

مقایسه انجماد پذیری اسپرم گاو هلشتاین و براون سوئیس با استفاده از دو نوع رقیق کننده بایوکسل و آندرومد عاری از زرده تخم مرغ

امیر حسین نصیری^{۱*} و آرمین توحیدی^۲

تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۵

تاریخ دریافت: ۹۰/۷/۵

^۱ فارغ التحصیل کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

^۲ دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه تهران

*مسئول مکاتبه: Email: ah.nasiri@yahoo.com

چکیده

هدف از این پژوهش، مطالعه اثر دو نوع رقیق کننده منی عاری از زرده تخم مرغ تجاری بایوکسل و آندرومد، بر ویژگی های برون تنی اسپرم بعد از انجماد در گاوهای نژاد هلشتاین و براون سوئیس بود. اسپرم گیری از هشت رأس گاو بالغ نژاد هلشتاین و براون سوئیس (هر کدام چهار رأس) در مرکز آزمون نتاج گاوهای شیری کشور با استفاده از مهبل مصنوعی صورت گرفت. نمونه های اسپرم در طی چهار هفته از دو انزال در هر گاو جمع آوری و با هم مخلوط شدند. سپس کلیه نمونه ها در دو گروه جداگانه به دو نوع رقیق کننده فوق اختصاص داده شدند. فرآیند همزمان انجماد سازی با استفاده از دستگاه های نیمه خودکار IMV انجام می شد. نمونه های اسپرم قبل و بعد از انجماد از لحاظ درصد جنبائی، تحرک پیش رونده و درصد زنده مانی بررسی شدند. اثر نژاد، رقیق کننده و بر هم کنش بین آنها بر درصد جنبائی، تحرک پیش رونده و درصد زنده مانی بعد از انجماد معنی دار بود ($P < 0.01$). به طوری که میانگین درصد این فراسنجه ها در رقیق کننده بایوکسل پس از مراحل انجماد و ذوب در مقایسه با رقیق کننده آندرومد در هر دو نژاد بیشتر بود. این آزمایش نشان داد رقیق کننده بایوکسل در مقایسه با رقیق کننده آندرومد در حفظ کیفیت اسپرم در طی فرآیند انجماد و ذوب شایستگی بیشتری دارد.

واژگان کلیدی: انجماد پذیری اسپرم، رقیق کننده منی، گاو براون سوئیس، گاو هلشتاین

The comparison of Iranian Holstein and Brown Swiss bull sperm freezing ability using two commercial extender Bioxcell and Andromeda

A H Nasiri¹ and A Towhidi²

Received: September 27, 2011 Accepted: April 24, 2012

¹MSc Student, Department of Animal science, Faculty of Agronomy and Animal Science, College of Agriculture and Natural resources University of Tehran

²Associate professor, Department of Animal Science, Faculty of Agronomy and Animal Science, College of Agriculture and Natural resources, University of Tehran, Iran

*Corresponding author: E mail:ah.nasiri@yahoo.com

Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of two commercial extenders without egg yolk: Bioxcell and Andromeda on freezing ability in Iranian Holstein's and Brown Swiss's bull. Semen was collected from 8 bulls (4 Holstein, 4 Brown Swiss) in Iranian Progeny Test Center using artificial vagina. Semen were mixed (2 ejaculated / bull / week for 4 weeks) and allocated to the extenders in two equal sections. Freezing was conducted using IMV semi-automatic equipments. The percentage of motility (MO), progressive motility (PPM) and viability (VI) of these samples were evaluated before freezing and after thawing by standard method. The effect of extender, breed and interaction between them on the MO, PPM and VI after thawing was significant. Mean MO, PPM and VI were high ($P < 0.01$) in Bioxcell than Andromeda in per two breeds. The highest mean motility, progressive motility, viability was observed in the treatment Bioxcell in Holstein breed. Results showed Bioxcell extender in comparison with Andromeda extender had more ability to maintain sperm quality during freezing procedure.

Key words: Brown Swiss, Extender, Holstein, Semen freezing ability

مقدمه

آسیب رساندن به سلول اسپرم و همچنین کاهش تنش های ناشی از تغییرات سلولی می باشد، واضح است (براگا و همکاران ۲۰۰۶). اسپرم در منی رقیق نشده، برای زمان کوتاهی زنده می ماند و سرد کردن آهسته منی تا دمای ۵ درجه سانتیگراد سبب مرگ بسیاری از اسپرم ها می شود. بنابر این، مایع رقیق کننده، فزون بر این که باید برای رقیق کردن مناسب باشد، لازم است که اسپرم ها را در خلال سرد شدن حفظ کند و دوره زنده مانی آن ها را افزایش دهد. این امر نه تنها وابسته به روش انجماد است، بلکه اجزای رقیق کننده نیز تأثیر مهمی در این خصوص دارند. از طرفی بیشتر رقیق کننده هائی که طی دهه های گذشته برای انجماد منی گاو استفاده شده است، بر پایه زرده تخم مرغ و یا شیر بوده است. استفاده از رقیق کننده های بر پایه زرده

انجماد منی یک، فناوری مهم جهت حفظ و نگهداری ذخایر ژنتیکی می باشد. اسپرم های منجمد شده جهت تلقیح مصنوعی بایستی از کیفیت لازم جهت تلقیح مصنوعی برخوردار باشند. بنابراین فرآیند انجماد اسپرم فناوری دقیق و ماهرانه ای است که طی چند دهه اخیر در جهت بهبود آن فعالیت های عمده ای صورت گرفته است، اما کماکان میزان بازیافت اسپرم پس از انجماد کافی نیست و بایستی بهبود یابد. دامنه قابلیت انجماد در بین حیوانات مختلف و حتی در بین گونه های مختلف حیوانی نیز متفاوت است. مهمترین مزیت فرآیند انجماد جلوگیری از کاهش قدرت زنده مانی اسپرم در طی یک دوره زمانی طولانی مدت می باشد. اهمیت فرآیند انجماد اسپرم به عنوان فرآیندی که مانع از

تخم مرغ، خطر آلودگی میکروبی را افزایش می دهد. همین مسأله، انگیزه انجام پژوهش های بیشتر برای تولید رقیق کننده های عاری از زرده تخم مرغ از جمله بایوکسل و آندرومد بوده است. این دو رقیق کننده دارای ویژگیهای خاص نسبت به زرده تخم مرغ هستند که عبارت از عاری بودن از مواد حیوانی که می تواند منبع آلودگی باشد، قابل استفاده بودن برای رقیق سازی اسپرم اکثر حیوانات نشخوار کننده و قابلیت دسترس همیشگی، نرخ باروری نسبتاً بالا، آماده سازی و ذخیره سازی مناسب، عاری بودن از هر گونه هورمون، باکتری و داروهای مختلف، مناسب برای ذخیره سازی اسپرم در دمای +۵ و +۱۰ درجه سانتی گراد می باشد. این رقیق کننده ها دارای ترکیب چربی های با منشأ گیاهی، فسفولیپید ها، اسید سیتریک، شکر، آنتی اکسیدانها، بافرها و گلیسرول می باشند (موسا و همکاران ۲۰۰۲).

جنت و همکاران در ۲۰۰۵ اثر سه نوع رقیق کننده مختلف (تری لادیل، بایوکسل، آندرومد) بر فراسنجه های کیفی اسپرم بعد از انجماد در گاو نژاد هلشتاین و براون سوئیس (۱۱ گاو نر از هر نژاد) را مورد بررسی قرار دادند. در این آزمایش کیفیت منی (تحرك پیش رونده و زنده مانی) در رقیق کننده بایوکسل پس از انجماد و ذوب به طور معنی داری ($P < 0.05$) بالاتر از رقیق کننده آندرومد و تری لادیل (حاوی زرده تخم مرغ) بود (جانن و همکاران ۲۰۰۵a). اوگوز و همکاران در ۲۰۰۹، اثر دو نوع رقیق کننده متفاوت (بایوکسل: رقیق کننده عاری از زرده تخم مرغ و تری لادیل: رقیق کننده بر پایه زرده تخم مرغ) بر خصوصیات اسپرم گاو هلشتاین را بعد از انجماد مورد بررسی قرار دادند.

در این آزمایش اثر رقیق کننده بایوکسل بر انعطاف پذیری غشاء (افزایش مقاومت غشای سلول اسپرم در برابر آسیب های پراکسیداتیو ناشی از رادی کال های آزاد و افزایش قدرت غشای اسپرم در برابر خطرات ناشی از فرآیند رقیق سازی و انجماد و در نتیجه

افزایش خصوصیات کمی و کیفی قبل و بعد از انجماد)^۱، زنده مانی، تحرك پیش رونده و درصد DNA به طور معنی داری بالاتر از رقیق کننده دیگر بود ($P < 0.05$) (اوگاز و همکاران ۲۰۰۹). در پژوهشی توسط تارک و همکاران در گاوهای گوشتی اثر سه نوع رقیق کننده مختلف (بایوکسل، آندرومد و زرده تخم مرغ) بر خصوصیات کمی و کیفی اسپرم مورد مطالعه قرار گرفت. در این پژوهش، اثر رقیق کننده بایوکسل بر درصد تحرك پیش رونده و درصد زنده مانی به طور معنی داری بهتر از دو نوع رقیق کننده دیگر بود (تارک و همکاران ۲۰۰۸). گیل در ۲۰۰۱، نتایج باروری در میش ها با استفاده از اسپرم های منجمد شده با رقیق کننده بایوکسل در مقایسه با اسپرم های منجمد شده با رقیق کننده بر پایه زرده تخم مرغ مورد مطالعه قرار گرفت. نرخ باروری در دو گروه تفاوت معنی داری نداشت، بنابراین به نظر می رسد که رقیق کننده بایوکسل دارای نتایج مشابهی از لحاظ نرخ باروری با رقیق کننده بر پایه زرده تخم مرغ در گوسفند است (گیل ۲۰۰۱).

در مورد مشابه دیگر یوتاكا و همکاران در ۲۰۰۷، نرخ باروری اسپرم های منجمد شده با رقیق کننده آندرومد را با اسپرم های منجمد شده با رقیق کننده زرده تخم مرغ مورد مقایسه قرار دادند. نرخ آبستنی در هر دو گروه تفاوت معنی داری نشان نداد. نرخ بره زائی برای رقیق کننده آندرومد ۵۶/۷٪ و برای گروه زرده تخم مرغ ۶۴/۵٪ بود که تفاوت معنی داری نداشت. نتایج این آزمایش نشان داد که رقیق کننده زرده تخم مرغ می تواند به وسیله رقیق کننده های دیگر مانند آندرومد جایگزین گردد (به دلیل تجاری و در دسترس بودن رقیق کننده آندرومد)، بدون اینکه باعث کاهش باروری در اسپرم های منجمد شده شود (یوتاكا و همکاران ۲۰۰۷). گیل لورریو و همکاران، اثر رقیق کننده بایوکسل دارای ۶/۴٪ گلیسرول و رقیق کننده بایوکسل دارای

¹ Flexibility

۳/۲٪ گلیسرول بر خصوصیات کمی و کیفی اسپرم در قوچ را مورد بررسی قرار دادند. در آن پژوهش رقیق کننده بایوکسل با درصد گلیسرول بالا (۶/۴٪) به طور معنی داری نتایج بهتری در بر داشت ($P < 0/001$) (گیل لورریو و همکاران ۲۰۰۳). شرفی و همکاران گزارش کردند که اثر رقیق کننده بایوکسل نسبت به رقیق کننده بر پایه لسیتین سویا (بدون زرده تخم مرغ) تفاوت معنی داری در فراسنجه های تحرک، زنده مانی و ظرفیت پذیری اسپرم در منی قوچ ایجاد نکرد. بنابراین، به نظر می رسد این دو نوع رقیق کننده دارای توانایی یکسانی در حفظ کیفیت اسپرم در طی مراحل انجماد می باشند (شرفی و همکاران ۲۰۰۹). جانت و همکاران در ۲۰۰۵b گزارش کردند که در بز نر درصد جنبائی در اسپرم های منجمد شده با رقیق کننده آندروم و زرده تخم مرغ در مقایسه با اسپرم های منجمد شده با رقیق کننده بایوکسل تفاوت معنی داری نشان داد (۶۷/۷٪ در مقابل ۶۱/۹٪) ($P < 0/001$). آنها همچنین گزارش کردند که درصد تحرک پیش رونده در گروه رقیق کننده آندروم نسبت به گروه دوم تفاوت معنی داری ندارد (۳۳/۱٪ در مقابل ۳۱٪). درصد زنده مانی در هر دو گروه نیز تفاوت معنی داری را نشان نداد (۷۲/۶٪ در مقابل ۷۱/۸٪) ($P < 0/001$) (جانت و همکاران ۲۰۰۵b). هدف از مطالعه حاضر مقایسه توان دو رقیق کننده تجاری عاری از زرده تخم مرغ بایوکسل و آندروم در حفاظت اسپرم گاوهای هلشتاین ایرانی و براون سوئیس در عمل انجماد بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مرکز آزمون نتاج گاوهای شیری کشور و گروه علوم دامی دانشگاه تهران واقع در شهرستان کرج اجرا گردید. تمام مراحل آزمایش توسط یک نفر انجام شد. رقیق کننده های مورد استفاده در این آزمایش رقیق کننده بایوکسل (شرکت IMV ساخت کشور فرانسه) و رقیق کننده آندروم (شرکت

MINITAB، ساخت کشور آلمان) بود. این مطالعه در دو آزمایش جداگانه در دو نژاد گاو هلشتاین (چهار رأس) و براون سوئیس (چهار رأس) انجام شد. اسپرم گیری در فواصل زمانی معین با استفاده از مهبل مصنوعی انجام گرفت. نمونه گیری در ۴ هفته انجام شده و در هر بار نمونه گیری دو انزال گاو با هم مخلوط می شدند. نمونه‌ها به سرعت به داخل حمام بن ماری با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند و درصد تحرک منی خام تعیین گردید. اسپرم های با درصد تحرک پیش رونده با میزان حداقل ۶۵-۶۰ درصد برای مراحل بعدی انتخاب شدند. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از نمونه منی به هر کدام از لوله‌های آزمایشی حاوی ۰/۵ میلی‌لیتر از گروه رقیق کننده های فوق اختصاص داده شدند (از هر گاو ۱۰ میلی لیتر نمونه در ۲۰ پایت ۰/۵ میلی لیتری=۲۰ پایت از هر تیمار) (نسبت ۱:۱ بر اساس دستور العمل شرکت سازنده و روش مورد استفاده در مقالات علمی مشابه) و خصوصیات کیفی اسپرم در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد از قبیل درصد اسپرم‌های جنبا، درصد اسپرم‌های با تحرک پیش‌رونده، درصد اسپرم‌های مرده و زنده تعیین شد. از هر کدام از نمونه های آزمایشی حداقل ۲۰ پایت نیم میلی لیتری تهیه شد (۱۰ میلی لیتر از هر نمونه در ۱۰ تکرار و پایت های ۰/۵ میلی لیتری) و پایت‌ها به مدت ۳ تا ۴ ساعت در یخچال با دمای ۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. فرآیند همزمان انجماد سازی با استفاده از دستگاه های نیمه خودکار IMV انجام می شد. ۲۴ ساعت پس از انجماد، پایت‌های منجمد در آب ۳۷ درجه به مدت ۳۰ تا ۶۰ ثانیه قرار گرفته (مدت زمان لازم برای ذوب کردن محتویات هر پایت) و محتوای آن‌ها روی لام تخلیه شد (برآگا و همکاران ۲۰۰۶). خصوصیات کیفی اسپرم مطابق با مرحله پیش از انجماد تعیین شد. جهت تعیین جنبائی اسپرم از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰ استفاده شد (روش چشمی: براساس تجربه از روی میدان‌های مشاهده شده با توجه به حرکت مستقیم اسپرم در هر

نتایج و بحث

اثر نژاد، رقیق کننده و بر هم کنش بین آنها بر درصد جنبائی، تحرک پیش رونده و زنده مانی معنی دار بود ($P < 0.01$) (جدول ۱).

میانگین درصد جنبائی (تحرک) در نژاد هلشتاین ($47/03 \pm 0/15$) نسبت به نژاد براون سوئیس ($42/00 \pm 0/15$) به طور معنی داری بالاتر بود ($P < 0.01$). در گروه دریافت کننده رقیق کننده بایوکسل ($45/63 \pm 0/13$) نسبت به رقیق کننده آندرومد ($40/9 \pm 0/13$) افزایش معنی داری در میانگین درصد جنبائی مشاهده شد ($P < 0.01$).

میانگین درصد تحرک پیش رونده در نژاد هلشتاین ($41/60 \pm 0/15$) نسبت به نژاد براون سوئیس ($36/30 \pm 0/15$) به طور معنی داری بالاتر بود ($P < 0.01$). در ضمن، در گروه دریافت کننده رقیق کننده بایوکسل ($40/63 \pm 0/13$) نسبت به رقیق کننده آندرومد ($35/00 \pm 0/13$) افزایش معنی داری در میانگین درصد جنبائی مشاهده شد ($P < 0.01$).

میانگین درصد زنده مانی در نژاد هلشتاین ($53/00 \pm 0/15$) نسبت به نژاد براون سوئیس ($48/33 \pm 0/15$) به طور معنی داری بالاتر بود ($P < 0.01$). همچنین، در گروه دریافت کننده رقیق کننده بایوکسل ($51/20 \pm 0/13$) نسبت به رقیق کننده آندرومد ($46/24 \pm 0/13$) افزایش معنی داری در میانگین درصد جنبائی مشاهده شد ($P < 0.01$). این آزمایش نشان داد که نژاد بر کیفیت اسپرم پس از انجماد اثر معنی دار داشته است، به طوری که میانگین خصوصیات کیفی اسپرم پس از انجماد-ذوب در نژاد هلشتاین نسبت به نژاد براون سوئیس بالاتر بود. از طرفی در هر دو نژاد، رقیق کننده بایوکسل دارای توانائی بیشتری در حفظ کیفیت اسپرم در طی مراحل انجماد و ذوب در مقایسه با رقیق کننده آندرومد بود.

میدان دید). حداقل ۱۰ میدان میکروسکوپی برای تخمین صحیحی از درصد جنبائی، مورد مشاهده و بررسی قرار گرفت. تخمین درصد سلول‌های جنبا در نمونه منی تازه، ۵ درجه سانتی گراد و ذوب شده، براساس تجربه از روی میدان‌های مشاهده شده صورت گرفت. تعیین درصد اسپرم‌های با تحرک پیش رونده در نمونه منی تازه، نمونه در دمای ۵ درجه و نمونه ذوب شده از طریق روش چشمی و با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۲۰۰ صورت گرفت. تخمین درصد اسپرم های زنده و مرده بعد از رنگ آمیزی با اتوزین و نیگروزین به وسیله میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰۰ انجام گرفت.

داده های حاصل با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 و با رویه proc GLM در قالب طرح فاکتوریل 2×2 (۲ نوع رقیق کننده و ۲ نژاد گاو) تجزیه و تحلیل شدند. مدل های آماری به شرح زیر بود:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + C_k + AB_{ij} + AC_{ik} + BC_{jk} + ABC_{ijk} + e_{ijkl}$$

Y: خصوصیات اسپرم شامل: درصد جنبائی، درصد

تحرک پیش رونده و درصد زنده مانی

μ : میانگین جامعه

A_i : اثر گاو

B_j : اثر رقیق کننده

C_k : اثر انجماد

AB_{ij} , BC_{jk} , AC_{ik} : اثرات متقابل

e_{ijkl} : اثر باقی مانده

لازم به ذکر است اثر نوبت آزمایش (انجام آزمایش در دو روز متفاوت: تکرار) در ابتدا در مدل آماری قرار گرفت، ولی به دلیل معنی دار نبودن، از مدل حذف شد. میانگین ها به روش LSMeans و در سطح ۰/۰۵ با هم مقایسه شدند.

جدول ۱- میانگین درصد خصوصیات کیفی اسپرم بعد از انجماد در دو نژاد و دو نوع رقیق کننده

نژاد و رقیق کننده	هلشتاین		براون سوئیس	
	بایوکسل	آندروم	بایوکسل	آندروم
فراسنجه				
جنبائی	۴۲/۰۰ ^a	۳۷/۰۰ ^c	۳۹/۸۳ ^b	۳۶/۴۲ ^c
تحرك پيش رونده	۳۷/۶۵ ^a	۳۱/۶۳ ^c	۳۳/۷۰ ^b	۳۱/۰۰ ^c
زنده مانی	۴۹/۳۰ ^a	۴۴/۰۰ ^c	۴۷/۲۴ ^b	۴۳/۸۰ ^c

* A, b, c میانگین های هر ردیف که دارای حرف مشترک انگلیسی نیستند، اختلاف معنی دار دارند ($P \leq 0.05$)

خطای استاندارد میانگین: ۰/۲۳

رقیق کننده متفاوت بر خصوصیات کیفی اسپرم در گاو نژاد هلشتاین و براون سوئیس پس از انجماد مورد بررسی قرار گرفت. آنها تفاوت معنی داری بین رقیق کننده بایوکسل و دو رقیق کننده دیگر (آندروم و تری لادیل) مشاهده کردند.

اوگوز و همکاران در ۲۰۰۹، تأثیر دو نوع رقیق کننده را از لحاظ بود یا نبود زرده تخم مرغ، بر خصوصیات سلول اسپرم بعد از انجماد در گاو نر هلشتاین را مورد بررسی قرار دادند. خصوصیات سلول اسپرم بعد از انجماد از جمله انعطاف پذیری غشاء، زنده مانی، تحرك پيش رونده و درصد DNA در رقیق کننده عاری از زرده تخم مرغ (بایوکسل) به طور معنی داری بالاتر از رقیق کننده بر پایه زرده تخم مرغ بود ($P < 0.05$). این نتایج دارای همخوانی با نتایج آزمایش حاضر است.

گیل و همکاران در ۲۰۰۳، تأثیر استفاده از رقیق کننده بایوکسل و رقیق کننده بر پایه زرده تخم مرغ بر نتایج باروری میش ها در اثر استفاده از اسپرم های منجمد شده با این دو رقیق کننده را مورد بررسی قرار دادند. در پژوهش انجام گرفته درصد باروری در هر دو گروه تفاوت معنی داری نداشت. می توان چنین نتیجه گرفت که رقیق کننده بایوکسل دارای نتایج مشابهی در مقایسه

گروه دریافت کننده رقیق کننده بایوکسل در نژاد هلشتاین بیشترین میانگین را از لحاظ خصوصیات کیفی اسپرم بعد از انجماد در مقایسه با گروه دریافت کننده بایوکسل در نژاد براون سوئیس، همچنین گروه های دریافت کننده رقیق کننده آندروم در هر دو نژاد هلشتاین و براون سوئیس را دارا بود. میانگین خصوصیات کیفی اسپرم در بین گروه دریافت کننده آندروم در نژاد هلشتاین در مقایسه با گروه دریافت کننده آندروم در نژاد براون سوئیس تفاوت معنی داری نداشت.

در این آزمایش جهت مطالعه قدرت تحرك اسپرم ها در شاخص در نظر گرفته شد. اولین شاخص تحرك پیشرونده و شاخص دوم درصد اسپرم های متحرك یا جنبایی اسپرم بود. درصد اسپرم های زنده و مرده نیز به عنوان شاخص زنده مانی در نظر گرفته شد. اثر رقیق کننده بایوکسل مورد استفاده در این آزمایش بر درصد جنبائی اسپرم و درصد تحرك پيش رونده اسپرم و درصد زنده مانی به طور معنی داری بالاتر از دیگر رقیق کننده مورد استفاده در هر دو نژاد بود ($P < 0.01$).

نتایج حاصله با نتایج پژوهش جنت و همکاران در ۲۰۰۵a مطابقت دارد. در آن پژوهش اثر افزودن سه نوع

منجمد شده با رقیق کننده بر پایه زرده تخم مرغ در مقایسه با اسپرم های منجمد شده با رقیق کننده بایوکسل کاهش معنی داری نشان داد. نتایج مطالعات گزارش شده با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. هر چند در بز به دلیل وجود آنزیم های مضر و تجزیه کننده فسفولیپید های تخم مرغ در پلاسمای منی، نامناسب بودن زرده تخم مرغ تا حد زیادی اثبات شده است.

نتیجه گیری کلی

بر مبنای نتایج مطالعه حاضر و دیگر مطالعات به نظر می رسد رقیق کننده های تجاری بایوکسل و آندرومد که عاری از زرده تخم مرغ هستند در گاوهای نر هلشتاین و براون سوئیس ایرانی شایستگی مناسبی برای حفظ کیفیت اسپرم در طی مراحل انجماد و ذوب دارند. همچنین رقیق کننده بایوکسل نسبت به آندرومد مناسب تر به نظر می رسد. در عین حال دو نوع رقیق کننده اخیر با ویژگی های سلول اسپرم نژاد هلشتاین نسبت به براون سوئیس مطابقت بیشتری دارند.

با رقیق کننده بر پایه زرده تخم مرغ در گوسفند می باشد.

همچنین شرفی و همکاران در ۲۰۰۹ گزارش کردند که اثر رقیق کننده بایوکسل نسبت به رقیق کننده بر پایه لسیتین سویا (بدون زرده تخم مرغ) تفاوت معنی داری در فراسنجه های تحرک، زنده مانی و ظرفیت پذیری اسپرم در منی قوچ ایجاد نکرد. در صورتی که در گاو هلشتاین رقیق کننده به طور معنی داری باعث افزایش پارامترهای کمی و کیفی اسپرم شده است. پس می توان گفت که تفاوت در نوع حیوان مورد مطالعه نیز ممکن است باعث عدم یکسان بودن نتایج آزمایش ها شود (معنی دار بودن یا نبودن تأثیر رقیق کننده بر خصوصیات سلول اسپرم بعد از انجماد). داده های مطالعه مذکور در تناقض با آزمایش حاضر در گاو است.

استفاده از رقیق کننده بایوکسل و رقیق کننده بر پایه زرده تخم مرغ در بز نر توسط جنت و همکاران در ۲۰۰۵b، نشان دهنده تفاوت بین دو رقیق کننده بود. در پژوهش صورت گرفته درصد جنبائی در اسپرم های

منابع مورد استفاده

- Braga MQ, Franco RVR, Rodrigues LF, Galeli G, Oliveira KMF, Reis AC, Nishikawa MF A and Moura EP, 2006. Comparison of Andromeda®, Bioxcell®, and Botu-Bov® Extenders for criopreservation of bull sexed semen. *Anim Reprod Sci* 64: 178–186.
- Gil, 2001. Fertility of frozen ram semen under field conditions. With special reference to influence of extenders and freezing procedures. Ph D dissertation, April University, Ghent.
- Gil J, Rodriguez-Irazaqui M, Lundeheim N, Soderquist L and Rodriguez-artinez H, 2003. Fertility of ram semen frozen in Bioxcell and used for cervical artificial insemination. *Theriogenology* 59: 1157-1170.
- Janett F, Keo S, Bollwein H, Hässig M and Thun R, 2005a. Comparison of Andromeda, Bioxcellâ and Triladylâ extender for cryopreservation of bull semen. *Schweiz Arch. Tierheilk* 147, 62 (Abstract, Poster).
- Janett F, Fuschini E, Keo S and Thun R, 2005b. Comparison of Andromeda® and TRIS egg-yolk extender for cryopreservation of buck semen. In proceeding: ESDAR Conference 10-14 May, Murcia.
- Marco-Jimenez F, Puchades S, Moce E, Viudes-de-Carto MP, Vicente JS and Rodrigues M, 2004. Use of powdered egg yolk vs fresh egg yolk for the cryopreservation of bovine semen. *Reprod Domest Anim* 39(6): 438-441.
- Moussa M, Matinet V, Trimeche A, Tainturier D and Anton M, 2002. Low density lipoproteins extracted from hen egg yolk by an easy method: cryoprotective effect on frozen-thawed bull semen. *Theriogenology* 57:1695 -1706.

- Oguz C, 2009. Effects of a prolonged equilibration time on cryopreserved bovine sperm frozen with egg-yolk based or egg-yolk free extender. In proceeding: 10th Conference Application of Cryobiology from animal tissue, Leibniz Universitaet Hannover and the IPK Gatersleben, Germany.
- Sharafi M, Forouzanfar M and Nasr Eafahani MH, 2009. In vitro comparison of Soybean Lecithin based-extender with commercially available extender for ram semen cryopreservation. International Journal of fertility and sterility Vol3 No3: 149-152.
- Tarek AA, Khalifa AG and Lymberopoulos N, 2008. Sperm Chromatin Stability During *In Vitro* Manipulation of Beef Bull Semen. *Reproduction in Domestic Animals* 63: 804-812.
- Yutaka F, Hirohide K, Tetsuro T and Mami H, 2007. Fertility of Ewes Inseminated Intrauterinally with Frozen Semen Using Extender Containing Bovine Serum Albumin. *Journal of Reproduction and Development* 4: 959-962.