

ارزیابی میزان تحرک اسپرم دم اپیدیدیم شتر یک کوهانه در Green buffer با یا بدون زرده تخم مرغ

دکتر حسین حملی^۱ دکتر پرویز تاجیک^{۲*}

دریافت مقاله: ۲۶ فروردین ماه ۱۳۸۲

پذیرش نهایی: ۲۰ آبان ماه ۱۳۸۲

Assessment of camel sperm motility obtained from cauda epididymis in Green buffer with or without egg yolk

Hamali, H.,¹ Tajik, P.²

¹School of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz-Iran.

²Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran.

Objective: Assessment of camel sperm motility obtained from cauda epididymis in Green buffer with or without 20% egg yolk.

Design: Descriptive study.

Samples : Testicles from Dromedary camel.

Procedure : Dromedary camel testicles (n=100) were obtained from slaughter-house, cauda were incised in the laboratory. The sperm cells were transferred into Green Buffer medium and sperm motility was assessed.

Statistical analysis: Descriptive statistics, χ^2 -test.

Results: No motility was observed in epididymal sperm obtained from testicles transported in warm saline, however, transportation of testicles in 4-5°C supported sperm motility by 80%. After incubation, 5% of sperm cells from caput epididymis were motile. These values were 20%, 50% and 90% for caput-body, body-cauda and cauda regions respectively. No significant different was observed between motility of right and left testicles respectively. Approximately 80% of epididymal sperm cells from cauda epididymis were motile in Green buffer + 20% egg yolk after 1 hour incubation which was significantly higher ($P<0.01$) than sperm cells from corpus (30%) and caput (5%) epididymis. These values were 70%, 10% and 0 for cauda, corpus and caput epididymis in 2nd hour. Motility of caudal sperm cell were higher in Green buffer without egg yolk at first 2 hours of incubation but it decreased and remained lower during the observation.

Conclusion: Dromedary camel epididymal sperm cells motility is supported by Green buffer. *J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran. 58, 4: 369-372, 2003.*

Key words: Epididymal sperm, Cauda epididymis, Sperm motility, Dromedary camel, Green buffer.

Corresponding author email: ptajik@ut.ac.ir

اپیدیدیمی انسان جهت استفاده های کلینیکی را مورد تجزیه و تحلیل قرار دهند (۱۲). در سال ۲۰۰۰ میلادی Blash و همکاران اسپرم اپیدیدیمی بز را از ۲۰ رأس بز کشته شده اخذ نموده و پس از ارزیابیهای لازم آنها را منجمد نموده‌اند. از این اسپرمها هم به جهت تلقیح مصنوعی و هم باروری آزمایشگاهی (IVF) استفاده نموده‌اند (۱). در همین سال Moris و همکاران وضعیت توانا شدن اسپرم اپیدیدیمی نریان را پس از انجماد مورد ارزیابی قرار دادند (۹). و بالاخره Patrizo در همین سال توانست با موفقیت اسپرم اپیدیدیمی انسان را جهت انجماد و نگهداری مورد استفاده قرار دهد. این محقق میزان ۴۰ درصد آبستنی موفق همراه با تولد نوزاد زنده را با استفاده از تلقیح توسط اسپرم اپیدیدیمی منجمد گزارش نمود. این محقق همچنین گزارش داد که تفاوت معناداری بین انتقال رویانهای منجمد شده منتج

بدف: ارزیابی تحرک اسپرم اخذ شده از قسمتهای مختلف اپیدیدیم شتریک کوهانه در محیط Green buffer با یا بدون ۲۰ درصد زرده تخم مرغ.

لرح: مطالعه توصیفی.

مونه‌ها: بیضه شترهای یک کوهانه ایران.

روش: گرفتن بیضه ۵۰ نفر از شترهای یک کوهانه نحر شده در کشتارگاه (یکصد بیضه). برش دم اپیدیدیم و قرار دادن اسپرم به تفکیک بیضه راست و چپ و قرار دادن آنها در محیط Green buffer و ارزیابی تحرک آنها.

جزیه و تحلیل آماری: آمار توصیفی، استفاده از مربع کای.

نایج: اسپرمهای گرفته شده از بیضه حمل و نقل شده در محیط سرم فیز یولوژیک در عمده‌ها فاقد تحرک بودند. در حالی که حدود ۸۰ درصد میانگین اسپرمهای اپیدیدیم حمل شده در مجاورت یخ متحرک بودند. پس از قرار گرفتن در یخخانه، میزان تحرک اسپرمهای سر، بدنه نزدیک به سر، بدنه نزدیک به دم اپیدیدیم و دم اپیدیدیم حدوداً به ترتیب ۵، ۲۰، ۵۰ و ۹۰ درصد بود. هیچ گونه اختلاف معناداری بین میزان تحرک اسپرمهای گرفته شده از بیضه راست و چپ وجود نداشت. حدود ۸۰ درصد از اسپرمهای ناحیه سر، ۳۰ درصد از اسپرمهای ناحیه بدنه و ۵ درصد از اسپرمهای ناحیه سر در محیط Green buffer با ۲۰ درصد زرده تخم مرغ دارای حرکت بودند که اختلاف بین آنها معنا دار بود ($P<0.05$). میزان اختلاف در ساعت دوم آزمایش برای اسپرمهای گرفته شده از سر اپیدیدیم (بدون تحرک) و اسپرمهای گرفته شده از بدنه اپیدیدیم (با ۱۰ درصد تحرک) کمتر شده و نسبت اختلاف آنها با اسپرمهای گرفته شده از دم اپیدیدیم (با ۷۰ درصد تحرک) بیشتر بود ($P<0.01$). اختلاف تحرک در اسپرمهای گرفته شده از دم با دیگر قسمتها تا پایان زمان مطالعه باقی ماند. میزان تحرک اسپرم گرفته شده از دم اپیدیدیم در محیط Green buffer بدون زرده تخم مرغ در ۲ ساعت اولیه آزمایش بالاتر از میزان آن در محیط دارای زرده تخم مرغ بود در حالی که بعداً کاهش پیدا کرده و تا پایان آزمایش میزان تحرک اسپرمهای موجود در محیط حاوی زرده تخم مرغ بالاتر ماند.

نتیجه گیری: اسپرم دم اپیدیدیم شتر یک کوهانه توان ماندگاری در محیط Green buffer را دارد. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۱۳۸۲، دوره ۵۸، شماره ۴، ۳۶۹-۳۷۲.

کلمات کلیدی: اسپرم اپیدیدیمی، دم اپیدیدیم، تحرک اسپرم، شتر یک کوهانه، Green buffer.

کی از روشهای جمع آوری اسپرم از دام نر استفاده از اسپرم اپیدیدیمی است که اخیراً مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است. این امر نه تنها در مورد چوچ بلکه در مورد حیوانات دیگر نیز انجام شده است. انجام تحقیقات روی چوچ و حیوانات دیگر عبارت اند از:

در سال ۱۹۹۱ میلادی توانایی اسپرم اپیدیدیمی چوچ جهت انجام واکنش کروموزومی و نفوذ به تخمک گوسفند توسط Williams و همکاران مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۷). در سال ۱۹۹۴ Bruan و همکاران احتمال سرد و منجمد کردن اسپرم انزالی و اپیدیدیمی نریان را مورد ارزیابی قرار دادند (۳). در سال ۱۹۹۷ Sharma و همکاران توانستند عوامل موثر بر انجماد اسپرم

آموزشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز، تبریز - ایران.

گروه آموزشی علوم دامی دانشگاه دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

نویسنده مسئول: ptajik@ut.ac.ir



می‌گردید. بعد از خارج شدن خون، مجدداً بیضه‌ها و اپیدیدیم با سرم فیزیولوژی شستشو شده و به وسیله تامپون خشک می‌گردید. تا جایی که امکان داشت بافت همبند موجود در اطراف اپیدیدیم جدا شده و توسط یک قیچی استریل، قسمتهای مورد آزمایش اپیدیدیم در محیطی که قبلاً برای آن تهیه شده بود، خرد می‌گردید. این محیط به مدت ۲۰ دقیقه قبل از خرد کردن اپیدیدیم در آنکوباتور ۳۹/۵ درجه سانتیگراد با فشار ۵ درصد گاز کربنیک قرار می‌گرفت. بعد از خرد کردن اپیدیدیم، ظروف حاوی قطعات اپیدیدیم حداقل به مدت ۱۰ دقیقه در آنکوباتور منتقل می‌شد تا اسپرم‌ها از داخل قطعات اپیدیدیم خارج شده و وارد محیط گردند. در این مرحله یک ارزیابی مقدماتی با بزرگنمایی ۱۰۰ تا ۴۰۰ انجام می‌گرفت. نمونه‌ها همچنین ا لحاظ غلظت مورد ارزیابی قرار گرفته تا همیشه مقدار ثابتی از اسپرم وارد محیطهای مورد آزمایش گردد. این غلظت در تمام آزمایش حدود ۳۰ میلیون اسپرم در هر میلی لیتر (حدوداً ۱۰ برابر آنچه در IVF مورد استفاده قرار می‌گیرد) بود. البته قبلاً نشان داده شده است که غلظت اسپرم تا این مقدار آسیبی به خود اسپرم وارد نساخته و میزان ماندگاری آن را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد (۱۵). لازم به یادآوری است که قبلاً محیطهای مورد آزمایش بصورت قطره‌های ۱۰۰ میکرونی تهیه و پس از پوشانیدن با پارافین استریل (ساخت شرکت مرک آلمان)، حداقل به مدت ۲ ساعت در آنکوباتور قرار می‌گرفت. به فواصل یکساعت از افزودن اسپرم ظروف از آنکوباتور خارج تحرک اسپرم‌ها مورد ارزیابی قرار می‌گرفت. این عمل پس از قرار دادن یک قطره همگن شده از سوسپانسیون اسپرم و محیط آزمایش بین لام و لامل گرم شده انجام می‌پذیرفت. محیط‌های مورد آزمایش عبارت بودند از:

۱. Green buffer + ۲۰ درصد زرده تخم مرغ، ۲. Green buffer بدون زرده تخم مرغ.

بعد از تهیه لام در آزمایشگاه با میکروسکوپ با درشت‌نمایی (۱۰۰) مورفولوژی سلولهای اسپرم به تعداد ۲۰۰ اسپرم برای هر لام مورد مطالعه قرار می‌گرفت.

تهیه رنگ: برای تهیه رنگ ۵ گرم نیکروزین را با ۰/۸۴ گرم اتوزین ۱/۴۵ گرم سدیم سیترات (هر دو ساخت شرکت مرک آلمان) و ۰/۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط می‌شد. مواد این تحقیق از بیضه ۵۰ نفر شده یک کوهانه گرفته شده (مجموعاً ۱۰۰ بیضه) استفاده گردید.

اطلاعات به دست آمده به وسیله آزمون مربع کای مورد ارزیابی قرار گرفته و نتایج به صورت منحنی + انحراف استاندارد ارائه گردید.

نتایج

اسپرم‌های گرفته شده از بیضه حمل و نقل شده در محیط سالین گرم عمدتاً فاقد تحرک بودند (۲ ± ۳ درصد)، در حالی که حدوداً ۱۰ ± ۸۰ درصد از اسپرم‌های دم اپیدیدیم گرفته شده از بیضه‌های حمل شده در مجاورت یخ متحرک بودند. آزمایش‌های به عمل آمده نشان داد که اسپرم‌هایی که سر و نیم قدامی بدنه اپیدیدیم گرفته شده بود فاقد تحرک لازم بودند (نمودارهای ۱ و ۲).

میزان تحرک اسپرم گرفته شده از سر اپیدیدیم به طور میانگین درصد، تحرک اسپرم گرفته شده از بدنه نزدیک به سر ۲۰ درصد، میز تحرک اسپرم‌های بین بدنه و دم اپیدیدیم حدود ۵۰ درصد و تحرک اسپرم‌ها گرفته شده از ناحیه دم اپیدیدیم حدود ۹۰ درصد بود (نمودار ۱). میانگین تحرک اسپرم اخذ شده از بیضه‌های راست و چپ اختلا

از تلقیح با اسپرم تازه و یا منجمد وجود ندارد (۱۱). تلاش حاضر بررسی مقدماتی است در مورد اسپرم اپیدیدیمی شتر یک کوهانه که برای اولین بار در ایران انجام شده است. در بررسی قبلی (اطلاعات منتشر نشده) اسپرم اپیدیدیمی شتر یک کوهانه مشخص شد درصد قابل ملاحظه‌ای از اسپرم‌ها زنده بودند ولی میزان اسپرم‌های دارای قطره پروتوپلاسمی نیز زیاد بود. وجود قطرات پروتوپلاسمی در اسپرم‌های اخذ شده از اپیدیدیم قابل انتظار می‌باشد و عقیده بر این است که این قطرات با مرور زمان و بلوغ اسپرماتوزوئید محو می‌شوند. از طرف دیگر، تلقیح مصنوعی و انتقال رویان اخیراً در امر تولید مثل شتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. با وجود اینکه در سالیان اخیر تلقیح مصنوعی در شتران یک کوهانه و دو کوهانه در آمریکای جنوبی مورد استفاده قرار گرفته است، ولی هنوز نیاز به استاندارد سازی روش‌های جمع آوری و ارزیابی اسپرم احساس می‌شود. علاوه بر این تحرک کم اسپرم، عدم وجود تکنیک‌های پیشرفته در انجماد اسپرم و نبود یک روش قابل اعتماد برای تعیین دقیق زمان تخمک ریزی و تلقیح مصنوعی، مشکلاتی هستند که اگر در آینده حل شوند، تلقیح مصنوعی را در شتر رایج خواهد نمود.

تغییرات مورفولوژیک اسپرماتوزوا در حین عبور از اپیدیدیم اتفاق می‌افتد که به وسیله Mansour در سال ۱۹۸۲ مطالعه شده است. آنها یافتند که درصد اسپرم‌های بدون دم به طور مشهودی در قسمت دم اپیدیدیم نسبت به سر آن بیشتر است. درصد اسپرماتوزوهای همراه با قطره سیتوپلاسمی به طور مشهودی در سر بیشتر از بدنه یا دم اپیدیدیم است (نقل از ۸).

اکنون به اسپرم اپیدیدیمی به عنوان یک منبع تأمین گامت نر توجه می‌شود، همچنان که تحقیقات موجود به آن اذعان دارد (۶،۷). لازم است تا این نوع منبع تأمین گامت در دام‌های کشور مورد ارزیابی قرار گیرد. از طرف دیگر اکنون محیط تجاری Green buffer به عنوان یک محیط قابل قبول برای رقیق کردن اسپرم شتر مطرح است (۱۳،۱۴). تحقیق حاضر بر آن است تا میزان تحرک اسپرم اپیدیدیمی شتر یک کوهانه را در محیط تجاری Green buffer با یا بدون زرده تخم مرغ مورد ارزیابی قرار دهد. از طرف دیگر بر آن است تا اختلاف احتمالی بین میزان تحرک اسپرم‌های گرفته شده از بیضه راست و چپ را مشخص نماید.

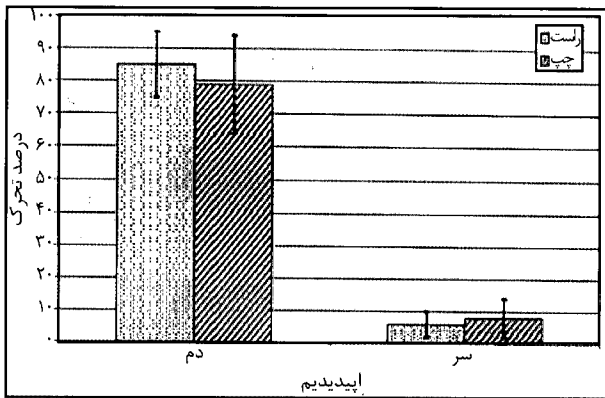
مواد و روش کار

محل انجام پژوهش: در پاییز و زمستان ۱۳۸۱ به کشتارگاه لاهوتی در اطراف تهران مراجعه و پس از کشتار شترهای بالغ بیضه‌های آنان شماره‌گذاری گردید. آنگاه راست یا چپ بودن بیضه‌ها مشخص و با ثبت تاریخ دقیق نمونه‌گیری در هر روز که به کشتارگاه رجوع می‌شد نمونه‌ها به آزمایشگاه که در فاصله کوتاهی از محل کشتار بود انتقال می‌یافتند. در آزمایش اول نمونه‌ها یا در مجاورت یخ (حدود ۴ درجه سانتیگراد) و یا در سرم فیزیولوژیک نرمال با گرمای ۳۷ درجه سانتیگراد حمل و از آزمایش دوم به بعد تمام نمونه‌ها در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل گردید.

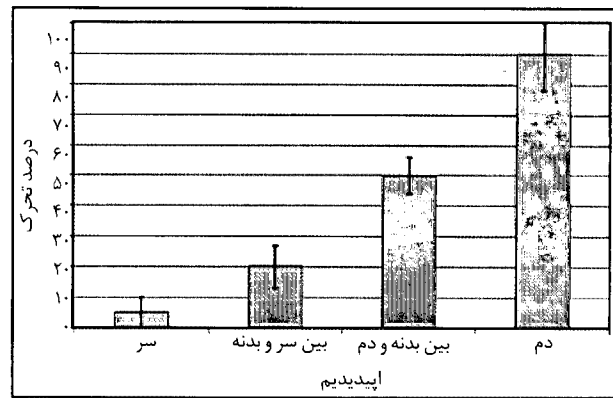
روش کار

در آزمایشگاه، بیضه‌ها یکبار دیگر با سرم فیزیولوژیک حاوی آنتی‌بیوتیک شستشو شده و سپس با برش تونیکا وژینالیس، اپیدیدیم مشخص می‌گردید. با توجه به اثرات سوء حضور خون برای اسپرم، ابتدا عروق سطحی موجود بر روی اپیدیدیم توسط تیغه بیستوری برشهای ظریفی داده شده و با ماساژ عروق توسط لبه کند تیغ، خون از داخل رگ‌ها تخلیه و توسط تامپون خشک

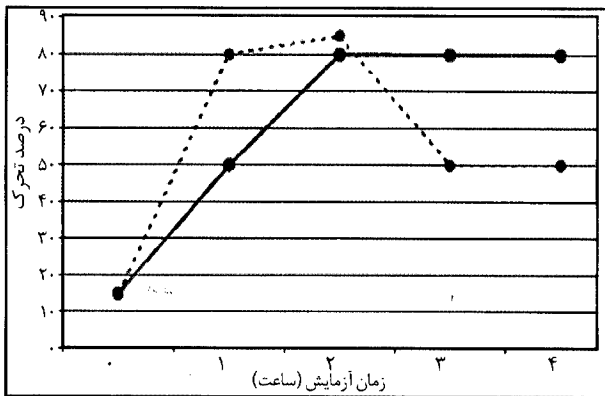




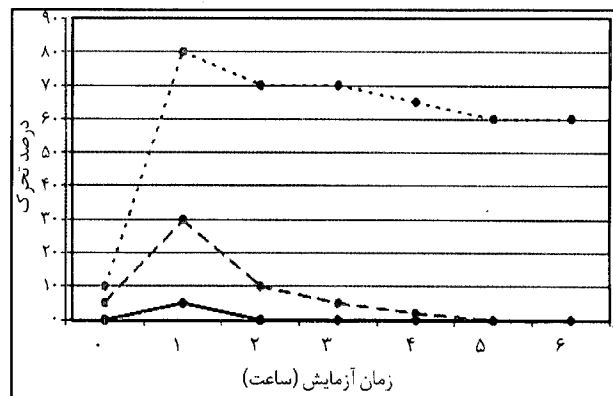
نمودار ۲- میزان تحرک در سر و دم اپیدیدیم بیضه های راست و چپ.



نمودار ۱- تحرک اسپرم قسمتهای مختلف اپیدیدیم شتر یک کوهانه



نمودار ۴- میزان تحرک اسپرم دم اپیدیدیم در محیط Green buffer به علاوه ۲۰ درصد زرده تخم مرغ (خط ممتد) و یا بدون آن (نقطه چین).



نمودار ۳- تحرک اسپرم شتر یک کوهانه در محیط Green buffer به علاوه ۲۰ درصد زرده تخم مرغ در سر اپیدیدیم (خط ممتد) و بدنه (خط منقطع) و دم اپیدیدیم (نقطه چین).

مطالعه قرار دادند. محیط مورد استفاده در مطالعه مذکور محیط باروری معرفی شده توسط Oliphant و Brackett بود (۲) که به آن آلبومین سرم گاو اضافه شده بود. در این مطالعه اسپرم جهت توانا شدن به مدت ۲ ساعت در محیط یاد شده قرار گرفت ولی در خصوص نتایج تحرک اولیه و تحرک نهایی اسپرم در این محیط گزارشی موجود نیست. Del Campo و همکاران نیز در سال ۱۹۹۴ اولین باروری آزمایشگاهی تخمکهای لاما را با استفاده از اسپرم اپیدیدیمی آن گزارش نمودند (۵). در این گزارش حدود ۲۹ درصد از تخمکها بارور شدند که ۵۷ درصد از آنها حدود ۱۷ درصد تخمکهای اولیه دارای پرو نوکلئوس نر و ماده بودند. هر چند در گزارش Bou و همکاران میزان بلوغ تخمکها نسبت به آنچه در مورد گاو گزارش می شود کمتر و حدود ۴۶/۷ درصد و میزان باروری حدود ۴۳/۲ درصد گزارش شده است و در گزارش Del Campo میزان باروری و تشکیل پرو نوکلئوس نر و ماده بسیار کم بود. اما این موضوع خود مؤید این مطلب است که اسپرم اپیدیدیمی شتر دو کوهانه توانایی باروری تخمکهای آن را دارد. در گزارشهای مورد بحث اطلاعاتی در مورد محل (سر، بدنه و یا دم) اپیدیدیم که اسپرمها از آنجا گرفته شده است، میزان زنده و یا مرده بودن اسپرمها، میزان تحرک و بالاخره غلظت اسپرمها داده نشده است. در بررسی حاضر در مورد شتر یک کوهانه، چنین به نظر می رسد که دم اپیدیدیم از لحاظ تحرک اولیه (یکساعت پس از قرار گرفتن در گرمخانه) و ماندگاری تحرک از بقیه مناطق بهتر است. هر چند که در مطالعه قبلی ما (اطلاعات منتشر نشده) بین میزان اسپرمهای زنده از یک طرف و نسبت اسپرمهای زنده دارای قطره های پروتوپلاسمی از طرف دیگر اختلاف معناداری وجود نداشت.

معنادار نداشت، در حالی که بین اسپرمهای گرفته شده از دم و سر اپیدیدیم از این جهت اختلاف کاملاً مشخص و معنادار بود ($P < 0.01$) (نمودار ۲). همان طور که در نمودار ۳ مشخص شده است، در ابتدای آزمایش که اسپرمها سرد بوده اند اختلافی بین میزان تحرک در قسمتهای مختلف اپیدیدیم وجود ندارد، اما با گذشت زمان و به سرعت در ساعت اول آزمایش این اختلاف مشخص می گردد. به طوری که حدوداً ۸۰ درصد از اسپرمهای ناحیه دم، ۳۰ درصد از اسپرمهای ناحیه بدنه و ۵ درصد از اسپرمهای ناحیه سر دارای حرکت بودند که اختلاف بین آنها معنا دار بود ($P < 0.05$). این میزان اختلاف در دو ساعت دوم آزمایش برای اسپرمهای گرفته شده از سر اپیدیدیم (بدون تحرک) و اسپرمهای گرفته شده از بدنه اپیدیدیم (۱۰ درصد تحرک کمتر شده و نسبت اختلاف آنها با اسپرمهای گرفته شده از دم اپیدیدیم (۷۰ درصد تحرک) اختلاف بیشتر گردید ($P < 0.01$). اختلاف تحرک در اسپرمهای گرفته شده از دم با دیگر قسمتها تا پایان زمان مطالعه باقی ماند. نمودار ۴ میزان تحرک اسپرم گرفته شده از دم اپیدیدیم را در محیط Green buffer یا بدون ۲۰ درصد زرده تخم مرغ نشان می دهد. همان طور که مشاهده می شود وجود زرده تخم مرغ باعث تأخیر در رسیدن تحرک به حداکثر خود شده اما در مراحل بعد این تحرک را به طور یکنواخت حفظ نموده است.

بحث

گزارشی در مورد باروری آزمایشگاهی تخمکهای بالغ شده شتر دو کوهانه در آزمایشگاه با استفاده از اسپرم اپیدیدیمی این حیوان توسط Bou و همکاران منتشر گردید (۴). ایشان باروری را تا مرحله ۱۶-۸ سلولی مورد



References

- Blash, S., Melican, D. and Gavin, V. (2000): Cryopreservation of epididymal sperm obtained at necropsy from goats. *Theriogenology*, 54: 899-905.
- Brackett, B.G. and Oliphant, G. (1975): Capacitation of rabbit spermatozoa in vitro. *Biol. Reprod.* 12: 260-274.
- Braun, J., Sakai, M., Hochi, S. and Oguri, N. (1994): Preservation of ejaculated and epididymal stallion spermatozoa by cooling and freezing. *Theriogenology*, 41, 4: 809-818.
- Bou, S.C., Pang, Y.F., Zhang, S.L. and Xue, X.X. (1993): Preliminary study on in vitro fertilization in the domestic camel (*Camelus bactrianus*). *Chinese J. Zool.* 28: 35-37.
- Del Campo, M.R., Del Campo, C., Donoso, M.X., Berland, M. and Mapletoft, R.J. (1994): In vitro fertilization and development of llama (*Lama glama*) oocytes using epididymal spermatozoa and oviductal cell co-culture. *Theriogenology*, 41: 1219-1229.
- Janzen, N., Goldstein, M., Schlegel, P.N., Palermo, G.D. and Rosenwaks, Z. (2000): Use of electively cryopreserved microsurgically aspirated epididymal sperm with IVF and intracytoplasmic sperm injection for obstructive azoospermia. *Fertil. Steril.* 74: 696-701.
- Kikuchi, J., Nagai, T., Kashiwasaki, N., Ikeda, H., Noguchi, J., Shimada, A., Soloy, N. and Kaneko, H. (1998): Cryopreservation and ensuing in vitro fertilization ability of boar spermatozoa from epididymides stored at 4 C. *Theriogenology* 50: 615-623.
- Menkt, H., Rath, D., Mussa, B. and EL-Naygar, M.A. (1990): Reproduction in camels are review. *FAO Animal Production and Health*, P: 82.
- Morris, L.H.A., Stout, T.E., Li, X. and Alien, W.R. (2000): The capacitation status of fresh and frozen-thawed epididymal and ejaculated stallion spermatozoa. *Theriogenology*, 53: 488.
- Musa, B., Sieme, H., Merkt, H. and Hago, B.E.D. (1992): Artificial insemination in dromedary camels. *Proc. 1st Int. Camel Conf*, 179-182.
- Patrizio, P. (2000): Cryopreservation of epididymal sperm. *Mol. Cell. Endocrinol.* 169: 11-14.
- Sharma, R.K., Padron, O.F., Thomas, A.J. and Agarwal, A. (1997): Factors associated with the quality before freezing and after thawing of sperm obtained by microsurgical epididymal aspiration. *Fertil. Steril.* 64: 628-631.
- Skidmore, J.A., Billal, M. and Allen, W.R. (2000): Using modern reproductive technologies such as embryo transfer and artificial insemination to improve the reproductive potential of dromedary camels. *Proc. Int. Workshop Camel Calf Ouarzazate, Morocco*, 24-26 October 1999. In: *Revue d'Eleavage et de Medecine Veterinaire des Pays Tropicaux*, 53: 97-100.
- Skidmore, J.A., Billal, M., Allen, W.R. and Short, R.V. (1999): Modern reproductive methods to hybridize old and new world camelids: *Camelus dromedarius* X *Lama guanicoe*. *Reproduction in domestic Animals*, 34 (suppl 6): 100-103.
- Tajik, P., Wei-Hua, W., Okuda, K. and Niwa, K. (1994): In vitro fertilization of bovine oocytes in a chemically defined, protein-free medium varying the bicarbonate concentration. *Biol. Reprod.*, 50:1231-1237.
- Vijayaraghavan, S., Critchlow, L.M. and Hoskins, D.D. (1985): Evidence for a role for cellular alkalization in the cyclic Adenosine 3', 5'- Monophosphate - mediated initiation of motility in bovine caput spermatozoa. *Biol. Reprod.* 32: 489-500.
- Williams, R.M., Graham, J.K. and Hamersted, R.H. (1991): Determination of capacity of ram epididymal and ejaculated sperm to undergo the acrosome reaction and penetrate ova. *Biol. Reprod.* 44: 1080-1091.

Musa و همکاران در سال ۱۹۹۲ میزان حرکت اسپرم انزالی شتر یک کوهانه را حدود ۵۰ درصد گزارش نموده‌اند (۱۰). در مطالعه حاضر نشان داده شد که بستگی به زمان مطالعه و محل نمونه برداری این میزان متفاوت و از صفر تا ۸۵ درصد متغیر است بدین معنا که اسپرمهای گرفته شده از سر و بدن اپیدیدیم دارای تحرک بسیار کم و اسپرم گرفته شده از دم اپیدیدیم حدوداً یکساعت پس از جدا سازی حد اکثر تحرک را دارا هستند. قرار دادن اسپرم در محیط Green buffer به علاوه ۲۰ درصد زرده تخم مرغ نتوانست کمکی به دوام تحرک اسپرمهای گرفته شده از سر یا بدنه اپیدیدیم نماید. در حالی که در مورد اسپرمهای دم اپیدیدیم علی رغم این که در ابتدای آزمایش تحرک کمی داشتند ولی با افزودن به این محیط همراه ۲۰ درصد زرده تخم مرغ تحرک قابل قبولی تا پایان آزمایش داشت.

گزارش شده است که تحرک اسپرم سر اپیدیدیم در گاو با افزایش میزان بی کربنات و افزایش pH محیط و در نتیجه pH داخل سلولی، افزایش می‌یابد (۱۶). در مطالعه Vijayaraghvan و همکاران در سال ۱۹۸۵ بر روی اسپرم اپیدیدیمی گاو میزان تحرک صفر و ۳۶ درصد به ترتیب برای اسپرم سر اپیدیدیم در محیطهای بدون بی کربنات و ۲۵ میلی مول بی کربنات و میزان تحرک ۲۸ و ۸۸ درصد را برای اسپرم دم اپیدیدیم در همین محیطها گزارش گردید. در مطالعه حاضر این امر مورد بررسی قرار نگرفت اما تفاوت میزان تحرک اسپرم سر (صفر تا ۵ درصد) و دم اپیدیدیم (۸۰ تا ۹۰ درصد) و اینکه محیط آزمایش احتمالاً حاوی بی کربنات لازم بوده است این احتمال را قوت می‌دهد که همچنان که بی کربنات میزان تحرک اسپرم سر اپیدیدیم گاو را افزایش می‌دهد در مورد اسپرم شتر مؤثر نیست. در آزمایش دیگر (منتشر نشده) اسپرم سر اپیدیدیم شتر یک کوهانه در محیط حاوی ۳۷ میلی مول بی کربنات هم غیر متحرک بود. با این حال اثبات نهایی این مطلب نیز نیاز به آزمایشهای تکمیلی دارد.

