Iranian Journal of Animal Science
Vol 50, No 4, Winter 2020 (295-306)
DOI: 10.22059/ijas.2018.252502.653618

علوم دامی ایران
دورهٔ ۵۰، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۳۹۸ (ص ۳۰۶-۲۹۵)

تأثیر کورکومین بر فراسنجه‌های کیفی و باروری اسپرم خروس‌های مادرگوشتی پس از یخ‌گشایی

فایزه جلیلی[۱]، احمد زارع‌شحنه[۲*]، سعید زین الدینی[۳*]، علیرضا یوسفی[٤] و امین کاظمی‌زاده[۱]
۱، ۲ و ۳. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استاد و دانشیار، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
٤. استادیار بخش تحقیق، پرورش و تولید حیوانات آزمایشگاهی، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹٦/۱۲/۷ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۲/۱۱)

چکیده

هدف این پژوهش، مطالعه اثر تغذیه کورکومین بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم و باروری خروس‌های مادرگوشتی پس از یخ‌گشایی بود. تعداد ۲۰ قطعه خروس مادرگوشتی سویه راس ۳۰۸ در سن ٤۹ هفتگی به‌طور تصادفی به چهار گروه آزمایشی (n =۵) تقسیم شدند. سطوح مختلف کورکومین شامل: صفر (T1)، ۱۰ (T2)، ۲۰ (T3) و ۳۰ (T4) میلی‌گرم کورکومین به‌ازای هر پرنده در هر روز به جیره پایه اضافه و از ٤۹-٦۱ هفتگی به پرنده‌ها تغذیه شد. پس از گذشت یک دوره پنج هفته‌ای از تغذیه کورکومین (٤۹-۵۳ هفتگی)، فراسنجه‌های کیفی اسپرم طی شش هفته (۵٤ تا ۵۹ هفتگی) پس از یخ‌گشایی ارزیابی شد. نمونه‌های منی هفته‌های ٦۰ و ٦۱ پس از یخ‌گشایی برای ارزیابی باروری، به ٦۸ مرغ مادر گوشتی (n=۱۷) تلقیح شد. نتایج نشان داد جنبایی کل در تیمارهای T3 و T4 و جنبایی پیش‌رونده در تیمارهای T2، T3 و T4 نسبت به T1 افزایش یافت (P<۰/۰۵). تغذیه کورکومین زنده‌مانی اسپرم را پس از یخ‌گشایی در تیمارهای T3 و T4 نسبت به T1 افزایش داد (P<۰/۰۵). عملکرد غشای پلاسمایی (HOS) در تمامی‌گروه‌های تیماری دارای کورکومین نسبت به تیمار T1 افزایش یافت (P<۰/۰۵)، به‌طوری که بیشترین عملکرد مربوط به تیمارهای T3 و T4 بود. نرخ باروری اسپرم در تیمارهای T3 و T4 نسبت به T1 افزایش یافت (P<۰/۰۵). در کل، نتایج این پژوهش نشان از تأثیرات مثبت تغذیه کورکومین بر کیفیت اسپرم و باروری خروس‌های مادرگوشتی پس از یخ‌گشایی داشت و بهترین عملکرد زمانی حاصل شد که روزانه ۲۰ یا ۳۰ میلی‌گرم کورکومین به‌ازای هر پرنده به‌مدت ۱۳ هفته تغذیه شد.

واژه‌های کلیدی: آنتی اکسیدان، انجماد اسپرم، خروس، زردچوبه.

The effect of curcumin on frozen-thawed sperm quality and fertility of broiler breeder roosters

Faezeh Jalili[1], Ahmad Zare-Shahneh[2*], Saeid Zeinoaldini[3*], Ali Reza Yousefi[4] and Amin Kazemizadeh[1]
1, 2, 3. M.Sc. Student, Professor and Associated Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
4. Assistant Professor, Department of Research, Breeding and Production of Laboratory Animals, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
(Received: Feb. 26, 2018 - Accepted: May 1, 2018)

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effect of curcumin on post-thawed sperm quality parameters and fertility of male broiler breeders. Twenty 49-week-old Ross 308 broiler roosters were randomly divided into four experimental groups (n=5). Different levels of curcumin including: 0 (T1), 10 (T2), 20 (T3) and 30 (T4) mg of curcumin/bird/day were supplemented to basal diet and fed to the birds from 49-61 weeks of age. After a 5-week of feeding curcumin (49-53 weeks), sperm quality was assessed for 6 weeks (54 to 59 weeks of age) following cryopreservation of semen samples. In order to evaluate fertility rate, the semen samples from weeks 60 and 61 were thawed and artificially inseminated into 68 broiler hens (n=17). Curcumin supplementation increased total motility in the T3 and T4 groups, and progressive motility in the T2, T3, and T4 groups compared to the T1 group (P<0.05). Feeding curcumin increased the viability of sperm in T3 and T4 groups compared to the T1 group (P<0.05). Plasma membrane functionality (HOS) was increased in all curcumin-treated birds compared to the control group (P<0.05); however, the highest performance was observed in T3 and T4 groups. Curcumin supplementation increased fertility rate in T3 and T4 groups compared to the T1 group. In general, the results of this study indicated positive effects of curcumin on sperm quality and fertility of broiler breeder roosters after thawing, and the best results were obtained when 20 or 30 mg of curcumin were fed daily for 13 weeks.

Keywords: Antioxidant, cryopreservation sperm, rooster, turmeric.

* Corresponding author E-mail: azareh@ut.ac.ir; zeinoaldini@ut.ac.ir

مقدمه

کاهش باروری گله‌های مادر گوشتی پس از اوج تولید از مهمترین عوامل کاهش سود اقتصادی واحدهای پرورشی به شمار می‌آید (Sarabia Fragoso *et al*., 2013). اگر چه این کاهش باروری هم به مرغ و هم خروس نسبت داده می‌شود، بخش عمده کاهش باروری گزارش شده پس از اوج تولید مربوط به خروس است؛ زیرا جایگزینی خروس‌های پیر با جوان در گله‌های تجاری باعث افزایش باروری می‌شود (Leeson & Summers, 2009). از طرفی، با توجه به سهم بسیار بارز خروس‌ها در هزینه و مشکلات مربوط به مدیریت هم‌زمان خروس‌ها و مرغ‌ها در گله‌های مادر، بحث جداسازی خروس‌ها و استفاده از تلقیح مصنوعی همواره در گله‌های مادرگوشتی مطرح است (Reddy, 1995). نشان داده شده است که کاهش باروری در انتهای دوره تولیدی از طریق تلقیح مصنوعی تا حدی قابل جلوگیری است (Leeson & Summers, 2009). لازمه استفاده بهینه از تلقیح مصنوعی در هر گونه‌ای، امکان ذخیره‌سازی اسپرم به‌صورت مایع و منجمد می‌باشد. با این وجود، محدودیت زمانی نگهداری اسپرم به صورت مایع، گرایش به سوی انجماد اسپرم را افزوده است (Douard *et al*., 2004).

نرخ باروری اسپرم منجمد شده طیور در مقایسه با دیگر گونه‌ها با چالش جدی مواجه است، این چالش ممکن است به برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی خاص اسپرم خروس مربوط شود که به افزایش حساسیت آن به فرآیند انجماد می‌انجامد (Shahverdi *et al*., 2015). فاکتورهای غشایی اسپرم از جمله سیالیت غشا، نفوذپذیری و همچنین ترکیبات لیپیدی آن در اثر انجماد اسپرم تحت تأثیر قرار می‌گیرد، به‌طوری‌که میزان سیالیت غشا و مقدار این ترکیبات کاهش یافته و در نتیجه کیفیت اسپرم و باروری پرنده کاهش می‌یابد (Blesbois *et al*., 2005). غشای پلاسمایی اسپرم دارای مقادیر زیادی اسیدهای چرب غیراشباع با چند باند دوگانه است، که از این لحاظ آن‌ها را به آسیب‌های پراکسیداتیو بسیار حساس می‌کند. این آسیب‌های پراکسیداتیو موجب کاهش یکپارچگی غشا، آسیب به عملکرد سلول، کاهش جنبایی و نهایتاً کاهش کیفیت و توانایی باروری اسپرم می‌شود. بنابراین، برای جلوگیری از آسیب‌های پراکسیداسیون، به‌ویژه هنگام فرآیند انجماد، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها مفید به نظر می‌رسد (Leboeuf *et al*., 2000). با توجه به آثار شناخته‌شده رادیکال‌های آزاد بر کاهش عملکرد تولیدمثلی، استفاده از گیاهان دارویی به دلیل خواص درمانی و آنتی‌اکسیدانی بالا سبب افزایش عملکرد تولیدمثلی می‌شود (Zini *et al*., 2009). کورکومین (ماده مؤثر زردچوبه)، از نظر خواص آنتی‌اکسیدانی با ویتامین E، C و سوپر اکسید دسموتاز قابل مقایسه است (Miquel *et al*., 2002). این ترکیب یکی از قوی‌ترین پاک‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد در محیط بیولوژیک و برون‌تنی محسوب می‌شود. تأثیرات تغذیه‌ای کورکومین بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم و باروری در گونه‌های مختلف مثل بز (Ashok & Meenakshi, 2004)، موش (Chandra *et al*., 2007) و بوقلمون (Cecil & Bakst, 1993) به اثبات رسیده است. همچنین کورکومین در رقیق‌کننده منی اثر مثبتی بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم گاو (Tvrda *et al*., 2016; Bucak *et al*., 2012)، گاومیش (Shah *et al*., 2017)، بز (Bucak *et al*., 2010)، رت (Long, 2006) و خروس (Yan *et al*., 2017) داشته است. این شواهد نشان می‌دهد که احتمالا افزودن کورکومین به جیره خروس‌های مادرگوشتی می‌تواند از طریق بهبود خواص آنتی‌اکسیدانی منی و محافظت از اسپرم در مقابل آسیب‌های حاصل از انجماد- یخ‌گشایی، کیفیت منی پس از یخ‌گشایی را بهبود دهد و نرخ باروری را افزایش دهد. لذا با در نظرگرفتن خواص آنتی‌اکسیدانی قوی کورکومین و همچنین عدم وجود مطالعه درون‌تنی این ترکیب بر کیفیت منی منجمد شده خروس، در این مطالعه تأثیر تغذیه کورکومین بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم خروس‌های پیر مادرگوشتی و باروری آنها پس از فرآیند انجماد- یخ‌گشایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی استفاده شده در این آزمایش از جمله کورکومین، از شرکت سیگما (St. Louis, MO, USA) خریداری شد.

پرنده‌ها، شرایط محیطی و جیره آزمایشی

در این پژوهش ۲۰ قطعه خروس مادرگوشتی راس ۳۰۸ در ایستگاه آموزشی و پژوهشی علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران مورد آزمایش قرار گرفت. خروس‌ها در سن ۴۷ هفتگی به‌مدت دو هفته در قفس‌های انفرادی و تغذیه با جیره پایه و روش مالش شکمی برای اسپرم‌گیری عادت‌دهی شدند (Burrows & Quinn, 1937). از سن ۴۹ تا ۶۱ هفتگی به‌مدت ۱۳ هفته، خروس‌ها با جیره پایه (گروه شاهد) یا جیره‌های مکمل‌سازی‌شده با سطوح مختلف کورکومین (گروه‌های تیماری) تغذیه شدند. طی دوره آزمایش پرنده‌ها در دمای محیطی ۲۱-۱۷ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی نگهداری شدند. جیره پایه بر اساس توصیه کاتالوگ راس ۳۰۸ (۲۰۱۶) تنظیم شد (جدول ۱).

جدول ۱. مواد تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره پایه
Table 1. Ingredients and the chemical composition of basal diet

Item	% DM
Corn	69.00
Soybean meal	8.50
Wheat bran	19.19
Dicalcium phosphate	1.40
Calcium carbonate	0.80
Sodium chloride	0.32
Vitamin premix*	0.25
Trace mineral premix**	0.25
DL-Me	0.29
Composition	
ME (kcal/kg)	2754
CP (%)	11.99
Ca (%)	0.70
P (%)	0.25
Na (%)	0.16
Cl (%)	0.30
K (%)	0.60

* هر کیلوگرم جیره دارای ۱۵۰۰ 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 B2، ۵۰ میلی‌گرم B3، ۱۸ میلی‌گرم B5، ۵/۵ میلی‌گرم B6 و ۵۰ میکروگرم B7 بود.

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

* Supplied per kg diet: vitamin A, 15,000 IU; vitamin E, 100 IU; vitamin K3, 4 mg; vitamin B12, 25 µg; vitamin D3, 3,000 IU; riboflavin, 7.5 mg; niacin, 50 µg; pantothenic acid, 18 mg; pyridoxine, 5.5 mg; biotin, 50 mg.
** Supplied per kg diet: Fe, 90 mg; Mn, 120 mg; Zn, 110 mg; I, 2 mg and Se, 0.3 mg.

تیمارهای آزمایشی شامل T1 (جیره شاهد، عدم تغذیه کوکومین)، T2 (تغذیه روزانه ۱۰ میلی‌گرم کورکومین به‌ازای هر پرنده)، T3 (تغذیه روزانه ۲۰ میلی‌گرم کورکومین به‌ازای هر پرنده) و T4 (تغذیه روزانه ۳۰ میلی‌گرم کورکومین به‌ازای هر پرنده) بودند. مصرف خوراک پرنده‌ها محدود (به طور میانگین روزانه ۱۵۸ گرم) و دسترسی به آب آزاد بود. دوزهای کورکومین بر اساس پژوهش‌های پیشین که نشان دادند میزان ۲۰۰-۵۰ میلی‌گرم کورکومین به‌ازای هر کیلوگرم خوراک مصرفی (۰/۰۲–۰/۰۰۵ درصد جیره) به‌طور مؤثری می‌تواند سوخت‌وساز چربی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی جوجه‌های گوشتی را بهبود دهد، انتخاب شد (Zini *et al*., 2009; Zhang *et al*., 1999; Daneshyar *et al*., 2011).

جمع‌آوری و ارزیابی منی

طی دوره آزمایش نمونه‌های منی به صورت هفتگی با روش مالش شکمی جمع‌آوری و پس از ارزیابی اولیه، از سن ۵۴ هفتگی، منجمد شد و فراسنجه‌های کیفی منی شامل جنبایی کل و پیش‌رونده، عملکرد غشای پلاسمایی، زنده‌مانی و ریخت‌شناسی اسپرم پس از یخ‌گشایی مورد ازریابی قرار گرفت. نمونه‌های منی منجمد مربوط به هفته‌های ۶۰ و ۶۱ برای ارزیابی باروری اسپرم پس از یخ‌گشایی به مرغ‌های مادر گوشتی تلقیح شد.

تهیه رقیق‌کننده

ترکیب رقیق‌کننده اسپرم شامل دی پتاسیم فسفات (۷/۵۹ گرم بر لیتر)، سدیم گلوتامات (۸/۶۷ گرم برلیتر)، فروکتوز (۵ گرم بر لیتر)، سدیم استات (۳/۲ گرم بر لیتر)، n- تریس (هیدرکسی متیل) متیل-۲-آمینو اتان سولفونیک (TES) (۳/۲ گرم بر لیتر)، پتاسیم سیترات (۰/۶۴ گرم بر لیتر)، مونو پتاسیم فسفات (۰/۷ گرم بر لیتر)، منیزیم کلرید (۰/۳۴ گرم بر لیتر)، لیستین سویا (۵ درصد حجم وزنی) و متیل سولفو اکساید (DMSO) (۰/۴۷ حجمی) بود. فشار اسمزی رقیق‌کننده ۳۱۰ و pH آن ۷/۴ بود (Nabi *et al*., 2016).

روش انجماد-یخ‌گشایی

انزال هر خروس به‌صورت جداگانه جمع‌آوری و با رقیق‌کننده ذکر شده با غلظت نهایی ۴۰۰×۱۰^{۶}

رقیق‌سازی شد و در پایوت‌های ۰/۲۵ میلی‌لیتری کشیده شد. از پودر پلی وینیل الکل برای بستن سر پایوت‌ها استفاده شد. سپس پایوت‌ها به داخل یخچال با دمای ۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲ ساعت برای رسیدن به دمای تعادل قرار داده شد. در مرحله بعد، پایوت‌ها را بلافاصله از یخچال بیرون آورده و به‌مدت ۱۰ دقیقه در فاصله ۶ سانتی‌متری ازت مایع قرار داده شد. پس از غوطه‌ورسازی در ازت، پایوت‌های مربوط به هر گروه تیماری داخل گابلت‌های مخصوص قرار داده شد و به تانک ازت انتقال یافت. برای یخ‌گشایی، پایوت‌ها پس از بیرون آوردن از ازت، به‌مدت ۳۰ ثانیه در حمام آب گرم ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند (Shahverdi *et al*., 2015).

ارزیابی فراسنجه‌های اسپرم پس از فرآیند یخ‌گشایی

درصد تحرک اسپرم‌های هر نمونه، با استفاده از میکروسکوپ فازکنتراست (Labomed Inc., Los Angeles, USA) و بزرگ‌نمایی ۴۰۰× تعیین شد (Akhlaghi *et al*., 2014). برای اندازه‌گیری یکپارچگی غشای اسپرم از آزمون تورم هایپواسموتیک (Hypo Osmotic Swelling test) استفاده شد (Jeyendran *et al*., 1984). به این منظور، ۱۰ میکرولیتر از منی با ۴۰۰ میکرولیتر از محلول هایپواسموتیک (۱ گرم سیترات سدیم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با فشار اسمزی ۱۰۰ میلی اسمول بر کیلوگرم، pH= ۷) مخلوط شد و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس با استفاده از میکروسکوپ فازکنتراست با بزرگ‌نمایی ۴۰۰×، حداقل در پنج میدان دید، ۲۰۰ اسپرم بررسی شد. اسپرم‌های با دم متورم به‌عنوان پاسخ مثبت (غشای پلاسمایی سالم) و اسپرم‌های با دم غیرمتورم، به‌عنوان پاسخ منفی (غشای پلاسمایی ناسالم) در نظر گرفته شدند (Santiago-Moreno *et al*., 2009). درصد اسپرم زنده با رنگ‌آمیزی ائوزین-نیگروزین ارزیابی شد. یک قطره از مایع منی روی لام قرار گرفته و با یک قطره کوچک رنگ ائوزین- نیگروزین مخلوط و گسترش یافت. درصد اسپرم زنده با شمارش ۲۰۰ اسپرم در زیر میکروسکوپ فازکنتراست با بزرگ نمایی ۴۰۰× مشخص شد (Akhlaghi *et al*., 2014; Moghbeli *et al*., 2016). اسپرم‌های رنگ نگرفته، به عنوان اسپرم زنده و اسپرم‌هایی که رنگ را جذب کرده بودند، به عنوان اسپرم مرده در نظر گرفته شد. برای بررسی ریخت‌شناسی اسپرم از اسلایدهای تهیه شده برای زنده‌مانی استفاده شد به این ترتیب با شمردن ۲۰۰ اسپرم در هر اسلاید اسپرم‌های با سر جدا شده، سر ناقص، سر دوتایی، دم پیچ خورده، دم دوتایی و دم جدا شده به عنوان اسپرم‌های ناهنجار در نظر گرفته شد (Akhlaghi *et al*., 2014; Lukaszewicz *et al*., 2008).

تلقیح مصنوعی و گردآوری تخم مرغ

برای تلقیح مصنوعی، تعداد ۶۸ قطعه مرغ مادرگوشتی راس ۳۰۸ (۱۷ مرغ به‌ازای هر تیمار) با میانگین سنی ۶۵ هفته انتخاب گردید و با یک جیره مشترک دارای ۲۷۵۰ کیلوکالری در کیلوگرم انرژی، ۱۵ درصد پروتئین، فسفر ۰/۳۳ درصد و کلسیم ۰/۳ درصد تغذیه شدند. برای تلقیح مصنوعی، ۲۰۰ میکرولیتر (۲۰۰×۱۰^{۶} اسپرم برای هر مرغ) منی یخ‌گشایی شده از هر تیمار به مرغ‌ها در طول دو هفته (سه تلقیح به فاصله سه روز) تلقیح شد. جمع‌آوری تخم‌مرغ‌ها به‌منظور تعیین باروری، دو روز بعد از اولین تلقیح مصنوعی شروع شد و چهار روز بعد از آخرین تلقیح مصنوعی ادامه یافت و روزانه پس از گازدهی با فرمالین به‌مدت ۲۰ دقیقه، به دستگاه جوجه‌کشی (با دمای ۳۷/۵ درجه سانتی‌گراد و ۶۵ درصد رطوبت) انتقال پیدا کرد.

نرخ باروری

برای تعیین باروری، تخم‌مرغ‌های انتقال‌یافته به دستگاه جوجه‌کشی در روز هفتم دوره انکوباسیون شکسته شد و میزان باروری بر اساس تعداد تخم‌مرغ‌های دارای جنین نسبت به تعداد کل تخم‌مرغ‌های انکوبه شده در دستگاه، محاسبه گردید (Mangiagalli *et al*., 2010).

واکاوی آماری

تمامی داده‌های آزمایشی از نظر داشتن توزیع نرمال با آزمودن توزیع باقی‌مانده داده‌ها توسط رویه UNIVARIATE نرم‌افزار آماری (SAS, 2002) مورد آزمایش قرار گرفت. فراسنجه‌های کیفی منی که در طول زمان تکرار شده بودند توسط رویه‌ی MIXED و

داده‌های مربوط به باروری با استفاده از تابع لجستیک و رویه GENMOD واکاوی شدند. مقایسه میانگین تیمارها با LSmeans تعدیل‌شده برای آزمون توکی (Tukey-Adjustment) انجام شد. از سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ برای بیان اختلاف‌های معنی‌دار و از سطح معنی‌داری P<۰/۱۰ برای بیان تمایل به داشتن اختلاف معنی‌دار بین تیمارها استفاده شد. وزن بدن به عنوان عامل همبسته برای صفات در نظر گرفته شد و در صورتی که اثر آن در مدل معنی‌دار نبود، از مدل حذف و آنالیز مجدد انجام شد.

مدل آماری برای تجزیه و تحلیل فراسنجه‌های کیفیت اسپرم به‌صورت زیر بود:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + \delta(i)_k + (T\times P)_{ij} + e_{ijk}$$

Y_{ijk}: مقدار هر مشاهده، μ : اثر میانگین، T_i: اثر تیمار iام (i=۱، ۲، ۳ و ۴)، P_j: اثر j اُمین زمان اندازه‌گیری، $\delta(i)_k$: اثر تصادفی پرنده، $(T\times P)_{ij}$: برهم‌کنش iامین تیمار در j اُمین زمان اندازه‌گیری، e_{ijk} : اثرات باقی‌مانده.

مدل آماری برای نرخ باروری است به‌صورت زیر بود:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

Y: داده باروری، μ: اثر میانگین، T_i: اثر تیمار iام (i=۱، ۲، ۳ و ۴)، e_{ij}: اثرات باقیمانده.

نتایج و بحث

تأثیر تغذیه کورکومین بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم خروس‌های مادرگوشتی در جدول ۲ گزارش شده است. اثر تیمار و هفته‌های آزمایش بر جنبایی کل و پیش‌رونده، یکپارچگی و عملکرد غشای پلاسمایی اسپرم معنی‌دار بود (P<۰/۰۱). برهمکنش تیمار و هفته‌های آزمایش به‌طور معنی‌داری جنبایی کل و پیش‌رونده را تحت تأثیر قرار داد، اما اثر آن بر یکپارچگی غشای پلاسمایی تمایل به معنی‌داری داشت (P<۰/۰۹). با وجود اینکه تیمار و برهمکنش تیمار در هفته اثر معنی‌داری بر درصد اسپرم‌های نابهنجار نداشت، اما هفته‌های آزمایشی به‌طور معنی‌داری درصد اسپرم‌های نابهنجار را تحت تأثیر خود قرار داد.

در پژوهش حاضر، مکمل‌سازی کورکومین در جیره خروس‌ها موجب بهبود جنبایی اسپرم طی دوره آزمایش شد. جنبایی کل در تیمارهای T3 و T4 و جنبایی پیش‌رونده در تیمارهای T2، T3 و T4 نسبت به T1 افزایش یافت (P<۰/۰۵). ازآنجاکه تنش اکسیداتیو اثر منفی بر جنبایی اسپرم دارد، ممکن است مکمل‌سازی جیره‌ای کورکومین از طریق اثر بر پلاسمای منی و در پی آن کاهش پراکسیداسیون لیپید، طی مراحل انزال و انجماد منی، موجب بهبود و افزایش جنبایی اسپرم شده باشد. Kazemizadeh *et al.* (2018) با تغذیه کورکومین به خروس‌های مادر گوشتی نشان دادند که سطح مالون‌دی‌آلدهید، به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدها، در منی خروس‌های تغذیه شده با کورکومین پس از سه هفته به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و از این راه فراسنجه‌های کیفی منی را بهبود داد. افزایش جنبایی مشاهده شده در این پژوهش را همچنین می‌توان با بهبود حاصل شده در بهبود فعالیت غشای پلاسمایی اسپرم توجیه کرد. بدیهی است که بهبود فعالیت میتوکندری‌ها و تولید ATP که از کنش‌های به اثبات رسیده کورکومین است (Hamzavi Jahromi *et al.*, 2014)، در کنار کنش بهتر غشای دم می‌تواند زمینه جنبایی بهتر را در اسپرم مهیا کند.

نتایج تغییرات هفتگی جنبایی کل (نمودار ۱) نشان داد که جنبایی کل اسپرم خروس‌های گروه T4 از هفته ۵۴ به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد بیشتر بود (P<۰/۰۵)، در حالی که در گروه‌های تیماری T3 و T2 به‌ترتیب به یک و سه هفته زمان بیشتری برای مشاهده اثر معنی‌دار تیمار نسبت به گروه شاهد نیاز بود. روند مشابهی در جنبایی پیش‌رونده مشاهده شد (نمودار ۲)، به‌طوری‌که جنبایی پیشرونده در گروه تیماری T4 در هفته ۵۴ نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵)، اما اختلاف‌های معنی‌دار در گروه‌های تیماری T3 و T2 از ۵۷ هفتگی نمایان شد. این نتایج نشان از آثار وابسته به دوز کورکومین بر جنبایی اسپرم دارد به طوری که با افزایش دوز کورکومین، آثار آن در زمان کوتاه‌تری نمایان می‌شود.

جدول ۲. تأثیر سطوح مختلف کورکومین (LSM±SE) بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم خروس‌های مادرگوشتی پس از انجماد- یخ‌گشایی (n=۵)

Table 2. The effect of different levels of curcumin (LSM ± SE) on quality parameters of frozen-thawed sperm in broiler breeder roosters (n=5)

Trait**	Treatments*				SEM	P value		
	T1	T2	T3	T4		Treat	week	Treat× week
Total motility (%)	43.76^{c}	48.76^{b}	51.03^{ab}	53.70^{a}	0.69	<0.001	<0.001	0.021
Progressive motility (%)	37.36^{c}	41.86^{b}	45.75^{a}	47.27^{a}	0.98	0.006	0.004	<0.001
Sperm viability (%)	51.45^{b}	53.93^{ab}	54.83^{a}	55.76^{a}	0.31	<0.001	<0.02	0.09
HOS (%) ***	29.50^{c}	34.06^{b}	40.26^{a}	41.23^{a}	0.49	<0.001	<0.001	0.12
Sperm abnormality (%)	16.76	16.86	16.60	16.59	0.24	0.83	0.002	0.12

a-d: در هر ردیف، میانگین‌های دارای حروف غیرهمسان دارای اختلاف معنی‌دار هستند (p<۰/۰۵).

* پرنده‌ها جیره‌های دارای سطوح مختلف کورکومین شامل: صفر (T1)، ۱۰ (T2)، ۲۰ (T3) و ۳۰ (T4) میلی‌گرم کورکومین به‌ازای هر پرنده در هر روز را از سن ۴۹-۶۱ هفتگی در یافت نمودند.

** صفات در طول ۶ هفته متوالی (۵۴-۵۹ هفتگی) مورد ارزیابی قرار گرفت.

*** درصد اسپرم‌های دارای دم متورم در محلول هایپواسموتیک (۱۰۰ میلی‌اسمول/کیلوگرم).

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

* The birds received diets containing different levels of curcumin including 0 (T1), 10 (T2), 20 (T3), or 30 (T4) mg/bird/day from 49 to 61 weeks of age.

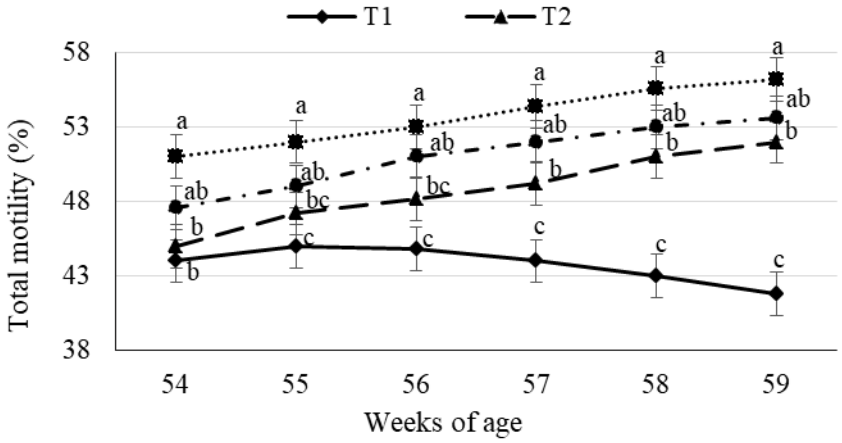
*** The percentage of sperm with swollen tail in a hypo-osmotic (HOS) solution (100 mOsm/Kg)

همسو با نتایج مطالعه حاضر مکمل‌سازی جیره‌ای محصولات جانبی زردچوبه به جیره خروس‌های رد ایلند رد به‌مدت ۴ هفته موجب بهبود جنبای اسپرم شد (Yan *et al*., 2017). همچنین، مصرف روزانه ۸۰ میلی‌گرم نانومیسل کورکومین در مردان نابارور برای ۱۰ هفته موجب بهبود غلظت اسپرم، شمار کل اسپرم و جنبایی شد (Alizadeh *et al*., 2017). بهبود غلظت و تولید اسپرم و جنبایی آن در اثر مصرف خوراکی کورکومین در موش صحرایی به‌مدت چهار هفته نیز گزارش شده است (Abarikwu *et al*., 2014). نشان داده شده است که کورکومین با کاهش MDA و پراکسیداسیون لیپید و همچنین با افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در استروئیدسازی بیضه، باعث بهبود عملکرد بیضه و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود (Ahmadi, 2010). در موش‌های صحرایی تیمار شده با مورفین، مصرف کورکومین به صورت خوراکی به‌طور معنی‌داری جنبایی، شمار اسپرم، وزن بیضه و سطوح تستوسترون را افزایش داد (Roshankhah *et al*., 2017).

به‌طورکلی کورکومین می‌تواند موجب افزایش سطوح گلوتاتیون درون‌سلولی شود (Bucak *et al*., 2012) که خود یک ترکیب فنولی است و در بسیاری از اعمال فیزیولوژیکی سلول از جمله محافظت سلولی از تنش اکسیداتیو، ساخت پروتئین و DNA و لقاح گامت‌ها نقش دارد (Bucak *et al*., 2012). نشان داده شده است که ROSها می‌توانند فعالیت برخی آنزیمهای حیاتی دخیل در تولید ATP را مهار و فسفریلاسیون پروتئین‌های آکسون اسپرم را کاهش دهند (Saeed *et al*., 2016). بنابراین، بهبود مشاهده‌شده در جنبایی اسپرم در گروه‌های تیماری حاوی کورکومین ممکن است به‌دلیل کاهش ROS، افزایش تولید ATP و بهبود فسفریلاسیون پروتئین‌های آکسون بروز کرده باشد. در نهایت بر اساس مطالبی که بیان شد، گمان می‌رود کورکومین با بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و بهبود استروئیدسازی در بیضه خروس‌ها، منجر به کاهش تنش اکسیداتیو طی فرایند انجماد- ذوب و بهبود فراسنجه‌های کیفی از جمله جنبایی اسپرم شود.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که یکپارچگی غشای پلاسمایی (زنده‌مانی) اسپرم پس از یخ‌گشایی در گروه‌های تیماری T3و T4 نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵؛ جدول ۲). تغذیه کورکومین درصد اسپرم‌های دارای غشای یکپارچه در گروه‌های تیماری T2، T3 و T4 نسبت به گروه شاهد به‌ترتیب حدود ۵، ۶ و ۸ درصد بهبود داد. با این حال، درصد اسپرم‌های دارای یکپارچگی غشا بین گروه‌های تغذیه شده با کورکومین اختلاف معنی‌داری نداشت. روند تغییرات زنده‌مانی اسپرم پس از فرآیند انجماد یخ‌گشایی در نمودار ۳ گزارش شده است. تغذیه کورکومین از ۵۴ تا ۵۶ هفتگی تأثیری بر

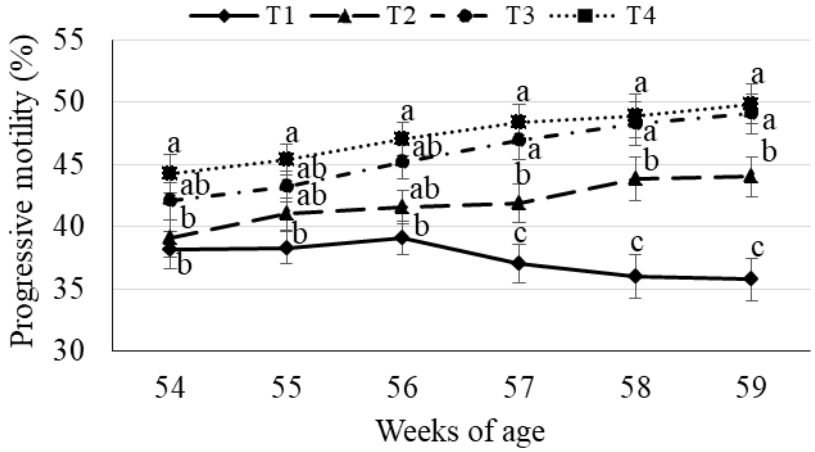
زنده‌مانی اسپرم پس از فرآیند یخ‌گشایی نداشت (P>۰/۰۵). آثار مکمل‌سازی کورکومین بر زنده‌مانی اسپرم از هفته ۵۷ به بعد مشاهده شد و منی خروس‌های گروه‌های تیماری T3 و T4 نسبت به گروه شاهد، بیشترین میزان زنده‌مانی اسپرم را داشتند (P<۰/۰۵). بر اساس نتایج، حداقل به یک بازه ۱۰ هفته‌ای تغذیه کوکومین برای مشاهده اثر مثبت این ترکیب بر زنده‌مانی اسپرم پس از یخ‌گشایی نیاز می‌باشد. درصد اسپرم‌های زنده پس از ۵۶ هفتگی در گروه شاهد به‌طور شایان‌توجهی کاهش یافت درحالی‌که در گروه‌های تیماری زنده‌مانی به تدریج افزایش یافت.



نمودار ۱. تغییرات هفتگی جنبایی‌کل اسپرم خروس‌های پیر مادر گوشتی راس ۳۰۸ (۵۴-۵۹ هفتگی) پس از انجماد-یخ گشایی که روزانه با جیره‌های دارای صفر (T1)، ۱۰ (T2)، ۲۰ (T3) و ۳۰ (T4) میلی‌گرم کورکومین/پرنده تغذیه شدند.

c-a: در هر هفته میانگین‌های دارای حروف غیرهمسان دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

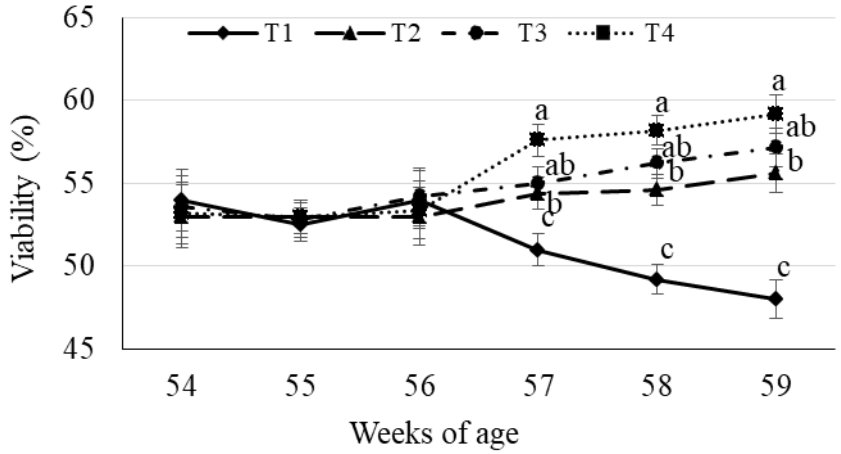
Figure 1. The weekly variation of post-thawed sperm total motility in aged Ross 308 breeder roosters (54-59 week of age) fed diets containing 0 (T1), 10 (T2), 20 (T3), or 30 (T4) mg/bird/day curcumin.
a-c: within each week, means with different letters differ significantly (P < 0.05).



نمودار ۲. تغییرات هفتگی جنبایی پیشرونده اسپرم خروس‌های پیر مادر گوشتی راس ۳۰۸ (۵۴-۵۹ هفتگی) پس از انجماد- یخ‌گشایی که روزانه با جیره‌های دارای صفر (T1)، ۱۰ (T2)، ۲۰ (T3) و ۳۰ (T4) میلی‌گرم کورکومین/پرنده تغذیه شدند.

c-a: در هر هفته میانگین‌های دارای حروف غیرهمسان دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

Figure 2. The weekly variation of post-thawed sperm forward motility in aged Ross 308 breeder roosters (54-59 week of age) fed diets containing 0 (T1), 10 (T2), 20 (T3), or 30 (T4) mg/bird/day curcumin.
a-c: within each week, means with different letters differ significantly (P < 0.05).



نمودار ۳. تغییرات هفتگی زنده‌مانی اسپرم خروس‌های پیر مادر گوشتی راس ۳۰۸ (۵۴-۵۹ هفتگی) پس از انجماد- یخ گشایی که روزانه با جیره‌های دارای صفر (T1)، ۱۰ (T2)، ۲۰ (T3) و ۳۰ (T4) میلی‌گرم کورکومین/پرنده تغذیه شدند.
c–a: در هر هفته میانگین‌های دارای حروف غیرهمسان دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

Figure 3. The weekly variation of post-thawed sperm viability in aged Ross 308 breeder roosters (54-59 week of age) fed diets containing 0 (T1), 10 (T2), 20 (T3), or 30 (T4) mg/bird/day curcumin.
a-c: within each week, means with different letters differ significantly (P<0.05).

در این مطالعه، عملکرد غشای پلاسمایی (HOST) در تمامی‌گروه‌های تیماری حاوی کورکومین نسبت به گروه شاهد افزایش یافت (P<۰/۰۵؛ جدول ۲) و در گروه‌های تیماری T2، T3 و T4 به‌ترتیب حدود ۱۳، ۲۷ و ۲۸ درصد بیشتر از گروه شاهد بود. با این وجود بین گروه T4 و T3 از نظر درصد اسپرم‌های دارای غشای فعال تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). همچنین، نتایج نشان داد که درصد اسپرم‌های نابهنجار تحت تأثیر تغذیه کورکومین قرار نگرفت (P>۰/۰۵؛ جدول ۲) با این حال، روند تغییرات درصد اسپرم‌های ناهنجار نشان داد که طی هفته‌های مختلف آزمایش، درصد اسپرم‌های دارای ناهنجاری در گروه شاهد روندی به‌نسبت ثابت داشت، اما در گروه‌های تیماری به‌طور بسیار ملایم کاهش یافت.

پراکسیداسیون لیپید منجر به اختلال در عملکرد غشا، کاهش سیالیت غشا و غیرفعال‌سازی گیرنده‌ها و آنزیم‌ها می‌شود که در نهایت نفوذپذیری غیراختصاصی غشا به یون‌ها را افزایش می‌دهد. این تغییرات مرتبط با پراکسیداسیون لیپید با کاهش هموستازی یون در سلول اسپرم و افزایش میزان اسپرم‌ها آسیب دیده و موجب کاهش زنده‌مانی اسپرم می‌شود (Srivastava & Pande, 2016). همچنین آسیب DNA القا شده توسط سطوح بیش از حد ROS ممکن است فرایند آپاپتوز اسپرم را تسریع و منجر به کاهش درصد اسپرم‌های زنده شود (Agarwal, 2003). در پژوهش حاضر، تغذیه روزانه کورکومین در سطوح ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم منجر بهبود یکپارچگی و عملکرد غشای پلاسمایی شد. بهبود در یکپارچگی و عملکرد غشای پلاسمایی اسپرم در این گروه‌ها می‌تواند به کاهش تنش اکسیداتیو و یکپارچگی DNA اسپرم نسبت داده شود. این نتایج با مطالعات صورت گرفته بر روی موش صحرایی (Soleimanzadeh & Saberivand, 2013)، گاو (Bucak *et al.*, 2012) خوک (Chanapiwat & Kaeoket, 2015) و گاومیش (Shah *et al.*, 2017) همسو بود. غنی‌سازی جیره خروس‌های رد ایلند رد با محصول جانبی زردچوبه به‌مدت ۴ هفته در شرایط معمول و تنش گرمایی منجر به افزایش زنده‌مانی اسپرم از طریق کاهش تولید ROS شد (Yan *et al.*, 2017). با این حال در مطالعه دیگری نشان داده شد که تغذیه زردچوبه در موش صحرایی یکپارچگی غشایی پلاسمایی اسپرم را به‌دنبال فشار خون القاشده توسط L-NG-Nitroarginine methyl ester بهبود نمی‌دهد (Akinyemi *et al.*, 2015). بر خلاف نتایج این مطالعه، مکمل‌سازی زردچوبه به جیره (۲ و ۴ گرم بر کیلوگرم) خرگوش به‌مدت ۸۴ روز، زنده‌مانی

اسپرم تازه را بهبود نداد (Ogbuewu *et al*., 2017). این تفاوت‌ها را می‌توان به سن حیوان، گونه، روش فراوری اسپرم (انجماد و یا تازه) و نوع ماده مصرفی (زردچوبه یا کورکومین) نسبت داد.

آن‌گونه که در جدول ۳ نشان داده شده است، نرخ باروری اسپرم به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر مکمل‌سازی کورکومین در جیره قرار گرفت. نرخ باروری اسپرم خروس‌های تغذیه‌شده با تیمار T3 و T4 به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد افزایش یافت (P<۰/۰۵). نتایج نشان داد که باروری در گروه‌های تیماری T3 و T4 به‌ترتیب ۴۵ و ۴۷ درصد بیشتر از باروری در گروه شاهد بود. همچنین تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های شاهد و T2 یا بین گروه‌های T3 و T4 از نظر نرخ باروری وجود نداشت (P<۰/۰۵).

فرآیند انجماد- یخ‌گشایی به‌طور معنی‌داری توانایی باروری اسپرم خروس را کاهش می‌دهد (Ansari *et al*., 2017). از سوی دیگر، برای ایجاد باروری بین تلقیح‌ها، نیاز به تعداد به‌نسبت زیادی اسپرم زنده در لوله‌های ذخیره اسپرم است (Long, 2006). همچنین، فراسنجه‌های منی مرتبط با باروری، مانند جنبایی کل و پیش‌رونده و زنده‌مانی اسپرم ممکن است، نفوذ اسپرم به مخاط سرویکس و ادغام با تخمک را تحت تأثیر قرار دهند (Long, 2006; Akhlaghi *et al*., 2014). با توجه به این‌که دستگاه تولیدمثلی پرنده ماده، انقباض‌های خاصی برای انتقال اسپرم از واژن به محل لقاح ندارد، از این‌رو جنبایی پیش‌رونده اسپرم در ماکیان از اهمیت بیشتری نسبت به اسپرم پستانداران برخوردار است (Hammerstedt & Graham, 1992). بنابراین، فراسنجه‌هایی مانند جنبایی و زنده‌مانی برای توانایی باروری اسپرم خروس اهمیت فراوانی دارند (Getachew, 2016). ارتباط مستقیمی بین محتوای ATP اسپرم و یکپارچگی غشای آن با درصد تخم‌مرغ‌های بارور وجود دارد (Long, 2006). در این پژوهش، جنبایی کل و پیش‌رونده و همچنین یکپارچگی و عملکرد غشای پلاسمایی در گروه‌های T3 و T4 افزایش یافت که می‌تواند دلایلی برای افزایش باروری در این‌گروه‌ها باشد. از آنجا که تغییرات در فسفولیپیدهای غشای پلاسمایی (ناشی از پراکسیداسیون لیپید) می‌تواند زنده‌مانی اسپرم را در لوله‌های ذخیره اسپرم و در پی آن باروری را کاهش دهد، ممکن است اثر آنتی‌اکسیدانی و حفاظتی کورکومین بر منی، از این تغییرات جلوگیری کرده و منجر به بهبود باروری شده است. در مطالعه بررسی کیفیت اسپرم و باروری خروس‌های مسن راس ۳۰۸ تغذیه‌شده با پودر تفاله سیب، نتایج باروری حاصل از تلقیح مصنوعی اسپرم‌های تازه نشان داد که تغذیه ۲۵-۲۰ درصد جیره با تفاله سیب می‌تواند از طریق افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام منی، نرخ باروری را افزایش دهد. چنین نتیجه‌ای در خروس‌های مسن کاب ۵۰۰ تغذیه شده با پودر زنجبیل (Akhlaghi *et al*., 2014) و خروس‌های راس ۳۰۸ تغذیه‌شده با پودر رزماری (Borghei-Rad *et al*., 2017) و یا کورکومین (Kazemizadeh, 1396) نیز مشاهده شد.

جدول ۳. تأثیر سطوح مختلف کورکومین (LSM±SE) بر باروری اسپرم پس از انجماد- یخ‌گشایی در خروس‌های مادر گوشتی (۵ پرنده در هر تیمار)

Table 3. The effect of different levels of curcumin (LSM ± SE) on post-thawed sperm fertility in broiler breeder roosters (5 birds per treatment)

Trait**	Treatments*				SEM	P value
	T1	T2	T3	T4		
Number of used eggs for fertility evaluation	60	61	58	65		
Fertility (%)	21.60^{b}	31.00^{ab}	39.00^{a}	41.00^{a}	0.27	0.008

a-d: در هر ردیف، میانگین‌های دارای حروف غیرهمسان دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

* پرندگان دریافت کردند سطوح مختلف کورکومین شامل: T1= جیره پایه فاقد کورکومین (شاهد)، T2= جیره پایه دارای ۱۰ میلی‌گرم بر پرنده کورکومین، T3= جیره پایه دارای ۲۰میلی‌گرم بر پرنده کورکومین ، T4= جیره پایه دارای ۳۰ میلی‌گرم بر پرنده کورکومین.

a-d Within rows, values with different superscript(s) differ significantly (P < 0.05).

* The birds received diets containing different levels of curcumin including 0 (T1), 10 (T2), 20 (T3), or 30 (T4) mg/bird/day from 49 to 61 weeks of age.

نتیجه‌گیری کلی

در کل نتایج پژوهش حاضر نشان داد که افزودن ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم کورکومین به‌ازای هر پرنده در هر روز به جیره منجر به افزایش معنی‌دار جنبایی کل و پیش‌رونده، یکپارچگی و عملکرد غشای پلاسمایی و در نهایت باروری اسپرم پس از یخ‌گشایی شد. با توجه به نتایج باروری مشابهی که در گروه‌های T3 و T4 مشاهده شد، از نظر اقتصادی افزودن روزانه ۲۰ میلی‌گرم کورکومین به‌ازای پرنده به جیره پایه مقرون به صرفه‌تر می‌باشد. گمان می‌رود کورکومین خوراکی از طریق بهبود توان آنتی‌اکسیدانی منی و حذف رادیکال‌های آزاد تولید شده در جریان انزال و فرآوری منی و تغییر در فعالیت برخی از آنزیم‌های مؤثر در فرآیند استروئیدسازی بیضه باعث بهبود کیفیت اسپرم خروس‌های مسن شده باشد. با این حال برای مشخص‌شدن سازوکارهای دقیق اثر کورکومین بر بهبود کیفیت اسپرم و باروری مطالعات بیشتری نیاز است.

سپاسگزاری

از صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور که بخشی از هزینه های این طرح به شماره ۹۵۸۳۶۶۶۹ را تأمین نموده‌اند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Abarikwu, S. O., Akiri, O. F., Durojaiye, M. A. & Alabi, A. F. (2014). Combined administration of curcumin and gallic acid inhibits gallic acid-induced suppression of steroidogenesis, sperm output, antioxidant defenses and inflammatory responsive genes. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 143, 49-60.
2. Ahmadi, F. (2010). Effect of turmeric *(Curcumin longa)* powder on performance, oxidative stress state and some of blood parameters in broiler fed on diets containing aflatoxin B1. *Global Veterinaria*, 5(6), 312-317.
3. Agarwal, A. (2003). Significance of oxidative stress and sperm chromatin damage in male infertility. *Male Fertility and Lipid Metabolism*, 13, 157-183.
4. Akhlaghi, A., Ahangari, Y. J., 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 (1-2), 64-73.
5. Akinyemi, A. J., Adedara, I. A., Thome, G. R., Morsch, V. M., Rovani, M. T. & Mujica, K. S *et al*. (2015). Dietary supplementation of ginger and turmeric improves reproductive function in hypertensive male rats. *Toxicology Reports*, 2, 1357-1366.
6. Alizadeh, F., Javadi, M., Karami, A. A., Gholaminejad, F., Kavianpour, M. & Haghighian, H.K. (2017). Curcumin nanomicelle improves semen parameters, oxidative stress, inflammatory biomarkers, and reproductive hormones in infertile men: A randomized clinical trial. *Phytotherapy* Research. pp. 1-8.
7. Ansari, M., Zhandi, M., Kohram, H., Zaghari, M., Sadeghi, M. & Sharafi, M. (2017). Improvement of post-thawed sperm quality and fertility of Arian rooster by oral administration of d-aspartic acid. *Theriogenology*, 92, 69-74.
8. Ashok, P. & Meenakshi, B. (2004). Contraceptive effect of *Curcuma longa* (L.) in male albino rat. *Asian Journal of Andrology*, 6 (1), 71-74.
9. Blesbois, E., Grasseau, I. & Seigneurin, F. (2005). Membrane fluidity and the ability of domestic bird spermatozoa to survive cryopreservation. *Reproduction*, 129 (3), 371-378.
10. Borghei-Rad, S. M., Zeinoaldini, S., Zhandi, M., Moravej, H. & Ansari, M. (2017). Feeding rosemary leaves powder ameliorates rooster age-related subfertility. *Theriogenology*, 101, 35-43.
11. Bucak, M. N., Başpınar, N., Tuncer, P. B., Coyan, K.; Sarıozkan, S. & Akalın, P. P. *et al.* (2012). Effects of curcumin and dithioerythritol on frozen-thawed bovine semen. *Andrologia*, 44(s1), 102-109.
12. Bucak, M. N., Sarıozkan, S., Tuncer, P. B., Sakin, F., Ateşşahin, A., Kulaksız, R. & Cevik, M (2010). The effect of antioxidants on post-thawed Angora goat *(Capra hircus ancryrensis)* sperm parameters, lipid peroxidation and antioxidant activities. *Small Ruminant Research*, 89(1), 24-30.
13. Burrows, W. H. & Quinn, J. P. (1937): The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. *Poultry Science*, 16(1), 19-24.
14. Cecil, H. C. & Bakst (1993). In vitro lipid peroxidation of turkey spermatozoa. *Poultry Science*, 72(7), 1370-1378.
15. Chanapiwat, P. & Kaeoket, K. (2015). The effect of Curcuma longa extracted *(curcumin)* on the quality of cryopreserved boar semen. *Animal Science Journal*, 86 (9), 863-868.

16. Chandra, A. K., Chatterjee, A., Ghosh, R. & Sarkar, M. (2007). Effect of curcumin on chromium-induced oxidative damage in male reproductive system. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 24 (2), 160-166.
17. Daneshyar, M., Ghandkanlo, M. A., Bayeghra, F. S., Farhangpajhoh, F., Aghaei, M. (2011). Effects of dietary turmeric supplementation on plasma lipoproteins, meat quality and fatty acid composition in broilers. *South African Journal of Animal Science*, 41 (4), 420-428.
18. Douard, V., Hermier, D., Magistrini, M., Labbe, C. & Blesbois, E. (2004). Impact of changes in composition of storage medium on lipid content and quality of turkey spermatozoa. *Theriogenology*, 61(1), 1-13.
19. Getachew, T. (2016). A review article of artificial insemination in poultry. *World's Veterinary Journal*, 6, 25-33.
20. Hammerstedt, R. H. & Graham, J. K. (1992). Cryopreservation of poultry sperm: the enigma of glycerol. *Cryobiology* 29 (1), pp. 26–38.
21. Hamzavi, J. Z., Zolghadri, J. S., Hemayatkhah, V., Kargar J. H. & Erfanian, S. (2014). Protective effect of curcumin agains gamma-radiation on testis of Rats. *Bimonthly Journal of Hormozgan University of Medical Sciences*, 18(2), 121-131. (in Farsi)
22. Jeyendran, R. S., van der Ven, H. H., Perez-Pelaez, M., Crabo, B. G. & Zaneveld, L. J.D. (1984). Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *Journal of Reproduction and Fertility*, 70(1), 219-228.
23. Kazemizadeh, A., Zare Shahneh, A., Zinedine, S., Yousefi, A.R., Heidari Amale, M., Tavakkoli Alamouti, M. & Ansari Pirsaraei, M. (2018) The effect of Curcumin on plasma lipid profile and some sperm quality traits in broiler breeder roosters. *Iranian Journal of Animal Science*. (in Press, 82710)
24. Leboeuf, B., Restall, B. & Salamon, S. (2000). Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, 62 (1-3), 113-141.
25. Leeson, S. & Summers, J. D. (2009). *Commercial poultry nutrition*. Nottingham University Press. 2010. P. 21-47.
26. Long, J. A. (2006). Avian semen cryopreservation: what are the biological challenges? *Poultry Science*, 85 (2), 232-236.
27. Lukaszewicz, E., Jerysz, A., Partyka, A. & Siudzińska, A. (2008). Efficacy of evaluation of rooster sperm morphology using different staining methods. *Research in Veterinary Science*, 85(3), 5830-588.
28. Mangiagalli, M. G., Martino, P. A., Smajlovic, T., Guidobono, C. L. & Marelli, S. P. (2010). Effect of lycopene on semen quality, fertility and native immunity of broiler breeder. *British Poultry Science*, 51(1), 152-157.
29. Miquel, J., Bernd, A., Sempere, J. M., Dıaz-Alperi, J. & Ramırez, A. (2002). The curcuma antioxidants: pharmacological effects and prospects for future clinical use. A review. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 34(1), 37-46.
30. Moghbeli, M., Kohram, H., Zare-Shahaneh, A., Zhandi, M., Sharafi, M. & Nabi, M. M. *et al*. (2016). Are the optimum levels of the catalase and vitamin E in rooster semen extender after freezing-thawing influenced by sperm concentration? *Cryobiology*, 72(3), 264-268.
31. Nabi, M. M., Kohram, H., Zhandi, M., Mehrabani-Yeganeh, H., Sharideh, H., Zare-Shahaneh, A. & Esmaili, V. (2016). Comparative evaluation of Nabi and Beltsville extenders for cryopreservation of rooster semen. *Cryobiology*, 72 (1), 47-52.
32. Ogbuewu, I. P., Okehi, M. C. & Jiwuba, P. C. (2017). Effect of phytobiotic *(turmeric)* supplementation on semen and blood characteristics of rabbits. *Comparative Clinical Pathology*, 26(4), 817-822.
33. Reddy, R. P. (1995). Artificial insemination of broilers: economic and management implications. *International Information System for the Agricultural Science and Technology*. Pp. 1-30.
34. Roshankhah, S. H., Salahshoor; A. S., Jalili, F., Sohrabil, M. & Jalili, C. (2017). Effects of curcumin on sperm parameters abnormalities induced by morphine in rat. *Journal of Medical and Biomedical Sciences*, 6 (2), 1-10.
35. Saeed, A. M., El-Nagar, H. A., Wafa, W. M. & Hussein, Y. S. (2016). Effect of Coenzyme Q10 as an Antioxidant Added to Semen Extender during Cryopreservation of Buffalo and Cattle Semen. *Journal of Animal and Poultry Production*, Mansoura University, 7(11), 403-408.
36. Santiago-Moreno, J., Castano, C., Coloma, M. A., Gomez-Brunet, A., Toledano-Dlaz, A., Lopez-Sebastian, 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 (12), 2661-2669.
37. Sarabia, F. J., Pizarro D. M., Abad Moreno, J. C., Casanovas I. P., Rodriguez-Bertos, 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(2), 345-352.

38. Shah, S. A.H., Andrabi, S. M.H. & Qureshi, I. Z. (2017). Freezability of water buffalo bull (*Bubalus bubalis*) spermatozoa is improved with the addition of curcumin (diferuoyl methane) in semen extender. *Andrologia*, 49(8), e12713.
39. Shahverdi, A., Sharafi, M., Gourabi, H., Yekta, A. Amiri; Esmaeili, V. & Sharbatoghli, M. *et al*. (2015). Fertility and flow cytometric evaluations of frozen-thawed rooster semen in cryopreservation medium containing low-density lipoprotein. *Theriogenology*, 83(1), 78-85.
40. Srivastava, N. & Pande, M. (2016). Mitochondrion: features, functions and comparative analysis of specific probes in detecting sperm cell damages. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 5(6), 445-452.
41. Soleimanzadeh, A. & Saberivand, A. (2013). Effect of curcumin on rat sperm morphology after the freeze-thawing process. Veterinary Research Forum, 4(3), 185-189.
42. Tvrda, E., Tusimova, E., Kovacik, Anton Paal, D., Greifova, H., Abdramanov, A. & Lukac, N. (2016). Curcumin has protective and antioxidant properties on bull spermatozoa subjected to induced oxidative stress. *Animal Reproduction Science*, 172, 10-20.
43. Yan, W., Kanno, C., Oshima, E., Kuzuma, Y., Kim, S. W. & Bai, H. *et al*. (2017). Enhancement of sperm motility and viability by turmeric by-product dietary supplementation in roosters. *Animal Reproduction Science*, 185, 195-204.
44. 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(2), 190-196.
45. Zini, A., San Gabriel, M. & Baazeem, A. (2009). Antioxidants and sperm DNA damage: a clinical perspective. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 26(8), 427-432.