مجله علوم دامی ایران
دوره ۴۲، شماره ۴، ۱۳۹۰ (۳۶۷-۳۶۱)

مقایسه ترکیب اسیدهای چرب لیپیدهای اسپرم در برخی نشخوارکنندگان اهلی کشور

آرمین توحیدی[۱]*، فرهاد صمدیان[۲]، حمید کهرام[۳] و مهدی انصاری[۴]
۱، ۲، ۳، ۴، دانشیار، دانشجوی دکتری، استادیار و دانشجوی کارشناسی ارشد
پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
(تاریخ دریافت: ۹۰/۲/۴ - تاریخ تصویب: ۹۰/۹/۲۹)

چکیده

هدف از این پژوهش، مقایسه ترکیب اسیدهای چرب لیپیدهای اسپرم در مهمترین نشخوارکنندگان اهلی ایران شامل گاو، گوسفند و بز بود. به این منظور از ۲۸ رأس گاو نر هلشتاین، ۱۲ رأس گوسفند نر شال و ۷ رأس بز نر مهابادی نمونهٔ منی جمع‌آوری شد. حیوانات در طی آزمایش با جیره استاندارد تغذیه شدند. نمونه منی در دمای ۳۷°C به آزمایشگاه منتقل و لیپیدهای اسپرم استخراج و اسیدهای چرب آن استریفه شدند. سپس نمونه‌ها به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق و درصد اسیدهای چرب در منحنی‌های حاصله محاسبه شد. نتایج نشان داد که درصد اسید چرب C16:1 و C18:0 در اسپرم گاو نسبت به اسپرم بز و قوچ به طور معنی‌داری بیشتر بود. اسیدهای چرب C20:4(n-6)، 20:2(n-6) و C20:5(n-6) تنها در لیپید اسپرم گاو، درصدی را به خود اختصاص داد. در گاو نسبت بالایی از DHA (۱۹/۳ درصد) در مقایسه با دو گونه بز و گوسفند (به ترتیب ۳/۸۵ و ۳/۱۴ درصد) وجود داشت. همچنین نسبت اسید چرب بلند زنجیر C24:0 در لیپید اسپرم گاو نسبت به قوچ بالاتر بود، در حالی این اسید چرب در اسپرم بز مشاهده نشد. نسبت اسیدهای چرب n-3/n-6 در اسپرم گاو (۲/۵۶) به طور معنی‌داری نسبت به بز (۰/۵۳) و قوچ (۰/۲۱) بیشتر بود. در نتیجه ترکیب اسیدهای چرب در گونه‌های مختلف نشخوارکنندگان متفاوت است.

واژه‌های کلیدی: اسید چرب، بز، گاو، گوسفند، منی

مقدمه

فسفولیپیدهای اسپرم پستانداران دو کنش عمده را بر عهده دارند. آنها به عنوان جزئی از غشاها نقش قابل توجهی در حفظ یکپارچگی ساختاری سیستم‌های مختلف بسیار سازمان یافته غشا ایفا می‌کنند. در حالی که به عنوان مواد مغذی ممکن است یک سوبسترای قابل اکسیداسیون برای اسپرماتوزوآ عرضه کنند (Neill & Masters, 1973). اسیدهای چرب پیوند شده به فسفولیپیدها نقش مهمی در دو کنش مذکور دارند. به نظر می‌رسد اسیدهای چرب، بسته به طبیعت زنجیره‌های اسید چرب خودشان، ویژگی‌های خاصی را به آنزیم‌های متصل به غشا می‌بخشند. نشان داده شده است که مشخصه‌های رشد، تنفس و انتقال گالاکتوز در سلول‌های باکتریایی به مقدار زیادی تحت تأثیر ترکیب اسیدهای چرب آن قرار می‌گیرد (Polous et al., 1973). این وابستگی کنش‌های مهم سلولی به ترکیب اسید چرب، ممکن است در اسپرم پستانداران نیز وجود داشته باشد.

* نویسنده مسئول: آرمین توحیدی تلفن: ۰۹۱۲-۱۴۰۴۰۸۱ E-mail: atowhidi@ut.ac.ir

محتویات غشای اسپرم در قوچ، خوک، گاو و خرگوش باعث محافظت سلول اسپرم در برابر خطرات احتمالی در طول فرایند رقیق‌سازی، انجماد و ذوب می‌شود. همچنین موجب جلوگیری از شوک سرمایی به سلول اسپرم و آسیب‌پذیری آن خواهد شد (Maldjian et al., 2005). ویژگی‌های لیپیدی غشای اسپرم نقشی اساسی در کیفیت نمونه‌های منی دارد (Connor et al., 1998). تفاوت در ترکیب اسیدهای چرب غیراشباع در غشای سلول‌های اسپرم با دامنه تغییرات شوک سرمایی و انجماد و قدرت زنده‌مانی اسپرم‌ها بعد از انجماد همبستگی دارد (O'Flaherty et al., 2006). بالا بودن نسبت اسیدهای چرب غیراشباع در غشای سلول اسپرم و پایین بودن سطوح کلسترول در غشای سلول‌های اسپرم گاو نر و قوچ در مقایسه با غشای سلول‌های اسپرم انسان و سگ، نشان دهنده تفاوت در دامنه تغییرات شوک سرمایی و انجماد در بین گونه‌های مختلف می‌باشد. به هرحال این تفاوت در ترکیب لیپیدی غشای اسپرم گونه‌های مختلف می‌تواند عامل مهمی در تفاوت در قدرت زنده‌مانی و باروری اسپرم‌ها بعد از ذوب باشد (Swain et al., 2000; Gliozzi et al., 2009).

به منظور بهبود نگهداری اسپرم در گونه‌هایی با انجماد پذیری ضعیف، شناخت پایه‌های بیوفیزیک غشای اسپرم ضروری است تا بتوان چنین اختلافات گونه ای را تفسیر کرد (Parks & Linch, 1992). با شناخت اختلافات گونه‌ای در ترکیب اسیدهای چرب اسپرم می‌توان رفتار اسپرم پستانداران در برابر تغییرات ناگهانی در محیط (از جمله شوک سرمایی یا رقیق سازی) را پیش بینی و به اختلافات در ترکیب اسیدهای چرب اسپرم ارتباط داد (Swain et al., 2000). از طرفی این امکان وجود دارد که با تعیین ترکیب اسیدهای چرب لیپیدهای اسپرم یک گونه و سپس خوراندن اسیدهای چرب خاص به حیوان و یا انتخاب منبع مناسب فسفولیپیدی برای رقیق کننده‌ها، پروفیل اسیدهای چرب لیپیدی غشا را دستکاری نموده و در نتیجه انجمادپذیری اسپرم گونه‌های مختلف را بهبود بخشید. بنابراین هدف از پژوهش حاضر، تعیین ترکیب اسیدهای چرب لیپیدهای اسپرم گاو، گوسفند و بزهای ایرانی بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۸۸ و در شهرهای کرج (مرکز اصلاح نژاد دام کشور و مزرعهٔ آموزشی و پژوهشی گروه علوم دامی دانشگاه تهران)، قزوین (مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی قزوین، ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد قوچ شال) و مشهد (مرکز اصلاح نژاد دام عباس آباد) انجام گرفت.

حیوانات مورد آزمایش ۲۸ رأس گاو نر هلشتاین با میانگین سنی ۳ تا ۵ سال، ۱۲ رأس گوسفند نر شال با میانگین سنی ۳ الی ۵ سال و ۷ رأس بز نر مهابادی با میانگین سنی ۳ الی ۵ سال بود. حیوانات در طی آزمایش با جیره غذایی تهیه شده بر اساس جداول غذایی استاندارد تغذیه شدند. نمونه‌های منی با استفاده از مهبل مصنوعی در فصل پاییز جمع‌آوری و بلافاصله در دمای ۳۷°C به آزمایشگاه منتقل شد.

لوله‌های حاوی اسپرم و مایع نگهدارنده به مدت ۲۰ دقیقه تحت سانتریفوژ با ۱۲۰۰ دور در دقیقه (۲۵۰×g) قرار گرفتند. سپس به ازای هر ۰/۵ گرم فاز پایینی در هر لوله آزمایش، ۱۰ میلی‌لیتر محلول کلروفرم: متانول (به نسبت حجمی ۲ به ۱) و دو میلی‌لیتر محلول نمک طعام ۰/۹ درصد اضافه شد (Folch et al., 1995). هر کدام از لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در ورتکس قرار داده شدند و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در سانتریفوژ یخچال‌دار با ۳۰۰۰ دور در دقیقه (۷۰۴×g) در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از سانتریفوژ سه فاز در لوله آزمایش مشاهده شد، لایه بالایی محلول نمک طعام و لایه وسطی (پلت حلقه مانند)، بقایای سلولی بود. لایه پایینی، محلول کلروفروم: متانول بوده که کل چربی‌های سلول در آن حل شده بود.

بعد از تبخیر کلروفرم توسط گاز ازت، متیل استره کردن اسیدهای چرب طبق روش Hamilton et al. (1992) به انجام رسید. نمونه‌های متیل استره شده به منظور تعیین ترکیب اسیدهای چرب لیپیدی اسپرم‌ها به آزمایشگاه شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی انتقال داده شد.

متیل استرهای اسیدهای چرب به وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی (مدل unicam ۴۶۰۰ ساخت کشور انگلستان با نوع دتکتور FID و فشار پشت ستون ۲۰ بار)

و با استفاده از سیستم ستون باریک BPX ۷۰ به طول ۳۰ و به قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فیلم (Film thickness) ۰/۲۵ میکرومتر مورد تجزیه قرار گرفت. برنامه دمایی بصورت ۱۶۰°C به مدت شش دقیقه بود که با سرعت ۲۰°C بر دقیقه به دمای ۲۰۰°C رسیده و تا پایان باقی ماند.

در منحنی‌های خروجی اسیدهای چرب، با توجه به سطح زیر پیک هر کدام از اسیدهای چرب، درصد آنها محاسبه شد. سپس با توجه به درصد اسیدهای چرب در هر کدام از منحنی‌های خروجی، درصد هر اسید چرب، درصد کل اسیدهای چرب اشباع (SFA)، درصد کل اسیدهای چرب n-3، درصد کل اسیدهای چرب n-6، نسبت اسیدهای چرب n-3 به n-6، درصد کل اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دو گانه (PUFA) و نسبت اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دو گانه به اسیدهای چرب اشباع و درصد اسیدهای چرب با یک پیوند دو گانه (MUFA) محاسبه شد.

نتایج

نتایج حاصل از تعیین ترکیب اسیدهای چرب اسپرم در جدول ۱ نشان داده شده است.

چنان که نتایج نشان می‌دهد اسید چرب غیراشباع

جدول ۱- میانگین (± خطای استاندارد) درصد اسیدهای چرب لیپیدهای اسپرم در سه گونه بز، گوسفند و گاو (گرم در ۱۰۰ گرم اسید چرب)

ترکیب اسیدهای چرب	بز	گوسفند	گاو
۱۴:۰	۴/۲۷±۰/۷۳	۵/۲۸±۱/۳۱	۶/۳۳± ۰/۳۹
۱۴:۱	۱/۶۷±۰/۵۵	۰/۱۵±۰/۰۴	-
۱۶:۰	۱۹/۹۷±۶/۰۸	۲۴/۴±۰/۵۸	۲۷/۰۵± ۰/۹۹
۱۶:۱	۰/۸۳±۰/۰۴^{b}	۱/۸۳±۰/۴۳^{b}	۶/۸۰± ۰/۴۲^{a}
۱۷:۰	۰/۲۱±۰/۰۲	۰/۲۴±۰/۰۲	۰/۹۵± ۰/۰۹
۱۷:۱	۰/۱۴±۰/۰۲	۰/۱۶±۰/۰۳	۱/۲۲± ۰/۱۴
۱۸:۰	۷/۴۱±۱/۷۷^{b}	۹/۹۷±۰/۹۴^{b}	۱۴/۱۵± ۱/۰۲^{a}
۱۸:۱ ترانس	۰/۷۱±۰/۲	۲/۲۴±۰/۳۷	-
۱۸:۱ سیس	۴۹/۰۷±۲/۰۳^{a}	۲۹±۰/۹۴^{b}	۸/۹۷± ۰/۴۶^{c}
۱۸:۲ سیس	۸/۴۵±۱/۱۱^{b}	۱۹/۹±۱/۴۷^{a}	۴/۲۶± ۰/۱۷^{b}
۱۸:۲ ترانس	-	۰/۲۱±۰/۰۴	-
۱۸:۳ (n-3)	۰/۴±۰/۰۶	۱/۲۱±۰/۱۶	۰/۸۹± ۰/۲۶
۲۰:۰	۰/۵±۰/۳۱	۰/۲۸±۰/۰۲	۱/۸۹± ۰/۱۷
۲۰:۱	۰/۴۹±۰/۲۲	۰/۱۸±۱/۰۵	۰/۴۰± ۰/۰۲
۲۰:۲ (n-6)	-	-	۰/۵۹± ۰/۰۳
۲۰:۳ (n-6)	۰/۳۵±۰/۱۰	۰/۳±۰/۰۴	-
۲۰:۴ (n-6)	-	-	۲/۳۲± ۰/۲۱
۲۰:۵ (n-3)	۰/۴۲±۰/۰۸	-	۰/۵۰± ۰/۰۷
۲۲:۰	۰/۶۵±۰/۱۲	۱/۰۶±۰/۱	-
۲۰:۵ (n-6)	-	-	۰/۹۲± ۰/۲۳
۲۲:۶ (n-3)	۳/۸۵±۰/۲۵^{b}	۳/۱۴±۰/۴^{b}	۱۹/۳۰± ۰/۸۹^{a}
۲۴:۰	-	۰/۰۷±۰/۰۴^{b}	۲/۶۵± ۰/۲۳^{a}
ناشناخته	۰/۶۱	۰/۳۸	۰/۸۱
کل اسیدهای چرب n-3	۴/۶۷^{b}	۴/۳۵^{b}	۲۰/۶۹^{a}
کل اسیدهای چرب n-6	۸/۸^{b}	۲۰/۴۱^{a}	۸/۰۹^{b}
نسبت n-3/n-6	۰/۵۳^{b}	۰/۲۱^{b}	۲/۵۶^{a}
PUFA	۱۳/۴۷^{b}	۲۴/۷۶^{a}	۲۸/۶۹^{a}
MUFA	۵۲/۹۱^{c}	۳۳/۵۶^{b}	۱۷/۳۹^{a}
SFA	۳۳/۰۱^{b}	۴۰/۹۳^{b}	۵۳/۰۲^{a}
نسبت PUFA/SFA	۰/۴۰	۰/۶۰	۰/۵۴

abc) میانگین‌های هر ردیف که حرف مشترک انگلیسی ندارند، دارای اختلاف معنی‌دارند ($p<$ ۰/۰۵).

C16:1 در اسپرم گاو (۶/۸٪) نسبت به اسپرم بز (۰/۸۳٪) و قوچ (۱/۸۳٪) به طور معنی‌داری بیشتر بود. درصد اسید چرب اشباع استئاریک (C18:0) در اسپرم گاو (۱۴/۱۵٪) در مقایسه با اسپرم بز (۷/۴۱٪) و قوچ (۹/۹۷٪) بالاتر بود. اسید چرب ۱۸:۱ سیس به ترتیب در بز، گوسفند و گاو درصد بیشتری را شامل شد. مقدار اسید لینولئیک سیس (C18:2 cis) در لیپیدهای اسپرم قوچ (۱۹/۹٪) در مقایسه با اسپرم بز (۸/۴۵٪) و گاو (۴/۲۶٪) بالاتر بود و اسید لینولئیک ترانس نیز تنها در اسپرم قوچ یافت گردید. اسیدهای چرب C20:4(n-6)، 20:2 (n-6) و C20:5(n-6) نیز تنها در لیپید اسپرم گاو، درصدی را به خود اختصاص داد در حالی که در اسپرم بز و قوچ یافت نشد. در گاو نسبت بالایی از DHA (۱۹/۳ درصد) در مقایسه با دو گونه بز و گوسفند (به ترتیب ۳/۸۵ و ۳/۱۴ درصد) وجود داشت. همچنین نسبت اسید چرب بلند زنجیر C24:0 در لیپید اسپرم گاو نسبت به قوچ بالاتر بود، در حالی این اسید چرب در اسپرم بز مشاهده نشد.

درصد مجموع اسیدهای چرب n-3 در گاو، بز و گوسفند به ترتیب ۲۰/۶۹، ۴/۶۷ و ۴/۳۵ بود که در گاو بسیار بیشتر از دو گونه دیگر بود. در حالی که درصد مجموع اسیدهای چرب n-6 در گوسفند نسبت به گاو و گوسفند بیشتر بود. نسبت اسیدهای چرب n-3/n-6 نیز در اسپرم گاو (۲/۵۶) نسبت به دو گونه دیگر (بز و قوچ به ترتیب ۰/۵۳ و ۰/۲۱) بالاتر بود. نسبت PUFA/SFA در اسپرم قوچ، بز و گاو به ترتیب ۰/۶، ۰/۴ و ۰/۵۴ بود که اختلاف قابل توجهی را نشان نداد.

Pattoman & Flipse (1961) گزارش کردند که اسید میریستیک، اسید پالمیتیک و اسید استئاریک، بیش از ۸۰ درصد از اسیدهای چرب را در اسپرم گاو تشکیل می‌دهد. Dietz et al. (1963) وجود چندین اسید چرب را در کل چربی منی گاو گزارش کردند که از بین آنها اسید پالمیتیک، اسید چرب غالب بوده است. در مطالعه حاضر، بیشترین اسید چرب اسپرم گاو، اسید پالمیتیک بوده است و DHA از نظر درصد غالبیت در مرتبه بعدی قرار داشت. پروفیل اسید چرب گزارش شده در مطالعه حاضر به مراتب بیشتر و کامل‌تر از مطالعات قبلی است، ولی در کل در بین درصدهای گزارش شده اسیدهای چرب اسپرم در مطالعات مختلف، پراکنش‌هایی وجود دارد که ممکن است در اثر سن، نژاد، نوع جیره و نوع و دقت روش استخراج حادث شده باشند.

در یک مطالعه اولیه، حضور اسید چرب DHA در اسپرم قوچ گزارش نگردید (Scott et al., 1967). در مطالعه‌ای دیگر در سال‌های بعدی گزارش شد که ۶۵/۱ درصد اسیدهای چرب کل فسفولیپیدهای اسپرم قوچ را دوکوزاهگزائنوییک اسید تشکیل می‌دهد (Neill & Masters, 1975). در مطالعه حاضر، درصد DHA به مراتب کمتری در گوسفند مشاهده شد. بخشی از اختلاف مشاهده شده شاید مربوط به آن است که در آزمایش حاضر، درصد اسیدهای چرب در کل لیپیدهای اسپرم تعیین شده است، در حالی که در مطالعه Neill & Masters (1973) در بخش فسفولیپیدی اسپرم برآورد شده است. نسبت n-3/n-6 (۰/۲۱) نیز نسبت به مطالعه آنها (۶/۴۶) بسیار کمتر گزارش شد؛ در حالی که درصد اسید چرب C18:1 در مطالعه حاضر در اسپرم قوچ (۲۹ درصد) به مراتب بیشتر از مطالعه آنها (۳/۹ درصد) بود.

تا کنون در بین تمام گونه‌های پستاندار مورد مطالعه به جز خرگوش، دوکوراهگزائنوییک اسید(DHA) اسید چرب عمده پیوند شده به فسفولیپیدهای اسپرم می‌باشد. ترکیب لیپیدی منی در درصد اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه خود (LC-PUFA) منحصر به فرد است. اسپرم پرندگان اهلی از n-6 LC-PUFA به ویژه دوکوزاتترائنوییک اسید (22:4n-6) و اسید آراشیدونیک غنی است، در حالی که اسپرم پستانداران غنی از DHA و در برخی گونه‌ها، دوکوزاپنتائنوییک اسید (DPA) است (Zaniboni et al., 2006).

گزارش شده است که نسبت اسیدهای چرب غیراشباع به اشباع، اثر معنی‌داری بر برخی از خصوصیات سیستم‌های غشایی دارد و هر چه این نسبت بالاتر باشد، سیالیت غشای پلاسمایی بیشتر است. مقادیر به نسبت بالاتر اسیدهای چرب اشباع در مقایسه با اسیدهای چرب غیراشباع، موجب ساختارهای غشایی سخت‌تر و مقاوم‌تری می‌شود (Polous et al., 1973). در مطالعات قبلی بین نسبت PUFA:SFA فسفولیپیدهای اسپرم و

حساسیت به شوک سرمایی ارتباطی مشخص یافت شده است. اسپرم قوچ و گاو دارای نسبت بالایی از PUFA:SFA بوده و حساسیت به شوک سرمایی در آنها بالاتر است، در مقابل گونه‌هایی مثل انسان و خرگوش، دارای نسبت تقریبی یک بوده و به شوک سرمایی مقاوم‌ترند (Darrin-Benett & White, 1977). همچنین مشخص شده است که کلسترول نیز در تحمل سرمایی اسپرم نقش ایفا می‌کند. درصد کلسترول اسپرم قوچ و گاو تقریباً نصف درصد آن در اسپرم خرگوش و انسان است (Darrin-Benett & White, 1977). این لیپید قادر به تحریک بسته‌بندی فسفولیپیدها به ویژه لیپیدهای دارای اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد (Polous et al., 1973). هر چه نسبت کلسترول به فسفولیپید در ساختار غشای اسپرم بیشتر باشد، توانایی غشا در تحمل شوک سرمایی بیشتر است. ماهیت اسیدهای چرب، توانایی کلسترول در کاهش نفوذپذیری را نیز متأثر می‌سازد. چنین عواملی ممکن است تا حدی توجیه کننده این مسأله باشند که چرا کلسترول در ترکیب با اسیدهای چرب اشباع شده‌تر در فسفولیپیدهای اسپرم خرگوش و انسان، موجب تشکیل ساختارهای غشایی «با سیالیت متوسط» می‌گردد و همین عامل موجب پایداری بیشتر غشای اسپرم گونه‌هایی مثل انسان و خرگوش به تنش‌های محیطی می‌گردد (Darrin-Benett & White, 1977). اسپرم‌های مقاوم به شوک سرمایی، دارای نسبت‌های کلسترول به فسفولیپید بالاتر از ۰/۵ می‌باشند، در حالی که اسپرم‌های حساس‌تر به شوک سرمایی دارای نسبت‌های پایین‌تر از این مقدار می‌باشند. همچنین بر مبنای مطالعه بر روی غشاهای مصنوعی، نسبت مولی ۰/۵ کلسترول در غشا، برای کسب شرایط «سیالیت حد واسط» ضروری بوده که از کریستالیزه شدن زیر دمای ذوب جلوگیری می‌نماید (Philips & Finer, 1974). هنگامی که کلسترول در کمتر از مقدار ۳۰٪ مولی موجود باشد، گروه‌های آزاد فسفولیپیدی تفکیک شده و در دمای انتقالی معمول منجمد می‌شوند. دمای انتقالی، دمایی است که در آن یک ترکیب جامد وضعیت خود را تغییر می‌دهد و در اثر سرما شکننده‌تر می‌شود. اسپرم‌های با نسبت بالاتر PUFA:SFA فسفولیپیدی، حاوی درصد پایین‌تری از کلسترول نیز می‌باشند که احتمالاً سیالیت غشائی‌شان را باز هم بالاتر می‌برد. این افزایش سیالیت ممکن است توجیه‌کننده حساسیت بالاتر اسپرم قوچ و گاو در مقایسه با اسپرم انسان و خرگوش باشد (Darrin-Benett & White, 1977).

در سال‌های اخیر، اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه به عنوان عامل خوراکی افزاینده کیفیت و کمیت اسپرم از طریق تغییر ترکیب اسیدهای چرب غشای اسپرم مورد توجه قرار گرفته‌اند (Blesbois et al., 1997; Surai et al., 2000; Rooke et al., 2001). نتایج مثبتی از تغذیه منابع اسیدهای چرب n-3 به بز (Dolatpanah et al., 2008)، قوچ (Samadian et al., 2010) و گاو (Gholami et al., 2010) در ایران به دست آمده است.

در هر حال، توجه به این مسأله ضروری است که رابطه متناسب و معادله مانندی بین سیالیت و انجمادپذیری اسپرم وجود ندارد و کلسترول و فسفولیپید تنها تعیین‌کننده‌های سیالیت غشا نیستند (Blesbois et al., 2005). ماهیت و سطح دخول پروتئین‌ها در دولایه لیپید غشایی نیز در سیالیت غشا اثر دارد (Shinitzky & Yuli, 1982). ارتباطی بین حساسیت به شوک سرمایی و میزان پروتئین غشای پلاسمایی آشکار شده است، به طوری که اسپرم خوک که دارای پروتئین بالاتری از سایر پستاندارن است، اسپرم حساس‌تری دارند (Parks & Linch, 1992). به علاوه پاسخ اسپرم به انجماد تنها به تغییرات ترکیب غشایی محدود نمی‌شود و ممکن است پاسخ‌های مختلفی به انجماد در سلول رخ دهد. برای مثال سردسازی و انجماد ممکن است فرایندهایی را دگرگون سازند که در باروری و ظرفیت پذیری اسپرم نقش دارند و یا موجب به وجود آمدن تغییرات در ساختارهای ناحیه‌ای غنی از استرول غشای پلاسمایی است که به آنها رافت لیپیدی[1] می‌گویند (Cross et al., 2003).

---

۱. غشای پلاسمایی سلول از ترکیبی از گلایکواسفینگولیپیدها و گیرنده‌های پروتئینی تشکیل شده است که در میکرودومین‌های گلایکولیپوپروتئینی سازمان یافته است که به آنها رافت‌های لیپیدی (lipid rafts) می‌گویند. رافت های لیپیدی نظم بیشتری یافته‌اند و از دولایه‌های لیپیدی پیرامونی بسته بندی محکم‌تری یافته‌اند، اما به راحتی در دولایه‌ی غشایی شناور هستند.

تفاوت‌های گونه‌ای در خصوصیات مولکولی لیپیدهای غشای اسپرم وجود دارد. با وجود این، یک شکل‌بندی مولکولی خاص که ثبات سرمایی ایجاد کند، تا کنون مشخص نشده است.

بر اساس نتایج این آزمایش می‌توان اظهار داشت که ترکیب اسیدهای چرب لیپیدهای اسپرم در گونه‌های مختلف نشخوارکنندگان دارای تفاوت‌های چشمگیری است. از طرفی با توجه به آن که ترکیب لیپیدی غشا یا اسیدهای چرب خاص آن تنها عامل تعیین‌کننده سیالیت غشا نیست، انجام مطالعات بعدی بر روی درصد کلسترول و پروتئین‌های اسپرم نشخوارکنندگان پیشنهاد می‌شود.

REFERENCES

1. Blesbois, E., Grasseau, I. & Seigneurin, F. (2005). Membrane fluidity and the ability of domestic bird spermatozoa to survive cryopreservation. *Reproduction*, 129, 371-378
2. Connor, W. E., Lin, D. S., Wolf, D. P. & Alexander, M. (1998). Uneven distribution of desmosterol and docosahexaenoic acid in the heads and tails of monkey sperm. *Journal of Lipid Research*, 39, 1404-1411.
3. Cross, N. L. (2004). Reorganization of lipid rafts during capacitation of human spermatozoa. *Biology of Reproduction*, 71, 1367-1373.
4. Darrin-Bennett, A. & White, I. G. (1977). Influence of the cholesterol content of mammalian spermatozoa on susceptibility to cold-shock. *Cryobiology*, 14, 466-470.
5. Dolatpanah, M. B., Towhidi, A., Farshad, A., Rashidi, A. & Rezayazdi, K. (2007). Effects of dietary fish oil on semen quality of goats. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 21, 29-34.
6. Folch, B. J., Lees, M. & Stanly, G. H. S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal. *The Journal of Biological Chemistry*, 226, 497-509.
7. Gholami, H., Chamani, M., Towhidi, A. & Fazeli, M. H. (2010). Effect of feeding a docosahexaenoic acid-enriched nutriceutical on the quality of fresh and frozen-thawed semen in Holeshtein bulls. *Theriogenology*, 74, 1548-1558.
8. Gliozzi, T. M., Zaniboni, L., Maldjian, A., Luzi, F., Maertens, L. & Cerolini, S. (2009). Quality and lipid composition of spermatozoa in rabbits fed DHA and vitamin E rich diets. *Theriogenology*, 71, 910-919.
9. Hamilton, S., Hamilton, R. J. & Sewell, P. (1992). In: R. J. Hamilton, and S. Hamilton, (Eds.). *Lipid analysis-a practical approach: extraction of lipids and derivative formation*. p. 13-64. UK: Oxford University Press.
10. Maldjian, A., Pizzi, F., Gliozzi, T., Cerolini, S., Penny, P. & Noble, R. (2005). Changes in sperm quality and lipid composition during cryopreservation of boar semen. *Theriogenology*, 63, 411-421.
11. Neill, A. R. & Masters, C. J. (1973). Metabolism of fatty acids by bovine spermatozoa. *Journal of Reproduction and Fertility*, 34, 279-287
12. O'Flaherty, C., de Lamirande, E. & Gagnon, C. (2006). Reactive oxygen species modulate independent protein phosphorylation pathways during human sperm capacitation. *Free Radical Biology and Medicine*, 40, 1045-1055.
13. Parks, G. E. & Lynch, D. V. (1992). Lipid composition and thermotropic phase behavior of boar, bull, stallion, and rooster sperm membranes. *Cryobiology*, 29, 255-266.
14. Phillips, M. C. & Finer, E. G. (1974). The stoichipary and dynamics of lecithin-cholesterol clusters in bilayer membranes. *Biochemica et. Biophysica Acta-Biomembranes*, 356, 199-206.
15. Poulos, A., Darin-Bennett, A. & White, I. G. (1973). The phospholipid-bound fatty acids and aldehydes of mammalian spermatozoa. *Comparative Biochemistry and Physiology* Part B: *Comparative Biochemistry*, 46, 541-549.
16. Quinn, P. J., Chow, P. Y. W. & White, I. G. (1980). Evidence that phospholipid protects ram spermatozoa from cold shock at a plasma membrane site. *Journal of Reproduction and Fertility*, 60, 403-407.
17. Rooke, J. A., Shao, C-C. & Speake, B. K. (2001). Effects of feeding tuna oil on the lipid composition of pig spermatozoa and in vitro characteristics of semen. *Reproduction*, 121, 315-322.
18. Samadian, F. A., Towhidi, A., Rezayazdi, K. & Bahreini, M. (2010). Effects of dietary n-3 fatty acids on characteristics and lipid composition of ovine sperm. *Animal*, 4, 2017-2022.
19. Shinitzky, M. & Yuli, I. (1982). Lipid fluidity at the submacroscopical level: determination by fluorescence polarization. *Chemistry and Physics of Lipids*, 515, 367-394.
20. Surai, P. F., Blesbois, E., Grasseau, I., Chalah, T., Brillard, J. P., Wishart, G. J., Cerolini, S. & Sparks, N. H. C. (1998). Fatty acid composition, glutathione peroxidase and superoxide dismutase activity and total antioxidant activity of avian semen. *Comparative Biochemistry and Physiology* Part B: *Biochemistry and*

Molecular Biology, 120, 527-533.
21. Swain, J. E. & Miller, R. R. (2000). A postcryogenic comparison of membrane fatty acids of elephant spermatozoa. *Zoo Biology*, 19, 461-473.
22. Zaniboni, L., Rizzi, R. & Cerolini, S. (2006). Combined effect of DHA and a-tocopherol enrichment on sperm quality and fertility in the turkey. *Theriogenology*, 65, 1813-1827.