نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱٤٤، پاییز ۱٤۰۳
ص‌ص: ۱٦٥~۱۷٤

تأثیر استفاده جیره حاوی نانو روی بر کیفیت و کمیت اسپرم در قوچ زندی

• گل افشان مهکی[۱]، منوچهر سوری*[۱]، رضا مسعودی[۲]، نادر اسدزاده[۲]

۱-گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

۲- موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت : مرداد ۱۴۰۲ تاریخ پذیرش : دی ۱۴۰۲

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۸۳۳۸۳۲۴۸۲۰

Email: m.souri@razi.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI):10.22092/ ASJ.2024.365905.2394

چکیده

عوامل مختلف محیطی و تغذیه‌ای می‌تواند بر کیفیت و باروری اسپرم تولید شده در قوچ تأثیر بگذارد. بنابراین، هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر مصرف خوراکی مکمل نانوذرات روی بر فراسنجه‌های کمی و کیفی منی قوچ نژاد زندی بود. به این منظور از ۱۵ رأس قوچ با سن ٤-۳ سال استفاده شد. قوچ‌ها به مدت ٦۰ روز با تیمارهای آزمایشی شامل ۱) جیره پایه، ۲) جیره پایه حاوی ۳۵ میلی‌گرم/کیلوگرم نانوذرات روی و ۳) جیره پایه حاوی ۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نانوذرات روی تغذیه شدند. اسپرم‌گیری از روز اول آزمایش به مدت ٦۰ روز و به فاصله هر ۱۰ روز یک بار توسط واژن مصنوعی انجام شد. فراسنجه‌های کمی و کیفی اسپرم شامل حجم منی، تعداد، تحرک، سلامت غشاء و زنده‌مانی اسپرم مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد، مکمل‌سازی جیره با ۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نانوذرات روی موجب بهبود تعداد، تحرک کل، تحرک پیش‌رونده، سلامت غشاء و زنده‌مانی اسپرم نسبت به گروه‌های شاهد و دریافت‌کننده ۳۵ میلی‌گرم/کیلوگرم نانوذرات روی شد (P<۰/۰۵). در نتیجه، مکمل جیره با نانوذرات روی به عنوان یک آنتی‌اکسیدان، روشی مناسب برای بهبود کیفیت منی و در نتیجه افزایش عملکرد تولیدمثلی در قوچ است.

واژه‌های کلیدی: نانو روی، اسپرم، قوچ، جیره.

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by **Research Journal of Livestock Science** (https://asj.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited

Research Journal of Livestock Science No 144 pp: 165-174

The effects of using diatery zinc nanoparticles on sperm quality and quantity in Zandi ram

By: Golafshan Mahaki[1], Manouchehr Souri*[1], Reza Masoudi[1], Nader Asadzadeh[2]
1: Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Razi, Kermanshah, Iran
2: Animal Science Research Institute of Iran (ASRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

Received: August 2023 **Accepted: January 2024**

The various factors of environmental and nutritional can affect on sperm quality and fertility in ram. The aim of the current study was to investigate the effect of dietary zinc nanoparticles (ZnNPs) on characteristics of quantitative and qualitative in ram semen. For this purpose, 15 Zandi rams (3-4 years old) were used. Rams were fed the following diets during 60 days: 1) the base diet, 2) base diet plus 35 mg/kg zinc nanoparticles and 3) base diet plus 70 mg/kg zinc nanoparticles. Semen samples were collected during 60 days (every ten days) by artificial vagina. Parameters of sperm quantitative and qualitative including semen volume, number of spermatozoa, motility, membrane integrity, and viability were evaluated. The results showed that diet supplementation with 70 mg/kg of ZnNPs improved the number of sperm, total motility, progressive motility, membrane integrity, and viability compared to groups of control and the receiving 35 mg/kg of ZnNPs ($P < 0.05$). As a result, diet supplementation with ZnNPs as an antioxidant is a suitable method to improve semen quality and thus increase reproductive performance in ram.

Key words: Zinc nanoparticles, sperm, ram, diet

مقدمه

پرورش گوسفند به دلیل تنوع محصولات تولیدی آن، از اهمیت ویژه‌ای در صنعت دام‌پروری برخوردار است؛ اما بازده پایین تولیدمثلی موجب کاهش صرفه اقتصادی پرورش گوسفند شده است. عوامل مختلفی از جمله نژاد، سن، فصل، مدیریت تغذیه‌ای و عوامل تنش‌زای محیطی می‌تواند بر کیفیت اسپرم تولید شده و در نتیجه بر باروری قوچ مؤثر باشد (Al-Anazi و همکاران، ۲۰۰۷). عدم مدیریت صحیح عوامل محیطی و تغذیه‌ای منجربه تنش اکسداتیو می‌شود (Hozyen و همکاران، ۲۰۱۴) که همه‌ی اندام‌های دام از جمله دستگاه تولیدمثلی نر و ماده را تحت تأثیرقرار می‌دهد.

اسپرم برای بقای خود به اکسیژن نیاز داردو با مصرف آن در زنجیره تنفسی میتوکندری، ATP مورد نیاز خود را تأمین می‌کند، اما متابولیت‌های اکسیژن نظیر رادیکال‌های آزاد که در این مسیر تولید می‌شوند، می‌توانند برای بقای سلول مضر باشند. عدم تعادل بین تولید و حذف رادیکال‌های آزاد منجربه ایجاد تنش اکسیداتیو در سلول می‌شود (Saleh و Agarwal، ۲۰۰۲). رادیکال‌های آزاد به عنوان اصلی‌ترین عامل تنش اکسیداتیو یک مولکول به شدت واکنش‌گر با یک الکترون جفت‌نشده است که به همه‌ی مولکول‌های زیستی از جمله لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب می‌رساند (Wang و همکاران، ۲۰۱۴). غشای اسپرم حاوی مقدار زیادی اسیدهای چرب غیراشباع است که به سیالیت و انعطاف‌پذیری غشاء کمک می‌کند (Zaniboni و همکاران، ۲۰۰۶). ترکیب لیپیدهای غشاء به ویژه نسبت کلسترول به فسفولیپید، دارای نقش مکانیکی حیاتی و تعیین‌کننده ویژگی های اسپرم مانند سیالیت، ترکیب‌پذیری و نفوذپذیری در غشای آن می‌باشد که همگی برای مقاومت سلول در برابر تنش دمایی، فرآیند ظرفیت‌پذیری، واکنش آکروزوم و در نهایت فرآیند لقاح ضروری هستند (Aksoy و همکاران، ۲۰۰۶). اما وجود اسید-چرب غیراشباع در غشای اسپرم شرایط را برای بروز آسیب پراکسیداسیون مساعد می‌نماید (Ogbuewu و همکاران، ۲۰۱۰)

و صدمات ناشی از این فرآیند موجب کاهش عملکرد سلول، جنبایی و توانایی باروری اسپرم برای تلقیح مصنوعی می‌شود (Bucak و همکاران، ۲۰۱۵).

یکی از سازوکارهای مهار تنش اکسیداتیو و کاهش آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها است. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیبات واکنش‌گری هستند که رادیکال‌های آزاد را حذف کرده و یا تشکیل آن‌ها را سرکوب می‌کنند (Khan، ۲۰۱۱). از میان عناصر کمیاب، روی با عملکرد آنتی‌اکسیدانی، بیش‌ترین اثر را بر پارامترهای کیفی اسپرم و عملکرد تولیدمثلی نر دارد. غلظت بالایی از عنصر روی در مایع منی وجود دارد که آنیون سوپراکسید تولید شده توسط اسپرم‌های نابالغ انزال شده و لوکوسیت‌ها را خنثی می‌کند (Zhang و همکاران، ۲۰۱۷). علاوه بر این، عنصر روی در روند اسپرماتوژنز نیز ضروری است (Dissanayake و همکاران، ۲۰۰۶). همبستگی مثبتی بین غلظت، تحرک و زنده‌مانی اسپرم با غلظت روی در منی وجود دارد (Chia و همکاران،۲۰۰۰). تعدادی از متالوآنزیم‌ها از جمله فسفاتاز، کربنیک‌آنهیدراز، سوپراکسیددیسموتاز و الکل‌دهیدروژناز حاوی روی هستند (Byar، ۱۹۷۴) و فعالیت این آنزیم‌ها وابسته به اثر این عنصر است. این متالوآنزیم‌ها دارای عملکردی حیاتی در دستگاه تولید-مثلی نر هستند (Underwood و Somers ، ۱۹۶۹). اثر کمبود روی در دستگاه تولیدمثلی نر در درجه اول در سطح بیضه و در ارتباط با آنزیم کربنیک‌آنهیدراز بروز می‌کند. سوپراکسیددیسموتاز هم یک متالوآنزیم حاوی عنصر روی (Tan و همکاران، ۱۹۷۳) و یکی از کارآمدترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی میتوکندریایی می‌باشد. این آنزیم اولین خط دفاعی بدن در برابر رادیکال آزاد است که در مقادیر بالا در پلاسمای منی وجود دارد. روی در ساختار شیمیایی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، سلول را از اکسیده شدن و تخریب DNA محافظت می‌کند (Aslani و Ghobadi، ۲۰۱۶).

فناوری نانو علم مطالعه مواد و ساختارها با خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و زیستی منحصربه فرد و در اندازه‌های بسیار کوچک یک تا ۱۰۰ نانومتر است. این اجسام با اندازه نانو یا نانوذرات، ویژگی‌ها و عملکردهای جدیدی به خود می‌گیرند که به‌طور قابل‌توجهی با مواد غیرنانو مشابه، متفاوت است (Singh و Lillard، ۲۰۰۹). در دهه‌های اخیر نانوذرات روی به دلیل کاربرد گسترده آن‌ها در زمینه‌های مختلف مانند الکترونیک، نور و زیست‌پزشکی توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده‌اند (Kumar و همکاران، ۲۰۲۰). نانو ذرات به راحتی از پوشش سلول‌ها، سد خونی مغزی و سد خونی بیضه‌ای عبور کرده و به همین دلیل می‌توانند بر تمام اندام‌های بدن تأثیرگذار باشند (Dawei و همکاران، ۲۰۱۰). نانوذرات روی قادر هستند ساختار یکپارچه غشای سلول را در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد حفظ نموده، سطح آنزیم آنتی‌اکسیدانی را افزایش داده و - میزان تولید مالون‌دی‌آلدهید را به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپید کاهش دهند (Dawei و همکاران، ۲۰۱۰). بر این اساس مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات تجویز خوراکی نانوذرات روی بر فراسنجه‌های کمی و کیفی منی قوچ نژاد زندی طراحی شد.

مواد و روش‌ها

حیوانات و تیمارهای آزمایشی

در این پژوهش به منظور بررسی اثرات تجویز خوراکی مکمل نانوذرات روی از ۱۵رأس قوچ نژاد زندی ۴-۳ ساله با میانگین وزن ۷۰ کیلوگرم استفاده شد. حیوانات به طور تصادفی به سه تیمار آزمایشی شامل ۱) گروه دریافت‌کننده جیره پایه، ۲) گروه دریافت‌کننده جیره پایه و ۳۵ میلی‌گرم/کیلوگرم نانوذرات روی و ۳) گروه دریافت‌کننده جیره پایه و ۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نانوذرات روی اختصاص یافتند. نانوذرات روی به صورت روزانه و به مدت ۶۰ روز توسط بلوس‌خوران به قوچ‌ها خورانده شد.

جدول ۱- اقلام خوراکی (٪) موجود در جیره‌های استفاده شده در آزمایش

ردیف	اقلام خوراکی	مقدار	ردیف	اقلام خوراکی	مقدار
۱	یونجه	۴۱/۹۶	۶	روغن ماهی	۳
۲	سیلاژ ذرت	۲۸	۷	مکمل ویتامینی	۰/۵
۳	کاه	۹/۵	۸	کربنات کلسیم	۰/۵
۴	جو	۶/۰۴	۹	نمک	۰/۳۲
۵	سبوس	۱۰/۱۸	۱۰	نانو روی	۳۵ یا ۷۰ ppm

جدول ۲- ترکیبات شیمیایی جیره استفاده شده در آزمایش

ردیف	ترکیبات شیمیایی	مقدار	ردیف	ترکیبات شیمیایی	مقدار
۱	انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری در کیلوگرم ماده خشک)	۲/۲۴	۴	فیبر نامحلول در شوینده خنثی (درصد در ماده خشک)	۴۸/۶
۲	پروتئین خام (درصد در ماده خشک)	۱۲	۵	کلسیم (درصد در ماده خشک)	۰/۷۹
۳	عصاره اتری (درصد در ماده خشک)	۵/۲۸	۶	فسفر (درصد در ماده خشک)	۰/۳۱

جمع‌آوری و فرآوری منی

به منظور بررسی اثر مصرف خوراکی نانوذرات روی بر ویژگی‌های اسپرم قوچ، اسپرم‌گیری از روز اول تا روز ۶۰ پژوهش و به فاصله ۱۰ روز یک بار به وسیله واژن مصنوعی انجام شد. به این منظور قوچ‌ها به مدت دو هفته پیش از شروع مطالعه برای اسپرم‌گیری عادت‌دهی شده و سپس جمع‌آوری منی انجام شد. بلافاصله پس از اسپرم‌گیری، منی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای انجام آزمایشات ارزیابی کیفیت اسپرم به آزمایشگاه منتقل شد. ویژگی‌های کمی و کیفی اسپرم شامل حجم منی، تعداد، تحرک، سلامت غشاء و زنده‌مانی اسپرم مورد ارزیابی قرار گرفت.

ارزیابی فراسنجه‌های کمی و کیفی اسپرم

ارزیابی حجم و غلظت منی

بلافاصله پس از اسپرم‌گیری، حجم و غلظت منی اندازه‌گیری شد. به دلیل مدرج بودن لوله جمع‌آوری منی، حجم مایع منی به راحتی قابل اندازه‌گیری است، اما به منظور افزایش دقت تعیین حجم منی از سرنگ توبرکولین استفاده شد. در این مطالعه غلظت اسپرم در نمونه منی به روش استاندارد و با استفاده از لام هموسایتومتر اندازه‌گیری شد. به این صورت که نمونه منی به نسبت یک به ۲۰۰ با سرم فیزیولوژی رقیق شده و سپس توسط لام هموسایتومتر شمارش انجام شد.

ارزیابی فراسنجه‌های حرکتی اسپرم

برای بررسی فراسنجه‌های حرکتی اسپرم از نرم‌افزار کامپیوتری آنالیز اسپرم (CASA) استفاده شد. به این صورت که ۱۰ میکرو-لیتر منی رقیق شده (۱:۷) روی لام منتقل شد و یک لامل تمیز روی آن قرار گرفت. با استفاده از میکروسکوپ فازکنتراست با بزرگنمایی ۱۰۰ و رایانه مجهز به نرم افزار SCA فراسنجه‌های حرکتی اسپرم ارزیابی شد (تعداد ۳۰۰ اسپرم در هر نمونه).

فراسنجه‌های مورد ارزیابی در نرم‌افزار CASA شامل تحرک کل و تحرک پیش‌رونده بود (Reed و همکاران، ۲۰۰۹).

ارزیابی فعالیت غشای پلاسمایی اسپرم

در این مطالعه برای ارزیابی یکپارچگی غشاء از تست تورم هیپواسموتیک استفاده شد. آزمایش هاست بر اساس اسمولاریته محیطی که اسپرم در آن قرار می‌گیرد، عمل می‌کند. اسمولاریته محیط هاست ۱۰۰ میلی‌اسمول و اسمولاریته مورد نیاز برای اسپرم ۳۷۵-۳۲۰ میلی‌اسمول است. بنابراین اسپرم با قرار گرفتن در یک محیط با اسمولاریته پایین به‌سرعت واکنش می‌دهد و انتهای دم آن گره می‌خورد. بدیهی است که تنها اسپرم‌های با غشای سالم قادر هستند به این نوع تغییر واکنش نشان دهند و اسپرم‌های مرده که در این محیط قرار می‌گیرند، هیچ واکنشی نشان نمی‌دهند. در واقع پس از انجام این تست اسپرم‌های با دم گره‌خورده به‌عنوان اسپرم‌های زنده و اسپرم‌هایی که دم آن‌ها صاف است به‌عنوان اسپرم مرده تلقی می‌شوند. به این منظور ۳۰ میکرولیتر اسپرم رقیق‌شده با ۳۰۰ میکرولیتر محلول هاست مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰۰ ارزیابی شد. تعداد ۲۰۰ اسپرم شمارش شده و سپس درصد اسپرم‌های با غشا سالم و آسیب‌دیده محاسبه شد (Revell و Mrode، ۱۹۹۴).

ارزیابی زنده‌مانی اسپرم

به منظور ارزیابی زنده‌مانی اسپرم از رنگ‌آمیزی ائوزین-نیگروزین استفاده شد. در ابتدا ۱۰ میکرولیتر اسپرم را روی یک لام گرم و تمیز قرار داده سپس ۱۰ میکرولیتر رنگ ائوزین-نیگروزین بر روی آن ریخته و با هم مخلوط شد. سپس با قرار دادن لام دیگری بر روی نمونه گسترش تهیه شد. پس از خشک شدن لام، نمونه توسط میکروسکوپ نوری و با بزرگنمایی ۴۰۰ بررسی و تعداد ۲۰۰ اسپرم از هر نمونه شمارش شده و درصد اسپرم‌های رنگی (مرده) و رنگ نشده (زنده) محاسبه شد. ائوزین رنگی است که دارای بار منفی بوده و توسط بار منفی ناشی از اسیدسیالیک غشا پلاسمایی اسپرم زنده دفع می‌شود. بنابراین رنگ ائوزین توانایی عبور از غشا سالم را ندارد، اما با آسیب دیدن غشا این ویژگی از بین رفته و ائوزین می‌تواند از غشا پلاسمایی اسپرم عبور کرده و موجب رنگی شدن اسپرم شود (Salmani و همکاران، ۲۰۱۴).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

نتایج حاصل از مطالعه بررسی اثر تجویز خوراکی نانوذرات روی بر کیفیت و کمیت منی قوچ در قالب طرح کاملاً تصادفی با روش اندازه‌گیری‌های تکرارشونده در واحد زمان با استفاده از Proc GLM به‌وسیله نرم‌افزار آماری SAS ورژن ۹/۱ آنالیز شد و سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش دانکن انجام شد.

نتایج

نتایج اثرات مصرف خوراکی نانوذرات روی بر فراسنجه‌های کمی و کیفی منی قوچ در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که استفاده از نانوذرات روی در خوراک قوچ موجب بهبود فراسنجه‌های حرکتی اسپرم شد. درصد تحرک کل و تحرک پیش‌رونده گروه دریافت‌کننده ۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نانوذرات روی در مقایسه با گروه‌های شاهد و دریافت‌کننده ۳۵ میلی‌گرم/کیلوگرم نانوذرات روی به طور معنی‌داری بیش‌تر بود (P<۰/۰۵). همچنین، درصد اسپرم زنده در گروه دریافت‌کننده ۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نانوذرات روی به طور قابل توجهی بالاتر از گروه‌های شاهد و دریافت‌کننده ۳۵ میلی‌گرم/کیلوگرم نانوذرات روی بود (P<۰/۰۵).

پس از انجام آزمایش هاست، بیش‌ترین درصد اسپرم با غشای سالم در گروه دریافت‌کننده ۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نانوذرات روی مشاهده شد که نسبت به گروه شاهد و گروه دریافت‌کننده ۳۵ میلی‌گرم/کیلوگرم نانوذرات روی اختلاف آن معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). نتایج مربوط به غلظت اسپرم در منی نشان داد با افزایش سطح نانوذرات روی در خوراک مصرفی غلظت اسپرم نیز افزایش یافت، به طوری که بیش‌ترین مقدار اسپرم در گروه

دریافت‌کننده ۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نانوذرات روی مشاهده شد که اختلاف آن با دو گروه دیگر معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). اما در ارتباط با حجم منی اختلاف معنی‌داری بین دو سطح نانوذرات روی و گروه شاهد مشاهده نشد.

اثر زمان بر مصرف خوراکی نانوذرات روی در جدول ۴ گزارش شده است. میانگین فراسنجه‌های کمی و کیفی اسپرم در هفت زمان نمونه‌گیری به فاصله هر ۱۰ روز یک بار مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج نشان داد بین زمان‌های مختلف اسپرم‌گیری، اختلاف معنی‌داری وجود دارد، به طوری که با افزایش زمان مصرف خوراکی نانوذرات روی، فراسنجه‌های کیفی منی از جمله غلظت، تحرک کل و تحرک پیش‌رونده، سلامت غشاء و زنده-مانی اسپرم قوچ افزایش یافت (P<۰/۰۵).

بحث

پیشرفت سریع نانوفناوری و تنوع کاربردی آن موجب شده است که مواد با ابعاد نانو بیش از پیش مورد استفاده قرارگیرند. یکی از پرکاربردترین این مواد، نانوذرات روی است که در مطالعات جانوری توجه زیادی را به خود جلب کرده است (Dawei و همکاران، ۲۰۱۰). روی یک عنصر کم مصرف می‌باشد (Ebisch و همکاران، ۲۰۰۷) که به عنوان کوفاکتور بیش از ۳۰۰ متالوآنزیم شرکت‌کننده در متابولیسم پروتئین‌ها، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها، رونویسی DNA و سنتز پروتئین عمل می‌کند. این عنصر به عنوان آنتی‌اکسیدان با توان حفاظتی بالا شناخته شده است (Dani و Dhawan، ۲۰۰۵) که دارای نقش حیاتی در فرآیندهای تولید-مثل است (Nasr-Esfahani و همکاران، ۲۰۰۸). بر این اساس در این مطالعه اثرات مصرف خوراکی نانوذرات روی در دو سطح ۳۵ و ۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم بر ویژگی‌های کمی و کیفی قوچ نژاد زندی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که استفاده از نانوذرات روی موجب افزایش معنی‌داری در تمام فراسنجه‌های مورد ارزیابی در منی قوچ زندی شامل غلظت، فراسنجه‌های حرکتی، زنده‌مانی و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم شد که با مطالعات انجام شده در سایر گونه‌ها مطابقت دارد. در مطالعه Kumarو همکاران (۲۰۰۶) در رابطه با اسپرم گاو، با افزایش سطح عنصر روی خوراکی درصد تحرک، زنده‌مانی و سلامت غشای اسپرم نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت (Kumar و همکاران، ۲۰۰۶). همچنین، رحمان و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که استفاده از سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم سولفات روی در کیلوگرم جیره غذایی بز، درصد تحرک و زنده‌مانی اسپرم نسبت به گروه شاهد افزایش یافت (Rahman و همکاران، ۲۰۱۴). علاوه بر این Abaspour و همکاران (۲۰۱۸) با مطالعه اثر نانواکسید روی بر کیفیت و کمیت اسپرم قوچ عرب (Abaspour و همکاران، ۲۰۱۸)، نتایج مشابهی در توافق با یافته-های حاضر، کسب نمودند.

غلظت بالایی از روی در مایع منی وجود دارد که نقش مهمی در حذف آنیون سوپراکسید تولید شده در منی دارد که موجب بهبود زنده‌مانی، جلوگیری از تخریب اسپرم و ثبات غشای آن می‌شود (Lewis-Jones و همکاران، ۱۹۹۶). استانکوویچ و میکاس دویس در سال ۱۹۷۶ بیان کردند که مقدار غلظت روی در مایع منی مردان با تحرک اسپرم ارتباط دارد. تحرک اسپرم توسط برخی از کاتیون‌های دو ظرفیتی مانند کلسیم، منیزیم و روی تنظیم می‌شود (Stanković وMikac-Dević، ۱۹۷۶). Aghaei و همکاران (۲۰۱۰) ذکر کردند که بین میزان روی در پلاسمای منی و تحرک پیش‌رونده اسپرم خروس همبستگی مثبتی وجود دارد (Aghaei و همکاران، ۲۰۱۰). کاهش فسفوریلاسیون پروتئین‌های آکسونم یکی از عوامل کاهش تحرک اسپرم است و رادیکال آزاد با مهار فعالیت آنزیم‌های موثر در فرآیندهای فسفوریلاسیون، تحرک اسپرم را دچار اختلال می‌کند، بنابراین استفاده از آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند روی با مهار تنش اکسیداتیو از کاهش تحرک اسپرم جلوگیری می‌کنند (Baumber و همکاران، ۲۰۰۰). به نظر می‌رسد عنصر روی در تثبیت غشای پلاسمایی اسپرم نقش حیاتی بازی می‌کند (Ali و همکاران، ۲۰۰۷). روی به وسیله جایگزین کردن آهن (III) با آهن (II) مانع از ورود آهن به چرخه تولید رادیکال آزاد توسط واکنش فنتون می‌شود و در نتیجه موجب حفظ ساختار لیپیدی غشاء در

اثر پراکسیداسیون لیپید می‌شود (Rao و Sresty، ۲۰۰۰).

در این پژوهش نتایج نشان داد که استفاده از نانوذرات روی موجب افزایش غلظت اسپرم در منی شده است که با یافته‌های Kendall و همکاران (۲۰۰۰) و Abaspour و همکاران (۲۰۱۸) در قوچ و Wong و همکاران (۲۰۰۲) در انسان مطابقت دارد. تولید اسپرم مستلزم تقسیم سلولی گسترده است. روی با تأثیر بر تقسیمات سلولی میوز و میتوز، سنتز DNA و همچنین افزایش فعالیتDNA پلیمراز و RNA پلیمراز، در تقسیمات سلولی دارای نقشی حیاتی است. روی در تثبیت ساختار کروماتین هسته اسپرم نیز نقش مهمی ایفا می‌کند (Goodarzi و همکاران، ۲۰۱۷). فعالیت و خواص آنزیم‌های DNA پلیمراز و RNA پلیمراز بر عملکرد و تخریب DNA اسپرم مهم هستند و روی به عنوان یک کوفاکتور در این آنزیم‌ها نقش اساسی در فرآیند رشد سلولی دارد (Root و همکاران، ۱۹۷۹). علاوه براین عنصر روی در کدگذاری فاکتورهای رونویسی اسپرماتوژنز نقش دارد (Bedwal و Bahuguna، ۱۹۹۴). همچنین، روی در فعال شدن و حفظ اپیتلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز و ترشح تستوسترون نقش مهمی دارد که عامل مهمی در شاهد روند اسپرماتوژنز محسوب می‌شود (Wong و همکاران، ۲۰۰۲). علاوه بر این، مهم‌ترین آنزیم‌های درگیر در فرآیندهای اسپرماتوژنز، سوربیتول‌دهیدروژناز و لاکتات‌دهیدروژناز هستند که عنصر روی به عنوان کوفاکتور این آنزیم‌ها عمل می‌کند (Eggert-Kruse و همکاران، ۲۰۰۲). بنابراین اثر مثبت نانوذرات روی بر افزایش غلظت اسپرم را می‌توان به نقش این عنصر در فرآیند اسپرماتوژنز نسبت داد. نتایج مربوط به حجم منی نشان داد با مصرف نانوذرات روی در خوراک مصرفی اختلاف معنی‌داری بین دو سطح ۳۵ و ۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نانوذرات روی و گروه شاهد مشاهده نشد. این نتایج با یافته‌های حاصل از سایر تحقیقات در گوسفند (Abaspour و همکاران، ۲۰۱۸)، بز (Ibrahim و Yousri ، ۱۹۹۲) و خرگوش (Moce و همکاران، ۲۰۰۰) مطابقت ندارد. این اختلاف نظر را می‌توان به عوامل محیطی و سایر فراسنجه‌های تغذیه‌ای مؤثر در ترشحات غدد تناسلی ضمیمه نسبت داد.

جدول ۳- میانگین فراسنجه‌های کمی و کیفی اسپرم قوچ در کل دوره آزمایش

فراسنجه	گروه‌های آزمایشی			SEM
	۱	۲	۳	
حجم اسپرم (میلی‌لیتر)	۱/۱۸	۱/۱۳	۱/۱۸	۰/۲۸
غلظت (× ۱۰^{۶})	۳/۶۸^{c}	۳/۷۹^{b}	۳/۸۸^{a}	۰/۰۲
جنبایی کل (درصد)	۸۲/۲۵^{c}	۸۳/۷۴^{b}	۸۶/۳۱^{a}	۰/۲۶
جنبایی پیش‌رونده (درصد)	۷۷/۸۸^{c}	۷۸/۷۱^{b}	۸۰/۷۴^{a}	۰/۱۹
اسپرم زنده (درصد)	۵۱/۶۰^{c}	۵۳/۲۸^{b}	۵۴/۵۱^{a}	۰/۲۳
سلامت غشاء (درصد)	۸۱/۰۸^{c}	۸۲/۵۷^{b}	۸۵/۲۰^{a}	۰/۲۰

حروف غیر مشترک در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار میان تیمارها است ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، استفاده از نانوذرات روی به صورت خوراکی در جیره قوچ نژاد زندی می‌تواند موجب بهبود فراسنجه‌های کیفی منی شود. نانوذرات روی به مقدار ۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم اثر مثبت بالایی نشان داد، به طوری که بیش-ترین میزان تحرک کل، تحرک پیش‌رونده، سلامت غشای پلاسمایی و غلظت اسپرم در این تیمار مشاهده شد. بنابراین می‌توان مصرف خوراکی نانوذرات روی را به عنوان روشی مناسب جهت بهبود عملکرد تولیدمثلی قوچ معرفی نمود، اما این اثر وابسته به زمان است و در طولانی‌مدت اثرات مثبت خود را نشان می‌دهد.

جدول ٤. میانگین ویژگی‌های کمی و کیفی اسپرم در هفت زمان نمونه‌گیری

فراسنجه	دوره							SEM
	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	
حجم اسپرم (میلی‌لیتر)	۱/۰۷^{b}	۱/۰۸^{b}	۱/۱۲^{b}	۱/۱۰^{b}	۱/۱۵^{b}	۱/۲۶^{a}	۱/۳۲^{a}	۰/۰۴
غلظت (× ۱۰^{۶})	۳/۶۶^{b}	۳/۶۸^{b}	۳/۶۹^{b}	۳/۷۶^{b}	۳/۸۰^{ab}	۳/۸۵^{a}	۳/۸۴^{a}	۰/۰۳
حرکت کل (درصد)	۸۳/۰۶^{c}	۸۳/۴۶^{c}	۸۳/۷۳^{bc}	۸۴/۳۳^{b}	۸۴/۴۶^{ab}	۸۴/۴۰^{ab}	۸۵/۲۶^{a}	۰/۳۹
حرکت پیش‌رونده (درصد)	۷۷/۵۰^{c}	۷۷/۷۳^{c}	۷۷/۸۶^{c}	۷۸/۴۶^{b}	۷۸/۴۰^{b}	۸۰/۴۰^{a}	۸۰/۷۳^{a}	۰/۳۰
اسپرم زنده (درصد)	۵۱/۸۰^{d}	۵۲/۰۶^{d}	۵۲/۰۶^{d}	۵۲/۲۶^{d}	۵۳/۲۶^{c}	۵۴/۷۳^{b}	۵۵/۷۳^{a}	۰/۳۵
سلامت غشا (درصد)	۸۱/۸۰^{c}	۸۱/۸۰^{c}	۸۲/۴۶^{c}	۸۳/۲۶^{b}	۸۳/۵۳^{b}	۸۴/۲۶^{a}	۸۴/۵۳^{a}	۰/۳۱

حروف غیر مشترک در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار میان تیمارها است (**P**<۰/۰۵).

منابع

Abaspour Aporvari, H., Mamoei, M., Tabatabaei Vakili, S., Zareei, M., & Dadashpour Davachi, N. (2018). The effect of oral administration of zinc oxide nanoparticles on quantitative and qualitative properties of Arabic ram sperm and some antioxidant parameters of seminal plasma in the non-breeding season. *Archives of Razi Institute*. 73 (2), 121-129. doi: 10.22092/ARI.2018.120225.1187

Aghaei, A., Tabatabaei, S., & Nazari, M. (2010). The correlation between mineral concentration of seminal plasma and spermatozoa motility in rooster. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(10), 1476-1478. doi: 10.3923/javaa.2010.1476.1478

Aksoy, Y., Aksoy, H., Altınkaynak, K., Aydın, H. R., & Özkan, A. (2006). Sperm fatty acid composition in subfertile men. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential fatty acids*, 75(2), 75-79. doi: 10.1016/j.plefa.2006.06.002

Al-Anazi, Y., Al-Mutary, M. G., Alfuraiji, M. M., Al-himaidi, A. R., Al-Ghadi, M., & Ammari, A. (2017). Seasonal variations in scrotal circumference and semen characteristics of Naimi and Najdi rams in Saudi Arabia. *South African Journal of Animal Science*, 47(4), 454-459. doi: 10.4314/sajas.v47i4.4

Ali, H., Ahmed, M., Baig, M., & Ali, M. (2007). Relationship of zinc concentrations in blood and seminal plasma with various semen parameters in infertile subjects. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 23(1), 111.

Aslani, B. A., & Ghobadi, S. (2016). Studies on oxidants and antioxidants with a brief glance at their relevance to the immune system. *Life sciences*, 146, 163-173. doi.org/10.1016/j.lfs.2016.01.014

Baumber, J., Ball, B. A., Gravance, C. G., Medina, V., & Davies-morel, M. C. (2000). The effect of reactive oxygen species on equine sperm motility, viability, acrosomal integrity, mitochondrial membrane potential, and membrane lipid

peroxidation. *Journal of andrology*, 21(6), 895-902. doi: 10.1002/j.1939-4640.2000.tb03420.x

Bedwal, R. S., & Bahuguna, A. (1994). Zinc, copper and selenium in reproduction. *Experientia*, 50, 626-640. doi: 10.1007/BF01952862.

Bucak, M. N., Ataman, M. B., Başpınar, N., Uysal, O., Taşpınar, M., Bilgili, A., & Akal, E. (2015). Lycopene and resveratrol improve post-thaw bull sperm parameters: sperm motility, mitochondrial activity and DNA integrity. *Andrologia*, 47(5), 545-552. doi: 10.1111/and.12301.

Byar, D. P. (1974). Zinc in male sex accessory organs: distribution and hormonal response. *Male accessory sex organs* (pp. 161-171) Academic Press

Chia, S. E., Ong, C. N., Chua, L. H., Ho, L. M., & Tay, S. K. (2000). Comparison of zinc concentrations in blood and seminal plasma and the various sperm parameters between fertile and infertile men. *Journal of andrology*, 21(1), 53-57. doi: 10.1002/J.1939-4640.2000.TB03275.X

Dani, V., & Dhawan, D. K. (2005). Radioprotective role of zinc following single dose radioiodine exposure to red blood cells of rats. *Indian Journal of Medical Research*, 122(4), 338.

Dawei, A. I., Zhisheng, W., & Anguo, Z. (2010). Protective effects of Nano-ZnO on the primary culture mice intestinal epithelial cells in in vitro against oxidative injury. *World Journal of Agricultural Sciences*, 6(2), 149-153.

Dissanayake, D. M. A. B., Wijesinghe, P. S., Ratnasooriya, W. D., Wimalasena, S., & Palihawadana, T. S. (2006). Effects of different Zinc levels in the sperm culture medium on sperm recovery and quality of sperms in the swim up procedure for sperm processing. *Ceylon Journal of Medical Science*. 49: 21-27. doi: 10.4038/cjms.v49i1.126

Ebisch, I. M. W., Thomas, C. M. G., Peters, W. H. M., Braat, D. D. M., & Steegers-Theunissen, R. P. M. (2007). The importance of folate, zinc and antioxidants in the pathogenesis and prevention of subfertility. *Human reproduction update*, 13(2), 163-174. doi: 10.1093/humupd/dml054.

Eggert-Kruse, W., Zwick, E. M., Batschulat, K., Rohr, G., Armbruster, F. P., Petzoldt, D., & Strowitzki, T. (2002). Are zinc levels in seminal plasma associated with seminal leukocytes and other determinants of semen quality?. *Fertility and sterility*, 77(2), 260-269. doi: 10.1016/s0015-0282(01)02974-0.

Goodarzi, N., Soroor, M. N., Rahimi-Feyli, P., & Kazemi, S. (2018). Testicular stereology of lambs supplemented with organic and inorganic zinc. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*. 1311-1477. doi: 10.15547/bjvm.1070

Hozyen, H. F., Ahmed, H. H., Essawy, G. E. S., & Shalaby, S. I. A. (2014). Seasonal changes in some oxidant and antioxidant parameters during folliculogenesis in Egyptian buffalo. *Animal reproduction science*, 151(3-4), 131-136. doi: 10.1016/j.anireprosci.2014.10.005.

Ibrahim, S. A., & Yousri, R. M. (1992). The effect of dietary zinc, season and breed on semen quality and body weight in goats. *International Journal of Animal Sciences*, 7 (1), 5-12.

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

Kendall, N. R., McMullen, S., Green, A., & Rodway, R. G. (2000). The effect of a zinc, cobalt and selenium soluble glass bolus on trace element status and semen quality of ram lambs. *Animal reproduction science*, 62(4), 277-283. doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00120-2

Kumar, N., Verma, R. P., Singh, L. P., Varshney, V. P., & Dass, R. S. (2006). Effect of different levels and sources of zinc supplementation on quantitative and qualitative semen attributes and serum testosterone level in crossbred cattle (Bos indicus $\bf\times $ Bos taurus) bulls. *Reproduction Nutrition Development*, 46(6), 663-675. doi: 10.1051/rnd:2006041.

Kumar, H., Bhardwaj, K., Nepovimova, E., Kuča, K., Singh Dhanjal, D., Bhardwaj, S., & Kumar, D. (2020). Antioxidant functionalized nanoparticles: A combat against oxidative stress. *Nanomaterials*, 10(7), 1334. doi: 10.3390/nano10071334

Lewis-Jones, D. I., Aird, I. A., Biljan, M. M., & Kingsland, C. R. (1996). Andrology: Effects of sperm activity on zinc and fructose concentrations in seminal plasma. *Human reproduction*, 11(11), 2465-2467. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a019138.

Moce, E., Arouca, M., Lavara, R., & Pascual, J. J. (2000, July). Effect of dietary zinc and vitamin supplementation on semen characteristics of high growth rate males during summer season. *In Proceedings of the 7th World Rabbit Congress* (pp. 203-209).

Nasr-Esfahani MH, Tavalaee M, Deemeh M. (2008). Origins and Evaluation of DNA Damage in Infertile Individual. *Journal of Iranian Anatomical Sciences* 6:489-500

Ogbuewu, I. P., Aladi, N. O., Etuk, I. F., Opara, M. N., Uchegbu, M. C., Okoli, I. C., & Iloeje, M. U. (2010). Relevance of oxygen free radicals and antioxidants in sperm. *Res. J. Vet. Sci*, 3, 138-164. doi: 10.3923/rjvs.2010.138.164

Rahman, H. U., Qureshi, M. S., & Khan, R. U. (2014). Influence of dietary zinc on semen traits and seminal plasma antioxidant enzymes and trace minerals of b eetal bucks. *Reproduction in Domestic Animals*, 49(6), 1004-1007. doi: 10.1111/rda.12422. Epub 2014 Sep 26.

Rao, K. M., & Sresty, T. V. S. (2000). Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (Cajanus cajan (L.) Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses. *Plant science*, 157(1), 113-128. doi: 10.1016/s0168-9452(00)00273-9.

Reed, M. L., Ezeh, P. C., Hamic, A., Thompson, D. J., & Caperton, C. L. (2009). Soy lecithin replaces egg yolk for cryopreservation of human sperm without adversely affecting postthaw motility, morphology, sperm DNA integrity, or sperm binding to hyaluronate. *Fertility and sterility*, 92(5), 1787-1790. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.05.026.

Revell, S. G., & Mrode, R. A. (1994). An osmotic resistance test for bovine semen. *Animal Reproduction Science*, 36(1-2), 77-86. doi.org/10.1016/0378-4320(94)90055-8

Root, A. W., Duckett, G., Sweetland, M., & Reiter, E. O. (1979). Effects of zinc deficiency upon pituitary function in sexually mature and immature male rats. *The Journal of nutrition*, 109(6), 958-964. doi: 10.1093/jn/109.6.958.

Saleh, R. A., & Agarwal. A. (2002). Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. *Journal of Andrology*, 23(6), 737-752. doi: 10.4236/oju.2019.91001

Salmani, H., Towhidi, A., Zhandi, M., Bahreini, M., & Sharafi, M. (2014). In vitro assessment of soybean lecithin and egg yolk based diluents for cryopreservation of goat semen. *Cryobiology*, 68(2), 276-280. doi: 10.1016/j.cryobiol.2014.02.008.

Singh, R., & Lillard Jr, J. W. (2009). Nanoparticle-based targeted drug delivery. *Experimental and molecular pathology*, 86(3), 215-223. doi: 10.1016/j.yexmp.2008.12.004.

Stanković, H., & Mikac-Dević, D. (1976). Zinc and copper in human semen. *Clinica Chimica Acta*, 70(1), 123-126. doi: 10.1016/0009-8981(76)90013-9.

Tan, Y. H., Tischfield, J., & Ruddle, F. H. (1973). The linkage of genes for the human interferon-induced antiviral protein and indophenol oxidase-B traits to chromosome G-21. *The Journal of Experimental Medicine*, 137(2), 317-330. doi: 10.1084/jem.137.2.317

Underwood, E. J., & Somers, M. (1969). Studies of zinc nutrition in sheep. I. The relation of zinc to growth, testicular development, and spermatogenesis in young rams. *Australian Journal of Agricultural Research*, 20(5), 889-897. doi.org/10.1071/AR9690889

Wang, X., Wang, W., Li, L., Perry, G., Lee, H. G., & Zhu, X. (2014). Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1842(8), 1240-1247. doi: 10.1016/j.bbadis.2013.10.015. Epub 2013 Nov 1.

Wong, W. Y., Merkus, H. M., Thomas, C. M., Menkveld, R., Zielhuis, G. A., & Steegers-Theunissen, R. P. (2002). Effects of folic acid and zinc sulfate on male factor subfertility: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Fertility and sterility*, 77(3), 491-498. doi: 10.1016/s0015-0282(01)03229-0.

Zaniboni, L., Rizzi, R., & Cerolini, S. (2006). Combined effect of DHA and α-tocopherol enrichment on sperm quality and fertility in the turkey. *Theriogenology*, 65(9), 1813-1827. doi: 10.1016/j.theriogenology.2005.10.013.

Zhang, L., Wang, Y. X., Xiao, X., Wang, J. S., Wang, Q., Li, K. X., & Zhan, X. A. (2017). Effects of zinc glycinate on productive and reproductive performance, zinc concentration and antioxidant status in broiler breeders. *Biological Trace Element Research*, 178, 320-326. doi: 10.1007/s12011-016-0928-4.