نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان
جلد ششم، شماره اول، ۱۳۹۷
http://ejrr.gau.ac.ir

گزارش کوتاه علمی

مقایسه استفاده از زرده تخم‌مرغ و لسیتین سویا و افزودن آلبومین سرم گاوی بر انجمادپذیری و باروری منی گاو

عاطفه تقوی چمازکتی[۱]، *فرید مسلمی‌پور[۲]، یوسف مصطفی‌لو[۲] و فرزاد قنبری[۲]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد و [۲]استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبد کاووس

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۲/۲۷؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۱۱

چکیده

سابقه و هدف: ذخیره و نگهداری سرمایی منی دام‌ها در دوره‌های طولانی‌تر، استفاده از ذخایر ژنتیکی بهتر را امکان‌پذیر می‌سازد که در این بین، آسیب ناشی از پراکسیداسیون و شوک سرمایی باعث کاهش باروری منی می‌شود. بنابراین استفاده از موادی در ترکیب رقیق کننده که بتواند در حفظ باروری اسپرم موثر باشد، بسیار مهم خواهد بود. در این تحقیق، به‌منظور بررسی اثر استفاده از سطوح مختلف لسیتین سویا به‌جای زرده تخم‌مرغ در رقیق‌کننده تریس و همچنین اثر افزودن آلبومین سرم گاوی بر ویژگی‌های باروری منی گاو، سه آزمایش در سه شرایط دمایی نگهداری شامل دمای اتاق (۲۴°C)، دمای یخچال (۵°C) و به‌صورت منجمد در ازت مایع انجام شد.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های منی از چهار رأس گاو ۳ ساله نژاد هلشتاین و با استفاده از مهبل مصنوعی جمع‌آوری شده و پس از ارزیابی اولیه کیفیت آن‌ها با هم مخلوط شدند. سپس نمونه‌های منی با چهار نوع رقیق کننده مختلف دارای زرده تخم‌مرغ و سه سطح ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد لسیتین سویا رقیق شدند. قبل از پر کردن پایوت‌های نیم سی‌سی با منی رقیق شده، به نیمی از آن‌ها ۱۰ میلی‌گرم آلبومین سرم گاوی افزوده شد. پایوت‌ها در سه شرایط دمایی نگهداری شدند؛ در دمای اتاق و و ارزیابی نمونه‌ها در ساعت‌های ۳، ٦ و ۹، در دمای یخچال و و ارزیابی نمونه‌ها در ساعت‌های ۳، ۲٤ و ٤۸ و در حالت انجماد در ازت و ارزیابی نمونه‌های یخ‌گشایی شده در روزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ روز بعد از انجماد. غلظت و درصد زنده‌مانی و جنبایی اسپرم‌ها به روش میکروسکوپی ارزیابی شدند. داده‌ها بر اساس آزمایش فاکتوریل ۳×٤×۲ (شامل اثرات رقیق کننده، آلبومین سرم گاوی و زمان) با آرایش طرح کاملا تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار بود.

یافته‌ها: نتایج آزمایش در دمای اتاق نشان داد که اثر رقیق‌کننده و زمان بر زنده‌مانی و جنبایی اسپرم‌ها معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$) ولی اثر افزودن آلبومین تأثیر معنی‌دار بر آن نداشت. بیشترین زنده‌مانی (۹۹/۸۸ درصد) و جنبایی (۹۹/۷۵ درصد) اسپرم‌ها در گروه زرده تخم‌مرغ در ساعت سه مشاهده شد. در مورد نتایج آزمایش در دمای یخچال، اثر رقیق‌کننده و زمان بر زنده‌مانی و جنبایی اسپرم‌ها معنی‌دار بود ($p<۰/۰۱$) ولی اثر افزودن آلبومین تأثیر معنی‌دار بر آن نداشت. بیشترین زنده‌مانی (۹۸/۳٤ درصد) و جنبایی (۹۷/٦۷ درصد) اسپرم‌ها در گروه زرده تخم‌مرغ در ساعت سه مشاهده شد. اثر رقیق‌کننده و زمان بر زنده‌مانی و اثر

*مسئول مکاتبه: farid.moslemipur@gmail.com

رقیق‌کننده، آلبومین و زمان بر جنبایی اسپرم‌های منجمد پس از یخ‌گشایی معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). بیشترین زنده‌مانی (٦٨/١٨ درصد) و جنبایی (٦٥/٦٢ درصد) اسپرم‌ها به‌ترتیب در گروه زرده تخم‌مرغ در روز ۵ بعد از انجماد بود.

نتیجه‌گیری کلی: در مجموع، نتایج این تحقیق نشان داد که در رقیق‌کننده تریس، استفاده از زرده تخم‌مرغ نسبت به لسیتین سویا در شرایط نگهداری مایع و انجماد منی گاو برتری دارد. همچنین، افزودن سرم آلبومین گاوی به رقیق کننده تاثیری در بهبود زنده‌مانی و جنبایی اسپرم‌های منی گاو ندارد.

واژه‌های کلیدی: رقیق کننده منی، باروری اسپرم، آلبومین سرم گاوی، گاو

مقدمه

یکی از مزایای زرده تخم‌مرغ به‌عنوان متداول‌ترین رقیق‌کننده منی، وجود لیپوپروتئین با چگالی کم می‌باشد که منجر به حفاظت از فسفولیپیدهای اسپرم در طول فرآیند انجماد می‌شود (٢). گزارش شده است که به دلیل وجود گویچه‌های چربی در زرده تخم‌مرغ، ارزیابی اسپرم دشوار می‌شود (١٣). از سوی دیگر، انجماد اسپرم باعث کاهش مواد آنتی‌اکسیدانتی موجود در مایع منی می‌شود که با افزودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی می‌توان از آن محافظت کرد (١۵). لسیتین سویا مخلوط طبیعی فسفاتیدیل کولین و چند اسید چرب مانند اسید استئاریک، اولئیک و پالمیتیک است که جایگزین مناسبی برای زرده تخم‌مرغ در رقیق‌سازی مایع منی می‌باشد. بنابراین، استفاده از لسیتین سویا به‌عنوان منبع لیپوپروتئین‌ها در رقیق‌کننده‌های مایع منی مورد توجه قرار گرفته است (١٢). میزان اسیدهای چرب غیراشباع در غشاء اسپرم زیاد بوده و از طرفی توان آنتی‌اکسیدانتی اسپرم در مقایسه با دیگر سلول‌ها پایین‌تر است. در نتیجه این سلول‌ها نسبت به فشارهای اکسیداتیو آسیب‌پذیرتر هستند (١٤). برخی یافته‌ها نشان دادند که آلبومین سرم گاوی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانتی بوده که قابلیت آمیخته شدن با رقیق‌کننده‌ها را دارد (٨). بنابراین، هدف این پژوهش بررسی تأثیر سطوح مختلف لسیتین سویا در مقایسه با زرده تخم‌مرغ در رقیق‌کننده تریس و همچنین اثر افزودن آلبومین سرم گاوی بر ویژگی‌های انجمادپذیری و باروری منی گاو می‌باشد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق از چهار رأس گاو ٢ تا ٣ ساله نژاد هلشتاین استفاده شد. جمع‌آوری منی از طریق عادت‌دهی گاوها به وسیله مهبل مصنوعی انجام شد. غلظت منی با استفاده از روش هموسیتومتر اندازه‌گیری شد. رقیق‌کننده پایه بر اساس جدول ١ آماده شد. ابتدا ٠/١ سی‌سی از منی و ٩/٩ سی‌سی از محلول ٣ درصد سالین توسط پیپت حباب‌دار با هم مخلوط شدند، سپس یک قطره از نمونه در زیر لام با بزرگنمایی ٤٠× میکروسکوپ مورد ارزیابی قرار گرفت. در این تحقیق ابتدا چهار نوع رقیق‌کننده مایع منی شامل سطح ٢٠ درصد زرده تخم‌مرغ و سه سطح ۵، ١٠ و ١۵ درصد لسیتین سویا تهیه و سپس دو سطح صفر و ١٠ میلی‌گرم در میلی‌لیتر آلبومین سرم گاوی به آن‌ها افزوده شد. آزمایش منی مایع بر اساس غلظت اسپرم و با فرض اینکه در هر پایوت حداقل ١٠ میلیون اسپرم زنده و جنبا باشد رقیق شد. ارزیابی نمونه‌ها در آزمایش دمای محیط (٢٤°C) در ساعات ٣، ٦ و ٩، در آزمایش دمای یخچال (۵°C) در ساعات ٣، ٢٤ و ٤٨ و در آزمایش منی منجمد (در نیتروژن مایع) پس از یخ‌گشایی در روزهای ۵، ١٠ و ١۵

صورت گرفت. به‌منظور یخ‌گشایی پس از خروج پایوت‌ها از کانتینر بلافاصله در حمام بن‌ماری با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٤٠ ثانیه قرار داده شدند. داده‌های حاصل از سه آزمایش تیماردهی منی در شرایط دمای محیط، دمای یخچال و منجمد بر اساس آزمایش فاکتوریل ۳×٤×۲ (شامل اثرات اصلی رقیق‌کننده، آلبومین سرم گاوی و زمان) با آرایش طرح کاملا تصادفی و با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح خطای پنج درصد صورت گرفت.

جدول ۱: ترکیب رقیق‌کننده پایه تریس برای نگهداری منی گاو در شرایط مایع و انجماد برای تمام تیمارها

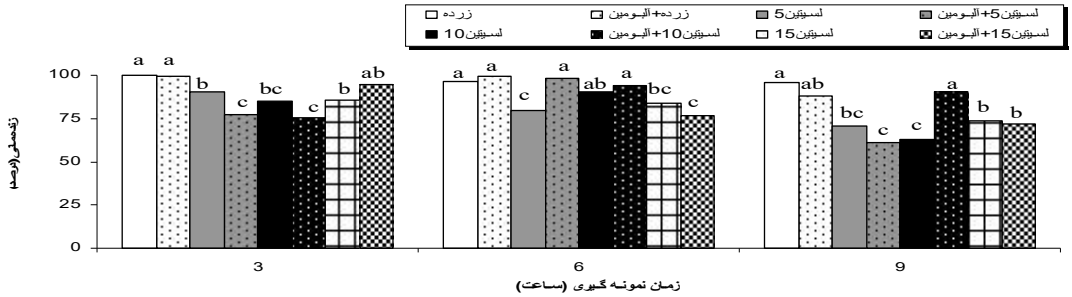
Table 1. Tris extender compounds for bovine semen in liquid and frozen conditions.

در ۱۰۰ میلی‌لیتر In 100 ml	اجزای رقیق‌کننده Extender components
30.48	تریس (گرم) Tris (g)
1.25	فروکتوز (گرم) Fructose (g)
1.67	اسید سیتریک (گرم) Citric acid (g)
14	زرده تخم‌مرغ (میلی‌لیتر) Egg yolk (mL)
100000	پنی سیلین (IU) Penicillin (IU)
100	استرپتومایسین (IU) Streptomycin (IU)
100	آب مقطر تا حجم (میلی‌لیتر) Distilled water to volume (mL)
7	گلیسرول (میلی‌لیتر) (فقط در مرحله انجماد) Glycerol (mL)

نتایج و بحث

آزمایش اول: منی مایع در دمای اتاق

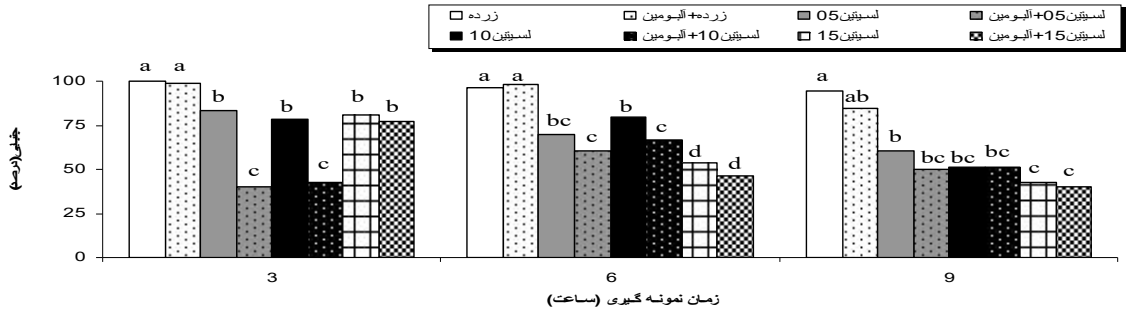
بررسی‌ها نشان داد که اثرا رقیق‌کننده و زمان بر زنده‌مانی اسپرم‌ها معنی‌دار بود (P<۰/۰۱) ولی اثر اصلی آلبومین بر زنده‌مانی آن‌ها معنی‌دار نبود. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، به‌ترتیب بیشترین و کمترین درصد زنده‌مانی اسپرم (۹۹/۸۸ درصد) در گروه زرده تخم‌مرغ در زمان سه و (٦۰/۹٥ درصد) در گروه لسیتین ٥+آلبومین در زمان ۹ به‌دست آمد. امیرات و همکاران (۲۰۰٤) گزارش کردند که فسفولیپیدها، کلسترول و لیپوپروتئین‌های با چگالی کم در زرده تخم‌مرغ به‌عنوان محافظ غشاء پلاسمایی و آکروزوم در برابر آسیب‌های مربوط به تغییر درجه حرارت می‌باشد (۲).



شکل ١: میانگین درصد زنده‌مانی اسپرم‌ها در نمونه‌های منی مایع نگهداری شده در دمای اتاق.

Figure 1. Means of sperm viability percentage of liquid semen samples stored under room temperature.

نتایج نشان داد که اثر رقیق‌کننده و زمان بر جنبایی کل اسپرم معنی‌دار بود (P<٠/٠٠١) ولی افزودن آلبومین بر این شاخص اثری نداشت. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین و کمترین جنبایی اسپرم‌ها به‌ترتیب در گروه زرده تخم‌مرغ در زمان سه (٩٩/٧٥ درصد) و در گروه لسیتین ٥+آلبومین در زمان سه (٤٠/١١ درصد) به‌دست آمد (شکل ٢). زرده تخم‌مرغ حاوی مقداری گلوکز و دیگر قندها و ترکیبات قابل سوخت و ساز برای اسپرم است و از راه خنثی نمودن اسید لاکتیک تولیدی از راه گلیکولیز، به‌عنوان یک منبع ذخیره غذایی عمل می‌کند (١٠). این نتیجه با یافته‌های تحقیق حاضر مطابقت ندارد.

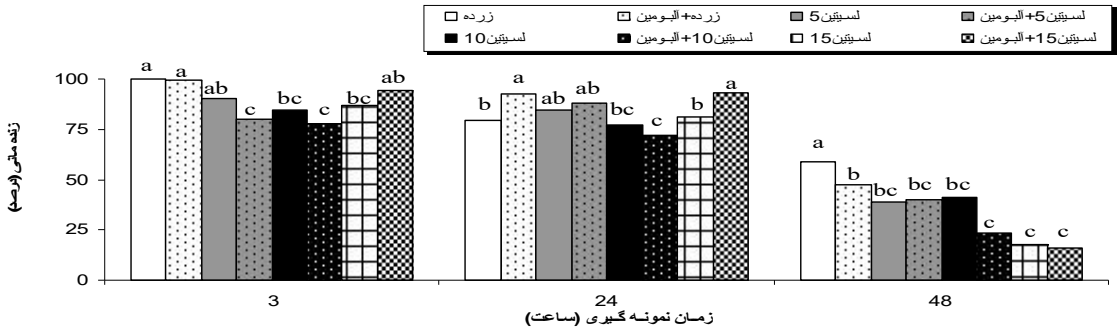


شکل ٢: میانگین درصد جنبایی اسپرم‌ها در نمونه‌های منی مایع نگهداری شده در دمای اتاق.

Figure 2. Means of sperm motility percentage of liquid semen samples stored under room temperature.

آزمایش دوم: منی مایع در دمای یخچال

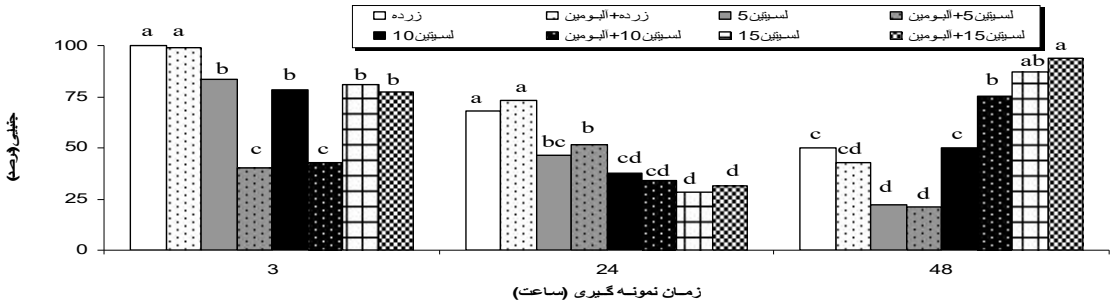
نتایج نشان داد که اثر رقیق‌کننده و زمان بر زنده‌مانی اسپرم‌های نگهداری شده در دمای یخچال معنی‌دار بود (P<٠/٠١) ولی اثر افزودن آلبومین بر آن معنی‌دار نبود. همان‌طور که در شکل ٣ مشاهده می‌شود بیشترین و کمترین درصد زنده‌مانی اسپرم‌ها به‌ترتیب در گروه زرده تخم‌مرغ در زمان سه (٩٨/٣٤ درصد) و در گروه لسیتین ١٥+آلبومین در زمان ٤٨ (١٣/٤٥درصد) به‌دست آمد. معمولا با افزایش ساعات نگه‌داری اسپرم، خصوصیات اسپرم مانند درصد جنبایی و درصد زنده‌مانی کاهش می‌یابد جعفری آهنگری (١٩٩٦). تحقیق حاضر نیز نشان داد با افزایش ساعات نگهداری اسپرم در حالت مایع درصد جنبایی و زنده‌مانی اسپرم‌ها کاهش می‌یابد. نتایج به‌دست آمده در مورد اثر زمان‌های مختلف نگهداری بردرصد جنبایی و درصد زنده‌مانی اسپرم‌ها در شرایط مایع در تحقیق حاضر با نتایج جعفری آهنگری (١٩٩٦) مطابقت داشت (٩).



شکل ۳: میانگین درصد زنده‌مانی اسپرم‌ها در نمونه‌های منی مایع نگهداری شده در دمای یخچال.

Figure 3. Means of sperm viability percentage of liquid semen samples under chilling conditions.

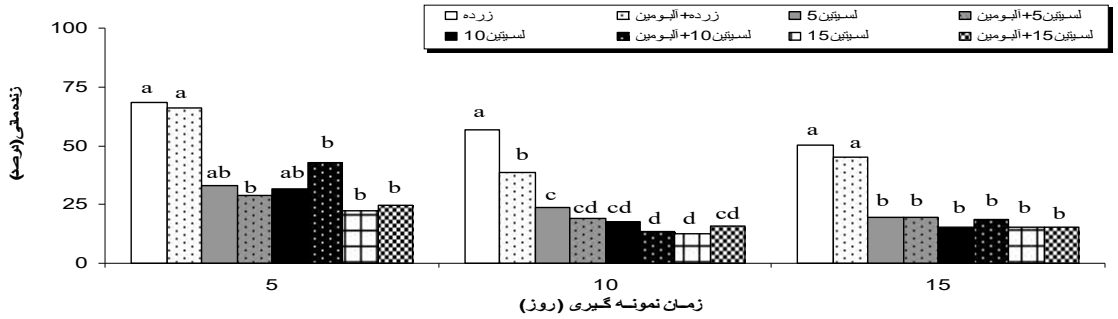
نتایج نشان داد که اثر رقیق‌کننده و زمان بر جنبایی اسپرم‌ها معنی‌دار بود ($P<0/01$) ولی اثر آلبومین بر آن معنی‌دار نبود. با توجه به شکل ٤ بیشترین و کمترین جنبایی اسپرم‌ها به‌ترتیب در گروه زرده تخم‌مرغ در زمان سه (۹۷/٦۷ درصد) و در گروه لسیتین ۵+آلبومین در زمان ٤۸ (۲۱/۲۲ درصد) مشاهده شد. جهت کاهش خسارت‌های ناشی از شوک سرما طی ذخیره‌سازی به‌عنوان ترکیب اصلی جهت تهیه رقیق‌کننده‌های منی مطرح است (۱۱). این یافته با اطلاعات حاصل از تحقیق حاضر مطابقت دارد.



شکل ٤: میانگین درصد جنبایی اسپرم‌ها در نمونه‌های منی مایع نگهداری شده در دمای یخچال

Figure 4. Means of sperm motility percentage of liquid semen samples under chilling conditions.

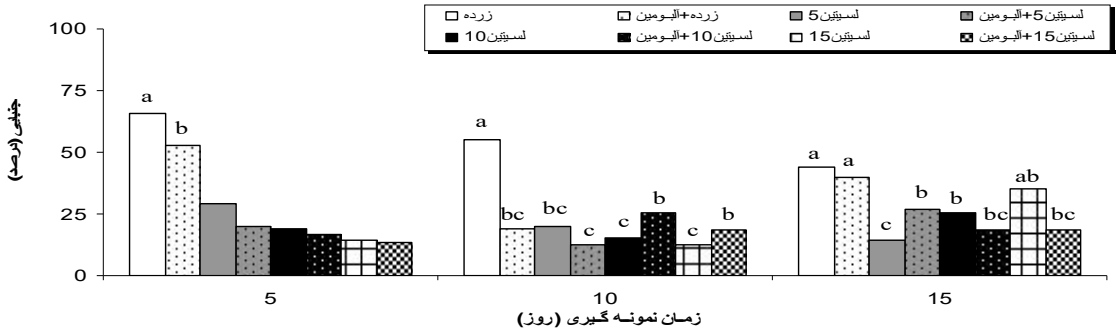
آزمایش سوم: منی منجمد پس از یخ‌گشایی: نتایج نشان داد که اثر رقیق‌کننده و زمان بر زنده‌مانی اسپرم‌های منجمد پس از یخ‌گشایی معنی‌دار بود ($P<0/05$) ولی اثر آلبومین بر آن معنی‌دار نبود. همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، به‌ترتیب بیشترین و کمترین زنده‌مانی اسپرم‌ها در گروه زرده تخم‌مرغ در روز ۵ (٦۸/۱۸ درصد) و در گروه لسیتین ۱۵ در روز ۱۰ (۱۲/۳۷ درصد) به‌دست آمد. شوک‌های برودتی طی فرایندهای سردسازی و انجماد، موجب، آسیب به آکروزوم و آسیب میتوکندریایی می‌شوند. نتایج این بررسی با تحقیق حاضر مطابقت دارد (٦ و ۷).



شکل ٥: میانگین درصد زنده‌مانی اسپرم‌ها در نمونه‌های منی منجمد در ازت پس از یخ‌گشایی.

Figure 5. Means of sperm viability percentage of liquid nitrogen-frozen semen samples after thawing.

نتایج نشان داد که اثر رقیق‌کننده، آلبومین و زمان بر جنبایی اسپرم‌های منجمد پس از یخ‌گشایی معنی‌دار بود ($P<0/05$) ولی سایر اثرات متقابل تأثیر معنی‌دار بر آن نداشتند. نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل ٦) نشان داد که بیشترین و کمترین جنبایی اسپرم‌ها به‌ترتیب در گروه زرده تخم‌مرغ در روز ٥ (٦٥/٦٢ درصد) و در گروه لسیتین ٥+ آلبومین و لسیتین ١٥ در روز ١٠ (١٢/٣٧ درصد) به‌دست آمد. از طرفی در طی نگهداری سرمایی منی در شرایط مایع و منجمد میزان زنده‌مانی نمونه‌های اسپرم کاهش می‌یابد که می‌تواند ناشی از تاثیر رادیکال‌های آزاد بر ساختار غشاء باشد (٤). مطابق با نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر، یکی از عوامل اصلی در آسیب‌پذیرتر بودن اسپرم‌های نگهداری شده به‌صورت منجمد در مقایسه با اسپرم‌های تازه نسبت به فشارهای اکسیداتیو کاهش سطوح داخل سلولی مواد آنتی‌اکسیدانتی است. سطوح داخل سلولی سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز پس از نگهداری در شرایط سرمایی در رقیق‌کننده تریس، گلوکز و زرده تخم‌مرغ به‌ترتیب ٥٠ و ٧٨ درصد تقلیل یافت (٣).



شکل ٦: میانگین درصد جنبایی اسپرم‌ها در نمونه‌های منی منجمد در ازت پس از یخ‌گشایی.

Figure 6. Means of sperm motility percentage o`f liquid nitrogen-frozen semen samples after thawing.

نتیجه‌گیری کلی: با توجه به نتایج به‌دست آمده در این تحقیق می‌توان گفت که زنده‌مانی و جنبایی اسپرم‌های منی گاو در هرسه شرایط نگهداری (دمای اتاق، دمای یخچال و منجمد) در رقیق‌کننده دارای زرده تخم‌مرغ نسبت به رقیق‌کننده لسیتین سویا بهتر حفظ می‌شود. از طرفی، افزودن سرم آلبومین گاوی در بهبود زنده‌مانی و جنبایی اسپرم‌های منی گاو تأثیری نداشت.

منابع

1. Ahmadi-hamedani, M., Jafari Ahangari, Y., and Zerehdaran, S. 2015. Tris-thinning effects of egg yolk in ram sperm quality Zell refrigeration and freezing conditions. Journal of Animal Production. 10: 122-134. (In Persian)
2. Amirat, L., Tainturier, D., Jean, L., Thorin, C., Gerald, O., Courtens, J.L., and Anton, M. 2005. Bull semen in vitro fertility after cryopreservation using egg yolk LDL: a comparison with optiolyl. A commercial egg yolk extender. Theriogenology. 61: 895-907.
3. Bilodeau, J.F., Blanchhette, S., Cormier, B., and Sirad, M.A. 2002. Reactive oxygen species mediated loss of bovine sperm motility in egg yolk tris extender: protection by pyruvate metal chelators and bovine liver or oviductal fluid catalase. Journal of Theriogenology. 57: 1105-1122.
4. Breininger, V.E., Beorlegui, N.B., Oflaherti, C.M., and Beconi, M.T. 2005. Alpha tocopherol improves biochemical and dynamic parameters in cryopreserved boar semen. Journal of Theriogenology. 63: 2126-2135.
5. Curry, M.R., Millar, J.D., and Watson, P.F. 1994. Calculated optimal cooling rates for ram and human sperm cryopreservation fail to confirm with empirical observations. Journal of Biology of Reproduction. 51: 1014–1021.
6. Fiser, P.S., and Fairfull, R.W. 1986. The effects of rapid cooling (cold shock) of ram semen, photoperiod, and egg yolk in diluents on the survival of spermatozoa before and after freezing. Journal of Cryobiology. 23: 24-518.
7. Forouzanfar, M., Fazilati, M., Moulavi, F., Hajian, M., Salehi, S.A., Rabiei, A., and Nasr-Esfahani, M.H. 2009. Investigation of different glycerol and Egg Yolk concentration on freezing Bakhtiari Ram Semen. Journal of Iranian Anatomical Sciences. 5: 17-25. (In Persian)
8. Ghadimi, V., and Zhandi, M. 2016. Bovine serum albumin effect on sperm quality during refrigeration Caspian. Journal of Iran Animal Science. 46 (2): 139-133. (In Persian)
9. Jafari Ahangari, Y. 1996. An investigation on the effect of various buffers (Tris, Citrate and Skimmed milk) on ram semen motility and survival characteristics in liquid storage. Final report of Research Plan. Journal of Animal Science Institute. 37. (In Persian)
10. Latifian, F. 1998. Cryopreservation Of Bull Semen In Treated Semi- Skimmed Milk. M.Sc. Thesis. Islamic Azad University, Isfahan Branch. 163. (In Persian)
11. Manjunath, P., and Therien, I. 2002. Role of seminal plasma phospholipid binding proteins in sperm membrane lipid modification that occurs during capacitation. Journal of Reproduction Immunology. 53: 109–119.
12. Papa, F.O., Felicio, G.B., Melo-Ona,. C.M., Avarenga, M.A., De.Vita, B., Trinque, C., Puoli-Filhob, J.N.D., and Dell Aqu, J.A. 2010. Replacing egg yolk with soyban lecithin in the cryopreservation of stallion semen. Journal of Animal Reproduction Science.129: 73-77.
13. Singh, A.K., Singh, V.K., Narwade, B.M., Mohantyo, T.K., and Atreja, S.K, 2012. Comparative quality assessment of buffalo (Bubalus Bubalis) semen chilled (5°C) in egg yolk-and soya milk-based extenders. Journal of Reproduction in Domestic Animals. 47: 590-600.
14. Sreejith, J.N., Brar, A.S., Ahuja, C.S., and Sangha, S.P.S. 2006. A comparative study on lipid peroxidation activities of antioxidant enzymes and viability of cattle and buffalo bull spermatozoa during storage at refrigeration temperature. Journal of Animal Reproduction Science. 96: 21-29.
15. Tariq, M., Khan, M.S., Shah, M.G., Nisha, A.R., Umer, M., Hasan, S.M., Rahman, A. and Rabbani I. 2015. Exogenous antioxidants inclusion during semen cryopreservation of farm animals. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research Archive. 7(3): 2273-2280.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Ruminant Research, Vol. 6(1), 2018
http://ejrr.gau.ac.ir

Short Technical Report

A comparison of egg yolk, soybean lecithin, and bovine serum albumin on bull semen fertility and cryopreservability

A. Taghavi-Chamazkoti[1], *F. Moslemipur[2], Y. Mostafaloo[2] and F. Ghanbari[2]
[1]M.Sc. Graduated, and [2]Assistant Prof., Dept. of Animal Science, Gonbad Kavous University
Received: 03/17/2017; Accepted: 09/02/2017

Abstract

Background and objectives: The storing and cryopreservation of livestock semen for a long time enables the use of better genetic reserves. Damages from peroxidation and cold shock are indispensable part of long time storage which leads to a lowered semen fertility. So, it is needed to provide greater insight into the effects of different materials in semen extender to improve fertility. In this study, three experiments were implemented to investigate the effect of different soybean lecithin instead of egg yolk in Tris extender and also adding bovine serum albumin on fertility traits of bovine semen stored under three thermal conditions; room temperature (24°C), chilling temperature (5°C), and frozen in liquid nitrogen.

Materials and methods: Semen samples were collected from four Holstein bulls (about three years old) using artificial vagina and pooled after initial quality evaluation. Semen samples then were extended by four different extenders containing egg yolk (20%) and three levels of soy lecithin (0.5, 1 and 1.5%). Before filling 0.5 ml straws with extended semen, 10 mg bovine serum albumin was added to the half of straws. Straws were stored at three thermal conditions; under room temperature and evaluation after 3, 6 and 9 hrs under chilling temperature and evaluation after 3, 24, and 48 hrs under freezing condition and then evaluation of thawed straws at days 5, 10 and 15 post-freezing. Sperm concentrations, viability and motility were evaluated microscopically. Data were analyzed as a 2 × 4 × 3 factorial experiment (including extender, bovine serum albumin and time effects) with a completely randomized design. Means comparison was by the least significant difference test.

Results: Results from the experiment under room temperature showed that the effects of extender and time on sperm viability and motility were significant ($p<0.01$) but adding albumin had no significant effect on these parameters. The highest sperm viability and motility percentages were 99.88 and 99.75 in egg yolk group at 3 hrs after storage, respectively. Regarding the results from the chilling condition, the effects of extender and time on sperm viability and motility were significant ($p<0.01$) but adding albumin showed no significant effect. The highest sperm viability and motility percentages were 98.34 and 97.67 in egg yolk group at 3 hrs after storage, respectively. The effects of extender and time on sperm viability and the effect of extender, albumin and time on sperm motility after thawing were significant ($p<0.05$). The highest sperm viability and motility percentages were 68.18 and 65.62 in egg yolk group at day 5 post-freezing, respectively.

Conclusion: Generally, results of the study showed that using egg yolk in Tris semen extender in comparison to soybean lecithin has priority for storing bull semen in liquid and frozen conditions. Furthermore, adding bovine serum albumin into extender was not effective on bovine sperm viability and motility.

Keywords: Semen extender, Sperm fertility, Bovine serum albumin, Cow

*Corresponding author: farid.moslemipur@gmail.com