



The effect of temperature-humidity index on sperm motility parameters in Holstein bulls

Maryam Rahbar^{1✉} | Mehdi Behgar^{2✉} | Mohammadrasoul Khoshniyat³ | Farahnaz Motamedi Sedeh⁴ | Parvin Shawrang⁵

1. Corresponding Author, Research Center of Nahadehaye Dami Jahed Co. (NDJ Co.), Karaj, Iran. E-mail: maryam.rahbar68@gmail.com
2. Corresponding Author, Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science & Technology Research Institute, Karaj, Iran. E-mail: mbehgar@aeoi.org.ir
3. Research Center of Nahadehaye Dami Jahed Co. (NDJ Co.), Karaj, Iran. E-mail: mr1984kh@yahoo.com
4. Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science & Technology Research Institute, Karaj, Iran. E-mail: fmotamedi@aeoi.org.ir
5. Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science & Technology Research Institute, Karaj, Iran. E-mail: pshawrang@aeoi.org.ir

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research Article Article history: Received 1 February 2025 Received in revised form 6 April 2025 Accepted 12 April 2025 Published online 25 June 2025 Keywords: Bull semen Correlation Qualitative parameters Temperature-humidity index	Objective: The temperature-Humidity Index (THI) is used to study the effect of heat stress and is one of the critical factors in performance and infertility. This research was conducted to investigate the effect of THI on motility parameters and sperm motility velocity of Holstein bulls in different months and to investigate the internal correlation between these parameters. Method: Meteorological data from the National Meteorological Organization were used to calculate THI. Semen collection and evaluation were carried out at Nahadehaye Dami Jahed Company in Karaj. Three Holstein bulls were used in this study. The semen was diluted and then loaded into straws and frozen after cooling using a programmable freezer. The straws were immediately stored in liquid nitrogen and thawed in a water bath (37°C for 30 s) before evaluation. Sperm kinematic parameters were evaluated using CASA. Results: The THI was lower in April than in other months and higher in July than in other months. The average THI in spring and summer was 64.00 and 70.67, respectively. Total motility, progressive motility, and slow motility were higher in May than in other months and lower in August than in other months. Among the sperm motility parameters, only beat cross frequency (BCF) and straightness (STR) had significant differences in different months. BCF was higher in May compared to other months and lower in August compared to other months. However, STR was higher in July compared to other months and lower in August compared to other months. The THI had a significant negative correlation with sperm progressive motility. Regarding the relationship between motility parameters and sperm motility velocity, the results showed a significant positive correlation between total motility with progressive motility and curved line velocity (VCL). Progressive motility was also positively correlated with VCL and BCF. A significant positive correlation was observed between the sperm motility parameters. A positive correlation was observed between the average path velocity (VAP) and the VCL, straight line velocity (VSL), and BCF parameters. There was a positive correlation between BCF and VCL and VAP parameters. Conclusions: The data show that mild heat stress leads to a decrease in sperm motility and sperm velocity motility parameters. The negative correlation between THI and sperm progressive motility indicates the importance of heat stress on this important parameter. It is suggested that future studies investigate the relationship between THI and sperm motility parameters with sperm fertility using regression models.

Cite this article: Rahbar, M., Behgar, M., Khoshniyat, M., Motamedi Sedeh, F., & Shawrang, P. (2025). The effect of temperature-humidity index on sperm motility parameters in Holstein bulls. *Journal of Animal Production*, 27 (2), 223-233. DOI: <https://doi.org/10.22059/jap.2025.389731.623831>





تأثیر شاخص دمایی-رطوبتی بر فراسنجه‌های جنبایی اسپرم در گاو نر هلشتاین

مریم رهبر^۱ | مهدی بهگر^۲ | رسول خوش‌نیت^۳ | فرحناز معتمدی^۴ | پروین شورنگ^۵۱. نویسنده مسئول، مرکز تحقیقات شرکت نهاده‌های دامی جاهد، کرج، ایران. رایانامه: maryam.rahbar68@gmail.com۲. نویسنده مسئول، پژوهشکده کشاورزی هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، کرج، ایران. رایانامه: mbehgar@aeoi.org.ir۳. مرکز تحقیقات شرکت نهاده‌های دامی جاهد، کرج، ایران. رایانامه: mr1984kh@yahoo.com۴. پژوهشکده کشاورزی هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، کرج، ایران. رایانامه: fmotamedi@aeoi.org.ir۵. پژوهشکده کشاورزی هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، کرج، ایران. رایانامه: pshawrang@aeoi.org.ir

چکیده

اطلاعات مقاله

هدف: شاخص دمایی-رطوبتی (THI) برای مطالعه اثر تنش گرمایی و به‌عنوان یکی از عوامل مهم در عملکرد و ناباروری شناخته می‌شود. این پژوهش به‌منظور بررسی اثرات شاخص دمایی-رطوبتی بر فراسنجه‌های جنبایی و سرعت جنبایی اسپرم گاوهای نر هلشتاین در ماه‌های مختلف و بررسی همبستگی داخلی بین این فراسنجه‌ها با یکدیگر انجام شد.

روش پژوهش: برای محاسبه شاخص دمایی-رطوبتی از داده‌های هواشناسی سازمان هواشناسی کشور استفاده شد. جمع‌آوری و ارزیابی منی در شرکت فراورده‌های دامی جاهد در شهر کرج انجام شد. در این پژوهش از سه راس گاو نر هلشتاین بالغ استفاده شد. مایع منی رقیق و سپس در پایوت‌ها بارگذاری شد و پس از سرد شدن با استفاده از فریزر قابل برنامه‌ریزی منجمد شدند. پایوت‌ها بلافاصله در نیتروژن مایع ذخیره و قبل از ارزیابی در یک حمام آب (۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت سی ثانیه) ذوب شدند. فراسنجه‌های جنبایی توسط نرم‌افزار ارزیابی اسپرم بررسی شد.

یافته‌ها: شاخص دمایی-رطوبتی در فروردین‌ماه از سایر ماه‌ها کم‌تر و در تیر از سایر ماه‌ها بیش‌تر بود. میانگین شاخص دمایی-رطوبتی در فصل بهار و تابستان به‌ترتیب ۶۴/۰۰ و ۷۰/۶۷ بود. جنبایی کل، جنبایی پیش‌رونده و جنبایی کند در اردیبهشت‌ماه از سایر ماه‌ها بیش‌تر و در مرداد از سایر ماه‌ها کم‌تر بود. از میان فراسنجه‌های سرعت جنبایی اسپرم فقط تناوب عرضی زنش (BCF) و راستی مسیر طی‌شده (STR) در ماه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری داشتند. میزان BCF در اردیبهشت‌ماه در مقایسه با سایر ماه‌ها بیش‌تر و در مردادماه در مقایسه با سایر ماه‌ها کم‌تر بود. اما، STR در تیر در مقایسه با سایر ماه‌ها بیش‌تر و در مرداد در مقایسه با سایر ماه‌ها کم‌تر بود. شاخص دمایی-رطوبتی ارتباط منفی معنی‌داری با جنبایی پیش‌رونده اسپرم داشت. در خصوص ارتباط بین فراسنجه‌های جنبایی و سرعت جنبایی اسپرم، نتایج نشان داد که همبستگی مثبت معنی‌داری بین جنبایی کل با جنبایی پیش‌رونده و با VCL وجود داشت. جنبایی پیش‌رونده نیز دارای همبستگی مثبت با VCL و BCF بود. همبستگی معنی‌دار مثبت بین فراسنجه‌هایی سرعت جنبایی اسپرم با یکدیگر مشاهده شد. همبستگی مثبت بین فراسنجه VAP با فراسنجه‌های VCL، VSL و BCF مشاهده شد. همبستگی مثبت بین فراسنجه BCF با فراسنجه‌های VCL و VAP وجود داشت.

نتیجه‌گیری: داده‌ها نشان می‌دهند که تنش گرمایی ملایم منجر به کاهش فراسنجه‌های جنبایی و فراسنجه‌های جنبایی سرعت اسپرم می‌شود. همبستگی منفی بین شاخص دمایی-رطوبتی با جنبایی پیش‌رونده اسپرم نشان‌دهنده اهمیت تنش گرمایی بر این فراسنجه مهم است. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی ارتباط بین شاخص دمایی-رطوبتی و فراسنجه‌های جنبایی اسپرم با قدرت باروری اسپرم با استفاده از مدل‌های رگرسیونی موردبررسی قرار گیرد.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۱۳

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۱/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۱/۲۳

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۴/۰۶

کلیدواژه‌ها:

اسپرم گاو نر

شاخص دمایی-رطوبتی

فراسنجه‌های جنبایی

همبستگی

استناد: رهبر، مریم؛ بهگر، مهدی؛ خوش‌نیت، رسول؛ معتمدی، فرحناز و شورنگ، پروین (۱۴۰۴). تأثیر شاخص دمایی-رطوبتی بر فراسنجه‌های جنبایی اسپرم در گاو نر هلشتاین. نشریه تولیدات دامی، ۲۷ (۲)، ۲۳۳-۲۳۳. DOI: <https://doi.org/10.22059/jap.2025.389731.623831>



۱. مقدمه

گرمایش جهانی علاوه بر تأثیر منفی بر آسایش دام منجر به کاهش عملکرد تولیدی دام‌ها می‌شود، که متعاقباً پایداری اقتصادی صنعت دامپروری را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Luís Capela *et al.*, 2022). داده‌های ثبت‌شده نیز نشان می‌دهد که طی ۳۰ سال اخیر ایران حدود ۲/۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌تر شده است. این در حالی است که میانگین افزایش دمای جهانی در این مدت مشابه حدود ۱/۵ درجه سانتی‌گراد است. اثر دمای محیطی بر تولید مثل و رفتار جنسی گونه‌های پستاندار قبلاً به‌خوبی گزارش شده است (Abdelnour *et al.*, 2021). برخی از اثرات استرس حرارتی به‌واسطه تأثیر بر سیستم تولید مثلی و مکانیزم‌های هورمونی قابل توضیح است (Korkmaz *et al.*, 2022). گزارش شده است که قرارگرفتن در معرض استرس گرمایی کوتاه‌مدت و کنترل‌شده مصنوعی باعث افزایش تعداد تنفس، دمای مقعدی و مصرف آب در گاو نر (Meyerhoeffer *et al.*, 1985)، اختلال در تولید اسپرم، کاهش زنده‌ماندن و تحرک اسپرم، و افزایش احتمال کاهش وزن بیضه و تغییر سطح تستوسترون، می‌شود (Sailer *et al.*, 1997; Alvez *et al.*, 2016).

استرس حرارتی طبیعی در قالب تغییر فصل باعث تغییرات در ترکیب لیپید و کاهش مورفولوژی طبیعی در اسپرم تازه گاو شده (Argov *et al.*, 2013) و همچنین بیان mRNA گیرنده لیپوپروتئین با چگالی بسیار پایین (VLDLr)، جنبایی، جنبایی پیشرفته و سرعت اسپرم را کاهش می‌دهد و غلظت و ترکیب اسیدهای چرب در اسپرم منجمد گاو را نیز تغییر می‌دهد (Argov *et al.*, 2012; Oral *et al.*, 2007). در مطالعه‌ای که بر گاوهای شیری انجام شد (Sabes-Alsina *et al.*, 2017)، کیفیت بالاتر اسپرم از نظر فراسنجه‌های جنبایی، یکپارچگی غشای پلاسمایی، وضعیت آکروزوم، پتانسیل غشای میتوکندری و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در نمونه‌های اسپرم جمع‌آوری‌شده در بهار نسبت به سایر فصل‌ها مشاهده شد.

به‌طور مشابهی تحقیقات نشان داده است که تغییر فصل و استرس حرارتی باعث کاهش جنبایی کل اسپرم و جنبایی پیش‌رونده؛ کاهش یکپارچی DNA، آکروزوم و غشای پلاسمایی و کاهش فعالیت میتوکندریایی در اسپرم‌های منجمد می‌شود. درحالی‌که چنین تغییراتی به این شدت در اسپرم‌های تازه دیده نشد (Residiwati *et al.*, 2020). گزارش شده است که دو هفته پس اعمال تنش گرمایی به بیضه گاوهای نر، جنبایی کلی اسپرم ۴۰ درصد کاهش می‌یابد و این اثر پس از گذشت هشت هفته از توقف تنش اعمالی بر طرف می‌گردد (Rizzoto & Kastelic, 2020).

با وجود این، مطالعه اثرات تغییر فصل بر کیفیت مایع منی گاو با نتایج متناقضی همراه بوده است که شاید به این دلیل باشد که فصل می‌تواند تأثیر متفاوتی در شرایط آب‌وهوایی متفاوت داشته باشد (Malama *et al.*, 2017; Sabés-*et al.*, 2017). به همین دلیل شاخص دمایی-رطوبتی (THI)، می‌تواند شاخصی جامع‌تر از شرایط محیطی باشد و معمولاً برای مطالعه اثر تنش گرمایی و تعیین منطقه آسایش حرارتی در گاوها استفاده می‌شود (Mader *et al.*, 2006). شاخص دمایی-رطوبتی ۶۸ مقدار آستانه راحتی را نشان می‌دهد و مقادیر بیش‌تر از ۷۵ نشان‌دهنده استرس شدید گرمایی است (Herbut & Angrecka, 2018). گزارش شده است شاخص دمایی-رطوبتی بالا (THI) به‌مدت ۱۴ تا ۲۸ روز قبل از جمع‌آوری منی به‌طور معنی‌داری باعث کاهش جنبایی کل، جنبایی پیش‌رونده و سرعت جنبایی خطی اسپرم گاو می‌شود (Seifi-Jamadi *et al.*, 2020). در همین مطالعه مقدار هیدروژن پراکسید (H_2O_2)، کروماتین‌های غیرطبیعی و اسپرم‌های غیرطبیعی با افزایش شاخص دمایی-رطوبتی افزایش و تعداد کل سلول‌ها و سلول‌های تروفودرم در بلاستوسیست‌های حاصل از لقاح این اسپرم‌ها با تخمک به‌طور معنی‌داری کاهش یافت.

علاوه بر موارد ذکرشده، استرس حرارتی در گاوهای نر می‌تواند یکی از عوامل مهم ناباروری شناخته شده است (Hansen, 2009). در تأیید این موضوع، گزارش شده است که نمونه‌های اسپرم جمع‌آوری‌شده از گاوهای نر که در دوره‌ای با استرس حرارتی بالا به‌دست آمده بودند در مقایسه با اسپرم جمع‌آوری‌شده در دوره‌ای با استرس حرارتی پایین،

زنده‌مانی کم‌تری داشتند و در مطالعات باروری در شرایط برون تنی نیز منجر به کاهش توسعه بلاستوسیست و تأخیر در تفریخ شدند (Llamas Luceno et al., 2020).

در میان صفات اندازه‌گیری شده اسپرم تحت تأثیر تنش حرارتی، فراسنجه‌های جنبایی و سرعت اسپرم به دو دلیل از اهمیت بالایی برخوردار است؛ الف- این فراسنجه‌ها توسط سیستم آنالیز اتوماتیک اسپرم (CASA) اندازه‌گیری می‌شوند و همچنین تکرارپذیری بالایی دارند و ب- می‌توانند نشانگرهای قابل اعتمادی برای تخمین باروری در گاو نر باشند زیرا ارتباط معنی‌داری بین جنبایی اسپرم و قدرت باروری گاو نر گزارش شده است (Farrell et al., 1998).

در مطالعه‌ای Nagy et al. (2015) مقایسه ارتباط بین پارامترهای مختلف سرعت جنبایی اسپرم همانند VAP, VSL, VCL و باروری اسپرم را انجام دادند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که VAP مفیدترین صفت تحرک مایع منی مرتبط با پیش‌بینی باروری است. دیگران نشان داده‌اند که VAP و VSL به مقدار ۴۲/۱ درصد از واریانس باروری در گاوهای نر شیری را تشکیل می‌دهند (Kathiravan et al., 2011). همچنین همبستگی بالایی بین فراسنجه‌های حرکتی (جنبایی کلی و جنبایی پیش‌رونده) و خصوصیات سرعتی اسپرم در منی تازه و منجمد-ذوب شده گزارش شده است (Pathak et al., 2019).

براساس اطلاعات نگارندگان، مطالعات اندکی از اثرات تغییر THI بر خصوصیات حرکتی اسپرم گاو نر و همچنین ارتباط بین این شاخص با خصوصیات حرکتی اسپرم در داخل و خارج از کشور انجام شده است. لذا هدف از انجام این پژوهش بررسی فراسنجه‌های جنبایی و سرعت جنبایی اسپرم گاوهای نر هلشتاین در ماه‌های مختلف و بررسی همبستگی داخلی بین این فراسنجه‌ها با یکدیگر و با شاخص دمایی-رطوبتی ماهیانه بود.

۲. روش پژوهش

داده‌های دما و رطوبت نسبی به‌صورت روزانه از فروردین‌ماه تا آبان‌ماه ۱۳۹۹ از سامانه درخواست داده‌های هواشناسی سازمان هواشناسی کشور (<https://data.irimo.ir/>) دانلود شد و برای محاسبه شاخص دمایی-رطوبتی (THI) استفاده شد. برای محاسبه شاخص دمایی-رطوبتی از رابطه (۱) استفاده شد (García-Ispierto et al., 2007) که در آن T دما برحسب درجه سانتی‌گراد و RH رطوبت نسبی است (درصد).

$$THI = 0.8 \times T + \left(\frac{RH}{100} \right) \times (T - 14.4) + 46.4 \quad \text{رابطه (۱)}$$

با توجه به هدف مطالعه که بررسی اثر THI بر خصوصیات حرکتی اسپرم بود، برای تجزیه و تحلیل فراسنجه‌های اسپرم داده‌های هواشناسی ۳۰ روز قبل منتهی به روز جمع‌آوری منی مورد استفاده قرار گرفت (Llamas-Luceño et al., 2020). جمع‌آوری و ارزیابی منی در سال ۱۳۹۹ به مدت شش بار در شش ماه متوالی (ابتدای اردیبهشت‌ماه تا ابتدای مهرماه) در شرکت فرآورده‌های دامی جاهد در شهر کرج با استفاده از سه راس گاو نر هلشتاین بالغ انجام شد. برای جمع‌آوری منی، گاوها راس ساعت ۰۷:۳۰ صبح به سالن مخصوص نمونه‌گیری (با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) منتقل شدند. با استفاده از یک واژن مصنوعی از پیش گرم‌شده (۴۲ درجه سانتی‌گراد) مایع منی جمع‌آوری شد. کلیه دفعات نمونه‌گیری در شرایط یکسان انجام شد و تا پایان آزمایش از همان سه گاو نر استفاده شد و برای از بین بردن اثرات فردی، غلظت اسپرم تمام مایع منی جمع‌آوری شده به‌صورت یکسان و سپس مخلوط شد. نمونه‌های مایع منی جمع‌آوری شده به سرعت جهت ارزیابی (۷۰ درصد جنبایی کل و ۶۰ درصد جنبایی پیش‌رونده) بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند و در حمام ۳۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. مایع منی در رقیق کننده‌های تهیه شده برای به‌دست آوردن غلظت 25×10^6 اسپرم در هر ۵۰۰ میکرولیتر مورد استفاده قرار گرفت و سپس در پایوت‌های پلی وینیل کلراید ۰/۵ میلی‌لیتری (Minitube) بارگذاری شد و به مدت چهار ساعت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد متعادل شدند و سپس با استفاده از فریزر قابل برنامه‌ریزی (Turbo Freezer®، مینی تیوب، آلمان، دمای چهار تا منفی پنج

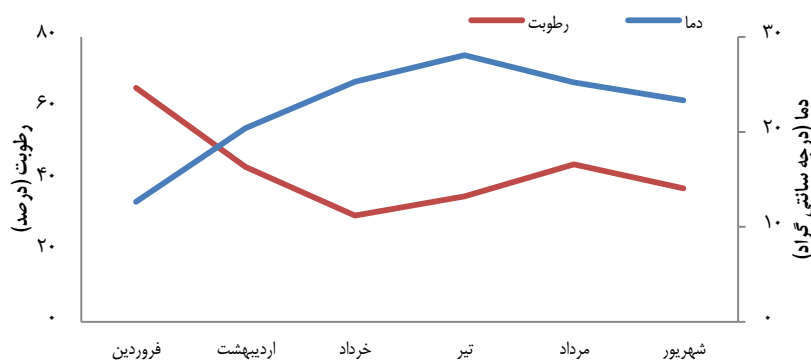
درجه سانتی‌گراد در ۱۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه، منفی پنج درجه سانتی‌گراد به مدت دو دقیقه، ۵- تا ۱۰۰- درجه سانتی‌گراد در ۴۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و ۱۰۰- تا ۱۴۰- درجه سانتی‌گراد در ۴۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه) منجمد شدند و بلافاصله در نیتروژن مایع ذخیره شدند. برای آنالیز تحرک اسپرم ابتدا پایوت‌ها از ازت مایع خارج و بلافاصله در یک حمام آب گرم (۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه) ذوب شدند.

آنالیز تحرک اسپرم توسط کامپیوتر (Minitube, Androvision®) ارزیابی شد. بدین منظور مقدار پنج میکرولیتر از نمونه ذوب‌شده روی یک لام (چهار محفظه، ارتفاع ۲۰ میکرومتر، Leja® هلند) از قبل گرم‌شده (۳۷ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد و حداقل در پنج منطقه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تعداد ۱۲ تکرار در هر زمان مورد ارزیابی قرار گرفت. حداقل ۳۰۰ اسپرم/نمونه مورد بررسی قرار گرفت. پارامترهای جنبایی اسپرم شامل جنبایی کل (MOT، درصد)، جنبایی پیش‌رونده (PMOT، درصد)، جنبایی متوسط مسیر (VAP، میکرومتر بر ثانیه)، سرعت در مسیر مستقیم (VSL، میکرومتر بر ثانیه)، سرعت در مسیر منحنی (VCL، میکرومتر بر ثانیه)، دامنه جنبایی عرضی سر (ALH، میکرومتر)، تناوب عرضی زنش (BCF، هرتز) راستی مسیر طی‌شده (STR؛ VSL/VAP، درصد) و خطی‌بودن جنبایی (LIN؛ VCL/VAP، درصد).

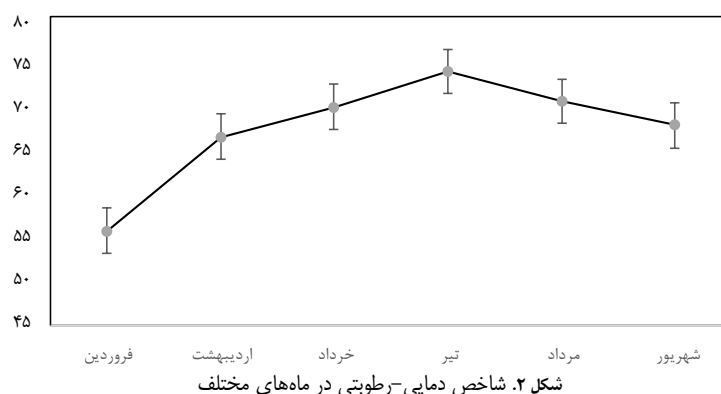
قبل از تجزیه و تحلیل آماری، همه داده‌ها برای نرمال‌بودن با استفاده از رویه UNIVARIATE در نرم‌افزار آماری SAS مورد آزمایش قرار گرفتند (SAS, 2000). برای ارزیابی خصوصیات حرکتی اسپرم‌ها از روش تی استودنت و مقایسه میانگین‌ها در ماه‌های مختلف با استفاده از روش حداقل میانگین مربعات در سطح ۰/۰۵ انجام شد. همچنین برای ارزیابی ارتباط بین فراسنجه‌های جنبایی و سرعت جنبایی اسپرم با یکدیگر و همچنین با شاخص دمایی-رطوبتی از رویه Cor استفاده شد.

۳. یافته‌های پژوهش و بحث

مقدار رطوبت نسبی و دمای محیط در شکل (۱) نشان داده شده است. دمای محیط به ترتیب در ماه‌های تیر و فروردین در مقایسه با سایر ماه‌ها بیش‌تر و کم‌تر و رطوبت نسبی به ترتیب در ماه‌های فروردین و خرداد در مقایسه با سایر ماه‌ها بیش‌تر و کم‌تر بود. مقدار شاخص دمایی-رطوبتی در ماه‌های آزمایش در شکل (۲) نشان داده شده است. مقدار شاخص دمایی-رطوبتی در تیر در مقایسه با سایر ماه‌ها بیش‌تر و در ماه فروردین در مقایسه با سایر ماه‌ها کم‌تر بود. گزارش شده است که شاخص دمایی-رطوبتی ۶۸ مقدار آستانه راحتی را نشان می‌دهد و مقادیر بیش‌تر از ۷۵ نشان‌دهنده استرس شدید گرمایی است (Herbut & Angrecka, 2018). با توجه به داده‌های به‌دست‌آمده به نظر می‌رسد که دام‌های مورد مطالعه تحت شرایط استرس حرارتی شدید نبوده و تنها در ماه‌های خرداد، تیر و مرداد تحت تنش گرمایی ملایمی قرار داشته‌اند. میانگین شاخص دمایی-رطوبتی در فصل بهار و تابستان به ترتیب ۶۴/۰۰ و ۷۰/۶۷ بود.



شکل ۱. شاخص دمایی-رطوبتی در ماه‌های مختلف



میانگین فراسنجه‌های جنبایی اسپرم در ماه‌های مختلف در جدول (۱) نشان داده شده است. تأثیر ماه‌های مختلف بر میانگین خصوصیات جنبایی اسپرم معنی‌دار بود، به‌طوری‌که جنبایی کل و جنبایی پیش‌رونده در ماه‌های اردیبهشت، خرداد و شهریور بیش‌تر از ماه‌های دیگر و در مرداد از سایر ماه‌ها کم‌تر بود ($P < 0.05$). جنبایی پیش‌رونده کُند در ماه‌های اردیبهشت و خرداد بیش‌تر از ماه‌های تیر تا مهر بود ($P < 0.05$). شاخص دمایی-رطوبتی عاملی مهم برای تعیین استرس حرارتی است و مقادیر بالای آن می‌توانند بر کیفیت اسپرم تأثیر بگذارند (Love, 2010). جنبایی کل طبیعی یک منی با کیفیت باید بیش‌تر از ۷۰ درصد باشد (Netherton *et al.*, 2022). در مطالعه حاضر جنبایی کل در تمامی ماه‌های نمونه‌گیری بیش‌تر از این مقدار بود که نشان‌دهنده کیفیت بالای اسپرم بود. در مطالعه حاضر برای محاسبه THI از داده‌های هواشناسی ۳۰ روز قبل از جمع‌آوری منی استفاده شد. لذا کاهش جنبایی کلی، جنبایی پیش‌رونده و جنبایی کند در مردادماه متناظر با بیش‌ترین THI ثبت‌شده یعنی در تیرماه بود و این دو داده تأییدکننده یکدیگرند. این یافته‌ها با مطالعه Sabés-Alsina *et al.* (2019) همخوانی دارد که نشان دادند متغیرهای کیفیت اسپرم با عوامل اقلیمی دو هفته تا یک ماه قبل از جمع‌آوری اسپرم در مقایسه با ماه جمع‌آوری اسپرم همبستگی بیش‌تری دارند. گزارش شده است در THI معادل ۸۰ در زمان اسپرماتوزن، جنبایی پیش‌رونده ۳۹ درصد پس از ذوب اسپرم در مقایسه با شرایط THI معادل ۳۰ کاهش یافت (Llamas-Luceño *et al.*, 2020). اگرچه در مطالعه حاضر دام‌ها تحت تنش شدید حرارتی نبودند، با وجود این کاهش جنبایی کل، جنبایی پیش‌رونده و جنبایی پیش‌رونده کند بین ماه‌های اردیبهشت و مرداد به‌ترتیب ۱۱/۹۲، ۱۵/۹۲ و ۱۵/۷۲ درصد بود که با وجود معنی‌داری بسیار کم‌تر از مطالعه قبل بود، که دلیل آن کم‌تر بودن تنش حرارتی بود.

جنبایی پیش‌رونده به‌عنوان یکی از فراسنجه‌های با اهمیت در ارتباط با باروری در گاو نر شناخته شده است (Farrell *et al.*, 1998). جنبایی پیش‌رونده به دو گروه سریع و کُند تقسیم می‌شود. اگرچه جنبایی سریع پیش‌رونده اسپرم به‌طور کلی به‌عنوان معتبرترین معیار حرکت اسپرم برای پیش‌بینی ظرفیت باروری یک نمونه اسپرم در نظر گرفته می‌شود (Brinsko *et al.*, 2011). با وجود این در مطالعه حاضر فقط جنبایی کند در ماه‌های متفاوت با یکدیگر تفاوت معنی‌دار داشتند.

جدول ۱. میانگین فراسنجه‌های جنبایی اسپرم (درصد) در ماه‌های مختلف

SEM	p	زمان نمونه‌گیری						فراسنجه
		مهر	شهریور	مرداد	تیر	خرداد	اردیبهشت	
۰/۴۸	<۰/۰۱	۸۷/۹۵ ^b	۹۲/۶۹ ^a	۸۲/۹۹ ^c	۸۵/۹۴ ^b	۹۲/۰۰ ^a	۹۴/۹۱ ^a	جنبایی کلی
۰/۶۶	<۰/۰۱	۸۳/۰۳ ^{cb}	۸۷/۸۴ ^{ab}	۷۶/۶۳ ^d	۸۰/۸۵ ^{cd}	۸۷/۷۹ ^{ab}	۹۲/۵۵ ^e	جنبایی پیش‌رونده
۱/۳۷	۰/۷۲	۴۲/۸۴	۴۲/۴۷	۳۸/۲۳	۳۶/۹۰	۳۷/۶۵	۳۸/۶۵	جنبایی پیش‌رونده سریع
۱/۰۳	<۰/۰۱	۳۹/۷۰ ^c	۴۴/۹۲ ^{cb}	۳۷/۹۸ ^c	۴۳/۶۱ ^{cb}	۴۹/۶۵ ^{ab}	۵۳/۷۰ ^a	جنبایی پیش‌رونده کند

a-c: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ردیف معنی‌دار است ($P < 0.05$). SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

میانگین فراسنجه‌های سرعت جنبایی اسپرم در ماه‌های مختلف در جدول (۲) نشان داده شده است. از میان فراسنجه‌های سرعت جنبایی اسپرم فقط BCF و STR در ماه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری داشتند. تناوب عرضی زنش در اردیبهشت‌ماه بیش‌ترین مقدار (۱۶/۹۳) و در مردادماه کم‌ترین مقدار (۱۳/۷۱) بود ($P < 0.05$). سرعت در مسیر مستقیم در تیرماه بیش‌ترین مقدار (۰/۸۸) و در مردادماه کم‌ترین (۰/۸۵) مقدار بود ($P < 0.05$). گزارش شده است که افزایش تعداد روزهایی که گاوها در معرض THI بیش‌تر از ۷۴ قبل از جمع‌آوری اسپرم باشند، باعث ایجاد اثرات منفی بیش‌تری بر کینتیک سلول‌های اسپرم پس از انجماد و یخ‌گشایی می‌شود (Pavin et al., 2022). در مطالعه حاضر نیز حداکثر THI تقریباً ۷۴ بود که نتایج این پژوهش‌گران را تأیید می‌کند.

جدول ۲. میانگین فراسنجه‌های سرعت جنبایی اسپرم در ماه‌های مختلف

SEM	p	زمان نمونه‌گیری						فراسنجه
		مهر	شهریور	مرداد	تیر	خرداد	اردیبهشت	
۲/۳۷	۰/۸۶	۱۱۵/۳۳	۱۱۷/۷۴	۱۰۸/۴۳	۱۱۳/۰۰	۱۱۳/۲۶	۱۱۷/۰۲	VCL (میکرون/ثانیه)
۰/۷۱	۰/۱۱	۵۲/۹۶	۵۳/۷۹	۴۸/۳۸	۵۵/۰۲	۵۳/۹۲	۵۴/۸۱	VSL (میکرون/ثانیه)
۰/۹۱	۰/۳۸	۶۱/۸۱	۶۲/۷۰	۵۷/۲۰	۶۲/۹۴	۶۲/۱۹	۶۳/۸۱	VAP (میکرون/ثانیه)
۰/۱۵	< ۰/۰۱	۱۴/۹۰ ^c	۱۵/۹۶ ^{abc}	۱۳/۷۱ ^d	۱۶/۲۰ ^{ab}	۱۵/۷۸ ^{bc}	۱۶/۹۳ ^a	BCF (هرتز)
۰/۰۳	۰/۳۲	۱/۳۲	۱/۲۹	۱/۲۵	۱/۱۸	۱/۲۱	۱/۱۵	ALH میکرون
< ۰/۰۱	۰/۰۴	۰/۸۶ ^{bc}	۰/۸۶ ^{abc}	۰/۸۵ ^c	۰/۸۸ ^a	۰/۸۷ ^{ab}	۰/۸۶ ^{bc}	STR (میکرون/ثانیه)
< ۰/۰۱	۰/۲۳	۰/۴۶	۰/۴۶	۰/۴۵	۰/۴۹	۰/۴۸	۰/۴۷	LIN (درصد)

جنبایی کل (MOT، درصد)، جنبایی پیش‌رونده (PMOT، درصد)، جنبایی متوسط مسیر (VAP، میکرومتر بر ثانیه)، سرعت در مسیر مستقیم (VSL، میکرومتر بر ثانیه)، سرعت در مسیر منحنی (VCL، میکرومتر بر ثانیه)، دامنه جنبایی عرضی سر (ALH، میکرومتر)، تناوب عرضی زنش (BCF، هرتز) راستی مسیر طی شده (STR؛ VSL/VAP) درصد) و خطی بودن جنبایی (LIN؛ VCL/VAP) درصد).
a-c: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ردیف معنی‌دار است ($P < 0.05$). SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

علاوه بر فراسنجه‌های جنبایی، فراسنجه‌های جنبایی سرعت اسپرم به‌طور معنی‌داری با باروری گاوها مرتبط است (Kjaestad et al., 1993). گزارش شده است که VAP مفیدترین فراسنجه سرعت جنبایی مایع منی مرتبط با پیش‌بینی باروری است (Nagy et al., 2015). دیگران نشان داده‌اند که VAP و VSL، ۴۲/۱ درصد از واریانس باروری در گاوهایی نر شیری را تشکیل می‌دهند (Kathiravan et al., 2011). در مطالعه حاضر فقط BCF و STR تحت تأثیر تنش گرمایی قرار گرفتند. گزارش شده است BCF و STR همراه با VAP و VSL ضریب رگرسیونی ۰/۹۷ با صفت باروری در گاوها ایجاد می‌کنند (Farrell et al., 1998). مقادیر بالای BCF نشان‌دهنده الگوی منظم حرکت اسپرم‌ها و نشانه خوبی از کیفیت اسپرم‌هاست، درحالی‌که مقادیر بالای STR نشانه الگوی خوب شنا در حرکت اسپرم تلقی می‌شود (Ratnawati et al., 2021). گزارش شده است که اسپرم‌های دارای مقادیر بالای BCF توانایی بهتری در باروری تخمک دارند و همبستگی مثبت این فراسنجه با باروری گاوها نیز گزارش شده است (Hoflack et al., 2007). لذا کاهش فراسنجه‌های BCF و STR با افزایش شاخص دمایی-رطوبتی می‌تواند باعث کاهش باروری گردد.

همبستگی بین شاخص دمایی-رطوبتی، فراسنجه‌های جنبایی و سرعت جنبایی اسپرم در جدول (۳) نشان داده شده است. از میان کلیه فراسنجه‌های موردبررسی، شاخص دمایی-رطوبتی فقط ارتباط منفی معنی‌داری ($P < 0.05$) با جنبایی پیش‌رونده (۰/۸۲-) اسپرم داشت. این نتیجه مشابه با سایر مطالعات است (Llamas-Luceño et al., 2020; Korkmaz et al., 2022) که نشان دادند بین جنبایی پیش‌رونده و شاخص دمایی-رطوبتی همبستگی منفی وجود دارد. اسپرم‌هایی که پیش‌رونده هستند، به‌عنوان اسپرم‌هایی در نظر گرفته می‌شوند که در حرکتی نسبتاً مستقیم به جلو حرکت می‌کنند و فرض بر این است که باروری بیش‌تری دارند (Love, 2010). در مطالعه‌ای (Farrell et al., 1998) با استفاده از مدل‌های

چند متغیره شامل جنبایی پیش‌رونده به‌عنوان یکی از متغیرها، ارتباط ۸۹ درصدی باروری در گاو نر را با این متغیر در تجزیه رگرسیونی نشان دادند. همبستگی معنی‌داری بین شاخص دمایی-رطوبتی با هیچ از فراسنجه‌های سرعت جنبایی اسپرم مشاهده نشد. این نتیجه به‌طور جالب توجهی با مطالعه Korkmaz et al. (2023) همخوانی دارد.

جدول ۳. همبستگی بین شاخص دمایی-رطوبتی، فراسنجه‌های جنبایی و سرعت جنبایی اسپرم

فراسنجه	شاخص دمایی-رطوبتی	جنبایی کل	جنبایی پیش‌رونده	VCL	VSL	VAP	BCF	ALH	STR	LIN
شاخص دمایی-رطوبتی	۱/۰۰	-۰/۷۶	-۰/۸۲*	-۰/۵۸	-۰/۵۸	-۰/۶۶	-۰/۷۳	-۰/۵۸	-۰/۰۷	-۰/۳۷
جنبایی کل	-۰/۷۶	۱/۰۰	۰/۹۹*	-۰/۸۴*	۰/۶۸	۰/۷۶	۰/۷۸	-۰/۲۶	-۰/۰۹	۰/۲۰
جنبایی پیش‌رونده	-۰/۸۲*	۰/۹۹*	۱/۰۰	-۰/۸۲*	۰/۷۰	۰/۷۸	۰/۸۱*	-۰/۳۳	-۰/۱۱	۰/۲۴
VCL	-۰/۵۸	-۰/۸۴*	۰/۸۲*	۱/۰۰	۰/۷۵	۰/۸۵*	۰/۷۵	۰/۰۵	-۰/۱۵	-۰/۱۴
VSL	-۰/۵۸	۰/۶۸	۰/۷۰	۰/۷۵	۱/۰۰	۰/۹۲*	۰/۷۳	-۰/۳۹	-۰/۷۳	۰/۷۵
VAP	-۰/۶۶	۰/۷۶	۰/۷۸	-۰/۸۵*	۰/۹۹*	۱/۰۰	-۰/۹۴*	-۰/۳۴	-۰/۶۰	۰/۶۳
BCF	-۰/۷۳	۰/۷۸	۰/۸۱*	۰/۷۵	۰/۹۴*	۱/۰۰	-۰/۵۹	-۰/۵۷	۰/۶۶	۰/۶۶
ALH	۰/۵۸	-۰/۲۶	-۰/۳۳	-۰/۰۵	-۰/۳۹	-۰/۳۴	-۰/۵۹	۱/۰۰	-۰/۴۴	-۰/۶۴
STR	-۰/۰۷	-۰/۰۹	۰/۱۱	۰/۱۵	۰/۷۳	۰/۶۱	۰/۵۷	-۰/۴۳	۱/۰۰	۰/۹۷*
LIN	-۰/۳۷	۰/۲۰	۰/۲۴	-۰/۱۴	۰/۷۵	۰/۶۳	۰/۶۶	-۰/۶۳	۰/۹۷*	۱/۰۰

جنبایی کل (MOT درصد)، جنبایی پیش‌رونده (PMOT درصد)، جنبایی متوسط مسیر (VAP میکرومتر بر ثانیه)، سرعت در مسیر مستقیم (VSL میکرومتر بر ثانیه)، سرعت در مسیر منحنی (VCL میکرومتر بر ثانیه)، دامنه جنبایی عرضی سر (ALH میکرومتر)، تناوب عرضی زنش (BCF هرتز) راستی مسیر طی شده، (VAP: VSL/STR درصد) و خطی بودن جنبایی (VAP: VCL/LIN درصد).
* سطح احتمال $P < 0.05$

در خصوص ارتباط بین فراسنجه‌های جنبایی و سرعت جنبایی اسپرم، نتایج نشان داد که همبستگی مثبت معنی‌داری بین جنبایی کل با جنبایی پیش‌رونده و با VCL به‌ترتیب به مقدار ۰/۹۹ و ۰/۸۴ وجود داشت ($P < 0.05$). جنبایی پیش‌رونده نیز دارای همبستگی مثبت با VCL (۰/۸۲) و BCF (۰/۸۱) بود ($P < 0.05$). نتایج مطالعه حاضر در خصوص همبستگی معنی‌دار بین جنبایی کل با جنبایی پیش‌رونده و VCL با نتایج سایر پژوهش‌گران Korkmaz et al. (2023) و Patel & Dhama (2013) که همبستگی مثبت بین جنبایی کل با جنبایی پیش‌رونده را به‌ترتیب به مقدار ۰/۸۱ و ۰/۷۵ گزارش کردند، همخوانی دارد. مشاهده همبستگی مثبت بین جنبایی کل و VCL نیز نتایج Pathak et al. (2019) را که همبستگی مثبت معنی‌دار ۰/۶۲ بین این دو فراسنجه را نشان دادند، تأیید می‌کند. نتایج مطالعه حاضر گزارش‌ها مبنی بر همبستگی مثبت قوی بین جنبایی پیش‌رونده با VCL و BCF را تأیید می‌کند (Pathak et al., 2019; Perumal et al., 2014). همچنین، اگرچه ارتباط مثبت بین جنبایی پیش‌رونده با VCL در گزارش‌های Patel & Dhama (2013) و Korkmaz et al. (2023) یافت نشد با وجود این در همین مطالعات همبستگی مثبت معنی‌دار بین جنبایی پیش‌رونده و BCF یافت شد.

در مطالعه حاضر ارتباط معنی‌دار مثبت بین فراسنجه‌هایی سرعت جنبایی اسپرم با یکدیگر مشاهده شد. همبستگی مثبت معنی‌دار بین فراسنجه VAP با فراسنجه‌های VCL، VSL و BCF به‌ترتیب به مقدار (۰/۸۵، ۰/۹۹ و ۰/۹۴) مشاهده شد ($P < 0.05$). این نتایج گزارش‌های سایر پژوهش‌گران را تأیید می‌کند (Pathak et al., 2019; Korkmaz et al., 2023). همبستگی مثبت بین فراسنجه BCF با فراسنجه‌های VCL و VAP مشاهده شد ($P < 0.05$). این یافته تأییدکننده نتایج سایرین است که به‌ترتیب همبستگی مثبت قوی بین این فراسنجه‌ها در اسپرم‌های تازه و منجمدشده گاو و همچنین در اسپرم منجمدشده دو گونه مختلف گاومیش گزارش نمودند (Pathak et al., 2019; Perumal et al., 2014). با وجود این در تضاد با این یافته هیچ ارتباط معنی‌داری بین این فراسنجه‌ها در سایر مطالعات یافت نشد (Khan et al., 2017; Patel & Dhama, 2013). همچنین همبستگی مثبت معنی‌دار ($P < 0.05$) بین دو فراسنجه Lin و STR به‌ترتیب به مقدار ۰/۹۷ مشاهده شد. به‌طور مشابهی همبستگی قوی مثبت بین این دو فراسنجه در سایر مطالعات نیز یافت شد (Pathak et al., 2019; Khan et al., 2017; Perumal et al., 2014; Korkmaz et al., 2023).

۴. نتیجه‌گیری

داده‌ها نشان می‌دهند که تنش گرمایی ملایم منجر به کاهش فراسنجه‌های جنبایی و فراسنجه‌های جنبایی سرعت اسپرم می‌شود. همبستگی منفی بین شاخص دمایی-رطوبتی با جنبایی پیش‌رونده اسپرم نشان‌دهنده اهمیت تنش گرمایی بر این فراسنجه مهم است. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی ارتباط بین شاخص دمایی-رطوبتی و فراسنجه‌های جنبایی اسپرم با قدرت باروری اسپرم با استفاده از مدل‌های رگرسیونی موردبررسی قرار گیرند.

۵. ملاحظات اخلاقی

نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این پژوهش علمی رعایت نموده‌اند.

۶. مشارکت نویسندگان

مریم رهبر: طراحی پژوهش، نظارت بر مراحل اجرای پژوهش انجام آزمایش و گردآوری داده‌ها، مطالعه و بازبینی مقاله؛
مهدی بهگر: طراحی پژوهش، نظارت بر مراحل اجرای پژوهش، انجام محاسبات، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، تهیه پیش‌نویس مقاله؛

رسول خوش‌نیت: نظارت بر مراحل اجرای پژوهش؛

فرحناز معتمدی: انجام آزمایش و گردآوری داده‌ها، مطالعه و بازبینی مقاله؛

پروین شورنگ: انجام آزمایش و گردآوری داده‌ها، مطالعه و بازبینی مقاله.

۷. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۸. حامی مالی

این پژوهش با حمایت مالی پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای و شرکت نهاده‌های دامی جاهد انجام شده است.

۹. تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی و فناوری پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای به‌خاطر حمایت مالی در اجرای پژوهش حاضر، و همچنین از مدیریت محترم شرکت نهاده‌های دامی جاهد به‌خاطر همکاری در اجرای پژوهش حاضر و در اختیار قراردادن نمونه‌ها و امکانات آزمایشگاهی، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۱۰. منابع

- Abdelnour, S. A., Al-Gabri, N. A., Hashem, N. M., & GonzalezBulnes, A. (2021). Supplementation with Proline improves Haemato-biochemical and reproductive indicators in male rabbits affected by environmental heat-stress. *Animals*, 11, 373. <https://doi.org/10.3390/ani11020373>
- Alves, M. B., Andrade, A. F., Arruda, R. P., Batissaco, L., FlorezRodriguez, S. A., Oliveira, B. M., Torres, M. A., Lanconi, R., Ravagnani, G. M., Prado Filho, R. R., Vellone, V. S., Losano, J. D., Franci, C. R., Nichi, M., & Celeghini, E. C. (2016). Recovery of normal testicular temperature after scrotal heat stress in rams assessed by infrared thermography and its effects on seminal characteristics and testosterone blood serum concentration. *Theriogenology*, 86, 795-805.e2. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.02.034>

- Argov, N., Sklan, D., Zeron, Y., & Roth, Z. (2007). Association between seasonal changes in fatty-acid composition, expression of VLDL receptor and bovine sperm quality. *Theriogenology*, 67, 878e85. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.10.018>
- Argov-Argaman, N., Mahgrefthe, K., Zeron, Y., & Roth, Z. (2013). Season-induced variation in lipid composition is associated with semen quality in Holstein bulls. *Reproduction*, 145, 479e89. <https://doi.org/10.1530/REP-12-0498>
- Brinko, S. P., Blanchard, T. L., Varner, D. D., Schumacher, J., Love, C. C., Hinrichs, K., & Hartman, D. L. (2011). Examination of the Stallion for Breeding Soundness. In *Manual of Equine Reproduction*, 3rd ed.; Elsevier: St. Louis, MO, USA, pp. 176-206. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-06482-8.00022-3>
- Capela, L., Leites, I., Romão, R., Lopes-da-Costa, L., & Pereira, R. M. L. N. (2022). Impact of Heat Stress on Bovine Sperm Quality and Competence. *Animals* (Basel), 12, 975. doi: 10.3390/ani12080975.
- Farrell, P. B., Presicce, G. A., Brockett, C. C., & Foote, R. H. (1998). Quantification of bull sperm characteristics measured by computer-assisted sperm analysis (CASA) and the relationship to fertility. *Theriogenology*, 49, 871-9. doi:10.1016/S0093-691X(98)00036-3
- García-Ispuerto, I., López-Gatius, F., Bech-Sabat, G., Santolaria, P., Yániz, J.L., Nogareda, C., De Rensis, F., & López-Béjar, M. (2007). Climate factors affecting conception rate of high producing dairy cows in northeastern Spain. *Theriogenology*, 67, 1379-1385. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.02.009>
- Hansen, P. J. (2009). Effects of heat stress on mammalian reproduction. *Philosophical Transactions of the royal Society B*, 364, 3341-3350. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0131>
- Herbut, P., & Angrecka, S. (2018). Relationship between THI level and dairy cows' behaviour during summer period. *International Journal of Animal Science*, 17, 226-233. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1333892>
- Hoflack, G., Opsomer, G., Rijsselaere, T., Soom, A.V., Maes, D., Kruif, A.D., & Duchateau, L. (2007). Comparison of computer-assisted sperm motility analysis parameters in semen from belgian blue and holstein-friesian bulls. *Reproduction in Domestic Animals*, 42, 153-61. doi:10.1111/j.1439-0531.2006.00745.x
- Kathiravan, P., Kalatharan, J., Karthikeya, G., Rengarajan, K., & Kadirvel, G. (2011). Objective sperm motion analysis to assess dairy bull fertility using computer-aided system—A review. *Reproduction in Domestic Animals*, 46, 165-172. doi:10.1111/j.1439-0531.2010.01603.x
- Khan, M., Sinha, P., Hazarika, S. B., & Perumal, P. (2017). Study on sperm motility and velocity parameters of freshly collected mithun semen through computer-assisted sperm analyser (CASA). *Indian Journal of Animal Sciences*, 87, 293-296.
- Kjaestad, H., Ropstad, E., & Berg, K. A. (1993). Evaluation of spermatological parameters used to predict the fertility of frozen bull semen. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 34, 299-303. doi:10.1186/BF03548194
- Korkmaz, F., Baştan, I., Şahin, D., Şimşek, S., Kaya, U., & Satılmış, M. (2023). Reaction time as a libido indicator and its relation to pre-freeze and post-thaw sperm quality in bulls. *Reproduction in Domestic Animals*, 58, 965-971. doi: 10.1111/rda.14374
- Llamas Luceno, N., de Souza Ramos Angrimani, D., de Cássia Bicudo, L., Szymańska-Vandendriessche, K., Van Poucke, M., Demeyere, K., Peelman, L., Mullaart, E., Broekhuijse, M. L. W. J., & Van Soom, A. (2020). Exposing dairy bulls to high temperature-humidity index during spermatogenesis compromises subsequent embryo development in vitro. *Theriogenology*, 141, 16-25. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.08.034>
- Llamas-Luceño, N., Hostens, M., Mullaart, E., Broekhuijse, M., Lonergan, P., & Soom, A. V. (2020). High temperature-humidity index compromises sperm quality and fertility of Holstein bulls in temperate climates. *Journal of Dairy Science*, 103, 9502-9514. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-18089>
- Love, C.C. (2010). Sperm quality assays: How good are they? The horse perspective. *Animal Reproduction Science*, <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.04.077>
- Mader, T. L., Davis, M. S. & Brown-Brandl, T. (2006). Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 84, 712-719. <https://doi.org/10.2527/2006.843712x>
- Malama, E., Zeron, Y., Janett, F., Siuda, M., Roth, Z., & Bollwein, H. (2017). Use of computer-assisted sperm analysis and flow cytometry to detect seasonal variations of bovine semen quality. *Theriogenology*, 87, 79-90. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.08.002>

- Meyerhoeffter, D. C., Wettemann, R. P., Coleman, S. W., & Wells, M. E. (1985). Reproductive criteria of beef bulls during and after exposure to increased ambient temperature. *Journal of Animal Science*, 60, 352-357. <https://doi.org/10.2527/jas1985.602352x>
- Nagy, A., Polichronopoulos, T., Gaspard, A., Solti, L., & Cseh, S. (2015). Correlation between bull fertility and sperm cell velocity parameters generated by computer-assisted semen analysis. *Acta Veterinaria Hungarica*, 63, 370-81. [doi:10.1556/004.2015.035](https://doi.org/10.1556/004.2015.035)
- Netherton, J. K., Robinson, B. R., Ogle, R. A., Gunn, A., Villaverde, A. I. S. B., Colyvaz, K., Wise, C., Russo, T., Dowdell, A., & Baker, M. A. (2022). Seasonal variation in bull semen quality demonstrates there are heat-sensitive and heat-tolerant bulls. *Scientific Reports*, 12, 15322. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-17708-9>
- Orgal, S., Zeron, Y., Elior, N., Biran, D., Friedman, E., Druker, S., & Roth, Z. (2012). Season-induced changes in bovine sperm motility following a freeze-thaw procedure. *Journal of Reproduction and Development*, 58, 212e8. <https://doi.org/10.1262/jrd.10-149N>
- Patel, J. B., & Dhama, A. J. (2013). Computer assisted sperm analysis of fresh and frozen-thawed HF x Kankrej (F1) bulls semen and their interrelationship. *Indian Journal of Animal Research*, 47, 315-320.
- Pathak, P. K., Dhama, A. J., & Chaudhari, D. V. (2019). Correlations of Motion Characteristics and Kinematic Attributes of Fresh and Frozen-thawed Spermatozoa of Gir Bulls. *Indian Journal of Veterinary Sciences and Biotechnology*, 15, 9-13. <https://acspublisher.com/journals/index.php/ijvsbt/article/view/2492>
- Pavin, C. I. I. U. M. (2022). Bulls Exposure to High Temperature-Humidity Index Correlates with Impaired Kinetics of Bovine Spermatozoa. Abstracts-35th Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE). *Animal Reproduction*, 19(2 spe), e22122.
- Perumal, P., Srivastava, S. K., Ghosh, S. K., & Baruah, K. K. (2014). Computer-Assisted Sperm Analysis of Freezable and Nonfreezable Mithun (*Bos frontalis*) Semen. *Journal of Animals*, 3, 1-6. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/675031>
- Ratnawati, D., Luthfi, M., Firdaus, F., & Affandh, L. (2021). Sperms motility of Ongole Crossbreed (OC) Bull at various age. *IOP Conf. Ser. Earth and Environmental Science*, 788 012131. [Doi:10.1088/1755-1315/788/1/012131](https://doi.org/10.1088/1755-1315/788/1/012131)
- Residiwati, G., Tuska, H. S. A., Budiono, Kawai, G. K. V., Seifi-Jamadi, A., Santoro, D., Leemans, B., Boccart, C., Pascottini, O. B., Opsomer, G., & Van Soom A. (2020). Practical methods to assess the effects of heat stress on the quality of frozen-thawed Belgian Blue semen in field conditions. *Animal Reproduction Science*, 221, 106572. [doi: 10.1016/j.anireprosci.2020.106572](https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106572)
- Rizzoto, G., & Kastelic, J. P. (2020). A new paradigm regarding testicular thermoregulation in ruminants? *Theriogenology*, 147, 166-175. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.11.019>
- Sabés-Alsina, M., Johannisson, A., Lundeheim, N., Lopez-Bejar, M., & Morrell, J.M. (2017). Effects of season on bull sperm quality in thawed samples in northern Spain. *Veterinary Record*, 180, 251. <https://doi.org/10.1136/vr.103897>
- Sabés-Alsina, M., Lundeheim, N., Johannisson, A., López-Béjar, M., & Morrell, J. M. (2019). Relationships between climate and sperm quality in dairy bull semen: A retrospective analysis. *Journal of Dairy Science*, 102, 5623-5633. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15837>
- Sailer, B. L., Sarkar, L.J., Bjordahl, J. A., Jost, L.K., & Evenson, D. P. (1997). Effects of heat stress on mouse testicular cells and sperm chromatin structure. *Journal of Andrology*, 18, 294-301. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.1997.tb01922.x>
- SAS User's Guide: Statistics, Version 9.0 Edition. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Seifi-Jamadi, A., Zhandi, M., Kohram, H., Luceño, N.L., Leemans, B., Henrotte, E., Latour, C., Demeyere, K., Meyer, E., & Van Soom, A. (2020). Influence of seasonal differences on semen quality and subsequent embryo development of Belgian Blue bulls. *Theriogenology*, 158, 8-17. [doi: 10.1016/j.theriogenology.2020.08.037](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.08.037)