







ISSN -

## فصلنامه فیزیولوژی و تکوین جانوری علمی- پژوهشی

شماره پیاپی ۴۴

جلد ۱۲، شماره ۱، زمستان ۹۷

صاحب امتیاز: دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان

مدیر مسئول: مهدی رهنما

سردبیر: مریم شمس لاهیجانی

اعضاء هیئت تحریریه (به ترتیب حرف الفبا):

بهروز ابطحی: دانشگاه شهید بهشتی دانشیار فیزیولوژی ماهیان

جواد بهار آرا: دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد استاد تکوین جانوری

محمد رضا بیگدلی: دانشگاه شهید بهشتی دانشیار فیزیولوژی پزشکی

زهرا دیلمی خیابانی: دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان استادیار زیست سلولی

مهدی رهنما: دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان دانشیار فیزیولوژی جانوری

شهربانو عریان: دانشگاه خوارزمی تهران استاد فیزیولوژی جانوری

مریم شمس لاهیجانی: دانشگاه شهید بهشتی تهران استاد جنین شناسی و تکوین

جانوری

محمد مرادی: دانشگاه زنجان استاد زیست شناسی جانوری

مختار مختاری: دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون استاد فیزیولوژی جانوری

هیات اجرایی:

مدیر داخلی: دکتر شهرزاد نصیری سمنانی

ویراستار علمی: دکتر احمد مجد

ویراستار انگلیسی: دکتر سعید آریان

ویراستار ادبی: دکتر تورج عقدایی

ویراستار استنادی: دکتر حامد علیزاده

کارشناس مجله: دکتر آرش شمس

ناشر: انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان

مسئول نمایه سازی: دکتر آرش شمس

طراحی و صفحه آرایی: حسن بابایی

نشانی: زنجان، اعتمادیه، خیابان معلم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، دفتر مجله فیزیولوژی و تکوین جانوری

صندوق پستی: ۴۵۱۹۵-۱۴۶۴

تلفاکس: ۰۲۴-۳۳۴۶۵۸۹۰

آدرس پست الکترونیکی: qjaphd@iauz.ac.ir

آدرس وب سایت: Qjaphd.sinaweb.net

قیمت: ۸۰۰۰۰ ریال

نقل مطالب با ذکر ماخذ بلامانع است

مقالات این فصلنامه در پایگاه استنادی علوم جهان اسلام (ISC)، مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی (SID) و بانک اطلاعات نشریات کشور (Magiran) نمایه می گردد.

براساس نامه شماره (۹۲/۱۰/۲۲-۳/۱۸/۵۳۷۱۱۳) وزارت علوم تحقیقات و فناوری، به این فصلنامه رتبه علمی

پژوهشی اعطا گردیده است.

## راهنمای تنظیم و تدوین مقاله در فصل نامه فیزیولوژی و تکوین جانوری

### دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان

مقاله‌های پژوهشی در زمینه‌های مختلف مرتبط با فیزیولوژی و تکوین جانوری منوط به این که دارای نوآوری بوده و تاکنون متن کامل آن در سایر مجلات به چاپ نرسیده باشند، برای چاپ پذیرفته می‌شوند.

#### نحوه پذیرش مقاله

الف- مقاله به زبان فارسی و چکیده آن به زبان انگلیسی تدوین شود.

ب- مطالب هر مقاله به صورت زیر تنظیم شود:

**عنوان مقاله** می‌بایست کوتاه و بیان گر محتوای مقاله و حداکثر در ۲۰ کلمه تنظیم شده باشد.

**اسامی نویسندگان** در زیر عنوان مقاله آورده شود. نشانی کامل محل کار نویسندگان، با ذکر شماره در زیر اسامی نویسندگان در صفحه اول آورده شود. لازم است که نشانی پست الکترونیکی نویسنده مسئول مکاتبات به طور کامل ذکر شود. اسم نویسنده مسئول **Bold** و زیر آن خط دار باشد.

**چکیده مقاله** به زبان فارسی و انگلیسی باید مجموعه‌ای فشرده و گویا از مقاله با تاکید بر زمینه و هدف، روش کار، یافته‌ها و نتیجه گیری به دست آمده باشد و از ۲۵۰ کلمه (حدود ۲۰ سطر) بیشتر نباشد.

**واژه‌های کلیدی** در انتهای چکیده مقاله متناسب با متن مقاله به تعداد ۳ الی ۵ واژه آورده شود.

**مقدمه** با طرح مساله و بیان پژوهش‌های انجام شده، لزوم انجام پژوهش را توجیه نماید.

**مواد و روش‌ها** شیوه اجرای پژوهش و نحوه پردازش آماری داده‌ها در این بخش ارائه گردد.

**نتایج** در این بخش از توضیحات مختصری استفاده شود و آنالیز آماری آن‌ها به صورت متن، شکل، نمودار و یا جدول ارائه شود. نتایج به یک شیوه ارائه گردد. شکل‌ها، نمودارها و جدول‌ها باید گویا و دارای شماره باشند و مشخصات آماری و اطلاعات لازم از قبیل نام محورها، مقیاس و راهنمای نمودار روی آن‌ها مشخص باشد.

**عنوان جدول‌ها** در بالا و توضیح شکل‌ها و نمودارها در زیر آن‌ها به فارسی نوشته شود. اصل نمودارها به صورت دو بعدی بدون حاشیه و تزیینات اضافی تنظیم شود و ابعاد آن‌ها از ۸×۱۲ سانتی متر بزرگ‌تر نباشد. عکس‌ها به صورت فایل‌های مجزا و با کیفیت مناسب جهت چاپ با نام‌های مشخص روی **CD** ضبط و به دفتر مجله ارسال شود.

عکس‌ها باید دقیق و روشن و به نحوی تهیه شوند که از نظر فنی چاپ آن‌ها با کیفیت مطلوب در مجله مقدر باشد. عکس‌ها و تصاویر باید دارای شماره گذاری متوالی بوده و ترتیب آن‌ها بر اساس ارجاع به آن‌ها در متن باشد.

ابعاد عکس‌های ارائه شده باید در یک اندازه و از ۸×۱۲ سانتی متر بزرگ‌تر نباشد. در پشت اصل عکس، عنوان مقاله و نویسنده و شماره عکس ذکر گردد. عکس‌ها باید اصل بوده و از ارسال فتوکپی و عکس‌های با کیفیت پایین خودداری و محل دقیق عکس‌ها در متن مشخص شود. بهتر است به صورت یک فایل جداگانه **jpg** تهیه شود.

**بحث و نتیجه گیری** با توجه به هدف تحقیق و مقایسه با یافته‌های سایر پژوهش‌ها، تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده انجام شود.

#### تشکر و قدردانی (در صورت لزوم)

**منابع** به صورت الفبایی (نام خانوادگی اولین مولف) تنظیم گردد و شماره هر مورد در متن داخل پرانتز آورده شود (مقاله) در نوشتن منابع، در صورت استفاده از منابع فارسی ابتدا این منابع و سپس منابع خارجی آورده شود.

**مقاله:** نام خانوادگی و نام نویسنده (نویسندگان)، تاریخ انتشار، عنوان مقاله، نام اختصاری مجله، شماره و دوره مجله، صفحات اول و آخر مقاله استفاده شده.

#### نمونه فارسی:

۱- پورغلام، ر.، اسماعیلی، ف.، فرهومند، ه.، سلطانی، م.، یوسفی، پ.، مهرداد، ح. ۱۳۸۰. بررسی مشخصه های خونی ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharygondon idella*) بعد از تماس با سم ارگانوفسفره دیازینون. مجله علمی شیلات ایران. سال سوم. شماره ۲. ص ۱۸-۱.

#### نمونه انگلیسی:

1. Frieman, S.G., Pearce, F.J. (1982). The role of blood glucose in defense of plasma volume during hemorrhage. *J Trauma*, 22 (3);86-92.

**کتاب:** نام خانوادگی و حروف اول نام نویسنده یا نویسندگان. عنوان کتاب. شماره چاپ. شهر محل چاپ: ناشر; سال انتشار، شماره صفحات.

Philips, S. J., Whisnant, J. P. Hypertension and Stroke. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Raven Press; 1995. P.85-93.

**مقاله کنفرانس:** نام خانوادگی و حروف اول نام نویسنده یا نویسندگان. تاریخ انتشار، عنوان مقاله کنفرانس، نام کنفرانس..

Jamshidi, J., Pouresmaeili, F. (2012). Association of vitamin D receptor gene BsmI polymorphisms with bone mineral density in a population of Iranian women. *European Human Genetics Conference*, p. 390.

**پایان نامه:** نام خانوادگی و حروف اول نام نگارنده. تاریخ انتشار، عنوان پایان نامه. مقطع پایان نامه. دانشگاه و دانشکده. شماره صفحات.

Kaplan, S. J. (1995). Post-hospital home health care: the elderly access and utilization (dissertation). St Louis (MO): Washington University.

پ- اصطلاح. et al. پس از نام شش نویسنده می آید. بنابراین اگر تعداد نویسندگان بیش از شش نفر باشد پس از نوشتن نام کامل شش نویسنده. et al. جایگزین نام نویسندگان بعدی گردد.

ت- معادل اصطلاحات در متن مقاله به زبان فارسی یا لاتین در داخل پرانتز آورده شود (مقاله نباید دارای زیر نویس باشد).

ث- شماره گذاری مقاله از چکیده مقاله شروع شده و تا پایان مقاله ادامه یابد.

ج- مقاله ترجیحاً کم تر از ۵ و بیش از ۱۵ صفحه نباشد و با نرم افزار Word2007 تایپ شود. ارسال CD الزامی است.

چ- مسئولیت صحت و سقم مطالب هر مقاله بر عهده نویسنده (نویسندگان) آن خواهد بود. ضمناً اسامی نویسندگان مقاله (اولویت قرار گرفتن و یا هر گونه تغییر تا پایان بررسی مقاله) صرفاً با امضای نویسنده مسئول امکان پذیر است.

ح- مجله حق رد، قبول، اصلاح، ویرایش و خلاصه نمودن مقاله را برای خود محفوظ می دارد. مقالات دریافتی به هیچ عنوان مسترد نخواهد شد.

خ- کلیه مقالات منطبق با شرایط فوق، بلافاصله پس از وصول توسط هیئت تحریریه مورد بررسی قرار گرفته و در صورت تأیید مقاله ضمن اعلام به نویسنده، جهت داوری ارسال می گردد.

د- مقاله در یک نسخه اصل و سه نسخه کپی از مقاله (نسخ کپی فاقد اسم، آدرس نویسنده و تشکر و قدردانی باشد) به دفتر مجله ارسال گردد. ضمناً توجه گردد همراه مقاله در یک صفحه مجزا عنوان مقاله (فارسی و انگلیسی)، نام و نام خانوادگی نویسندگان (فارسی و انگلیسی)، مرتبه علمی و محل اشتغال آنها به همراه شماره تلفن محل کار و آدرس پست الکترونیکی نویسنده مسئول جهت تسریع در مکاتبات بعدی ذکر شود و یک تعهدنامه با امضای تمام نویسندگان به پیوست آن ارسال گردد.

ذ- در کلیه مراحل بررسی مقاله، ایرادات و اصلاحات مورد نیاز جهت تامین نظر داوری برای نویسنده ارسال می شود و در صورت تأیید نهایی مقاله ضمن اعلام به نویسنده، در نوبت چاپ قرار می گیرد. نسخه های مجله پس از چاپ به تعداد نویسندگان هر مقاله به آدرس نویسنده مسئول ارسال خواهد شد.



## فهرست مطالب

- تأثیر سطوح مختلف اسید آمینه سیستمین بر کیفیت اسپرم و توان آنتی اکسیدانی تام پلاسمای منی در قوچ عربی..... ۱  
زهرا یوسف زاده، صالح طباطبائی و کیلی، مرتضی مموتی، مهدی زارعی
- کاربرد توام پروتئاز گیاهی بروملین و میدان الکترومغناطیس با فرکانس پایین (50 HZ) بر آنژیوژنز در مدل حلقه  
آنورت موش صحرائی..... ۱۳  
صفا مشتاق، کاظم پریور، جواد بهارآرا، نسیم حیاتی، محمد امین کراچیان
- تأثیر استفاده مجزا و تلفیقی پروبیوتیک *Pediococcus acidilactici* و پریوتیک *Raffinos* بر شاخص‌های ایمنی موکوس  
و هیستومورفولوژی روده در ماهیان طلایی (*Carassius auratus*)..... ۲۵  
دل آرا سپهرفر، سید حسین حسینی فر، علی جعفرنوده
- بررسی اثر عصاره آبی میوه سماق *Rhus coriaria* بر کاهش اضطراب و درد در موش سوری..... ۳۵  
آزاده صنعتی، شادی حاج رسولی ها، مهسا هادی پور جهرمی، شبنم موثقی، نادیا زهرا شریفی
- تأثیر مصرف مکمل کوئرستین بر CRP و IL-6 پس از یک جلسه تمرین مقاومتی و امانده ساز در مردان جوان..... ۴۷  
خلیل محمودی، خلیل اله مثنیخ، فرامرز یزدانی
- تأثیر عصاره هیدروالکلی برگ گیاه گل ساعتی (*Passiflora cearulea*) بر برخی فاکتورهای بیوشیمیایی در موش  
صحرائی نر بالغ..... ۵۹  
طیبه صادقی، مهرداد شریعتی، مختار مختاری
- بررسی اثر وجود پناهگاه بر بقای لارو وزغ سبز (*Bufo ariabilis*) طی مراحل ۳۰-۲۶ تکوینی در حضور گونه  
اگزوتیک *Gam busiaaffinis*..... ۶۹  
مهسا نجفی، سمیه ویسی، سمیه اسمعیلی رینه
- مقایسه اثر ماساژ درمانی با رایحه اسطوخودوس و روغن بادام برمدمت زمان و درد زایمان و میزان سرمی بتاندروفین  
ها در زنان نخست زای..... ۸۱  
صدیقه لقایی، سید ابراهیم حسینی

## تأثیر سطوح مختلف اسیدآمینه سیستئین بر کیفیت اسپرم و توان آنتی-

### اکسیدانی تام پلاسمای منی در قوچ عربی

زهرا یوسف زاده<sup>۱</sup>، صالح طباطبائی وکیلی<sup>۲</sup>، مرتضی مموتی<sup>۳</sup>، مهدی زارعی<sup>۴</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران.

۲- دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران. [tabatabaei@ramin.ac.ir](mailto:tabatabaei@ramin.ac.ir)

۳- استاد گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران.

۴- استاد گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۷/۶/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۷/۸/۲۰

#### چکیده

زمینه و هدف: طی نگهداری منی، آسیب‌های ناشی از اکسیداسیون از علل مهم کاهش کیفیت اسپرم‌ها محسوب می‌شود. هدف از مطالعه حاضر، بررسی تأثیر افزودن سطوح مختلف اسیدآمینه سیستئین به رقیق کننده بر خصوصیات منی قوچ عربی تحت شرایط نگهداری به صورت مایع بود.

روش کار: اسپرم‌گیری از ۱۰ رأس قوچ عربی به طور هفتگی برای ۸ هفته انجام و منی آن‌ها بلافاصله با هم مخلوط و رقیق سازی شد. نمونه‌ها به ۵ قسمت تقسیم و سطوح مختلف سیستئین را دریافت نمودند. تیمارها شامل سطوح صفر، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی-مول سیستئین در رقیق کننده منی بودند. در زمان‌های مختلف نگهداری منی (۱، ۱۲، ۲۴، ۳۶ و ۴۸ ساعت)، فراسنجه‌های کیفی منی بررسی شدند.

یافته‌ها: در تمام زمان‌های نگهداری منی، میزان سلامت غشای پلاسمایی اسپرم در تیمارهای سیستئین بهبود یافت ( $P < 0/05$ ). ۲۴ و ۳۶ ساعت پس از نگهداری منی، زنده‌مانی اسپرم‌ها در سطوح ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مول سیستئین بهبود یافت. در زمان‌های ۳۶ و ۴۸ ساعت، سطوح ۵ و ۱۰ میلی‌مول سیستئین موجب کاهش میزان ناهنجاری‌های اسپرم شدند ( $P < 0/05$ ). ۴۸ ساعت پس از نگهداری منی، میزان تحرک پیش‌رونده و زنده‌مانی اسپرم در سطوح ۵ تا ۱۵ میلی‌مول سیستئین افزایش یافت. بیشترین میزان توان آنتی-اکسیدانی تام پلاسمای منی در زمان‌های یک و ۲۴ ساعت، مربوط به سطوح ۱۵ و ۲۰ میلی‌مول سیستئین بود ( $P < 0/05$ ).

نتیجه‌گیری: با افزایش زمان نگهداری منی قوچ عربی، سطوح پایین سیستئین (کمتر از ۱۵ میلی‌مول) باعث بهبود اغلب فراسنجه‌های کیفی اسپرم شدند. اما میزان توان آنتی‌اکسیدانی تام پلاسمای منی در سطوح بالاتر سیستئین (۱۵ و ۲۰ میلی‌مول) افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: برون‌تنی، سیستئین، کیفیت منی، قوچ.

#### مقدمه

دچار استرس حرارتی شده و در دماهای پایین و بالا با کاهش خواص حیاتی خود مثل تحرک و زنده‌مانی روبه‌رو می‌شوند، این امر یک عامل نامطلوب در توسعه استفاده از تلقیح مصنوعی است. یک رقیق کننده مطلوب حجم منی را زیاد کرده و سبب نگهداری و افزایش طول عمر اسپرم می‌گردد (۲۴). از ابتدای به کارگیری تکنیک تلقیح مصنوعی، رقیق کننده‌های

نگهداری اسپرم در دوره‌های کوتاه و بلند مدت می‌تواند کمک موثری در موفقیت تلقیح مصنوعی که در مقایسه با آمیزش طبیعی دارای مزایای زیادی است، داشته باشد. ذخیره و نگهداری مناسب اسپرم، انتقال موفقیت آمیز اسپرم را از مناطق دورتر تسهیل کرده و گسترش استفاده از ذخایر ژنتیکی بهتر را امکان پذیر می‌سازد. اما معمولاً اسپرماتوزوئیدها در طی نگهداری

مختلفی جهت نگه‌داری منی در شرایط مایع و منجمد استفاده شده است. به دلیل فقدان یک منبع پروتئینی در ترکیب رقیق کننده تریس امکان دارد که افزودن یک منبع پروتئینی موجب بهبود کیفی اسپرم قوچ در شرایط نگه‌داری مایع و منجمد شود (۱۶). رقیق کننده‌ها علاوه بر این که اسپرم را هنگام خنک کردن محافظت می‌کنند، منبع مهمی از مواد مغذی برای متابولیسم اسپرم فراهم آورده و از تغییرات pH جلوگیری می‌کنند (۲۱، ۲۵، ۳۳). سیستئین اسید آمینه ای با وزن مولکولی پایین حاوی تیول بوده که پیش‌ساز گلوتاتیون داخل سلولی می باشد. سیستئین به راحتی از غشای سلول وارد شده و باعث افزایش بیوستز گلوتاتیون داخل سلولی هم در برون تنی و هم درون تنی و محافظت لیسیدها و پروتئین‌های غشایی به علت خواص خنثی‌کنندگی غیر مستقیم رادیکال‌های آزاد می شود. گفته شده که سنتز گلوتاتیون در شرایط برون تنی ممکن است به علت کمبود سیستئین در محیط کشت دچار نقص شود که این امر به علت ناپایداری بالای گلوتاتیون و اکسیده شدن خود به خودی آن به سیستئین می باشد. سیستئین اثر محافظتی در برابر یک پارچگی عملکرد آکروزوم و میتوکندری در برابر انجماد داشته و فعالیت حرکتی اسپرم را بعد از خروج از انجماد بهبود می بخشد. اثبات شده که تیول‌هایی از قبیل گلوتاتیون و سیستئین مانع از دست رفتن فعالیت حرکتی اسپرم در مایع منی گاو بعد از یخ‌گشایی شده و باعث بهبود قابلیت بقاء، حفظ ساختار کروماتین و یک پارچگی غشای اسپرم خوک، در طی ذخیره مایع منی می شود (۱۳). سیستئین در رقیق کننده منی با جلوگیری از پراکسیداسیون لیپید به وسیله متابولیت‌های فعال اکسیژن از کاهش جنبایی اسپرم گاو ممانعت می‌کند (۵). آمینواسید سیستئین شامل گروه‌های تیولی (SH-) است که یک رده بزرگی از آنتی

اکسیدان‌ها هستند (۱۱). مکانیسم‌های خاصی برای استفاده از آمینواسیدها برای ایجاد مقاومت در برابر تنش سرمایی وجود دارد. آمینواسیدها (به عنوان مثال سیستئین) نقش مهمی در جلوگیری از رسوب پروتئین‌های غشا در طول ذخیره اسپرم، هم چنین در افزایش پتانسیل محافظت اسپرم در برابر شوک سرمایی اسپرم بز دارند (۲۲، ۱۸). سیستئین نقش مهمی در حفاظت از دنا توره شدن پروتئین‌های ماهیچه ماهی در طول ذخیره انجمادی داشته و قابلیت حفاظت از انجماد اسپرم بز دارد (۱۹). محققین اثبات کرده‌اند که آمینواسیدها در خارج سلول عمل می‌کنند و جنبایی، سلامت آکروزوم و توان باروری اسپرم اسب، انسان و میمون را بعد از فرآیند انجماد یخ‌گشایی بهبود می‌دهند (۱۸). سیستئین زنده‌مانی اسپرم خوک را پس از سردسازی افزایش داد. هم چنین، سیستئین به شکل N-استیل -L- سیستئین قابلیت بیشتری برای جلوگیری از مرگ برنامه ریزی شده (آپوپتوزیس) سلول اسپرم در مجاری لوله‌های منی‌ساز بیضه انسان دارد (۱۴). رادیکال‌های تیول موجود در آمینواسید سیستئین از اثر کاهشی پراکسید هیدروژن بر جنبایی اسپرم گاو بعد از یخ‌گشایی جلوگیری می‌کند (۵). هدف از مطالعه‌ی حاضر، بررسی تأثیر افزودن سطوح مختلف اسید آمینه سیستئین به رقیق کننده، بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم و توان آنتی‌اکسیدانی تام پلاسمای منی قوچ عربی متعاقب نگه‌داری منی به حالت مایع بود.

## مواد و روش‌ها

### اسپرم‌گیری و رقیق‌سازی منی

پژوهش حاضر در ایستگاه دامپروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان واقع در ۳۵ کیلومتری شهر اهواز با استفاده از ۱۰ راس قوچ نژاد عربی با متوسط سن ۲/۵ سال و تحت برنامه تغذیه‌ای و مدیریت یکسان در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام



صورتی دیده شدند، اما اسپرم‌های زنده رنگ را به خود جذب نکرده و سفید رنگ ماندند (۳۲) (شکل ۱).

**ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم:** درصد اسپرم‌های ناهنجار در نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده بائوزین-نیگروزین تحت بزرگ‌نمایی  $1000\times$  میکروسکوپ با استفاده از روغن ایمرسیون و شمارش حداقل ۲۰۰ اسپرم در هر لام تعیین شد (۳۲) (شکل ۲).

**سلامت غشای پلاسمایی اسپرم:** برای بررسی سلامت غشای پلاسمایی اسپرم یا آزمون HOST (Hypo osmotic swelling test) از محلول هیپواسموتیک استفاده شد. واکنش اسپرم‌ها به محیط هیپواسمول (شامل ۹ گرم در لیتر فروکتوز و  $4/9$  گرم در لیتر سترات سدیم) به صورت تورم دم یا دم پیچ خورده است. در این حالت اسپرم‌هایی که غشای پلاسمایی سالمی دارند به محلول واکنش نشان می‌دهند، ولی اسپرم‌های ناسالم بدون واکنش باقی می‌مانند. برای این منظور، ۱۰ میکرولیتر نمونه منی با  $100\times$  میکرولیتر محیط هیپواسموتیک مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید. پس از تهیه گسترش بر روی لام، با استفاده از میکروسکوپ نوری تحت بزرگ‌نمایی  $400\times$  مورد بررسی قرار گرفت (۱۲).

**pH منی:** ارزیابی میزان pH منی طی زمان‌های مختلف پس از نگه‌داری منی در هر کدام از تیمارهای آزمایشی با استفاده از pH متر با دقت بالا انجام شد.

**توان آنتی اکسیدانی تام پلاسمای منی (TAC):** در زمان اول (یک ساعت) و آخر (۲۴ ساعت) نگه‌داری منی، توان آنتی اکسیدانی تام پلاسمای منی (TAC) به روش Ferric Reducing Ability of Plasma یا FRAP (توانایی پلازما در احیای یون‌های فریک) اندازه‌گیری گردید (۴). در این آزمایش ابتدا محلول کار Frap به صورت زیر تهیه شد. میزان ۱۰ میلی‌لیتر بافر استات با یک میلی‌لیتر از ماده تری‌پریدیدل - اس -

گرفت. در فصل تولیدمثلی، اسپرم‌گیری به طور هفتگی برای مدت ۸ هفته توسط تحریک الکتریکی با الکترواجا کولانور انجام و منی جمع‌آوری شده از قوچ‌ها به منظور حذف اثرات فردی بلافاصله با هم مخلوط و به نسبت ۱ به ۱۰ در رقیق‌کننده پایه تریس (تریس  $3/63$  گرم، فروکتوز  $0/5$  گرم، اسید سیتریک  $1/99$  گرم، زرده تخم مرغ ۱۴ میلی‌لیتر و آب مقطر ۱۰۰ میلی‌لیتر) رقیق‌سازی شد.

### تیمارهای آزمایشی

نمونه‌های انزال مخلوط و رقیق شده به ۵ قسمت تقسیم و هر کدام سطح مختلف سیستین (صفر یا شاهد، ۵، ۱۰، ۱۵ و  $20$  میلی‌مول) را دریافت کردند. در زمان‌های مختلف نگه‌داری منی رقیق‌شده حاوی تیمارهای آزمایشی (یک، ۱۲، ۲۴، ۳۶ و ۴۸ ساعت) به صورت مایع تحت دمای  $5^{\circ}\text{C}$ ، فراسنجه‌های کیفی منی بررسی شدند.

### ارزیابی فراسنجه‌ها

**تحرك پیش‌رونده اسپرم:** برای ارزیابی تحرك پیش‌رونده اسپرم‌ها، ۵ میکرولیتر از منی رقیق شده بر روی لام گرم قرار داده شده و پس از لامل‌گذاری، تحت میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی  $400\times$  در چند میدان درصد تحرك پیش‌رونده اسپرم‌ها بررسی قرار گرفته و میانگین حاصل به عنوان درصد تحرك پیش‌رونده ثبت گردید (۲۷).

**زنده‌مانی اسپرم:** جهت بررسی درصد اسپرم‌های زنده و مرده از رنگ‌آمیزی ائوزین-نیگروزین با حل کردن  $1/67$  گرم ائوزین Y، ۱۰ گرم نیگروزین و  $2/9$  گرم سترات سدیم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استفاده شد. تحت بزرگ‌نمایی  $1000\times$  میکروسکوپ نوری و با استفاده از روغن ایمرسیون انجام گردید. اسپرم‌های مرده رنگ ائوزین را به خود جذب کرده و به رنگ

نیز pH منی در بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی-داری نداشتند ( $P > 0.05$ ). اما، درصد اسپرم‌های با غشای پلاسمایی سالم در تمام سطوح سیستئین به طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بودند ( $P < 0.05$ ) (جدول ۱).

**۱۲ ساعت پس از ذخیره منی:** کم‌ترین میزان تحرک پیش‌رونده‌ی اسپرم متعلق به سطح ۲۰ میلی‌مول سیستئین بود ( $P < 0.05$ ). در همین زمان، میزان زنده‌مانی اسپرم بین تیمارهای آزمایشی و شاهد اختلاف معنی-داری نداشتند ( $P > 0.05$ )، اما درصد اسپرم‌های زنده در تیمارهای حاوی ۵ و ۱۰ میلی‌مول سیستئین به طور معنی‌داری بیشتر از سطح ۲۰ میلی‌مول این آمینو اسید بود ( $P < 0.05$ ). هم‌چنین در این زمان، گروه شاهد کم-ترین میزان سلامت غشای پلاسمایی اسپرم را در مقایسه با تیمارهای سیستئین نشان داد ( $P < 0.05$ ). در زمان ۱۲ ساعت، ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم و pH منی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ( $P > 0.05$ ) (جدول ۲).

**۲۴ ساعت پس از نگهداری منی:** کم‌ترین میزان تحرک پیش‌رونده‌ی اسپرم و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم به ترتیب در تیمار ۲۰ میلی‌مول سیستئین و شاهد مشاهده شدند ( $P < 0.05$ ). میزان زنده‌مانی اسپرم در تیمارهای حاوی ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مول سیستئین به طور معنی‌داری بیشتر از شاهد و سیستئین ۲۰ میلی‌مول بود ( $P < 0.05$ ). هم‌چنین در این زمان، سطوح ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مول سیستئین موجب کاهش میزان ناهنجاری-های مورفولوژیکی اسپرم در مقایسه با شاهد شدند ( $P < 0.05$ ). pH منی اختلاف آماری معنی‌داری در بین تیمارها نداشت ( $P > 0.05$ ) (جدول ۳).

تری آذیل (TPTZ) محلول در اسید کلریدریک مخلوط شد. سپس به محلول فوق یک میلی‌لیتر محلول کلرید فریک افزوده گردید. پس از تهیه محلول کار ۴۰۰ سی سی محلول Frap به پلاسمای منی اضافه و نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در انکوباتور قرار داده شدند. با احیای یون‌های آهن فریک به آهن فرو در نمونه، کمپلکس آبی رنگ ایجاد می‌شود. پس از آن، میزان جذب نوری آن‌ها به کمک اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه‌گیری شد (۴).

### تحلیل آماری

نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر، با استفاده از برنامه نرم‌افزار آماری SPSS (ویرایش ۱۶) مورد آنالیز قرار گرفت. جهت بررسی فراسنجه‌های کیفی منی در هر زمان بین تیمارها از تحلیل واریانس یک‌طرفه (one way ANOVA) و آزمون مقایسه‌ای چند دامنه‌دانکن در سطح ۵٪ استفاده و تعداد تکرار برای هر تیمار، هشت واحد آزمایش در نظر گرفته شد. مدل آماری

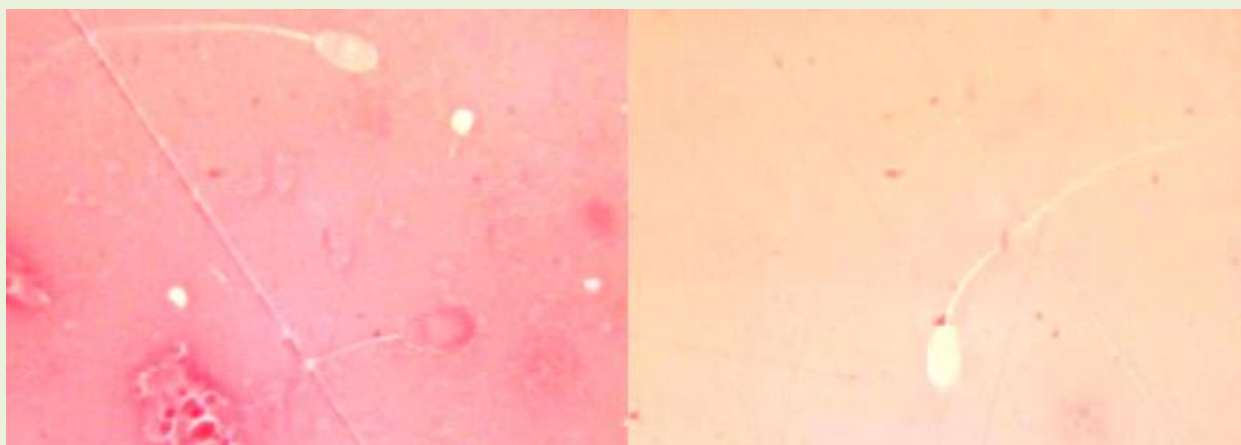
$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

طرح به قرار زیر می‌باشد:  $Y_{ij}$  مقدار صفت اندازه‌گیری شده،  $\mu$  میانگین صفت در جامعه مورد نظر،  $\varepsilon_{ij}$  اثر سطوح سیستئین و  $T_i$  اثر خطای آزمایشی است.

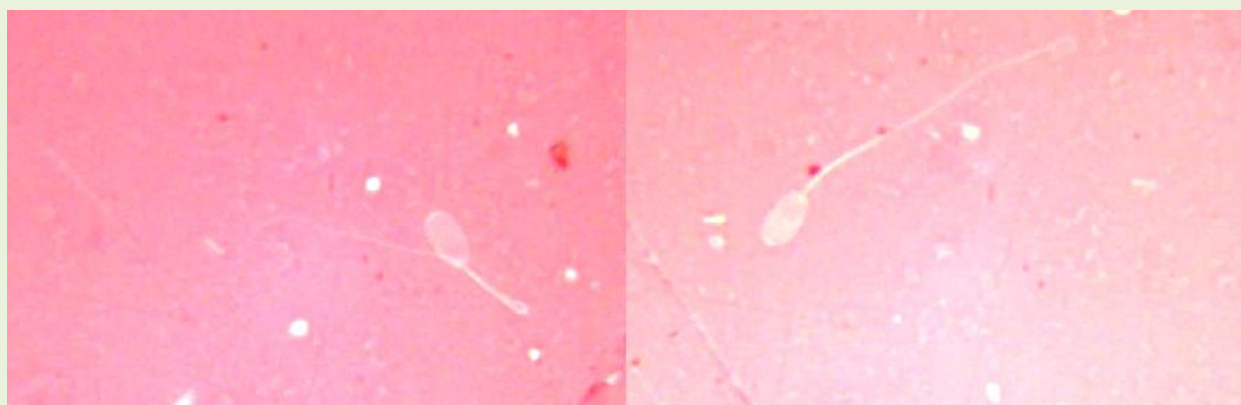
### نتایج

تأثیر افزودن سطوح مختلف سیستئین به منی قوچ عربی بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم و pH منی در زمان-های یک، ۱۲، ۲۴، ۳۶ و ۴۸ ساعت پس از نگهداری منی به حالت مایع در  $5^{\circ}\text{C}$  در جداول ۱ تا ۵ ارائه شده است.

**یک ساعت پس از نگهداری منی:** میزان تحرک پیش‌رونده، زنده‌مانی، ناهنجاری مورفولوژیکی اسپرم و



اسپرم زنده (بدون رنگ) (اسپرم زنده (بالا) و اسپرم مرده (پایین))  
 شکل ۱- اسپرماتوزوئیدهای زنده و مرده در بزرگ‌نمایی  $\times 1000$  میکروسکوپ نوری (رنگ آمیز یانوزین- نیگروزین)



اسپرم با مورفولوژی طبیعی (اسپرم با مورفولوژی ناهنجار)  
 شکل ۲- اسپرماتوزوئیدهای با مورفولوژی طبیعی و ناهنجار در بزرگ‌نمایی  $\times 1000$  میکروسکوپ نوری (رنگ آمیز یانوزین- نیگروزین)

جدول ۱- تأثیر سطوح مختلف سیستئین (میلی مول) بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم (٪) و اسیدیته منی قوچ عربی (۱ ساعت پس از نگه‌داری منی در  $5^{\circ}C$ ).

تیمارها	تحرك پیش‌رونده	زنده‌مانی	ناهنجاری مورفولوژیکی	سلامت غشای پلاسمایی	pH
شاهد	$92/40 \pm 1/50$	$94/80 \pm 1/28$	$4/40 \pm 0/68$	$53/00 \pm 2/00^b$	$7/22 \pm 0/18$
سیستئین ۵	$91/20 \pm 0/70$	$95/60 \pm 1/50$	$4/00 \pm 0/36$	$72/00 \pm 2/00^a$	$7/40 \pm 0/23$
سیستئین ۱۰	$92/40 \pm 1/50$	$96/00 \pm 1/52$	$4/20 \pm 0/49$	$71/00 \pm 1/87^a$	$7/26 \pm 0/17$
سیستئین ۱۵	$93/00 \pm 1/84$	$95/60 \pm 1/50$	$4/40 \pm 0/40$	$67/00 \pm 3/39^a$	$7/30 \pm 0/19$
سیستئین ۲۰	$93/60 \pm 1/50$	$95/62 \pm 1/44$	$4/00 \pm 0/32$	$65/00 \pm 4/74^a$	$7/42 \pm 0/06$

*a-b* تفاوت میانگین‌ها ( $\pm$  خطای معیار) با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است ( $P < 0/05$ ).

جدول ۲- تأثیر سطوح مختلف سیستئین (میلی مول) بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم (%) و اسیدیته منی قوچ عربی (۱۲ ساعت پس از نگه‌داری منی در ۵°C).

تیمارها	تحرك پیش‌رونده	زنده‌مانی	ناهنجاری مورفولوژیکی	سلامت غشای پلاسمایی	pH
شاهد	$76/00 \pm 4/30^a$	$77/00 \pm 4/90^{ab}$	$5/80 \pm 0/58$	$42/00 \pm 5/15^b$	$7/12 \pm 0/18$
سیستئین ۵	$73/00 \pm 12/41^a$	$91/00 \pm 4/00^a$	$5/40 \pm 0/24$	$58/00 \pm 3/74^a$	$7/24 \pm 0/15$
سیستئین ۱۰	$87/60 \pm 6/99^a$	$90/80 \pm 5/22^a$	$5/40 \pm 0/24$	$62/00 \pm 2/00^a$	$7/30 \pm 0/18$
سیستئین ۱۵	$73/40 \pm 12/55^a$	$83/20 \pm 12/05^{ab}$	$6/20 \pm 0/37$	$59/00 \pm 2/45^a$	$7/22 \pm 0/17$
سیستئین ۲۰	$36/00 \pm 12/88^b$	$69/00 \pm 11/98^b$	$7/00 \pm 0/55$	$56/00 \pm 3/32^a$	$7/32 \pm 0/13$

a-b: تفاوت میانگین‌ها ( $\pm$  خطای معیار) با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است ( $P < 0/05$ ).

جدول ۳- تأثیر سطوح مختلف سیستئین (میلی مول) بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم (%) و اسیدیته منی قوچ عربی (۲۴ ساعت پس از نگهداری منی در ۵°C).

تیمارها	تحرك پیش‌رونده	زنده‌مانی	ناهنجاری مورفولوژیکی	سلامت غشای پلاسمایی	pH
شاهد	$52/00 \pm 3/74^a$	$51/00 \pm 3/87^b$	$10/00 \pm 1/34^a$	$27/00 \pm 3/74^b$	$7/10 \pm 0/17$
سیستئین ۵	$75/40 \pm 7/88^a$	$88/00 \pm 2/00^a$	$6/60 \pm 0/67^c$	$55/00 \pm 5/70^a$	$7/46 \pm 0/17$
سیستئین ۱۰	$71/40 \pm 7/68^a$	$85/40 \pm 3/34^a$	$7/00 \pm 0/84^{bc}$	$60/00 \pm 4/47^a$	$7/38 \pm 0/18$
سیستئین ۱۵	$67/00 \pm 11/79^a$	$79/00 \pm 11/11^a$	$7/40 \pm 0/51^{bc}$	$56/00 \pm 5/57^a$	$7/20 \pm 0/16$
سیستئین ۲۰	$22/40 \pm 12/38^b$	$48/00 \pm 9/69^b$	$9/60 \pm 0/81^{ab}$	$54/00 \pm 6/96^a$	$7/30 \pm 0/15$

a-c: تفاوت میانگین‌ها ( $\pm$  خطای معیار) با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است ( $P < 0/05$ ).

و زنده‌مانی اسپرم نسبت به شاهد شدند ( $P < 0/05$ ). هم چنین، میزان ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم کم-تری در سطوح ۵ و ۱۰ میلی مول سیستئین در مقایسه با شاهد یافت شد ( $P < 0/05$ ). در زمان ۴۸ ساعت، کم-ترین سلامت غشای پلاسمایی اسپرم متعلق به شاهد بود ( $P < 0/05$ ). همانند زمان‌های قبل، میزان pH منی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ( $P > 0/05$ ) (جدول ۵).

**توان آنتی اکسیدانی تام پلاسمای منی: تاثیر**  
افزودن سطوح مختلف سیستئین به منی قوچ عربی بر توان آنتی اکسیدانی تام پلاسمای منی در زمان‌های اول (۱ ساعت) و پایانی (۴۸ ساعت) پس از نگه‌داری منی به حالت مایع در جدول ۶ مشاهده می‌شود. در اولین و آخرین زمان نگه‌داری منی، سطوح ۱۵ و ۲۰ میلی مول سیستئین باعث افزایش توان آنتی اکسیدانی تام

**۳۶ ساعت پس از نگه‌داری منی: میزان تحرك**  
پیش‌رونده اسپرم در تیمارهای دارای سیستئین اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت ( $P > 0/05$ ). در همین زمان، سطوح ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی مول سیستئین باعث بهبود میزان زنده‌مانی اسپرم نسبت به شاهد شدند ( $P < 0/05$ ). هم چنین، کاهش معنی‌داری در میزان ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم برای سطوح ۵ و ۱۰ میلی مول سیستئین در مقایسه با شاهد مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). در زمان ۳۶ ساعت، تمام سطوح به کار رفته سیستئین موجب بهبود سلامت غشای پلاسمایی اسپرم نسبت به شاهد شدند ( $P < 0/05$ ). سطوح مختلف سیستئین تاثیر معنی‌داری بر pH منی نداشتند ( $P > 0/05$ ) (جدول ۴).

**۴۸ ساعت پس از نگه‌داری منی: سطوح ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی مول سیستئین** باعث بهبود میزان تحرك پیش‌رونده

پلاسمای منی نسبت به شاهد شدند ( $P < 0.05$ ) (جدول ۶).

جدول ۴- تأثیر سطوح مختلف سیستین (mmol) بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم (%) و اسیدینه منی قوچ عربی (۳۶ ساعت پس از نگه‌داری منی در  $5^{\circ}\text{C}$ ).

تیمارها	تحرك پيشرونده	زنده‌مانی	ناهنجاری مورفولوژیکی	سلامت غشای پلاسمایی	pH
شاهد	۴۴/۰۰ ± ۶/۷۸ <sup>abc</sup>	۴۸/۰۰ ± ۶/۰۴ <sup>c</sup>	۱۰/۶۰ ± ۰/۷۵ <sup>a</sup>	۲۱/۰۰ ± ۳/۶۷ <sup>b</sup>	۷/۱۶ ± ۰/۱۶
سیستین ۵	۶۷/۰۰ ± ۱۲/۹۰ <sup>ab</sup>	۸۷/۰۰ ± ۴/۰۶ <sup>a</sup>	۷/۴۰ ± ۰/۸۱ <sup>b</sup>	۴۴/۰۰ ± ۶/۲۰ <sup>a</sup>	۷/۴۰ ± ۰/۱۹
سیستین ۱۰	۷۱/۰۰ ± ۱۰/۴۱ <sup>a</sup>	۸۶/۰۰ ± ۲/۴۵ <sup>a</sup>	۷/۰۰ ± ۰/۷۱ <sup>b</sup>	۵۲/۰۰ ± ۴/۰۶ <sup>a</sup>	۷/۳۲ ± ۰/۰۸
سیستین ۱۵	۵۴/۰۰ ± ۱۶/۸۴ <sup>abc</sup>	۷۶/۰۰ ± ۱۱/۷۶ <sup>ab</sup>	۸/۲۰ ± ۰/۷۳ <sup>ab</sup>	۵۰/۰۰ ± ۶/۱۲ <sup>a</sup>	۷/۱۴ ± ۰/۱۶
سیستین ۲۰	۲۰/۰۰ ± ۷/۵۸ <sup>c</sup>	۵۵/۰۰ ± ۸/۵۱ <sup>bc</sup>	۱۰/۴۰ ± ۰/۹۳ <sup>a</sup>	۴۲/۰۰ ± ۷/۸۴ <sup>a</sup>	۷/۲۸ ± ۰/۱۶

a-c: تفاوت میانگین‌ها ( $\pm$  خطای معیار) با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).

جدول ۵- تأثیر سطوح مختلف سیستین (mmol) بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم (%) و اسیدینه منی قوچ عربی (۴۸ ساعت پس از نگهداری منی در  $5^{\circ}\text{C}$ ).

تیمارها	تحرك پيشرونده	زنده‌مانی	ناهنجاری مورفولوژیکی	سلامت غشای پلاسمایی	pH
شاهد	۲۵/۰۰ ± ۳/۸۷ <sup>c</sup>	۴۳/۰۰ ± ۷/۱۸ <sup>c</sup>	۱۲/۰۰ ± ۰/۸۹ <sup>a</sup>	۱۵/۰۰ ± ۳/۸۷ <sup>b</sup>	۶/۹۶ ± ۰/۱۴
سیستین ۵	۵۴/۵۰ ± ۱۱/۳۰ <sup>a</sup>	۸۱/۴۰ ± ۳/۸۰ <sup>a</sup>	۷/۶۰ ± ۰/۶۰ <sup>b</sup>	۴۳/۰۰ ± ۴/۹۰ <sup>a</sup>	۷/۰۶ ± ۰/۱۷
سیستین ۱۰	۵۳/۷۵ ± ۱۲/۸۱ <sup>a</sup>	۸۱/۰۰ ± ۱/۸۷ <sup>a</sup>	۸/۲۰ ± ۰/۸۰ <sup>b</sup>	۴۸/۰۰ ± ۴/۳۶ <sup>a</sup>	۷/۰۶ ± ۰/۲۱
سیستین ۱۵	۵۰/۰۰ ± ۱۱/۳۳ <sup>ab</sup>	۸۱/۰۰ ± ۳/۶۷ <sup>a</sup>	۸/۸۰ ± ۱/۰۲ <sup>ab</sup>	۴۷/۰۰ ± ۷/۵۲ <sup>a</sup>	۶/۹۶ ± ۰/۲۰
سیستین ۲۰	۱۲/۰۰ ± ۷/۳۵ <sup>c</sup>	۵۸/۰۰ ± ۱۲/۱۰ <sup>bc</sup>	۱۰/۸۰ ± ۱/۳۹ <sup>ab</sup>	۳۹/۰۰ ± ۴/۳۰ <sup>a</sup>	۷/۰۴ ± ۰/۱۷

a-c: تفاوت میانگین‌ها ( $\pm$  خطای معیار) با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).

جدول ۶- تأثیر سطوح مختلف سیستین (mmol) بر توان آنتی‌اکسیدانی تام پلاسمای منی ( $\mu\text{mol/ml}$ ) قوچ عربی در زمان‌های ۱ و ۴۸ ساعت پس از نگهداری منی در  $5^{\circ}\text{C}$ .

تیمارها	زمان ۱ ساعت	زمان ۴۸ ساعت
شاهد	۴۰۳/۰۰ ± ۵۶/۶۶ <sup>c</sup>	۴۶۸/۳۳ ± ۵۳/۴۵ <sup>c</sup>
سیستین ۵	۴۵۴/۶۷ ± ۴۸/۵۵ <sup>bc</sup>	۴۶۵/۰۰ ± ۷۸/۶۹ <sup>c</sup>
سیستین ۱۰	۵۵۱/۰۰ ± ۷۵/۷۲ <sup>bc</sup>	۶۳۳/۶۷ ± ۷۵/۴۱ <sup>abc</sup>
سیستین ۱۵	۶۵۳/۶۷ ± ۸۳/۰۳ <sup>b</sup>	۶۸۶/۳۳ ± ۱۲۹/۶۵ <sup>ab</sup>
سیستین ۲۰	۸۷۸/۰۰ ± ۱۰۳/۶۴ <sup>a</sup>	۷۶۸/۰۰ ± ۶۳/۰۵ <sup>a</sup>

a-c: تفاوت میانگین‌ها ( $\pm$  خطای معیار) با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).

## بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که افزودن اسید آمینه سیستین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان به رقیق‌کننده منی قوچ عربی باعث بهبود فراسنجه‌های کیفی اسپرم متعاقب نگه‌داری منی به حالت مایع در  $5^{\circ}\text{C}$  شده و از آسیب‌های ناشی از نگه‌داری منی محافظت نمود. مشابه با این یافته‌ها، در بررسی اثر آنتی‌اکسیدان‌های سیستین، اسید آسکوربیک و هیپوتارین بر اسپرم بز بوئر

مشاهده شد که آنتی‌اکسیدان‌های فوق سبب بهبود میزان زنده‌مانی، سلامت غشای پلاسمایی و سلامت آکروزوم اسپرم شدند، طوری که غلظت‌های ۵ میلی-مول سیستین و ۱۰ میلی-مول هیپوتارین سبب بهبود فراسنجه‌های فوق گردیدند (۲۳). در مطالعه‌ی Khalili و همکاران (۲۰۱۰) که در آن اثر غلظت‌های مختلف اسیدهای آمینه سیستین و گلیسین، بر اسپرم قوچ مغانی در شرایط انجماد بررسی شد، مشاهده گردید که این

قوچ عربی به حالت مایع نداشت. اما افزودن سطوح کمتر آن به منی یعنی ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی مول سیستئین، این فراسنجه‌ها را بهبود دادند. در تحقیقی، سیستامین، جنبایی و ظرفیت آنتی اکسیدانی اسپرم قوچ را بعد از یخ‌گشایی افزایش داد (Khalili و همکاران (۲۰۱۰) با انجام پژوهشی بر انجماد اسپرم قوچ مغانی نشان دادند که گلايسين و سيستئين در غلظت‌های ۵ تا ۱۵ میلی مولار موجب افزایش تحرک، زنده‌مانی و سلامت غشاء اسپرم قوچ در دو مرحله سرد سازی و پس از یخ‌گشایی شد که مشابه با یافته‌های مطالعه حاضر در ذخیره منی قوچ عربی به صورت مایع می‌باشد. هر چند نقش حفاظتی آمینواسیدها نامشخص است، ولی فرضیات متعددی توسط محققین برای مکانیسم حفاظتی آن‌ها در طول انجماد مطرح شده است. پژوهش‌گران معتقدند اثر حفاظتی آمینواسیدها ممکن است از توان آن‌ها به شکل یک لایه بر روی سطح اسپرم منشاء بگیرد. آن‌ها مولکول‌های بارداری هستند و می‌توانند با گروه‌های فسفات موجود در فسفولیپیدهای غشاء پلاسمایی اسپرم ترکیب شوند و در اسمولاریته و زنده‌مانی اسپرم تاثیر داشته باشند (۲۰، ۱۷). افزودن اسید آمینه سیستئین سبب افزایش درصد تحرک و زنده‌مانی اسپرم بعد از یخ‌گشایی می‌شود. افزودن سیستئین به عنوان اسید آمینه به رقیق‌کننده منی در انجماد اسپرم دام‌های اهلی موجب بهبود حرکت رو به جلو اسپرم بعد از یخ‌گشایی و باروری آن شده است. در پژوهشی، افزودن آنتی اکسیدان‌هایی از قبیل تائورین، هیپوتائورین، گلوتامین، سیستئین، آلبومین سرم گاوی، تره‌هالوز و هیالورونان به رقیق‌کننده قبل از انجماد باعث بهبود درصد تحرک اسپرم، مورفولوژی اسپرم، قابلیت زنده‌مانی اسپرم و محافظت فراسنجه‌های منی پس از یخ‌گشایی در خوک گردید (۹). در آزمایشی دیگر، افزودن آنتی اکسیدان سیستئین با دوز ۱۰ میلی مولار سبب بهبود درصد تحرک، توان زنده-

دو اسید آمینه سبب بهبود قابل توجه حرکت پیش-رونده‌ی اسپرم، زنده‌مانی و یک پارچگی غشای آکروزوم اسپرم قوچ شدند، طوری که از بین سطوح ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی مول سیستئین و گلیسین به کار رفته، مقادیر ۱۰ و ۱۵ میلی مول سیستئین نسبت به شاهد سبب بهبود قابل توجه حرکت، زنده‌مانی و سلامت غشای اسپرم گردیدند (۱۷، ۳۱). Topraggaleh و همکاران (۲۰۱۴)، با بررسی اثر اسید آمینه‌های سیستئین و گلوتامین بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم گاومیش پس از انجماد گزارش کردند که سیستئین و گلوتامین به طور قابل توجهی سبب بهبود تحرک و سلامت غشای پلاسمایی پس از انجماد شده‌اند، طوری که سیستئین در غلظت ۷/۵ میلی مول افزایش حرکت پیش‌رونده اسپرم را موجب گردید. اثر اسیدهای آمینه سیستئین و تورین بر کیفیت اسپرم گاو نر مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد، که افزودن سیستئین سبب افزایش تحرک اسپرم شده و موجب بهبود میزان سلامت آکروزوم و ناهنجاری اسپرم شده است، اسید آمینه‌ی تورین نیز سبب افزایش تحرک اسپرم گردید (۳۰، ۲۷). طی پژوهشی که در آن اثرات اسیدهای آمینه‌ی گلوتامین، گلیسین، آلانین و سیستئین بر اسپرم گاومیش نر پس از انجماد بررسی شد، نتیجه به این صورت بود که پس از انجماد، دو اسید آمینه‌ی گلوتامین و گلیسین اثرات مثبتی روی میزان تحرک اسپرم، یک پارچگی آکروزوم و سلامت غشای اسپرم داشته‌اند، طوری که غلظت ۲۵ میلی مولار این اسیدهای آمینه و هم چنین غلظت ۵ میلی مولار سیستئین سبب افزایش تحرک، یک پارچگی آکروزوم و غشای اسپرم شده و نیز ثابت شد که غلظت‌های بالاتر مانند ۱۰۰ میلی مولار سبب کاهش معنی‌دار تحرک، یک پارچگی غشای اسپرم و آکروزومی می‌گردد (۱۰). در مطالعه ما نیز بالاترین سطح به کار رفته سیستئین یعنی ۲۰ مول آن تاثیر معنی‌داری بر بیشتر فراسنجه‌های کیفی اسپرم طی ذخیره منی



گلوکوتایون و سیستین میزان زنده‌مانی اسپرم بالاتر بود (۱۴). Bucak و همکاران (۲۰۰۹) با انجام آزمایشی گزارش کردند، رقیق کردن منی با سیستامین، های پوتائورین و محلول اسید آمینه‌ای باعث افزایش معنی‌دار در جنبایی اسپرم بز می‌شود. هایپوتائورین پیش-ساز آمینواسید تائورین است که در اسپرم پستانداران وجود دارد و در تولید پایانی متابولیسم سیستین می‌باشد. هایپوتائورین برای یک سری از اعمال اسپرم شامل ظرفیت پذیری، جنبایی، قابلیت باروری و رشد اولیه جنین ضروری می‌باشد. هم چنین، هایپوتائورین می‌تواند رادیکال‌های هیدروکسیل تولید شده در طول پراکسیداسیون لیپید را خنثی و با محافظت از گروه‌های تیولی موجود در غشاء پلاسمایی از آسیب اکسیداتیوی به اسپرم جلوگیری می‌کند (۷، ۳).

به طور کلی نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که افزودن اسید آمینه سیستین در سطوح کمتر از ۲۰ میلی‌مول به منی رقیق شده قوچ عربی موجب بهبود اغلب فراسنجه‌های کیفی اسپرم طی ذخیره منی به حالت مایع در ۵°C می‌گردد. در این میان، سطوح ۵ و ۱۰ میلی‌مول سیستین بهترین تاثیر را بر کیفیت اسپرم داشتند. در مقابل، بیشترین میزان توان آنتی‌اکسیدانی تام پلاسمای منی برای هر دو زمان یک و ۲۴ ساعت پس از نگه‌داری منی به حالت مایع، در سطوح ۱۵ و ۲۰ میلی‌مول سیستین مشاهده شد.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از پشتیبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان در اجرای این تحقیق تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

مانی و کاهش درصد ناهنجاری اسپرم‌ها و نیز کاهش میزان گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) نسبت به گروه شاهد تحت شرایط انجماد شد. هم چنین دوز ۱۰ میلی‌مولار سیستین نتوانست سبب کاهش کمبود پروتامین و قطعه قطعه شدن DNA شود (۲۶). در مطالعه Chen و همکاران (۱۹۹۳) ملاحظه شد که افزودن اسیدهای آمینه گلوتامین، گلايسين، آلانین و سیستین به رقیق‌کننده منی گاو پیش از انجماد، باعث بهبود فراسنجه‌های کیفی منی گاو پیش بعد از یخ‌گشایی آن شد (۸). افزودن سیستین به رقیق‌کننده منی خوک نر، باعث محافظت فراسنجه‌های منی در شرایط انجماد شد (۱۸). در مطالعه‌ی دیگر که در آن اثر ال-سیستین بر کیفیت اسپرم گاو نر ساهیوال بررسی شد، مشخص گردید که پس از ۲۴ ساعت از ذخیره‌سازی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، تحرک، زنده‌مانی و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم بهبود یافت، به طوری که ال-سیستین به مقدار ۲-۱ میلی‌مول سبب بهبود کیفیت اسپرم در این دام شد (۲). در تحقیق دیگر، اثر ال-سیستین بر اسپرم نریان در شرایط انجماد بررسی و گزارش گردید که این اسید آمینه سبب بهبود پارامترهای کیفی اسپرم در طول ذخیره‌سازی در دمای ۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت شد، طوری که غلظت ۲۰۰ مول بر لیتر آن سبب بهبود تحرک پیش‌رونده، زنده‌مانی و یک پارچگی آکروزوم اسپرم گردید (۲۸). بررسی اثر آنتی‌اکسیدان‌های ویتامین E و سیستین بر پارامترهای اسپرم گربه بیان گر بهبود تحرک اسپرم و سلامت غشای پلاسمایی پس از انجماد می‌باشد (۲۹). در پژوهشی اثر گلوکوتایون، سیستین و هیپوتائورین بر پارامترهای اسپرم خوک در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد بررسی و مشاهده گردید که طی ۷ و ۱۴ روز در حضور

### منابع

1. Akhter, S.H., Allah Rakha, B., Iqbal, R., Ansari, M. (2014). Effect of bovine serum albumin on motility, plasmalemma,

viability and chromatin integrity of buffalo bull spermatozoa. Pak. J. Zool, 46(1); 115-120.

2. Ansari, M.S., Allah Rakha, B., Akhter, S. (2011). Effect of L-cysteine in extender on

- post-thaw quality of Sahiwal bull semen. Anim. Sci. Paper Report, 29(3); 197-203.
3. Barnett, D.K., Bavister, B.D. (1992). Hypotaurine requirement for in vitro development of golden hamster one-cell embryos into morula and blastocysts, and production of term offspring from in vitro-fertilized ova. Biol. Reprod, 47; 297-304.
4. Benzie, I.F.F., Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. Anal. Biochem, 239; 70-76.
5. Bilodeau, J.F., Blanchette, S., Gagnon, C., Sirard, M.A. (2001). Thiols prevent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mediated loss of sperm motility in cryo-preserved bull semen. Theriogenology, 56; 275-286.
6. Bucak, M.N., Atessahin, A., Varisti, O., Yuce, A., Tekin, N., Akcay, A. (2007). The influence of trehalose, taurines, cysteamine and hyaluronan on ram semen. Microscopic and oxidative stress parameters after freeze-thawing process. Theriogenology, 67; 1060-1061.
7. Bucak, M.N., Tuncer, P.B., Sariozkan, S., Ulutas, P.A., Cayan, K., Baspinar, N., et al. (2009). Effects of hypotaurine, cysteamine and amino acids solution on post-thaw microscopic and oxidative stress parameters of Angora goat semen. J. Res. Vet. Sci, 87; 468-472.
8. Chen, Y.R., Foote, H., Brockett, C.C. (1993). Effect of sucrose, trehalose, hypotaurine, taurine, and blood serum on survival of frozen bull sperm. Cryobiology, 30; 423-431.
9. Crabo, B.G., Brown, K.I., Graham, E.F. (1972). Effect of some buffers on storage and freezing of boar spermatozoa. J. Anim. Sci, 35; 377-382.
10. Elsheshtawy, R.I., Elsisy, G.A., Elna, W.S. (2008). Use of selected amino acids to improve buffalo bull semen. Cryopreservation, 2(4); 146-150.
11. Erkkilä, K., Hirvonen, V., Wuokko, E., Parvonen, M., Dunkel, L. (1998). N-acetyl-L-cysteine inhibits apoptosis in human male germ cells in vitro. J. Clin. Endocrinol. Metab, 83(7); 2523-2531.
12. Evans, G., Maxwell, W.M.C. (1987). Handling and examination semen. In: Maxwell W.M.C., editor. Salamon's artificial insemination of sheep and goat. Sydney: Butterworths, pp: 93-106.
13. Fanaei, H., Azizi, Y., Khayat, S. (2013). Role of oxidative stress in male infertility. J. Fasa. Univ. Med. Sci, 3(2); 93-102
14. Funahashi, H., Sano, T. (2005). Select antioxidants improve the function of extended boar semen stored at 10 degrees C. Theriogenology, 63(6); 1605-1616.
15. Gilmore, J.A., Liu, J., Peter, A.T., Critser, J.K. (1998). Determination of plasma membrane characteristics of boar spermatozoa and their relevance to cryopreservation. Biol. Reprod, 58(1); 28-36.
16. Jafari Ahangari, Y., Attarchi, H. (2008). The effect of royal jelly in tris extender on sperm characteristics of *Dallagh rams*. J. Agric. Sci. Natur. Resour, 15(3); 125-129.
17. Khalili, B., Jafaroghli, M., Farshad, A., Pareskhavi, M. (2010). The effects of different concentrations of glycine and cysteine on the freezability of *Moghani ram*. Asian-Aust. J. Anim. Sci, 23; 318-328.
18. Khelifaoui, M., Battut, I., Bruyas, J.F., Chatagnon, G., Trimeche, A., Tainturier, D. (2005). Effects of glutamine on post-thaw motility of stallion spermatozoa: an approach of the mechanism of action at spermatozoa level. Theriogenology, 63(1); 138-149.
19. Kimura, M., Orikasa, S., Mitsukawa, S. (1981). Effects of methyl cobalamin on sperm counts and sperm motility in oligo-zoospermic cases. J. Androl, 2; 18-23.
20. Kundu, C.N., Das, K., Majumder, G.C. (2001). Effect of amino acids on goat cauda epididymal sperm cryo-preservation using a chemically defined model system. J. Cryobiology, 42; 21-27.
21. Leboeuf, B., Restall, B., Salamon, S. (2000). Production and storage of goat semen for artificial insemination. Anim. Reprod. Sci, 62; 113-141.
22. Li, Y., Si, X.W., Zhang, A., Dinnyes, A., Ji, W. (2003). Effect of amino acids on cryo-preservation of cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) sperm. Anim. J. Primatol, 59(4); 159-165.
23. Memon, A.A., Wahid, H., Rosnina, Y., Goh, Y.M., Ebrahimi, M., Nadia, F.M. (2012). Effect of antioxidants on post-thaw microscopic, oxidative stress parameter and fertility of *Boer goat* spermatozoa in tris egg yolk glycerol extender. Anim. Reprod. Sci, 136(1); 55-60.
24. Parizadian Kavan, B., Jafari Ahangaran Y. (2010). Comparison the different extender



effects on sperm characteristics in Atabi ram under storage in liquid condition. Research report. Research Institute Anim.Sci, Iran.

**25.**Purdy, P.H. (2006). A review on goat sperm cryo preservdation. *Small Rumin.Res*, 63(3); 215-22.

**26.**Samimi, A., Rezazadeh, M., Amanlu, M. (2009). Evaluation the cysteine and taurine antioxidants on oxidative stress and frozen semen parameters in human. M.Sc. thesis. TabriyatModares University, Iran.

**27.**Sariozkan, S., Bucack, **M.N.**, **Tuncer**, P.B., **Uluta** , P.A., Bilgen, A. (2009). The influence of cysteine and taurine on microscopic-oxidative stress parameters and fertilizing ability of bull semen following cryo preservation. *Cryobiol*, 58(2); 134-138.

**28.**Sukho, P., Juwarahawong, H., Sangiam, S. and Kaeoket, K. (2013). The effect of adding L-cysteine in modified kenny's extender on the quality of chilled stallion semen at 5 C°. *J. Applied Anim. Sci*, 6(1); 43-52.

**29.**Thuwanut, P. (2010). Role of oxidative stress and antioxidants in domestic and non-

domestic cat spermatozoa. Doctoral thesis, Acta Universitatis Agriculturae Sueciae, Sweden.

**30.**Topraggaleh, T. R., Shahverdi, A., Rastegarnia, A., Ebrahimi, B., Shafiepour, V., Sharbatoghli, M. (2014). Effect of cysteine and glutamine added to extender on post-thaw sperm functional parameters of buffalo bull. *Andrologia*, 46(7); 777-783.

**31.**Triwulanningsih, E., Situmorang, P., Sugiarti, T., Sianturi, R.G., Kusumaningrum, D.A. (2010). Effect of glutathiaion addition to the sperm diluentmedium on quality of bovine chilled semen. *Indonesian J. Agri*, 3(1); 60-65.

**32.**Uysal, O., Bucak, M.N. (2009). The role of different trehalose concentrations and cooling rates in freezing of ram semen. *Ankara Univ. Vet.Fak.Derg*, 56; 99-103.

**33.**Zamiri. M.J. (2006). *Physiology of Reproduction*. 1<sup>st</sup> ed. HaghShenas publication. Tehran, Iran.



# The Effect of Different Levels of Amino Acid Cysteine on Sperm Quality and Total Antioxidant Capacity of Seminal Plasma in Arabi Ram

Z. Yoosefzadeh<sup>1</sup>, **S.Tabatabaei Vakili**<sup>2</sup>, M. Mamouei<sup>3</sup>, M. Zarei<sup>4</sup>

1.M.Sc. Animal Physiology, Khuzestan Agricultural and Natural Resources University, Ahvaz, Iran.

2.Associate Professor, Animal Science Department, Khuzestan Agricultural and Natural Resources University, Ahvaz, Iran. [tabatabaei@ramin.ac.ir](mailto:tabatabaei@ramin.ac.ir)

3.Professor, Animal Science Department, Khuzestan Agricultural and Natural Resources University, Ahvaz, Iran.

4.Professor, Department of Food Hygiene, ShahidChamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Received:2018.18. 9

Accepted: 2018. 11.11

## Abstract

**Introduction & Objective:** During the semen storage, oxidative damages by oxidation are the major causes of decrease in sperm quality. The aim of this study was to evaluate the effect of different levels of cysteine supplemented into the diluent on semen characteristics of Arabi ram in liquid condition under 5 °C.

**Materials and Methods:** Semen samples were collected weekly from 10 Arabi rams for 8 weeks and mixed. After dilution, samples were divided into 5 parts and received the levels of cysteine (5, 10, 15 and 20 mmol). During the storage (1, 12, 24, 36 and 48 h), semen quality parameters were evaluated.

**Results:** In all times of semen storage, sperm membrane integrity rate in cysteine treatments was improved ( $P < 0.05$ ). 24 and 36 h after semen storage, spermatozoa viability in 5, 10 and 15 mmol of cysteine was increased ( $P < 0.05$ ). In 36 h and 48 h, 5 and 10 mmol of cysteine reduced the spermatozoa defect rate ( $P < 0.05$ ). In 48 h of storage, progressive motility and viability rates of spermatozoa in 5-15 mmol of cysteine increased ( $P < 0.05$ ). The highest total antioxidant capacity of seminal plasma for times 1 and 24 h of semen storage was observed in 15 and 20 mmol of cysteine ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** In conclusion, with increasing the storage period of Arabi ram semen, the lower levels of cysteine (lower than 15mM), improved the most of spermatozoa quality characteristics. But, the total antioxidant capacity of seminal plasma was increased in higher levels of cysteine (15 and 20 mmol).

**Key word:** Cysteine, *In vitro*, Ram, Semen quality.