

## تأثیر دی آسپارتیک اسید بر کیفیت اسپرم خروس‌های مادر گوشتی

مهدی انصاری<sup>۱</sup>، مهدی زندی<sup>۲\*</sup>، حمید کهرام<sup>۳</sup>، مجتبی زاغری<sup>۴</sup> و مصطفی صادقی<sup>۵</sup>

۱، ۲، ۳، ۴ و ۵. دانشجوی دکتری، دانشیار، استادیار، استاد و دانشیار گروه علوم دامی،

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۷/۴ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۱۲/۱)

## چکیده

این پژوهش به منظور بررسی تأثیر دی آسپارتیک اسید بر برخی فراسنجه‌های کیفی اسپرم خروس‌های سویهٔ راس ۳۰۸ انجام شد. شمار ۳۰ قطعه خروس با سن ۶۰ هفته به شش گروه دسته‌بندی و به شیوهٔ کامل تصادفی درون قفس‌های انفرادی منتقل شدند. به همهٔ گروه‌های آزمایشی جیرهٔ پایهٔ یکسان داده شد و سطوح مختلف دی آسپارتیک اسید شامل: ۰ (A-0)، ۴۰ (A-40)، ۸۰ (A-80)، ۱۲۰ (A-120)، ۱۶۰ (A-160) و ۲۰۰ (A-200) میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن/روز به صورت کپسول نیز به آنها خوراندند. آزمایش پس از دو هفته عادت دهی به مدت شش هفته ادامه یافت. فراسنجه‌های کیفی اسپرم شامل: حجم منی، جنبایی کل، جنبایی پیش‌رونده، غلظت، درصد اسپرم‌های نابهنجار، درصد اسپرم‌های زنده و درصد اسپرم‌های دارای غشاء فعال بودند. نتایج این پژوهش گویای تأثیر مثبت دی آسپارتیک اسید بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم خروس بوده به طوری که با افزایش میزان مصرف دی آسپارتیک اسید همهٔ شاخص‌های کیفی اسپرم به جز درصد اسپرم‌های نابهنجار رو به افزایش گذاشتند. تأثیر سطوح تیمار مورد استفاده بر درصد اسپرم‌های نابهنجار معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ). با در نظر گرفتن همهٔ شاخص‌های ارزیابی شده تیمار A-200 به طور معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) پاسخ بهتری نسبت به دیگر تیمارها از خود نشان داد. هرچند برای تأیید این نتایج بررسی‌های بیشتری از جمله آزمون‌های باروری و جوجه‌درآوری مورد نیاز است.

## واژه‌های کلیدی: اسپرم، خروس، دی آسپارتیک اسید.

## مقدمه

برای تولید گوشت، به طور عمده به تولید جوجه‌های گوشتی متمرکز شده که وزن کشتار بالاتر با ضریب تبدیل خوراک پایین دارند. به هر حال، این موفقیت در تولید محصول نهایی در نقطهٔ مقابل نرخ تولیدمثلی گله‌های پرورشی بوده و کاهش باروری در هفته‌های آخر زندگی مشاهده می‌شود (Vizcarra et al., 2010).

تولید تخم‌های بارور عامل تعیین‌کننده در سودآوری گله‌های مادر گوشتی است. بنابراین، یکی از مهم‌ترین زیان‌های اقتصادی مربوط به تولید در صنعت طیور، ناباروری است. در گله‌های مادر گوشتی، کاهش شدید باروری به‌ویژه پس از ۵۰ هفتگی به‌عنوان یک

در بسیاری از جمعیت‌های طیور وحشی در فصل‌های غیرتولیدمثلی، بیضه‌ها تحت تغییرات بافت‌شناسی قرار می‌گیرند، این تغییرات شامل توقف کامل تولید اسپرم و تحلیل بافت پوششی (اپیتلیوم) زاینده است (Rohss & Silverin, 1983). در نقطهٔ مقابل، طیور اهلی که در دهه‌های متمادی برای تولید گوشت انتخاب شده‌اند وابستگی به فصل را از دست داده‌اند و توسعهٔ بیضه‌ای در آنها مستقل از شرایط اقلیمی بوده و تنها به‌واسطهٔ پیری و شرایط بیماری محدود می‌شود. انتخاب ژنتیکی رگه (لاین)‌های مادر گوشتی (*Gallus gallus domesticus*)

شکل "دی" اسیدآسپارتیک (D-ASP) برای نخستین بار در سال ۱۹۷۷ در مغز سرپایان (Cephalopod) شناسایی و به دلیل حضورش در دستگاه عصبی و تولیدمثلی نظرها را به سوی خود جلب کرد (D. Aniello & Giuditta, 1977). حضور D-ASP در پلاسمای منی و اسپرماتوزوای انسان تأیید شده و ارتباط مستقیمی بین کیفیت منی و غلظت D-ASP وجود دارد (Topo *et al.*, 2009). استفاده از تیمار روزانه D-ASP برای بیماران مبتلا به کاهش غلظت-جنبایی اسپرم (Oligo-asthenozoospermic) و در بیماران با جنبایی پایین اسپرم (Asthenozoospermic) به مدت سه ماه، شمار و جنبایی اسپرم هر دو گروه را به طور معنی داری بهبود داده و سبب افزایش معنی داری در آبستنی همسرانشان شده است (D. Aniello *et al.*, 2012). در پژوهشی دیگر، تیمار خوراکی DL-ASP در خرگوش سبب افزایش چهار برابری غلظت D-ASP در پلاسمای منی و سرم شد اما غلظت L-ASP سرم و پلاسمای منی تغییر معنی داری نداشت. افزون بر این، جنبایی و جنبایی پیش رونده به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد افزایش یافت (Macchia *et al.*, 2010). در شرایط برون تنی نیز استفاده از غلظت ۵۰۰ میکرولیتر در میلی لیتر D-ASP توانست جنبایی کل و پیش رونده اسپرم را طی شش ساعت نگهداری حفظ کند. همچنین، ترکیب D-ASP، روی و کوآنزیم Q<sub>10</sub> نیز از کاهش جنبایی، شکست DNA و اکسایشی (اکسیداسیون) چربی (لیپیدی) اسپرم در دوره نگهداری جلوگیری کرده است (Talevi *et al.*, 2013). بنابراین، با استناد به نتایج یافته‌های پیشین، هدف از این پژوهش بررسی تأثیر احتمالی D-ASP بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم خروس‌های مادر گوشتی بود.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش روی ۳۰ قطعه خروس مادر گوشتی با سن ۶۰ هفتگی و وزن  $5/37 \pm 0/34$  کیلوگرم انجام شد. خروس‌ها به شش گروه پنج‌تایی دسته‌بندی و به طور کامل تصادفی درون قفس‌های انفرادی (۵۰×۳۰×۴۰ سانتی‌متر) منتقل شدند. دوره نوری مورد استفاده شامل چهارده ساعت نور و ده ساعت تاریکی بود و دمای سالن

نارسایی مهم مطرح است (Romero-Sanchez, 2008). باوجوداینکه هر دو جنس نر و ماده مستول این کاهش باروری شناخته شده‌اند، ولی چون کاهش باروری در انتهای دوره تولیدی با تلقیح مصنوعی تا حدی قابل جلوگیری است، پیشنهاد شده است که نارسایی باروری به طور عمده متوجه نرها باشد. بنابراین فرضیه، کاهش باروری در خروس‌های مادر گوشتی پیر، با عامل‌هایی مانند اضافه وزن، مشکل پا یا لنگش، کمبود بیش از حد مواد مغذی، کاهش میل جنسی و کاهش کارایی یا فراوانی جفت‌گیری و یا هر دو مرتبط است (Hocking & Robertson, 2000; Romero-Sanchez *et al.*, 2008). افزون بر ناهنجاری‌های فیزیکی، با افزایش سن، کاهش در کیفیت (Hocking & Bernard, 1997; Zhang *et al.*, 1999) و کمیت (Rosenstrauch *et al.*, 1994; Zhang *et al.*, 1999) منی نیز به خوبی تأیید شده است. این کاهش باروری در خروس‌های مادر گوشتی پس از اوج تولید (۳۰-۴۰ هفتگی) آغاز می‌شود (Hocking & Bernard, 2000) و برای جبران آن، فرآیند جایگزینی نرهای گله با نرهای جوان (اسپایکینگ) انجام می‌شود. کشف سازوکار کاهش باروری در نرهای مادر گوشتی موضوع چندین پژوهش بوده است که مهم‌ترین دلایل آنرا کاهش سطح LH و تستوسترون پلازما، اختلال در فرآیند اسپرم‌ریزی (Spermiation) و همچنین افزایش غلظت استرادیول در پلازما و بیضه گزارش کردند (Rosenstrauch *et al.*, 1994; Weil *et al.*, 1999; Sarabia *et al.*, 2013). پژوهش‌های مختلفی برای بهبود باروری خروس‌ها انجام شده است که از آن جمله می‌توان به مکمل کردن جیره با انواع پاداکسنده (آنتی‌اکسیدان)ها مانند ویتامین E (Cerolini *et al.*, 2006; Deivendran & Yeong, 2015)، ویتامین C (Mc Daniel *et al.*, 2004)، تیمار با ماده گواترزی ۶-ان-پروپیل-۲-تیوراسیل (Kirby *et al.*, 1996)، تغییر درصد پروتئین جیره (Romero-Sanchez *et al.*, 2007) و استفاده از محصولات فرعی مانند تفاله سیب (Akhlaghi *et al.*, 2014)، تفاله گوجه‌فرنگی (Saemi *et al.*, 2012) و عصاره مریم‌گلی (Ommati *et al.*, 2013) اشاره کرد.

جدول ۱. اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره پایه

Table 1. Ingredients and the chemical composition of basal diet

Item	Value (Percent)	Digestible amino acids (%)	
Corn	69.5	Lysine	0.46
Soybean meal	9	Methionine	0.39
Wheat bran	19.5	Methionine & Cysteine	0.49
Dicalcium phosphate	0.18	Tryptophan	0.12
Calcium carbonate	0.85	Arginine	0.67
Sodium chloride	0.35	Valine	0.5
DL-Met	0.12	Leucine	0.53
Vitamin premix	0.25	Isoleucine	0.4
Trace mineral premix	0.25	Threonine	0.37
Composition			
ME	2754.5		
(kcal/kg)			
CP (%)	12		
Ca (%)	0.7		
Available	0.35		
P (%)			
Na (%)	0.15		
Cl (%)	0.15		
K (%)	0.6		

\* هر کیلوگرم جیره ۱۵۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۴ میلی‌گرم ویتامین K3، ۲۵ میکروگرم ویتامین B12، ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۷/۵ میلی‌گرم B5، ۵۰ میلی‌گرم B3، ۱۸ میلی‌گرم B5، ۵/۵ میلی‌گرم B6، ۵۰ میکروگرم B7 و ۱/۵ میلی‌گرم B9 دارد.

\*\* هر کیلوگرم جیره ۵۰ میلی‌گرم آهن، ۱۲۰ میلی‌گرم منگنز، ۱۱۰ میلی‌گرم روی، ۲ میلی‌گرم ید و ۰/۳ میلی‌گرم سلنیوم دارد.

\* Supplied per kg diet: vitamin A, 15,000 IU; vitamin E, 100 IU; vitamin K3, 4 mg; vitamin B12, 25 µg; vitamin D, 3,000 IU; riboflavin, 7.5 mg; niacin, 50 µg; pantothenic acid, 18 mg; pyridoxine, 5.5 mg; biotin, 50 mg and folic acid, 1.5 mg.

\*\* Supplied per kg diet: Fe, 90 mg; Mn, 120 mg; Zn, 110 mg; I, 2 mg and Se, 0.3 mg.

### قابلیت زنده‌مانی و ریخت‌شناسی

برای شناسایی اسپرم‌های زنده از مرده، از رنگ‌آمیزی حیاتی استفاده شد. برای این منظور یک قطره از مایع منی رقیق‌شده را روی لام قرار داده و سپس با یک قطره کوچک اتوزین- نیگروزین مخلوط شد. گسترش تهیه‌شده با میکروسکوپ فازکنتراست (Labomed Inc., Los Angeles, USA) و بزرگنمایی  $\times 400$  بررسی شد. در این رنگ‌آمیزی سر اسپرم‌های مرده به دلیل نقص در غشاء، رنگ را جذب کرده و قرمز می‌شوند درحالی‌که اسپرم‌های زنده، رنگ را به خود نمی‌گیرند. دویست اسپرم شمارش‌شده و درصد اسپرم‌های زنده و مرده مشخص شد (Lukasiewicz *et al.*, 2008). برای بررسی ریخت‌شناسی اسپرم از اسلایدهای تهیه‌شده برای ارزیابی زنده‌مانی استفاده شد به‌این‌ترتیب که با شمردن دویست اسپرم در هر اسلاید اسپرماتوزوای با دم پیچیده، دم دوتایی، دم‌های غیرطبیعی، سرهای بدون دم و سر دوتایی به‌عنوان

در محدوده ۲۱ تا ۲۳ درجه سلسیوس حفظ شد و خروس‌ها نیز به‌صورت هفتگی وزن‌کشی شدند. جیره پایه بنا بر توصیه میزان‌های مواد مغذی پیشنهادی شرکت اویژن برای سویه "راس ۳۰۸" (۲۰۱۳) تنظیم شد و تجزیه مواد خوراکی بر اساس جدول تجزیه مواد خوراکی کتاب (NRC (1994) و با استفاده از نرم‌افزار جیره‌نویسی UFFDA (جدول ۱) انجام شد. خروس‌ها به مدت دو هفته با روش مالش شکمی (Burrows & Quinn, 1937) برای اسپرم‌گیری عادت‌دهی شدند. نمونه‌برداری به‌صورت هفتگی و به مدت شش هفته ادامه یافت. به‌منظور اطمینان از دریافت کامل تیمار توسط حیوان پس از تعیین سطح مناسب D-ASP (Trec Nutrition, London, UK)، تیمارها به‌صورت کپسوله به خروس‌ها خوراندند (گروه‌های آزمایشی شامل سطوح مختلف ۰ (A-0)، ۴۰ (A-40)، ۸۰ (A-80)، ۱۲۰ (A-120)، ۱۶۰ (A-160) و ۲۰۰ (A-200) میلی‌گرم دی آسپارتیک اسید/کیلوگرم وزن بدن/ روز بودند). فراسنجه‌های حجم و غلظت منی، جنبایی کل، جنبایی پیش‌رونده، درصد اسپرم‌های زنده، درصد اسپرم‌های نابهنجار، شمار کل اسپرم، شمار کل اسپرم‌های زنده و شمار کل اسپرم‌های زنده و بهنجار و آزمون تورم فرااسمزی (هایپواسموتیک) اسپرم ارزیابی شدند.

### حجم و غلظت منی

حجم و غلظت منی به ترتیب با استفاده از میکروتیوب‌های مدرج و لام نئوبار ارزیابی شد.

### جنبایی و جنبایی پیش‌رونده اسپرم

برای تعیین فراسنجه‌های جنبایی و جنبایی پیش‌رونده، یک قطره از منی رقیق‌سازی‌شده با سدیم سترات ۲/۹ درصد (نسبت ۱ به ۱۰۰) روی لام گذاشته شد. برای جلوگیری از تکانه (شوک) سرمایی به اسپرم، محلول سترات سدیم در حمام بن‌ماری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شده بود. جنبایی و جنبایی پیش‌رونده با استفاده از میکروسکوپ فازکنتراست (Labomed Inc., Los Angeles, USA) با بزرگنمایی  $\times 400$  و به شیوه چشمی تعیین شد (Akhlaghi *et al.*, 2014).

تیمار و برهمکنش آن با زمان روی وزن پرنده‌ها معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ )، اما اثر زمان معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). حجم منی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمار و زمان قرار گرفت به‌طوری‌که میزان آن در گروه‌های A-200 و A-160 به‌طور معنی‌داری بالاتر از شاهد بود (۰/۳۸ و ۰/۳۶ در برابر ۰/۲۷ به ترتیب برای A-200، A-160 و شاهد) و مانند وزن بدن یک افزایش معنی‌دار در حجم منی داخل تیمارها مشاهده شد ولی برهمکنش تیمار در زمان برای آن معنی‌دار نبود (جدول ۲). اثر تیمار بر غلظت منی معنی‌دار ولی اثر زمان و برهمکنش آن با تیمار معنی‌دار نبود. غلظت منی در تیمارهای A-120، A-160 و A-200 به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود و در بین این سه تیمار یادشده A-200 و A-160 نسبت به A-120 به‌طور معنی‌داری بالاتر بودند اما تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها وجود نداشت (جدول ۲). جنبایی کل، جنبایی پیش‌رونده و درصد اسپرم‌های دارای غشاء فعال تا حدودی روند همسانی داشته و اثرگذاری‌های اصلی تیمار و زمان و برهمکنش آن‌ها روی این سه فراسنجه معنی‌دار بود. تیمار A-160 و A-200 به‌طور مشترک بالاترین جنبایی را به خود اختصاص دادند و تفاوت آن‌ها با دیگر غلظت‌ها و گروه شاهد معنی‌دار بود (جدول ۲). تغذیه با D-ASP توانست به‌طور معنی‌داری جنبایی پیش‌رونده را در گروه‌های تیماری نسبت به شاهد افزایش دهد و در بین تیمارها نیز A-200 به‌طور معنی‌داری بیشترین میزان جنبایی پیش‌رونده را داشت (جدول ۲). فعالیت غشای پلاسمایی نیز تحت تأثیر تیمار قرار گرفت و تیمارهای A-160 و A-200 بیشترین شمار اسپرم با غشای یکپارچه داشتند که نسبت به شاهد معنی‌دار بود. اثر برهمکنش تیمار در زمان برای جنبایی کل، پیش‌رونده و درصد اسپرم‌های دارای غشاء فعال در نمودار ۱ آورده شده است، به‌طوری‌که برای جنبایی کل از هفته چهارم به بعد یک افزایش معنی‌دار در حدود ۱۵ درصدی برای تیمار A-200 نسبت به گروه شاهد مشاهده شد (۹۷ در برابر ۸۲، ۹۹ در برابر ۸۱/۴ و ۹۷ در برابر ۸۴ درصد برای تیمار A-200 و شاهد به ترتیب در هفته‌های چهارم، پنجم و ششم).

اسپرماتوزوای ناهنجار در نظر گرفته می‌شود (Pursel *et al.*, 1972; Lukaszewics *et al.*, 2008).

### فعالیت غشای پلاسمایی

برای تعیین فعالیت غشای پلاسمایی از آزمون تورم هایپواسموتیک (Hypo-Osmotic Swelling Test) استفاده شد (Jeyendran *et al.*, 1984). برای انجام این آزمون، ۱۰ میکرولیتر از منی با ۴۰۰ میکرولیتر محلول هایپواسموتیک (۱۰۰ mOsm/kg) مخلوط شد. زمان نگهداری (انکوباسیون) سی دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس بود. درصد اسپرم‌های با دم و ناحیه میانی پیچ‌خورده با شمارش دوپست اسپرم در بزرگنمایی ۴۰۰× تعیین شد (Santiago-Moreno *et al.*, 2009).

### تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های این آزمایش با استفاده از طرح اندازه‌گیری‌های تکرار شوند و با رویه MIXED تجزیه و تحلیل شدند (SAS, 2002). وزن بدن به‌عنوان کواریت و اثر حیوان به‌عنوان عامل تصادفی در مدل آماری گنجانده شد و مقایسه میانگین با LSmeans برای آزمون توکی و در سطح آماری ۵ درصد انجام شد. معادله مدل آماری به قرار زیر بود:

$$Y_{ijklm} = \mu + T_i + t_j + A_k + b(BW_i - \overline{BW}) + T_{ij} + e_{ijklm}$$

در این مدل:

$Y_{ijklm}$ : صفت مورد بررسی

$T_i$ : تیمار

$t_j$ : هفته

$A_k$ : اثر حیوان

$BW_i$ : وزن بدن  $k$ امین حیوان

$T_{ij}$ : اثر متقابل تیمار  $\times$  هفته

$e_{ijklm}$ : اثر باقی‌مانده

$\overline{BW}$ : میانگین وزن بدن

### نتایج

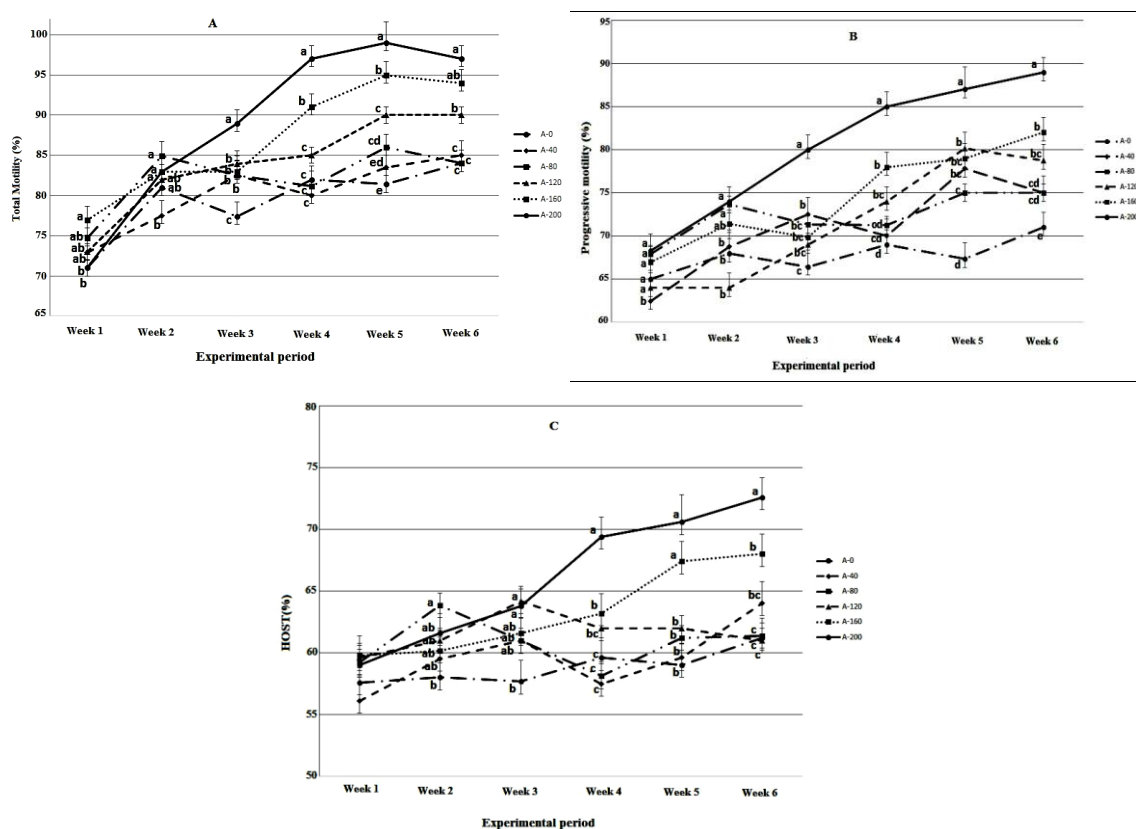
اثرگذاری‌های تیمار، سن پرنده (زمان) و برهمکنش آن‌ها بر وزن بدن و فراسنجه‌های منی خروس‌های مادر گوشتی در جدول ۲ آورده شده است. اثر اصلی

جدول ۲. تأثیر سطوح مختلف دی آسپارتیک اسید بر وزن بدن و فراسنجه‌های اسپرم (LSM±SE) خروس‌های مادر گوشتی  
Table 2. The effect of different levels of D-aspartic acid on body weight and semen characteristics (LSM±SE) of male broiler breeders

Characteristics (unit)	Treatments						P value		
	A-0	A-40	A-80	A-120	A-160	A-200	Treatment	Time	Treatment × Time
Body Weight (gram)	5776±0.18	5750±0.2	5745±0.18	5654±0.18	5824±0.18	5925±0.18	0.9392	<0.0001	0.2307
Semen Volume (mL/rooster)	0.278±0.02 <sup>c</sup>	0.249±0.023 <sup>d</sup>	0.319±0.21 <sup>bc</sup>	0.296±0.02 <sup>c</sup>	0.361±0.02 <sup>ab</sup>	0.389±0.021 <sup>a</sup>	0.0012	<0.0001	0.1655
Semen Concentration (10 <sup>9</sup> /mL)	4.04±0.071 <sup>c</sup>	4.06±0.06 <sup>c</sup>	4.22±0.074 <sup>c</sup>	4.48±0.072 <sup>b</sup>	4.64±0.076 <sup>ab</sup>	4.75±0.073 <sup>a</sup>	<0.0001	0.1721	0.0684
Total Motility (%)	79.46±0.8 <sup>d</sup>	80.25±0.9 <sup>cd</sup>	82.21±0.84 <sup>bc</sup>	83.98±0.83 <sup>b</sup>	87.15±0.87 <sup>a</sup>	89.56±0.85 <sup>a</sup>	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Progressive Motility (%)	67.88±0.92 <sup>d</sup>	70.97±1.04 <sup>c</sup>	72.36±0.95 <sup>bc</sup>	72.63±0.95 <sup>bc</sup>	74.54±0.98 <sup>b</sup>	80.70±0.97 <sup>a</sup>	<0.0001	<0.0001	0.0031
Viability (%)	80.53±0.97 <sup>b</sup>	79.45±1.1 <sup>b</sup>	80.24±1.03 <sup>b</sup>	83.8±1.01 <sup>a</sup>	85.43±1.06 <sup>a</sup>	85.8±1.04 <sup>a</sup>	0.0004	<0.0001	0.9439
Abnormality (%)	9±0.35	8.74±0.4	8.92±0.37	9.21±0.37	9.14±0.4	9.36±0.39	0.8989	0.9814	0.4044
Hypo-osmotic swelling test (%)	58.9±0.99 <sup>c</sup>	59.61±1.12 <sup>c</sup>	60.8±1.03 <sup>bc</sup>	61.75±1.01 <sup>bc</sup>	63.5±1.03 <sup>ab</sup>	66.16±1.02 <sup>a</sup>	0.0005	<0.0001	0.0069

a, b, c, d: میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرهمسان اختلاف معنی‌دار دارند (p<0.05).

a, b, c, d: Means with different letters within a row are statistically significant (p<0.05).



نمودار ۱. تغییرات هفتگی فراسنجه‌های جنبایی کل (A)، جنبایی پیش‌رونده (B) و درصد اسپرم‌های دارای غشاء فعال (C).

تیمارها شامل شاهد (A-0)، مقدار ۴۰ (A-40)، ۸۰ (A-80)، ۱۲۰ (A-120)، ۱۶۰ (A-160) و ۲۰۰ میلی‌گرم D-ASP در کیلوگرم وزن بدن در روز به مدت شش هفته (هفته‌های ۶۶-۶۰). حروف غیرهمسان در هر هفته نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست (p<0.05).

Figure 1. Weekly variation in total motility (A), progressive motility (B) and percentage of sperm with functional membrane (C). Treatment groups including: control (A-0), 40 (A-40), 80 (A-80), 120 (A-120), 160 (A-160), 200 (A-200) mg D-ASP/kg of BW/day for 6 weeks (60-66 weeks). a, b: Different letters in each week indicate statistically significant differences between treatments (p<0.05).

۱. الف). جنبایی پیش‌رونده روند همسانی با جنبایی کل در خروس‌های تغذیه‌شده با D-ASP نسبت به خروس‌های شاهد داشت و از هفته سوم به بعد افزایش

همچنین، روند افزایشی معنی‌دار دیگری با شدت کمتر (در مقایسه با A-200) برای تیمارهای A-160 و A-120 نسبت به گروه شاهد وجود داشت (نمودار

کرده‌اند (Saemi et al., 2012; Ommati et al., 2013). کاهش قابل‌توجهی در حجم و غلظت منی در خروس‌های مادر مسن مشاهده شده است (Vital-Cohen et al., 2013). در این بررسی حجم، غلظت و جنبایی کل و پیش‌رونده با تیمار D-ASP به‌ویژه بالاترین سطح آن بهبود یافتند. نتایج این آزمایش با بررسی D Aniello et al. (2012) همخوانی داشت، که در آن افزودن سدیم دی آسپاراتات به برنامه (رژیم) غذایی مردان در دو گروه مبتلا به اسپرم با جنبایی کم و اسپرم با جنبایی و غلظت پایین توانست غلظت و جنبایی پیش‌رونده را به‌طور معنی‌داری افزایش دهد. بررسی‌های دیگری حضور غلظت‌های زیادی از D-ASP را در پلاسمای منی و اسپرم گزارش کرده‌اند (D Aniello et al., 1998, 2005). افزون بر این، آنان نشان دادند که در پلاسمای منی و اسپرم افراد با منی کم غلظت، کم جنبا و نابهنجار (Oligoasthenoteratospermic)، غلظت D-ASP به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از افراد سالم است (کاهش ۳/۱ برابری در پلاسمای منی و کاهش ۲/۱۶ برابری در اسپرماتوزوا). همچنین در پلاسمای منی افراد آزواسپرمیک، D-ASP کاهش شدیدتری دارد (کاهش ۶/۶۶ برابری). در بررسی دیگری روی خرگوش نیز دی ال آسپاراتیک اسید توانست غلظت اسپرم و جنبایی پیش‌رونده را از زمان آغاز تا سه هفته پس از قطع تجویز تیمار به‌طور معنی‌داری افزایش دهد (Macchia et al., 2010). افزایشی در جنبایی اسپرم خروس‌هایی که در معرض گلوتامات و NMDA (Froman, 2003) و همچنین دی هوموسیستین سولفینیک اسید (Froman et al., 2006)، آگونیست گیرنده NMDA، قرار گرفتند مشاهده شده است (D Aniello et al., 2000). دی آسپاراتیک اسید پیش‌ساز NMDA بوده و به‌صورت درون‌زاد توسط NMDA سنتاز، با انتقال یک گروه متیل از اس-آدنوزیل متیونین به D-ASP ساخته می‌شود. اثر D-ASP بر جنبایی اسپرم ممکن است توسط گیرنده‌های NMDA میانجیگری شود که به کلسیم خارج یاخته‌ای نفوذپذیر هستند. کلسیم برای تحرک اسپرم نیاز بوده (Gualtieri et al., 2005) و به‌صورت هم‌افزا با آنیون  $\text{HCO}_3^-$  بسامد ضربه‌های فلاژلوم را از

معنی‌دار در حدود ۱۵ درصدی بین گروه شاهد و تیمار A-200 دیده شد، این فاصله در هفته پنجم به حدود ۲۰ درصد نیز رسیده و دوباره اندکی کاهش یافت (۸۰ در برابر ۶۶/۴۵، ۸۵ در برابر ۶۹، ۸۷/۹ در برابر ۶۷ و ۸۹ در برابر ۷۱ درصد برای A-200 و شاهد به ترتیب در هفته‌های سوم، چهارم، پنجم و ششم) (نمودار ۱. ب). درصد اسپرم‌های با غشاء فعال نیز تا حدودی همسان با جنبایی پیش‌رونده بود و تیمار A-200 از هفته چهارم به بعد اختلاف حدود ۱۰ درصدی را با گروه شاهد حفظ کرد (۶۹/۴ در برابر ۵۹/۶، ۷۰/۵۸ در برابر ۵۹/۰۷، ۷۲/۶ در برابر ۶۱/۲ برای تیمارهای A-200 و شاهد به ترتیب در هفته چهارم، پنجم و ششم) این روند با شدت کمتر اما همسان برای تیمار A-160 نیز صادق بود (۶۳/۲ در برابر ۵۹/۶، ۶۷/۴ در برابر ۵۹/۰۷ و ۶۸ در برابر ۶۱/۲ برای تیمارهای A-160 و شاهد به ترتیب در هفته چهارم، پنجم و ششم) (نمودار ۱. ج).

اثر تیمار و زمان بر درصد اسپرم‌های زنده معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ) ولی برهمکنش تیمار در زمان معنی‌دار نبود. تیمارهای A-120، A-160 و A-200 به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه‌های دیگر اسپرم‌های زنده بالاتری داشتند اما این سه تیمار و سه تیمار باقی‌مانده (A-0، A-40 و A-80) بین خودشان تفاوت معنی‌دار نداشتند. اثرگذاری‌های اصلی تیمار، زمان و برهمکنش آن‌ها بر درصد اسپرم‌های نابهنجار معنی‌دار نبود (جدول ۲).

## بحث

در این پژوهش D-ASP به‌عنوان یک مکمل خوراکی برای تعدیل کاهش باروری در خروس‌های مادر گوشتی بررسی شد. به‌طور کلی این اسید آمینه توانست برخی از فراسنجه‌های کیفی اسپرم خروس را به‌طور معنی‌داری بهبود دهد. بررسی‌ها روی فراسنجه‌های منی خروس‌های ۲۴-۳۴ هفتگی یک دامنه ۰/۴۵-۰/۵۲ میلی‌لیتری برای حجم منی،  $4 \times 10^9 - 3 \times 10^9$  اسپرم در میلی‌لیتر برای غلظت منی، ۷۷/۵-۸۴/۱ درصدی برای جنبایی پیش‌رونده، ۷۹/۲-۷۴/۴ درصدی برای اسپرم‌های زنده و ۷/۴-۱۳/۸ درصدی را برای اسپرم‌های نابهنجار گزارش

و هیپوفیز و در نتیجه آزادسازی LH، غلظت تستوسترون را افزایش می‌دهد. تستوسترون به‌عنوان مهم‌ترین آندروژن بدن اثر جایگزین‌نشدنی در گام‌های حیاتی مانند آغاز میوز، سد خونی بیضه‌ای، چسبندگی سرتولی-اسپرماتید و اسپرم‌ریزی (Spermiation) دارد (Smith & Walker, 2014).

در این بررسی استفاده از D-ASP توانست به‌طور معنی‌داری درصد اسپرم‌های با غشای فعال را افزایش دهد و این اثر به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر بسیار مشهود بود این گزارش به‌عنوان نخستین مورد بررسی اثر D-ASP بر فعالیت غشای پلاسمایی است. بنابراین در مورد اثر مستقیم احتمالی D-ASP بر غشای اسپرم بررسی در دسترس نیست، اما همبستگی بین درصد اسپرم‌های دارای غشای فعال با اسپرم‌های دارای شکل طبیعی، اسپرم‌های جنبا و زنده به ترتیب ۰/۳، ۰/۶۱ و ۰/۵۲ گزارش شده است (Jeyendran *et al.*, 1984). این همبستگی مثبت به‌نسبت بالا نشان‌دهنده وجود عامل‌های مشترکی است که هم‌زمان بر فعالیت غشای پلاسمایی، جنبایی و زنده‌مانی اسپرم اثر می‌گذارند. بنابراین بهبود جنبایی و زنده‌مانی در این آزمایش می‌تواند از راهکارهای مشترکی بر بهبود فعالیت غشای پلاسمایی نیز اثر گذاشته باشد. افزون بر این تأثیر تحریکی D-ASP بر ساخت آندروژن‌ها به‌ویژه تستوسترون به‌خوبی تأیید شده است (Di Fiore *et al.*, 2014) و تستوسترون تأثیر غیرقابل جایگزین شدنی بر لوله فرابیضه (پی‌دیدم) به‌عنوان آخرین جایگاه بلوغ اسپرم دارد. فلوتامید (Flutamide) با اتصال به گیرنده آندروژن‌ها تأثیر ناهمسازی (آنتاگونیستی) دارد، استفاده از این ماده به‌صورت درون تنی در خوک‌های بالغ با تغییر در معماری چربی‌های غشا، سبب کاهش یکپارچگی و پایداری غشای اسپرم لوله فرابیضه‌ای شده است (Lydka *et al.*, 2012).

بهبود زنده‌مانی در این آزمایش برای سطوح A-120، A-160 و A-200 از مسیرهای مختلف ممکن است میانجیگری شود. دی آسپارتیک اسید با مهار قطعه‌قطعه شدن DNA و پراکسیداسیون چربی (Talevi *et al.*, 2013) و فعال‌سازی آبخارهای یاخته‌ای

طریق یک مسیر وابسته به آدنیلیل سیکلاز و پروتئین کیناز A افزایش می‌دهد (Carlson *et al.*, 2003). کنش تحریکی  $\text{HCO}_3^-$  به حضور پیوسته کلسیم خارج یاخته‌ای نیازمند است. از سوی دیگر، D-ASP ممکن است یک نقش غیرمستقیم در جنبایی اسپرم با تولید یک پروتئین ویژه پیوند یابنده به هورمون جنسی و دخالت در فعالیت گونادوتروپیکی سامانه هیپوتالاموس-هیپوفیز بازی کند. در همین رابطه D-ASP در هسته یاخته‌های هیپوتالاموس و نوروهیپوفیز به‌طور مستقیم با DNA یا پروتئین‌های هسته برهمکنش داشته و فرآیند رونویسی از ژن‌های خاصی را فعال یا غیرفعال می‌کند (Wang *et al.*, 2002).

بررسی‌ها نشان دادند که تیمار D-ASP بیان هر دو زیر واحد NR1 و NR2A گیرنده NMDA را در بیضه موش صحرایی افزایش داده که منجر به افزایش فسفوریلاسیون (ERK1/2 Extracellular signal-regulated kinases) می‌شود. بررسی‌های ایمنوهیستوشیمی نشان دادند که زیر واحد NR1 پروتئین P-ERK1/2 به‌طور عمده در اسپرماتوگونی‌ها حضور دارند (Santillo *et al.*, 2014) و اهمیت آبخار یاخته‌ای ERK1/2 در اسپرم‌سازی (میوز، میتوز) تأیید شده است (Tal Almog, 2008)، افزون بر این، تجویز درون تنی D-ASP سبب افزایش بیان گیرنده c-kit و فعالیت تایروزین کیناز در اسپرماتوگونیای مارمولک ایتالیایی (*Podarcis sicula sicula*) (Raucci & Di Fiore, 2009) و افزایش قوی در فعالیت ایمنی PCNA، شناساگر فعالیت میتوزی، در اسپرماتوگونیای قورباغه خوراکی (*Rana esculenta*) و مارمولک ایتالیایی شده است. در بررسی‌های برون تنی نیز اثر مستقیم D-ASP در اسپرم‌سازی بر دودمان یاخته‌ای اسپرماتوگونی موش (GC-1spg) مشاهده شده است که در آن ERK و PCNA و همچنین AKT، مسیر زنده‌مانی یاخته‌ای، فعال شده است (Di Fiore *et al.*, 2014). اثر غیرمستقیم D-ASP بر اسپرم‌سازی و افزایش غلظت اسپرم را می‌توان با افزایش تستوسترون توجیه کرد. دی آسپارتیک اسید به‌طور مستقیم با افزایش بیان StAR و دیگر آنزیم‌های درگیر در مسیر ساخت تستوسترون همچنین با تحریک هیپوتالاموس

D-ASP دارد (Tang *et al.*, 2012). بنابراین، احتمال دارد به‌طور غیرمستقیم و با افزایش غلظت آندروژن‌ها سبب بهبود کارایی هر دو جایگاه در انتخاب و حذف اسپرم‌های نابهنجار شده است.

#### نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی در این پژوهش استفاده از دی آسپارتیک اسید توانست برخی از فراسنجه‌های کیفی اسپرم خروس را بهبود دهد. سازوکارهای پیشنهادی برای این تأثیر احتمال دارد به‌طور مستقیم و با فعال‌سازی سازوکارهای درون‌یاخته‌ای در یاخته‌های بیضه شامل اسپرما توگونی، سرتولی و لایدیگ و یا غیرمستقیم با فعال‌سازی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گونا د مرتبط باشد اما برای تأیید نتایج این پژوهش بررسی‌های بیشتری به‌ویژه آزمون‌های باروری و جوجه‌درآوری موردنیاز است.

زنده‌مانی (Di Fiore *et al.*, 2014) به‌طور مستقیم بر درصد زنده‌مانی مؤثر است.

نبود تغییر معنی‌دار در درصد اسپرم‌های نابهنجار هم‌زمان با افزایش غلظت و حجم منی در این آزمایش نشان‌دهنده فعال شدن یک سازوکار قوی برای انتخاب و حذف اسپرم‌های نابهنجار در منی است. به‌طور معمول فرآیند حذف اسپرم‌های نابهنجار درون بیضه و در هنگام اتصال آن‌ها به یاخته‌های سرتولی (Smith & Walker, 2014) و به‌واسطه یوبیکوئیتیناسیون آن‌ها و فاگوسیتوز توسط یاخته‌های اصلی موجود در لوله فرابیضه (Sutovsky *et al.*, 2001) روی می‌دهد. تستوسترون و سوخت‌وسازگر (متابولیت) فعال‌تر آن یعنی دی هیدروتستوسترون نقش مهمی در کارکرد درست هر دو جایگاه بر عهده دارند و رابطه بین غلظت بالای تستوسترون آزاد و قابل‌دسترس پلازما و درصد اسپرم‌های با ریخت‌شناسی سالم بالا تأیید شده است

#### REFERENCES

1. Akhlaghi, A., Jafari Ahangari, Y., Zhandi, M. & Peebles, E. D. (2014). Reproductive performance, semen quality, and fatty acid profile of spermatozoa in senescent broiler breeder roosters as enhanced by the long-term feeding of dried apple pomace. *Animal Reproduction Science*, 147, 64-73.
2. Burrows, W. H. & Quinn, J. P. (1937). The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. *Poultry Science*, 26, 19-24.
3. Carlson, A. E., Westenbroek, R. E., Quill, T., Ren, D., Clapham, D. E., Hille, B., Garbers, D. L. & Babcock, D. F. (2003). CatSper1 required for evoked Ca entry and control of flagellar function in sperm. *Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.*, 100, 14864-14868.
4. Cerolini, S., Zaniboni, L., Maldjian, A. & Gliozzi, T. (2006). Effect of docosahexaenoic acid and [alpha]-tocopherol enrichment in chicken sperm on semen quality, sperm lipid composition and susceptibility to peroxidation. *Theriogenology*, 66, 877-886.
5. D'Aniello, A. & Giuditta, A. (1977). Identification of D-aspartic acid in the brain of *Octopus vulgaris*. *Journal of Neurochemistry*, 29, 1053-1057.
6. D'Aniello, G., Ronsini, S., Notari, T., Grieco, N., Infante, V., D'Angelo, N., Mascia, F., Di Fiore, M. M., Fisher, G. & D'Aniello, A. (2012). D-Aspartate, a key element for the improvement of sperm quality. *Advance in Sexual Medicine*, 2, 47-53.
7. D'Aniello, A., Di Fiore, M.M., Fisher, G.H., Milone, A., Seleni, A., D'Aniello, S., Perna, A. & Ingrosso, D. (2000). Occurrence of D-Aspartic acid and N-methyl-D-aspartic acid in rat neuroendocrine tissues and their role in the modulation of luteinizing hormone and growth hormone release. *FASEB Journal*, 14, 699-714.
8. D'Aniello, A., Di Fiore, M.M., D'Aniello, G., Colin, F.E., Lewis, G. & Setchell, B.P. (1998). Secretion of D-aspartic acid by the rat testis and its role in endocrinology of the testis and spermatogenesis. *FEBS Letters*, 436, 23-27.
9. D'Aniello, G., Ronsini, S., Guida, F., Spinelli, P. & D'Aniello, A. (2005). Occurrence of D-aspartic acid in human spermatozoa: Possible role in reproduction. *Fertility and Sterility*, 84, 1444-1449.
10. Deivendran, R. & Yeong, H.H. (2015). Effects of Dietary Vitamin E on Fertility Functions in Poultry Species. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 9910-9921.
11. Di Fiore, M. M., Lamanna, C., Assisi, L. & Botte, V. (2008). Opposing effects of D-aspartic acid and nitric oxide on tuning of testosterone production in mallard testis during the reproductive cycle. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 6, 28-36.
12. Di Fiore, M. M., Baccari, G. C. & Santillo, A. (2014). Current knowledge of D-aspartate in glandular tissues. *Amino Acids*, 46, 1805-1818.



13. Froman, D. P. (2003). Deduction of a model for sperm storage in the oviduct of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Biology of Reproduction*, 69, 248-253.
14. Froman, D. P., Wardell, J. C. & Feltmann, A. J. (2006). Sperm mobility: deduction of a model explaining phenotypic variation in roosters (*Gallus domesticus*). *Biology of Reproduction*, 74, 487-49.
15. Gualtieri, R., Boni, R., Tosti, E., Zagami, M. & Talevi, R. (2005). Intracellular calcium and protein tyrosine phosphorylation during the release of bovine sperm adhering to the fallopian tube epithelium in vitro. *Reproduction*, 129, 51-60.
16. Hocking, P. M. & Bernard, R. (1997). Effects of dietary crude protein content and food intake on the production of semen in two lines of broiler breeder males. *British Poultry Science*, 28, 199-202.
17. Hocking, P. M. & Bernard R. (2000). The effects of the age of male and female broiler breeders on fertility and hatchability of eggs. *British Poultry Science*, 41, 370-377.
18. Hocking, P. M. & Robertson, G. W. (2000). Ovarian follicular dynamics in selected and control (relaxed selection) male- and female-lines of broiler breeders fed ad libitum or on restricted allocations of food. *British Poultry Science*, 41, 229-234.
19. Jeyendran, R., Van Der Ven, H., Perez-Pelaez, M., Crabo, B. & Zaneveld, L. (1984). Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relation to other semen characteristics. *Journal of Reproduction and Fertility*, 70, 219-228.
20. Kirby, J. D., Mankar, M. V., Hardesty, D. & Kreider, D. L. (1996). Effects of transient prepubertal 6-N-propyl-2-thiouracil treatment on testis development and function in the domestic fowl. *Biology of Reproduction*, 55, 910-916.
21. Lydka, M., Piasecka, M., Gaczarzewicz, D., Kozirowski, M. & Bilinska, B. (2012). Administration of flutamide alters sperm ultrastructure, sperm plasma membrane integrity and its stability, and sperm mitochondrial oxidative capability in the boar: in vivo and in vitro approach, *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 635-643.
22. Macchia, G., Topo, E., Mangano, N., D'Aniello, E. & Boni, R. (2010). DL-Aspartic acid administration improves semen quality in rabbit bucks. *Animal Reproduction Science*, 118, 337-343.
23. McDaniel, C. D., Hood, J. E. & Parker, H. M. (2004). An attempt at alleviating heat stress infertility in male broiler breeder chickens with dietary ascorbic acid. *International Journal of Poultry Science*, 3, 593-602.
24. Ommati, M. M., Zamiri, M. J., Akhlaghi, A., Atashi, H., Jafarzadeh, M. R., Rezvani, M. R. & Saemi, F. (2013). Seminal characteristics, sperm fatty acids, and blood biochemical attributes in breeder roosters orally administered with sage (*Salvia officinalis*) extract. *Animal Production Science*, 53, 548-554.
25. Pursel, V.G., Johnson, L.A. & Rampacek, G.B. (1972). Acrosome morphology of boar spermatozoa incubated before cold shock. *Journal of Animal Science*, 34, 278-283.
26. Raucci, F. & Di Fiore, M. M. (2009). The reproductive activity in the testis of *Podarcis s. sicula* involves D-aspartic acid: a study on c-kit receptor protein, tyrosine kinase activity and PCNA protein during annual sexual cycle. *General and Comparative Endocrinology*, 161, 373-383.
27. Rohss, M. & Silverin, B. (1983). Seasonal variation in the ultrastructure of leydig cells and plasma levels of luteinizing hormone and steroid hormones in juvenile and adult male great tits *Parus major*. *Ornis Scandinavia*, 14, 202-212.
28. Romero-Sanchez, H., Plumstead, P.W., Leksrisompong, N., Brannan, K.E. & Brake, J. (2008). Feeding broiler breeder males. Deficient feed allocation reduces fertility and broiler progeny body weight. *Poultry Science*, 87, 805-11.
29. Romero-Sanchez, H., Plumstead, P.W. & Brake, J. (2007). Feeding broiler breeder males. 1. Effect of feeding program and dietary crude protein during rearing on body weight and fertility of broiler breeder males. *Poultry Science*, 86, 168-174.
30. Rosenstrauch, A., Degan, A.A. & Friedlander, M. (1994). Spermatozoa retention by sertoli cells during the decline in fertility in aging roosters. *Biology of Reproduction*, 50, 129-136.
31. Saemi, F., Zamiri, M.J., Akhlaghi, A., Niakousari, M., Dadpasand, M. & Ommati, M.M. (2012). Dietary inclusion of dried tomato pomace improves the seminal characteristics in Iranian native roosters. *Poultry Science*, 91, 2310-2315.
32. Santillo, A., Falvo, S., Chieffi, P., Burrone, L., Chieffi Baccari, G., Longobardi, S. & Di Fiore, M. M. (2014). D-Aspartate affects NMDA receptor-extracellular signal-regulated kinase pathway and upregulates androgen receptor expression in the rat testis. *Theriogenology*, 81, 744-751.
33. Santiago-Moreno, J., Castaño, C., Coloma, M.A., Gómez-Brunet, A., Toledano-Díaz, A., López-Sebastián, A. & Campo, J.L. (2009). Use of the hypo-osmotic swelling test and aniline blue staining to improve the evaluation of seasonal sperm variation in native Spanish free-range poultry. *Poultry Science*, 88, 2661-2669.
34. Sarabia, F.J., Díaz, M.P., Moreno, J.C.A., Infesta, P.C., Rodriguez-Berto, A. & Barger K. (2013). Relationships between Fertility and some parameters in male broiler breeders (body and testicular weight, histology and immunohistochemistry of testes, spermatogenesis and hormonal levels). *Reproduction in Domestic Animals*, 48, 345-352.

35. Sexton, K. J., Renden, J. A., Marple, D. N. & Kempainen, R. J. (1989). Effects of dietary energy on semen production, fertility, plasma testosterone, and carcass composition of broiler-breeder males in cages. *Poultry Science*, 68, 1688-1694.
36. Smith, L. B. & Walker, W. H. (2014). The regulation of spermatogenesis by androgens. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 30, 2-13.
37. Sutovsky, P., Terada, Y. & Schatten, G. (2001). Ubiquitin-based sperm assay for the diagnosis of male factor infertility. *Human Reproduction*, 16, 250-258.
38. Tang, W.H., Jiang, H., Ma, L.L., Hong, K., Zhong, Q., Yang, C.S., Zhao, L.M., Liu, D.F., Mao, J.M., Yang, Y., Chen, Q., Yuan, R.P., Zhang, X., Li, B. & Wei, N. (2012). Relationship of sperm morphology with reproductive hormone levels in infertile men. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 18, 243-247.
39. Tal Almag, Z.N. (2008). Mitogen activated protein kinases (MAPKs) as regulators of spermatogenesis and spermatozoa functions. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 282, 39-44.
40. Talevi, R., Barbato, V., Fiorentino, I., Braun, S., Longobardi, S. & Gualtieri, R. (2013). Protective effects of in vitro treatment with zinc, D-aspartate and coenzyme q10 on human sperm motility, lipid peroxidation and DNA fragmentation. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 11, 81-88.
41. Topo, E., Soricelli, A., D'Aniello, A., Ronsini, S. & D'Aniello, G. (2009). The role and molecular mechanism of D-aspartic acid in the release and synthesis of LH and testosterone in humans and rats. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 7, 120-130.
42. Vizcarra, J. A., Kirby, J. D. & Kreider, D. L. (2010). Testis development and gonadotropin secretion in male broiler breeders. *Poultry Science*, 89, 328-334.
43. Wang, H., Wolosker, H., Morris, J. F., Pevsner, J., Snyder, S. H. & Selkoe, D. J. (2002). Naturally occurring free d-aspartate is a nuclear component of cells in the mammalian hypothalamo-neurohypophyseal system. *Neuroscience*, 109, 1-4.
44. Weil, S., Rozemboim, I., Degeen, A. A., Friedlander, M. & Rosenstrauch, A. (1999). Fertility decline in aging roosters is related to increase testicular and plasma levels of estradiol. *General and Comparative Endocrinology*, 115, 23-28.
45. Zhang, X., Berry, W. D., McDaniel, G. R., Roland, D. A., Liu, P., Calvert, C. & Wilhite, R. (1999). Body weight and semen production of broiler breeder males as influenced by crude protein levels and feeding regimens during rearing. *Poultry Science*, 78, 190-196.

## The effect of D-aspartic acid on sperm quality of broiler breeder roosters

Mahdi Ansari<sup>1</sup>, Mahdi Zhandi<sup>2\*</sup>, Hamid Kohram<sup>3</sup>, Mojtaba Zaghari<sup>4</sup> and Mostafa Sadeghi<sup>2</sup>

1, 2, 3, 4. Ph.D. Student, Associate Professors, Assistant Professor and Professor, Department of Animal Science, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

(Received: Sep. 26, 2015 - Accepted: Feb. 20, 2016)

### ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of D-aspartic acid on semen characteristics of Ross 308 roosters. Thirty 60-wk-old Ross 308 roosters were randomly assigned into 6 groups and individually caged. All groups fed the same basal diet and orally administered with different levels of D-aspartic acid: 0(A-0), 40 (A-40), 80 (A-80), 120 (A-120), 160 (A-160), and 200 (A-200) mg/Kg BW per day as a single capsulated dose. Seminal characteristics including ejaculate volume, motility, progressive motility, sperm concentration, abnormality, viability and hypo osmotic swimming test were studied following two weeks of adaptation period, and continued for up to six weeks. Results of the experiment revealed that D-Aspartic acid positively affected rooster sperm parameters with all parameters being significantly improved with increasing the level of D-aspartic acid except for abnormality percentage that was not significantly affected by the treatment ( $p>0.05$ ). Taking all parameters into account, A-200 treatment exhibited the most optimal response in sperm parameters amongst all treatments. However, further studies including fertility and hatchability tests are needed to ascertain these results.

**Keywords:** D-Aspartic acid, rooster, sperm.