهش معنی‌داری داشتند ($p<0/01$). فراسنجه‌های جنبایی از جمله تحرک کل، سرعت در مسیر مستقیم، سرعت در مسیر منحنی و سرعت در مسیر میانگین در گروه سوم و چهارم نسبت به شاهد و گروه دوم افزایش معنی‌داری داشتند ($p<0/05$). همچنین تحرک پیش‌رونده نیز در گروه چهارم نسبت به دو گروه اول و دوم و گروه سوم نیز نسبت به گروه دوم افزایش معنی‌داری نشان داد ($p<0/05$). جیره حاوی روغن پالم باعث افزایش معنی‌دار پالمیتیک اسید اسپرم در هفته ۱۲ شد ($p<0/05$). اسیدهای چرب ایکوزاپنتانوئیک و دوکوزاهگزاانوئیک در گروه‌های دریافت کننده روغن ماهی و کتان نسبت به گروه دریافت کننده روغن پالم و شاهد (بدون روغن) افزایش معنی‌داری داشتند ($p<0/01$). بقیه اسیدهای چرب اندازه‌گیری شده تغییر معنی‌داری نشان ندادند.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که افزودن روغن ماهی و کتان به جیره قوچ‌های نژاد قزل به‌مدت ۳ ماه باعث بهبود کیفیت خصوصیات فیزیکوشیمیایی و بهبود قابلیت انجماد اسپرم می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسپرم‌گیری، امگا۳، روغن ماهی، روغن کتان، مایع منی

مقدمه

کیفیت منی قوچ تحت تاثیر عوامل مختلفی از جمله: ژنتیک، سن، فصل و تغذیه می‌باشد. لیپیدها علاوه بر فعالیت در متابولیسم انرژی، در تمام عملکردهای مهم و رویدادهایی که منجر به باروری می‌شوند، نقش دارند (Samadian et al., 2010). همانند سایر سلول‌های پستانداران، اسپرم نیز دارای غشای پلاسمایی است که مقادیر زیادی اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه در دیواره فسفولیپیدی آن وجود دارد (Fair et al., 2014). فسفولیپیدهای غشای سلوی حاوی دو مکان جهت اتصال اسیدهای چرب می‌باشد که در موقعیت sn-1 اسیدهای چرب اشباع و در موقعیت sn-2 میتواند اسیدهای چرب اشباع یا غیراشباع (با یک یا چند پیوند دوگانه) قرار گیرد. ترکیب لیپیدی غشای اسپرم در پستانداران، نقش مهمی در تغییر و تبدیلات فیزیکوشیمیایی بر جای می‌گذارد که منجر به باروری می‌شود (Langlais & Roberts, 1985). در پستانداران اسیدهای چرب ضروری ماده اولیه برای ساخت اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه (PUFA) بوده که در فیزیولوژی غشای پلاسمایی نقش دارند و آراشیدونیک اسید و دوکوزاهگزاانوئیک اسید (DHA) از مهمترین آنها به‌شمارمی‌روند (Moallem et al., 2015). دوکوزاهگزانوئیک اسید که مقادیر زیادی از آن در قرنیه، مغز و بیضه یافت می‌شود، یک اسید چرب امگا۳ است که عمدتاً در موقعیت sn-2 فسفولیپیدهای غشا قرار گرفته و از نظر فیزیولوژیکی برای عملکرد سلول ضروری می‌باشد (Salem Jr et al., 2001). روغن دانه کتان حاوی ۹۰ درصد PUFA بوده که حدود ۵۰ درصد آن α-لینولنیک هست (Mania et al., 2018). فروزان مهر و همکاران (Forozan Mehr et al., 2023) در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که در بزغاله‌ها استفاده از دانه کلزا به‌عنوان مکمل چربی باعث افزایش وزن و به طبع آن زودتر رسیدن به وزن موردنظر شد. روغن کتان و روغن ماهی از منابع مهم امگا۳ به‌شمار می‌روند که می‌توانند کیفیت اسپرم را بهبود بخشیده و اسپرم را برعلیه شرایط استرس با حفظ یکپارچگی غشا و قدرت زنده‌مانی

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-04-05]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.41.9.4]
[DOI: 10.61186/rap.14.41.89]

محافظت کنند (Gulliver et al., 2012). در انسان تغذیه DHA و دوکوزاپنتانوئیک اسید باعث افزایش غلظت این اسیدچرب‌ها در مایع منی و بهبود غلظت، تحرک و مورفولوژی اسپرم شد (Safarinejad et al., 2010). ترن و همکاران (Tran et al., 2016) گزارش کردند که در جیره دریافتی بوفالوها کاهش PUFAها باعث کاهش تحرک و زنده‌مانی اسپرم‌ها در فرایند انجماد–یخ‌گشایی گردید. مطالعات زیادی نشان می‌دهد که تغذیه منابع مختلف امگا۳ و امگا۶ باعث افزایش مقاومت اسپرم در مقابل شوک سرمایی و کریستال‌های یخی تشکیل شده در انسان (Vireque et al., 2016)، گاو نر (Gholami et al., 2010; Khoshvaght et al., 2016)، بز (Dolatpanah et al., 2008)، اسب (Rodrigues et al., 2017) و خروس (Cerolini et al., 2006; Mahvi, 2022) می‌گردد. گزارش شده که تغذیه گاو نر با جیره حاوی ۲۵ درصد امگا ۳ (EPA و DHA) به‌مدت ۱۲ هفته باعث افزایش درصد زنده‌مانی، بهبود تحرک و حرکت پیش‌رونده اسپرم تازه گردید (Gholami et al., 2010). همچنین در گاوهای نر تحت شرایط استرس گرمایی نیز امگا۳ باعث بهبود حرکت اسپرم‌ها شد (Gholami et al., 2011). همچنین در گوساله‌های شیرخوار استفاده از نمک کلسیمی روغن سویا و کتان به‌عنوان منابع امگا۶ و امگا۳ باعث افزایش رشد و همچنین بهبود سلامت گوساله‌ها شد (Mohtashami & Behrouzyar, 2023). هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر تغذیه دو منبع اسید چرب امگا ۳ یعنی روغن ماهی کلسیمی شده (به‌عنوان منبع حیوانی و غنی EPA و DHA و روغن کتان کلسیمی شده (به‌عنوان منبع گیاهی و غنی از ALA) روی پروفایل اسیدهای چرب اسپرم و خصوصیات فیزیولوژیکی اسپرم تازه و انجماد–یخ‌گشایی شده، و مقایسه آنها با یک گروه بدون دریافت چربی و یک گروه با منبع چربی اشباع می‌باشد.

مواد و روش‌ها

حیوانات و مکان آزمایش: در این آزمایش ۱۶ راس قوچ بالغ قزل با میانگین سنی ۳–۴ سال و میانگین وزنی ۲/۵±۶۵ کیلوگرم انتخاب گردید. آزمایش به‌مدت ۱۳ هفته در مزرعه ایستگاه تحقیقاتی گوسفند قزل میاندوآب اجرا گردید.

طرح آزمایشی: آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار جیره آزمایشی: ۱) شاهد (بدون منبع چربی)، ۲) روغن پالم (جیره با روغن اشباع شده)، ۳) روغن کتان کلسیمی شده (جیره با منبع امگا۳ گیاهی)، ۴) روغن ماهی کلسیمی شده (جیره با منبع امگا۳ حیوانی) به تعداد چهار قوچ در هر گروه انجام شد. جیره‌ها بر اساس جداول AFRC سال ۱۹۹۵ (Oldham, 1995) تنظیم گردید به‌طوری که همه جیره‌ها ایزوکالریک و ایزونیتروژنیک بودند. جیره‌ها به‌صورت مخلوط و بعد از عادت‌دهی به‌مدت دوهفته دو نوبت در روز در اختیار حیوانات قرار گرفتند (جدول ۱).

جمع‌آوری منی و ارزیابی آن: نمونه‌های منی بوسیله مهبل مصنوعی هفته‌ای یکبار به‌مدت سیزده هفته از قوچها گرفته شده و پس از ارزیابی ظاهری و اندازه‌گیری حجم منی با استفاده از لوله‌های مدرج بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردیده و در بن‌ماری ۳۷ درجه قرار گرفت. غلظت اسپرم پس از جمع‌آوری و رقیق کردن بوسیله ائوزین ۲ درصد (۱:۲۰۰) به‌کمک لام هموسایتومتر تعیین شد. میزان تحرک کل و تحرک پیش‌رونده در نمونه‌های منی تازه با کمک میکروسکوپ نوری و به‌ترتیب با بزرگنمایی ۱۰۰ و ۴۰۰ ارزیابی شد. جهت بررسی فراسنجه‌های حرکتی پس از انجماد–یخ‌گشایی نمونه‌های منی با استفاده از رقیق کننده لسیتین بر پایه تریس–گلیسرول (تریس ۲/۷۱ گرم در لیتر، اسید سیتریک ۱/۴ گرم در لیتر، فروکتوز ۱گرم در لیتر، لیستین ۱/۵ درصد و گلیسرول ۷ درصد) به نسبت ۱:۲۰ رقیق گردیده و جهت سردسازی تا دمای ۴ درجه سلسیوس، به‌مدت ۲ ساعت در دمای ۴ درجه نگهداری شدند سپس به پایوت‌های ۰/۲۵ میلی‌لیتری کشیده شده و به‌وسیله ازت مایع منجمد شده و پس از ۲۰ روز نگهداری در تانک ازت (۱۹۶– درجه سلسیوس) به آزمایشگاه منتقل شدند. برای ارزیابی تحرک اسپرم از سیستم آنالیزگر کامپیوتری کاسا (CASA, Animal Version 12.3) مدل (Hamilton-Thorne Biosciences, Beverly, MA, USA) استفاده شد. پس از یخ‌گشایی در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، مقدار ۱۰ میکرولیتر از نمونه را روی لام (Leja, Nieuw-Vannep, Netherland) از قبل گرم شده قرار داده و بعد از پوشاندن با لامل، روی صفحه میکروسکوپ (Labomed LX400: Labomed Inc., Culver City, CA, USA) گذاشته و از هر نمونه حداقل ۱۰ میدان میکروسکوپی به‌طور کاملاً تصادفی انتخاب شده و فراسنجه‌های تحرک اسپرم به‌وسیله سیستم CASA، به‌وسیله فیلم‌برداری با بزرگنمایی ۲۰۰× فیلم‌برداری با فریم ریت ۵۰ تصویر در ثانیه مورد ارزیابی قرار گرفتند (Bucak et al., 2010). فراسنجه‌های تحرک کل[1] (TM)، تحرک پیش‌رونده[2] (PM)، سرعت در مسیر منحنی[3] (VCL)، سرعت در مسیر میانگین[4](VAP)، سرعت در مسیر مستقیم[5] (VSL)، دامنه حرکات جانبی[6] (ALH)، معیار خطی بودن حرکت[7] (LIN)، معیار مستقیم بودن حرکت[8] (STR)، فرکانس حرکات جانبی برحسب هرتز[9] (BCF) ارزیابی شدند.

1- Total Motility (TM) (%) 2- Progressive Motility (PM) (%) 3- Curvilinear velocity (µm/s) (VCL)
4- Average path velocity (µm/s) (VAP) 5- Straight – line velocity (µm/s) (VSL) 6- Lateral head displacement (µm) (ALH)
7- Linearity (%) (LIN= VSL/VCL×100) 8- Straightness (STR) (%) 9-Beat/cross frequency (BCF) (HZ)

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-04-05]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.41.9.4]
[DOI: 10.61186/rap.14.41.89]

جدول ۱- اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

Table 1. Food items and chemical composition of experimental diets

ماهی Fish oil	روغن کتان flaxseed oil	روغن پالم Palm oil	شاهد control	اقلام خوراکی(درصد) Items (%)
26.07	26.07	26.07	20.96	یونجه Alfalfa hay
25.13	25.13	25.13	26.04	سیلاژ ذرت Corn Silage
11	11	11	10	کاه گندم Weat Straw
20	20	20	28	جو Barley
13	13	13	13	سبوس گندم Weat Bran
0.8	0.8	0.8	1	کلسیم کربنات Calcium phosphate
0.5	0.5	0.5	0.5	نمک Salt
0.5	0.5	0.5	0.5	مکمل دامی* Min - Vit premix
3	0	0	0	روغن ماهی کلسیمی** Ca -salts of fish oil
0	3	0	0	روغن کتان کلسیمی** Ca -salts of flaxseed oil
0	0	3	0	روغن پالم** Palm oil
				اجزای شیمیایی جیره‌ها Chemical components (DM)
2.4	2.4	2.4	2.38	انرژی قابل متابولیسم (Mcal/kg) Metabolisable energy (Mcal/kgDM)
10.98	10.98	10.98	10.96	پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)

*ترکیب مکمل دامی در کیلوگرم: ویتامین A ۵۰۰ هزار واحد بین‌المللی، ویتامین D3، ۱۰۰ هزار واحد بین‌المللی، ویتامین E، ۲۵۰ هزار واحد بین‌المللی، آهن ۳ هزار میلی‌گرم، منگنز ۲ هزار میلی‌گرم،روی ۳ هزار میلی‌گرم، کبالت ۱۰۰ میلی‌گرم، فسفر ۹۰ هزار میلی‌گرم، کلسیم ۱۸۰ هزار میلی‌گرم، سدیم ۶۰ هزار میلی‌گرم.

** همه روغن‌ها به‌صورت پودری عبوری شده (نمک کلسیمی) از شرکت کیمیا دانش الوند تهیه شده و مورد استفاده قرار گرفتند.

*Composition of livestock supplement per kilogram: vitamin A 500 thousand international units, vitamin D3, 100 thousand international units, vitamin E, 250 thousand international units, iron 3 thousand mg, manganese 2 thousand mg, zinc 3 thousand mg grams, cobalt 100 mg, phosphorus 90 thousand mg, calcium 180 thousand mg, sodium 60 thousand mg.

** All oils were obtained and used in powdered form (calcium salt) from Kimia Danesh Alvand Company.

درصد زنده‌مانی اسپرم نیز به‌وسیله رنگ‌آمیزی ائوزین – نگروزین انجام شد. بعد از یخ‌گشایی، ابتدا ۵ میکرولیتر از رنگ با ۱۰ میکرولیتر از اسپرم روی لام به‌آرامی مخلوط شده و با لام دیگر گسترش با زاویه ۴۵ درجه تهیه شد. جهت خشک کردن، نمونه گسترش یافته، به‌مدت یک روز در دمای اتاق قرار گرفت. تعداد ۲۰۰ اسپرم به‌وسیله میکروسکوپ فاز کنتراست با بزرگنمایی ۴۰۰× ارزیابی شدند (Bucak et al., 2010). به‌منظور بررسی یکپارچگی غشاء پلاسمایی سلول اسپرم از تست هیپواسموتیک HOST استفاده شد. برای تهیه محلول هیپواسمزی ۱۰۰ میلی اسمول، ۰/۹ گرم فروکتوز، ۰/۴۹ گرم سیترات سدیم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شده و روی هات‌پلت قرار گرفتند تا مخلوط همگن حاصل شود. برای انجام این تست ابتدا نمونه‌های یخ‌گشایی شده با دور ۱۲۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای۲۰ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و پس از سانتریفیوژ محلول رویی دور ریخته شده و ۱۰ میکرولیتر از پلت نمونه منی به‌آرامی با ۲۰۰ میکرولیتر از محلول هیپواسموتیک مخلوط شده و به‌مدت ۳۰ — ۶۰ دقیقه در حمام آب گرم ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شد. مقدار ۱۰ میکرولیتر از نمونه مخلوط شده را روی لام از پیش هم‌دما شده قرار داده و با لامل پوشانده شد. سپس لام روی صفحه گرم میکروسکوپ فازکنتراست قرار داده شد. تعداد ۲۰۰ اسپرم با بزرگنمایی ۴۰۰× شمارش شد که اسپرم‌های با دم متورم و تاب‌خورده به‌عنوان اسپرم‌های با غشاء پلاسمایی سالم درنظر گرفته شدند (Bucak et al., 2010) برای ارزیابی مورفولوژی اسپرم از محلول هانکوک استفاده شد؛ بدین‌منظور ۱۵ میکرولیتر از هر نمونه منی یخ‌گشایی شده به میکروتیوب‌های حاوی ۱۵۰ میکرولیتر از محلول هانکوک افزوده شد (Schäfer & Holzmann, 2000)، سپس یک قطره از این مخلوط را روی لام قرار داده و توسط یک لامل پوشانده شد. با شمارش حداقل ۲۰۰ اسپرم زیر میکروسکوپ فاز کنتراست با بزرگنمایی ۴۰۰× درصد اسپرم‌های غیرطبیعی محاسبه شد (Bucak et al., 2010).

جدا کردن چربی اسپرم و آنالیز آن: ۱ میلی‌لیتر از نمونه‌های منی دوبار با حجم برابر محلول نمکی دالبکو (DPBS) شستشو شدند. سپس لوله‌های حاوی اسپرم به‌مدت ۲۰ دقیقه با دور ۲۵۰ سانتریفیوژ شدند. ایجاد دوفاز در لوله به‌ازای هر نیم گرم فاز پایینی در هر لوله آزمایش ۱۰ میکرولیتر محلول کلروفورم: متانول (۱:۲) و ۲ میلی‌لیتر محلول نمک طعام ۹ درصد اضافه شد (Hamilton et al., 1992). سپس هر کدام از لوله‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه در ورتکس قرار گرفت. برای ترانس متیله کردن از محلول متانول: هگزان (۲:۱) استفاده شد. اسپرم‌های ترانس متیله شده به‌منظور تعیین ترکیب اسیدهای چرب به آزمایشگاه منتقل شدند. میزان اسیدهای چرب به‌وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی اندازه‌گیری شد. در این تحقیق از ستون کاپیلاری EC-1000 با ماهیت قطبی از جنس شیشه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۳۲ میلی متر که ضخامت فاز یالن آن ۰/۲۵ میکرومتر بود استفاده شد. دمای قسمت تزریق ۲۵۰ درجه

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-04-05]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.41.9.4]
[DOI: 10.61186/rap.14.41.89]

سانتی‌گراد، آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای با سوخت هیدروژن و اکسیداسیون هوا بود و برنامه دمایی به ۲۰۰ درجه رسیده و تا پایان باقی می‌ماند. منحنی مربوطه رسم شده و زمان بازداری مربوط به هر اسیدچرب با منحنی مربوط به اسید چرب استاندارد مقایسه شده و نوع و میزان اسیدچرب موجود در نمونه‌ها مشخص گردید.

تجزیه تحلیل آماری: داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 تجزیه تحلیل شدند. نرمال بودن داده‌ها به‌وسیله روش UNIVARIATE و با استفاده از تست Shapiro-Wilk انجام شد. تجزیه داده‌ها به خاطر تکرار در زمان با استفاده از رویه MIXED انجام شد که در آن اثرحیوان به‌عنوان یک اثر تصادفی در نظر گرفته شد. مقایسات میانگین با روش توکی و در سطح ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

فراسنجه‌های فیزیولوژیکی منی

استفاده ازمنابع مختلف اسیدهای چرب امگا۳ کلسیمی شده باعث بهبود برخی از فراسنجه‌های حرکتی اسپرم منجمد–یخ‌گشایی شد (جدول۲). نتایج نشان می‌دهد که TM، VSL، VCL و VAP در گروه‌های دریافت کننده روغن ماهی و کتان نسبت به گروه‌های شاهد و دریافت کننده روغن پالم افزایش معنی‌داری داشتند (P<۰/۰۵). تحرک پیش‌رونده اسپرم‌ها در گروه دریافت کننده روغن ماهی نسبت به گروه دریافت کننده پالم و شاهد افزایش معنی‌داری داشت ولی گروه دریافت کننده روغن کتان فقط نسبت به گروه دریافت کننده روغن پالم افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). تفاوت بین دو گروه دریافت کننده روغن ماهی و روغن کتان و همچنین تفاوت بین دو گروه شاهد و دریافت کننده روغن پالم معنی‌دار نبود، همچنین سایر پارامترهای حرکتی اسپرم‌ها نیز بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشتند. نتایج این آزمایش در ارتباط با افزایش پارامترهای حرکتی و غلظت اسپرم در نتیجه تغذیه منابع کلسیمی شده امگا۳ با یافته‌های معلم و همکاران (Moallem et al., 2015) در گاو نر مطابقت دارد. همچنین علیزاده و همکاران (Alizadeh et al., 2014)، هدایت و همکاران (Moradi et al., 2019) و مسعودی (Masoudi, 2021) در قوچ و شاه و همکاران (Shah et al., 2016) در بوفالو نتایج مشابهی از اثر روغن‌های مختلف به‌صورت خام (کلسیمی نشده) را گزارش کردند. در کلیه این مطالعات تغذیه منابع اسیدهای چرب امگا۳ سبب بهبود خصوصیات حرکتی اسپرم شد. برای توجیه بهبود خصوصیات حرکتی اسپرم در گروه‌های آزمایشی می‌توان به نقش مهم DHA حاصل از اسیدهای چرب امگا۳ در عملکرد فلاژلوم و حرکت اسپرم اشاره نمود (Moradi et al., 2019). استرززک و همکاران (Strzezek et al., 2004) گزارش کردند که تغذیه مکمل روغن ماهی، احتمالاً با افزایش اسیدهای چرب غیراشباع n-3 در غشای پلاسمایی پوشش دهنده سر و دم اسپرم و بهبود سیالیت و قابلیت فشردگی غشاء، بالا بردن توانایی سازگاری غشای پلاسمایی با حرکات فلاژلوم اسپرم، اثرگذاری در تامین انرژی و برخی مواد و مشتقاتی که در تسهیل و افزایش تحرک اسپرم دخالت دارند، نقش خود را اعمال می‌نماید. در این مطالعه مکمل روغن ماهی و کتان همچنین باعث افزایش غلظت اسپرم‌ها در مایع منی تازه شدند (p<۰/۰۵) به‌طوری‌که گروه دریافت کننده روغن ماهی با ۳/۴۶ بیشترین و گروه شاهد با ۲/۹۶ کمترین غلظت اسپرم را داشتند، ولی روی حجم مایع منی تاثیر معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳). تغییرات غلظت اسپرم ناشی از فعالیت‌های آنزیمی و سلولی دخیل در اسپرم‌سازی می‌باشد. افزایش تعداد کل اسپرم، می‌تواند با افزایش حجم، غلظت و یا با تحریک ساخت ترکیبات مختلفی از ایکوزانوئیدهای مرتبط باشد (Surai et al., 2000). در این راستا DHA و EPA روغن ماهی و کتان سوبستراهای ساخت پروستاگلاندین‌های نوع۳ و لوکوترین‌های نوع۵ را فراهم می‌کنند (Oldham, 1995). الانازی و همکاران (Al-Anazi et al., 2017) گزارش کردند که اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه با تاثیر روی محور هیپوتالاموس–هیپوفیز–گنادها و کنترل هورمونی، باعث افزایش اسپرماتوژنز می‌شود، که این مسیر هم می‌تواند دلیل افزایش غلظت در گروه‌های دریافت کننده روغن ماهی و کتان باشد. به‌علاوه PUFAها به‌عنوان پیش‌سازهای سنتز ایکوزانوئیدها می‌توانند الگوی بیان بسیاری از آنزیم‌های درگیر در متابولیسم پروستاگلاندین‌ها و استروئیدها (مانند سیکلواکسیژناز و لیپواکسیژناز) را تنظیم کنند، همچنین این اسیدهای چرب به‌عنوان ترکیبات ساختاری غشای سلولی باعث افزایش سیالیت آن شده، که آن هم برای همجوشی غشایی موقع لقاح کمک می‌کند (Ferramosca et al., 2017). در خروس هم افزودن روغن امگا۳ و دانه بزرک باعث افزایش حجم و غلظت و فراسنجه‌های حرکتی اسپرم گردید (Mahvi, 2022)که نشان می‌دهد در تک معده‌ای‌ها نیز صادق می‌باشد. همچنین در خرگوش تغذیه با دانه کتان باعث افزایش زنده‌مانی و سرعت در مسیر مستقیم (VSL) اسپرم، بدون تغییر در سایر خصوصیات اسپرم گردید (Mourvaki et al., 2010). این تفاوت بین خرگوش و گوسفند می‌تواند ناشی از تفاوت بین پروفایل اسیدهای چرب اسپرم دوگونه باشد: اسیدچرب غالب در اسپرم خرگوش و گوسفند به‌ترتیب DPA n-6 و DHA n-3 می‌باشد که می‌تواند باعث پاسخ متفاوت به تغذیه روغن کتان باشد. PUFA باعث افزایش کیفیت اسپرم تازه (Gürler et al., 2015)و منجمد–یخ‌گشایی شده (Karimi et al., 2017) از طریق افزایش سیالیت غشای حاوی لیپیدهای موجود در سر، بدنه و دم اسپرم می‌شود. افزایش سیالیت هم جهت تحرک، تمامیت غشای پلاسمایی و عملکرد اسپرم ضروری می‌باشد. پروسه انجماد–یخ‌گشایی باعث کاهش عملکرد غشای پلاسمایی شده (Safarinejad & Safarinejad, 2012)، بنابراین افزودن اسیدهای چرب غیراشباع به جیره پستانداران می‌تواند مقاومت غشای پلاسمایی اسپرم آنها را برابر تشکیل کریستال‌های یخی موقع منجمد کردن اسپرم افزایش دهد (Khoshvaght et al., 2016). میزان زنده‌مانی، یکپارچگی غشاء و مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم‌ها و حجم منی و غلظت اسپرم در جدول۳ نشان داده شده است. میزان زنده‌مانی و یکپارچگی غشاء پلاسمایی و غلظت اسپرم، در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری داشتند (p<۰/۰۱) به‌طوری‌که گروه‌های

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-04-05]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.41.9.4]
[DOI: 10.61186/rap.14.41.89]

دریافت کننده روغن کتان (با ۷۴/۵۳ زنده‌مانی و ۶۵/۴۰ یکپارچگی غشا) بیشترین و دریافت کننده روغن پالم با (۶۷/۵۳ زنده‌مانی و ۵۹/۴۱ یکپارچگی غشا) کمترین میزان را داشتند. حجم منی در گروه دریافت کننده روغن ماهی بیشرین و پالم کمترین مقدار داشت. همچنین تعداد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری داشت (P<۰/۰۱)؛ که گروه شاهد و دریافت کننده روغن پالم به‌ترتیب بیشترین و روغن ماهی و کتان به‌ترتیب کمترین میزان مورفولوژی غیرطبیعی در اسپرم‌ها را داشتند. این تحقیق با یافته‌های جعفر اوغلی و همکاران (Jafaroghli et al., 2014) و هدایت و همکاران (Moradi et al., 2019) روی اسپرم قوچ و غلامی و همکاران (Gholami et al., 2010) روی اسپرم گاو هلشتاین و عادل و همکاران (Adeel et al., 2009) روی اسپرم بوفالو که از روغن ماهی به‌عنوان منبع امگا۳ استفاده کرده بودند، و سعید وهمکاران (Firouzeh et al., 2021) که از دانه کتان به‌عنوان منبع امگا۳ استفاده کرده بودند، مطابقت دارد. صدمات ناشی از انجماد–یخ‌گشایی اسپرم پستانداران که بیشتر به یکپارچگی و عملکرد غشایی آسیب می‌زند باعث کاهش عملکرد میتوکندی می‌شود (Celeghini et al., 2008). به‌نظر می‌رسد تغذیه منابع امگا۳ با افزایش سیالیت غشایی باعث کاهش صدمات ناشی از انجماد اسپرم می‌شود. انصاری و همکاران (Ansari et al., 2012) پیشنهاد دادند که اثرات مثبت امگا۳ روی کیفیت اسپرم مربوط به تبدیل آنها به DHA می‌باشد. بر طبق گزارشات سرولینی و همکاران (Cerolini *et al.*, 2006) مقدار DHA اسپرم در اثر انجماد- یخ‌گشایی به‌طور قابل‌توجهی کاهش می‌یابد، اما بلسبویس و همکاران (Blesbois et al., 1997) گزارش کردند که این کاهش در مقدار DHA به خاطر احیاء گروه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌باشد. اسیدهای چرب n-3 دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (Hodge et al., 2006)، که باعث افزایش توانایی آنتی‌اکسیدانی مایع سمینال و افزایش کیفیت اسپرم (تعداد اسپرم، تحرک و مورفولوژی) می‌شود(Rodrigues et al., 2017). بنابراین DHA می‌تواند باعث کاهش ROSهای سمی شود که در پروسه انجماد- یخ‌گشایی اسپرم تولید می‌شوند (Blesbois et al., 1997).

پروفایل اسیدهای چرب در اسپرم

استفاده از روغن‌های کلسیمی شده روغن ماهی و کتان و پالم در قوچ باعث ایجاد تفاوت معنی‌دار در مقدار اسیدهای چرب پالمیتیک، ایکوزاپنتانوئیک و دوکوزا هگزانوئیک اسید گردید (P<۰/۰۵) (جدول ۴). مقدار پالمیتیک اسید اسپرم در گروه دریافت کننده روغن پالم به‌طور معنی‌داری از سایر گروه‌ها بالاتر بود. میزان ایکوزاپنتانوئیک و دوکوزا هگزانوئیک اسید در گروه‌های دریافت کننده روغن ماهی و کتان نسبت به شاهد و گروه دریافت کننده روغن پالم افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). این نتایج نشان می‌دهد که تغذیه اسیدهای چرب در مدت بیشتر از دو ماه باعث تغییرات در پروفایل اسیدهای چرب اسپرم می‌شود که با نتایج فایر و همکاران (Fair et al., 2014)، که از روغن ماهی روی قوچ استفاده کرده بودند و معلم و همکاران (Moallem et al., 2015) در گاو نر، مطابقت دارد. سعید و همکاران (Firouzeh et al., 2021) نشان دادند که تغذیه دانه کتان به‌عنوان منبع امگا۳ به‌مقدار ۱۰ درصد جیره، باعث افزایش معنی‌دار DHA در اسپرم قوچ شد اما روی سایر اسیدهای چرب اسپرم تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین پرومال و همکاران (Perumal et al., 2019) در گاو نر گزارش کردند که استفاده از روغن کتان به‌عنوان یک منبع امگا۳ و دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی باعث بهبود کیفیت اسپرم گردید. در نتیجه مشخص شده که انتقال PUFA از خوراک به اسپرم در تعداد زیادی از گونه‌ها اثربخش بوده است (Blesbois *et al.*, 1997; Cerolini et al., 2006; Gulliver et al., 2012). دراین تحقیق مشاهده شد که یک دوره زمانی حدود ۵۰–۶۰ روزه برای بروز اثرات مثبت تغذیه منابع امگا ۳ بر خصوصیات منی در قوچ موردنیاز هست. که این دوره با توجه به دوره اسپرم‌سازی ۴۹ روزه در قوچ قابل پیش‌بینی بود. لنزی و همکاران (Lenzi et al., 1996) گزارش کردند که نسبت پروتئین و چربی اسپرم در حین عبور از اپیدیدم متحمل تغییر می‌شود و سیالیت غشای اسپرم بیشتردر نتیجه افزایش میزان غیر اشباعی اسیدهای چرب افزایش می‌یابد. یکی از مکانیسم‌های احتمالی تنظیم اسپرماتوژنسیز توسط PUFA، تاثیر آن‌ها روی بیان ژن می‌باشد، علاوه بر آن اسیدهای چرب می‌توانند عملکرد رونویسی فاکتورهای کنترل کننده بیان ژن را نیز تغییر دهند و بدین‌ترتیب می‌توانند روی غلظت آنزیم‌های تنظیم‌کننده سنتز پروستاگلاندین‌ها و استروئیدها اثر بگذارند (Surai et al., 2000).

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-04-05]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.41.9.4]
[DOI: 10.61186/rap.14.41.89]

جدول ۲- تاثیر منابع مختلف امگا۳ بر خصوصیات حرکتی اسپرم قوچ پس از انجماد-یخ‌گشایی

Table 2. The effect of different sources of omega-3 on the motility characteristics of ram sperm after freeze-thawing

P value	SEM	روغن ماهی Fish oil	روغن کتان flaxseed oil	روغن پالم Palm oil	شاهد Control	
0.001	0.97	71.65^{a}	73.50^{a}	63.00^{b}	65.96^{b}	TM (%)
0.005	0.93	34.81^{a}	34.93^{ab}	30.01^{c}	31.65^{bc}	PM (%)
0.002	0.91	54.84^{a}	52.67^{a}	48.63^{b}	49.93^{b}	VSL (µm/s)
0.009	0.70	110.20^{a}	110.14^{a}	105.83^{b}	106.47^{b}	VCL (µm/s)
0.0001	0.91	58.93^{a}	57.33^{a}	51.36^{b}	52.18^{b}	VAP (µm/s)
0.169	0/099	3.58	3.59	3.34	3.36	ALH (µm)
0.226	0.81	49.55	50.58	48.55	48.27	LIN (%)
0.098	0.62	84.45	84.44	83.28	83.42	STR (%)
0.989	0.31	20.15	20.13	20.09	20.02	BCF(HZ)

*توضیحات جدول: تحرک کل(TM)، تحرک پیش‌رونده (PM)، سرعت در مسیر مستقیم (VSL)، سرعت در مسیر منحنی(VCL)، سرعت در مسیر میانگین (VAP)، دامنه حرکات جانبی (ALH)، معیار خطی بودن حرکت (LIN)، معیار مستقیم بودن حرکت (STR)، فرکانس حرکات جانبی (BCF). حروف غیرمشابه در یک ستون نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت است (P<۰/۰۵).

*Description of the table: total mobility (TM), progressive mobility (PM), speed in a straight path (VSL), speed in a curved path (VCL), speed in an average path (VAP), range of lateral movements (ALH), Movement linearity criterion (LIN), movement straightness criterion (STR), lateral movement frequency (BCF). Different letters in a column indicate the significance of the difference (P<0.05).

جدول ۳- تاثیر منابع مختلف امگا۳ بر صفات کیفی اسپرم قوچ تازه و پس از انجماد-یخ‌گشایی

Table 3. The effect of different sources of omega-3 on the qualitative traits of ram sperm fresh and after freeze-thawing

P value	SEM	روغن ماهی Fish oil	روغن کتان flaxseed oil	روغن پالم Palm oil	شاهد Control	صفات (درصد)
						صفات اندازه‌گیری شده درمایع منی منجمد-یخ‌گشایی شده Traits measured in frozen-thawed semen
0.0005	0.92	73.68^{a}	74.53^{a}	67.53^{b}	69.87^{b}	زنده‌مانی (درصد) Survival (%)
0.006	1.06	64.48^{a}	65.40^{a}	59.41^{b}	61.42^{b}	یکپارچگی غشا(درصد) Membrane integrity (%)
0.001	0.48	16.75^{b}	18.56^{b}	20.02^{a}	20.11^{a}	مورفولوژی غیرطبیعی (درصد) Abnormal morphology (%)
						صفات اندازه‌گیری شده در مایع منی تازه Traits measured in fresh semen
0.037	0.22	1.65	1.59	1.57	1.50	حجم منی(میلی‌لیتر) Semen volume (ml)
0.01	0.1	3.34^{a}	3.46^{a}	2.96^{b}	2.98^{b}	غلظت اسپرم(میلیارد در میلی‌لیتر) Sperm concentration (billion per milliliter)

حروف غیرمشابه در یک ستون نشان دهنده معنی‌دار بودن تفاوت است (P<۰/۰۵).

Different letters in a column indicate the significance of the difference (P<0.05).

جدول ۴- تاثیر منابع مختلف امگا۳ بر ترکیب اسیدهای چرب (درصد) اسپرم قوچ

Table 4. The effect of different sources of omega-3 on the composition of fatty acids (percentage) of ram sperm

	هفته اول						هفته ۱۳					
تیمارها treatment	شاهد Control	پالم Palm	کتان flflaxseed	ماهی fish	SEM	Pvalue	شاهد Control	پالم Palm	کتان laxseed	ماهی fish	SEM	Pvalue
C14:0	9.25	9.55	9.59	9.21	0.34	0.8	8.02	7.50	7.34	7.75	0.46	0.74
C16:0	26.81	27.60	28.94	28.42	0.87	0.38	27.44	32.55	25.35	24.18	1.16	0.004
C18:0	17.43	17.26	16.97	16.39	1.11	0.92	16.69	18.18	16.77	16.87	0.82	0.56
C18:1	11.77	11.06	11.20	10.98	0.97	0.94	11.08	10.44	10.22	9.85	0.36	0.18
C18:2	5.06	4.84	4.93	4.54	0.39	0.83	4.92	4.71	4.55	4.51	0.32	0.79
C18:3	1.82	1.68	1.60	1.81	0.19	0.83	1.83	1.61	2.03	1.78	0.13	0.25
C20:4	0.93	0.98	0.96	1.03	0.05	0.82	1.01	0.94	1.02	0.98	0.04	0.29
C20:5	0.54	0.58	0.56	0.52	0.03	0.68	0.63	0.45	0.76	0.82	0.04	0.0006
C22:6	20.03	21.01	20.92	20.14	0.98	0.84	20.42	14.64	30.88	31.95	0.92	<0/0001

حروف غیرمشابه در یک ستون نشان دهنده معنی‌دار بودن تفاوت است (P<۰/۰۵).

Different letters in a column indicate the significance of the difference (P<0.05)

نتیجه‌گیری کلی

براساس نتایج بدست آمده از این تحقیق استفاده از نمک کلسیمی اسیدهای چرب امگا۳ با منبع گیاهی (روغن کتان) و منبع حیوانی (روغن ماهی) باعث تغییر در پروفایل اسیدهای چرب اسپرم و بهبود فراسنجه‌های حرکتی و کیفیت اسپرم قوچ بعد از پروسه منجمد-یخ‌گشایی می‌شود.

تشکر و قدردانی

از مدیر عامل شرکت کیمیا دانش الوند و جناب آقای دکتر حامد خلیلوندی بابت تامین مواد اولیه جیره و حمایت از اجرای این تحقیق صمیمانه قدردانی و تشکر می نماییم.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-04-05]

[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.41.9.4]

[DOI: 10.61186/rap.14.41.89]

منابع

Adeel, M., Ijaz, A., Aleem, M., Rehman, H., Yousaf, M., & Jabbar, M. (2009). Improvement of liquid and frozen-thawed semen quality of Nili-Ravi buffalo bulls (Bubalus bubalis) through supplementation of fat. *Theriogenology*, *71*(8), 1220-1225.

Al-Anazi, Y., Al-Mutary, M., Alfuraiji, M., Al-himaidi, A., Al-Ghadi, M., & Ammari, A. (2017). Seasonal variations in scrotal circumference and semen characteristics of Naimi and Najdi rams in Saudi Arabia. *South African Journal of Animal Science*, *47*(4), 454-459.

Alizadeh, A., Esmaeili, V., Shahverdi, A., & Rashidi, L. (2014). Dietary fish oil can change sperm parameters and fatty acid profiles of ram sperm during oil consumption period and after removal of oil source. *Cell Journal (Yakhteh)*, *16*(3), 289.

Ansari, M., Towhidi, A., Shahrbabak, M. M., & Bahreini, M. (2012). Docosahexaenoic acid and alpha-tocopherol improve sperm cryosurvival in goat. *Slovak journal of animal science*, *45*(1), 7-13.

Blesbois, E., Lessire, M., Grasseau, I., Hallouis, J., & Hermier, D. (1997). Effect of dietary fat on the fatty acid composition and fertilizing ability of fowl semen. *Biology of reproduction*, *56*(5), 1216-1220.

Bucak, M. N., Sarıözkan, S., Tuncer, P. B., Sakin, F., Ateşşahin, A., Kulaksız, R., & Çevik, M. (2010). The effect of antioxidants on post-thawed Angora goat (Capra hircus ancryrensis) sperm parameters, lipid peroxidation and antioxidant activities. *Small Ruminant Research*, *89*(1), 24-30.

Celeghini, E. C. C., de Arruda, R. P., de Andrade, A. F. C., Nascimento, J., Raphael, C. F., & Rodrigues, P. H. M. (2008). Effects that bovine sperm cryopreservation using two different extenders has on sperm membranes and chromatin. *Animal reproduction science*, *104*(2-4), 119-131.

Cerolini, S., Zaniboni, L., Maldjian, A., & Gliozzi, T. (2006). Effect of docosahexaenoic acid and α-tocopherol enrichment in chicken sperm on semen quality, sperm lipid composition and susceptibility to peroxidation. *Theriogenology*, *66*(4), 877-886.

Dolatpanah, M., Towhidi, A., Farshad, A., Rashidi, A., & Rezayazdi, A. (2008). Effects of dietary fish oil on semen quality of goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *21*(1), 29-34.

Fair, S., Doyle, D., Diskin, M., Hennessy, A., & Kenny, D. (2014). The effect of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids supplementation of rams on semen quality and subsequent quality of liquid stored semen. *Theriogenology*, *81*(2), 210-219.

Ferramosca, A., Moscatelli, N., Di Giacomo, M., & Zara, V. (2017). Dietary fatty acids influence sperm quality and function. *Andrology*, *5*(3), 423-430.

Firouzeh, S., Falla Rad, A. H., Mirshokraei, P., Parham, A., & Danesh Mesgaran, M. (2021). The effect of dietary flaxseed supplementation on sperm fatty acid composition, semen quality attributes and some blood parameters in Kurdish ram. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *13*(2), 221-233.

Forozan Mehr, S., Ali Alijo, Y., & Asadnejad, B. (2023). The effect of f with different levels of cannula as a fat supplement in the initial diet on the performance and ruminal and blood metabolites of early weaning goats in mahabadi. *Research on Animal Production*, *13*, 118-127 (In Persian).

Gholami, H., Chamani, M., Towhidi, A., & Fazeli, M. (2010). Effect of feeding a docosahexaenoic acid-enriched nutriceutical on the quality of fresh and frozen-thawed semen in Holstein bulls. *Theriogenology*, *74*(9), 1548-1558.

Gholami, H., Chamani, M., Towhidi, A., & Fazeli, M. H. (2011). Improvement of semen quality in holstein bulls during heat stress by dietary supplementation of omega-3 fatty acids. *International journal of fertility & sterility*, *4*(4), 160.

Gulliver, C., Friend, M., King, B., & Clayton, E. (2012). The role of omega-3 polyunsaturated fatty acids in reproduction of sheep and cattle. *Animal reproduction science*, *131*(1-2), 9-22.

Gürler, H., Calisici, O., Calisici, D., & Bollwein, H. (2015). Effects of feeding omega-3-fatty acids on fatty acid composition and quality of bovine sperm and on antioxidative capacity of bovine seminal plasma. *Animal reproduction science*, *160*, 97-104.

Hamilton, R. J., Hamilton, S., & Harwood, J. (1992). *Lipid analysis: a practical approach*. IRL press Oxford, UK:.

Hodge, W. G., Schachter, H. M., Barnes, D., Pan, Y., Lowcock, E. C., Zhang, L., Miguelez, M. (2006). Efficacy of ω-3 fatty acids in preventing age-related macular degeneration: a systematic review. *Ophthalmology*, *113*(7), 1165-1173.

Jafaroghli, M., Abdi-Benemar, H., Zamiri, M., Khalili, B., Farshad, A., & Shadparvar, A. (2014). Effects of dietary n− 3 fatty acids and vitamin C on semen characteristics, lipid composition of sperm and blood metabolites in fat-tailed Moghani rams. *Animal reproduction science*, *147*(1-2), 17-24.

Karimi, R., Towhidi, A., Zeinoaldini, S., Rezayazdi, K., Mousavi, M., Safari, H., & Martinez-Pastor, F. (2017). Effects of supplemental conjugated linoleic acids (CLA) on fresh and post-thaw sperm quality of Holstein bulls. *Reproduction in Domestic Animals*, *52*(3), 459-467.

Khoshvaght, A., Towhidi, A., Zare-Shahneh, A., Noruozi, M., Zhandi, M., Davachi, N. D., & Karimi, R. (2016). Dietary n-3 PUFAs improve fresh and post-thaw semen quality in Holstein bulls via alteration of sperm fatty acid composition. *Theriogenology*, *85*(5), 807-812.

Langlais, J., & Roberts, K. D. (1985). A molecular membrane model of sperm capacitation and the acrosome reaction of mammalian spermatozoa. *Gamete research*, *12*(2), 183-224.

Lenzi, A., Picardo, M., Gandini, L., & Dondero, F. (1996). Lipids of the sperm plasma membrane: from polyunsaturated fatty acids considered as markers of sperm function to possible scavenger therapy. *Human reproduction update*, *2*(3), 246-256.

Mahvi, Z., S. Moghaddaszadeh-Ahrabi, and Gh. Moghaddam. (2022). Effect of dietary omega-3 and linseed oil on sperm quality and fertility of male broiler breeders. *Journal of animal science and technology*, *31*(4), 99-111.

Mania, S., Tylingo, R., & Michałowska, A. (2018). The drop-in-drop encapsulation in chitosan and sodium alginate as a method of prolonging the quality of linseed oil. *Polymers*, *10*(12), 1355.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-04-05]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.41.9.4]
[DOI: 10.61186/rap.14.41.89]

Masoudi, R. (2021). Effect of Dietary fish oil on semen quality and reproductive performance of Iranian Zandi rams. *Archives of Razi Institute*, *76*(3), 621.
Moallem, U., Neta, N., Zeron, Y., Zachut, M., & Roth, Z. (2015). Dietary α-linolenic acid from flaxseed oil or eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids from fish oil differentially alter fatty acid composition and characteristics of fresh and frozen-thawed bull semen. *Theriogenology*, *83*(7), 1110-1120.
Mohtashami, B., & Behrouzyar, H. K. (2023). Effect of omega-3 and omega-6 fatty acid on growth performance, blood metabolites and health indicators of weaning holstein calves. *Research on Animal Production*, *14*(39), 56-65 (In Persian).
Moradi, F., Seifi-Jamadi, A., Vahedi, V., Hedayat-Evrigh, N., & Navidshad, B. (2019). Influence of various dietary fat sources on freezing capacity of Moghani ram semen. *South African Journal of Animal Science*, *49*(3), 505-512.
Mourvaki, E., Cardinali, R., Dal Bosco, A., Corazzi, L., & Castellini, C. (2010). Effects of flaxseed dietary supplementation on sperm quality and on lipid composition of sperm subfractions and prostatic granules in rabbit. *Theriogenology*, *73*(5), 629-637.
Oldham, J. (1995). Protein requirements and responses: a United Kingdom perspective. *BSAP Occasional Publication*, *19*, 21-29.
Perumal, P., Chang, S., Khate, K., Vupru, K., & Bag, S. (2019). Flaxseed oil modulates semen production and its quality profiles, freezability, testicular biometrics and endocrinological profiles in mithun. *Theriogenology*, *136*, 47-59.
Rodrigues, P. G., de Moura, R. S., Rocha, L. G. P., Bottino, M. P., Nichi, M., Maculan, R., . . . Souza, J. C. (2017). Dietary polyunsaturated fatty acid supplementation improves the quality of stallion cryopreserved semen. *Journal of Equine Veterinary Science*, *54*, 18-23.
Safarinejad, M. R., Hosseini, S. Y., Dadkhah, F., & Asgari, M. A. (2010). Relationship of omega-3 and omega-6 fatty acids with semen characteristics, and anti-oxidant status of seminal plasma: a comparison between fertile and infertile men. *Clinical nutrition*, *29*(1), 100-105.
Safarinejad, M. R., & Safarinejad, S. (2012). The roles of omega-3 and omega-6 fatty acids in idiopathic male infertility. *Asian journal of andrology*, *14*(4), 514.
Salem Jr, N., Litman, B., Kim, H. Y., & Gawrisch, K. (2001). Mechanisms of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. *Lipids*, *36*(9), 945-959.
Samadian, F., Towhidi, A., Rezayazdi, K., & Bahreini, M. (2010). Effects of dietary n-3 fatty acids on characteristics and lipid composition of ovine sperm. *Animal*, *4*(12), 2017-2022.
Schäfer, S., & Holzmann, A. (2000). The use of transmigration and Spermac™ stain to evaluate epididymal cat spermatozoa. *Animal reproduction science*, *59*(3-4), 201-211.
Shah, S. M. H., Ali, S., Zubair, M., Jamil, H., & Ahmad, N. (2016). Effect of supplementation of feed with Flaxseed (Linumusitatisimum) oil on libido and semen quality of Nilli-Ravi buffalo bulls. *Journal of animal science and technology*, *58*(1), 1-6.
Strzezek, J., Fraser, L., Kuklinska, M., Dziekonska, A., & Lecewicz, M. (2004). Effects of dietary supplementation with polyunsaturated fatty acids and antioxidants on biochemical characteristics of boar semen. *Reprod Biol*, *4*(3), 271-287.
Surai, P., Noble, R., Sparks, N., & Speake, B. (2000). Effect of long-term supplementation with arachidonic or docosahexaenoic acids on sperm production in the broiler chicken. *Journal of reproduction and fertility*, *120*(2), 257-264.
Tran, L., Malla, B., Sharma, A., Kumar, S., Tyagi, N., & Tyagi, A. (2016). Effect of omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acid enriched diet on plasma IGF-1 and testosterone concentration, puberty and semen quality in male buffalo. *Animal reproduction science*, *173*, 63-72.
Vireque, A. A., Tata, A., Silva, O. F., LoTurco, E. G., Azzolini, A., Ferreira, C. R., . . . Reis, R. M. (2016). Effects of n-6 and n-3 polyunsaturated acid-rich soybean phosphatidylcholine on membrane lipid profile and cryotolerance of human sperm. *Fertility and sterility*, *106*(2), 273-283. e276.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-04-05]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.41.9.4]
[DOI: 10.61186/rap.14.41.89]