

## تأثیر استفاده جیره حاوی نانوروی بر کیفیت و کمیت اسپرم در قوچ زندی

\* گل افشان مهکی<sup>۱</sup>، منوچهر سوری<sup>۱\*</sup>، رضا مسعودی<sup>۲</sup>، نادر اسدزاده<sup>۲</sup>

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

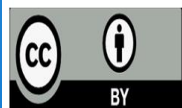
Email: m.souri@razi.ac.ir

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 ۴-۳ سال استفاده شد. قوچ‌ها به مدت ۶۰ 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 ۶۰ 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 ( $P < 0.05$ ). 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: نانوروی، اسپرم، قوچ، جیره.



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

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

By: Golafshan Mahaki<sup>1</sup>, Manouchehr Souri\*<sup>1</sup>, Reza Masoudi<sup>2</sup>, Nader Asadzadeh<sup>2</sup>

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

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 ویژگی‌های 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)

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 می‌توانند 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 منجر به تنش اکسیداتیو می‌شود (Hozyen و همکاران، ۲۰۱۴) که همه‌ی اندام‌های دام از جمله دستگاه تولیدمثلی نر و ماده را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

اسپرم برای بقای خود به اکسیژن نیاز دارد و 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 منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو

فناوری نانو علم مطالعه مواد و ساختارها با خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و زیستی منحصر به 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 به طور قابل توجهی 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 ۱۵ رأس قوچ نژاد زندی ۳-۴ 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 خوراندند.

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 بالای 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 (Somers و Underwood, 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 (Ghobadi و Aslani, ۲۰۱۶).

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 (مگا کالری 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

### جمع آوری 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 فاز کنتراست با بزرگنمایی ۱۰۰ و رایانه مجهز به نرم‌افزار SCA فراسنجه‌های حرکتی اسپرم ارزیابی شد (تعداد ۳۰۰ اسپرم در هر نمونه).

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 به وسیله نرم‌افزار آماری SAS ورژن ۹/۱ آنالیز شد و سطح معنی‌داری  $P < 0.05$  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 ( $P < 0.05$ ). 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 ( $P < 0.05$ ).

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 ( $P < 0.05$ ). 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

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 هیواسموتیک 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 ۳۲۰-۳۷۵ میلی‌اسمول است. بنابراین اسپرم با قرار گرفتن در یک محیط با اسمولاریته پایین به سرعت 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 (Mrode و Revell، 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

حرکتی، زنده‌مانی و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم شد که با مطالعات انجام شده در سایر گونه‌ها مطابقت دارد. در مطالعه Kumar و 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 نانوآکسید روی بر کیفیت و کمیت اسپرم قوچ عرب (Abaspour و همکاران، ۲۰۱۸)، نتایج مشابهی در توافق با یافته‌های حاضر، کسب نمودند.

غلظت بالای 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 (Mikac-Dević و Stanković، 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)

دریافت‌کننده ۷۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نانوذرات روی مشاهده شد که اختلاف آن با دو گروه دیگر معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). 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 زنده‌مانی اسپرم قوچ افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). اما در ارتباط با حجم منی، زمان مصرف نانوذرات روی اثر معنی‌داری بر بهبود این فراسنجه نداشت.

## بحث

پیشرفت سریع نانو فناوری و تنوع کاربردی آن موجب شده است که مواد با ابعاد نانو بیش از پیش مورد استفاده قرار گیرند. 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

Bahuguna و Bedwal (۱۹۹۴). همچنین، روی در فعال شدن و حفظ اپتیلوم 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، سوویتول‌دهیدروژناز 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 (Yousri و Ibrahim، 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.

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 (Sresty و Rao، 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 فعالیت DNA پلیمرز و RNA پلیمرز، 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 پلیمرز و RNA پلیمرز 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 بر این عنصر روی در کدگذاری فاکتورهای رونویسی اسپرماتوژنز نقش دارد (

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

P Value	گروه‌های آزمایشی			فراسنجه			
	دوره	جیره	SEM				
جیره* دوره	دوره	جیره	SEM	۱	۲	۳	
۰/۰۲۶ <sup>NS</sup>	۰/۱۴۳**	۰/۰۲۶ <sup>NS</sup>	۰/۲۸۰	۱/۱۸۳ <sup>a</sup>	۱/۱۳۷ <sup>a</sup>	۱/۸۶ <sup>a</sup>	حجم اسپرم (میلی لیتر)
۰/۰۱۸ <sup>NS</sup>	۰/۰۴۵*	۰/۳۳۱**	۰/۰۲۲	۳/۸۸۰ <sup>a</sup>	۳/۷۹۱ <sup>b</sup>	۳/۶۸۶ <sup>c</sup>	غلظت (× ۱۰ <sup>۶</sup> )
۲/۷۸۹ <sup>NS</sup>	۸/۱۰۸**	۱۴۷/۴۶۷**	۰/۲۶۱	۸۶/۳۱۴ <sup>a</sup>	۸۳/۷۴۲ <sup>b</sup>	۸۲/۲۵۷ <sup>c</sup>	جنبایی کل (درصد)
۹/۱۳۹**	۱۷/۲۸۳**	۷۵/۶۲۸**	۰/۱۹۷	۸۰/۷۴۳ <sup>a</sup>	۷۸/۷۱۴ <sup>b</sup>	۷۷/۸۸۶ <sup>c</sup>	جنبایی پیش‌رونده (درصد)
۹/۲۷۹**	۳۵/۳۵۶**	۷۴/۹۲۴**	۰/۲۳۱	۵۴/۵۱۴ <sup>a</sup>	۵۳/۲۸۶ <sup>b</sup>	۵۱/۶۰۰ <sup>c</sup>	اسپرم زنده (درصد)
۷/۵۰۲**	۲۶/۳۴۹**	۱۵۱/۹۲**	۰/۲۰۴	۸۵/۲۰۰ <sup>a</sup>	۸۲/۵۷۱ <sup>b</sup>	۸۱/۰۸۶ <sup>c</sup>	سلامت غشاء (درصد)

حروف غیر مشترک در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار میان تیمارها است ( $P < 0.05$ ).

## نتیجه گیری

پلاسمایی و غلظت اسپرم در این تیمار مشاهده شد. بنابراین می توان 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 طولانی مدت اثرات مثبت خود را نشان می دهد.

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، استفاده از نانوذرات روی به صورت خوراکی در جیره قوچ نژاد زندگی می تواند موجب بهبود فراسنجه های کیفی منی شود. نانوذرات روی به مقدار ۷۰ میلی گرم/کیلوگرم اثر مثبت بالایی نشان داد، به طوری که بیشترین میزان تحرک کل، تحرک پیش رونده، سلامت غشای

جدول ۴. میانگین ویژگی های کمی و کیفی اسپرم در هفت زمان نمونه گیری

SEM	دوره							فراسنجه
	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	
۰/۰۴۳	۱/۳۲۷ <sup>a</sup>	۱/۲۶۰ <sup>a</sup>	۱/۲۰۷ <sup>ab</sup>	۱/۱۰۰ <sup>b</sup>	۱/۱۲۷ <sup>b</sup>	۱/۰۸۷ <sup>b</sup>	۱/۰۷۳ <sup>a</sup>	حجم اسپرم (میلی لیتر)
۰/۰۳۳	۳/۸۴۷ <sup>a</sup>	۳/۸۵۳ <sup>a</sup>	۳/۸۰۰ <sup>a</sup>	۳/۷۶۰ <sup>ab</sup>	۳/۶۹۳ <sup>b</sup>	۳/۷۸۰ <sup>ab</sup>	۳/۷۶۷ <sup>ab</sup>	غلظت (× ۱۰ <sup>۶</sup> )
۰/۳۹۹	۸۵/۲۶۷ <sup>a</sup>	۸۴/۴۰۰ <sup>ab</sup>	۸۴/۴۶۷ <sup>ab</sup>	۸۴/۳۳۳ <sup>ab</sup>	۸۳/۷۳۳ <sup>bc</sup>	۸۳/۴۶۷ <sup>bc</sup>	۸۳/۰۶۷ <sup>c</sup>	حرکت کل (درصد)
۰/۳۰۱	۸۰/۷۳۳ <sup>a</sup>	۸۰/۴۰۰ <sup>a</sup>	۷۸/۴۰۰ <sup>bc</sup>	۷۸/۴۶۷ <sup>bc</sup>	۷۷/۸۶۷ <sup>c</sup>	۷۸/۷۳۳ <sup>bc</sup>	۷۹/۲۰۰ <sup>b</sup>	حرکت پیش رونده (درصد)
۰/۳۵۳	۵۵/۷۳۳ <sup>a</sup>	۵۴/۷۳۳ <sup>b</sup>	۵۳/۲۶۷ <sup>c</sup>	۵۲/۲۶۷ <sup>d</sup>	۵۲/۰۶۷ <sup>d</sup>	۵۲/۰۶۷ <sup>d</sup>	۵۱/۸۰۰ <sup>d</sup>	اسپرم زنده (درصد)
۰/۳۱۲	۸۴/۵۳۳ <sup>a</sup>	۸۴/۲۶۷ <sup>ab</sup>	۸۳/۵۳۳ <sup>be</sup>	۸۳/۲۶۷ <sup>cd</sup>	۸۲/۴۶۷ <sup>de</sup>	۸۱/۶۰۰ <sup>ef</sup>	۸۱/۸۰۰ <sup>f</sup>	سلامت غشا (درصد)

حروف غیر مشترک در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار میان تیمارها است ( $P < 0.05$ ).

## منابع

- Abaspor 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., Altinkaynak, 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 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* × *Bos taurus*) bulls. *Reproduction Nutrition Development*, 46(6), 663-675. doi: 10.1051/rd: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, Tavalae 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  $\alpha$ -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.