Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Research on Animal Production, Vol. 16, Issue 4, 2025 p: 43-53

OPEN ACCESS

Research Paper

The Effect of Camellia Oil and *Tribulus terrestris* Extract on Sperm Parameters and Seminal Plasma Concentrations of Antioxidant Enzymes and Malondialdehyde in Aged Broiler Breeder Roosters

Mahrokh Nouri[1], Saleh Tabatabaei Vakili[2], Khalil Mirzadeh[3], Ali Aghaei[4], and Mehran Dorostghoal[5]

1- Ph.D. Student, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
2- Associate professors, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran,
(Corresponding author: tabatabaei@asnrukh.ac.ir)
3- Associate professors, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
4- Assistant professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
5- Associate professors, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received: 10 March, 2025 Revised: 28 June, 2025 Accepted: 08 August, 2025

Extended Abstract

Background: During spermatogenesis, sperm lose a large amount of their cytoplasm, and since most enzymes are in the cell cytoplasm, sperm have little antioxidant capacity. Normally, antioxidant compounds that protect sperm are present in the seminal fluid. Antioxidant compounds in poultry consist of three compounds: glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and catalase. However, these antioxidant compounds are active for only a short period in normal reproduction. Research has shown that adding antioxidant substances to poultry diets reduces lipid peroxidation in semen. Medicinal plants can have potential protective effects by enhancing the body's antioxidant system. These plant compounds are capable of directly reducing the production of reactive oxygen species during various stresses by inhibiting the producing enzymes. The addition of unsaturated fatty acids to poultry diets seems essential due to the important role these fatty acids play in metabolism and energy production, endocrine secretions, sperm membrane fluidity, and reproductive functions. Given the lack of an enzymatic system for the tissue synthesis of essential fatty acids in poultry, it is recommended to use these sources in breeder flock diets. Therefore, this study was conducted to investigate the effect of camelina oil and *Tribulus terrestris* extract on sperm parameters, antioxidant enzymes, and malondialdehyde concentration in the seminal plasma of broiler breeder roosters.

Methods: This experiment was conducted using 36 Ross 308 broiler breeder roosters in a 2×3 factorial design, including three levels of camelina oil and two levels of *Tribulus terrestris*, for 10 weeks with six treatments and six replicates. The experimental treatments included: 1- Control, 2- a diet containing 1% camelina oil, 3- a diet containing 2% camelina oil, 4- a basal diet plus 10 mg of *Tribulus* extract per kg body weight, 5- a diet containing 1% camelina oil plus 10 mg of *Tribulus* extract per kg body weight, and 6- a diet containing 2% camelina oil plus 10 mg of *Tribulus* extract per kg body weight. Semen parameters, including volume and concentration, as well as total motility percentage, progressive motility, viability, plasma membrane integrity, and morphological abnormalities of spermatozoa, were measured weekly until the end of the period. Malondialdehyde concentrations as an indicator of peroxidation and the activity of antioxidant enzymes, including glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase, and also seminal plasma glutathione, were measured in the final week of the experiment.

Results: The main effects of camelina oil and *Tribulus terrestris* extract were not significant on semen volume, sperm concentration, total and progressive motility, viability, and morphological abnormalities of spermatozoa. However, the plasma membrane integrity of spermatozoa was affected by the main effects of *T. terrestris*, such that birds fed with 10 mg levels of *T. terrestris* showed a lower percentage of sperm plasma membrane integrity than the control ($P < 0.05$). No significant changes were observed in examining the interactive effects of camelina oil and *T. terrestris* extract on quantitative and qualitative sperm parameters, including semen volume, as

Copyright ©2025 Nouri et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License which allows users to read, copy, distribute and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited properly.

well as concentration, total and progressive motility, viability, and sperm plasma membrane integrity. However, the percentage of abnormal spermatozoa was affected by this interaction, such that the percentage of morphological abnormalities of spermatozoa in the 2% camelina oil treatment without *T. terrestris* extract was significantly lower than in the 10 mg *T. terrestris* without camelina oil and 2% camelina oil without *T. terrestris* extract treatments, although they did not show a statistically significant difference from the control. The lipid peroxidation index of semen, measured by malondialdehyde concentration, was not affected by the main effects of camelina oil, *T. terrestris* extract, and the interactive effects of camelina oil and *T. terrestris* extract in seminal plasma ($P > 0.05$). The main effects of camelina oil were not significant on antioxidant enzymes. However, superoxide dismutase enzyme was affected by the main effects of *T. terrestris* extract ($P < 0.05$), and the concentration of this enzyme increased in birds fed with 10 mg of *T. terrestris* extract. In examining the interactive effect, simultaneous use of 1% camelina oil and 10 mg of *T. terrestris* extract led to an increase in glutathione peroxidase and superoxide dismutase enzymes compared to 0% camelina oil and 0 mg of *T. terrestris* extract levels. However, the levels of catalase and glutathione were not affected by the interactive effects of camelina oil and *T. terrestris* extract ($P > 0.05$).

Conclusion: Based on the findings of the present study, it can be concluded that although the addition of camelina oil and *T. terrestris* extract to the diet did not significantly affect most sperm parameters, the simultaneous use of 1% camelina oil and 10 mg of *T. terrestris* extract improved the levels of glutathione peroxidase and superoxide dismutase enzymes in semen. Therefore, improving the antioxidant conditions of semen using herbal agents, at least in the case of camelina oil and *T. terrestris* extract, cannot alone be a reason for improving the qualitative parameters of sperm in aged breeder roosters and requires further research.

Keywords: Antioxidant, Broiler, Fatty acid, *Tribulus terrestris*, Sperm

How to Cite This Article: Nouri, M., Tabatabaei Vakili, T., Mirzadeh, Kh., Aghaei, A. & Dorostghoal, M. (2025). The Effect of Camellia Oil and Tribulus terrestris Extract on Sperm Parameters and Seminal Plasma Concentrations of Antioxidant Enzymes and Malondialdehyde in Aged Broiler Breeder Roosters. *Res Anim Prod,* 16(4), 43-53. DOI: 10.61882/rap.2025.1517

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مقاله پژوهشی

تأثیر روغن کاملینا و عصاره خارخاسک بر فراسنجه‌های اسپرم، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و غلظت مالون‌دی‌آلدئید پلاسمای منی در خروس‌های مسن مادر گوشتی

ماهرخ نوری[۱]، صالح طباطبائی وکیلی[۲]، خلیل میرزاده[۳]، علی آقائی[۴] و مهران درست‌قول[۵]

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران،
(نویسنده مسوول: tabatabaei@asnrukh.ac.ir)
۳- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
۴- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
۵- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۲۰ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۴/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۱۷
صفحه ۴۳ تا ۵۳

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: اسپرم طی فرآیند اسپرم‌سازی، مقدار زیادی از سیتوپلاسم خود را از دست می‌دهد و از آنجا که بیشتر آنزیم‌ها در سیتوپلاسم سلول هستند، بنا بر این اسپرم ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اندکی دارد. در حالت طبیعی در مایع منی ترکیبات آنتی‌اکسیدان محافظ اسپرم وجود دارند. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در طیور از سه ترکیب شامل گلوتاتیون پراکسیداز، سوپر پراکسید دیسموتاز و کاتالاز تشکیل شده‌اند. اما این ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در تولیدمثل عادی فقط مدت زمان کوتاهی فعال هستند. طی تحقیقات نشان داده شد که افزودن مواد آنتی‌اکسیدانی به جیره طیور سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای منی گردید. گیاهان دارویی می‌توانند از طریق ارتقاء سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن، اثرات حمایتی بالقوه‌ای داشته باشند. این ترکیبات گیاهی قادرند تا به‌طور مستقیم تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن طی انواع تنش‌ها را از طریق مهار آنزیم‌های تولیدکننده کاهش دهند. افزودن اسیدهای چرب غیر اشباع به جیره‌های طیور به‌دلیل نقش مهمی که این اسیدهای چرب در متابولیسم و تولید انرژی، ترشحات اندوکرینی، سیالیت غشای اسپرم و عملکردهای باروری دارند، ضروری به‌نظر می‌رسد. با توجه به فقدان سیستم آنزیمی برای سنتز بافتی اسیدهای چرب ضروری طیور، استفاده از این منابع در جیره گله‌های مادر پیشنهاد می‌شود. بنا بر این، این پژوهش با هدف مطالعه‌ی تأثیر روغن کاملینا و عصاره خارخاسک بر فراسنجه‌های اسپرمی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدنی و غلظت مالون دی‌آلدئید پلاسمای منی خروس‌های مادر گوشتی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: آزمایش حاضر با استفاده از ۳۶ قطعه خروس والد گوشتی راس ۳۰۸ به‌صورت آزمایش فاکتوریل ۲×۳ شامل سه سطح روغن کاملینا و دو سطح عصاره خارخاسک به‌مدت ۱۰ هفته با شش تیمار و شش تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- شاهد (کنترل)، ۲- جیره حاوی ۱ درصد روغن کاملینا، ۳- جیره حاوی ۲ درصد روغن کاملینا، ۴- جیره پایه به‌همراه ۱۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، ۵- جیره حاوی ۱ درصد روغن کاملینا به علاوه ۱۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن، و ۶- جیره حاوی ۲ درصد روغن کاملینا به‌علاوه ۱۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن بودند. فراسنجه‌های منی شامل حجم و غلظت و نیز درصد تحرک کل، تحرک پیشرونده، زنده‌مانی، سلامت غشای پلاسمایی و ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم‌ها در پایان دوره مورد سنجش قرار گرفتند. غلظت مالون دی‌آلدئید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و نیز گلوتاتیون پلاسمای منی در هفته پایانی آزمایش اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: اثرات اصلی روغن کاملینا و عصاره خارخاسک بر حجم منی، غلظت اسپرم، تحرک کل و پیشرونده، زنده‌مانی و ناهنجاری‌های مورفولوژیک اسپرم‌ها، معنی‌دار نبودند. اما سلامت غشای پلاسمایی اسپرم‌ها تحت تأثیر اثرات اصلی خارخاسک قرارگرفت، به‌طوری‌که پرندگان تغذیه‌شده با سطح ۱۰ میلی‌گرم خارخاسک، درصد سلامت غشای پلاسمایی اسپرم کمتری را نسبت به شاهد نشان دادند ($P < ۰/۰۵$). در بررسی اثرات متقابل روغن کاملینا و عصاره خارخاسک بر شاخص‌های کمی و کیفی اسپرم‌ها شامل حجم منی و نیز غلظت، تحرک کل و پیشرونده، زنده‌مانی و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم‌ها تغییر معنی‌داری نداشتند. اما درصد اسپرم‌های ناهنجار تحت‌تأثیر این اثر متقابل قرارگرفت، به‌نحوی که درصد ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم‌ها در تیمار ۲ درصد روغن کاملینا بدون عصاره خارخاسک، به‌طور معنی‌داری کمتر از تیمارهای ۱۰ میلی‌گرم خارخاسک بدون روغن کاملینا و ۲ درصد روغن کاملینا بدون عصاره خارخاسک بود، هرچند که اختلاف آماری معنی‌داری با شاهد نداشتند. همچنین، شاخص پراکسیداسیون لیپیدی منی از طریق سنجش غلظت مالون‌دی‌آلدئید، تحت‌تأثیر اثرات اصلی روغن کاملینا، عصاره خارخاسک و اثرات متقابل روغن کاملینا و عصاره خارخاسک پلاسمای منی قرار نگرفت ($P > ۰/۰۵$). اثرات اصلی روغن کاملینا بر آنزیم آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار نبودند اما آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت‌تأثیر اثرات اصلی عصاره خارخاسک قرارگرفت ($P < ۰/۰۵$)، به‌طوری‌که در پرندگان تغذیه‌شده با سطح ۱۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک، غلظت این آنزیم افزایش یافت. در بررسی اثر متقابل، استفاده همزمان سطح ۱ درصد روغن کاملینا و ۱۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک باعث افزایش آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز نسبت به سطوح صفر درصد روغن کاملینا و صفر میلی‌گرم عصاره خارخاسک شد. مقادیر کاتالاز و گلوتاتیون تحت تأثیر اثرات متقابل روغن کاملینا و عصاره خارخاسک قرارنگرفتند ($P > ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: براساس یافته‌های پژوهش حاضر، می‌توان نتیجه گرفت که افزودن روغن کاملینا و عصاره خارخاسک به جیره هرچند که اثر چشم‌گیری بر اغلب فراسنجه‌های اسپرم نداشت، اما استفاده همزمان ۱ درصد روغن کاملینا و ۱۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک باعث بهبود میزان آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز منی شد. لذا، بهبود شرایط آنتی‌اکسیدانی منی با استفاده عوامل گیاهی لااقل در مورد روغن کاملینا و عصاره خارخاسک، به‌تنهایی نمی‌تواند دلیلی بر ارتقای فراسنجه‌های کیفی اسپرم‌ها در خروس‌های مولد مسن باشد و تحقیقات بیشتری را می‌طلبد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، اسید چرب، اسپرم، خارخاسک، خروس مادر گوشتی

مقدمه

به‌دلیل افزایش روز افزون جمعیت جهان و به‌تبع آن افزایش نیازهای تغذیه‌ای انسان‌ها، پژوهش‌های فراوانی با محوریت مدیریت مزارع پرورشی، تغذیه و اصلاح ژنتیک جهت بهبود عملکرد تولید انجام شده‌اند. از آنجایی که گوشت طیور در کشورهای در حال توسعه نقشی مهم در امنیت غذایی مردم ایفا می‌کند و تولید آن نسبت به گوشت قرمز نسبتا آسان‌تر و ارزان‌تر است، امروزه پرورش طیور توجه بیشتری را به خود معطوف داشته است. یکی از مشکلاتی که در پرورش مرغ مادر گوشتی وجود دارد، مسئله کاهش باروری گله بعد از سن ۴۵ هفتگی است (Kazemizadeh *et al*., 2019). اسیدهای چرب وظایف متابولیکی، ساختاری و تولیدی مهمی را در فیزیولوژی بدن دارند. مقدار و ترکیب اسیدهای چرب موجود در جیره غذایی بر متابولیسم چربی در پرندگان موثر هستند (Zanini *et al*., 2003). اسیدهای چرب غیر اشباع دارای چندین باند دوگانه مانند، آلفا لینولنیک اسید از گروه اسیدهای چرب امگا ۳ و یا اسیدلینولئیک از گروه اسیدهای چرب امگا ۶ در فیزیولوژی تولیدمثل پرندگان نر و ماده اهمیت به‌سزایی دارند (Zanini *et al*., 2003). هرچند که بالا بردن اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه در جیره ممکن است سبب بهبود خصوصیات باروری در پرندگان نر گردد، اما این امکان وجود دارد که افزایش حساسیت پراکسیداتیو منی سبب از بین رفتن این اثرات سودمند شود زیرا تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و به‌هم ریختن تعادل بین آنتی‌اکسیدان‌ها و پراکسیدان‌ها سبب تنش اکسیداتیو و آسیب به ساختار و عملکرد اسپرم می‌شود (Farhadi *et al.,* 2024). به همین دلیل، همزمان با مصرف مکمل‌های روغنی غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه به منظور بهبود باروری جنس نر در طیور، غنی‌سازی جیره با آنتی‌اکسیدان‌هایی طبیعی توصیه می‌شود. بکارگیری راهکارهای افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به‌منظور کاهش تنش اکسیداتیو، بهبود اسپرماتوژنز، پیشگیری از صدمه به اسپرم و افزایش باروری خروس‌های مسن حائز اهمیت است (Asghari Moghadam *et al.,* 2023). گیاه خارخاسک با نام علمی *Tribulus terrestris*، گیاهی یک‌ساله و علفی از خانواده اسفندها است. این گیاه دارای فواید مختلفی از جمله خاصیت ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی، مهار سیکلواکسیژناز، پاکسازی رادیکال‌های آزاد، مهار پراکسیداسیون چربی و تعدیل عوامل التهابی است (Palani *et al*., 2024; Aldaddou *et al*., 2022). گیاه خارخاسک دارای فلاونوئیدها، استروئیدها، ساپونین‌ها، آلکالوئیدها، ویتامین‌ها، اسیدهای‌چرب غیر اشباع، تانن، رزین، پتاسیم، نیترات، گوگرد، کلر، اسید اسپارتیک و اسید گلوتامیک است (Palani *et al*., 2024). خارخاسک حاوی سه ماده فعال شیمیایی، دیوسین پروتودوسین و دیوسژنین است. پروتودیوسین موجود در عصاره این گیاه یک ترکیب با پتانسیل تقویت تولید طبیعی تستوسترون و افزایش تولید تستوسترون و LH است که به نوبه خود سبب افزایش روند اسپرم‌سازی می‌گردد (Aldaddou *et al*., 2022; Gauthaman & Ganesan, 2008). گیاه خارخاسک به‌علت داشتن استروئیدهای مختلف باعث تحریک اسپرماتوژنز می‌گردد و با تأثیر بر روی سلول‌های سرتولی موجب افزایش تولید اسپرم و با تحریک سلول‌های لایدیگ باعث سنتز تستوسترون می‌شود (Sandeep *et al*., 2015). در مطالعات متعدد گزارش شده است که استفاده از گیاه خارخاسک در انسان و حیوانات باعث افزایش اسپرماتوژنز (Martino-Andrade *et al*., 2010)، افزایش سطح سرمی تستوسترون و دی‌هیدروتستوسترون (Gauthaman & Ganesan, 2008) و افزایش ضخامت لوله‌های منی‌ساز (Karimi Jashni *et al*., 2022) می‌شود. از دیگر خاصیت‌های خارخاسک این است که با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود می‌تواند موجب افزایش سطح آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی و تشدید فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و کاتالاز (CAT) شود (Kamboj *et al*., 2014). همچنین، خارخاسک به‌عنوان حذف‌کننده یا مهارکننده رادیکال‌های آزاد تولید شده توسط واکنش اکسیژنی و واکنش‌های اکسیداتیوی فعالیت می‌نماید (Kamboj *et al*., 2014). گیاه روغنی کاملینا ساتیوا (*Camelina sativa*) جزء خانواده براسیکاسه است و در آزمایش‌های مختلف نشان داده شده است که احتیاجات آبی بسیار کمتر و مقاومت به سرمای بهاره بیشتری نسبت به سایر گیاهان روغنی به‌ویژه کلزا دارد. همچنین، این گیاه مقاومت بسیار بالایی نسبت به آفات رایج در دانه‌های روغنی مانند سوسک‌های گرده‌خوار و آسیب پرندگان دارد (Pavlista *et al*., 2011). روغن کاملینا به‌عنوان فرآورده دانه کاملینا علاوه بر مصارف خوراکی و غذایی به‌دلیل بالا بودن میزان امگا ۳، ویتامین E و آنتی‌اکسیدان‌های موجود در آن خواص درمانی بسیاری دارد (Jiang *et al*., 2023). کاملینا حاوی سطوح بالایی از توکروفول و ترکیبات فنولیکی است، که باعث پایداری اکسیداتیو و بالاتر آن نسبت به سایر روغن‌ها غیر اشباع مانند کتان می‌شود (Wang *et al*., 2023; Hrastar *et al*., 2009). توکوفرول‌ها آنتی‌اکسیدانی‌هایی بیولوژیکی هستند که شکل فعال آن را آلفا- توکوفرول (ویتامین E) می‌نامند. میزان توکوفرول در دانه کاملینا به‌مراتب بیش‌تر از سایر گونه‌های دانه روغنی مانند کلزا، کتان، آفتابگردان و سویا است (Wang *et al*., 2023; Hrastar *et al*., 2009)، که به‌طور متوسط ۸۰۶ قسمت در میلیون است و موجب مقاومت بالای این روغن به اکسیداسیون در زمان نگهداری آن در دماهای بالا و پایین می‌شود (Hrastar *et al*., 2009). روغن کاملینای استخراج‌شده به‌روش پرس سرد، دارای پروفیل اسید چرب ارزشمندی است. این روغن حاوی مقادیر کمی از اسیدهای چرب اشباع‌شده (از جمله میریستیک و استئاریک) و غنی از اسیدهای غیر اشباع مانند اولئیک و لینولئیک است (Ostrikov *et al*., 2021). با توجه به این‌که بیشتر از ۵۰ درصد از اسیدهای چرب در روغن کاملینا را اسیدهای چرب غیر اشباع با چند باند مضاعف تشکیل می‌دهند، بنابراین کاملاً مستعد اکسیداسیون است و دوره ماندگاری روغن را کوتاه می‌کند. اما وجود آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند توکوفرول که باعث

پایداری بیشتر چربی‌های اشباع‌نشده در برابر اکسیداسیون می‌شوند، موجب شده است که روغن کاملینا ماندگاری بهتری نسبت به روغن کتان داشته باشد (Wang *et al*., 2023). ترکیبات فنلی در میان مواد دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، یکی از مهم‌ترین گروه‌ها هستند و در گونه‌های براسیکا بیشتر پلی‌فنل‌ها از نوع فلاونوئیدها و هیدروکسی سینامیک اسیدها هستند (Liu *et al*., 2023; Jiang *et al*., 2023). اکثر فلاوونوئیدها مانند فلاونول‌ها، فلاون‌ها، ایزوفلاون‌ها، و آنتوسیانین‌ها در کاملینا وجود دارند (Liu *et al*., 2023). لذا در این پژوهش تأثیر روغن کاملینا و عصاره خارخاسک بر فراسنجه‌های اسپرمی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدنی و غلظت مالون‌دی‌آلدئید در پلاسمای منی خروس‌های مادر گوشتی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

پرنده‌ها، شرایط محیطی و جیره آزمایشی

مطالعه حاضر در محل مرزعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد. این پژوهش با استفاده از ۳۶ قطعه خروس مادر گوشتی راس ۳۰۸ در قالب آزمایش‌های فاکتوریل (۲×۳) بر پایه طرح کاملاً تصادفی، شامل سه سطح روغن کاملینا (صفر و ۱ و ۲ درصد جیره) و دو سطح عصاره خارخاسک (صفر و ۱۰میلی‌گرم عصاره خارخاسک) در شش تیمار آزمایشی با شش تکرار انجام شد. به‌منظور سازگاری با شرایط آزمایش، خروس‌ها دو هفته پیش از شروع آزمایش در قفس‌های انفرادی با جیره پایه، براساس راهنمای پرورش راس ۳۰۸ (۲۰۱۶) تغذیه شدند (جدول ۱). تیمارهای آزمایشی شامل ۱- شاهد (کنترل)، ۲- جیره حاوی ۱ درصد روغن کاملینا، ۳- جیره حاوی ۲ درصد روغن کاملینا، ۴- جیره به‌همراه ۱۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن، ۵- جیره حاوی ۱ درصد روغن کاملینا + ۱۰میلی‌گرم عصاره خارخاسک به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن، و ۶- جیره حاوی ۲ درصد روغن کاملینا + ۱۰میلی‌گرم عصاره خارخاسک به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن بودند.

برای تهیه عصاره خارخاسک، میزان ۵ کیلوگرم از گیاه خارخاسک خردشده با آسیاب در ۱۵ لیتر محلول هیدروالکلی (اتانول ۹۶ و آب به نسبت ۸۰ :۲۰) به‌مدت ۴۸ خیسانده شد و پس از صاف‌کردن و روتاری (تبخیر در خلا) تا تغلیظ به‌میزان ۷۰٪ انجام شد. عصاره به‌دست‌آمده درون پلیت ریخته شده، خشک گردید. عصاره خشک‌شده داخل بالن ژوژه ریخته و به آن آب مقطر اضافه گردید تا حل شود. سپس محلول حاصل توسط کاغذ صافی صاف شد (Dakshayini *et al.,* 2018). عوامل فعال زیستی مهم عصاره خارخاسک شامل فلاونوئیدها، فنول‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها هستند.

دانه‌های روغنی کاملینا به‌صورت آماده از بازار محلی تهیه شدند. پس از جدا کردن ناخالصی‌ها و تمیز کردن دانه‌ها، روغن با روش پرس سرد استخراج شد. به‌دلیل بالارفتن فشار، بخش مایع روغن موجود در دانه از بخش جامد آن جدا گردید. روغن حاصل پس از صاف‌نمودن در شیشه‌های در بسته و دور از نور در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

جدول ۱- اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره پایه

Table 1. Components and the chemical composition of the basal diet

اجزاء و ترکیبات Ingredient	درصد (%)	ترکیب شیمیایی مواد مغذی (%) Chemical composition (%)	مقدار
ذرت Corn	57.03	انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم) Metabolisable energy (Kcal /kg)	2790.00
کنجاله سویا Soybean meal (44%)	9.76	پروتئین خام (درصد) Crud protein (%)	12.60
روغن سویا Soybean oil	3.00	لیزین (درصد) Lysine (%)	0.57
جو Barley	10.15	متیونین (درصد) Methionine (%)	0.28
دی‌کلسیم فسفات Di–calcium phosphate	1.69	متیونین + سیستین (درصد) Methionine + cysteine (%)	0.52
پودر صدف oyster powder	1.06	ترئونین (درصد) Threonine (%)	0.48
جوش شیرین Baking soda	0.20	فسفر قابل دسترس (درصد) Available phosphorus (%)	0.36
نمک Common salt	0.27	کلسیم (درصد) Calcium (%)	0.83
متیونین Methionine	0.11	کلر (درصد) Chlorine (%)	0.18
مکمل ویتامینی* Vitamin premix	0.25	سدیم (درصد) Sodium (%)	0.18
مکمل معدنی** Mineral Premix	0.25		

* مکمل ویتامینی (به‌ازای هر کیلوگرم جیره) حاوی ۹۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامینA، ۵۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۵۰ واحد بین‌المللی ویتامینE، ۳ میلی‌گرم ویتامین K (منادیون)، ۲ میلی‌گرم ویتامین B1، ۶ میلی‌گرم ویتامین B2، ۳ میلی‌گرم ویتامین B6، ۶۰ میلی‌گرم اسید نیکوتینیک، ۱۵ میلی‌گرم اسید پنتوتنیک، ۰/۱ میلی‌گرم بیوتین، ۱/۷۵ میلی‌گرم اسیدفولیک، ۰/۰۱۶ میلی‌گرم ویتامین B12 بود.

* Vitamin supplement (per kg diet) containing 9000 international units of vitamin A, 5000 international units of vitamin D3, 50 international units of vitamin E, 3 mg of vitamin K (menadione), 2 mg of vitamin B1, 6 mg of vitamin B2, 3 mg of vitamin B6, 60 mg of nicotinic acid, 15 mg of pantothenic acid, 0.1 mg of biotin, 1.75 mg of folic acid, 0.016 mg of vitamin B12.

** مکمل معدنی (به‌ازای هر کیلوگرم جیره) حاوی۱۶ میلی‌گرم مس، ۱/۲۵ میلی‌گرم ید، ۴۰ میلی‌گرم آهن، ۱۲۰ میلی‌گرم منگنز، ۰/۳ میلی‌گرم سلنیوم و ۱۰۰ میلی‌گرم روی بود.

** The mineral supplement (per kg diet) contained 16 mg of copper, 1.25 mg of iodine, 40 mg of iron, 120 mg of manganese, 0.3 mg of selenium, and 100 mg of zinc.

پرنده‌ها در یک محیط کنترل‌شده و در شرایط یکسان با ۱۵ ساعت روشنایی، ۹ ساعت تاریکی و در دمای ۲۲-۱۹ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ هفته تحت تیمارهای آزمایشی قرارگرفتند. در پایان تحقیق، اسپرم‌گیری به شیوه مالش پشتی شکمی جهت ارزیابی فراسنجه‌های حجم منی، غلظت اسپرم، جنبانی‌کل، جنبایی پیشرونده، زنده‌مانی، سلامت غشاء و مورفولوژی اسپرم‌ها انجام شد. حجم نمونه‌های منی با استفاده از میکروتیوب‌های مدرج ۲ میلی‌لیتری و غلظت اسپرم با استفاده از لام هموسیتومتر ارزیابی شد. برای ارزیابی غلظت اسپرم، ابتدا ۱۰ میکرولیتر از نمونه منی به ۲۰۰۰ میکرلیتر آب مقطر اضافه شد و به آرامی مخلوط شد. سپس، ۱۰ میکرولیتر از نمونه رقیق‌شده برداشته شد و با دقت و به آرامی به فضای بین لام و لامل تزریق شد. سپس لام به زیر میکروسکوپ منتقل شد و اسپرم‌های موجود در پنج خانه از ۲۵ خانه لام، شامل چهار خانه گوشه و یک خانه در مرکز شمارش و با استفاده از رابطه (۱) غلظت هر میلی‌لیتر منی محاسبه شد (Akhlaghi *et al*., 2014).

$$C = N \times 5 \times 200 \times 10^4 \quad \text{رابطه (۱)}$$

در این رابطه، C غلظت اسپرم در هر میلی‌لیتر و N مجموع تعداد اسپرم شمارش‌شده در پنج خانه هستند. ارزیابی جنبایی کل و پیشرونده به‌صورت چشمی و با استفاده از میکروسکوپ فاز کنتراست (Labomed, Lx 400, 141 USA; magnification: X 400) انجام شد. برای این منظور، ابتدا ۱۰ میکرولیتر از نمونه منی به ۲۰۰۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژیک (۰/۹ درصد NaCL) با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد اضافه شد و به آرامی مخلوط شدند. سپس ۵ میکرولیتر از نمونه‌های مخلوط‌شده برداشته شد و بر روی لام که در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرارداشت گذاشته و با لامل پوشانده شد. در نهایت، نمونه‌ها در زیر میکروسکوپ قرار داده شدند و برای هر نمونه ۱۰ میدان دید مورد بررسی قرار گرفت (Akhlaghi *et al*., 2014). برای ارزیابی ریخت‌شناسی اسپرم از رنگ‌آمیزی ائوزین نیگروزین استفاده شد. برای این منظور، ۵ میکرولیتر از نمونه اسپرم برداشته شد و روی لام قرار گرفت. سپس، رنگ ائوزین- نیگروزین به نسبت ۱ به ۱ بر روی نمونه ریخته شد و نمونه و رنگ ائوزین نیگروزین به آرامی با هم مخلوط شدند. بعد از آن، این مخلوط به‌وسیله یک لام دیگر گسترش داده شد. بعد از این که نمونه‌ها در انکوباتور خشک شدند، زیر میکروسکوپ نوری قرار گرفتند و از هر اسلاید ۲۰۰ اسپرم شمرده شد. اسپرم‌های با ریخت‌شناسی غیر طبیعی شامل دم پیچیده، دم دوتایی، دم‌های غیرطبیعی، سرهای بدون دم شمارش شدند و درصد اسپرم‌های هنجار و ناهنجار به‌دست آمد (Mehdipour *et al*., 2018). از آزمون تورم هایپواسموتیک برای ارزیابی عملکرد غشای پلاسمایی اسپرم استفاده شد. این آزمون بر اساس اسمولاریته محیطی است که اسپرم در آن قرار می‌گیرد. در این آزمون، اسپرم‌هایی که انتهای دم آن‌ها گره می‌خورند به‌عنوان اسپرم با عملکرد غشایی مناسب و آن‌هایی که واکنش نمی‌دهند به‌عنوان اسپرم‌های با غشای آسیب‌دیده در نظر گرفته می‌شوند. برای این کار، ۳ میکرولیتر نمونه منی به ۲۰۰ میکرولیتر محلول هایپواسموتیک اضافه شد و در داخل انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شد. پس از گذشت این زمان، ۵ میکرولیتر از نمونه انکوبه‌شده بر روی لام قرار داده شد و سپس با استفاده از میکروسکوپ فاز کنتراست (Labomed, Lx 400, 141 USA; magnification: X 400) از هر نمونه ۲۰۰ اسپرم مورد بررسی قرار گرفت (Bazyar *et al*., 2019). برای اندازه‌گیری MDA و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در هفته پایانی آزمایش، هم‌حجم انزال به‌دست‌آمده، آب مقطر اضافه شد و با دور ۱۵۰۰جی به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پلاسمای حاصل تا زمان بررسی در دمای ۲۰ - درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در نمونه، یک مولکول MDA با دو مولکول TBA واکنش می‌دهد و فرآورده این واکنش مولکول صورتی رنگ است که بیشترین جذب را در طول موج ۵۳۲ نانومتر دارد (Feyzi *et al*., 2018). گلوتاتیون پراکسیداز با استفاده از کیت شرکت Randox اندازه‌گیری شد. فعالیت‌های آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز به روش کالریمتریک و فلوریمتریک با استفاده از کیت شرکت دانش‌بنیان کیازیست در آزمایشگاه آوین بنیان ژن دانشگاه شهیدچمران اهواز اندازه‌گیری شدند.

مدل آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های حاصل از پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (ویرایش ۹/۱) و رویه مدل خطی عمومی (GLM)، براساس مدل آماری ارائه‌شده در رابطه ۲، تجزیه و تحلیل شدند و میانگین‌ها از طریق آزمون دانکن مقایسه شدند.

$$yijk = \mu + \alpha i + \beta j + (\alpha\beta)ij + \varepsilon ijk \quad (۲)$$

در این رابطه، داده‌های آزمایش yijk، مقدار هر مشاهده μ، میانگین مشاهدات αi، اثر عامل سطح روغن βj، اثر عامل سطح خارخاسک (αβ)ij، اثر متقابل دو عامل و εijk اثر خطای آزمایشی هستند.

نتایج و بحث

حجم منی و غلظت اسپرم

در بررسی اثرات اصلی و متقابل روغن کاملینا و عصاره خارخاسک بر حجم منی و غلظت اسپرم، هیچ تغییر معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). اسید چرب امگا ۳ موجود در روغن کاملینا از اجزای ساختاری غشای سلول اسپرم است و مصرف آن در مردان اثرات سودمندی بر رشد بیضه‌ها و افزایش غلظت هورمون‌های جنسی و در نتیجه بهبود حجم و تراکم اسپرم‌ها داشت (Liu *et al*., 2015). با این‌حال، استفاده از روغن کاملینا که غنی از امگا ۳ است، نتوانست سبب بهبود حجم و غلظت اسپرم‌ها شود که می‌توان به غلظت به‌کار رفته، مدت مصرف، گونه حیوان و تأثیر عوامل دیگر موجود در این روغن نسبت داد.

تحرک اسپرم

با توجه به جدول ۲ در مورد تحرک کل و پیشرونده اسپرم، نتایج نشان دادند که اثرات اصلی و متقابل روغن کاملینا و عصاره خارخاسک تغییر معنی‌داری بر تحرک کل و پیشرونده اسپرم‌ها نداشتند. اسپرم سلولی است که برای

رسیدن به محل لقاح نیازمند حرکت تاژک یا دم است. سیالیت غشاء شاخصی است که می‌تواند به این حرکت کمک کند و باعث افزایش حرکت اسپرم شود. در گونه‌هایی که به‌صورت طبیعی نسبت امگا-۳ به امگا-۶ بالا نیست، دستکاری جیره‌های غذایی آن با اسیدهای چرب امگا-۳ روی تحرک اسپرم اثر مثبت دارد. روغن کاملینا باعث افزایش مقدار اسیدهای چرب امگا ۳ بلندزنجیره، به‌ویژه ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) و بهبود نسبت اسیدهای چرب امگا ۶ به امگا ۳ پلاسما می‌شود که می‌تواند تاثیرات مثبت روی تحرک اسپرم داشته باشد (Eidhin *et al*., 2003). با افزایش سن خروس‌های مادر گوشتی پس از پیک تولید، سطح تولید ROSها و در نتیجه شاخص‌های تنش اکسیداتیو مانند MDA افزایش می‌یابد. اسید چرب با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مایع منی و بهبود تحرک اسپرم توانست موجب بهبود باروری شود. گزارش شده است که لیپیدهای غشای اسپرم پرندگان همانند سایرگونه‌ها حاوی مقدار زیادی اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه (PUFA) هستند. خصوصیات منحصر به‌فرد اسپرم پرندگان، وجود مقادیر کم امگا-۳ و در مقابل مقادیر قابل‌توجه امگا-۶ هستند (Liu *et al*., 2015). به‌طور کلی، مشخص شده است که نسبت n-3 به n-6 در جیره‌های پرندگان و به‌خصوص مرغ و خروس‌های مادر بالا نیست و مکمل‌نمودن جیره با PUFA n-3 باعث افزایش DHA و سایر اسیدهای چرب n-3 در اسپرم شد که نهایتا منجربه جنبایی بالاتر اسپرم به‌صورت آشکار گردید (Cerolini *et al*., 2003). در حالت معمول، اسیدچرب DHA به‌میزان بسیار کمی در اسپرم خروس وجود دارد اما به‌خاطر همبستگی بسیار زیاد این اسیدچرب با باروری، حتی افزایش میزان اندک آن در اسپرم هم می‌تواند نقش کلیدی و مثبتی در تحرک اسپرم داشته باشد (Zanussi *et al*., 2019). سالگادو و همکاران (Salgado *et al*., 2017) که به بررسی گیاه خارخاسک به‌صورت خوراکی بر کیفیت و کمیت اسپرم انسان پرداختند، نشان دادند که استفاده از گیاه خارخاسک باعث بهبود معنی‌داری در تحرک و حیات اسپرم شد. شاراوی و همکاران (Sharawy *et al*., 2015) نشان دادند که تحرک کل و پیشرونده اسپرم در قوچ به‌طور معنی‌داری در گروه تیماری با گیاه خارخاسک افزایش یافت. خارخاسک حاوی عنصر Ca^{+2} است که می‌تواند آنزیم فسفو دی استراز را مهار کند. لذا مانع از تجزیه آدنوزین مونوفسفات حلقوی (cAMP) شده، تحرک اسپرم را افزایش می‌دهد (Khaleghi *et al*., 2019). با این‌حال در تحقیق حاضر، عصاره خارخاسک و روغن کاملینا در غلظت و مدت به‌کار رفته نتوانستند سبب بهبود فراسنجه‌های حرکتی اسپرم‌ها در خروس‌های مسن شوند که تحقیقات بیشتر در پرندگان مسن را می‌طلبد.

زنده‌مانی اسپرم

در بررسی اثرات اصلی و متقابل، مصرف روغن کاملینا و عصاره خارخاسک تأثیر معنی‌داری بر درصد زنده‌مانی اسپرم‌ها نداشت (جدول ۲). این یافته ممکن است به‌دلیل تغییرات سن و کاهش توانایی حفظ کیفیت اسپرم در اثر افزایش سطح استرس اکسیداتیو باشد. گریگوروا و همکاران (Grigorova *et al.,* 2008) سطح ۱۰ میلی‌گرم پودر گیاه خارخاسک در آب آشامیدنی خروس مادرگوشتی روی فراسنجه‌های کمی و کیفی اسپرم را بررسی کردند. درصد اسپرم‌های زنده به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در مطالعه حاضر، عصاره خارخاسک به‌تنهایی و در ترکیب با روغن کاملینا نتوانست اثر محافظتی بر زنده‌مانی اسپرم در خروس‌های مسن مولد داشته باشد. این یافته‌ها ممکن است به این دلیل باشند که احتمالاً فراسنجه‌های اسپرم تحت تأثیر PUFA و عصاره گیاهی در جیره غذایی، حداقل در مورد استفاده از عصاره خارخاسک و روغن کاملینا، قابل بهبود نیستند. این که چرا این نتیجه در این مطالعه به‌دست‌آمد به وضوح درک نشد. به‌طور معمول، آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در پلاسمای منی با خنثی‌سازی ROSها، اکسیداسیون لیپیدها را کاهش می‌دهد و حیات اسپرم‌ها حفظ می‌شود، اما زمانی که سطح تولید رادیکال‌های آزاد از توان آنتی‌اکسیدانی منی فراتر رود، زنده‌مانی اسپرم‌ها به‌شدت کاهش می‌یابد (Verma & Kanwar, 1999). وجود تعداد زیاد میتوکندری در ساختار اسپرم، انرژی مورد نیاز اسپرم‌ها را از طریق واکنش‌های اکسیداتیو هوازی تامین می‌نماید. هرچند که اسیدهای چرب می‌توانند منبع مهم انرژی برای فعالیت و زنده‌مانی اسپرم‌ها باشند (Zanussi *et al*., 2019)، با این حال، در تحقیق حاضر روغن کاملینا نتوانست سبب بهبوده زنده‌مانی اسپرم‌ها در مقایسه با شاهد شود که احتمالاً به‌دلیل کاهش تأثیر اسیدهای چرب در حفاظت از اسپرم‌ها در خروس‌های مسن است.

سلامت غشای پلاسمایی اسپرم

در بررسی اثرات اصلی روغن کاملینا و عصاره خارخاسک (جدول ۲)، سلامت غشای پلاسمایی اسپرم‌ها تحت تأثیر اثرات اصلی خارخاسک قرارگرفت، به‌طوری که پرندگان تغذیه‌شده با سطوح ۱۰ میلی‌گرم خارخاسک، درصد سلامت غشای پلاسمایی اسپرم کمتری نسبت به شاهد نشان دادند ($P < ۰/۰۵$). یکی از چالش‌های صنعت مرغ مادر، افزایش وزن، ذخیره‌ی بیش از حد چربی و کاهش کیفیت منی در سنین پس از ۴۰ هفتگی است (Akhlaghi *et al*., 2014). در این شرایط، مرغ و خروس‌های مادر، مستعد ابتلا به بیماری‌های متابولیک از جمله مقاومت به انسولین و کاهش باروری می‌شوند. کاهش تولید تخم‌مرغ‌های تولیدی و نرخ باروری از اثرات بارز افزایش وزن و چربی‌های بطنی طی دوران پس از اوج تولید است (Asl *et al*., 2018). همچنین، غشای پلاسمایی اسپرم گونه‌های مختلف به‌ویژه پرندگان، حاوی سطوح بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع است که آن را مستعد به پراکسیداسیون لیپیدی تحت تأثیر ROSها می‌کند و ساختار غشای پلاسمایی اسپرم‌ها را متأثر می‌سازد (Khan, 2011).

ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم

همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، اثرات متقابل روغن کاملینا و عصاره خارخاسک بر فراسنجه ناهنجاری اسپرم معنی‌دار بودند ($P < ۰/۰۵$)، به‌نحوی که میزان ناهنجاری‌ها در تیمار ۲ درصد روغن بدون خارخاسک به‌طور

معنی‌داری کمتر از گروه‌های ۱۰ میلی‌گرم خارخاسک بدون روغن و نیز ۲ درصد روغن بدون خارخاسک بود. با این‌حال، اختلاف آماری معنی‌داری در مقایسه با شاهد مشاهده نشد (جدول ۲). اگرچه مکمل نمودن اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه ترکیب اسید چرب اسپرم را تغییر می‌دهد و ممکن است که انعطاف‌پذیری غشاء را بهبود بخشد، ولی اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دو گانه در معرض هجوم رادیکال‌های آزاد قرار می‌گیرند (Emamverdi *et al*., 2014). این وضعیت، غشای اسپرم را به پراکسیداسیون لیپیدها حساس می‌کند و نهایتاً منجر به آسیب غشاء سلول و افزایش ناهنجاری‌های اسپرم می‌گردد (Emamverdi *et al*., 2014). بنا بر این، غنی‌سازی جیره‌های حاوی اسیدهای چرب غیر اشباع با یک آنتی‌اکسیدان که بتواند با رادیکال‌های آزاد مبارزه کند، ضروری به‌نظر می‌رسد.

جدول ۲- تأثیر روغن کاملینا و عصاره خارخاسک بر فراسنجه‌های اسپرمی خروس‌های مادر گوشتی (میانگین و خطای استاندارد میانگین)

Table 2. The effect of camellia oil and *Tribulus terrestris* extract on sperm parameters in broiler breeder roosters

اثرهای آزمایشی		حجم منی (میلی‌لیتر/پرنده) Ejaculate (mL/bird) volume	غلظت اسپرم Spermatozoa/ml (10^9)	تحرک کل (٪) Total motility (%)	تحرک پیشرونده (٪) Forward motility (%)	زنده‌مانی (٪) Viability (%)	سلامت غشا (٪) Membrane integrity (%)	ناهنجاری اسپرم (٪) Abnormal sperm (%)
اثرمتقابل								
روغن کاملینا Camelina oil	خارخاسک Kharkhasek							
0	0	0.35	2.65	87.06	77.28	87.49	87.09	12.33^{ab}
0	10	0.30	2.78	88.74	83.54	92.41	81.99	12.37^{a}
1	0	0.37	2.92	89.89	84.37	90.54	87.70	11.91^{ab}
1	10	0.35	2.90	81.58	75.62	88.53	79.37	11.87^{ab}
2	0	0.40	3.05	91.75	86.24	92.87	89.16	11.75^{b}
2	10	0.32	2.87	81.74	76.45	89.24	80.62	12.41^{a}
خطای استاندارد SEM		0.036	0.187	3.655	4.038	2.596	3.213	0.189
سطح احتمال P-value								
روغن کاملینا Camelina oil		0.5	0.3	0.8	0.9	0.8	0.9	0.07
خارخاسک Kharkhasek		0.1	0.8	0.07	0.2	0.9	0.01	0.1
روغن کاملینا × خارخاسک Camelina oil × kharkhasek		0.7	0.6	0.2	0.1	0.2	0.8	0.04

فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدانی

مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای آزمایشی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و غلظت MDA پلاسمای منی در جدول ۳ آورده شده است. اثرات اصلی روغن کاملینا بر این شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار نبودند ($P > ۰/۰۵$). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تأثیر اثرات اصلی عصاره خارخاسک قرارگرفت ($P < ۰/۰۵$)، و غلظت این آنزیم در پرندگان دریافت‌کننده ۱۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک به طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود ($P < ۰/۰۵$). استفاده همزمان از سطح ۱ درصد روغن کاملینا و سطح ۱۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک باعث افزایش آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز نسبت به سطح صفر درصد روغن کاملینا و سطح صفر میلی‌گرم عصاره خارخاسک شد ($P < ۰/۰۵$). غلظت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز و نیز مالون-دی‌آلدئید در بین تیمارهای آزمایشی تغییر معنی‌داری نداشت (جدول ۳). یکی از فراسنجه‌های مهم مورد ارزیابی در آزمایش حاضر، ارزیابی میزان فعالیت آنتی اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدی منی بود. کاهش بازده باروری خروس‌ها در سنین بالای ۵۰ هفته، حتی در شرایط پرورشی استاندارد، ناشی از کاهش قدرت آنتی‌اکسیدانی و متعاقب آن افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای اسپرم (Ommati *et al*., 2013) و همچنین کاهش محتوای اسیدهای چرب امگا-۶ اسپرم آن‌ها است (Cerolini *et al*., 2005). مصرف متوسط اسیدهای چرب غیراشباع امگا-۳، خواص آنتی‌اکسیدانی مانند فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز را افزایش و پراکسیداسیون لیپیدی را در چربی و سرم کاهش می‌دهد (Velmurugan *et al*., 2018). Abdulla و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که افزودن روغن کتان در سطح ۲۰ گرم بر کیلوگرم به جیره بلدرچین ژاپنی به‌طور قابل توجهی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز را افزایش داد و باعث کاهش مواد واکنش‌دهنده اسید تیوباربیتوریک در سرم در مقایسه با گروه کنترل شد. کاهش نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع امگا-۶ به امگا-۳ باعث افزایش معنی‌داری در فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز شد. در پرندگان، بالاترین سطح غیراشباعی فسفولیپیدهای اسپرم از طریق افزودن اسیدهای چرب غیر اشباع جیره، زمانی قابل دسترس است که تنها مقدار مناسبی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در جیره تامین شود. در پرندگان، وجود مقدار فراوان اسیدچرب غیر اشباع مانند آراشیدونیک اسید و دوکوزاتترانوییک اسید، شرایط مناسبی را برای پیوند یافتن با ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به غشا و در نتیجه حفاظت آن در برابر پراکسیداسیون ایجاد می‌کند، به‌طوری‌که افزودن روغن کاملینا و عصاره خارخاسک به جیره منجر به افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی در غشای اسپرم و پلاسمای منی شده، در نهایت منجر به کاهش نرخ مالون‌دی‌آلدهید می‌شود (Zanussi *et al*., 2019; Cerolini *et al*., 2003). در مطالعه حاضر، علی‌رغم این که اغلب فراسنجه‌های کمی و کیفی اسپرم‌ها تحت‌تأثیر تیمار تغذیه‌ای خروس‌های مسن با سطوح مختلف روغن کاملینا و عصاره خارخاسک قرار نگرفتند، اما نکته جالب این است که فعالیت‌های آنزیم‌های

گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز منی تحت تأثیر سطوحی از این عوامل افزایش یافتند. لذا، به‌نظر می‌رسد که بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مذکور در منی نتوانستند به‌تنهایی عاملی در جهت بهبود کیفیت اسپرم در خروس‌های مسن مولد باشند. بنا بر این، لازم است که تحقیقات بیشتری در این زمینه صورت پذیرد.

جدول ۳- تأثیر روغن کاملینا و عصاره خارخاسک بر غلظت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و مالون‌دی‌آلدئید پلاسمای منی در خروس‌های مادر گوشتی (میانگین و خطای استاندارد میانگین)

Table 3. Effects of camellia oil and kharkhasek extract on seminal plasma antioxidant enzyme and malondialdehyde concentrations in broiler breeder roosters

مالون دی‌آلدئید (MDA) (nm/ml)	کاتالاز (CAT) U/mg protein	گلوتاتیون (GSH) nmol/mg protein	سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) U/mg protein	گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) U/mg protein	اثرهای آزمایشی	
					اثر متقابل	
					روغن کاملینا Camelina oil	خارخاسک Kharkhasek
2.24	12.64	10.04	11.81^{b}	8.38^{b}	0	0
3.53	8.94	8.24	15.72^{ab}	10.78^{ab}	0	10
4.05	8.43	7.42	13.42^{ab}	9.86^{ab}	1	0
2.28	10.98	8.38	18.47^{a}	19.42^{a}	1	10
2.31	11.61	8.36	14.03^{ab}	9.68^{ab}	2	0
2.11	15.81	9.70	15.91^{ab}	11.21^{ab}	2	10
0.883	2.815	1.1130	1.806	2.961	خطای استاندارد SEM	
			سطح احتمال P-value			
0.50	0.3	0.4	0.5	0.2	روغن کاملینا Camelina oil	
0.7	0.6	0.8	0.03	0.08	خارخاسک Kharkhasek	
0.2	0.3	0.3	0.05	0.04	روغن کاملینا × خارخاسک Kharkhasek × Camelina oil	

نتیجه‌گیری کلی

در کل، نتایج نشان دادند که استفاده از روغن کاملینا و عصاره خارخاسک در جیره خروس‌های مادر گوشتی با سن بالا سبب بهبود اغلب فراسنجه‌های اسپرم در مقایسه با شاهد نشد. با این‌حال، فعالیت‌های آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز منی در تیمارهای عصاره خارخاسک و روغن کاملینا بهبود یافتند. لذا، بهبود شرایط آنتی‌اکسیدانی منی به‌تنهایی نمی‌تواند دلیلی بر ارتقای فراسنجه‌های کیفی اسپرم‌ها در خروس‌های مسن باشد و لازم است مطالعات در این مورد ادامه یابند.

سپاسگزاری

از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به‌خاطر تأمین امکانات تحقیق کمال تقدیر و تشکر به‌عمل می‌آید.

References

Abdulla, N. R., Loh, T. C., Akit, H., Sazili, A. Q., Foo, H. L., Kareem, K. Y., & Abdul Rahim, R. (2017). Effects of dietary oil sources, calcium and phosphorus levels on growth performance, carcass characteristics and bone quality of broiler chickens. *Journal of Applied Animal Research*, *45*(1), 423-429. doi.org/10.1080/09712119.2016.1206903.

Akhlaghi, A., Ahangari, Y. J., Navidshad, B., Pirsaraei, Z. A., Zhandi, M., Deldar, H. & Peebles, E. D. (2014). Improvements in semen quality, sperm fatty acids, and reproductive performance in aged Cobb 500 breeder roosters fed diets containing dried ginger rhizomes (Zingiber officinale). *Poultry Science*, 93(5), 1236-1244. https://doi.org/10.3382/ps.2013-03617.

Aldaddou, W. A., Aljohani, A. S., Ahmed, I. A., Al-Wabel, N. A., & El-Ashmawy, I. M. (2022). Ameliorative effect of methanolic extract of Tribulus terrestris L. on nicotine and lead-induced degeneration of sperm quality in male rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 295, 115337. doi.org/10.1016/j.jep.2022.115337.

Asghari Moghadam, M., Hashemi, S. R., Mehri, M., Karamzadeh Dehaghani, A., & Davoodi H. (2023). The influence of different sources of oral selenium supplementation on the total antioxidant capacity (TAC), glutathione peroxidase (GPx) activity, and lipid peroxidation of semen in aged broiler breeder roosters. *Research on Animal Production, 14*(4), 68-77. doi.org/10.1016/j.jep.2022.115337. [In Persian]

Asl, R. S., Shariatmadari, F., Sharafi, M., Torshizi, M. A. K., & Shahverdi, A. (2018). Improvements in semen quality, sperm fatty acids, and reproductive performance in aged Ross breeder roosters fed a diet supplemented with a moderate ratio of n-3: n-6 fatty acids. *Poultry Science*, *97*(11), 4113-4121. https://doi.org/10.3382/ps/pey278.

Bazyar, M., Sharafi, M., & Shahverdi, A. (2019). Changes in seminal parameters and hormonal profile with use of aromatase inhibitor in management of aging broiler breeder roosters. *Poultry Science*, 98(11), 6100-6107. https://doi.org/10.3382/ps/pez325.

Cerolini, S., Pizzi, F., Gliozzi, T., Maldjian, A., Zaniboni, L., & Parodi, L. (2003). Lipid manipulation of chicken semen by dietary means and its relation to fertility: a review. *World's Poultry Science Journal*, *59*(1), 65-75. doi.org/10.1079/WPS20030003.

Cerolini, S., Surai, P. F., Speake, B. K., & Sparks, N. H. C. (2005). Dietary fish and evening primrose oil with vitamin E effects on semen variables in cockerels. *British Poultry Science*, *46*(2), 214-222. doi.org/10.1080/00071660500065839.

Dakshayini P. N., & Mahaboob Basha P., (2018). Phytochemical screening and in vitro antioxidant potential of *Tribulus terrestris* fruit and Mesua ferrea flower extracts: A comparative study. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 10(3), 70-75.

Eidhin, D. N., Burke, J., & O'beirne, D. (2003). Oxidative stability of ω3-rich camelina oil and camelina oil-based spread compared with plant and fish oils and sunflower spread. *Journal of Food Science*, *68*(1), 345-353. doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb14163.x.

Emamverdi, M., Zhandi, M., Shahneh, A. Z., Sharafi, M., Akhlaghi, A., Motlagh, M. K., & Davachi, N. D. (2014). Flow cytometric and microscopic evaluation of post-thawed ram semen cryopreserved in chemically defined home-made or commercial extenders. *Animal Production Science*, *55*(4), 551-558. doi.org/10.1071/AN13215.

Farhadi, R., Farshad, A., Rostamzadeh, J., & Najafi, A. (2024). The Effects of adding different levels of curcumin nanoparticles and sucrose sugar on qualitative and structural parameters of ram epididymal sperm after cooling. *Research on Animal Production*, *15*(2), 44 -52. doi.org/10.61186/rap.15.2.44. [In Persian]

Feyzi, S., Sharafi, M., & Rahimi, S. (2018). Stress preconditioning of rooster semen before cryopreservation improves fertility potential of thawed sperm. *Poultry Science*, 97(7), 2582-2590. doi: 10.3382/ps/pey067

Gauthaman, K., & Ganesan, A. P. (2008). The hormonal effects of Tribulus terrestris and its role in the management of male erectile dysfunction–an evaluation using primates, rabbit and rat. *Phytomedicine*, *15*(1-2), 44-54. doi.org/10.1016/j.phymed.2007.11.011.

Hrastar, R., Petrisic, M. G., Ogrinc, N., & Kosir, I. J. (2009). Fatty acid and stable carbon isotope characterization of Camelina sativa oil: implications for authentication. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(2), 579-585. doi.org/10.1021/jf8028144.

Jiang, L., Wu, J., Liu, S., Wu, W., & Liao, L. (2023). Effect of alkaline microcrystalline cellulose deacidification on chemical composition, antioxidant activity and volatile compounds of camellia oil. *LWT*, *186*, 115214. doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115214.

Kamboj, P., Aggarwal, M., Puri, S., & Singla, S. K. (2011). Effect of aqueous extract of Tribulus terrestris on oxalate-induced oxidative stress in rats. *Indian Journal of Nephrology*, *21*(3), 154-159. doi.org/10.4103/0971-4065.83727.

Karimi Jashni, H., Malekzadeh Shiravani, S., & Hoshmand, F. (2022). The effect of the Tribulus terrestris extract on spermatogenesis in the rat. *Pars Journal of Medical Sciences*, *9*(4), 8-13. doi.org/ 10.29252/JMJ.9.4.8.

Kazemizadeh, A., Zare Shahneh, A., Zeinoaldini, S., Yousefi, A. R., Mehrabani Yeganeh, H., Ansari Pirsaraei, Z., & Akhlaghi, A. (2019). Effects of dietary curcumin supplementation on seminal quality indices and fertility rate in broiler breeder roosters. British *Poultry Science, 60*(3), 256-264. doi.org/10.1080/00071668.2019.1571165.

Khaleghi, S., Bakhtiari, M., Asadmobini, A., & Esmaeili, F. (2017). Tribulus terrestris extract improves human sperm parameters in vitro. *Journal of Evidence-based Complementary & Alternative Medicine*, *22*(3), 407-412. doi.org/10.1177/2156587216668110.

Khan, R. U. (2011). Antioxidants and poultry semen quality. *World's Poultry Science Journal*, *67*(2), 297-308. doi.org/10.1017/S0043933911000316.

Liu, Q., Zhou, Y. F., Duan, R. J., Wei, H. K., Jiang, S. W., & Peng, J. (2015). Effects of dietary n-6: n-3 fatty acid ratio and vitamin E on semen quality, fatty acid composition and antioxidant status in boars. *Animal Reproduction Science*, *162*, 11-19. doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.08.012.

Liu, X., Wu, Y., Gao, Y., Jiang, Z., Zhao, Z., Zeng, W & Xiao, Z. (2024). Valorization of Camellia oleifera oil processing byproducts to value-added chemicals and biobased materials: A critical review. *Green Energy & Environment*, *9*(1), 28-53. doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115056.

Martino-Andrade, A. J., Morais, R. N., Spercoski, K. M., Rossi, S. C., Vechi, M. F., Golin, M., ... & Dalsenter, P. R. (2010). Effects of Tribulus terrestris on endocrine sensitive organs in male and female Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology*, *127*(1), 165-170. doi.org/10.1016/j.jep.2009.09.031.

Mehdipour, M., Kia, H. D., Moghaddam, G., & Hamishehkar, H. (2018). Effect of egg yolk plasma and soybean lecithin on rooster frozen-thawed sperm quality and fertility. *Theriogenology, 116*, 89-94. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.05.013.

Ommati, M. M., Zamiri, M. J., Akhlaghi, A., Atashi, H., Jafarzadeh, M. R., Rezvani, M. R., & Saemi, F. (2013). Seminal characteristics, sperm fatty acids, and blood biochemical attributes in breeder roosters orally administered with sage *(Salvia officinalis)* extract. *Animal Production Science*, *53*(6), 548-554. doi.org/10.1071/AN12257.

Ostrikov, A. N., Kleimenova, N. L., Kopylov, M. V., & Bolgova, I. N. (2021). The study of the fatty acid composition of camelina oil obtained by cold pressing. *Earth and Environmental Science*, 640, 042009.

Palani, M., Kalaiselvan, S., Mark, J. A. M., Chandran, K., & Ekhambaram, V. (2024). Green synthesis of CuO nanoparticles: A promising role of antioxidant and antimicrobial activity by using Tribulus terrestris L. *Aspects of Molecular Medicine*, *4*, 100049. doi.org/10.1016/j.amolm.2024.100049.

Pavlista, A. D., Isbell, T. A., Baltensperger, D. D., & Hergert, G. W. (2011). Planting date and development of spring-seeded irrigated canola, brown mustard and camelina. *Industrial Crops and Products*, *33*(2), 451-456. doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.10.029.

Popa, A. L., Drumea, V., Nita, R. A., Florea, M. A., Olariu, L., Jurcoane, S., & Cristea, S. (2019). A physico-chemical characterization of oil from Camelina sativa seeds grown in Romania. *Romanian Biotechnological Letters*, *24*(5), 776-782. doi: 10.25083/rbl/24.5/776.782.

Salgado, R. M., Marques-Silva, M. H., Gonçalves, E., Mathias, A. C., Aguiar, J. G., & Wolff, P. (2017). Effect of oral administration of Tribulus terrestris extract on semen quality and body fat index of infertile men. *Andrologia*, *49*(5), e12655. doi.org/10.1111/and.12655.

Sandeep, P. M., Bovee, T. F., & Sreejith, K. (2015). Anti-androgenic activity of Nardostachys jatamansi DC and Tribulus terrestris L. and their beneficial effects on polycystic ovary syndrome–Induced rat models. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, *13*(6), 248-254. doi.org/10.1089/met.2014.013.

Sharawy, S. M., Saleh, N. H., Attalah, S. A., Absy, G. M., & Doaa, H. K. (2015). Effect of plant extract of Tribulus terrestris and probiotics on the reproductive performance, total cholesterol and testosterone hormone levels of rams. *MENA Science Journal*, *1*(1), 14-19. doi.org/10.5281/zenodo.21955.

Velmurugan, N., Kalpana, D., Cho, J. Y., & Lee, Y. S. (2018). Chemical composition and antioxidant capacity of the aqueous extract of Phellodendron amurense. *Journal of Forestry Research*, *29*, 1041-1048. doi.org/ 10.1007/s11676-017-0532-2.

Verma, A., & Kanwar, K. C. (1999). Effect of vitamin E on human sperm motility and lipid peroxidation in vitro. *Asian Journal of Andrology*, *1*(3), 151-4.

Wang, L., Zhang, Y., Chen, J. F., Luo, Y. Y., Zou, C. X., Qin, L. K., & Jia, Y. L. (2023). Study on preparation and properties of camellia oleifera seed oil microcapsules by complex coacervation and spray drying. *LWT*, *184*, 115056. doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115056.

Zanini, S. F., Torres, C. A. A., Bragagnolo, N., Turatti, J. M., Silva, M. G., & Zanini, M. S. (2003). Evaluation of the ratio of ω6: ω3 fatty acids and vitamin E levels in the diet on the reproductive performance of cockerels. *Archives of Animal Nutrition*, *57*(6), 429-442. doi.org/10.1080/0003942032000161072.

Zanussi, H. P., Shariatmadari, F., Sharafi, M., & Ahmadi, H. (2019). Dietary supplementation with flaxseed oil as source of omega-3 fatty acids improves seminal quality and reproductive performance in aged broiler breeder roosters. *Theriogenology*, *130*, 41-48. doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.02.030.