

A comparative study of the quantitative and qualitative characteristics of sperm and histomorphometric features of testicular tissue in breeding roosters of Arian and Ross 308 strains

Ahmadzadeh, L.¹, Allymehr, M.^{2*}, Alavi, M. H.³, Talebi, A.², Razi, M.⁴

1- Post-Graduate student (DVSc), Department of Poultry Health & Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

2- Associate Professor, Department of Poultry Health & Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

3- Assistant Professor, Department of Poultry Health & Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

4- Associate Professor, Department of Comparative Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

*Correspondence author's email: m.allymehr@urmia.ac.ir, allymehr@yahoo.com

(Received: 2025/4/16 Accepted: 2025/7/6)

Expanded Abstract

Background and Objective: Fertility of broiler breeder roosters is a pivotal factor influencing profitability and production efficiency in the broiler breeder industry, as it directly affects egg fertility and, consequently, the number of day-old chicks produced. In recent years, the Arian strain, recognized as a domesticated broiler line in Iran, has gained increasing prominence in broiler breeder farms. However, limited information exists regarding the reproductive parameters of this strain, particularly when compared to globally established breeds such as Ross 308, which is regarded as the world's most prevalent broiler strain due to its superior production performance and favorable genetic traits. Given that sperm quality and quantity, along with testicular histological structure, serve as critical indicators for evaluating rooster fertility potential, this study was designed to systematically compare quantitative and qualitative sperm parameters (including: sperm count, motility, and viability) as well as testicular histomorphometric characteristics (such as interstitial tissue thickness, seminiferous tubule diameter, tubule differentiation index (TDI), spermiation index (SPI), Sertoli cell index (SCI) and mitotic index (MI) between Arian and Ross 308 broiler breeder males across three age intervals: 35, 45 and 55 weeks.

Materials and Methods: In this descriptive-comparative study, a total of 60 broiler breeder males (30 Arian and 30 Ross 308) were selected from a commercial broiler breeder farm near Urmia, Iran. Birds were divided into three age groups (35, 45, and 55 weeks) and maintained under standardized rearing conditions, including age-appropriate commercial diets, a 13–14-hour photoperiod, and controlled environmental parameters. Following a one-week acclimatization period, semen was collected via abdominal massage and immediately transported to the laboratory for analyses. Sperm parameters—including concentration (assessed

using a hemocytometer), viability (evaluated via eosin-nigrosin staining), and motility (examined under a light microscope), were measured. Subsequently, birds were humanely euthanized, and testicular tissue samples were fixed in 10% buffered formalin, processed for paraffin embedding, sectioned at 6 μm thickness, and stained with hematoxylin and eosin (H&E). Histomorphometric evaluations were performed using a light microscope at magnifications of 400 \times and 1000 \times , following established standardized protocols. Statistical analyses were conducted using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test in SPSS software (version 25), with statistical significance set at $p < 0.05$.

Findings: Sperm concentration in the Arian strain was consistently, albeit non-significantly ($p > 0.05$), higher than that of Ross 308 across all age groups. Regarding sperm viability, Ross 308 exhibited significantly higher values ($p < 0.05$) at 35 weeks of age; however, by 55 weeks, the Arian strain demonstrated superior (though non-significant) viability. Sperm motility was higher in Ross 308 at 35 weeks, whereas at 45 and 55 weeks, the Arian strain showed either significantly or non-significantly better motility. Histomorphometric assessments, including interstitial connective tissue thickness, seminiferous tubule diameter, TDI, SPI, SCI, and MI, revealed no statistically significant differences ($p > 0.05$) between the two strains at any age point. Moreover, both strains exhibited a general age-related decline in sperm and histomorphometric parameters.

Conclusion: Despite the overall age-associated decline in fertility parameters, the Arian strain demonstrated comparable or even superior sperm quality and quantity relative to Ross 308 at advanced ages—particularly at 45 and 55 weeks. Notably, the absence of significant differences in testicular histomorphometric structure between the two strains suggests a similar spermatogenic process. Therefore, the Arian strain may serve as a suitable alternative with competitive fertility potential in broiler breeder operations, especially in contexts where sustained rooster performance at older ages is required. This study represents the first comparative evaluation of these two strains in Iran and lays the groundwork for future research comparing the Arian strain with other international broiler lines.

Keywords: broiler breeder male, Arian, Ross 308, testicular tissue, sperm, histomorphometry, fertility.

Conflict of interest: None declared.



DOI: 10.71499/jvcp.2025.1202082

"مقاله پژوهشی"

مطالعه مقایسه‌ای خصوصیات کمی و کیفی اسپرم و ویژگی‌های هیستومورفومتری بافت بیضه در خروس‌های مولد سویه‌های آراین و راس ۳۰۸

لقمان احمدزاده^۱، منوچهر عالی‌مهر^{۲*}، محمدحسین علوی^۳، علیرضا طالبی^۴، مزدک رازی^۴

۱- دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت و بیماری‌های طیور، گروه بهداشت و بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۲- دانشیار بهداشت و بیماری‌های طیور، گروه بهداشت و بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۳- استادیار بهداشت و بیماری‌های طیور، گروه بهداشت و بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۴- دانشیار بافت‌شناسی، گروه بافت‌شناسی و جنین‌شناسی مقایسه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه.

*نویسنده مسئول مکاتبات: m.allymehr@urmia.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۱/۲۷ پذیرش نهایی: ۱۴۰۴/۴/۱۵)

چکیده مبسوط

زمینه و هدف: باروری خروس‌های مولد در صنعت پرورش مرغ مادر گوشتی یکی از عوامل کلیدی تأثیرگذار بر سودآوری و کارایی تولیدی است، چرا که مستقیماً بر نطفه‌داری تخم‌مرغ‌ها و در نهایت بر تعداد جوجه‌های یک‌روزه تولیدی تأثیر می‌گذارد. در سال‌های اخیر، سویه آراین به‌عنوان یکی از نژادهای بومی‌سازی‌شده در ایران، جایگاه روزافزونی در واحدهای پرورش مرغ مادر گوشتی یافته است. با این حال، اطلاعات محدودی در خصوص پارامترهای تولیدمثلی این سویه، به‌ویژه در مقایسه با سویه‌های جهانی مطرح مانند راس ۳۰۸، که به‌دلیل عملکرد بالای تولیدی و صفات ژنتیکی مطلوب جهانی‌ترین سویه گوشتی محسوب می‌شود، در دسترس است. از آنجا که کیفیت و کمی اسپرم، همراه با ساختار بافتی بیضه، شاخص‌هایی حیاتی در ارزیابی پتانسیل باروری خروس‌ها هستند، این مطالعه با هدف مقایسه‌ی سیستماتیک پارامترهای کمی و کیفی اسپرم (شامل تعداد، تحرک و زنده‌مانی اسپرم) و همچنین ویژگی‌های هیستومورفومتریک بافت بیضه از جمله ضخامت بافت بینابینی، قطر لوله‌های منی‌ساز، شاخص تمایز لوله‌ای (Tubule differentiation index; TDI)، شاخص اسپرمیوژنز (Spermiation index; SPI)، شاخص سلول سرتولی (Sertoli cell index; SCI) و ضریب میتوزی (Mitotic index; MI) در خروس‌های مولد سویه‌های آراین و راس ۳۰۸ در سه بازه‌ی سنی ۳۵، ۴۵ و ۵۵ هفتگی طراحی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی-مقایسه‌ای، تعداد ۶۰ قطعه خروس مولد گوشتی (۳۰ قطعه از سویه آراین و ۳۰ قطعه از سویه راس ۳۰۸) از یکی از مزارع پرورش مرغ مادر در ارومیه انتخاب شدند. طیور در سه گروه سنی ۳۵، ۴۵ و ۵۵ هفتگی تحت شرایط

استاندارد پرورشی (شامل جیره تغذیه‌ای مناسب، دوره نوری ۱۴-۱۳ ساعته و شرایط محیطی کنترل‌شده) نگه‌داری گردیدند. پس از عادت‌سازی، مایع منی با روش ماساژ شکمی جمع‌آوری و بلافاصله برای ارزیابی‌های آزمایشگاهی انتقال یافت. پارامترهای اسپرم شامل تعداد (با هموسیئومتر)، زنده‌مانی (با رنگ‌آمیزی ائوزین-نیگروزین) و تحرک (با میکروسکوپ نوری) بررسی شدند. سپس طیور ذبح و نمونه‌های بافتی بیضه آن‌ها در فرمالین ۱۰٪ تثبیت، پارافین‌گیری، برش‌دهی و رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) قرار گرفت. ارزیابی‌های هیستومورفومتری با استفاده از میکروسکوپ نوری (در بزرگ‌نمایی $\times 400$ و $\times 1000$) و طبق روش‌های استاندارد انجام گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ مورد تحلیل آماری قرار گرفتند. مقادیر $p < 0/05$ معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: تعداد اسپرم در سویه آرین در تمام بازه‌های سنی مورد مطالعه به‌صورت غیرمعنی‌داری ($p > 0/05$) بیشتر از سویه راس ۳۰۸ بود. در مورد زنده‌مانی اسپرم، در سن ۳۵ هفتگی، سویه راس ۳۰۸ به‌طور معنی‌داری ($p < 0/05$) برتری داشت؛ اما در سن ۵۵ هفتگی، سویه آرین از این نظر عملکرد بهتری از خود نشان داد. تحرک اسپرم نیز در سن ۳۵ هفتگی در راس ۳۰۸ بالاتر بود، اما در سنین ۴۵ و ۵۵ هفتگی، سویه آرین برتری معنی‌دار یا غیرمعنی‌داری داشت. ارزیابی‌های هیستومورفومتری بیضه شامل ضخامت بافت همبند بینایی، قطر لوله‌های منی‌ساز، TDI، SPI، SCI، MI و هیچ‌یک از بازه‌های سنی، تفاوت آماری معنی‌داری بین دو سویه نشان نداد ($p > 0/05$). همچنین، در هر دو سویه، روند کلی کاهش در پارامترهای اسپرم و هیستومورفومتری با افزایش سن مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که علیرغم کاهش عمومی پارامترهای باروری با افزایش سن، سویه آرین در سنین بالاتر (به‌ویژه ۴۵ و ۵۵ هفتگی) عملکرد بهتر یا حداقل برابری با سویه راس ۳۰۸ از نظر کیفیت و کمیت اسپرم دارد. این در حالی است که ساختار هیستومورفومتری بیضه در دو سویه تفاوتی ندارد، که نشان‌دهنده تشابه در فرآیند اسپرماتوزیس است. بنابراین، سویه آرین می‌تواند به‌عنوان یک گزینه جایگزین مناسب با پتانسیل باروری رقابتی در واحدهای مرغ مادر مورد توجه قرار گیرد، به‌ویژه در شرایطی که عملکرد خروس‌ها در سنین بالاتر بیشتر مورد نیاز باشد. این پژوهش اولین مطالعه‌ی مقایسه‌ای بین این دو سویه در ایران محسوب می‌شود و زمینه‌ساز پژوهش‌های آینده برای مقایسه سویه آرین با سایر سویه‌های جهانی خواهد بود.

واژگان کلیدی: خروس مولد، آرین، راس ۳۰۸، بافت بیضه، اسپرم، هیستومورفومتری، باروری.

مقدمه

صنعت طیور به عنوان رکنی اساسی در بخش کشاورزی، سهم قابل توجهی را در امنیت غذایی و رشد اقتصادی دارد و در عرصه پویای صنعت طیور، انتخاب دقیق و پرورش نژادهای ژنتیکی برتر، نقشی حیاتی در تامین تقاضای فزاینده جهانی برای محصولات طیور با کیفیت بالا را ایفا می‌کند (Franzo *et al.*, 2023). در میان بخش‌های مختلف صنعت طیور، تولید طیورگوشتی جایگاهی محوری در تأمین تقاضای رو به رشد گوشت طیور را دارد. در این راستا، تولید مطلوب جوجه‌های گوشتی به شدت به کارایی تولیدمثلی بویژه عملکرد خروس‌های گله‌های مولد وابسته است چرا که مستقیماً بر کمیت و کیفیت جوجه‌های تولید شده تأثیر می‌گذارد، لذا ارزیابی دقیق نطفه‌داری و پتانسیل تولیدمثلی در خروس‌های مولد برای بهینه‌سازی کارایی تولید و سودآوری، ضروری به نظر می‌رسد (Talebi *et al.*, 2018). در میان عوامل متعدد تأثیرگذار بر عملکرد تولیدمثل، درک تعامل پیچیده بین ویژگی‌های اسپرم و هیستومورفومتری بیضه به عنوان امری اساسی در افزایش کارایی تولیدمثلی و حفظ یکپارچگی ژنتیکی خروس‌های مولد گوشتی مطرح می‌باشد (Wilson *et al.*, 2018). کیفیت اسپرم به عنوان یک عامل تعیین‌کننده بنیادی در باروری جنس نر، شامل پارامترهای کمی و کیفی مختلفی مانند تعداد اسپرم، تحرک، مورفولوژی و قابلیت زنده ماندن است. این پارامترها نه تنها بر موفقیت تولیدمثلی خروس‌های مولد گوشتی تأثیر می‌گذارند، بلکه به طور قابل توجهی بر تنوع ژنتیکی و بهره‌وری کلی جمعیت طیور تجاری نیز اثرگذار است (Parker *et al.*, 2000). تجزیه و

تحلیل ویژگی‌های هیستومورفومتریکی بیضه‌ها، از جمله شاخص تمایز لوله‌ای (Tubule differentiation index; TDI)، شاخص اسپرمیوزن (Spermiogenesis index; SPI)، شاخص سلول سرتولی (Sertoli cell index; SCI) و شاخص میتوزی (Meiotic index; MI)، اطلاعات ارزشمندی در مورد ساختار بافتی و عملکردی اسپرماتوزن ارائه می‌دهند (Wilson *et al.*, 2018). هیستومورفومتری بیضه، از جمله لوله‌های منی ساز، بافت بینابینی و اپیتلیوم زایا که در سازماندهی ساختاری بیضه‌ها نقش دارند، می‌تواند تفاوت‌ها در فرآیند اسپرماتوزن را آشکار سازند (Talebi *et al.*, 2018). البته بدیهی است، ویژگی‌های مذکور که تحت تأثیر عواملی مانند سن، رژیم غذایی، شرایط محیطی و مخصوصاً ژنتیک قرار دارند، فرآیندهای زیربنایی اسپرماتوزن و سلامت بیضه را تعیین می‌کنند. بر این اساس، در حال حاضر، در بسیاری از کشورهای جهان، سویه گوشتی راس ۳۰۸ که به طور گسترده در صنعت طیور استفاده می‌شود، به دلیل ویژگی‌های مطلوب تولیدی مانند رشد سریع، ضریب تبدیل و بازده لاشه، محبوبیت پیدا کرده‌است (Choo *et al.*, 2014).

نظر به مطالب ارائه‌شده و با توجه به این‌که عملکرد تولیدمثلی و ویژگی‌های باروری سویه‌های مختلف خروس‌های مولد گوشتی متفاوت می‌باشد، این موضوع مهم، نیاز به یک ارزیابی جامع برای هدایت انتخاب سویه و استراتژی‌های پرورش را ضروری می‌سازد. در این خصوص، به دلیل کم بودن میزان مطالعات مقایسه‌ای در مورد باروری خروس مولد در نژاد گوشتی آرین، مطالعه حاضر قصد داشت که به طور مقایسه‌ای، پارامترهای اسپرم (تعداد اسپرم،

تحرك اسپرم، درصد اسپرم مرده و زنده) و پارامترهای هیستومورفومتری بافت بیضه را بین سویه آرین و سویه راس ۳۰۸ در فواصل سنی ۳۵، ۴۵ و ۵۵ هفتگی بررسی کند تا تفاوت نطفه‌داری (fertility) و تأثیر افزایش سن بر باروری بین این دو سویه تعیین گردد. در ارتباط با نوآوری تحقیق هم، بررسی به‌عمل آمده بیانگر آن است که مطالعه حاضر اولین مقایسه بین پارامترهای کمی و کیفی اسپرم و هیستومورفومتری بیضه در خروس‌های نژادهای آرین و راس ۳۰۸ می‌باشد. لذا به نظر می‌رسد که یافته‌های مطالعه حاضر، اطلاعات علمی موجود در مورد پتانسیل تولیدمثلی و ویژگی‌های باروری خروس‌های گله‌های مرغ مادرگوشتی را غنی‌تر خواهد کرد.

مواد و روش‌ها

- رعایت اخلاق در روند تحقیق:

تمام روش‌های انجام شده در این تحقیق که از سال ۱۴۰۳-۱۴۰۴ صورت گرفته است، توسط هیئت اخلاق پژوهش‌های دامی دانشگاه ارومیه تصویب و مورد تأیید قرار گرفته و کد اخلاق IR-UU-AEC-3/19 برای آن صادر شده است.

- انتخاب و تهیه طیور:

در مجموع تعداد ۶۰ قطعه خروس مادر گوشتی، شامل ۳۰ قطعه خروس سویه آرین و ۳۰ قطعه خروس سویه راس ۳۰۸، در سه گروه سنی متمایز شامل ۳۵، ۴۵ و ۵۵ هفتگی از یکی از مزارع پرورشی مرغ مادر گوشتی در نزدیکی شهر ارومیه در ایران تهیه شدند. معیارهای انتخاب طیور مذکور مطابق با استانداردهای شناخته شده صنعت برای خروس‌های بارور بوده است

(Talebi et al., 2018)، که براین اساس، به‌طورکلی پرندگان مطالعه حاضر، از نظر ظاهر فیزیکی مناسب و دارای ویژگی‌های مطلوب نشان‌دهنده پتانسیل تولیدمثلی، مانند هوشیاری، سطح فعالیت، یکنواختی وزن بدن، وضعیت بدنی مطلوب، شکل پا، ویژگی‌های سر، کیفیت پر و ویژگی‌های کلواک بودند.

- نگاه‌داری و پرورش پرندگان مورد مطالعه:

در طول دوره یک هفته‌ای عادت‌سازی، خروس‌ها تحت شرایط محیطی کنترل‌شده نگهداری شدند. میزان دما و رطوبت به دقت مطابق با توصیه‌های ویژه این سویه‌ها که در کاتالوگ‌های پرورشی مربوطه ذکر شده، حفظ شد. یک دوره نوری استاندارد شامل ۱۳ تا ۱۴ ساعت روشنایی در طول مدت نگاه‌داری، اجرا شد. برای اطمینان از دریافت مواد مغذی مطلوب، به پرندگان یک جیره تجاری فرموله شده برای خروس‌های مولد گوشتی، متناسب با گروه سنی آن‌ها، طبق توصیه کاتالوگ‌های نژادهای مربوطه، ارائه شد (Anonymous, 2020; Anonymous, 2022).

- نمونه‌گیری و جمع‌آوری نمونه‌ها:

با توجه به این‌که، بدیهی است که تلفیق ارزیابی‌های کیفیت مایع منی و هیستومورفومتری بیضه، درک چند جانبه‌ای از پتانسیل تولید مثلی و ویژگی‌های باروری خروس‌های مولد گوشتی سویه‌های آرین و راس ۳۰۸ را در سنین مختلف فراهم می‌کند، لذا نمونه‌گیری‌ها و آزمایشات لازم در تحقیق حاضر، بر این اساس و به شرح زیر انجام گردید:

- نمونه‌های مایع منی: از تکنیک ماساژ شکمی (Talebi et al., 2018)، برای جمع‌آوری مایع منی در سنین تعیین‌شده ۳۵، ۴۵ و ۵۵ هفتگی استفاده شد. بدین

سریع به عنوان تحرک‌پذیری اسپرم‌ها بیان شد (Tabatabaei et al., 2010).

- تعیین قابلیت زنده ماندن اسپرم: از تکنیک رنگ‌آمیزی ائوزین-نیگروزین برای تفکیک اسپرم‌های زنده و مرده استفاده شد. در این روش مقدار $20/000$ میکرولیتر ائوزین (۰/۰۵ درصد) (پارس پیوند، ایران) با همان حجم از سوسپانسیون اسپرم، بر روی یک لام مخلوط شد و پس از ۳۰ ثانیه، 2000 میکرولیتر نیگروزین (آریا طب، ایران) به مجموعه مذکور اضافه شد. در ادامه و پس از ۲ دقیقه گرم‌خانه‌گذاری در دمای اتاق، لام‌های مربوط به هر نمونه اسپرم، جداگانه زیر میکروسکوپ نوری (مدل CHT; Olympus Optical Co. Ltd. توکیو، ژاپن) با استفاده از بزرگ‌نمایی $\times 400$ بررسی شدند. لازم به ذکر است که در روش استفاده شده، اسپرم‌های زنده رنگ نمی‌گیرند، در حالی که اسپرم‌های مرده رنگ ائوزین را جذب کرده و به رنگ صورتی ظاهر می‌شوند. در این مرحله کار هم، حداقل تعداد 200 اسپرم شمارش شد و نسبت اسپرم‌های زنده/مرده با شمارش اسپرم‌های رنگ‌آمیزی شده و رنگ نگرفته تعیین و به صورت درصد بیان شد (Talebi et al., 2018).

- تعیین شمارش اسپرمی: بدین منظور از روش استاندارد هموسایتومتر برای تعیین شمارش اسپرمی در هر میلی‌لیتر از مایع منی مطابق با مطالعات قبلی (Talebi et al., 2018) استفاده شد. به طور خلاصه، مقدار $10/000$ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپرم ($1:200$) به هر یک از حجره‌های شمارش لام هموسایتومتر نئوبار (HBG، برلین، آلمان) منتقل شد و پس از ۵ دقیقه در شرایط مرطوب، اسپرم‌ها با استفاده

منظور به طور خلاصه، به کمک یک دستیار برای نگه‌داشتن و ماساژ شکمی خروس‌ها در طول جمع‌آوری مایع منی، با تحریک شدن خروس، اندام تناسلی نر متورم شده، سپس مایع منی با فشار انگشت در هر طرف منخرج، جمع‌آوری می‌شود. نمونه‌های مایع منی جمع‌آوری شده بلافاصله به آزمایشگاه برای ارزیابی تحرک، زنده بودن و شمارش اسپرمی، منتقل شدند.

- نمونه‌های بافتی: پس از جمع‌آوری مایع منی در هر گروه سنی، خروس‌ها با رعایت ضوابط توصیه‌شده (Collett and Smith, 2020) ذبح شدند. در ادامه بیضه آن‌ها جهت ارزیابی بافت شناسی و سایر ارزیابی‌ها از محوطه شکمی قسمت قدامی کلیه‌ها جدا شده و برای تثبیت بافتی و انجام مراحل بعدی بافت‌شناسی، در بافر فرمالین ۱۰ درصد (پارس شیمی، ایران) قرار گرفتند.

- ارزیابی کیفیت مایع منی

- ارزیابی تحرک اسپرم: بدین منظور، ابتدا یک نمونه رقیق‌شده از مایع منی با استفاده از محلول رینگر اصلاح شده ($17/333$ گرم کلرید پتاسیم، $68/00$ گرم کلرید سدیم، $2/50$ گرم سولفات منیزیم، $6/42$ گرم کلرید کلسیم، $24/50$ گرم بیکربنات سدیم و 10 لیتر آب مقطر) در نسبت از پیش تعیین شده $\frac{1}{200}$ تهیه شد (Alavi et al., 2020). سپس به کمک میکروسکوپ نوری (مدل CHT; Olympus Optical Co. Ltd. توکیو، ژاپن) تحرک‌پذیری اسپرم‌ها بررسی شد که برای این کار، حداقل تعداد 200 اسپرم برای هر نمونه تجزیه و تحلیل شدند. لازم به ذکر است که درصد اسپرماتوزوآهای دارای حرکت پیشرونده متوسط تا

- شاخص سلول سرتولی (Sertoli cell index; SCI): بدین منظور نسبت سلول‌های زایشی (اسپرما توگونی، اسپرماتوسیت‌ها، اسپرماتیدها) به سلول‌های سرتولی برای ارزیابی ظرفیت حمایتی اپیتلیوم منی‌ساز تعیین شد. در این مرحله، تعداد ۶۰ لوله منی‌ساز به طور تصادفی در هر گروه مورد ارزیابی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

- ضریب میوزی (Mitotic index; MI): بدین منظور تعداد اسپرماتیدهای گرد برای هر اسپرماتوسیت اولیه پاکتین برای تعیین درصد از دست رفتن سلول در طول تقسیم سلولی محاسبه شد. در این مرحله هم تعداد ۶۰ لوله منی‌ساز به طور تصادفی در هر گروه مورد ارزیابی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت (Talebi et al., 2018).

- تحلیل آماری داده‌ها:

تفاوت‌های مشاهده شده بین گروه‌های تحقیق به کمک آزمون تجزیه و تحلیل واریانس یک‌طرفه و با استفاده از بسته نرم‌افزاری آماری SPSS (نسخه ۲۵، SPSS Armonk, Inc، آمریکا) ارزیابی شدند. معنی‌داری آماری بین گروه‌ها هم با آزمون پس از تحلیل واریانس چندگانه توکی (Tukey) تعیین شد که در صورت معنی‌دار بودن به صورت ($p < 0.05$) بیان گردید.

یافته‌ها

- نتایج ارزیابی پارامترهای منی

نتایج ویژگی‌های اسپرم سوبه‌های آرین و راس ۳۰۸ در سنین ۳۵، ۴۵ و ۵۵ هفتگی در جدول ۱ ارائه شده است. تمایز بین اسپرم‌های مرده و زنده هم در شکل ۱ نشان داده شده است.

از میکروسکوپ نوری (مدل CHT; Olympus Optical Co. Ltd، توکیو، ژاپن) در بزرگ‌نمایی $\times 400$ شمارش و نتیجه حاصله به عنوان تعداد اسپرم در هر میلی‌لیتر بیان شد.

- ارزیابی‌های هیستومورفومتری بیضه خروس‌های مورد مطالعه:

پس از فرایند تثبیت بافت، نمونه‌ها با پارافین قالب‌گیری شدند، به ضخامت ۶۰۰ میکرومتری برش خورده و با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (Hematoxylin and Eosin staining method, H&E) (پارس پیوند، ایران) رنگ‌آمیزی شدند. تمام لام‌ها با بزرگ‌نمای‌های متعدد ($\times 400$ و $\times 1000$) میکروسکوپ نوری (مدل CHT; Olympus Optical Co. Ltd، توکیو، ژاپن) مورد مطالعه قرار گرفتند (Talebi et al., 2018).

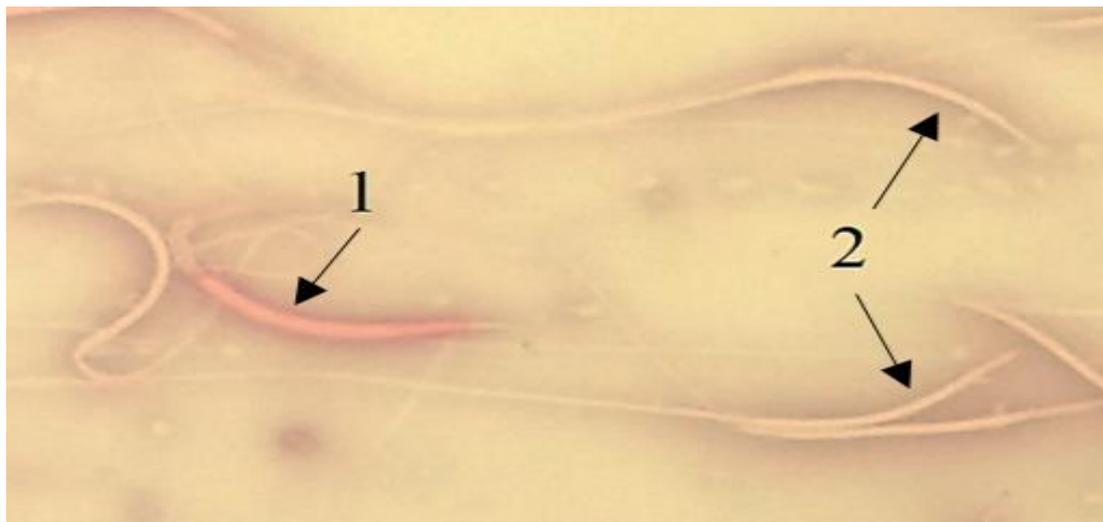
- شاخص تمایز لوله‌ای (Tubule differentiation index; TDI): در این مرحله از کار، درصد لوله‌های منی‌ساز که بیش از ۳ رده سلولی از سلول‌های زایشی متمایز (از اسپرماتوگونی A به بعد) دارند، شمارش شدند. بدین منظور تعداد ۲۰۰ مقطع عرضی لوله‌های منی‌ساز به طور تصادفی بررسی و تجزیه و تحلیل شدند.

- شاخص اسپرمیونز (Spermiation index; SPI): در این مرحله از کار، درصد لوله‌های منی‌ساز که اسپرم‌زایی کامل (وجود اسپرماتوزوآ) را نشان می‌دهند، ارزیابی شد. بدین منظور هم تعداد ۲۰۰ مقطع عرضی لوله‌های منی‌ساز به طور تصادفی بررسی شده و تجزیه و تحلیل گردیدند.

جدول ۱- ویژگی‌های اسپرم خروس‌های مولد گوشتی سویه‌های آرین و راس ۳۰۸ در سنین ۳۵، ۴۵ و ۵۵ هفتگی (میانگین \pm خطای استاندارد)

سن و سویه پرند بررسی شده	تعداد اسپرم ($10^9/ml$)	قابلیت زنده ماندن اسپرم (درصد)	تحرک اسپرم (درصد)	
۳۵ هفتگی	آرین	۳/۴۸ \pm ۱/۱۶	۸۰/۸۵ \pm ۳/۴۶ ^a	۶۶/۲۵ \pm ۱۸/۴۴
راس ۳۰۸	۳/۳۹ \pm ۰/۹۵	۹۰/۳۵ \pm ۲/۶۶ ^b	۷۰/۳۳ \pm ۱۶/۸۵	
<i>p-value</i>	۰/۸۵	۰/۰۰۰۱	۰/۶۱۹	
۴۵ هفتگی	آرین	۳/۱۵ \pm ۰/۸	۸۰/۵ \pm ۳/۹۴	۶۹/۴ \pm ۱۰/۱۳
راس ۳۰۸	۳/۱۸ \pm ۰/۹۲	۸۱/۵۵ \pm ۴/۹۳	۶۷ \pm ۱۹/۸۴	
<i>p-value</i>	۰/۹۴۵	۰/۶۳۶	۰/۷۴	
۵۵ هفتگی	آرین	۲/۹۹ \pm ۰/۷۶	۸۱/۷۲ \pm ۶/۱۲	۷۰/۸ \pm ۸/۶
راس ۳۰۸	۲/۸۹ \pm ۰/۷۱	۷۸ \pm ۵/۱۲	۶۴/۸۸ \pm ۱۵/۵۳	
<i>p-value</i>	۰/۷۵۲	۰/۱۸۱	۰/۳۰۵	

...a,b,حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی‌دار بین گروه‌ها در هر ستون می‌باشد ($p < 0.05$).



شکل ۱- نحوه تمایز اسپرماتوزوآهای مربوط به خروس‌های سویه‌های آرین و راس ۳۰۸؛ اسپرم مرده به رنگ صورتی [۱]، اسپرم زنده بدون رنگ [۲] (رنگ‌آمیزی اتوزین-نیگروزین، بزرگ‌نمایی $\times 1000$).

-نتایج مطالعات بافت‌شناسی بیضه

در سنین ۳۵، ۴۵ و ۵۵ هفتگی در جدول ۲ و شکل ۲

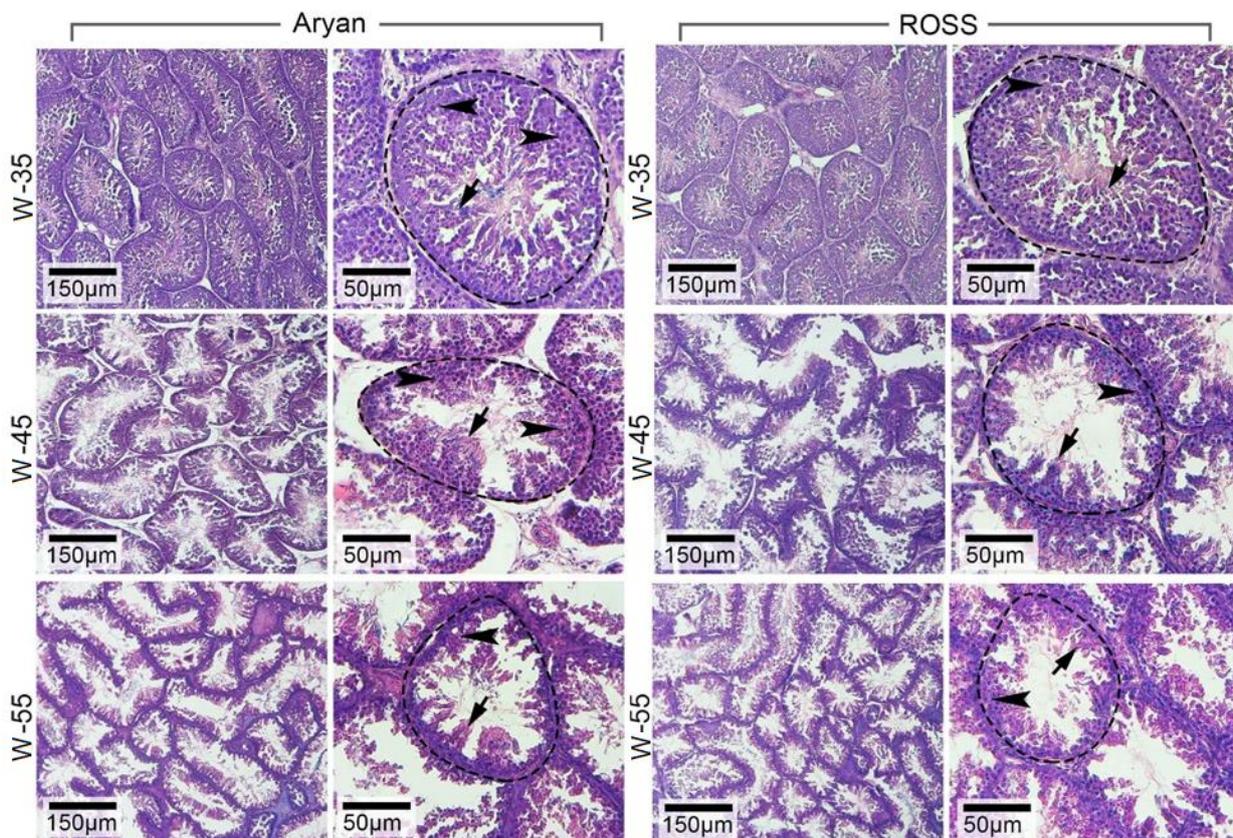
ارائه شده است

نتایج ارزیابی هیستومورفومتریک بافت بیضه در

خروس‌های مادرگوشتی سویه آرین و سویه راس ۳۰۸

جدول ۲- ویژگی‌های هیستومورفومتری یک بیضه خروس‌های مولد گوشتی سویه‌های آراین و راس ۳۰۸ در سنین ۳۵، ۴۵ و ۵۵ هفتگی (میانگین \pm خطای استاندارد)

سن و سویه پرند برریشده	ضخامت بافت همبند بینابینی (میکرومتر)	قطر لوله (میکرومتر)	ضریب میوزی	شاخص سلول سرتولی	شاخص تمایز لوله‌ای (درصد)	شاخص اسپرمیوزن (درصد)
۳۵ هفتگی	آراین	۳۶۷۵±۴/۲۶	۲۵۹/۴۷±۱۶/۴	۱/۲۸±۰/۱۵	۲۷/۴۲±۳/۷۷	۷۲/۵۲±۷/۵۲
	راس ۳۰۸	۳۷/۲۵±۳/۶۲	۲۵۶/۸۵±۱۴/۸	۱/۲۹±۰/۱۳	۲۶/۵۷±۴/۸۳	۷۰/۰۴±۷/۸۷
	p-value	۰/۷۵۹	۰/۵۹۱	۰/۷۸۴	۰/۵۵۳	۰/۲۳۶
۴۵ هفتگی	آراین	۳۹±۵/۵۲	۲۵۵/۱۴±۱۶/۸	۱/۱۸±۰/۲۲	۲۶/۶۳±۳/۲۶	۶۳/۴۷±۱۱/۵۶
	راس ۳۰۸	۳۷/۷۵±۵/۴۱	۲۵۴/۰۹±۱۸/۱	۱/۲۵±۰/۴	۲۶/۲۶±۳/۳۹	۶۵/۸۴±۹/۱۲
	p-value	۰/۵۸۱	۰/۸۴۷	۰/۴۹۷	۰/۷۳۵	۰/۴۷
۵۵ هفتگی	آراین	۴۰/۵۸±۵/۲۱	۲۴۷/۸۵±۱۸/۵	۱/۱۱±۰/۰۷	۲۳/۵۲±۴/۷۵	۵۸/۸۰±۱۶/۴
	راس ۳۰۸	۴۱/۱۶±۴/۵۸	۲۴۶/۷۱±۱۶/۲	۱/۱۲±۰/۰۸	۲۴/۵۲±۴/۷۳	۶۰/۷۶±۱۶/۳۹
	p-value	۰/۷۷۳	۰/۸۳۲	۰/۷۵۲	۰/۵۱۹	۰/۶۹۸



شکل ۲- برش‌های عرضی بافت بیضه در سنین مختلف خروس‌های مولد گوشتی سویه‌های آراین و راس ۳۰۸: لوله‌های منی ساز در تصاویر میکروسکوپی با دایره مشخص شده‌اند. تمایز لوله‌ای مثبت (نوک پیکان) و اسپرم‌زایی (پیکان‌ها) در فواصل سنی مختلف نشان داده شده‌است (رنگ آمیزی H & E).

بحث و نتیجه‌گیری

اصولاً در صنعت مرغ مادر، سودآوری گله‌های مولد به تعداد جوجه‌های یک‌روزه بستگی دارد و عملکرد واحدهای مرغ مادر به طور قابل توجهی تحت تأثیر مشکلات باروری قرار می‌گیرد و غالباً کیفیت و کمیّت تطفه‌داری خروس‌ها عامل اصلی این مشکلات باروری بوده و لذا تجزیه و تحلیل منی خروس‌های مولد همچنان پرکاربردترین روش برای ارزیابی و پیش‌بینی عملکرد واحدهای مرغ مادر می‌باشد. است. همان‌طوری‌که در جدول ۱ نشان داده شده است نتایج این مطالعه بیانگر آن است که در هر دو سویه تحت مطالعه، با افزایش سن به‌ویژه از سن ۴۵ هفتگی به آن طرف، از کمیّت و کیفیت نطفه‌داری خروس‌ها کاسته می‌شود و یافته‌های این تحقیق با نتایج مطالعات قبلی همخوانی دارد که کاهش غلظت اسپرم و حجم منی در خروس‌های مولد گوشتی مسن با کاهش نطفه‌داری مرتبط است و اثرات منفی افزایش سن بر باروری به خوبی مستند شده است (Kang et al., 2002; Sexton et al., 1989; Rezvanfar et al., 2008). البته کیفیت منی خروس تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله نژاد، سن، تغذیه و استرس‌های محیطی (مانند دما و رطوبت) نیز قرار دارد. مطالعات متعددی کیفیت منی (یکپارچگی غشای اسپرم، قطعه قطعه شدن DNA اسپرم، سطوح کورتیزول پلاسما و غیره) را در خروس‌های سنین مختلف (مانند ۲۳، ۴۲، ۵۰، ۶۰ هفته) در شرایط تغذیه‌ای یکسان ارزیابی شده است و نتایج نشان می‌دهد که بالا رفتن سن تأثیر بیشتری بر کیفیت و کمیّت منی دارد (Zhang et al., 1999; Karaca et al., 2002; Shanmugam et al., 2014).

آویتال کوهن و همکاران در سال ۲۰۱۳ گزارش کرده‌اند که عموماً "باروری در خروس‌های مولد گوشتی در طول سال اول پرورشی کاهش می‌یابد (Avital-Cohen et al., 2013) و این کاهش نطفه‌داری در خروس‌های گوشتی مسن تر با عواملی همچون افزایش وزن، مشکلات پا، کیفیت مواد مغذی، کاهش میل جنسی و کاهش کارایی و فراوانی جفت‌گیری (Hocking et al., 1989; Rosenstrauch et al., 1994; Cerolini et al., 2008; Romero-Sanchez et al., 1997) و همچنین با کاهش کیفیت و کمیّت اسپرم و سطح تستوسترون خون مرتبط است (Rosenstrauch et al., 1998; Weil et al., 2013; Sarabia Frago et al., 1999). و نقش تستوسترون در کنترل صفات اولیه و ثانویه جنسی خیلی برجسته است (Pourali et al., 2023). در مطالعه‌ای که توسط سکستون و همکاران در سال ۱۹۸۹ صورت گرفت نشان داده شد که سطح تستوسترون با افزایش سن در خروس‌ها پس از ۳۰ هفتگی کاهش می‌یابد (Sexton et al., 1989). مطالعه طباطبایی و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان داد که عملکرد تولیدمثلی (کاهش غلظت اسپرم، تحرک، زنده ماندن و افزایش نقایص ریخت‌شناسی اسپرم) با افزایش سن در خروس‌های بومی نیز کاهش می‌یابد و بر اهمیت شناسایی و حذف خروس‌های نابارور تأکید می‌کند. با این حال، شناسایی خروس‌های نابارور ضعیف که بر باروری گله نیز تأثیر منفی می‌گذارند بسیار مهم است (Tabatabaei et al., 2010). آنچه‌که مسلم است کاهش کیفیت و کمیّت نطفه‌داری خروس‌ها منجر به تخم‌مرغ‌های نابارور و در نهایت جوجه‌های کمتر می‌شود و به نظر می‌رسد که با

افزایش سن خروس‌ها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد و احتمال آسیب به اسپرم به دلیل ساختار منحصر به فرد اسپرم افزایش می‌یابد. لذا شکی نیست که در بین عوامل مختلف سن خروس تاثیر به‌سزایی بر روی کمیّت و کیفیت اسپرم خروس‌ها دارد، اما روند کاهش عملکرد باروری در سنین بالاتر از ۳۵ هفتگی به نژاد خروس نیز بستگی دارد که در این تحقیق، مورد مطالعه قرار گرفته است.

مقایسه ویژگی‌های اسپرم (تعداد، تحرک و زنده مانی اسپرم‌ها) خروس‌های مورد مطالعه (جدول ۱) بیانگر آن است که در سنین ۳۵ و ۵۵ هفتگی، تعداد اسپرم در گروه آراین به طور غیرمعنی داری ($p > 0.05$)، بیش‌تر از گروه راس ۳۰۸ بوده ولی در سن ۴۵ هفتگی، تعداد اسپرم در گروه راس ۳۰۸ اندکی بیشتر می‌باشد. این نتایج نشان می‌دهد که تعداد اسپرم در هر دو سویه بالا رفتن سن خروس‌ها روند کاهش دارد و در سنین تحت مطالعه، عملکرد خروس‌های سویه آراین از عملکرد خروس‌های سویه راس ۳۰۸ کمتر نیست. همان‌طوری‌که در جدول ۱ نشان داده شده است در سن ۳۵ هفتگی، درصد قابلیت زنده ماندن اسپرم در گروه راس ۳۰۸ به طور معنی‌داری ($p < 0.05$)، بیشتر از گروه آراین می‌باشد ولی در سن ۴۵ هفتگی، درصد قابلیت زنده ماندن اسپرم تفاوت معنی‌داری ($p < 0.05$) بین گروه‌های آراین و راس ۳۰۸ مشاهده نگردید در حالی‌که در سن ۵۵ هفتگی، درصد قابلیت زنده ماندن اسپرم در گروه آراین به طور غیر معنی‌داری ($p > 0.05$)، بیشتر از گروه راس ۳۰۸ بود. به‌هر حال، روند کاهش قابلیت زنده ماندن اسپرم‌ها گروه راس ۳۰۸ بیشتر از سویه آراین می‌باشد و این امر می‌تواند

جزو محسنات گروه آراین تلقی گردد. در مورد تحرک اسپرم، در سن ۳۵ هفتگی، درصد تحرک اسپرم در گروه راس ۳۰۸ به طور غیر معنی‌داری ($p > 0.05$)، بیشتر از گروه آراین بود ولی در مقابل، در سنین ۴۵ و ۵۵ هفتگی، درصد تحرک اسپرم در گروه آراین بالاتر می‌باشد و همان‌طوریکه در جدول شماره ۱ نشان داده شده است درصد تحرک اسپرم در سویه آراین حداقل روند کاهش را نداشته است. بطور کلی مقایسه ویژگی‌های اسپرم (تعداد، تحرک و زنده مانی اسپرم‌ها) خروس‌های این دو سویه بیانگر آن است که در فعالترین دوره سنی خروس (۳۵ هفتگی) تفاوت معنی‌داری در بین این دو سویه وجود ندارد و جالب‌تر این‌که در سنین ۴۵ و ۵۵ هفتگی، ویژگی‌های اسپرم سویه آراین به مراتب بیشتر از سویه راس ۳۰۸ بوده و این نتایج نشان می‌دهد که نطفه‌داری و نهایتاً باروری در سویه آراین قابل مقایسه با سویه راس ۳۰۸ می‌باشد. متأسفانه به‌علت این‌که مقالات چاپ شده در خصوص ویژگی‌های اسپرم خروس‌های سویه آراین وجود ندارد و همچنین مطالعات مقایسه‌ای باروری خروس‌ها در نژادها و حتی در بین برندهای مختلف صورت نگرفته است لذا بحث در ارتباط با مقایسه این دو سویه را محدود می‌کند. البته تحقیقات قبلی بیانگر آن است که در سویه‌های اصلاح نژادی تجاری، نطفه‌داری خروس‌ها و باروری تخم مرغ‌ها در سنین ۳۰ الی ۴۰ هفتگی به اوج می‌رسد ولی مشکل باروری بیشتر از سن ۴۵ هفتگی به بعد مشاهده می‌گردد (Hocking and Bernard, 1997; Hocking and Bernard, 2000) و کاهش تولید گامت، منجر به کاهش تولید اسپرم، در ۵۰ درصد موارد در سنین ۴۵ تا ۵۰ هفتگی رخ می‌دهد

(Moghaddam and Shafaati-Alishah, 2024). بدیهی است که اکسیداسیون چربیهای غیر اشباع و تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی (Reactive Oxygen Species) الگوی حرکتی اسپرم‌ها را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهد (Lotfy and Abdy, 2024). علاوه بر این، تغییرات مرتبط با سن در نسبت اجزای مختلف لیپیدی (افزایش اسیدهای چرب آزاد و استرهای کلسترول) در اسپرماتوزوآها می‌تواند منجر به کاهش باروری در خروس‌ها شود (Cerolini et al., 1997) و همچنین اویتال-کوهن دریافتند که سطح هورمون‌های هیپوفیز و هیپوتالاموس در خروس‌های مسن‌تر در مقایسه با خروس‌های جوان‌تر پایین‌تر است (Avital-Cohen et al., 2013). گزارشاتی وجود دارد که ارتباط بین سن و کاهش باروری در پرندگان دیگر نیز مشاهده شده است و کیفیت مایع منی تازه و ذخیره‌شده در بوقلمون‌ها تحت تاثیر سن قرار می‌گیرد (Douard et al., 2003) و حتی مطالعات متعددی گزارش کرده‌اند که با افزایش سن در مردان، کیفیت سلول‌های زایای بیضه کاهش می‌یابد و آسیب DNA افزایش می‌یابد که منجر به کاهش باروری می‌شود (Wyrobek et al., 2006). به‌طور کلی، یافته‌های این مطالعه با یافته‌های مطالعه تحقیقات پیشین هم‌خوانی داشته و کاهش عوامل باروری را با افزایش سن تأیید می‌کند.

همان‌طوری که در جدول ۲ و شکل ۲ نشان داده شده است در مقایسه میانگین ضخامت بافت بینابینی بیضه در سوبه‌های آرین و راس ۳۰۸ تفاوت معنی‌داری ($p > 0.05$) بین دو گروه در سنین وجود ندارد. با عنایت به جدول ۲، اولاً ویژگی‌های هیستومورفومتریک خروس‌های دو سوبه مورد مطالعه

(De Reviere et al., 1981). هوکینگ و برنارد در سال ۱۹۹۷ و ژانگ و همکاران در سال ۱۹۹۹ گزارش کرده‌اند که کاهش باروری در خروس‌های مسن‌تر عمدتاً با کاهش غلظت و حجم مایع منی مرتبط است (Hocking and Bernard, 1997; Zhang et al., 1999). بدیهی است که در مطالعات متعددی ارتباط بین سن و غلظت اسپرم بررسی شده است به‌طوری‌که سرولینی و همکاران در سال ۱۹۹۷ کاهش خطی غلظت اسپرم را با افزایش سن مشاهده کرده‌اند و نتایج آنها نشان می‌دهد که بالاترین غلظت اسپرم در سن ۳۷ هفتگی و پایین‌ترین آن در سن ۷۲ هفتگی بوده است (Cerolini et al., 1997). ژانگ و همکاران در سال ۱۹۹۹ گزارش کرده‌اند که پتانسیل تولید مایع منی از ۹۴ درصد در سن ۲۸ هفتگی به ۳۰ درصد در سن ۵۲ هفتگی کاهش می‌یابد و این امر به دلیل کاهش غلظت مایع منی، حجم مایع منی و تعداد اسپرم در هر انزال است (Zhang et al., 1999). روزنتروخ و همکاران در سال ۱۹۹۴ پیشنهاد کرده‌اند که ارتباط کاهش تولید اسپرم با سن خروس‌ها، ممکن است به دلیل گیر افتادن اسپرماتوزوآها در سلول‌های سرتولی ناشی از ناتوانی سلول‌های سرتولی در آزادسازی اسپرماتوزوآهای بالغ باشد (Rosenstrauch et al., 1994). تحقیقات جدید نشان می‌دهد که افزایش پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده n-3، n-9 و n-6 با افزایش سن ممکن است مسئول کاهش قابلیت زنده ماندن، تحرک و قدرت باروری اسپرم باشد (Douard et al., 2003) و به نظر می‌رسد که این تغییرات در غشای پلاسمای اسپرم باعث دارا بودن اسیدهای چرب غیر اشباع و حساسیت آنها در مقابل پراکسیداسیون صورت می‌گیرد

با افزایش سن روند کاهش را داشته و ثانیاً مقایسه قطر لوله‌های منی‌ساز (میکرومتر)، شاخص میوزی (MI)، شاخص سلول سرتولی (SCI)، درصد شاخص تمایز لوله‌ای (TDI) و درصد شاخص اسپرمیوژنز (SPI) تفاوت معنی‌داری ($p > 0/05$)، در بین سویه‌های آرین و راس ۳۰۸ در سنین ۳۵، ۴۵ و ۵۵ هفتگی مشاهده نگردید.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد مقایسه‌ی ویژگی‌های (پارامترهای کمی و کیفی) اسپرم و هیستومورفومتری بیضه در خروس‌های نژادهای آرین و راس ۳۰۸ بیانگر آن است که ویژگی‌های فنوتیپی، ویژگی‌های مایع منی و هیستومورفومتری بیضه در خروس‌های سویه آرین و سویه راس ۳۰۸ تفاوت چندانی نداشته و نطفه‌داری خروس‌های سویه آرین کمتر از خروس‌های سویه راس ۳۰۸ نیست و با افزایش سن، روند کاهش باروری در سویه آرین در مقایسه با سویه راس ۳۰۸ حتی آهسته‌تر می‌باشد. البته این تحقیق اولین مطالعه مقایسه‌ای در خصوص عملکرد باروری خروس‌های سویه آرین با سویه راس

می‌باشد و پیشنهاد می‌گردد که در آینده، مطالعات مقایسه‌ای این سویه با سایر سویه‌های رایج از قبیل کاب، آربروکرز و هوبارد نیز صورت بگیرد.

سیاسگزاری

نویسندگان از تمامی کادر فنی و همکاران دپارتمان بهداشت و بیماری‌های طیور و دپارتمان علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، به خاطر همکاری مؤثر در انجام این مطالعه قدردانی می‌کنند. این تحقیق توسط معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه، حمایت مالی شده است.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچگونه تعارض منافع مالی یا روابط شخصی شناخته شده‌ای که ممکن است بر کار علمی گزارش شده در این مقاله تأثیر داشته باشد را ندارند.

منابع

- Alavi, M.H., Allymehr, M., Talebi, A. and Najafi, G. (2020). Comparative effects of nano-selenium and sodium selenite supplementations on fertility in aged broiler breeder males. *Veterinary Research Forum*, 11(2): 135-141.
- Anonymous. (2020). Nutrition and Feed Management for Ross 308 AP Parent Stock in North America. https://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/Ross_Tech_Articles/RossNote-Ross308AP-FeedandNutrition-2020-EN.
- Anonymous. (2022). Arian-broiler-management-handbook. <https://www.modiranfarm.com/arian-broiler-management-handbook>.
- Avital-Cohen, N., Heiblum, R., Argov-Argaman, N., Rosenstrauch, A., Chaiseha, Y., Mobarkey, N., et al. (2013). Age-related changes in gonadal and serotonergic axes of broiler breeder roosters. *Domestic Animal Endocrinology*, 44(3): 145-150.

- Cerolini, S., Kelso, K.A., Noble, R.C., Speake, B.K., Pizzi, F. and Cavalchini, L.G. (1997). Relationship between spermatozoan lipid composition and fertility during aging of chickens. *Biology of Reproduction*, 57(5): 976-980.
- Choo, Y.K., Oh, S.T., Lee, K.W., Kang, C.W., Kim, H.W., Kim, C.J., et al. (2014). The Growth Performance, Carcass Characteristics, and Meat Quality of Egg-Type Male Growing Chicken and White-Mini Broiler in Comparison with Commercial Broiler (Ross 308). *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 34(5): 622-629.
- Collett, S.R. and Smith J.A. (2020). Principles of disease prevention, diagnosis, and control. In: *Diseases of Poultry*. Swayne, D.E. Edithor-in-Chief 14th ed., NJ: Wiley Blackwell, pp: 29-33.
- De Reviere, M., Williams, J., Garreau, M. and Brillard, J. (1981). Predicting the adult daily sperm output after the first ejaculates in cockerels raised under different photoschedules. *Reproduction Nutrition Développement*, 21(6B): 1113-1124.
- Douard, V., Hermier, D., Magistrini, M. and Blesbois, E. (2003). Reproductive period affects lipid composition and quality of fresh and stored spermatozoa in turkeys. *Theriogenology*, 59(3-4): 753-764.
- Franzo, G., Legnardi, M., Faustini, G., Tucciarone, C.M. and Cecchinato, M. (2023). When everything becomes bigger: big data for big poultry production. *Animals (Basel)*, 13(11): 1804.
- Hocking, P. (1989). Effect of dietary crude protein concentration on semen yield and quality in male broiler breeder fowls. *British Poultry Science*, 30(4): 935-945.
- Hocking, P.M. and 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*, 38(2): 199-202.
- Hocking, P.M. and Bernard, R. (2000). Effects of the age of male and female broiler breeders on sexual behaviour, fertility and hatchability of eggs. *British Poultry Science*, 41(3): 370-376.
- Kang, J.K., Lee, Y.J., No, K.O., Jung, E.Y., Sung, J.H., Kim, Y.B., et al. (2002). Ginseng intestinal metabolite-I (GIM-I) reduces doxorubicin toxicity in the mouse testis. *Reproductive Toxicology*, 16(3): 291-298.
- Karaca, A., Parker, H. and McDaniel, C. (2002). Elevated body temperature directly contributes to heat stress infertility of broiler breeder males. *Poultry Science*, 81(12): 1892-1897.
- Lotfy, M. and Abdy, K. (2024). Evaluation of the effect of the amino acid methionine on goat epididymal sperm motility parameters during preservation at 5 degrees celsius using CASA (Computer Assisted Sperm Analysis). *Veterinary Clinical Pathology*, 18(70): 113-125. [In Persian]
- Moghaddam, Gh. and Shafaati-Alishah, P. (2024). The importance and characteristics of sperm diluents. *Veterinary Clinical Pathology*, 18(69): 45-67. [In Persian]
- Parker, H.M., Yeatman, J.B., Schultz, C.D., Zumwalt, C.D. and McDaniel, C.D. (2000). Use of a sperm analyzer for evaluating broiler breeder males. 2. Selection of young broiler breeder roosters for the sperm quality index increases fertile egg production. *Poultry Science*, 79(5): 771-777.
- Pourali, S., Davasaz Tabrizi, A. and Safavi Khalkhali, S.E. (2023). A comparative study to investigate the effect of Testosterone enanthate and Nandrolonedecanoate administration on testicular tissue and spermatogenesis coefficients in rats. *Veterinary Clinical Pathology*, 16(64): 355-368. [In Persian]
- Rezvanfar, M.A., Sadrkhanlou, R.A., Ahmadi, A., Shojaei-Sadee, H., Rezvanfar, M.A., Mohammadirad, A., et al. (2008). Protection of cyclophosphamide-induced toxicity in reproductive tract histology, sperm characteristics, and DNA damage by an herbal source; evidence for role of free-radical toxic stress. *Human and Experimental Toxicology*, 27(12): 901-910.
- Romero-Sanchez, H., Plumstead, P., Leksrisompong, N., Brannan, K. and Brake, J. (2008). Feeding broiler breeder males. 4. Deficient feed allocation reduces fertility and broiler progeny body weight. *Poultry Science*, 87(4): 805-811.
- Rosenstrauch, A., Allan Degen, A. and Friedländer, M. (1994). Spermatozoa retention by Sertoli cells during the decline in fertility in aging roosters. *Biology of Reproduction*, 50(1): 129-136.

- Rosenstrauch, A., Weil, S., Degen, A.A. and Friedländer, M. (1998). Leydig cell functional structure and plasma androgen level during the decline in fertility in aging roosters. *General and Comparative Endocrinology*, 109(2): 251-258.
- Sarabia Fragoso, J., Pizarro Díaz, M., Abad Moreno, J.C., Casanovas Infesta, P., Rodriguez-Bertos, A. and 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.
- Sexton, K., Renden, J., Marple, D. and Kempainen, R. (1989). Effects of dietary energy on semen production, fertility, plasma testosterone, and carcass composition of broiler-breeder males in cages. *Poultry Science*, 68(12): 1688-1694.
- Shanmugam, M., Vinoth, A., Rajaravindra, K. and Rajkumar, U. (2014). Evaluation of semen quality in roosters of different age during hot climatic condition. *Animal Reproduction Science*, 145(1-2): 81-85.
- Tabatabaei, S., Chaji, M. and Mohammadabadi, T. (2010). Correlation between age of rooster and semen quality in Iranian indigenous broiler breeder chickens. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(1): 195-198.
- Talebi, A., Alimehr, M., Alavi, M.H., Najafi, G. and Simaei, N. (2018). Comparative study of semen traits and histomorphometric features of testes of broiler breeder males with different phenotypic traits. *Veterinary Research Forum*, 9(1):1-6.
- Weil, S., Rozenboim, I., Degen, A.A., Dawson, A., Friedländer, M. and Rosenstrauch, A. (1999). Fertility decline in aging roosters is related to increased testicular and plasma levels of estradiol. *General and Comparative Endocrinology*, 115(1): 23-28.
- Wilson, F.D., Johnson, D.I., Magee, D.L. and Hoerr, F.J. (2018). Testicular histomorphometrics including Sertoli cell quantitation for evaluating hatchability and fertility issues in commercial breeder-broiler roosters. *Poultry Science*, 97(5): 1738-1747.
- Wyrobek, A.J., Eskenazi, B., Young, S., Arnheim, N., Tiemann-Boege, I., Jabs, E.W., et al. (2006). Advancing age has differential effects on DNA damage, chromatin integrity, gene mutations, and aneuploidies in sperm. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(25): 9601-9606.
- Zhang, X., Berry, W.D., McDaniel, G.R., Roland, D.A., Liu, P., Calvert, C., et al. (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.