Archive of SID

پژوهش‌های علوم دامی
Animal Science Research

مقاله علمی پژوهشی/نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۳۱ شماره ۳/ سال ۱۴۰۰/ صفحات ۱۱۳ تا ۱۲۴

DOI: 10.22034/AS.2022.38408.1556

بررسی اثر افزودن سیستئامین بر کیفیت فراسنجه‌های اسپرم و کاهش میزان پراکسیداسیون لیپید منی خروس سویه راس ۳۰۸ طی انجماد-یخ‌گشایی

مهدی نظری[۱]، حسین دقیق‌کیا[۲*] و جمیله امامی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۱/۲٤ تاریخ پذیرش: ۹۹/٤/۱۱

[۱]دانشجوی دکتری گره علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز
[۲]استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز
[۳] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز
[*]مسئول مکاتبه: Email: daghighkia@tabrizu.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: آسیب غشایی به‌عنوان یکی از دلایل کاهش تحرک و باروری اسپرم خروس مطرح است. تاکنون آنتی‌اکسیدان‌های مختلفی جهت کاهش یا جلوگیری از آسیب‌های غشایی در حین انجماد و ذوب مورداستفاده قرارگرفته است. **هدف**: در این تحقیق از اسیدآمینه سیستئامین به‌منظور کاهش استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی و بهبود عملکرد اسپرم طیور استفاده شد. **روش کار**: بدین منظور نمونه‌های منی از ۱۵ قطعه خروس سویه راس۳۰۸ با سن ۲۵ هفته به روش مالش پشتی-شکمی جمع‌آوری شدند. نمونه‌های منی پس از ارزیابی اولیه باهم مخلوط و سپس رقیق‌سازی شده و متعاقب افزودن مقادیر ۰/۱۵، ۰/۳۰ و ۰/٤٥ میکرومولار اسیدآمینه سیستئامین، تحت روند سردسازی و انجماد قرار گرفتند. بعد از یخ‌گشایی نمونه‌ها، فراسنجه‌های حرکتی اسپرم با استفاده از سیستم آنالیز کامپیوتری اسپرم (CASA)، زنده‌مانی با استفاده از روش رنگ‌آمیزی ائوزین-نیگروزین، یکپارچگی غشاء با استفاده از آزمون هاست، میزان اسپرم‌های ناهنجارمورفولوژیکی با استفاده از تست هانکوک و میزان لیپید پراکسیداسیون اندازه‌گیری شدند. **نتایج**: افزودن سطوح ۰/۳۰ و ۰/٤٥ میکرومولار اسیدآمینه سیستئامین باعث افزایش معنی‌دار تحرک کل اسپرم نسبت به گروه شاهد گردید (P<۰/۰۵). افزودن سطح ۰/۳۰ میکرومولار این اسیدآمینه سبب افزایش تحرک پیش‌رونده ، VSL، VCL و VAP ،گردید و در رابطه با دیگر فراسنجه‌ها، افزودن ۰/۳۰ میکرومولار موجب افزایش معنی‌دار میزان زنده‌مانی، سلامت غشاء و کاهش معنی‌دار میزان مالون‌دی‌آلدهید نسبت به گروه شاهد شد (P<۰/۰۵). افزودن اسیدآمینه سیستئامین باعث کاهش معنی‌دار اسپرم‌های با مورفولوژی ناسالم طی انجماد-یخ‌گشایی نشد. **نتیجه گیری نهایی**: مطالعه حاضر نشان داد افزودن سیستئامین می‌تواند باعث محافظت اسپرم از تنش اکسیداتیو گردد و پراکسیداسیون لیپید را کاهش بدهد.

واژگان کلیدی: آنتی‌اکسیدان، اسپرم، سیستئامین، تنش اکسیداتیو، مالون‌دی‌آلدهید

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

توسعه پرورش طیور در سال‌های اخیر و تبدیل آن به صنعتی عظیم و فعال از نظر تهیه گوشت سفید و تخم‌مرغ، در رفع نسبی بحران کمبود پروتئین حیوانی، بسیار مؤثر و مفید بوده و توانسته است از نظر تأمین مواد غذایی نقش ارزنده‌ای داشته باشد. برای پیشرفت هرچه بیشتر این صنعت نیاز به راهکارهایی برای کم شدن هزینه‌ها، انتخاب بهترین نژادها و افزایش بهره‌وری است. در این زمینه با توجه به سهم بسیار بارز خروس‌ها در تعیین هزینه‌ها و مشکلات مربوط به مدیریت هم‌زمان مرغ و خروس در گله‌های مادر، بحث جداسازی خروس‌ها و استفاده از روش تلقیح مصنوعی مطرح است (مهدی پور و دقیق‌کیا ۲۰۱۹). ذخیره‌سازی طولانی مدت منی به‌منظور دستیابی به مزایای تلقیح مصنوعی، امری ضروری به‌حساب می‌آید. انجماد اسپرم ابزار مهمی برای حفاظت از گونه‌های وحشی و اهلی، مدیریت دام، حفظ تنوع ژنتیکی و انتشار ژنتیک مطلوب در سراسر جهان محسوب می‌شود (تانسر و همکاران ۲۰۱۰). این امر به‌وسیله فرآیند انجماد اسپرم محقق می‌شود که موجب توقف فعالیت‌های متابولیکی اسپرم‌ها شده و در نتیجه امکان ذخیره‌سازی نامحدود و بدون کاهش معنی‌دار باروری را در پی دارد (بایلی و همکاران ۲۰۰۰). انجماد اسپرم شامل قرار دادن اسپرم‌ها در معرض مواد محافظ انجمادی، کاهش دما به زیر صفر درجه سانتی‌گراد و ذخیره‌سازی است. اگرچه در زمینه انجماد اسپرم پیشرفت‌های زیادی صورت گرفته است، اما این فرآیند از طریق وارد کردن آسیب‌های مکانیکی و شیمیایی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن[1] بروز تنش اکسیداتیو و کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، پتانسیل عملکرد و کیفیت اسپرم را متأثر می‌کند (وانگ و همکاران ۱۹۹۱)، و منجر به مرگ بخش قابل‌توجهی از اسپرم‌ها در کلیه گونه‌ها (۶۰-۴۰٪ در مرغ) می‌شود و تأثیر مهمی بر کیفیت بقای گامت‌ها دارد (ثانانوراک و همکارن ۲۰۱۷).

تنش اکسیداتیو در نتیجه عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها رخ می‌دهد و می‌تواند منجر به تخریب، بدشکل شدن و احتمالاً ناباروری اسپرم شود. گزارش‌شده است که از یک سو تولید رادیکال‌های آزاد به وسیله اسپرم، یک فرایند طبیعی فیزیولوژیک است و نقش بسیار مهمی را در فرایند فیزیولوژیکی اسپرم همانند ظرفیت دار شدن و واکنش آکروزومی ایفا می‌کند؛ اما در طرف دیگر، مقادیر بالای ROS عامل اصلی اختلال عملکرد اسپرم است (بانسال و بیلاشپوری ۲۰۱۱). مطالعات زیادی نشان داده‌اند که تنش اکسیداتیو ناشی از افزایش رادیکال‌های آزاد و همچنین پراکسیداسیون لیپیدی از مهم‌ترین عوامل افزایش آسیب عملکردی بوده و باعث افت کیفیت اسپرم می‌شود که درصد باروری را به میزان قابل‌توجهی پایین می‌آورد (ایشا لایالی و همکاران ۲۰۱۵). پژوهش‌های مختلف نشان داده‌اند که محافظت از غشاء اسپرم در مقابل واکنش اکسیداتیو، توسط آنتی‌اکسیدان‌ها صورت می‌گیرد. در واقع آنتی‌اکسیدان‌ها باعث کاهش، حذف و غیرفعال‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌شوند، شرایط سلولی را به‌گونه‌ای عوض می‌کنند که حرکت و کیفیت اسپرم حفظ شود. بسیاری از ترکیبات نظیر برخی از عصاره‌های گیاهی، برخی مواد شیمیایی صنعتی و برخی از اسیدهای آمینه می‌توانند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان فعالیت کرده و رادیکال‌های آزاد را در محیط خنثی کنند (صیفی جمادی و همکاران ۲۰۱۶). اگرچه اسپرم‌ها حاوی سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل آنزیم‌های مختلف آنتی‌اکسیدانی، یعنی گلوتاتیون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و آنتی‌اکسیدان‌های دیگر مانند ویتامین‌های E و C هستند، اما زمانیکه تحت تأثیر انجماد قرار می‌گیرند، بخش عمده فعالیت آن‌ها از بین می‌رود یا کاهش پیدا می‌کند که این عمل شدت لیپید پر اکسیداسیون را افزایش می‌دهد (انگویان و همکاران ۲۰۱۵).

[1] Reactive Oxygen Species

www.SID.ir

Archive of SID

سیستئامین یک آنتی‌اکسیدان آمینوتیول است که به‌عنوان حذف کننده مؤثر رادیکال هیدروکسیل شناخته‌شده است (ایشی و همکاران ۱۹۸۱). سیستئامین طی بلوغ تخمک باعث افزایش سطح گلوتاتیون داخل سلولی در گاو، خوک و سایر پستانداران می‌شود (پاودوری و همکاران ۲۰۲۰). سیستئامین در مقادیر کم سبب وارد شدن سیستئین به سلول شده و باعث تولید گلوتاتیون، به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان درون‌سلولی می‌شود ولی سیستئامین در مقادیر زیاد، با تولید هیدروژن پراکسید سبب تنش اکسیداتیو شده و کاهش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز را بدنبال دارد (بسوت و همکاران ۲۰۱۳). آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز از آنزیم‌هایی با فعالیت پراکسیدازی است که نقش مهمی در جاروب کردن پراکسیداسیون‌ها دارد و سبب محافظت از سلول در برابر تنش اکسیداتیو می‌شود. همچنین گلوتاتیون می‌تواند ویتامین‌های E و C اکسید شده را دوباره احیا کرده و آن‌ها را به ساختار اولیه آنتی‌اکسیدانی برگرداند (الماسی و همکاران ۲۰۱٤).

برخی گزارش‌ها نشان می‌دهند که سیستئامین باعث بهبود انجماد اسپرم قوچ شده است(بوکاک و همکاران ۲۰۰۷). با این حال، افزودن سیستئامین برای منجمد کردن مایع منی گونه‌های مختلف، نتایج متناقضی در برداشته است (بوکاک و همکاران ۲۰۰۷؛ سوامی و همکاران ۲۰۱۷ ؛ نجفی و همکاران ۲۰۱٤ ؛ بوکاک و همکاران ۲۰۰۹ و ثانانوراک و همکاران ۲۰۱۹). لذا هدف از پژوهش حاضر، تعیین اثرات آنتی‌اکسیدانی سیستئامین بر فراسنجه‌های عملکردی اسپرم خروس با رقیق‌کننده لیک بر پایه لیسیتین است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در واحد مرغداری ایستگاه تحقیقاتی و پژوهشی خلعت پوشان دانشگاه تبریز انجام پذیرفت.

پرندگان و طراحی آزمایش

بدین منظور از۱۵ قطعه خروس بالغ سویه راس ۳۰۸ با سن ۲۵ هفته استفاده شد. خروس‌ها در قفس‌های انفرادی به ابعاد ۸۵ × ۷۰ × ۷۰ سانتی‌متر و تحت شرایط ۱۵ساعت روشنایی و ۹ ساعت تاریکی قرار داشته که با جیره یکسان ۱۵۰ گرم (جدول ۱، بر اساس کاتالوگ راهنمای سویه راس۳۰۸) برای هر خروس تغذیه شدند. خروس‌ها دسترسی آزاد به آب داشتند.

Table 1- Feed ingredients and nutrient composition of basal diet

Number	Compound	Quantity%
1	Corn	50.8
2	Soybean	8.59
3	Wheat	20
4	Wheat bran	17
5	Dicalcium phosphate	0.74
6	Calcium carbonate	0.38
7	salt	0.38
8	Lysine	0.08
9	Methionine	0.17
10	vitamin and mineral supplement	0.5

جمع‌آوری منی و اندازه‌گیری فراسنجه‌ها پیش از انجماد

اسپرم گیری به روش مالش پشتی-شکمی انجام شد. خروس‌ها بمدت یک ماه عادت‌دهی شده و اسپرم گیری در هر هفته دو بار انجام گرفت. نمونه‌های اسپرم بلافاصله پس از اخذ توسط فلاسک حاوی آب گرم ۳۷ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از رسیدن نمونه‌ها به آزمایشگاه، ابتدا اسپرم‌ها ازنظر حجم، غلظت و رنگ بررسی‌شده و در مطالعه حاضر نمونه‌هایی با حجم ۰/۲ تا ۰/۷ میلی لیتر و تحرک بیش از ۸۰ درصد و غلظت بیشتر از ۳×۱۰^{۹} در هر میلی لیتر مورداستفاده قرار گرفتند. برای از بین بردن اثرات انفرادی، نمونه‌های تأییدشده با یکدیگر مخلوط شدند (مهدی‌پور و دقیق‌کیا ۲۰۱۹ و صفا و همکاران ۲۰۱٦).

www.SID.ir

Archive of SID

آماده‌سازی رقیق‌کننده پایه و رقیق‌سازی نمونه‌ها

برای رقیق کردن نمونه‌های منی از رقیق‌کننده لیک[1] (فروکتوز ۰/۸ گرم، پتاسیم‌سیترات ۰/۵ گرم، سدیم‌الگلوتامات ۱/۹۲ گرم، پلی‌وینیل پیرولیدون ۰/۳ گرم، منیزیم‌استات ۰/۰۷ گرم، گلیسین ۰/۳۷٤ گرم، لستین ۱ گرم، گلیسرول ۱۱ درصد و آب دو بار تقطیر ۱۰۰ میلی‌لیتر) استفاده شد (مسعودی و همکاران ۲۰۱۹). مواد شیمیایی و همچنین اسیدآمینه سیستئامین مورد استفاده در مطالعه حاضر از شرکت مرک و سیگما آلمان تهیه شدند. رقیق‌کننده پایه به دو قسمت مساوی تقسیم و به یکی از آن‌ها یک چهارم گلیسرول و به دیگری سه چهارم گلیسرول افزوده شد سپس رقیق‌کننده حاوی یک چهارم گلیسرول در ٤ فالکون به مقدار یک میلی لیتر ریخته شد و مقادیر ۰/۱۵، ۰/۳۰ و ۰/٤٥ میکرومولار اسیدآمینه سیستئامین به آن اضافه گردیده یک لوله بدون دریافت اسید آمینه سیستئامین به‌عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد. سپس اسپرم به فالکون‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد اضافه گردید و بلافاصله فالکون‌ها به همراه رقیق‌کننده حاوی سه چهارم گلیسرول به یخچال که دمای آن روی ٤ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده منتقل گردید و بعد از دو ساعت سردسازی و رسیدن دمای نمونه‌ها به ٤ درجه سانتی‌گراد، یک میلی لیتر رقیق‌کننده حاوی سه‌چهارم گلیسرول به هرکدام از فالکون‌ها افزوده شد که حجم محلول به ۲ میلی‌لیتر رسیده و رقیق‌سازی نهایی منی به نسبت ۱:۲۰ انجام شد، پس از این مرحله برای تعادل دمایی نمونه‌ها بمدت یک ساعت دیگر در یخچال نگهداری شدند (مهدی‌پور و دقیق‌کیا ۲۰۱۹ و صفا و همکاران ۲۰۱٦).

مراحل انجماد و یخ‌گشایی

پس از تهادل دمایی، نمونه‌های موردنظر بداخل پایوت‌های ۰/۲۵ میلی‌لیتری کشیده شده و در ارتفاع ٤ سانتی‌متری بخار ازت بمدت ۷ دقیقه قرار گرفتند؛ سپس داخل ازت مایع غوطه‌ور شدند و در مرحله بعدی پایوت‌ها به داخل تانک حاوی ازت مایع منتقل شدند و بمدت یک ماه داخل تانک نگهداری شدند. جهت بررسی وضعیت اسپرم‌ها، پایوت‌های حاوی نمونه از داخل تانک خارج شد و بمدت ۳۰ ثانیه در آب داخل بن ماری با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد ذوب شدند. تمامی مراحل بالا ۵ مرتبه تکرار شدند.

تحرک اسپرم

جهت ارزیابی پارامترهای تحرک کل و پیش‌رونده، ۵ میکرولیتر از نمونه منی یخ‌گشایی شده را روی لام قرار داده و بعد از پوشاندن با لامل زیر میکروسکوپ قرار داده شد. از هر نمونه حداقل ۱۰ فیلد بطور کاملاً تصادفی انتخاب‌شده و پارامترهای تحرک حداقل ۲۰۰ اسپرم به‌وسیله سیستم کاسا[2] (CASA, Video Test Sperm 3.1 Russia) مورد ارزیابی قرار گرفتند (نجفی و همکاران ۲۰۱۹)

زنده‌مانی

برای ارزیابی میزان اسپرم‌های زنده و مرده از رنگ‌آمیزی حیاتی ائوزین-نیگروزین استفاده گردید. بدین منظور ۱۰ میکرولیتر نمونه اسپرم رقیق‌شده از هر گروه را پس از یخ‌گشایی بر روی یک لام قرارگرفته و با ۲۰میکرو لیتر از رنگ ائوزین نیگروزین مخلوط گردید. سپس توسط یک لام دیگر نمونه رنگ شده بر روی لام گسترش یافته و پس از خشک شدن، توسط میکروسکوپ فازکنتراست با بزرگنمایی ٤۰× و شمارش ۲۰۰ اسپرم، درصد اسپرم‌های زنده (رنگ نشده) و مرده (رنگ‌شده) تعیین شدند (ایوانز و مکس ول ۱۹۸۷).

سلامت غشاء پلاسمایی اسپرم

برای ارزیابی سلامت غشا اسپرم از آزمون هاست[3] استفاده شد. برای این منظور ۱۰ میکرو لیتر از مایع منی یخ‌گشایی شده به ۱۰۰ میکرولیتر محیط هایپواسموتیک هاست (۹ گرم فروکتوز، ٤/۹ گرم سیترات سدیم، ۱۰۰۰

[1] Lake

[2] Computer-assisted sperm analysis

[3] Host (hypoosmotic swelling test)

www.SID.ir

Archive of SID

میلی لیتر آب مقطر با اسمولاریته ۱۰۰ میلی‌اسمول) اضافه گردید. با توجه به اینکه فشار اسمزی موردنیاز برای اسپرم خروس ۳۱۰ میلی اسمولار است، بنابراین قرار گرفتن در محیطی با فشار اسمزی پایین‌تر (هایپواسمول) می‌تواند باعث تمایز اسپرم‌های با غشای سالم از اسپرم‌هایی با غشای آسیب‌دیده گردد. بدین‌صورت که دم اسپرم‌های سالم پس از مواجهه با این محیط متورم شده و به شکل پیچ‌خورده در می‌آید. به‌منظور انجام این آزمایش، ۱۰ میکرولیتر از نمونه اسپرم با ۱۰۰ میکرو لیتر از محلول هایپواسمول فوق درون میکروتیوب مخلوط شده و بمدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس ۵ میکرو لیتر از محلول فوق بر روی یک لام قرارگرفته و درصد اسپرم‌های با دم متورم و پیچ‌خورده با شمارش ۲۰۰ اسپرم و بزرگنمایی ×۴۰ با میکروسکوپ فاز کنتراست تعیین گردیدند (ریول و مرود ۱۹۹٤) .

مورفولوژی

برای ارزیابی مورفولوژی اسپرم، از محلول هانکوک استفاده شد. بر اساس این تست، ۱۵ میکرولیتر از هر نمونه منی را به میکروتیوب‌های حاوی ۱۵۰ میکرولیتر از محلول هانکوک افزوده شد. سپس یک قطره از این مخلوط را روی لام قرار داده و توسط یک لامل پوشانده و با شمارش حداقل ۲۰۰ اسپرم زیر میکروسکوپ فازکنتراست با بزرگنمایی ×۴۰۰، درصد اسپرم‌های غیرطبیعی محاسبه شدند (هانکوک ۱۹۵٦).

لیپید پراکسیداسیون

به‌منظور تعیین میزان پراکسیداسیون لیپیدهای اسپرم از تست TBARs[1] استفاده شد. در این تست، میزان مالون-دی‌آلدهید(MDA) به‌عنوان شاخصی از میزان پراکسیداسیون لیپیدها از طریق واکنش با تیوباربیتوریک اسید اندازه‌گیری شد. بدین منظور، ابتدا به‌منظور رسوب پروتئین‌ها، ۱ میلی‌لیتر از محلول هر گروه تیماری بعد از یخ گشایی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۲ میلی‌لیتر اسیدتری کلرواستیک در یک لوله استریل مخلوط کرده و سپس جهت جلوگیری از وقوع پر اکسیداسیون لیپیدی در طی زمان انجام آزمایش، مقدار ۱ میلی لیتر از محلول هیدروکسی تولوئن بوتیله شده یا (BHT دو درصد در اتانول) به همراه ۱ میلی‌لیتر EDTA به محلول موردنظر افزوده شد. سپس نمونه‌ها بمدت ۱۵ دقیقه با دور g×۱۲۰۰ سانتریفیوژ شدند. پس از اتمام سانتریفیوژ، ۱ میلی لیتر از محلول رویی را برداشته و با ۱ میلی لیتر از محلول تیوباربیتوریک اسید ۰/٦۷ درصد در یک فالکون مخلوط کرده و بمدت ۲۰ دقیقه در آب ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از سرد شدن نمونه‌ها، میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول‌موج ۵۳۲ نانو متر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر(T80 UV/VIS PG Instruments Ltd, UK) اندازه‌گیری شدند (استربار و کیزمان ۱۹۹۰).

آنالیز آماری

پژوهش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی با ٤ تیمار، ۵تکرار اجرا شد. داده‌های بدست‌آمده برای پارامترهای درصد تحرک کل، تحرک پیش‌رونده زنده‌مانی، پاسخ به محلول HOST، هانکوک و سطح مالون‌دی‌آلدهید به‌وسیله رویه GLM نرم‌افزار (۹.۳) SAS مورد آنالیز قرار گرفتند. برای مقایسه معنی‌داری میانگین‌ها تیمارها از آزمون توکی‌کرامردر سطح (P< ۰/۰۵) استفاده شد. مدل آماری این طرح عبارت است از: $Y_{ij} = \mu + Treat_i + e_{ij}$

$j = (۱-۵), i== (۱-۴)$

Y_{ij} = شاهده ij ام

μ = میانگین جمعیت

$treat_i$ = اثر تیمارها

e_{ij}= اثر عوام ناشناخته ij ام

[1] Thiobarbituric acid

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج

براساس جدول ۲ افزودن سطوح ۰/۳۰ و ۰/٤٥ میکرو مولار سیستئامین باعث افزایش معنی‌داری تحرک کل اسپرم‌ها نسبت به گروه شاهد شد (P<۰/۰۵). همچنین سطح ۰/۳۰ میکرومولار سبب افزایش معنی‌داری در حرکت پیش‌رونده و فراسنجه‌های VSL،VAP و VCL گردید (P< ۰/۰۵).

Table 2: Mean comparison of motility parameters of rooster thawed semen among different levels of treatments (Mean ± SEM)

Variable	Control	Cys 0.15 µM	Cys 0.30 µM	Cys 0.45 µM	P value
TM (%)	57.20^{b}±1.49	63.00^{ab}±1.49	65.00^{a}±1.49	64.20^{a}±1.49	0.008
PM (%)	32.20^{b}±1.51	32.40^{b}±1.51	39.40^{a}±1.51	34.40^{ab}±1.51	0.013
LIN (%)	38.92±1.94	35.78±1.94	41.41±1.94	37.87±1.94	0.26
VSL (µm/s)	17.04^{b}±1.03	16.21^{b}±1.03	21.93^{a}±1.03	18.45^{ab}±1.03	0.006
VCL (µm/s)	20.89^{b}±1.23	19.44^{b}±1.23	25.18^{a}±1.23	21.37^{ab}±1.23	0.03
VAP (µm/s)	44.18^{b}±1.48	44.86^{b}±1.48	52.77^{a}±1.48	48.83^{ab}±1.48	0.003
ALH (µm)	1.80±0.14	1.82±0.14	2.04±0.14	2.17±0.14	0.24
STR (%)	81.95±2.03	83.36±2.03	87.50±2.03	86.02±2.03	0.26
BCF (Hz)	17.08±0.55	16.79±0.55	17.20±0.55	15.92±0.55	0.37

Mean within same row with different superscripts differ (P< 0.05). TM: Total motility, PM: Progressive motility, ALH: Lateral head displacement, LIN: Linearity, VSL: Straight line velocity, STR: Straightness, VCL: Curvilinear velocity, VAP: Average path velocity, BCF: Beat cross frequency

نتایج حاصل از آنالیز داده‌های درصد زنده‌مانی، درصد اسپرم‌های با غشای سالم، درصد اسپرم‌های با مورفولوژی ناسالم و میزان غلظت مالون درآلدهید موجود در پلاسمای منی در جدول ۳ گزارش‌شده است. نتایج حاصل نشان می‌دهد که افزودن اسیدآمینه سیستئامین باعث بهبود فراسنجه‌های حیاتی اسپرم خروس می‌شود طوری که سطح ۰/۳۰ میکرومولار این اسیدآمینه سبب افزایش معنی‌دار زنده‌مانی و سلامت غشای اسپرم خروس و نیز کاهش معنی‌دار میزان مالون‌دی‌آلدهید منی در مقایسه با گروه شاهد شد (۰/۰۵ >P) میزان ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم خروس تحت تاثیر سطوح بکار رفته اسیدآمینه سیستئامین قرار نگرفتند.

Table 3: Effect of different levels of cysteamine on plasma membrane integrity, viability, abnormality and lipid peroxidation (Mean ± SEM)

Variable	Control	Cys0.15 µM	Cys0.30 µM	Cys0.45 µM	P value
Plasma membrane integrity %	32.30^{b}±1.74	41.32^{ab}±1.74	47.47^{a}±1.74	43.39^{ab}±1.74	0.026
Viability %	64.80^{b}±1.38	67.60^{ab}±1.38	72.68^{a}±1.38	68.56^{ab}±1.38	0.008
Abnormality %	17.65±0.74	17.47±0.74	16.96±0.74	17.18±0.74	0.91
Malondialdehyde(nmol/ML)	3.01^{a}±0.13	2.69^{a}±0.13	2.13^{b}±0.13	2.54^{ab}±0.13	0.001

Mean within same column with different superscripts differ (P< 0.05)

بحث

هدف از مطالعه حاضر کاهش تولید میزان ROS و میزان پراکسیداسیون لیپید و بهبود سلامت غشا و زنده مانی است. اسپرم پرندگان دارای سیستم آنتی‌اکسیدانی پیشرفته‌ای بوده که شامل انتی‌اکسیدان‌های گلوتاتیون پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز می‌باشد (سورای ۱۹۹۹). حفظ تعادل بین تولیدROS و سیستم آنتی اکسیدانی جهت حفظ زنده مانی اسپرم ضروری بوده که

www.SID.ir

Archive of SID

با انجماد اسپرم این تعادل بر هم میخورد و موجب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد از جمله ROS ها می‌شود (بریکو و همکاران ۲۰۰۱). افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و یا کاهش ظرفیت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها، هر دو از عوامل اصلی بوجود آمدن تنش اکسیداتیو و آسیب‌های ناشی از آن می‌باشند و رادیکال‌های آزاد برای غشای سلولی مضر هستند و که باعث پراکسیداسیون لیپید می‌شوند و موجب اختلال در عملکرد طبیعی اسپرم میشود(صفا و همکاران ۲۰۱٦). ترکیب لیپیدی غشای اسپرم خروس نقش تعیین کننده‌ای در کیفیت و میزان باروری آن ایفا می‌کند (بلسبایز ۲۰۱۱). با این‌وجود می‌توان با افزودن آنتی‌اکسیدان‌های مناسب، سبب کاهش آسیب‌های وارد بر اسپرم شد و سبب حفظ تحرک، زنده‌مانی و کاهش پراکسیداسیون لیپید طی انجماد و یخ‌گشایی گردید (امینی و همکاران ۲۰۱۵؛ بال و همکاران ۲۰۰۱ و تاتون و همکاران ۲۰۱۰). آنتی‌اکسیدان‌ها در گونه‌های مختلف و در دوزهای مصرفی نتایج متفاوتی را نشان می‌دهند (نظری و دقیق کیا ۲۰۲۰). در مطالعه حاضر افزودن اسیدآمینه سیستئامین به رقیق‌کننده اسپرم خروس طی انجماد و یخ‌گشایی سبب افزایش معنی‌داری در پارامترهای حرکتی و زنده‌مانی شد که موافق با نتایج بوکاک و همکاران (۲۰۰۷) بود که گزارش کردند افزودن سیستئامین به رقیق‌کننده قوچ سبب بهبود پارامترهای حرکتی اسپرم شد. نجفی و همکاران (۲۰۱٤) نیز با افزودن سطوح ۲، ٤ و ٦ میلی مولار سیستئامین، افزایش در تحرک و زنده‌مانی اسپرم قوچ را گزارش کردند، ولی در سطح ۸ میلی مولار این پارامترها کاهش قابل توجهی داشتند همچنین بر اساس مطالعه بوکاک و همکاران (۲۰۰۷) افزودن ٥ و ۱۰ میلی‌مول سیستئامین سبب افزایش معنی‌داری در تحرک اسپرم قوچ طی انجماد و یخ‌گشایی نسبت به گروه شاهد شد. نتایج تحقیق حاضر مخالف با نظریه ثانانوراک و همکاران (۲۰۱۹) بود که گزارش کردند افزودن سطوح ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۲، ۰/۰۰٤ میلی مولار سیستئامین نه تنها تأثیر مثبتی در تحرک اسپرم خروس نداشت، بلکه سبب کاهش تحرک نیز شد. احتمالاً بخاطر مقدار زیاد دوز مصرفی در رقیق‌کننده بود (بسوت و همکاران ۲۰۱۳). سیستئامین در مقادیر زیاد سبب تولید هیدروژن پراکسید می‌شود که سبب تنش اکسیداتیو شده و باعث کاهش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز می‌شود. سیستئامین در مقادیر کم باعث وارد شدن سیستئین به سلول می‌شود که باعث تولید گلوتاتیون، به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان درون‌سلولی می‌شود (بسوت و همکاران ۲۰۱۳). بر طبق گزارش پورتیکا و همکاران (۲۰۱۳)، سیستئین باعث افزایش تحرک و زنده‌مانی اسپرم خروس شد. آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز از آنزیم‌هایی با فعالیت پراکسیدازی است که نقش مهمی در جاروب کردن پراکسیداسیون‌ها دارد و سبب محافظت از سلول در برابر تنش اکسیداتیو می‌شود، همچنین گلوتاتیون می‌تواند ویتامین‌های E و C اکسید شده را دوباره احیاء کرده و آن‌ها را به ساختار اولیه آنتی‌اکسیدانی برگرداند (الماسی و همکاران ۲۰۱٤). افزودن گلوتاتیون به رقیق‌کننده اسپرم گاو طی انجماد باعث حذف پنج برابری رادیکال‌های آزاد از محیط انجماد می‌شود (چاترجی و گانون ۲۰۱۱). سیستئامین به‌عنوان سنتزکننده گلوتاتیون می‌تواند به‌عنوان مکمل گلوتاتیون نقش بسزایی در کاهش رادیکال‌های آزاد ایفا نماید. در مطالعه حاضر اسیدآمینه سیستئامین باعث کاهش غلظت مالون‌دی‌آلدهید و افزایش یکپارچگی و سلامت غشای اسپرم خروس طی مرحله انجماد-یخ‌گشایی شد که موافق با گزارش ساروزکان و همکاران(۲۰۱٥) بود که بیان کردند افزودن ۲/٥ میلی مولار سیستئامین به اسپرم گاو *براون سوئیس* طی انجماد و یخ‌گشایی سبب کاهش میزان MDA موجود در منی شد و افزایش میزان سلامت غشا اسپرم نسبت به گروه شاهد گردید و همچنین بر اساس گزارش نجفی و همکاران (۲۰۱٤) افزودن ٦ میلی‌مولار باعث کاهش غلظت MDA موجود در سمینال پلاسمای مایع منی قوچ بصورت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل شد، اما نتایج مطالعه حاضر مخاف با نتایج بوکاک

www.SID.ir

Archive of SID

همکاران (۲۰۰۷) است که گزارش کردند افزودن سلامت غشا و میزان MDA در اسپرم قوچ تحت تاثیر سطوح بکار رفته اسیدآمینه سیستئامین قرار نگرفتند این اختلاف را در نتایج محققین پیشین را میتوان به تفاوت در سطح مورد استفاده آنتی‌اکسیدان، ترکیب و نوع اسیدهای چرب در گونه‌های و عوامل مختلف در انجماد پذیری، دمای یخ‌گشایی دانست. سیستئامین نه‌تنها کیفیت اسپرم را بعد از انجماد-یخ‌گشایی بهبود می‌بخشد، بلکه باعث افزایش مقاومت اسپرم در طی تلقیح مصنوعی در طول مجرای تناسلی می‌شود (نجفی و همکاران ۲۰۱٤).

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر مشخص گردید اضافه کردن اسید امینه سیستئامین به نمونه رقیق شده منی خروس می‌تواند باعث محافظت اسپرم در برابر تنش اکسیداتیو گردد و پراکسیداسیون لیپید را کاهش دهد. سطوح ۰/۳۰ و ۰/٤٥ میکرو مولار سبب افزایش جنبایی میگردد همچنین سطح ۰/۳۰ میکرو مولار باعث افزایش زنده مانی وسلامت غشا اسپرم و کاهش میزان مالون‌دی‌آلدهید موجود در منی خروس سویه راس۳۰۸ شد.

منابع مورد استفاده

Almasi S, Rezvanjoo B, Shirazibeheshtiha SH , Namvaran AbbasAbad A and khosravi M, 2014. Protective Effect of Coenzyme Q10 and Vitamin C on Cysteamine Induced Lipid Peroxidation. Journal of Veterinary Clinical Research 5(1): 21-29.

Amini MR, Kohram H, Shahaneh AZ, Zhandi M, Sharideh H and Nabi MM, 2015. The effects of different levels of vitamin E and vitamin C in modified Beltsville extender on rooster post-thawed sperm quality. Cell and Tissue Banking 16(4): 587-592.

Bailey JL, Blodeau JF and Cormier N, 2000. Semen cryopreservation in domestic animals: A damaging and capacitating phenomenon minireview. Journal of Andrology 21(1): 1-7.

Ball B, Medina V, Gravance C , and Baumber, J. 2001. Effect of antioxidants on preservation of motility, viability and acrosomal integrity of equine spermatozoa during storage at 5 C. Theriogenology 56: 577-589.

Bansal AK and Bilaspuri G, 2011. Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. Veterinary Medicine International 2011:112-127.

Besouw M, Masereeuw R, Van den Heuvel L and Levtchenko E, 2013. Cysteamine: an old drug with new potential. Drug Discovery Today 18(15-16): 785-792.

Blesbois E, 2011. Freezing avian semen .Avian Biology Research 4(2): 52-58.

Blesbois E, Lessire M, Grasseau I, Hallouis J and Hermier D, 1997.Effect of dietary fat on the fatty acid composition and fertilizing ability of fowl semen. Biology of Reproduction 56(5): 1216-1220.

Breque C, Surai P and Brillard JP. 2003. Roles of antioxidants on prolonged storage avian spermatozoa in vivo and in vitro. Molecular Reproduction and Development 66: 314–323.

Bucak MN, Ateşşahin A, Varışlı Ö, Yüce A, Tekin N and Akçay A, 2007. The influence of trehalose, taurine, cysteamine and hyaluronan on ram semen: microscopic and oxidative stress parameters after freeze–thawing process. Theriogenology 67(5): 1060-10.٦٧

Bucak MN, Sarıözkan S, Tuncer PB, Ulutaş PA and Akçadağ Hİ, 2009. Effect of antioxidants on microscopic semen parameters, lipid peroxidation and antioxidant activities in Angora goat semen following cryopreservation. Small Ruminant Research 81(2-3): 90-95.

Chatterjee S and Gagnon C, 2001. Production of reactive oxygen species by spermatozoa undergoing cooling, freezing, and thawing. Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research 59(4): 451-458.

Chowdhury M, Park J, Afrin F, Ko YG, Kim CL, Lee SS and Kim, SW, 2020. Transcriptome profiling of in vitro-matured oocytes from a korean native cow (hanwoo) after cysteamine supplementation. Animal Biotechnology 1-12.

www.SID.ir

Archive of SID

Ishii T, Bannai S and Sugita Y, 1981. Mechanism of growth stimulation of L1210 cells by 2-mercaptoethanol in vitro. Role of the mixed disulfide of 2-mercaptoethanol and cysteine. Journal of Biological Chemistry 256(23): 12387-12392.

Esterbauer H and Cheeseman KH, 1990. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. Methods Enzymol 186: 407–421.

Evans G, 1987. Handling and examination of semen. Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats 93-106.

Hancock JL, 1956. The morphology of boar spermatozoa. Journal of the Royal Microscopical Society 76: 84-97.

Issa Layali ET, Joulaei M, Jorsaraei SGA and Farzanegi P, 2015. Total antioxidant capacity and lipid peroxidation in semen of patient with hyperviscosity. Cell Journal (Yakhteh) 16(4): 554.

Masoudi R, Sharafi M. and Pourazadi L, 2019. Improvement of rooster semen quality using coenzyme Q10 during cooling storage in the Lake extender. Cryobiology 88: 87-91.

Mehdipour M. and Daghigh Kia H, 2019. Improving Rooster Sperm Quality by Adding Different Levels of Naringenin after Freezing-Thawing Process. Research on Animal Production 10(25): 61-68. (in persian)

Najafi A, Daghigh Kia H, Mohammadi H, Najafi MH , Zanganeh Z, Sharafi M, Martinez-Pastor F and Adeldust H, 2014. Different concentrations of cysteamine and ergothioneine improve microscopic and oxidative parameters in ram semen frozen with a soybean lecithin extender. Cryobiology 69(1): 68-73.

Najafi A, Taheri RA, Mehdipour M, Martínez-Pastor F, Rouhollahi AA and Nourani MR, 2019. Improvement of post-thawed sperm quality in broiler breeder roosters by ellagic acid-loaded liposomes. Poultry Science 98(1): 440-446.

Daghigh Kia H and Nazari M, 2020. Effect of combination of MitoQ as a targeted antioxidant and Pentoxifylline as a non-targeted in Lake based extender on functional quality of rooster sperm during chilled storage on 4◦C. Journal of Animal Science Research 30(3):71-83. (in persian)

Nguyen TMD, Seigneurin F , Froment P, Combarnous Y and Blesbois E, 2015. The 5’-AMP-activated protein kinase (AMPK) is involved in the augmentation of antioxidant defenses in cryopreserved chicken sperm. PloS One 10(7):13-25.

Partyka A, Niżański W, Bajzert J , Łukaszewicz E and Ochota M, 2013. The effect of cysteine and superoxide dismutase on the quality of post-thawed chicken sperm. Cryobiology 67(2): 132-136.

Revell SG and Mrode RA, 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. Animal Reproduction Science 36: 77-86.

Safa, S, Moghaddam G, Jozani RJ, daghigh Kia H and Janmohammadi H, 2016. Effect of vitamin E and selenium nanoparticles on post-thaw variables and oxidative status of rooster semen. Animal Reproduction Science 174: 100-106.

Sarıözkan S, Tuncer PB, Büyükleblebici S , Bucak MN, Cantürk F and Eken A, 2015. Antioxidative effects of cysteamine, hyaluronan and fetuin on post-thaw semen quality, DNA integrity and oxidative stress parameters in the B rown S wiss bull. Andrologia, 47(2): 138-147.

Seifi-Jamadi A, Kohram H, Zareh-Shahne A , Dehghanizadeh P and Ahmad E, 2016. Effect of various concentrations of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene on freezing capacity of Turkman stallion sperm. Animal Reproduction Science 170:108-113.

Surai PF, Cerolini S, Wishart GJ, Speake BK, Noble R and Sparks NH, 1998. Lipid and antioxidant composition of chicken semen and its susceptibility to peroxidation. Avian and Poultry Biology Reviews 9:11-23.

Swami DS, Kumar P, Malik R, Saini M, Kumar D and Jan M, 2017. Cysteamine supplementation revealed detrimental effect on cryosurvival of buffalo sperm based on computer-assisted semen analysis and oxidative parameters. Animal Reproduction Science 177:56-64.

Tatone C, Di Emidio G , Vento M, Ciriminna R and Artini, P. G, 2010. Cryopreservation and oxidative stress in reproductive cells. Gynecological Endocrinology 26: 563-567.

www.SID.ir

Archive of SID

Thananurak P, Chuaychu-noo N and Vongpralub T, 2017. Freezability and fertility of Thai native chicken semen in different diluents. The Thai Journal of Veterinary Medicine 47(4): 551-556.

Thananurak P, Chuaychu-noo N ,Thélie A , Phasuk Y , Vongpralub T and Blesbois E, 2019. Different concentrations of cysteamine, ergothioneine, and serine modulate quality and fertilizing ability of cryopreserved chicken sperm. Poultry Science 99:1185-1198

Tuncer PB, Bucak MN, Sarıözka S, Sakin F, Yeni D, Çiğerci, İH, Ateşşahin A, Avdatek F, Gündoğan M and Büyükleblebici O, 2010. The effect of raffinose and methionine on frozen/thawed Angora buck (Capra hircus ancryrensis) semen quality, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities. Cryobiology 61(1): 89-93.

Wang W, Niwa K and Okuda K, 1991. In-vitro penetration of pig oocytes matured in culture by frozen–thawed ejaculated spermatozoa. Reproduction 93(2): 491-496.

www.SID.ir

Archive of SID

Evaluation of the effect of adding cysteamine on Ros 308 sperm quality parameters and reduction of lipid peroxidation rate during freezing-thawing process

M Nazari[1], H Daghigh Kia[2*] and J Emami[3]

Received: February 13, 2020 Accepted: June 24, 2020

[1]PhD Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[2]Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[3]MSc Graduated Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[*]Corresponding Author: Email; daghighkia@tabrizu.ac.ir

پژوهش‌های علوم دامی Animal Science Research

Journal of Animal Science/vol.31 No.3/ 2021/pp 113-124
https://animalscience.tabrizu.ac.ir

OPEN ACCESS

© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/)

DOI: 10.22034/AS.2022.38408.1556

Introduction: Long-term storage of semen is essential for achieving the benefits of artificial insemination (Tuncer et al. 2010). This is carried out by sperm cryopreservation, which stops the sperm metabolic activities, allowing long storage (Bailey et al. 2000). This process affects the sperm quality (Wang et al. 1991) by introducing mechanical and chemical damage, production of reactive oxygen species, oxidative stress, and reducing antioxidant activity (cysteamine is an aminothiol antioxidant as an effective scavenger). Cysteamine is known to have been reported in some studies to improve the freezing of ram sperm (Bucak et al. 2007). The aim of the present study was to determine the antioxidant effects of cysteamine on the functional parameters of cysteamine in Lake Extender based on soybean lecithin.

Material and methods This study was carried out in University of Tabriz research station. For this purpose, 15 adult roosters (25 weeks old) were used. Sperm collection was done by dorsal-abdominal massage. The roosters were habituated for one month and sperm collection was performed twice a week. First, sperm were examined for volume, concentration and color, and only samples with volume of 0.2 to 0.7 mL and motility ≥80% and concentration above 3×10^9 were used. To eliminate the individual effects, the confirmed samples were pooled. Four levels containing control, 0.15, 0.30, and 0.45 µM cysteamine were then added to Lake Extender containing (one part of semen and four of extender). The cooling process was carried out in two steps. The samples were adjusted to 4°C for two hours. Samples were transferred to the refrigerator for one more hour, then they were drawn into 0.25 mL straws, placed 4 cm above nitrogen vapor for 7 min, and immersed in liquid nitrogen. They were stored in liquid nitrogen until further analysis. For assessment, the cryopreserved straws were thawed in a water bath at 37 °C for 30 s. The motility parameters were evaluated using CASA, viability by Eosin-Nigrosin staining, membrane integrity by Host tests, sperm abnormality by Hancock test and lipid peroxidation by MDA.

Results and discussion: Based on the results (Table 2), addition of 30 and 0.45 µM significantly increased total motility and 0.30 µM level improved progressive motility, VAP, VSL and VCL parameters ($P < 0.05$). The results show that the addition of cysteamine amino acid improves sperm quality. Addition of 0.30 µM level significantly increased viability and plasma membrane integrity of rooster sperm ($P < 0.05$) while significantly decreasing malondialdehyde compared with the control group ($P < 0.05$). The addition of cysteamine insignificantly reduced sperm abnormality. The aim of

www.SID.ir

Archive of SID

this study was to reduce the production of ROS and the rate of lipid peroxidation while improving membrane health and survival. Bird sperm has an advanced antioxidant system that includes the antioxidants glutathione, peroxidase, and superoxide dismutase (Surai 1999). Adding antioxidants can control ROS production (Amini et al. 2015). Antioxidants in different species and at different doses have shown different results (Nazari and Daghigh kia 2020). Addition of cysteamine to rooster spermatozoa during freezing and thawing significantly increased motility and survival parameters, which agreed with the results of Bucak et al. (2007). Najafi et al. (2014) indicated that cysteamine at 6 mM improved viability and reduced lipid peroxidation (malondialdehyde concentration). cysteamine improved membrane functionality significantly, except at 8 mM.n. This was probably due to the high dose of diluent used. Our results did not agree with the study of Thananurak et al. (2019) who reported the negative effect of adding levels of 0.001, 0.002 and 0.004 µM on motility and viability. Low levels of cysteamine induce cysteine to enter the cell, producing glutathione as an intracellular antioxidant. Cysteamine at high doses produces large amounts of hydrogen peroxide, causing oxidative stress and reducing glutathione peroxidase activity (Besouw et al. 2013). According to report Partyka et al. (2013) cysteine increases motility and viability of rooster sperm. Glutathione peroxidase is one of the enzymes with peroxidative activity that plays an important role in sweeping high oxidations and protecting the cell from oxidative stress. Glutathione can also restore the oxidized vitamins E and C and restore them to the original antioxidant structure (Almasi et al. 2014). Cysteamine as a glutathione synthase can play a major role in reducing free radicals. In the present study, the amino acid cysteamine decreased malondialdehyde concentration and increased plasma membrane integrity and normal sperm during the freezing-thawing process. This agreed with the result of Najafi et al. (2014) reporting that addition of 6 mM reduced the concentration of malondialdehyde in ram semen compared with the control group. Not only does cysteamine improve sperm quality after freeze-thawing, but also it increases sperm resistance during artificial insemination in the reproductive female tract (Najafi et al. 2014). In the present study, cysteamine did not significantly decrease the percentage of abnormal sperm compared with the control group.

Conclusion According to the results of this study, adding amino acid cysteamine to the diluted sample of semen can protect sperm from oxidative stress and reduce lipid peroxidation. Levels of 0.30 and 0.45 µM increase the mobility. Also, the level of 0.30 µM increases the viability and health of the sperm membrane and reduces the amount of malondialdehyde in the rooster's semen

Key word: Antioxidant, Cysteamine, Oxidative stress, Malondialdehyde, Sperm

www.SID.ir