

Excel مرتب و تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری (۲۰۰۲) SAS از طریق رویه GLM در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن ارزیابی شد و در سطح احتمال ۵ درصد با همدیگر مقایسه شدند.

ظاهری مشابه، در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تیمار و ۴ تکرار به مدت ۷۵ روز پرورش داده شدند. جیره مصرفی تیمارهای چهارگانه و درصد ترکیبات شیمیایی آنها در جدول شماره ۱ آمده است. تمام تیمارها از نظر مقدار انرژی و پروتئین در یک سطح و با استفاده از جداول تغذیه‌ای AFRC و با نرم‌افزار Excel تنظیم شدند. کلیه داده‌ها در نرم‌افزار

جدول ۱- اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایش (%)

تیمار ۴	تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار ۱	اجزاء جیره (%)
۱۵	۱۰	۵	۰	باقلا
۳۲	۳۴/۲	۳۶/۸۷	۴۱	جو
۲۷	۳۰	۳۲	۳۰	سبوس گندم
۰/۵	۱	۲	۴/۴	سویا
۱۷/۷	۱۶	۱۵/۴	۱۵/۸	کاه گندم
۸	۸	۸	۸	سیلاژ ذرت
۰/۸	۰/۸	۰/۷۳	۰/۸	آهک
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	ترکیب شیمیایی محاسبه شده (%)
۲۷۷۵	۲۷۷۵	۲۷۷۵	۲۷۷۵	انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلو)
۱۴/۵	۱۴/۵	۱۴/۵	۱۴/۵	درصد پروتئین
۰/۵۱	۰/۵۱	۰/۵۱	۰/۵۱	درصد کلسیم
۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	درصد فسفر

تیمار شاهد: جیره بدون باقلا، تیمار ۲: جیره دارای ۵٪ باقلا، تیمار ۳: جیره دارای ۱۰٪ باقلا، تیمار ۴: جیره دارای ۱۵٪ باقلا

۱۰۰ کسر نموده تا درصد اسپرماتوزوئیدهای زنده به دست آمد (۹). به منظور ارزیابی سلامت غشای اسپرماتوزوئیدها، از یک محیط هاپیو اسموتیک استفاده شد. تست سلامت غشای پلاسمایی بر اساس اسمولاریته محیطی که اسپرم در آن قرار می‌گیرد عمل می‌کند (۱۱).

نتایج و بحث

با توجه به نتایج ارائه شده در جدول ۲، درصد اسپرماتوزوئیدهای زنده و درصد اسپرماتوزوئیدهای متحرک در قوچ‌هایی که از باقلا استفاده کردند به طور معنی‌دار بیشتر از تیمار شاهد بود ($p < 0.05$). کمترین درصد اسپرماتوزوئید مرده در تیمارهای دارای باقلا دیده شد ($p < 0.05$). غلظت اسپرماتوزوئید غیرطبیعی در تیمار بالاترین سطح باقلا (تیمار ۴) بیشترین میزان را نسبت به سایر تیمارها داشت. تیمارهای دارای ۵ و ۱۰ درصد باقلا، پایین‌ترین میزان را در رابطه با این شاخص داشتند ($p < 0.05$). بالاترین درصد حرکت جلاورونده در تیمار و کمترین آن در تیمار یا شاهد مشاهده شد ($p < 0.05$). اختلاف معنی‌داری در مورد درصد سلامت غشای سلولی و غلظت اسپرماتوزوئید مشاهده نشد، هر چند که بیشترین میزان در رابطه با هر دو شاخص یاد شده در تیمار مشاهده شد ($p < 0.05$). در آزمایش مارتین و همکاران (۱۱) بیش از ۸۰۰ گرم لویین علاوه بر جیره پایه به خوراک گوسفند اضافه شد. به دنبال مصرف زیاد این ماده غذایی تعادل در نیتروژن و هم در انرژی برخی از مسیرهای هورمونی تحت تاثیر قرار گرفتند. این محققین بیان کردند که افزایش در اندازه بیضه در پاسخ به مکمل باقلای مصری در ارتباط با افزایش تعداد پالس‌های LH می‌باشد. همچنین جیره دارای باقلای مصری زیاد، غلظت FSH را در روزهای ۵ تا ۱۴

برای اندازه‌گیری ابعاد بیضه، در زمان کشتار از کولیس استفاده شد (۱). به منظور تعیین ویژگی‌های اسپرماتوزوئید، پس از کشتار قوچ‌ها، ابتدا با استفاده از اسکالپل قسمت انتهایی اپیدیمی را برش داده و با استفاده از سرنگ حاوی ۱ میلی‌لیتر شیر از ناحیه دفرنس بصورت فلاشینگ اسپرماتوزوئیدهای موجود در این ناحیه برداشت شدند (۱۴). برای ارزیابی حرکت جلو رونده، یک قطره از اسپرماتوزوئید گرفته شده از اپیدیمی به لام تمیز و گرم (لام روی صفحه گرم کننده که دمای آن ۳۷ درجه سانتیگراد است قرار داده شد) انتقال داده شد و با بزرگنمایی کم مورد مشاهده قرار گرفت (۹). برای تعیین درصد اسپرماتوزوئید متحرک، روی لام یک قطره از اسپرماتوزوئید اخذ شده را با چند قطره سرم فیزیولوژیک رقیق نموده و سپس با بزرگنمایی کم (10×40) ۱۰ مرتبه و هر بار ۱۰ اسپرماتوزوئید در قسمت‌های مختلف روی لام را بررسی و تعداد متحرک‌ها شمارش شد (۹). همچنین غلظت اسپرماتوزوئیدها با استفاده از لام گلبول شمار یا هموسایتومر تعیین شد (۱، ۹). برای محاسبه درصد اسپرماتوزوئیدهای غیرطبیعی در میان اسپرماتوزوئیدهای زنده، حالت‌های غیرطبیعی اسپرماتوزوئید شامل دم پیچ خورده، دم پاشنه کفشی، دم خمیده، وجود قطره سیتوپلاسمی، سربزرگ و یا کوچک، اسپرماتوزوئیدهای فاقد دم و یا فاقد سر و همچنین دم کوتاه شمارش شد (۹). برای محاسبه درصد اسپرماتوزوئیدهای زنده، یک قطره رنگ اتوزین- نیگروزین را روی لام گرم ریخته و سپس یک قطره از اسپرماتوزوئید اخذ شده به کنار آن اضافه شد. پس از هم دما شدن، اسپرماتوزوئیدها و رنگ را با هم مخلوط کرده و به وسیله لام دیگر، یک گسترش بافتی از آن تهیه شد. اسپرماتوزوئیدهای مرده، رنگ گرفته و پس از شمارش آنها، عدد حاصله را از

بیضه‌ها افزایش می‌یابد شمار اسپرم تولیدی افزایش یافته و فرصت تصحیح اسپرم‌های دارای قطره‌های سیتوپلاسمی یا هر نوع ناهنجاری دیگر کاهش می‌یابد (۷،۲) و از این رو شمار اسپرم‌های ناهنجار منی افزایش خواهد یافت که این نتیجه در تیمار چهارم این پژوهش به روشنی دیده شد.

هرچند مطالعات زیادی نشان داده‌اند که تغییر محدود در مدیریت تغذیه‌ای قوچ‌ها تنها به مقدار جزئی اندام‌های تولیدمثلی حیوان نر را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۵) اما در این پژوهش سطوح مختلف باقلا نتوانست تغییری در ویژگی‌های فیزیکی بیضه اعمال کند.

با توجه به نتایج ارائه شده در جدول ۳ استفاده از سطوح مختلف باقلا نتوانست تاثیر معنی‌داری بر قطر، وزن، عرض و طول بیضه در زمان کشتار قوچ‌ها داشته باشد. در حالی که به‌دنبال مکمل‌سازی جیره با لوبین در قوچ‌های نژاد مرینوس افزایش ۵۸ درصدی اندازه بیضه را به چشم خورد (۱۶). شاید دلیل این امر را به شرایط دمایی طی دوره پرورش نسبت داد، جایی که دمای بالا در دوره پرورش حتی تاثیر منفی در افزایش وزن زنده بدن گوسفندان مورد آزمایش داشت و بهبود محسوسی در انتهای دوره آزمایش در خصوص افزایش وزن آن‌ها مشاهده نشد.

براساس نتایج به‌دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که افزودن باقلا به جیره قوچ‌ها در سطوح پنج و ۱۰ درصد نتوانست ویژگی‌های کیفی و کمی منی قوچ‌های زل را افزایش دهد. برای به‌دست آوردن نتیجه بهتر و مشخص نمودن یک سطح باقلا در جیره و برای توصیه آن در مزارع پرورشی گوسفند، انجام پژوهش‌های آینده اجتناب‌ناپذیر است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از همکاری شرکت فرآوری‌های گوشتی بریان گوشت امل در طی این پژوهش کمال تشکر و قدردانی را می‌نمایند.

نسبت به جیره با باقلای متوسط و ضعیف افزایش داد. در نتیجه می‌توان گفت که تغییرات در فعالیت سیستم هیپوتالاموس-هیپوفیز که محور کنترل‌کننده‌ی ترشح گنادوتروپین‌ها است روی تولید اسپرماتوزوئید بیضه‌ها تاثیر بسزایی داشته است و منجر به افزایش ویژگی‌های کمی و کیفی اسپرم در پژوهش حاضر شده است.

مکمل‌سازی جیره قوچ‌ها با باقلا به‌عنوان دانه‌ای که دارای درصد زیادی از پروتئین (۴۰-۲۴٪) می‌باشد اسیدآمینه‌های قابل دسترس بیشتری را در گردش خون برای بدن فراهم کند. تلنی و همکاران (۱۵) پیشنهاد کردند که فراهم کردن اسیدآمینه گلوکوژنیک بیشتر به‌دنبال استفاده از لوبین می‌تواند نرخ ورود بیشتر گلوکز به بیضه گوسفندان را فراهم کند. بنابراین لوبین می‌تواند بستر انرژی و پروتئین را فراهم کند که هرکدام از این دو می‌توانند مسوول تحریک عملکرد تولیدمثلی در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد باشند. از سوی دیگر بوخلک و مارتین (۴) بیان کردند که اگر هر کدام از گلوکز، اسیدهای چرب فرار یا اسیدآمینه مسوول تحریک رشد بیضه به‌دنبال استفاده از مکمل لوبین بوده باشند، فرضیه بهبود تغذیه به‌منظور رشد بیضه شده که منجر به بهبود وضعیت تولید اسپرم درون بیضه‌ها و تولید هورمون تستوسترون خواهد شد.

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از باقلا در هر سه سطح، می‌تواند سبب بهبود کمی و کیفی اسپرماتوزوئیدها شود. اما داده‌های به‌دست آمده در مورد اسپرماتوزوئیدهای غیرطبیعی در تیمار حاوی بالاترین سطح باقلا (تیمار ۴) نتایج معکوسی به‌دنبال داشته است. احتمالاً یکی از دلایل عدم نتیجه‌گیری در این تیمار می‌تواند به‌دلیل وجود آلكالوئیدها در باقلا باشد (۱۰). از سوی دیگر مقادیر افزایش یافته پروتئین باقلا جیره که به نوعی به افزایش درصد باقلا در تیمار چهارم برمی‌گردد احتمالاً منجر به افزایش هورمون‌های هیپوتالاموس و گنادوتروپین‌های هیپوفیز شده است و این قضیه با تاثیرگذاری روی بیضه منجر به افزایش عملکرد اسپرم‌سازی بیضه‌ها شده است. نشان داده شد وقتی کارکرد

جدول ۲- تاثیر استفاده از سطوح مختلف باقلا بر ویژگی‌های کمی و کیفی اسپرماتوزوئید قوچ

Table 2. Effecte of different levels of Broad Bean on the quantative and qualitative characteristics of the ram spermatozoa

تیمار	درصد اسپرماتوزوئید جلورونده	درصد سلامت غشای پلاسمایی	درصد اسپرماتوزوئید مرده	درصد اسپرماتوزوئید زنده	درصد اسپرماتوزوئید غیرطبیعی	غلظت اسپرماتوزوئید (۱۰ ^۹)	درصد اسپرماتوزوئید متحرک
شاهد ۱	۷۴/۵ ^b	۸۹	۱۳ ^a	۸۸ ^b	۱۳/۵ ^b	۵۷۵/۵	۸۱/۵ ^b
تیمار ۲	۷۸/۷۵ ^{ab}	۹۰	۷/۷۵ ^b	۹۲/۲۵ ^a	۷/۲۵ ^c	۵۱۰	۸۶/۲۵ ^a
تیمار ۳	۸۳ ^a	۹۰/۲۵	۷/۷۵ ^b	۹۲/۲۵ ^a	۵/۵ ^c	۶۰۸/۷۵	۸۹ ^a
تیمار ۴	۸۲/۵ ^a	۹۰	۷/۵ ^b	۹۲/۵ ^a	۵۹/۲۵ ^a	۵۸۸/۷۵	۸۷/۷۵ ^a
P. value	۰/۰۴۵	۰/۸۱۱	۰/۰۲۸	۰/۰۲۸	۰/۰۰۰۱	۰/۱۸۸	۰/۰۰۵
SEM	۴/۱۳	۴/۲۴	۲/۰۹	۲/۰۹	۲/۶۰۶	۶۲/۳۹	۲/۴۵

تیمار شاهد: جیره بدون باقلا، تیمار ۲: جیره دارای ۵٪ باقلا، تیمار ۳: جیره دارای ۱۰٪ باقلا، تیمار ۴: جیره دارای ۱۵٪ باقلا. اعداد مختلف با حروف نامتشابه در هر ستون، داری اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.

جدول ۳- تاثیر استفاده از سطوح مختلف باقلا بر خصوصیات فیزیکی بیضه قوچ

Table 3. Effecte of different level of Broad Bean on the physical properties of ram testis

وزن بیضه (g)	قطر بیضه (Cm)	طول بیضه (Cm)	عرض بیضه (Cm)	تیمار
۱۸۴/۴۷	۴/۵۹	۸/۸۳	۶/۱۶	۱
۱۸۰/۲۶	۴/۵۶	۸/۷۷	۶/۲۴	۲
۱۸۸/۸۴	۴/۴۳	۸/۴۷	۵/۶۶	۳
۱۹۸/۸	۴/۳۳	۱۱/۲۲	۶/۱۳	۴
۰/۹۸۲	۰/۹۶	۰/۴۱۸	۰/۷۴۳	P- value
۶/۳۱	۰/۰۵	۲/۵۲	۰/۸۱	SEM

تیمار شاهد: جیره بدون باقلا، تیمار ۲: جیره دارای ۵٪ باقلا، تیمار ۳ جیره دارای ۱۰٪ باقلا، تیمار ۴: جیره دارای ۱۵٪ باقلا. اعداد مختلف با حروف نامشابه در هر ستون، داری اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

منابع

- Anson, H., D.L. Foster, G.R. Foxcroft and P.J. Booth. 1991. Nutrition and reproduction. *Reproduction Biology*, 13: 239-311.
- Bielli, A., G. Pedrana, M.T. Gastel, A. Castrillejo, A. Morana, N. Lundeheim, M. Forsberg and H. Rodríguez-Martínez. 1999. Influence of grazing management on the seasonal changes in testicular morphology in Corriedale rams. *Animal Reproduction Science*, 56: 93-105.
- Blach, D., S. Zhang and G.B. Martin. 2003. Fertility in male sheep: modulator of the acute effects of nutrition on the reproductive axis of ale sheep. *Reproduction and Fertility*, 61: 387-402.
- Boukhliq, R. and G.B. Martin. 1997. Nutrition and reproduction in the ram in a Mediterranean environment. *Food and Agriculture Organization of United Nations*, 34: 227-232.
- Boukhliq, R., D.W. Miller and G.B. Martin. 1996. Relationship between nutritional stimulation of gonadotrophin secretion and the peripheral and cerebrospinal (CSF) concentration of glucose and insulin in ram. *Animal Reproduction Science*, 41: 201-2171.
- Deldar, H. 2006. Evaluation of sexual changes and semen characteristics of ram through one year. M.Sc. Thesis, university of Tehran.
- Evans G; Maxwell W M C; Salamon S. 1987. *Salmonse Artificial Insemination of sheep and goats*. CABI publishing, pp: 238
- Hafez, E.S.E. and B. Hafez. 2000. *Reproductions in farm animal*. 7th ed. Lea and Fibiger press. Philadelphia, 573 pp.
- Kristen, P. and G. Jaorn. 2008. Alkaloids in edible lupin seeds, A toxicological review and recommendations. *Nordic coucil of Ministepers, Copenhagen*, 75 pp.
- Majnon Hosseini, N. 2008. *Pulse Agronomy and production*. University of Tehran, 210-225.
- Martin, G.B., S. Tjondronegoro and M.A. Blackberry. 1994. Effect of nutritional supplements on testicular size and the concentration of gonadotrophins, testosterone and inhibin in plasma of mature male sheep. *Journal of Reproduction and Fertility*, 101: 121-128.
- Martinez-Pastor, F., V. Garcia-Maciac, M. Alvarez, C. Chamorro, P. Paz and L. Anel. 2006. Compression of two methods for obtaining spermatozoa from the cauda epididymis of Iberian.
- Revell, S.C. and R.A. Mrode. 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. *Animal Reproduction Science*, 36: 77-86.
- Scaramuzzi, R.J., B.K. Campbell, J.A. Downing, N.R. Kendall, M. KHhalid, M. Munos-Gutierrez and A. Soomch. 2006. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate Folliculogenesis and ovulation rate. *Reproduction Fertility and Development*, 25-31.
- Teleni, E., W.R. King, J.B. Rowe and G.H. McDowell. 1989. Lupins and energy-yielding nutrients in ewes. I. Glucose and acetate biokinetics and metabolic hormones in sheep fed a supplement of lupin grain. *Australian Journal of Agricultural Research*, 40: 913-924.
- Thwaites, C.J. 1994. The effect of feeding supplements containing different amounts and sources of nitrogen on live weight and the testes of rams during and after mating. *Jornal of Animal Feed Science Technology*, 48: 177-184.

Impact of Broad Bean on the Physical Properties of Testis, Quantitative and Qualitative Characteristics of Epididymal Spermatozoa of Zell Ram

Meysam Gholinejad¹, Bahram Shohreh², Hamid Deldar³ and AlirezaJafari Sayyadi⁴

1, 3 and 4- Graduated M.Sc. Student, Associate Professor and Scholar, Animal Sciences department, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

2- Assisntant Professor, Animal Sciences department, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, (Corresponding author: bahram.shohreh@yahoo.com)

Received: June 19, 2018

Accepted: September 24, 2018

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of broad bean on physical properties of testis and qualitative and quantitative characteristics of epididymal spermatozoa of the ramZell breed. The sixteen sexually matured rams weight approximately 29 ± 1 kg were selected and randomly divided into four treatments and four replicates in a completely randomized design. The treatments included: 1) control diet, 2) control diet + 5% broad bean, 3) control diet + 10% broad bean, and 4) control diet + 15% broad bean. At the end of the experiment (75 days) characteristics of spermatozoa and testicle properties were measured. The results showed that different levels of broad bean from 5% to 15% increased the total motility and progressive motility of spermatozoa compared to the control group ($P < 0.05$). The high percentage of abnormal spermatozoid were seen in the 15% broad bean group. Addition of broad bean to the rations increased the percentage of live spermatozoa and decreased the percentage of dead spermatozoa in comparison to the control group ($P < 0.05$). Broad bean feeding was not influenced on sperm concentration, plasma membrane integrity of spermatozoa and testicular characteristics. In conclusion, the addition of broad bean to basal ration improved semen quality and quantity at the levels of 5 and 10 %.

Keywords: Broad Bean, Epididymis, Testis, Zell breed, Spermatozoa