

مقاله کامل

بررسی اثرات دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) بر روی کیفیت اسپرم سگ در طول نگهداری در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد

• مناصحابی

گروه‌آم‌ام‌م‌ج‌آ‌د‌ان‌ش‌ک‌ده‌آ‌د‌ام‌پ‌ش‌ک‌ج‌آ‌د‌ان‌ش‌گ‌ها‌آ‌ار‌وم‌خ‌ه‌،‌آ‌ار‌وم‌خ‌ه‌،‌آ‌م‌خ‌ر‌ان

• علی سلیمان‌زاده (نویسنده مسئول)

گروه‌آم‌ام‌م‌ج‌آ‌د‌ان‌ش‌ک‌ده‌آ‌د‌ام‌پ‌ش‌ک‌ج‌آ‌د‌ان‌ش‌گ‌ها‌آ‌ار‌وم‌خ‌ه‌،‌آ‌ار‌وم‌خ‌ه‌،‌آ‌م‌خ‌ر‌ان

• اسماعیل آین

گروه‌آم‌ام‌م‌ج‌آ‌د‌ان‌ش‌ک‌ده‌آ‌د‌ام‌پ‌ش‌ک‌ج‌آ‌د‌ان‌ش‌گ‌ها‌آ‌ار‌وم‌خ‌ه‌،‌آ‌ار‌وم‌خ‌ه‌،‌آ‌م‌خ‌ر‌ان



ت‌ا‌و‌خ‌آ‌د‌و‌خ‌ا‌ف‌ت: ۱۴۰۲-۰۷-۲۳ آ‌ا‌و‌خ‌آ‌پ‌ذ‌خ‌ر‌ش: ۱۴۰۲-۱۰-۰۵

آ‌ا‌ر‌خ‌خ‌آ‌ ب‌ز‌ان‌گ‌ر‌ج‌آ‌: ۱۴۰۲-۱۰-۰۴ آ‌ا‌ر‌خ‌خ‌آ‌ ا‌ن‌ت‌ش‌ا‌ر‌: ۱۴۰۳-۰۴-۱۲

Email: a.soleimanzadeh@urmia.ac.ir

چکیده

کیفیت مایع منی سگ به طور قابل توجهی تحت تأثیر فرآیند ذخیره سازی است، زیرا غشای اسپرم بسیار حساس است. ذخیره سازی می‌تواند منجر به تولید رادیکال‌های آزاد شده و به غشای اسپرم آسیب برساند. مطالعه حاضر، با هدف کاهش اثرات مضر رادیکال‌های آزاد، و با افزودن غلظت‌های مختلف دوکوزاهگزانوئیک اسید به رقیق‌کننده مایع منی سگ و نگهداری آن در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج روز انجام شد. در این مطالعه، ۲۵ انزال از سه سگ نژاد مخلوط جمع‌آوری شد و در یک رقیق‌کننده بر پایه تریس رقیق شدند. نمونه‌ها به ۵ گروه، کنترل (بدون آنتی‌اکسیدان) و ۱/۲۵، ۲/۵، ۵ و ۱۰ نانوگرم در میلی‌لیتر دوکوزاهگزانوئیک اسید در رقیق‌کننده تقسیم شدند. نمونه‌های مایع منی در ساعات ۰، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۲۰، پس از نگهداری در دمای یخچال از نظر جنبایی، مورفولوژی، آسیب DNA، زنده‌مانی و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی اسپرم مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که گروه‌های حاوی دوکوزاهگزانوئیک اسید افزایش قابل توجهی در درصد جنبایی، زنده‌مانی و آسیب DNA اسپرم و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام نسبت به گروه کنترل در ساعات ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۲۰ نشان دادند. علاوه بر این، درصد اسپرم با مورفولوژی طبیعی در ساعت ۱۲۰ آزمایش، نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش یافت. در نتیجه، غنی‌سازی رقیق‌کننده مایع منی سگ با دوکوزاهگزانوئیک اسید تأثیر مثبتی بر کیفیت منی در طول نگهداری در شرایط دمای سرد دارد.

کلمات کلیدی: دوکوزاهگزانوئیک اسید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، اسپرم، سگ

• Veterinary Researches & Biological Products No 143 pp: 53-61

Effect of Docosahexaenoic acid (DHA) on sperm quality of canine during liquid storage of semen at 5 °C

By: Ashabi, M., Department of Theriogenology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran. Soleimanzadeh, A., (Corresponding Author), Department of Theriogenology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran. and Ayen, E., Department of Theriogenology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

Received: 2023-10-15

Accepted: 2023-12-26

Revised: 2023-12-25

Published: 2024-07-02

Email: a.soleimanzadeh@urmia.ac.ir

The storage process significantly affects the quality of a canine semen because the canine semen membrane is very sensitive to this process. In addition, this process leads to the production of free radicals which disturb the seminal membrane. The present study aimed to minimize the harmful effects of free oxygen radicals by adding different concentrations of docosahexaenoic acid to canine semen at 5 °C for five days. In this study, 25 ejaculates were collected from three mixed-breed canines and diluted in a Tris-based extender. They were then divided into 5 p groups: a control group (no antioxidants) and 1.25, 2.5, 5 and 10 ng/mL docosahexaenoic acid in the extender. The evaluations (motility, morphology, DNA integrity, viability, and total antioxidant capacity) were performed after 0, 24, 48, 72 ,and 120 hours of storage at cool temperatures using CASA software and a light microscope for sperm parameters and the ELISA method for the total amount of antioxidant capacity. The results showed that the groups containing docosahexaenoic acid had a significant increase in the percentage of cell viability, survival and total antioxidant capacity, as well as a significant increase in DNA integrity at 24, 48, 72 ,and 120 hours compared to the control group. While the proportion of sperm with normal morphology increased significantly after 120 hours compared to the control group. As a result, enrichment of canine semen diluent with docosahexaenoic acid shows a positive effect on its quality during storage in cold temperature conditions.

Keyword: Docosahexaenoic acid; Antioxidant activity; Semen; Canine

مقدمه

انجماد اسپرما، نگهداری اسپرما و انتقال حاصله از آن، در واقع از اجزای اصلی فرایند تولید و نگهداری اسپرما در دامها محسوب می‌شود (۱، ۴). آنتی‌اکسیدان‌ها در فرایند تولید اسپرما نقش مهمی دارند و با کاهش تولید رادیکال‌های آزاد، از آسیب‌های ناشی از آن جلوگیری می‌کنند. در این مطالعه، با افزودن غلظت‌های مختلف اسید دوکوزاهگزانوئیک (DHA) به مایع نگهدارنده اسپرما، به منظور کاهش اثرات مضر رادیکال‌های آزاد بر کیفیت اسپرما در طول فرایند نگهداری، در دمای ۵ °C به مدت ۵ روز، ۲۵ عیاقول از سه نژاد آمیخته جمع‌آوری و در مایع نگهدارنده مبتنی بر تریس رقیق شدند. ارزیابی‌ها (حرکت، مورفولوژی، یکپارچگی DNA، قابلیت زنده ماندن و ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل) پس از ۰، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت نگهداری در دمای خنک با استفاده از نرم‌افزار CASA و میکروسکوپ نوری برای پارامترهای اسپرم و روش ELISA برای مقدار کل ظرفیت آنتی‌اکسیدان انجام شد. نتایج نشان داد که گروه‌های حاوی اسید دوکوزاهگزانوئیک دارای افزایش معنی‌دار در درصد قابلیت زنده ماندن، بقا و ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل، به همراه افزایش معنی‌دار در یکپارچگی DNA در ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت نسبت به گروه کنترل بودند. در حالی که نسبت اسپرم‌ها با مورفولوژی طبیعی پس از ۱۲۰ ساعت نگهداری نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار داشت. در نتیجه، غنی‌سازی مایع رقیق‌کننده اسپرما سگ با اسید دوکوزاهگزانوئیک، اثر مثبتی بر کیفیت اسپرما در طول فرایند نگهداری در دمای سرد دارد.

منجر آلودگی، آنتی‌اکسیدان‌ها در اسپرما نقش مهمی دارند و با کاهش تولید رادیکال‌های آزاد، از آسیب‌های ناشی از آن جلوگیری می‌کنند. در این مطالعه، با افزودن غلظت‌های مختلف اسید دوکوزاهگزانوئیک (DHA) به مایع نگهدارنده اسپرما، به منظور کاهش اثرات مضر رادیکال‌های آزاد بر کیفیت اسپرما در طول فرایند نگهداری، در دمای ۵ °C به مدت ۵ روز، ۲۵ عیاقول از سه نژاد آمیخته جمع‌آوری و در مایع نگهدارنده مبتنی بر تریس رقیق شدند. ارزیابی‌ها (حرکت، مورفولوژی، یکپارچگی DNA، قابلیت زنده ماندن و ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل) پس از ۰، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت نگهداری در دمای خنک با استفاده از نرم‌افزار CASA و میکروسکوپ نوری برای پارامترهای اسپرم و روش ELISA برای مقدار کل ظرفیت آنتی‌اکسیدان انجام شد. نتایج نشان داد که گروه‌های حاوی اسید دوکوزاهگزانوئیک دارای افزایش معنی‌دار در درصد قابلیت زنده ماندن، بقا و ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل، به همراه افزایش معنی‌دار در یکپارچگی DNA در ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت نسبت به گروه کنترل بودند. در حالی که نسبت اسپرم‌ها با مورفولوژی طبیعی پس از ۱۲۰ ساعت نگهداری نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار داشت. در نتیجه، غنی‌سازی مایع رقیق‌کننده اسپرما سگ با اسید دوکوزاهگزانوئیک، اثر مثبتی بر کیفیت اسپرما در طول فرایند نگهداری در دمای سرد دارد.

سلفه‌ها دارای آنتی‌اکسیدان‌ها در اسپرما نقش مهمی دارند و با کاهش تولید رادیکال‌های آزاد، از آسیب‌های ناشی از آن جلوگیری می‌کنند. در این مطالعه، با افزودن غلظت‌های مختلف اسید دوکوزاهگزانوئیک (DHA) به مایع نگهدارنده اسپرما، به منظور کاهش اثرات مضر رادیکال‌های آزاد بر کیفیت اسپرما در طول فرایند نگهداری، در دمای ۵ °C به مدت ۵ روز، ۲۵ عیاقول از سه نژاد آمیخته جمع‌آوری و در مایع نگهدارنده مبتنی بر تریس رقیق شدند. ارزیابی‌ها (حرکت، مورفولوژی، یکپارچگی DNA، قابلیت زنده ماندن و ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل) پس از ۰، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت نگهداری در دمای خنک با استفاده از نرم‌افزار CASA و میکروسکوپ نوری برای پارامترهای اسپرم و روش ELISA برای مقدار کل ظرفیت آنتی‌اکسیدان انجام شد. نتایج نشان داد که گروه‌های حاوی اسید دوکوزاهگزانوئیک دارای افزایش معنی‌دار در درصد قابلیت زنده ماندن، بقا و ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل، به همراه افزایش معنی‌دار در یکپارچگی DNA در ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت نسبت به گروه کنترل بودند. در حالی که نسبت اسپرم‌ها با مورفولوژی طبیعی پس از ۱۲۰ ساعت نگهداری نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار داشت. در نتیجه، غنی‌سازی مایع رقیق‌کننده اسپرما سگ با اسید دوکوزاهگزانوئیک، اثر مثبتی بر کیفیت اسپرما در طول فرایند نگهداری در دمای سرد دارد.

گروها در ng/mL ۱۰۲ ب/۲۰ آدونکو اهرگ انوشخ کا سلخد (حلأشدهآدرآ) بئ/ئ آدرصدآ (انول) آ(۲۳)
 گروهلومآ ب آهج انآ ng/mL ۱۰۲ ب/۲۰ آدونكو اهرگ انوشخ كآ سلخد
 گروها چه ارمآ ب آهج انآ ng/mL ۱۰۲ ب/۲۰ آدونكو اهرگ انوشخ كآ سلخد
 گروها پنجمآ ب آهج انآ ng/mL ۱۰۲ ب/۲۰ آدونكو اهرگ انوشخ كآ سلخد آ (ب۱).
 بلاف اصلهيا زآجمعا اور جه لئع اناجنب به لئجه آ، بلخ ژاندهم از جه مورفولوژيا
 ط جعه جهآ بويخ لئحه كي ارچكج آ DNA او آهج انآ انئخ لكخد انآ اما (TAC)، آدرآ
 س اعلمه لئا صق، ۲۴۱، ۴۸۱، ۷۲۲ او آي ۲۱۱ اعنا موردا لوخا لئجه آق رار اگرفت.
 بويخ آجنب به لئجه اسلپرهم: آ بر لئا نئخ نئدرصدآ جنب به لئجه اسلپرهماه، لئجه كآ قطرها
 زآ محلولآ رقيج لئشدهآ فوقآ روخآ لامآ مخ كرويوكويچ آق رار ادهآ شدا وآي ۱
 مخد انآ خد آخ كرويوكويچ آ ب ادرشلئم لئخ لئ ۴۱ بر ۱ بر آوا ب آخ كرويوكويچ
 (Tokyo, Japan, Olympus, BX۴۱) آ موردا بويخ آق رار اگرفتندهآ سبيا
 مخ انكج ناسلپرهماه لئا ب آجنب به لئجه اكلا درا لئخ لئ لئجه انآ خد ب لعنو اندرصدآ
 جنب به لئجه ژ بنتا شدا (۳۴).

بررسی قابلیت زنده‌مانی و مورفولوژی طبیعی و غیرطبیعی اسپرم

بر لئا لوخا لئجه آ درصدآ اسلپرهماه لئخ ندهآ و آمردهآ و آهمچنخ ناسلپرهماه لئا
 غرط جئجخآ زآ لفظآ مورفولوژي كج جهآ زآ رننگآ مخخا انوشخا نگروشنا
 سلئف ادهآ شد. اسلپرهماه لئجه كآ قطع انلرا و آگردنا ائله آرنگا گرفتها بودند، آ
 بلعنو اناسلپرهماه لئا مردها لو انبه لئجه كآ نكندگرفتها بودند آ بلعنو اناسلپرهماه
 زندهآ در لظرا گرفتها شدند. آ همچنخ، آ اسلپرهماه لئجه كآ ب ا ر لئا اختلالات
 مورفولوژي كآ بودند، آ بلعنو اناسلپرهماه لئا غرط جئجخا در لظرا گرفتها شدند. آ
 بر لئا هرا مونه، لئ ۲۱ اسلپرهماه ب ادرشلئم لئخ لئ ۴۱ بر ۱ بر آوا ب آخ كرويوكويچ
 نونخ (Tokyo, Japan, Olympus, BX۴۱) آ موردا بويخ آق رار اگرفتندهآ و آ
 نئ لئجهآ بلمصورتآ درصدآ اعلامآ شدندهآ (۳۸).

ارزیابی آسیب DNA اسپرم

بر لئا لوخا لئجه لئجه بآ DNA اسلپرهم، آ زآ رننگآ مخخا ب آ سلئف ادهآ زآ آكړخ بئخنا
 اورنجآ سلئف ادهآ شد. لسبيا زآ نئجه بلئكترشا زآ نمونههآ او آخشكا شدنا ائله، آ
 لائمه آ بها مدتا ۳۴ لئ اعنا توسط محلولآ ك ارنو ج، آ ژا بتا شندن آ و لسبيا بها
 مدتا ۱۱ دقئقها ب آ سلئف ادهآ زآ رننگآ مخخا ب آ آكړخ بئخنا اورنجآ رننگآ مخخا
 شندن آ و لسبيا ب آ شمارشا ئي ئي ۲ اسلپرهماه درا هر بلئكترشا و آ ب آ سلئف ادهآ
 زآ مخ كرويوكويچ فلورونتآ (Nikon Co., Tokyo, Japan, Model GS۷)، آ
 درصدآ اسلپرهماه لئا ب آ DNA لئمه المال (وآ رنگ) او آ DNA لئجه ب هدهآ (رنگآ
 زردآ آ از رنجم جهآ) بئج انآ شدا (لئ ۴).

ارزیابی فعالیت آنٹی‌اکسیدانی

فع لئجهآ نئخ لكخد لئجه آدرآ نمونههآ لئا اسلپرهماه ب آ سلئف ادهآ زآ خئجا ار ائهاشدهآ
 توسط شركتا نوند سلماتا و آ بقآ پروتكلآ لئجا شركتا و آ ب آ سلئف ادهآ زآ
 روشا لئا انج اما شد آ و انت لئجآ بها U/mL اركو ارشا شندن آ (۲۷).

روش ارزیابی آماری

د ادههآ آ ب اسلررتف ادهآ نرما لوف آ رام ارج اسب ساس SPSS لئجهآ ۲۶ آ ب ادر لظرا اگرفتنآ
 زم ائله لئا لوخا بهآ ب آ روخهاد ادههآ لئا كتر ارشوند هآر نآ انآ Repeated
 measurement) او آ ب آ زامونا تعقیج خآ Tukey-Kramer test موردا نئجهآ و آ

كها لوفونآ نئخ لكخد ائله لئا مختلفآ بها رقيج لئكندنها م لئجعا منخآ درآ طولا
 نكهد ار جهآ نوتو اندامنجرا بها به بود آقدر نژاندهم انخ آواجنب به لئجه اسلپرهمليا
 زآقر لئخند انكهد ارجا شود. انوعا و اظئنا نئخ لكخد ائله ادرآ لئخاروند اممكنا
 سلئا متنف اوآ ب اشدآ (ب. ۳۹۱، ۳۰۳، آ. ۳).

سلخدآ چر با دوكو اهرگ انوشخ كآ (DHA) آخكا سلخدآ چر با ضرورخآ سلئا
 كها خوولئتهيا امك لئ ۳ اقر ارمج كجر د. اسلخده لئا چر با غر اش به اعا امك لئ
 ۳، اسلخده لئا چر جئجهآ كها د ار لئا بئ و نآ دوگ انها بئنا اظه لئا كر بنا
 ۳ آ و آ ۴ آهتند. لئجا هتهآ اما سلخده لئا چر با ضرورخآ م انندآ سلخدآ
 لئ نولخ كآ سلئا كها درآ بدنآ بها لئكو اپنت انوشكا (EPA) او آدونكو اهرگ انوشكا
 (DHA) آت بلخلا مشود. آتحققه اتانش اتاد اده اندكها مصرفآ سلخدآ چر با
 دوكو اهرگ انوشكا بلمصورتآ خور انكج درآ نئخ ان، آهج تو اندآ كچ متما م لئجعا
 منخآ منجمد او لئخ كش لئجه شدهآ ر اتحتنا نئخ رآقر ار ادهدآ (۳). آهمچنخ، آدرآ
 مط العلم لئخانش اناد ادها شدها سلئا كها اض افها كردنا ۳ انز نوگرمآ DHA بها
 رقيج لئكندنها (BioXcell) آمخآگ او آدرآمخ طلام لئجشگ اها منجرتو اندامنجرا بها
 به بوخا كچ نئجهآ م لئجعا منجمد آگ او شودآ (ب. ۱). لئجا لئجه اتاد راگ او آ
 (۱۷) او كونا (۷) انج اما شدها سلئ.

تاكنون، آتحققه لئجه در به رلها نئخ رآ سلخدآ دوكو اهرگ انوشخ كآ (DHA) آ برآ
 نكهد ارجا م لئجعا منلگا درآ م لئجه خچ الا انج اما نشدها سلئ. اهدفا اصلخا
 زآ لئخا مطالع، آ بويخا اثر اتامح لئجه سلخدآ دوكو اهرگ انوشخ كآ برآ روخآ
 م لئجعا منلگا درآ شر لئجه آ و ادم لئجه خچ الا بود.

مواد و روش‌ها

نحوه جمع‌آوری منی

بر لئا انج اما لئخا مطالع اسلهآ قلا د هلكا نرانز ادمخلوطآ ب لئنا حدود آئي بآ
 س الا انتخا با شندن او آدرآ بخشا نكهد ارجه لئگه آدرآ د انشكدهآ د امنوشخآ
 نكهد ارجا شندن. آدرآ طولا مدتا مطالع اسلهگه آ ب آگوشتا بختها تغنئها شدها
 و آآ با بلمصورتآ آدرآ درآ هتهآ ائله اقر رار اگرفت. آدرهآ ا دئپنئخچا بها
 مدتا چهر ارفتها انج اما شد او نمونلخ بئخا بهامد تا ۶ هفتها (درآ هرا هفتها، آ
 دولمرت به) و آ بهلئع ادآ ۲۱ لئ الا (در لظلا ۶ هفتها) انج امپنئخرفتوآ بر لئا زآ
 بئخا بردن تئوعلا ائله آ بئخا نمونههآ، لئرا ب راتم مخلمه لئجعمخآ لئ هئلگه آ
 ب لئجه كجرا ادغ اماگ شندن لسبيا زآ اخدهآ نمونههآ لئامنه جهآ ائله آ بهلا م لئجشگ اها
 منتفلا هج شندن او بلاف اصلهآ موردا لوخا لئجه آق رار امج گرفتند لسبيا زآ انتق الا
 بهلا م لئجشگ ۵، نمونههآ آدرآ انكو ب انورآ درآ م لئا ۳۷ آدرجهآقر رار اگرفتندهآ
 درآ ا بنتا، نمونههآ آ زآ لظلام اكرويكويچ بويخا منج شندن اوآ ب ار امتره لئا
 م اكرويكويچ زآ لئجهآ حجمآ و آرنگا بويخا منج شندن آ (۳۶).

بر لئا انج اما لئجه لئجه، آ زآ نمونههآ لئا ب اظئنا ب لئا ۱۰ لئ ۱۰ لئ ۲۰ سلئف ادهآ
 شد. اسلپرهماه آ ب آدورآ لئ ۷ بهامد تا ۶ دقئقها انترخ فئوژ آشندهآ او بلامخا
 منخآ دورآ انداختها شندن آ (۱۹) لسبيا اسلپرهماه آدرآ محلولآ رقيج لئكندنها ب لئجعا
 ش اما ل: ۱۲/۴۱ آگرمآ نئجهآ هج دويكخآ مئج، ۱/۴۱ آگرمآ سلخ سئخ نئج، ۸/۱ آگرمآ
 گلوك آئي ئي ئي او احدى بئخا پئخ لئج، ۱/۱ آگرمآ سلنرپنوم لئج سلولوف لت، آ
 لئ ۲۰ لئجه لئجه ترو ردها تخما مرعا لئ ۸ ملخ لئجه تروآ با مقوطآ بر لئا نئخ ا بئج
 هئنا م لئجعا منخآ لئ ۱۲ ملخ لئجه و ناسلپرهماه درآ ملخ لئجه ترو، آرققعا شندن آ (ب. ۳) لسبيا
 زآ لئجا درآ گروهه لئا م لئجشخآ مختلفآ سلئف ادها شد. آگروه بئخا بلمصورتآ
 خئرا انج اما شد:

گروها اولآ (شاهد) آ ب آهج انآ ng/mL صفر دوكو اهرگ انوشخ كآ سلخدآ Sigma

بود (ب/ب) $P < 0.05$). اهمیت چرخن، آدیواعتنا ۱۲، آگروهه مخادوکنو اهگ انوئخ کا سلخدا (جدول ۱) ب آ غلله مخا ب/ب ۲/۲ آ ب آنوگرملنه بتا بهله مخرا گرولهه اآ لو بخشا معنقد اینخ درآ جنه به بخشا نش اناد ادندآ (ب/ب) $P < 0.05$. درآ از المیخ د اخلاگروه چه امشخصا شد اکها درآ تم اما گرولهه ا، آدرصد آجنه به بخشا آدیواعتنا ۲۴ کمترآ ژاژم انا صفرآ و آ درله اعتنا ۷۲ کمترآ ژلله اعتنا ۲۴ و آ درله اعتنا ۱۲ کمترآ ژلله اعتنا ۷۲ سلنا (ب/ب) $P < 0.05$ آ جدول ۱).

زنده‌مانی اسپرم

تعد ادا سلپرماه مخازندها درله اعتنا صفرآ ژم بخشا (جدول ۲)، آ بطورآ معنقد اینخ بیخ شترا ژلله اعتنا ۲۴ اعتنا ۷۲ و آدیواعتنا ۱۲ بودآ (ب/ب) $P < 0.05$. آ همچنخ، آ بیخ سل اعلهه مخا ۲۴، ۷۲ و آ بیخ آنف اوتا معنقد اینخ امش اهدا شدآ (ب/ب) $P < 0.05$. درآ موردا لمخ اژندلمه اینخ سلپرماه ادرآ گرولهه دوکنو اهگ انوئخ کا سلخدا (جدول ۲)، آ درله اعتنا صفرآ تف اوتا معنقد اینخ بیخنا گرولهه مخا موردا ژم بخشا وجود اند اشتا (ب/ب) $P < 0.05$. آ ام ادرآ گرولهه دوکنو اهگ انوئخ کا سلخدا، آ درله اعتنا مخا ۲۴، ۷۲ و آ بیخ ۱۲، آ لمخ اژندلمه اینخ سلپرماه المذ بتا بهله مخرا گرولهه اآ لو بخشا معنقد اینخ درآ غلله مخا ب/ب ۲/۲ آ ب آنوگرملنه نش اناد ادندآ (ب/ب) $P < 0.05$. آ همچنخ، آ درآ گرولهه دوکنو اهگ انوئخ کا سلخدا، آ درله اعتنا مخا ۷۲ و آ بیخ ۱۲، آ لمخ اژندلمه اینخ سلپرماه ادرآ گرولهه بتا بهله مخرا گرولهه اآ لو بخشا معنقد اینخ نش اناد ادآ (ب/ب) $P < 0.05$.

نتایج

جنبایی کل اسپرم

درآ موردا گرولهه مخادوکنو اهگ انوئخ کا سلخدا (جدول ۱)، انش اناد اداکها ب آ لو بخشا م انانگهد اینخ سلپرماه ادرصد آجنه به بخشا آدیواعتنا مخا بطورآ معنقد اینخ که اهشا مخا ا بد (ب/ب) $P < 0.05$. درآ بیویخ درله اعتنا صفرآ بیخنا گرولهه مخا درماز چه انش اناد ادها شد آکه، آدرصد آجنه به بخشا درآ گرولهه مخا دوکنو اهگ انوئخ کا سلخدا (جدول ۱) ب آ غلله مخا مختلف، آ تف اوتا معنقد اینخ ب آ گرولهه اش اهداند اردآ (ب/ب) $P < 0.05$. آ درله اعتنا ۲۴، آنف اوتا معنقد اینخ بیخنا گرولهه اش اهدا و آ دوکنو اهگ انوئخ کا سلخدا ب آ غلله مخا ب/ب ۱/۲ و آ بیخ آنوگرملنه (جدول ۱) آ وجود اند اشت، آ ام آگروهه مخا ب/ب ۲/۲ و آ ب آنوگرملنه دوکنو اهگ انوئخ کا سلخدا آ بطورآ معنقد اینخ ب الا ترا ژاژم گرولهه اش اهدا، آ بودندآ (ب/ب) $P < 0.05$. آ درله اعتنا ۷۲، آجنه به بخشا درآ گرولهه مخا دوکنو اهگ انوئخ کا سلخدا (جدول ۱) ب آ غلله مخا ب/ب ۲/۲ و آ ب آنوگرملنه بطورآ معنقد اینخ المذ بتا بهله مخرا گرولهه اآ لو بخشا افتها

جدول ۱- مقایسه میانگین جنبایی اسپرم‌های سگ (Mean ± SEM) در گروه‌های مختلف درمانی دوکوزاهگزانونیک اسید.

ساعت مخا موردا ژم بخشا	شاهد	۱/۲ ۱۱ng/mL	۲/۲ ۱۱ng/mL	۱۱ng/mL	۱ng/mL
صفرآ اعت	۷۱/۷۲ ± ۱۱/۴۷#	۷۱/۳۹ ± ۱۱/۲۸#	۷۱/۱۶ ± ۱۱/۱۶#	۷۲/۶۳ ± ۱۱/۱۲#	۷۱/۱۲ ± ۱۱/۸#
۱۴ اعت	۷۱/۱۹ ± ۱۱/۳۴ ^{ab}	۷۱/۲۹ ± ۱۱/۲۹ ^{ab}	۷۱/۲۱ ± ۱۱/۲۱ ^{ab}	۷۱/۶۷ ± ۱۱/۶۷ ^{ab}	۷۱/۸۹ ± ۱۱/۸۹ ^{ab}
۲۴ اعت	۷۱/۷۴ ± ۱۱/۷۴ ^{ab}	۷۱/۳۱ ± ۱۱/۳۱ ^{ab}	۷۱/۴۹ ± ۱۱/۴۹ ^{ab}	۷۱/۱۳ ± ۱۱/۱۳ ^{ab}	۷۱/۷۴ ± ۱۱/۷۴ ^{ab}
۳۴ اعت	۷۱/۱۴ ± ۱۱/۱۴ ^{ab}	۷۱/۳۹ ± ۱۱/۳۹ ^{ab}	۷۱/۱۶ ± ۱۱/۱۶ ^{ab}	۷۱/۲۲ ± ۱۱/۲۲ ^{ab}	۷۱/۳۴ ± ۱۱/۳۴ ^{ab}

*حروف مختلف (a, b, c, d) نشانگر اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است ($P < 0.05$). (داده‌ها به صورت ردیفی با هم مقایسه شدند).

*اشکال مختلف (#, ψ, φ, γ) نشانگر اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است ($P < 0.05$). (داده‌ها به صورت ستونی با هم مقایسه شدند).

جدول ۲- مقایسه درصد زنده‌مانی اسپرم‌های سگ (Mean ± SEM) در گروه‌های مختلف درمانی دوکوزاهگزانونیک اسید.

ساعت مخا موردا ژم بخشا	شاهد	۱/۲ ۱۱ng/mL	۲/۲ ۱۱ng/mL	۱۱ng/mL	۱ng/mL
صفرآ اعت	۷۶/۳۴ ± ۱۱/۲۳#	۷۶/۲۸ ± ۱۱/۸۷#	۷۶/۹ ± ۱۱/۴۱#	۷۸/۱ ± ۱۱/۲۱#	۷۶/۱۹ ± ۱۱/۱۲#
۱۴ اعت	۷۶/۱۸ ± ۱۱/۱۸ ^{ab}	۷۶/۳۴ ± ۱۱/۶۴ ^{ab}	۷۶/۷۹ ± ۱۱/۳۸ ^{ab}	۷۶/۴۸ ± ۱۱/۴۸ ^{ab}	۷۶/۲ ± ۱۱/۶۷ ^{ab}
۲۴ اعت	۷۶/۳۲ ± ۱۱/۳۲ ^{ab}	۷۶/۲۸ ± ۱۱/۲۸ ^{ab}	۷۶/۶۳ ± ۱۱/۶۳ ^{ab}	۷۶/۷ ± ۱۱/۷ ^{ab}	۷۶/۳۳ ± ۱۱/۳۳ ^{ab}
۳۴ اعت	۷۶/۱۳ ± ۱۱/۱۳ ^{ab}	۷۶/۲۴ ± ۱۱/۲۴ ^{ab}	۷۶/۲۷ ± ۱۱/۲۷ ^{ab}	۷۶/۶۱ ± ۱۱/۶۱ ^{ab}	۷۶/۷۱ ± ۱۱/۷۱ ^{ab}

*حروف مختلف (a, b, c, d) نشانگر اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است ($P < 0.05$). (داده‌ها به صورت ردیفی با هم مقایسه شدند).

*اشکال مختلف (#, ψ, φ, γ) نشانگر اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است ($P < 0.05$). (داده‌ها به صورت ستونی با هم مقایسه شدند).

مورفولوژی طبیعی و غیرطبیعی اسپرم

درآ گروهه لختا دوکو اهرگ انوئخكا سلخدا (جدولا ۳)، آتف اوتا معنجد اربخ درآ مع انا مورفولوژیا ط بخ معخا و آخ رط بخ معخا (كها بخ شترآ ش املادما خمخده سلراجد اشدها و ادمام اربخ چاشدها بودند) آ بخ ناگروهه اش اهدا و آ تم اخ غلته لختا دوکو اهرگ انوئخكا سلخدا درآ س اعته لختا صفا ۲۴، آ ۷۲ و آن ۱۲ امش اهدا نشدا (بئ/ئ < P). آ ام ادرله اعنا ۱۲ آلوم لختا، آ مع انا مورفولوژیا ط بخ معخا درآ گروهه لختا ح اوخا دوکو اهرگ انوئخكا سلخدا (جدولا ۳) اسد بتا بهاس اعته لختا صفا ۲۴ و آ ۷۲ ك اهشا معنجد اربخ د اشتا (بئ/ئ < P).

بررسی درصد آسیب DNA اسپرم

زم انلام لختا ابرهما كنشأ ب اگروهه لختا رما بخ بلطور معنجد ار چا بئ/ئ < P) آ ب امخ انكك ارچكخ DNA اسلپرما مرته بطا بود. امخ انكك ارچكخ DNA درآ گروهه لختا تحتاً درمانا دوكو اهرگ انوئخكا سلخدا درله اعنا ۷۲ و له اعنا ۱۲ بلطور معنجد اربخ بئ/ئ < P) كمترا لختا اعنصر لختا ۲۴ بود (جدولا ۴). لخمچن، آ بخ نمده اعته لختا صفا و آ ۲۴ آلوم لختا (جدولا ۴)، آ درصد انكك ارچكخ DNA اسلپرما ه انكك ارچكخ لختا رما بخ لختا اعنا ۷۲ و آن ۱۲ آلوم لختا امش اهدا همچن نانت لختا بخا بسوخ انش اناد اداكه، ادمآ اعنا ۷۲ و آن ۱۲ آلوم لختا امش اهدا شد كه لختا درصد انكك ارچكخ DNA لختا رما بخ لختا انوئخكا سلخدا، آ بلطور معنجد اربخ ب الا ترا زا اگروهه اش اهدا بود (بئ/ئ < P: آجدولا ۴).

جدول ۳- مقایسه درصد مورفولوژی طبیعی اسپرم‌های سگ (Mean ± SEM) در گروه‌های مختلف درمانی دوکوزاهگزانونیک اسید.

س اعته لختا موردا آلوم لختا	ش اهد	۱/۲ ng/mL	۲/۲ ng/mL	ng/mL	۱ ng/mL
صفا اعته	۹۶/۲۸۱ ± ۱۱/۶۳ ^a	۹۶/۲۸۱ ± ۱۱/۶۳ ^a	۹۶/۲۸۱ ± ۱۱/۶۳ ^a	۹۶/۲۸۱ ± ۱۱/۶۳ ^a	۹۶/۲۸۱ ± ۱۱/۶۳ ^a
۲۴ اعته	۹۶/۲۷۱ ± ۱۱/۴۹ ^{ab}	۹۶/۴۱ ± ۱/۶۳ ^{ab}	۹۵/۳۳ ± ۱/۰۸ ^{ab}	۹۸/۷۹ ± ۱/۴۰ ^{ab}	۹۵/۱۲ ± ۱/۱۲ ^{ab}
۵۲ اعته	۹۶/۲۷۱ ± ۱۱/۴۹ ^{ab}	۹۲/۲۱ ± ۱/۶۳ ^{ab}	۹۳/۲۶ ± ۱/۶۴ ^{ab}	۹۳/۲۰ ± ۱/۲۴ ^{ab}	۹۲/۴۱ ± ۱/۶۷ ^{ab}
۷۲ اعته	۸۵/۶۳ ± ۱/۴۱ ^{ab}	۸۵/۶۳ ± ۱/۴۱ ^{ab}	۸۵/۶۳ ± ۱/۴۱ ^{ab}	۸۶/۴۸ ± ۱/۷۲ ^{ab}	۸۵/۷۹ ± ۱/۳۰ ^{ab}

*حروف مختلف (a, b, c, d) نشانگر اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است (P < ۰/۰۵). (داده‌ها به صورت ردیفی با هم مقایسه شدند).

*اشکال مختلف (#, ψ) نشانگر اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است (P < ۰/۰۵). (داده‌ها به صورت ستونی با هم مقایسه شدند).

جدول ۴- مقایسه میانگین درصد یکپارچگی DNA اسپرم‌های سگ (Mean ± SEM) در گروه‌های مختلف درمانی دوکوزاهگزانونیک اسید.

س اعته لختا موردا آلوم لختا	ش اهد	۱/۲ ng/mL	۲/۲ ng/mL	ng/mL	۱ ng/mL
صفا اعته	۹۸/۴۶ ± ۱۱/۳۹ ^a	۹۸/۲۱ ± ۱۱/۶۸ ^a	۹۸/۲۱ ± ۱۱/۶۸ ^a	۹۸/۲۱ ± ۱۱/۶۸ ^a	۹۸/۲۱ ± ۱۱/۶۸ ^a
۲۴ اعته	۹۶/۲۶ ± ۱۱/۲۶ ^{ab}	۹۶/۲۹ ± ۱۱/۴۴ ^{ab}	۹۶/۱۳ ± ۱۱/۱۶ ^{ab}	۹۶/۸۱ ± ۱۱/۱۲ ^{ab}	۹۶/۲۶ ± ۱۱/۲۶ ^{ab}
۵۲ اعته	۸۷/۳۲ ± ۱۱/۸۳ ^{ab}	۸۷/۲۹ ± ۱۱/۱۹ ^{ab}	۸۸/۶۹ ± ۱۱/۳ ^{ab}	۹۲/۲۴ ± ۱۱/۶۷ ^{ab}	۸۶/۴ ± ۱۱/۲۷ ^{ab}
۷۲ اعته	۷۶/۱۹ ± ۱۱/۶۷ ^{ab}	۷۶/۳۱ ± ۱۱/۴۴ ^{ab}	۷۹/۱۶ ± ۱۱/۸۳ ^{ab}	۸۴/۱۳ ± ۱۱/۳ ^{ab}	۸۷/۱۳ ± ۱۱/۸۷ ^{ab}

*حروف مختلف (a, b, c, d) نشانگر اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است (P < ۰/۰۵). (داده‌ها به صورت ردیفی با هم مقایسه شدند).

*اشکال مختلف (#, φ, ψ) نشانگر اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها است (P < ۰/۰۵). (داده‌ها به صورت ستونی با هم مقایسه شدند).

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله زامعه اونتامحترماً پژوهشگرانش را که با توصیه‌ها و راهنمایی‌ها در این زمینه کمک‌های ارزشمندی را ارائه دادند تشکر می‌نمایم.

منابع مورد استفاده

1. Aitken, R.J. and Baker, M.A., 2006. Oxidative stress, sperm survival and fertility control. *Molecular and cellular endocrinology*, 250(1-2), pp.66-69.
2. Bilodeau, J.F., Chatterjee, S., Sirard, M.A. and Gagnon, C., 2000. Levels of antioxidant defenses are decreased in bovine spermatozoa after a cycle of freezing and thawing. *Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research*, 55(3), pp.282-288.
3. Brinsko, S.P., Varner, D.D., Love, C.C., Blanchard, T.L., Day, B.C. and Wilson, M.E., 2005. Effect of feeding a DHA-enriched nutraceutical on the quality of fresh, cooled and frozen stallion semen. *Theriogenology*, 63(5), pp.1519-1527.
4. Bilodeau, J.F., Blanchette, S., Gagnon, C. and Sirard, M.A., 2001. Thiols prevent H2O2-mediated loss of sperm motility in cryopreserved bull semen. *Theriogenology*, 56(2), pp.275-286.
5. Cassani, P., Beconi, M.T. and O'Flaherty, C., 2005. Relationship between total superoxide dismutase activity with lipid peroxidation, dynamics and morphological parameters in canine semen. *Animal reproduction science*, 86(1-2), pp.163-173.
6. Castellano, C.A., Audet, I., Bailey, J.L., Lafaress, J.P. and Matte, J.J., 2010. Dietary omega-3 fatty acids (fish oils) have limited effects on boar semen stored at 17 C or cryopreserved. *Theriogenology*, 74(8), pp.1482-1490.
7. Chanapiwat, P., Kaeoket, K. and Tummaruk, P., 2012. Improvement of the frozen boar semen quality by docosahexaenoic acid (DHA) and L-cysteine supplementation. *African journal of biotechnology*, 11(15), pp.3697-3703.
8. Chi, H.J., Kim, J.H., Ryu, C.S., Lee, J.Y., Park, J.S., Chung, D.Y., Choi, S.Y., Kim, M.H., Chun, E.K. and Roh, S.I., 2008. Protective effect of antioxidant supplementation in sperm-preparation medium against oxidative stress in human spermatozoa. *Human Reproduction*, 23(5), pp.1023-1028.
9. Conquer, J.A., Martin, J.B., Tummon, I., Watson, L. and Tekpetey, F., 2000. Effect of DHA supplementation on DHA status and sperm motility in asthenozoospermic males. *Lipids*, 35, pp.149-154.
10. Cardoso, R.D.C.S., Silva, A.R. and da Silva, L.D.M., 2006. Comparison of two dilution rates on canine semen quality after cryopreservation in a coconut water extender. *Animal reproduction science*, 92(3-4), pp.384-391.
11. Dyerberg, J., Leaf, A. and Galli, C., 1995. ISSFAL board state-

عملکرد آهسته‌تر شود. آهسته‌تر شدن فرآیند تولید اسپرم در گاوهای پیر و پیرانگه‌ها می‌تواند به دلیل کاهش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها و افزایش آسیب‌های اکسیداتیو باشد. در این مطالعه، اثرات تغذیه‌ای اسیدهای چرب ام‌اس‌سی (DHA) بر کیفیت اسپرم گاوهای پیر و پیرانگه‌ها بررسی شد. نتایج نشان داد که تغذیه با اسیدهای چرب ام‌اس‌سی منجر به افزایش تعداد اسپرم‌ها، بهبود حرکت و مورفولوژی اسپرم‌ها و کاهش آسیب‌های اکسیداتیو می‌گردد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که تغذیه با اسیدهای چرب ام‌اس‌سی می‌تواند به بهبود کیفیت اسپرم در گاوهای پیر و پیرانگه‌ها کمک کند.

در این مطالعه، اثرات تغذیه‌ای اسیدهای چرب ام‌اس‌سی (DHA) بر کیفیت اسپرم گاوهای پیر و پیرانگه‌ها بررسی شد. نتایج نشان داد که تغذیه با اسیدهای چرب ام‌اس‌سی منجر به افزایش تعداد اسپرم‌ها، بهبود حرکت و مورفولوژی اسپرم‌ها و کاهش آسیب‌های اکسیداتیو می‌گردد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که تغذیه با اسیدهای چرب ام‌اس‌سی می‌تواند به بهبود کیفیت اسپرم در گاوهای پیر و پیرانگه‌ها کمک کند.

نتیجه‌گیری

دو گاو پیرانگه‌ها که در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند، با تغذیه با اسیدهای چرب ام‌اس‌سی (DHA) در مقایسه با گروه کنترل، تغییرات مثبتی در پارامترهای کیفیت اسپرم نشان دادند. این تغییرات شامل افزایش تعداد اسپرم‌ها، بهبود حرکت و مورفولوژی اسپرم‌ها و کاهش آسیب‌های اکسیداتیو می‌گردد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که تغذیه با اسیدهای چرب ام‌اس‌سی می‌تواند به بهبود کیفیت اسپرم در گاوهای پیر و پیرانگه‌ها کمک کند.

- human spermatozoa preserved in electrolyte-free solution at 4 C. *Fertility and sterility*, 65(6), pp.1214-1218.
32. Salehi, S., Soleimanzadeh, A., Goericke-Pesch, S. and Ayen, E., 2023. Evaluation of the effects of crocin addition on canine semen dilution during refrigerated storage. *Iranian Journal of animal Science*, 54(3), pp.303-315.
33. Sariözkan, S., Türk, G., Cantürk, F., Yay, A., Eken, A. and Akçay, A., 2013. The effect of bovine serum albumin and fetal calf serum on sperm quality, DNA fragmentation and lipid peroxidation of the liquid stored rabbit semen. *Cryobiology*, 67(1), pp.1-6.
34. Selvakumar, E., Prahalathan, C., Sudharsan, P.T. and Varalakshmi, P., 2006. Chemoprotective effect of lipoic acid against cyclophosphamide-induced changes in the rat sperm. *Toxicology*, 217(1), pp.71-78.
35. Shakouri, N., Soleimanzadeh, A., Rakhshanpour, A. and Bucak, M.N., 2021. Antioxidant effects of supplementation of 3, 4-dihydroxyphenyl glycol on sperm parameters and oxidative markers following cryopreservation in canine semen. *Reproduction in Domestic Animals*, 56(7), pp.1004-1014.
36. Sheikholeslami, S.A., Soleimanzadeh, A., Rakhshanpour, A. and Shirani, D., 2020. The evaluation of lycopene and cysteamine supplementation effects on sperm and oxidative stress parameters during chilled storage of canine semen. *Reproduction in Domestic Animals*, 55(9), pp.1229-1239.
37. Soleimanzadeh, A. and Saberivand, A., 2013. Effect of curcumin on rat sperm morphology after the freeze-thawing process. *Veterinary Research Forum*, 4(3), pp. 185-189
38. Soleimanzadeh, A., Kian, M., Moradi, S. and Mahmoudi, S., 2020. Carob (*Ceratonia siliqua* L.) fruit hydro-alcoholic extract alleviates reproductive toxicity of lead in male mice: Evidence on sperm parameters, sex hormones, oxidative stress biomarkers and expression of Nrf2 and iNOS. *Avicenna journal of phytomedicine*, 10(1), pp.35-49.
39. Soleimanzadeh, A., Kian, M., Moradi, S. and Malekifard, F., 2018. Protective effects of hydro-alcoholic extract of *Quercus brantii* against lead-induced oxidative stress in the reproductive system of male mice. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 8(5), pp.448-456.
40. Soleimanzadeh, A., Mohammadnejad, L. and Ahmadi, A., 2018. Ameliorative effect of *Allium sativum* extract on busulfan-induced oxidative stress in mice sperm. *Veterinary Research Forum*, 9(3), pp. 265-271
41. Soleimanzadeh, A., Pourebrahim, M., Delirezh, N. and Kian, M., 2018. Ginger ameliorates reproductive toxicity of formaldehyde in male mice: Evidences for Bcl-2 and Bax. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 7(4), pp.259-266.
42. Soleimanzadeh, A., Saberivand, A. and Ahmadi, A., 2014. effect of α -tocopherol on spermatozoa of rat semen after the freeze-thawing process. *Studies in Medical Sciences*, 25(9), pp.826-834.
43. Watson, P.F., 2000. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal reproduction science*, 60, pp.481-492.



†

- ment: Recommendations for the essential fatty acid requirement for infant formulas. *J Am Coll Nutr*, 14(2), pp.213-214.
12. Hamamah, S., Royère, D., Nicolle, J.C., Paquignon, M. and Lansac, J., 1990. Effects of freezing-thawing on the spermatozoon nucleus: a comparative chromatin cytophotometric study in the porcine and human species. *Reproduction nutrition development*, 30(1), pp.59-64.
 13. Izanloo, H., Soleimanzadeh, A., Bucak, M.N., Imani, M. and Zhandi, M., 2021. The effects of varying concentrations of glutathione and trehalose in improving microscopic and oxidative stress parameters in Turkey semen during liquid storage at 5 C. *Cryobiology*, 101, pp.12-19.
 14. Kaeoket, K., Sang-Urai, P., Thamniyom, A., Chanapiwat, P. and Techakumphu, M., 2010. Effect of docosahexaenoic acid on quality of cryopreserved boar semen in different breeds. *Reproduction in domestic animals*, 45(3), pp.458-463.
 15. Kaka, A., Haron, W., Yusoff, R., Yimer, N., Khumran, A.M., Sarsaifi, K., Behan, A.A., Kaka, U., Memon, A.A. and Ebrahimi, M., 2017. Effect of docosahexaenoic acid on quality of frozen-thawed bull semen in BioXcell extender. *Reproduction, fertility and development*, 29(3), pp.490-495.
 16. Kedechi, S., Zribi, N., Louati, N., Menif, H., Sellami, A., Lassoued, S., Ben Mansour, R., Keskes, L., Rebai, T. and Chakroun, N., 2017. Antioxidant effect of hydroxytyrosol on human sperm quality during in vitro incubation. *Andrologia*, 49(1), p.e12595.
 17. Kiernan, M., Fahey, A.G. and Fair, S., 2013. The effect of the in vitro supplementation of exogenous long-chain fatty acids on bovine sperm cell function. *Reproduction, fertility and development*, 25(6), pp.947-954.
 18. Kiernan, M., Fahey, A.G. and Fair, S., 2013. The effect of the in vitro supplementation of exogenous long-chain fatty acids on bovine sperm cell function. *Reproduction, fertility and development*, 25(6), pp.947-954.
 19. Linde-Forsberg, C., 1995, February. Artificial insemination with fresh, chilled extended, and frozen-thawed semen in the dog. In *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery Small Animal*, 10, pp. 48-48.
 20. Losano, J.D., Angrimani, D.S., Rui, B.R., Bicudo, L.C., Dalmazzo, A., Silva, B.C., Viana, C.H., Mendes, C.M., Assumpção, M.E., Barnabe, V.H. and Nichi, M., 2018. The addition of docosahexaenoic acid (DHA) and antioxidants (glutathione peroxidase and superoxide dismutase) in extenders to epididymal sperm cryopreservation in bulls. *Zygote*, 26(3), pp.199-206.
 21. Marti, J.I., Marti, E., Cebrian-Perez, J.A. and Muino-Blanco, T., 2003. Survival rate and antioxidant enzyme activity of ram spermatozoa after dilution with different extenders or selection by a dextran swim-up procedure. *Theriogenology*, 60(6), pp.1025-1037.
 22. Michael, A.J., Alexopoulos, C., Pontiki, E.A., Hadjipavlou-Litina, D.J., Saratsis, P., Ververidis, H.N. and Boscós, C.M., 2009. Effect of antioxidant supplementation in semen extenders on semen quality and reactive oxygen species of chilled canine spermatozoa. *Animal reproduction science*, 112(1-2), pp.119-135.
 23. Nasiri, A.H., Towhidi, A. and Zeinoaldini, S., 2012. Combined effect of DHA and α -tocopherol supplementation during bull semen cryopreservation on sperm characteristics and fatty acid composition. *Andrologia*, 44, pp.550-555.
 24. Parthasarathy, S., Santanam, N., Ramachandran, S. and Meilhack, O., 1999. Oxidants and antioxidants in atherogenesis: an appraisal. *Journal of Lipid Research*, 40(12), pp.2143-2157.
 25. Penny, P.C., Noble, R.C., Maldjian, A. and Cerolini, S., 2000. Potential role of lipids for the enhancement of boar fertility and fecundity. *Pig News and Information*, 21(4).
 26. PERROS, C., 2017. Oxidative stress challenges during the sperm cryopreservation in dogs. *J. Vet. Androl*, 2, pp.1-7.
 27. Ramazani, N., Gharebagh, F.M., Soleimanzadeh, A., Arslan, H.O., Keles, E., Gradinarska-Yanakieva, D.G., Arslan-Acaröz, D., Zhandi, M., Baran, A., Ayen, E. and Dinç, D.A., 2023. Reducing oxidative stress by κ -carrageenan and C60HyFn: The post-thaw quality and antioxidant status of Azari water buffalo bull semen. *Cryobiology*, 111, pp. 104-112
 28. Ramazani, N., Mahd Gharebagh, F., Soleimanzadeh, A., Arslan, H.O., Keles, E., Gradinarska-Yanakieva, D.G., Arslan-Acaröz, D., Zhandi, M., Baran, A., Ayen, E. and Dinç, D.A., 2023. The influence of L-proline and fulvic acid on oxidative stress and semen quality of buffalo bull semen following cryopreservation. *Veterinary Medicine and Science*, 9(4), pp.1791-1802.
 29. Rooke, J.A., Shao, C.C. and Speake, B.K., 2001. Effects of feeding tuna oil on the lipid composition of pig spermatozoa and in vitro characteristics of semen. *REPRODUCTION-CAMBRIDGE*, 121(2), pp.315-322.
 30. Sabzei, M.M., Ayen, E., Soleimanzadeh, A. and Bucak, M.N., 2023. Tribulus terrestris aqueous extract supplementation effects on sperm characteristics and anti-oxidant status during chilled storage of canine semen. *Veterinary Research Forum*, 14(2), pp. 71-77
 31. Saito, K., Kinoshita, Y., Kanno, H. and Iwasaki, A., 1996. The role of potassium ion and extracellular alkalization in reinitiation of