

تغییرات فصلی غلظت برخی از عناصر معدنی و پارامترهای منی قوچ قزل و تعیین رابطه بین آنها

رحیم کیان بستان آباد^۱، فرهاد فرخی اردبیلی^{۲*} و سیامک عصری رضائی^۳

تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۴/۱

^۱دانش آموخته کارشناسی ارشد رشته علوم دامی، دانشگاه ارومیه

^۲استادیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

^۳دانشیار دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

*مسئول مکاتبه: Email: f.farrokhi@urmia.ac.ir

چکیده

هدف این مطالعه ارزیابی تغییرات فصلی غلظت عناصر معدنی مس، منیزیم، کلسیم و منگنز در پلاسمای منی و تعیین رابطه این عناصر با برخی از پارامترهای منی قوچ قزل بود. نمونه‌های منی در طول یک سال از پنج راس قوچ بالغ و سالم نژاد قزل و با استفاده از واژن مصنوعی جمع آوری گردید. نمونه‌ها هر دو هفته یکبار و هر بار دو نمونه با فاصله نیم ساعت اخذ گردید. بلافاصله بعد از نمونه‌گیری پارامترهای منی از جمله حجم، درصد اسپرماتوزوئیدهای مرده، درصد اسپرماتوزوئیدهای دارای حرکت پیشرونده، غلظت و کل اسپرماتوزوئیدهای خروجی منی تعیین شدند. پلاسمای نمونه‌های منی بعد از جداسازی با سانتریفیوژ، تا زمان انجام آزمایشات در فریزر با دمای -70°C نگهداری شدند. غلظت عناصر در پلاسمای منی بعد از یخ‌گشایی با روش جذب اتمی اندازه‌گیری گردیدند. کیفیت منی از لحاظ حجم، درصد اسپرماتوزوئیدهای مرده، درصد اسپرماتوزوئیدهای متحرک در فصل پاییز در هر دو انزال نسبت به سایر فصل‌ها بهتر بود. غلظت‌های کلسیم و منیزیم در فصل پائیز بالاترین مقادیر را داشته (به ترتیب $3/3 \pm 17/7$ و $0/2 \pm 10/1$ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و در مقایسه با فصل زمستان ($11/4 \pm 2/5$ و $6/9 \pm 0/8$ میلی‌گرم بر کیلوگرم) اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). تغییرات مقادیر مس تنها در انزال اول معنی دار بوده و در فصل تابستان بالاترین مقادیر را دارا بود ($2/9 \pm 0/2$ میلی‌گرم بر کیلوگرم) ($P < 0/05$). مقادیر منگنز نیز در انزال اول طی فصل پاییز بطور معنی دار کمتر از قصول دیگر بوده ولی در انزال دوم طی فصل تابستان بیشتر از سایر فصول بود ($P < 0/05$). همبستگی منفی معنی‌داری بین عنصر مس و حجم منی، درصد اسپرم‌های متحرک و کل اسپرم خروجی منی و همچنین همبستگی مثبت معنی‌داری با درصد اسپرم‌های مرده مشاهده گردید ($P < 0/05$). کلسیم و منیزیم رابطه مثبت و معنی‌داری با کل اسپرماتوزوئیدهای خروجی و حجم نمونه داشته و از طرفی منگنز با غلظت اسپرماتوزوئید نمونه همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). بطور کلی نتایج این تحقیق نشان که فصل بر روی عناصر معدنی و پارامترهای منی تاثیر معنی داری دارد.

واژگان کلیدی: پلاسمای منی، عناصر معدنی، پارامترهای منی، قوچ قزل

مقدمه

در پستانداران پلاسمای منی از ترشحات فیزیولوژیکی بیضه، اپیدیدم و غدد ضمیمه دستگاه تولید مثل نر تشکیل شده است (گارنر و حافظ ۱۹۹۳) که باعث مهار و هم تحریک فعالیت و باروری اسپرم می شود (مارتی و همکاران ۲۰۰۷). پلاسمای منی برای حفظ تحرک اسپرم گاو نر (باس و همکاران ۱۹۸۳) و قوچ (گراهام ۱۹۹۴) و نیز بهبود زنده مانی اسپرم قوچ (اشورت و همکاران ۱۹۹۴) مهم می باشد. در خوک پلاسمای منی باعث افزایش مقاومت اسپرماتوزوئیدها نسبت به صدمات ناشی از شوک سرما می شود (برگر و کلاگ ۱۹۸۵)، در قوچ اضافه کردن پلاسمای منی باعث بهبود سلامت غشا اسپرم‌هایی می شود که دچار شوک سرما شد اند (باریوس و همکاران ۲۰۰۰).

پلاسمای منی دارای ترکیباتی نظیر پروتئین‌ها، آنتی-اکسیدان‌ها، کربوهیدرات‌های غیر ساختاری، هورمون‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی است، که بر روی زنده مانی، باروری و تحرک اسپرم تاثیر می‌گذارند (پویانی ۲۰۰۶). نقش فیزیولوژیک تمامی این اجزای مختلف هنوز بطور کامل مشخص نشده است و با توجه به تفاوت‌های قابل توجه بین گونه‌ای ترکیب پلاسمای منی، توضیح دقیق فعالیت بسیاری از این ترکیب‌ها مشکل می باشد (نواک و همکاران ۲۰۰۱). مطالعات متعددی بر روی اثرات فیزیولوژیک اجزای غیر آلی منی بر روی پارامترهای مختلف منی (غلظت منی، درصد تحرک و درصد اسپرم های زنده) انجام گرفته است (عبدالرحمان و همکاران ۲۰۰۰، هاماماه و گاتی ۱۹۹۸). به نظر می رسد که ترکیب یون‌ها و PH نقش مهمی در فیزیولوژی اسپرم داشته باشند (هاماماه و گوتی ۱۹۹۸). محیط یونی تاثیر زیادی روی عملکرد اسپرم دارد. یکی از وظایف مهم پلاسمای منی تامین محیط ایزوتونیک برای اسپرم می‌باشد، در

چنین محیطی اسپرم توانایی بروز قدرت باروری مناسب را خواهد داشت. این محیط توسط عناصر معدنی موجود در پلاسمای منی تامین می‌شود گزارشات زیادی مبنی بر اندازه‌گیری عناصر معدنی مانند سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، روی و مس در پلاسمای منی وجود دارد. این گزارشات حاکی از وجود تعادل آنیون-کاتیون در پلاسمای منی است که لازمه ادامه حیات و عملکرد طبیعی اسپرم بوده و حیات اسپرم را برای مدت مقتضی حفظ کرده و مانع از بروز ناباروری در اسپرم می‌شود (حسین زاده و همکاران ۲۰۰۹). تغییر میزان عناصر معدنی ممکن است در کیفیت و کمیت منی تولیدی نیز موثر باشد. پسچ و همکاران نیز در سال ۲۰۰۶ ارتباط بین مقادیر عناصر معدنی پلاسمای منی نریان را با برخی پارامترهای استاندارد منی (حجم منی، غلظت و تعداد کل اسپرم) گزارش کردند.

کمیت و کیفیت منی تولیدی گوسفند تحت تاثیر عوامل مختلفی قرار دارد که در این میان طول روز، درجه حرارت و رطوبت هوا مهمترین آنها می‌باشند (فولچ ۱۹۸۳). در قوچ افزایش کمیت و بهبود کیفیت در منی تولید شده در طول فصل تولیدمثل گزارش شده است، تاثیر فصل همچنین در مقدار پروتئین تام و آنزیم‌های آنتی-اکسیدان پلاسمای منی نیز گزارش شده است (گوندوگان ۲۰۰۶، پرزپی و همکاران ۲۰۰۰، مارتی و همکاران ۲۰۰۷، دومنگوز و همکاران ۲۰۰۸).

از آنجایی که تغییرات فصلی عناصر معدنی مهم پلاسمای منی و ارتباط آنها با کیفیت و کمیت منی کمتر مورد توجه قرار گرفته است لذا هدف از این مطالعه، بررسی تغییرات فصلی عناصر معدنی مس منیزیم، کلسیم و منگنز در پلاسمای منی همراه با ارزیابی فصلی برخی از پارامترهای منی و تعیین رابطه بین عناصر معدنی و پارامترهای کیفی و کمی منی قوچ نژاد قزل بود.

مواد و روش کار

شرایط آزمایش

مطالعه حاضر در مزرعه دامپروری گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه واقع در ۱۱ کیلومتری شمال غرب ارومیه انجام گرفت. مزرعه دامپروری تقریباً در ۱۳۶۶ متری از سطح دریا و به ترتیب در طول و عرض جغرافیایی $۳۹^{\circ} ۳۷'$ غربی و $۴۰^{\circ} ۵۹'$ شرقی واقع شده است. آزمایش تحت شرایط دوره نور طبیعی محیط از مهر سال ۱۳۸۷ تا شهریور ۱۳۸۸ انجام گرفت در این منطقه فصل تولید مثلی گوسفند از شهریور تا اسفند می-باشد. اطلاعات هواشناسی منطقه در طول انجام مطالعه در جدول ۱ به طور خلاصه ارائه شده است. نمونه‌های منی از پنج راس قوچ اکوتیپ قزل اخذ گردیدند. قوچ ها سالم ۳ ساله با وزن $۸۵ \pm ۲/۵$ کیلوگرم که قبلاً باروری آنها تایید شده بود، انتخاب شدند. حیوانات تحت شرایط یکسان تغذیه‌ای، محیطی و نوری نگهداری می-شدند.

شدند. در سرتاسر این مطالعه شرایط تغذیه‌ای و نگهداری حیوانات ثابت و یکسان بود. قوچ‌ها از علوفه یونجه و جو با کیفیت مناسب تغذیه می شدند.

جمع آوری نمونه منی

جمع‌آوری نمونه‌ها از مهر ۱۳۸۷ و به مدت یک سال انجام گرفت. از قوچ‌های قزل هر دو هفته دو نمونه متوالی منی به وسیله واژن مصنوعی گوسفندی جمع‌آوری شد. قبل از جمع‌آوری نمونه منی از چند پرش کاذب برای افزایش بازده انزال استفاده می‌شد. هر دو انزال اول و دوم به طور جداگانه جمع‌آوری شد و فاصله زمانی بین دو انزال ۳۰ دقیقه بود. میش‌های همزمان سازی شده به عنوان تیزر برای پرش قوچ‌ها در نظر گرفته شده بودند. بخش کیفی واژن مصنوعی بلافاصله بعد از نمونه‌گیری جدا می-شد و نمونه به آزمایشگاه فیزیولوژی برای انجام ارزیابی اولیه منی منتقل می‌شد. در هر فصل حدود ۶۰ نمونه از قوچ‌ها استحصال شد.

جدول ۱- میانگین (\pm خطای استاندارد) اطلاعات هواشناسی منطقه در طول انجام آزمایش بدست آمده از ایستگاه هواشناسی ارومیه

فصل	حداقل درجه حرارت هوا (سانتی گراد)	حداکثر درجه حرارت هوا (سانتی گراد)	حداکثر رطوبت هوا (درصد)	حداقل رطوبت هوا (درصد)	طول روز (ساعت)
زمستان	$-۳/۴ \pm ۴/۴$	$۷/۷ \pm ۴/۲$	$۸۸/۵ \pm ۱۱/۲$	$۴۶/۶ \pm ۱۴/۱$	$\pm ۰/۸$
بهار	$۶/۴ \pm ۴/۶$	$۲۰/۳ \pm ۶/۱$	$۷۷/۸ \pm ۱۱/۲$	$۳۱/۸ \pm ۱۲/۱$	$\pm ۰/۹$
تابستان	$۱۳/۸ \pm ۲/۴$	$۲۹/۳ \pm ۲/۰$	$۷۴/۷ \pm ۶/۴$	$۳۰/۱ \pm ۶/۱$	$\pm ۰/۸$
پائیز	$۲/۳ \pm ۵/۸$	$۱۴/۷ \pm ۶/۸$	$۸۸/۹ \pm ۸/۴$	$۴۵/۶ \pm ۱۵/۳$	$\pm ۰/۷$
					$۱۰/۴۳$

ارزیابی پارامترهای منی

در آزمایشگاه نمونه‌های منی اخذ شده در داخل حمام آب گرم ۳۷° درجه سانتی گراد قرار گرفته و در ابتدا حجم منی با استفاده از لوله مدرج جمع کننده ثبت شده و سپس هر نمونه برای تعیین حرکت توده‌ای اسپرم، غلظت

اسپرماتوزوید در هر میلی لیتر، کل اسپرماتوزوید موجود در نمونه منی، درصد اسپرم‌اتوزویدهای دارای تحرک پیش رونده و درصد اسپرماتوزویدهای مرده مورد ارزیابی واقع شدند. شمارش اسپرم با استفاده از لام هموسیتمتر نئوبار انجام گرفت (حافظ ۱۳۸۰). از

روش رنگ‌آمیزی ائوزین - نگرزین برای تعیین درصد اسپرم‌های مرده و زنده استفاده شد. نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده با بزرگ‌نمایی $\times 1000$ توسط روغن امرسیون مشاهده شده و در هر لام تعداد ۱۰۰ اسپرم شمارش و میانگین درصد اسپرم‌های مرده در دو لام تعیین گردید (بیورن دال و همکاران ۲۰۰۳). برای تعیین تحرک اسپرم از میکروسکوپ سه چشمی نوری مجهز به دوربین فیلم برداری متصل به کامپیوتر استفاده شد. ۵ میکرولیتر از نمونه رقیق شده با رقیق‌کننده تجاری بایوکسل (Bioexcell®, IMV, L'Aigle, France) روی یک لام تمیز با دمای 37° درجه سانتی‌گراد قرار داده و با استفاده از میکروسکوپ نوری (Olympus CX21) مجهز به صفحه گرم‌کن، با بزرگ‌نمایی $\times 200$ مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور بطور تصادفی از ۷-۶ فیلد به مدت ۸-۷ ثانیه فیلم برداری شده و در بازنگری مجدد فیلم‌ها، حداقل ۲۰۰ اسپرم شمارش شده و درصد اسپرم‌های متحرک با حرکت پیشرونده تعیین گردید.

آنالیز بیوشیمیایی پلاسمای منی

نمونه‌های منی بعد از ارزیابی اولیه در میکروتیوب‌های ۲ سی‌سی ریخته شده و در سانتریفیوژ یخچال دار (Hettich; Universal 320R, Germany) با $12000 \times$ دور در دقیقه، دمای 4° درجه سانتی‌گراد و مدت ۵ دقیقه عمل جداسازی پلاسمای منی انجام گرفت. سانتریفیوژ دوبار تکرار شده و برای اطمینان از نبود اسپرم در پلاسمای منی قطره کوچکی از نمونه زیر میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های پلاسمای منی در دمای 70° - درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز بیوشیمیایی منجمد شدند. پلاسمای منی بعد از یخ‌گشایی با رقت مشخص رقیق‌سازی شد و غلظت عناصر آن با استفاده از روش فلیم فتومتری^۱ و با دستگاه جذب اتمی

آنالیز آماری

میانگین‌ها و خطای استاندارد محاسبه گردید. تجزیه واریانس داده‌ها در قالب طرح بلوک کامل تصادفی و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن انجام شد. قبل از تجزیه داده‌ها تبدیل Arcsin بر روی آنها صورت گرفت. ضریب همبستگی پیرسون بین پارامترهای منی و عناصر معدنی پلاسمای منی محاسبه گردید. از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ برای تجزیه و محاسبات آماری استفاده شد.

نتایج

تغییرات فصلی پارامترهای منی اعم از حجم انزال، درصد اسپرم‌های مرده، درصد اسپرم‌های متحرک با حرکت پیش‌رونده، غلظت اسپرم و کل اسپرم موجود در نمونه منی در طی آزمایش به صورت میانگین (\pm خطای استاندارد) در جدول ۲ ارائه شده است.

حجم منی در هر دو انزال در فصل پائیز و زمستان نسبت به بهار و تابستان بیشتر بود ($P < 0.05$). بیشترین و کمترین درصد اسپرم مرده نیز در هر دو انزال اول و دوم به ترتیب مربوط در فصول تابستان و پاییز بود ($P < 0.05$). میانگین درصد اسپرم‌های متحرک در اولین و دومین انزال در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری را در طول سال نشان دادند. غلظت اسپرم منی در فصل‌های جمع‌آوری شده در فصل بهار بالاترین و در فصل پاییز پایین‌ترین غلظت را نشان داد. مقدار کل اسپرم منی در انزال اول در فصل پائیز اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد با کل اسپرم منی در فصول زمستان و بهار دارد. از طرفی نتایج بدست آمده در انزال دوم

^۱ Flame Photometry

منیزیم می‌باشند با این تفاوت که کلسیم رابطه مثبت معنی‌داری با کل اسپرم خروجی در انزال دوم ($P < 0/05$ ، $r = 0/796$) برقرار کرده است. این عنصر با دیگر پارامترها نیز روابط مثبت و یا منفی دارد ولی معنی‌دار نمی‌باشند. عنصر منگنز رابطه مثبت و معنی‌داری ($P < 0/05$ ، $r = 0/380$) با پارامتر غلظت اسپرم در انزال اول نشان داده، و از طرفی این عنصر دارای رابطه مثبت با حجم و درصد اسپرم‌های مرده منی در هر دو انزال و رابطه منفی با کل اسپرم خروجی و درصد اسپرم متحرک نشان داده ولی این روابط معنی‌دار نمی‌باشند.

متفاوت با انزال اول بوده است به طوری که کل اسپرم خروجی در سه فصل پائیز، زمستان و بهار با فصل تابستان دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بوده است.

جدول شماره ۳ میانگین (\pm خطای استاندارد) غلظت عناصر معدنی مس، منیزیم، کلسیم و منگنز در طول یک سال آزمایش در پلاسمای منی قزل نشان داده است. تغییر غلظت مس و منیزیم در طی فصول مختلف سال تنها در طی انزال اول معنی‌دار بوده ولی در انزال دوم تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در انزال اول در سطح احتمال ۵ درصد غلظت مس در تابستان در طی زمستان بطور معنی‌داری بیشتر از سایر فصول و غلظت منیزیم در زمستان بطور معنی‌داری کمتر از سایر فصول بود. غلظت کلسیم در هر دو انزال در طی زمستان بطور معنی‌داری کمتر از سایر فصول بود ($P < 0/05$). عنصر منگنز در بین عناصر ذکر شده کمترین غلظت را دارا بود و در انزال اول طی فصل پاییز کمتر و در طی انزال دوم در فصل تابستان بیشتر از سایر فصول بود ($P < 0/05$).

ضریب همبستگی اسپیرمن بین عناصر معدنی و پارامتر-های منی در جدول ۴ ارائه شده است. عنصر مس رابطه منفی معنی‌داری با حجم منی در انزال اول ($P < 0/05$ ، $r = 0/446$)، درصد اسپرم متحرک در هر دو انزال (به ترتیب انزال $P < 0/05$ ، $r = -0/75$ ؛ $r = -0/514$) و کل اسپرم خروجی در انزال دوم ($P < 0/05$ ، $r = -0/505$) و همچنین در انزال دوم همبستگی مثبتی با درصد اسپرم مرده در انزال اول ($P < 0/01$ ، $r = 0/592$) نشان داده است. بیشتر همبستگی یافت شده بین عنصر منیزیم نمونه پلاسمای منی و پارامترهای منی مثبت می‌باشند ولی این روابط با حجم منی و کل اسپرم خروجی در انزال اول معنی‌دار ($P < 0/05$ ، $r = 0/226$ و $r = 0/490$) می‌باشد. روابط موجود برای عنصر کلسیم در برخی موارد مشابه با

جدول ۲- میانگین (± خطای استاندارد) پارامترهای حجم منی، اسپرماتوزویدهای مرده، اسپرم‌های متحرک، غلظت و تعداد کل اسپرم منی در هر انزال در طول یک سال آزمایش

فصل	حجم منی (میلی لیتر)		اسپرم مرده (درصد)		اسپرم متحرک (درصد)		غلظت اسپرم (×۱۰ ^۶)		کل اسپرم خروجی (×۱۰ ^۶)	
	انزال اول	انزال دوم	انزال اول	انزال دوم	انزال اول	انزال دوم	انزال اول	انزال دوم	انزال اول	انزال دوم
پائیز	۱/۱۱ ± ۰/۱۱ ^a	۱/۱۱ ± ۰/۱۱ ^a	۱۶/۵ ± ۰/۸۱ ^b	۱۰/۹ ± ۰/۸۴ ^b	۶۷/۱ ± ۰/۶۷ ^a	۶۹/۸ ± ۰/۸۲ ^a	۳۰۸۰ ± ۱۶۵ ^c	۲۶۷۲ ± ۲۶۰ ^c	۴۵۷۷ ± ۶۰۱ ^a	۳۱۷۷ ± ۵۰۹ ^a
زمستان	۱/۲۳ ± ۰/۲۸ ^a	۱/۰۹ ± ۰/۰۸ ^a	۱۷/۶ ± ۰/۰۱ ^b	۱۲/۲ ± ۰/۸۰ ^b	۶۷/۰ ± ۰/۷۳ ^a	۶۷/۴ ± ۰/۷۵ ^b	۳۳۲۹ ± ۲۰۵ ^b	۲۹۱۷ ± ۳۴۹ ^b	۴۲۸۹ ± ۷۰۸ ^b	۳۳۳۴ ± ۴۵۷ ^a
بهار	۱/۱۵ ± ۰/۱۱ ^b	۰/۹۲ ± ۰/۰۵ ^b	۲۱/۶ ± ۰/۲۴ ^a	۱۶/۹ ± ۱/۴۵ ^a	۶۵/۱ ± ۰/۵۶ ^b	۶۷/۸ ± ۰/۶۲ ^b	۳۷۶۶ ± ۲۰۴ ^a	۳۴۰۲ ± ۲۷۳ ^a	۴۱۸۳ ± ۵۸۰ ^b	۳۲۱۹ ± ۳۵۱ ^a
تابستان	۱/۱۹ ± ۰/۱۷ ^b	۰/۸۹ ± ۰/۰۶ ^b	۲۲/۸ ± ۱/۶۱ ^a	۱۷/۸ ± ۱/۴۱ ^a	۶۲/۹ ± ۰/۵۷ ^c	۶۵/۳ ± ۰/۵۸ ^c	۳۶۷۶ ± ۱۵۷ ^a	۲۸۸۷ ± ۳۴۱ ^{bc}	۴۳۸۹ ± ۴۰۸ ^{ab}	۲۵۸۸ ± ۲۳۸ ^b
میانگین کل	۱/۲ ± ۰/۱۶	۱/۰۸ ± ۰/۰۸	۱۹/۶ ± ۲/۹۰	۱۴/۴ ± ۳/۲۴	۶۵/۵ ± ۰/۲۵	۶۷/۵ ± ۰/۳۶	۳۴۶۱ ± ۱۸۳	۲۹۶۹ ± ۳۰۶	۴۳۵۹ ± ۵۷۴	۳۱۷۱ ± ۲۸۷

* مقادیر در ستون‌ها با بالا نویسی‌های متفاوت دارای تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

جدول ۳- میانگین (± خطای استاندارد) غلظت عناصر معدنی پلاسمای منی قوچ قزل

فصل	غلظت عناصر معدنی							
	مس (میلیگرم / کیلوگرم)		منیزیم (میلیگرم / کیلوگرم)		کلسیم (میلیگرم / کیلوگرم)		منگنز (میلیگرم / کیلوگرم)	
	انزال اول	انزال دوم	انزال اول	انزال دوم	انزال اول	انزال دوم	انزال اول	انزال دوم
پائیز	۲/۱ ± ۰/۶ ^a	۲/۱ ± ۰/۴	۱۰/۱ ± ۰/۳ ^a	۹/۶ ± ۱/۰	۱۷/۷ ± ۳/۳ ^a	۱۵/۳ ± ۴/۵ ^a	۰/۱۸ ± ۰/۱۳ ^a	۰/۲۷ ± ۰/۱۱ ^a
زمستان	۲/۲ ± ۰/۳ ^a	۲/۰ ± ۰/۱	۶/۹ ± ۰/۸ ^b	۹/۱ ± ۰/۴	۱۱/۴ ± ۲/۵ ^b	۹/۸ ± ۲/۷ ^b	۰/۳۲ ± ۰/۱۲ ^b	۰/۲۴ ± ۰/۱۲ ^a
بهار	۲/۱ ± ۰/۱ ^a	۲/۲ ± ۰/۱	۸/۱ ± ۰/۸ ^a	۹/۹ ± ۰/۹	۱۵/۵ ± ۰/۹ ^a	۱۳/۸ ± ۲/۷ ^a	۰/۴۲ ± ۰/۰۷ ^b	۰/۲۴ ± ۰/۰۶ ^a
تابستان	۲/۹ ± ۰/۳ ^b	۲/۳ ± ۰/۲	۹/۴ ± ۲/۴ ^a	۹/۰ ± ۳/۵	۱۴/۰ ± ۴/۹ ^a	۱۴/۱ ± ۳/۰ ^a	۰/۳۵ ± ۰/۱۰ ^b	۰/۴۶ ± ۰/۰۸ ^b
کل	۲/۴ ± ۰/۴	۲/۲ ± ۰/۲	۸/۶ ± ۲/۱	۹/۴ ± ۱/۸	۱۴/۷ ± ۳/۸	۱۳/۲ ± ۳/۷	۰/۳۲ ± ۰/۱۳	۰/۳۰ ± ۰/۱۳

* مقادیر در ستون‌ها با بالا نویسی‌های متفاوت دارای تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

جدول ۴- همبستگی (ضریب همبستگی اسپیرمن) برخی از پارامترهای منی با غلظت عناصر معدنی پلاسمای منی قوچ قزل

		Cu		Mg		Ca		Mn	
		F	S	F	S	F	S	F	S
VOL	F	۰/۰۶۷	۰/۰۶۵	۰/۲۶۶*	۰/۰۱۸	۰/۸۴۱*	۰/۱۴۹	-۰/۳۲۶	۰/۱۰۵
	S	-۰/۴۴۶*	-۰/۳۹۷	۰/۱۲۵	۰/۱۱۰	۰/۰۶۲	۰/۲۳۹	۰/۰۶۰	-۰/۲۶۲
DEA	F	۰/۳۲۵	۰/۵۹۲**	۰/۱۷۵	-۰/۱۵۴	۰/۳۷۲	۰/۳۷۸	۰/۰۰۱	-۰/۰۹۶
	S	۰/۲۳۸	۰/۰۷۸	-۰/۲۳۸	-۰/۳۵۰	۰/۳۲۶	۰/۳۱۰	۰/۲۶۱	۰/۲۴۵
MOT	F	-۰/۷۵*	-۰/۴۹۰*	۰/۲۶۳	۰/۱۶۲	۰/۰۵۹	۰/۳۶۷	-۰/۱۹۶	-۰/۳۲۶
	S	-۰/۵۱۴*	-۰/۴۸۹*	-۰/۰۱۴	۰/۱۸۰	۰/۱۵۰	۰/۲۱۷	-۰/۴۳۱	-۰/۲۰۷
CON	F	۰/۰۷۱	-۰/۰۱۳	۰/۱۶۵	۰/۱۲۰	۰/۱۹۱	-۰/۰۶	۰/۳۸۰*	۰/۲۵۹
	S	-۰/۲۲۴	۰/۱۲۸	-۰/۰۳۸	۰/۰۹۰	۰/۱۱۱	-۰/۰۸۶	۰/۰۸۹	۰/۰۱۷
TOT	F	۰/۲۳۰	۰/۲۲۴	۰/۴۹۰*	۰/۳۲۲	۰/۳۱۰	۰/۶۹۶*	-۰/۰۶۰	-۰/۱۷۴
	S	-۰/۵۰۵*	-۰/۵۲۳*	۰/۰۹۸	-۰/۰۸۷	-۰/۰۵۷	-۰/۲۳۰	۰/۰۹۱	۰/۰۷۰

MOT : درصد تحرک اسپرم؛ DEA : درصد اسپرم مرده؛ CON : غلظت اسپرم ($\times 10^6$)؛ VOL : حجم منی (میلی لیتر)؛ TOT : کل اسپرم خروجی
 Cu : مس؛ Mg : منیزیم؛ Ca : کلسیم؛ Mn : منگنز. * $P < 0.05$ ، ** $P < 0.01$

بحث

ملیومنی و همکاران ۲۰۰۴ و کافی و همکاران (۲۰۰۴). در گوسفندان دنبه‌دار ایران و یونان میانگین درصد اسپرم های متحرک با حرکت پیش‌رونده، حجم منی و تعداد کل اسپرم منی هر انزال در طول فصل پاییز به طور معنی داری بالاتر از فصول دیگر گزارش شده است، نتایج مشابهی مبنی بر پایین بودن تحرک اسپرم و بالا بودن درصد اسپرم‌های مرده در فصول بهار و تابستان در کشور فرانسه و ترکیه وجود دارد. نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر مشابه با مطالعات انجام گرفته در سایر نقاط می‌باشد (ماندیکی و همکاران ۱۹۹۸، کاراگیانی‌دیس و همکاران ۲۰۰۰، ضمیری و خدایی ۲۰۰۵ و گوندوگان ۲۰۰۶). در مطالعه صورت گرفته بر روی تغییرات فصلی

تولید منی در قوچ تحت تاثیر عوامل متعدد می‌باشد، از جمله این عوامل می‌توان به سن، نژاد، مدیریت، وزن بدن، غذای مصرفی و به ویژه شرایط محیطی (طول روز، درجه حرارت و رطوبت هوا) اشاره کرد. با وجود اینکه در میش های مناطق معتدل تولید مثل بصورت پلی استروس فصلی بوده و محدود به فصول با روزهای کوتاه می باشد ولی در قوچ تولید مثل محدود فصل خاصی نمی باشد. با این وجود مطالعات متعددی مبنی بر بروز تغییرات فصلی در پارامترهای مهم کیفی و کمی منی صورت گرفته که فصل را یکی از عوامل اصلی در بروز تغییر در پارامترهای منی قوچ دانسته‌اند (کولاس ۱۹۸۳، بولاند و همکاران ۱۹۸۵،

تضعیف متابولیسم اسپرم و تشدید اثرات مضر پتاسیم می شود (بلک شاو ۱۹۵۳). همان طور که اشاره شد غلظت عناصر کلسیم و منیزیم در فصل پاییز بالاتر مشاهده شد، این در حالی است که حجم منی نیز در فصل پاییز بالاتر بود. در این تحقیق ارتباط مثبتی بین حجم منی و عناصر کلسیم و منیزیم یافت شد، دلیل این امر می تواند یکسان بودن منشاء ترشح این عناصر با پلاسمای منی باشد که می تواند توجیه کننده این همبستگی معنی دار باشد. این نتایج با مطالعه پسچ و همکاران (۲۰۰۶) مطابقت دارد. در مطالعه صورت گرفته مشخص شده است که حتی تعداد انزال یا همان نمونه گیری بر روی ترکیب یونی پلاسمای منی و غلظت عناصری مانند کلسیم و منیزیم موثر می باشد و رابطه منفی معنی داری بین غلظت کلسیم و منیزیم و درصد اسپرم‌های غیرطبیعی و ارتباط مثبتی بین غلظت نمونه منی و حجم منی با غلظت منیزیم و کلسیم پلاسمای منی گزارش شده است (کایا و همکاران ۲۰۰۲). نتایج متناقض هم در این مورد گزارش شده است که در آن غلظت کلسیم و منیزیم با پارامترهای استاندارد منی انسان همبستگی نداشته است (سورنسن و همکاران ۱۹۹۹).

عناصر کم مصرف پلاسمای منی بیشتر به عنوان کوآنزیم در ساختمان آنزیم‌ها عمل می کنند. مس یکی از عناصر ضروری در تمام موجودات زنده است که در ساختمان آنزیم آنتی‌اکسیدانت سوپر اکسیددیسموتاز همراه با عنصر روی عمل می کنند که این آنزیم نیز پلاسمای منی را از اثرات مواد سمی تولید شده محافظت می کند. عنصر مس به مقدار نسبتاً کمتری در مقایسه با دیگر عناصر مورد نیاز است. در مطالعه حاضر همبستگی منفی معنی داری بین عنصر مس با درصد اسپرم متحرک در هر دو انزال و با حجم منی در انزال دوم ثبت شده است که مطابق با نتایج حاصل از مطالعه دیگر می باشد

پارامترهای منی (حجم منی، تعداد کل اسپرم در هر انزال؛ حرکت توده‌ای؛ حرکت پیشرونده اسپرم و درصد اسپرم‌های زنده) بزهای مرغوز غرب ایران نیز نتایج مشابهی گزارش شده است (طالبی و همکاران ۲۰۰۹).

اجزای پلاسمای منی گوسفند از قبیل آنزیم‌های آنتی-اکسیدان، پروتئین تام (مارتی و همکاران ۲۰۰۷)، آلبومین، گلوبولین، کلاسترول (گونوگان ۲۰۰۶) و نیز همراه با پارامترهای کیفی و کمی منی تحت تاثیر فصل قرار گرفته و تغییرات فصلی را نشان داده‌اند (طاها و همکاران ۲۰۰۰). در تحقیق حاضر همزمان با تغییرات پارامترهای کیفی و کمی منی تغییرات فصلی معنی داری نیز در هر چهار عنصر معدنی مورد مطالعه (مس، منگنز، کلسیم و منیزیم) در پلاسمای منی مشاهده شد. آنالیز بیوشیمیایی عناصر معدنی پلاسمای منی گوسفند خصوصاً نژادها یا اکوتیپ‌های مناطق مختلف و تعیین رابطه آنها با پارامترهای کیفی و کمی منی برای تعیین کارایی بهتر تولید مثلی حیوان و تاثیر عناصر معدنی روی پارامترهای منی در طول سال هنوز به طور کامل مورد مطالعه قرار نگرفته است و اطلاعات کاملی در این مورد در دسترس نیست.

مقدار کلسیم پلاسمای منی بیشتر از مقدار آن در سلول اسپرم است از این رو این نوع کلسیم می تواند بر اسپرم تاثیر گذار باشد. گزارش شده که افزایش کلسیم پلاسمای منی باعث افزایش فرایند قابلیت پذیری^۲ اسپرم و آگروسیتوز آکروزوم می شود که بخشی از عمل آن از طریق Ca-ATPase صورت می گیرد (فریزر و همکاران ۱۹۹۵). مطالعات صورت گرفته همبستگی معنی دار سطوح پایین عناصر معدنی کلسیم را با ناباروری و تحرک پایین اسپرم انسان و قوچ را گزارش کرده‌اند (حسین زاده و همکاران ۲۰۰۹ و عبدل رحمان ۲۰۰۰)، که مطابق با نتایج مطالعه حاضر می باشد. در قوچ و گاو کلسیم باعث

^۲ Capacitation

با وزن مولکولی ۷۷۰۰۰-۷۶۰۰۰ کیلو دالتون و شکل دوم همراه با مس و روی به وزن ملکولی ۳۴۰۰۰-۳۳۰۰۰ دالتون. این شکل عنصر در پلاسمای منی گوسفند گزارش شده است (ابو اریش و همکاران ۱۹۷۸). از طرفی فعالیت بالای این آنزیم در فصول بهار و تابستان گزارش شده است (مارتی و همکاران ۲۰۰۷). لذا می‌توان همبستگی مثبتی بین این عنصر و آنزیم پلاسمای منی برقرار کرد و این دلیل همراه بودن منگنز با آنزیم پلاسمای منی شاید توضیح دهنده غلظت بالای عنصر در فصول بهار و تابستان باشد. این مسئله لزوم مطالعات بیشتر در این مورد برای شناخت تاثیر این عنصر کمیاب روی پارامتر-های حساس منی را روشن می‌سازد.

می‌توان نتیجه‌گیری کرد که عناصر معدنی پلاسمای منی قوچ تغییرات فصلی را نشان دادند، تغییرات فصلی نیز در مورد پارامترهای کمی و کیفی منی مشاهده شد. مس همبستگی منفی با حجم منی، تحرک اسپرم و کل اسپرم خروجی و همبستگی مثبتی با اسپرم مرده نشان داد. منیزیم و کلسیم همبستگی مثبتی را با حجم منی و منگنز نیز رابطه مثبتی را با غلظت اسپرم نشان داد.

(پسچ و همکاران ۲۰۰۶)، این در حالی است که این ارتباط با درصد اسپرم مرده مثبت می‌باشد. شاید سمیت این عنصر دلیل این امر باشد که با افزایش میزان آن باعث مرگ و کاهش تحرک اسپرم‌ها می‌شود و با افزایش غلظت عنصر مس درصد اسپرم مرده نیز افزایش می‌یابد. سمیت این عنصر و تاثیر منفی آن روی قدرت حیات و تحرک اسپرم گزارش شده است (هولند و وایت ۱۹۸۰). آزمایش حاضر یکی از معدود مطالعات صورت گرفته روی عنصر کمیاب منگنز در پلاسمای منی گوسفند می‌باشد و در این رابطه و حتی در مورد غلظت معمول این عنصر و ارتباط آن با سایر پارامترهای منی در نژادهای مختلف گوسفند مطالعات بسیار کمی صورت گرفته است. در این مطالعه کمترین غلظت بین عناصر پلاسمای منی مربوط به این عنصر بوده و غلظت بالاتر آن در فصول بهار و تابستان ثبت شده است، و همچنین همبستگی مثبت معنی‌دار آن با غلظت نمونه منی مشاهده شد. منگنز به عنوان فعال کننده بسیاری از آنزیم‌ها آنتی اکسیدانت مانند سوپراکسید-دیسموتاز عمل می‌کند. سوپراکسیددیسموتاز دارای دو شکل آنزیمی می‌باشد: شکل اول همراه با عنصر منگنز و

منابع مورد استفاده

حافظ ای اس ای، حافظ بی. ۱۳۸۰. تولید مثل در حیوانات مزرعه‌ای. ترجمه: علیرضا محمودزاده. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت، چاپ اول، صفحه ۳۳۳.

Abu-Erreish G, Magnes L and Li TK, 1978. Isolation and properties of superoxide dismutase from ram spermatozoa and erythrocytes. *Boi Reprod* 18: 554-560.

Abdel-Rahman HA, El-Belely MS, Al-Qarawi A.A, El-Mougy and SA, 2000. The relationship between semen quality and mineral composition of semen in various ram breeds. *Small Rumin Res* 38: 45-49.

Ashworth P, Harrison R, Miller N, Plummer J, Watson P, 1994. Survival of ram spermatozoa at high dilution: protective effect of simple constituents of culture media as compared with seminal plasma. *Reprod Fertil Dev* 6:173-80.

Baas JW, molan PC and Shannon P, 1983. Factors in seminal plasma of bulls that affect the viability and motility of spermatozoa. *J Reprod ferti* 68: 275-280.

Barrios B, Perez-Pe R, Gallego M, Tato A, Osada J, Muino-Blanco T and Cebrian-Perez J, 2000. Seminal plasma protein revert the cold-shock damage on ram sperm membrane. *Bio Reprod* 63: 1531-1537.

- Berger T, Clegg E, 1985. Effect of male accessory gland secretions on sensitivity of porcine sperm acrosomes to cold shock. Initiation of motility and loss of cytoplasmic droplets. *J Anim Sci* 60: 1295–302.
- Bjorndahl L, Soderlund I and Kvist U, 2003. Evaluation of the one-step Eosin-Nigrosin staining technique for human sperm vitality assessment. *Hum Reprod* 18: 813-816.
- Blackshaw AW, 1953. The effects of potassium and calcium salts on the motility of ram. *J Physiol* 120: 465-473.
- Boland MP, Al-Kamali AA, Crosby TF, Haynes NB, Howles CM and Kelleher DL, 1985. The influence of breed, season and photoperiod on semen characteristics, testicular size, libido and plasma hormone concentrations in rams. *Anim Reprod Sci* 9: 241–52.
- Colas G, 1983. Factors affecting the quality of ram semen. Pp. 453-466. In: Haresign W, editor. *Sheep Production*. Butterworth, London.
- Dominguez M.P, Falcinelli A, Hozbor F, Sanchez E, Cesari A and Alberio RH, 2008. Seasonal variation in the composition of ram seminal plasma and its effect on frozen-thawed ram sperm. *Theriogenology* 69: 564-573.
- Folch, J, 1983. Influence of age, photoperiodism and temperature on semen production of rams. In: Courot, M. (Ed.), *The Male in Farm Animal Reproduction*. Martinus Nijhoff Publishers, Amsterdam.
- Fraser LR, Abeydeera LR and Niwa K, 1995. Ca²⁺ -Regulating mechanism that modulate bull sperm capacitation and acrosomal exocytosis as determined by chlortetracycline analysis. *Mol Reprod Devel* 40: 233-241.
- Garner DL and Hafez ESE, 1993. Spermatozoa and Seminal Plasma. In: *Reproduction in Farm Animals*. Ed. By: SES Hafez. 6th Edition. Lea & Febiger. PP:165-187
- Graham J, 1994. Effect of seminal plasma on the motility of the epididymal and ejaculated spermatozoa of the ram and bull during the cryopreservation process. *Theriogenology* 41: 1151–62.
- Gundogan M, 2006. Some reproductive parameters and seminal plasma constituents in relation to season in akkaraman and awassi rams. *Turk J Vet Animal Sci* 30: 95-100.
- Hamamah S, Gatti JL, 1998. Role of the ionic environment and internal pH on sperm activity. *Human Reprod* (Suppl. 4) 13, 20-30.
- Holland MK and White IG, 1980. Heavy metals and spermatozoa. 1. Inhibition of the motility and metabolism of spermatozoa by metals related to copper. *Fertil Steril* 3: 483-489.
- Hosseinzade Colagar A, Tahmasbpour Marzony E and Chaichi MJ, 2009. Zinc levels in seminal plasma are associated with sperm quality in fertile and infertile men. *Nut Res* 29: 82-88.
- Kafi M, Safdarian M and Hashemi M, 2004. Seasonal variation in semen characteristics, scrotal circumference and libido of Persian Karakul rams. *Small Rumin Res* 53: 133-139.
- Karagiannidis A, Varsakeli S, Alexopoulos C and Amarantidis I, 2000. Seasonal variation in semen characteristics of chios and friesland rams in Greece. *Small Rumin Res* 37: 125-130.
- Kaya A, Aksoy M and Tekeli T, 2002. Influence of ejaculation frequency on sperm characteristics, ionic composition and enzymatic activity of seminal plasma in rams. *Small Rumin Res* 44: 153-158.
- Mandiki SNM, Derycke G, Bister JL and Paquay R, 1998. Influence of season and age on sexual maturation parameters of Texel, Suffolk and Ile-de-France rams: 1. Testicular size, semen quality and reproductive capacity, semen quality and reproductive capacity. *Small Rumin Res* 28: 67-79.
- Marti E, Mara L, Marti JI, Muino-Blanco T and Cebrian-Perez JA, 2007. Seasonal variation in antioxidant enzyme activity in ram seminal plasma. *Theriogenology* 67: 1446-1454.
- Melpomeni A, Georgios B, Kostantinos S and Chemineau Ph, 2004. Seasonal variation in testicular volume and sexual behavior of Chios and Serres rams. *Theriogenology* 62: 275-282.
- Noaks ED, Parkinson TJ, England GC, 2001. *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*. Saunders Ltd.; 8 edition. PP: 686-687.

- Perez-Pe R, Barrios B, Muino-Blanco T and Cebian-Perez JA, 2000. Seasonal differences in ram seminal revealed by partition in an aqueous two-phase system. *J Chromat* 760: 113-21.
- Pesch S, Bergman M and Bostedt H, 2006. Determination of some enzyme and macro- and microelements in stallion seminal plasma and their correlation to semen quality. *Theriogenology* 66: 307-313.
- Poiani A, 2006. Complexity of seminal plasma fluid: a review. *Beh Ecol Soci* 60: 289-310.
- Sorensen MB, Bergdahl IA, Hjollund NH, Bonde JP, Stoltenberg M and Ernst E, 1999. Zinc, magnesium and calcium in human seminal plasma fluid: relation to other semen parameters and fertility. *Mol Hum Reprod* 5: 331-337.
- Taha TA, Abdel-Gawad EI, Ayoub MA, 2000. Monthly variation in some reproductive parameters of Barki and Awassi rams throughout 1 year under subtropical conditions 2. Biochemical and enzymatic properties of seminal plasma. *Anim Sci* 71:325-332.
- Talebi J, Sourì M, Moghaddam A, Karimi I and Mirmahmoodi M, 2009. Characteristics and seasonal variation in the semen of Markhoz bucks in western Iran. *Small Ruminant Res* 85: 18-22.
- Zamiri MJ and Khodaei HR, 2005. Seasonal thyroidal activity and reproductive characteristics of Iranian fat-tailed rams. *Anim Reprod Sci* 88: 245-255.

Seasonal variations of seminal plasma minerals and its relationship with some semen parameters in Ghezel ram

R Kian Bostanabd¹, F Farrokhi Ardebili^{2*} and S Asri Rezaei³

Received: 16, Noveber 2012 Accepted: 22, June 2014

¹MS.c in Animal Science, Urmia University, Urmia, Iran

²Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia, Iran

³Associated Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia, Iran

*Corresponding author: f.farrokhi@urmia.ac.ir

This study was aimed to evaluate the seasonal variation of Cu, Ca, Mg and Mn in seminal plasma and their relationship with some of the semen parameters in Ghezel rams. The semen samples were collected from five rams using artificial vagina throughout a year. Two consecutive samples collected in 30 minute and collection was repeated with a 14 days interval. Semen parameters quantified immediately after collection are including volume, percentage of dead sperm, motility, sperm concentration and total sperm output. Seminal plasma was separated by centrifugation of semen. They were kept at -70°C until analysis. The minerals concentrations were analyzed using atomic absorption. The volume of semen, percentage of dead sperm and sperm motility were better in both consecutive ejaculations in autumn than other seasons. Concentration of Ca and Mg were higher in autumn (17.7 ± 3.3 mg/kg and 10.1 ± 0.2 mg/kg, respectively) and had significant differences with their concentrations in winter (11.4 ± 2.5 and 6.9 ± 0.8 mg/kg, respectively) ($P < 0.05$). Concentration of Cu was significantly higher in summer (2.9 ± 0.2) only in the first ejaculation ($P < 0.05$). Concentration of Mn was significantly lower in autumn in the first ejaculation whereas in the second ejaculations it was higher in summer compared to other seasons ($P < 0.05$). There were negative correlation between the concentration of Cu with semen volume, percentage of motile sperm and total sperm output and they had positive correlation with percentage of dead sperm ($P < 0.05$). The positive correlation were observed between Ca and Mg concentration with total sperm output, semen volume and Mn concentration with sperm concentration ($P < 0.05$). In conclusion, the result of this study indicated that, the season has an effect on the mineral concentration and semen standard parameters in Ghezel rams.

Key word: Seminal plasma, Semen parameters, Mineral elements, Ghezel ram.