

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ СЕМЕНИ БАРАНОВ РОМАНОВСКОЙ ПОРОДЫ И ПОРОДЫ Lori Bakhtiari*S.A. HOSEINI¹, S. MOHAMMADZADEH¹, A. KADIVAR²

Использование биоразнообразия признается одной из важных задач селекции животных. Романовская овца — российская порода, которая известна благодаря такой отличительной особенности, как многоплодие. Lori Bakhtiari — порода овец, которую в Иране разводят как породу двойного назначения для получения мяса и шерсти. В соответствии с иранской правительственной программой ставится задача по скрещиванию овец этой породы с романовской овцой. Цель нашего исследования заключалась в сравнении спермы баранов обеих пород по концентрации, подвижности, морфометрическим характеристикам сперматозоидов. Образцы семени получали на Научно-исследовательской станции по животноводству (Shuli, провинция Shaharmahal Bakhtiari, Иран). В нашем исследовании у романовских баранов большой и малый диаметры головки спермиев, периметр и площадь головки, длина хвоста, длина средней и задней части составили соответственно $9,16 \pm 0,37$ мк, $4,77 \pm 0,41$ мк, $24,47 \pm 0,97$ мк, $24,89 \pm 1,94$ мк², $57,59 \pm 1,50$ мк, $15,40 \pm 1,20$ мк и $42,19 \pm 2,10$ мк. Исследование выявило существенные различия между породами по таким показателям сперматозоидов, как длина и площадь головки, в то же время ширина головки и ее периметр оказались примерно одинаковыми у обеих пород. У сперматозоидов романовских баранов подвижность типа А также была значительно выше. Романовские бараны по длине жгутика сперматозоида и его средней части превосходили баранов Lori Bakhtiari. По-видимому, повышенная подвижность спермиев романовских баранов обусловлена удлиненной средней частью и большим количеством митохондрий.

Ключевые слова: бараны, романовская овца, порода Lori Bakhtiari, сперматозотды, морфология.

Среди множества сравнительных преимуществ производства шерсти и других продуктов животноводства в условиях Ирана следует отметить возможность поддерживать и разводить разные породы домашних животных, что повышает прибыльность и выводит Иран в число лидирующих стран в этой отрасли. Задача иранских научных учреждений, связанных с селекцией животных, заключается в получении кроссбредных форм с целью более полного использования генетического потенциала существующих пород и повышения устойчивости поголовья. Значительное улучшение свойств должно проявляться уже в первом поколении. Преимущественное развитие того или иного направления овцеводства определяется потребностями экономики и возможностями, которые обеспечиваются природно-климатическими условиями. Для территорий, где важнее развивать производство шерсти, необходимо создавать породы шерстного направления продуктивности. Там, где экономически более целесообразно мясное овцеводство, должны использоваться породы с высокой скоростью роста, эффективной конверсией корма и высокими мясными качествами (1). Единственный приемлемый и обоснованный способ обеспечить прибыльное овцеводство — это полное использование продуктивного потенциала животных (2).

Романовская овца — русская порода, выведенная в XVIII веке (первое упоминание — 1802 год), которая в 1963 году впервые была ввезена во Францию в INRA (French National Institute for Agricultural Research) для исследовательских целей. Породу отличает быстрое созревание и такие выдающиеся характеристики, как высокая частота рождения двоен, сильный материнский инстинкт овцематок и крепкое физическое состояние новорожденных ягнят. Согласно породному стандарту, животные имеют

* Работа поддержана Italian TLU (грант KA93-95).

достаточно длинные конечности. Еще один важный признак — высокая резистентность и жизнеспособность овец-матерей и ягнят. Окот проходит легко. Живая масса романовских баранов и овец в среднем составляет соответственно 55-80 и 40-50 кг. Бараны проявляют агрессивное поведение в период размножения и половую активность во все сезоны года (3).

Lori-Bakhtiari — сильная порода, которая выделяется продуктивными качествами в условиях Ирана. Этих овец разводят на юго-западе страны, в основном в провинции Chaharmahal Bakhtiari. Главное место выращивания — именно Chaharmaahal Bakhtiari, но благодаря выдающимся качествам породы также разводят в соседних провинциях — Isfahan, Lorestan, Kohgiluyeh и Boyer-Ahmad, Khuzistan. Эти овцы известны у кочевников Haft Lang. У породы длинный и толстый жирный хвост, что делает ее привлекательной для разведения и распространения. Хвост разделен надвое (рис. 1). Иногда конец жирного хвоста достигает нижних скакательных суставов (3).



Рис. 1. Бараны местной иранской породы Lori-Bakhtiari (слева) и кроссбредное животное F₁ (справа). Очень длинный жирный хвост, характерный для породы, в потомстве от скрещивания значительно укорочен.

Под воздействием инсоляции у романовских баранов уменьшается объем эякулятов, общая и индивидуальная подвижность сперматозоидов, их концентрация и жизнеспособность в нормальной сперме. Длина и диаметр ячеек у баранов романовской породы больше, чем у сверстников локальных финских пород (4). Цвет эякулята зависит от концентрации спермы: при высокой он кремовый, при низкой — изменяется на белый, сперма становится водянистой (5). Показана прямая зависимость между числом живых спермиев в эякуляте и эффективностью оплодотворения (частотой наступления беременности) (6).

Чтобы уменьшить проявление некоторых признаков, характерных для Lori-Bakhtiari (например, длинный жирный хвост и низкий процент двоен), планируется получить гибриды этой породы с романовской овцой (7). Согласно проекту, предполагается скрестить романовских баранов с овцами Lori-Bakhtiari (см. рис. 1). Однако данные о морфологических особенностях семени у двух пород в условиях Ирана отсутствуют.

Целью этого исследования было сравнение показателей качества семени (объем, концентрация, подвижность, морфометрические параметры сперматозоидов) у обеих пород.

Методика. Баранов выращивали на Исследовательской станции Jahad Keshavarzi Organization (провинция Chaharmahal Bakhtiari) в одинаковых условиях кормления и содержания. Достигшие 2-3-летнего возраста 24 самца (по 12 каждой породы) поступили на исследовательскую станцию Shuli, принадлежащую Jahad Keshavarzi Organization (Chaharmahal Bakhtiari), географические координаты: 50° в.д., 32° с.ш., высота над уровнем моря

2017 м. Сперму отбирали на искусственную вагину и передавали в лабораторию для анализа, сохраняя при температуре 36 °С, чтобы предотвратить холодовой шок.

Для определения подвижности сперматозоидов свежеполученную сперму разбавляли средой Hepes TCM 199 (Tissue Culture Medium) («Sigma-Aldrich, Inc.», США) в соотношении 1:250. Из разбавленного образца отбирали 5 мкл и помещали в счетную камеру Makler Counting Chamber («New York Microscope Company, Inc.», США) для исследования микрофотографированием в системе с программным обеспечением CASA (Computer-aided sperm analysis). Для изучения морфологии спермиев готовили мазки, которые окрашивали, используя набор реактивов Rapid Sperm Staining (RSS) Differentiation quick kit. Набор содержит растворы А, В и С. Раствор А наслаивали на мазок таким образом, чтобы полностью покрыть его поверхность. Через 75 с раствор А удаляли и вместо него наносили раствор В на 60 с, затем его удаляли раствор С помещали на 15 с на мазок, после чего препараты промывали в медленно текущей проточной воде. Мазки полностью высушивали при комнатной температуре. После окрашивания, используя программное обеспечение Isc для удерживания изображения, просматривали примерно 100 спермиев в одном поле зрения микроскопа при увеличении $\times 40$. Регистрировали набор параметров (площадь, периметр, продольный и поперечный диаметры головки, размеры разных частей тела спермия и жгутика).

Рассчитывали средние (M), стандартные ошибки средних ($\pm SE$) и статистическую значимость (P) различий между изучаемыми показателями у двух пород.



Рис. 2. Сперматозоиды барана породы Lori Bakhtiari (увеличение $\times 20$).

Результаты. На рисунке 2 представлен образец спермы барана Lori-Bakhtiari при 20-кратном увеличении.

Мы сравнили морфологические характеристики и подвижность спермиев у двух пород. Различные показатели спермы и спермиев романовских баранов и животных породы Lori-Bakhtiari приведены в таблице 1.

Морфологические показатели, включая большой и малый диаметр, периметр (мк) и площадь (мк²) головки спермия представлены в таблице 2. Также определяли длину жгутика (мк), средней и задней части тела спермия. Результаты сравнения морфологии сперматозоидов у двух пород выявили статистически значимые различия ($P < 0,01$) в большом диаметре и площади головки. В то же время у баранов обеих пород не различались малые диаметры и периметры головки спермиев. Различия по длине хвостовой части и средней части тела сперматозоида оказались статистически значимыми, тогда как различия в длине задней части тела спермия отсутствовали (см. табл. 2).

Изучая А, В, С и D типы подвижности спермиев, оценивали фактическую скорость перемещения сперматозоидов, прямолинейно-пост-

упательное движение и его среднюю скорость (мк/с), средний угол вращения, максимальную боковую подвижность (мк), частоту боковых колебаний (Hz), процент поступательных движений, процент угла поворота и стандартный процент прямолинейных движения (табл. 3).

1. Спермопродукция у изученных баранов романовской породы и породы Lori Bakhtiari (Исследовательская станция Shuli, Chaharmahal Bakhtiari, Иран)

Порода	Возраст, лет	Цвет барана	№ барана	№ повторно-сти образца	Цвет эякулята	Концентрация спермиев, $\times 10^{12}/\text{мл}$
Lori Bakhtiari	3,0	Белый	885954	1	Бежевый	2,2
Lori Bakhtiari	2,5	Белый	917163	1	Бежевый	1,6
Lori Bakhtiari	2,5	Белый	865821	1	Бежевый	1,0
Lori Bakhtiari	2,5	Белый	917163	2	Бежевый	1,5
Lori Bakhtiari	2,5	Белый	865821	2	Бежевый	1,8
Lori Bakhtiari	3,0	Белый	885954	2	Бежевый	2,0
Lori Bakhtiari	3,0	Белый	885954	3	Бежевый	1,9
Lori Bakhtiari	2,5	Белый	917163	3	Бежевый	1,6
Lori Bakhtiari	2,5	Белый	865821	3	Бежевый	1,6
Lori Bakhtiari	2,5	Белый	865586	1	Бежевый	1,6
Lori Bakhtiari	2,5	Белый	865586	2	Бежевый	1,5
Lori Bakhtiari	2,5	Белый	865586	3	Бежевый	1,6
Романовская	2,0	Черный	50202	1	От бежевого до белого	1,8
Романовская	2,0	Черный	50202	2	От бежевого до белого	1,5
Романовская	2,0	Черный	50202	3	От бежевого до белого	1,6
Романовская	2,0	Черный	52028	1	От бежевого до белого	1,7
Романовская	2,0	Черный	52028	2	От бежевого до белого	1,6
Романовская	2,0	Черный	52028	3	От бежевого до белого	1,7
Романовская	2,0	Черный	52017	1	От бежевого до белого	1,6
Романовская	2,0	Черный	52017	2	От бежевого до белого	1,4
Романовская	2,0	Черный	52017	3	От бежевого до белого	1,6
Романовская	2,0	Черный	50141	1	От бежевого до белого	1,8
Романовская	2,0	Черный	50141	2	От бежевого до белого	1,5
Романовская	2,0	Черный	50141	3	От бежевого до белого	1,6

2. Морфологические характеристики спермиев у романовских баранов и баранов породы Lori-Bakhtiari ($M \pm SE$, Исследовательская станция Shuli, Chaharmahal Bakhtiari, Иран)

Показатель	Lori-Bakhtiari	Романовская	P
Большой диаметр головки, мк	8,10 \pm 0,37	9,16 \pm 0,37	0,000
Малый диаметр головки, мк	4,63 \pm 0,33	4,77 \pm 0,41	0,130
Периметр головки, мк	24,29 \pm 1,50	24,47 \pm 0,97	0,570
Площадь головки, мк ²	26,97 \pm 1,18	24,89 \pm 1,94	0,000
Длина жгутика, мк	56,11 \pm 1,90	57,59 \pm 1,50	0,007
Длина средней части тела, мк	14,11 \pm 1,10	15,40 \pm 1,20	0,000
Длина задней части тела, мк	42,01 \pm 2,60	42,19 \pm 2,10	0,750

3. Сравнительная характеристика спермы у романовских баранов и баранов породы Lori-Bakhtiari ($M \pm SE$, Исследовательская станция Shuli, Chaharmahal Bakhtiari, Иран)

Показатель	Lori-Bakhtiari	Романовская	P
Концентрация сперматозоидов, $\times 10^6/\text{мл}$	5308,8 \pm 0,15	6764,4 \pm 1,2	0,028
Подвижных спермиев, %	39,24 \pm 0,80	59,47 \pm 1,60	0,048
Спермиев с поступательным движением, %	33,55 \pm 0,42	52,37 \pm 2,10	0,042
Спермиев с подвижностью класса А, %	21,47 \pm 1,10	38,26 \pm 1,20	0,320
Спермиев с подвижностью класса В, %	12,07 \pm 1,90	14,11 \pm 0,60	0,490
Спермиев с подвижностью класса С, %	5,68 \pm 1,90	7,09 \pm 1,60	0,290
Спермиев с подвижностью класса D, %	60,76 \pm 0,34	40,53 \pm 0,72	0,048
Фактическая скорость сперматозоидов, мк/с	38,87 \pm 0,42	58,95 \pm 1,70	0,019
Прямолинейное движение, мк/с	24,12 \pm 1,40	41,08 \pm 0,30	0,027
Средняя скорость прямолинейного движения, мк/с	27,87 \pm 1,60	45,82 \pm 0,36	0,025
Средний угол вращения, °	9,27 \pm 1,60	15,17 \pm 1,50	0,047
Максимальный диапазон боковых колебаний, мк	1,72 \pm 1,40	2,23 \pm 1,90	0,030
Частота боковых колебаний, Hz	0,41 \pm 0,22	0,74 \pm 0,36	0,022
Доля линейных движений, %	36,63 \pm 0,65	48,26 \pm 2,00	0,086
Угол вращения, %	50,15 \pm 0,72	60,49 \pm 1,50	0,089
Стандартная поступательная подвижность, %	52,79 \pm 1,20	63,29 \pm 1,60	0,069

Сравнение средних показателей по каждой породе показало, что

концентрация спермиев, доля подвижных спермиев, процент спермиев с прямолинейно-поступательным движением, доля сперматозоидов с подвижностью классов А и D, фактическая скорость движения, скорость поступательного движения, средняя скорость поступательного движения, средний угол вращения и частота боковых колебаний у пород статистически значимо ($P < 0,05$) различались. У обеих пород была выявлена существенная связь между процентом спермиев с подвижностью класса В, класса D, процентом сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением, средним углом вращения, процентом стандартной прямолинейной подвижности (см. табл. 3).

Согласно представленным данным (см. табл. 3), наибольшую концентрацию спермиев в эякуляте имели романовские бараны (6764,4 против 5308,8 млн/мл у сверстников породы Lori-Bakhtiari). Самая высокая доля подвижных сперматозоидов также была характерна для романовской породы (59,47 % против 39,24 %). Наивысший процент поступательных движений спермиев тоже регистрировали у романовских баранов (52,37 % против 33,55 %). Самый высокий процент спермиев с подвижностью класса А имели романовские бараны (38,26 % против 21,47 %). Наибольшую фактическую скорость спермиев отмечали у романовских баранов (58,95 против 38,87 мк/с). Скорость прямолинейного поступательного движения спермиев была самой высокой у животных романовской породы (45,82 против 27,87 мк/с). Самый большой угол вращения наблюдали у животных романовской породы (15,17 против 9,27°). Максимальный диапазон боковых колебаний тоже был выше у романовской породы (2,23 против 1,72 мк) (см. табл. 3).

Морфологические характеристики спермиев оказывают огромное влияние на оплодотворяемость яйцеклетки. В норме не менее чем у 30 % спермиев не должно быть морфологических отклонений (8). Аномалии могут проявляться в разных формах. Например, спермии могут иметь две головки, два жгутика, возможна микроцефалия сперматозоидов. Аномальные спермии неспособны к сбалансированному движению и оплодотворению яйцеклетки (9). В нашем эксперименте некоторые морфологические нарушения, например изогнутые хвосты спермиев, наблюдали у романовских баранов.

Цвет спермы служит одним из важнейших индикаторов ее оплодотворяющей способности. У баранов и быков он изменяется от светло-желтого до кремового. С увеличением концентрации спермиев эякулят становится кремовым, при низкой — практически неокрашенным, водянистым (5). В выполненном нами эксперименте сперма у баранов Lori-Bakhtiari имела кремовый цвет ($5,3 \times 10^{12}$ /мл), у романовских — была белесой ($6,7 \times 10^{12}$ /мл).

Подвижность спермиев — наиболее значимый фактор фертильности, определяющий их продвижение в репродуктивном тракте самки. Поэтому подвижность спермиев и оплодотворяющая способность спермы взаимосвязаны. Увеличение процента прямолинейно-поступательных движений повысит фертильность спермы. Мы не выявили у пород статистически значимую связь в отношении подвижности классов В и С ($P < 0,05$), тогда как по подвижности классов А и D она оказалась существенной. У спермиев романовских баранов подвижность класса А была выше, чем у баранов Lori-Bakhtiari ($P > 0,05$). Применение некоторых агентов и режимов воздействия может повлиять на подвижность спермиев. Так, при использовании мелатонина вне периода размножения (10) существенно изменяло показатели подвижности сперматозоидов у баранов Lori-Bakhtiari. В дру-

гом исследовании (11) изучали профили лютеинизирующего гормона (luteinizing hormone, LH), фолликулостимулирующего гормона (follicle-stimulating hormone, FSH) и тестостерона у романовских и французских баранов. Результаты показали, что поступление в кровь FSH у пород не различалось, тогда как секреция LH и тестостерона у романовских самцов была выше и начиналась раньше. По-видимому, лучшая воспроизводительная способность у романовской породы обусловлена освоенностями секреции гонадотропинов и тестостерона (12). Сравнение подвижности спермиев в свежеполученной сперме и спермы после 24 ч сохранения *in vitro* показало, что в первом случае этот показатель значительно выше. Уменьшение подвижности до значений ниже 20 % снижает ее оплодотворяющую способность. У быков подвижные спермии составляют 50-80 %. Исследования показали, что подвижность высока в начале исследования, но в течение короткого промежутка времени процент подвижных спермиев снижается (13). Тем не менее, у некоторых бесплодных быков подвижность спермиев высока. У фертильных баранов подвижность спермиев 60-70 %, а у спермиев с аномалиями тела или жгутика подвижность низкая (14). В нашем опыте у романовских баранов доля подвижных сперматозоидов была выше (59,47 % против 39,24 %). Учитывая минимальную подвижность 60-70 % спермиев у баранов Lori-Bakhtiari, можно предположить их низкую фертильность. Еще один показатель, определенный с использованием системы CASA, указывал на превосходство романовских баранов. Фактическая скорость, доля прямолинейных продвижений, скорость с прямолинейном направлении (мк/с), средняя скорость поступательного движения, средний угол вращения (степень), максимальный боковые отклонения (мк), частота боковых движений (Hz), процент линейной подвижности, средний процент угла вращения и нормированный процент прямолинейно-поступательной подвижности у романовских баранов были выше ($P > 0,05$), чем у баранов породы Lori-Bakhtiari.

Морфометрическое изучение половых клеток, особенно спермиев, очень важно при оценке породных характеристик. Для таких исследований применяют различные методы. Так, J. Yáñez с соавт. (15) применили окрашивание и флуоресцентную микроскопию для выявления особенностей акросомы и ядра в сперматозоидах барана. В первой группе читаемые цифровые изображения спермиев, головки и ядра были получены при окрашивании иодидом калия. Изображения анализировали с использованием компьютерной программы CASA. Во второй группе применили краситель Хехст (Hoechst) для окрашивания ядрышек спермиев с последующей обработкой в программе CASA. Значимых связей при этом не выявили. С использованием системы CASA выполнялись измерения головок спермиев и анализ полученных данных. Для длины и ширины головки, отношения ширины к длине, величины площади и периметра были получены значения соответственно 8,08 мк, 4,80 мк, 0,59, 29,13 мк² и 23,93 мк (16). Окрашивание с помощью KI применяли для сравнения ядер спермиев у быков, хряков и баранов. Морфометрическое изучение показало, что у бараньих спермиев акросомы длинные и широкие, а у бычьи — маленькие (17). В нашем исследовании у романовских баранов большой и малый диаметры головки спермиев, периметр и площадь головки, длина хвоста, длина средней и задней части составили соответственно $9,16 \pm 0,37$ мк, $4,77 \pm 0,41$ мк, $24,47 \pm 0,97$ мк, $24,89 \pm 1,94$ мк², $57,59 \pm 1,50$ мк, $15,40 \pm 1,20$ мк и $42,19 \pm 2,10$ мк. Сравнение морфометрических данных, представленных в таблице 2, показало, что площадь головки спермия у романовских баранов статистически значимо больше ($P > 0,01$), чем у баранов Lori-Bakhtiari. Длина средней

части также значительно больше. Согласно данным таблицы 2, подвижность спермиев у романовских баранов выше, чем у Lori-Bakhtiari. Вероятно, у романовских баранов вследствие удлиненной средней части спермия в нем аккумулируется больше митохондрий. Благодаря такой структуре обеспечивается больше энергии для движения сперматозоидов.

Таким образом, на основании сравнения классов подвижности спермиев у романовских баранов и баранов породы Lori-Bakhtiari можно предположить, что повышение подвижности класса А у романовской породы обусловлено удлиненной средней частью сперматозоида с большим количеством митохондрий. По другим свойствам спермиев проведенное нами исследование также установило превосходство романовских баранов над баранами породы Lori-Bakhtiari.

Авторы благодарят Исследовательскую станцию Shuli (провинция Chaharmahal Bakhtiari) за помощь в сборе образцов.

¹Department of animal science, Lorestan University, Lorestan Province, Khorramabad, A81, Iran, e-mail: Mohammadzadehsa@gmail.com ✉, Aghil1349@gmail.com;

Поступила в редакцию
7 августа 2017 года

²Shahrekord University, Veterinary school, Animal physiology Department, Chaharmahal and Bakhtiari Province, Shahrekord, University, Rahbar Blvd, Iran, e-mail: Kadivar.Ali@gmail.com ✉

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2018, V. 53, № 2, pp. 318-325

COMPARISON OF SEMEN CHARACTERISTICS IN ROMANOV AND Lori Bakhtiari RAMS

S.A. Hoseini¹, S. Mohammadzadeh¹, A. Kadivar²

¹Department of animal science, Lorestan University, Lorestan Province, Khorramabad, A81, Iran, e-mail Mohammadzadehsa@gmail.com (✉ corresponding author), Aghil1349@gmail.com;

²Shahrekord University, Veterinary school, Animal physiology Department, Chaharmahal and Bakhtiari Province, Shahrekord, University, Rahbar Blvd, Iran, e-mail Kadivar.Ali@gmail.com (✉ corresponding author)

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgments:

The authors would like to thank the Shuli research station, Chaharmahal Bakhtiari Province, for assisting in sample collection.

This work was supported by the Iranian TTLU (grant KA93-95)

Received August 7, 2017

doi: 10.15389/agrobiol.2018.2.318eng

Abstract

One of the important aims in animal breeding is using the advantages of bio diversity. Romanov sheep is Russian native breed and has prominent features, such as high percent of twinning. Lori-Bakhtiari breed is dual-purpose (meat and wool) in Iran. Regarding the governmental policies, confluence between these two breeds is on the agenda. The aim of this research is to study comparatively some of the sperm features of rams in both breeds in terms of concentration, motility, morphometry. Semen samples of Lori and Romanov rams were collected in husbandry research station known as Shuli in Chaharmahal Bakhtiari Province in Iran. In this experiment, sperm parameters in Romanov ram including large diameter, small diameter, perimeter and area of head, tail length, mid piece and end piece length were estimated as $9.16 \pm 0.37 \mu$, $4.77 \pm 0.41 \mu$, $24.47 \pm 0.97 \mu$, $24.89 \pm 1.94 \mu^2$, $57.59 \pm 1.50 \mu$, $15.40 \pm 1.20 \mu$ and $42.19 \pm 2.10 \mu$, respectively. A significant difference was observed between the large diameter and head area of sperm, while the small diameter and perimeter of sperm were similar. Motility of type A in Romanov rams was significantly higher. The tail and mid piece of Romanov sperms was significantly taller than these parts in Lori's rams. It seems that taller length of the mid piece and more mitochondria concentration are the causes of higher motility in Romanov spermatozoa.

Keywords: ram, Romanov breed, Lori Bakhtiari breed, sperm, motility, morphology.

REFERENCES

1. Salimi R., Asadi H. *Effective parameters on reproduction*. Danesh Parvar, 2014.

2. Kamkar K. *Sheep husbandry*. Farhang Jame Pub., 2008.
3. Soori M., Nurian Sarvar E. *Sheep husbandry*. Iran Razi University, Kermanshah, 2007.
4. Louda F., Doney J.M., Štolc L., Krížek J., Šmerha J. The development of sexual activity and semen production in ram lambs of two prolific breeds: Romanov and Finnish Landrace. *Anim. Prod.*, 1981, 33(2): 143-148 (doi: 10.1017/S0003356100040575).
5. Büyükleblebici S., Tuncer P.B., Bucak M.N., Taşdemir U., Eken A., Büyükleblebici O., Durmaz E., Sarıözkan S., Endirlik B.Ü. Comparing ethylene glycol with glycerol and with or without dithiothreitol and sucrose for cryopreservation of bull semen in egg-yolk containing extenders. *Cryobiology*, 2014, 69: 74-78 (doi: 10.1016/j.cryobiol.2014.05.005).
6. Mohammadi G., Mahdiun H., Gurani Nezhad S. Improvement of semen evaluation techniques. *Veterinary Journal and Laboratory*, 2011, 3: 135-145.
7. Tajik P. Tajik P., Ghasemzadeh-Nava H., Lotfollahzadeh S., Shirzad M.R. Assessment of live/dead and protoplasmic droplets in epididymal sperm cells in Iranian Zell rams. *J. Fac. of Vet. Med., University of Tehran*, 2003, 58(1): 25-28 (abs. in English).
8. Wainer R., Albert M., Dorion A., Bailly M., Bergère M., Lombroso R., Gombault M., Selva J. Influence of the number of motile spermatozoa inseminated and of their morphology on the success of intrauterine insemination. *Hum. Reprod.*, 2004, 19(9): 2060-2065 (doi: 10.1093/humrep/deh390).
9. Lindheim S.R., Barad D.H., Zinger M., Witt B., Amin H., Cohen B., Fisch H., Barg P. Abnormal sperm morphology is highly predictive of pregnancy outcome during controlled ovarian hyperstimulation and intrauterine insemination. *J. Assist. Reprod. Gen.*, 1996, 13(7): 569-572 (doi: 10.1007/BF02066610).
10. Fazli Nezhad J., Mamoeii M., Kheradmand A., Sukhteh Zari A. The effect of melatonin on testicular circumference and semen characteristics in non-breeding season in Lori-Bakhtiari ram. *Journal of Veterinary Research*, 2016, (71)1: 27-32.
11. Lafortune E., Blanc M.R., Orgeur P., Pelletier J., Perreau C., Terqui M., Hochereau-de Reviers M.T. A comparison of the changes in LH, FSH and testosterone in spring-born ram lambs of two different breeds. *Reprod. Nutr. Dev.*, 1984, 24: 947-952.
12. Druart X., Cognié J., Baril G., Clément F., Dacheux J.-L., Gatti J.-L. In vivo imaging of in situ motility of fresh and liquid stored ram spermatozoa in the ewe genital tract. *Reproduction*, 2009, 138(1): 45-53 (doi: 10.1530/REP-09-0108).
13. Noakes D., Parkinson T.J., England G.C., Arthur G.H. *Arthur's veterinary reproduction and obstetrics*. Saunders Ltd., 2001.
14. Mohammadi G., Barati F. *Artificial insemination in farm animals*. Shahid Chamran University, Ahvaz, 2009.
15. Yáñez J., Capistrós S., Vicente-Fiel S., Soler C., De Murga J.N., Santolaria P. Study of nuclear and acrosomal sperm morphometry in ram using a computer-assisted sperm morphometry analysis fluorescence (CASMA-F) method. *Theriogenology*, 2014, 82(6): 921-924 (doi: 10.1016/j.theriogenology.2014.06.017).
16. Gravance C.G., Champion Z.J., Casey P.J. Computer-assisted sperm head morphometry analysis (ASMA) of cryopreserved ram spermatozoa. *Theriogenology*, 1998, 49(6): 1219-1230 (doi: 10.1016/S0093-691X(98)00069-7).
17. Yáñez J.L., Capistrós S., Vicente-Fiel S., Hidalgo C.O., Santolaria P. A comparative study of the morphometry of sperm head components in cattle, sheep, and pigs with a computer-assisted fluorescence method. *Asian J. Androl.*, 2016, 18(6): 840-843 (doi: 10.4103/1008-682X.186877).