فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۴۴، جلد ۱۲، شماره ۱، زمستان ۹۷، صفحه ۱ تا ۱۲
Qjaphd.sinaweb.net ISSN: ۱۷۳۵-۹۸۸۰

تأثیر سطوح مختلف اسیدآمینه سیستئین بر کیفیت اسپرم و توان آنتی-اکسیدانی تام پلاسمای منی در قوچ عربی

زهرا یوسف زاده[۱]، **صالح طباطبائی وکیلی**[۲]، مرتضی مموئی[۳]، مهدی زارعی[۴]
۱-دانش‌آموخته 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
۳-استاد گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران.
٤-استاد گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

تاریخ دریافت:۹۷/٦/۲۷ 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 رقیق‌کننده بر خصوصیات منی قوچ عربی تحت شرایط نگهداری به صورت مایع بود.

روش کار: اسپرم‌گیری از ۱۰رأس 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 و۲۰ میلی-مول سیستئین در رقیق کننده منی بودند. در زمان‌های مختلف نگهداری منی(۱، ۱۲، ۲٤، ۳٦ و ٤۸ ساعت)، فراسنجه‌های کیفی منی بررسی شدند.

یافته‌ها: در تمام زمان‌های نگه‌داری منی، میزان سلامت غشای پلاسمایی اسپرم در تیمارهای سیستئین بهبود یافت(P<۰/۰۵). ۲٤ و ۳٦ ساعت پس از نگه‌داری منی، زنده‌مانی اسپرم‌ها در سطوح ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مول سیستئین بهبود یافت. در زمان‌های ۳٦ و ٤۸ ساعت، سطوح ۵ و ۱۰ میلی‌مول سیستئین موجب کاهش میزان ناهنجاری‌های اسپرم شدند(P<۰/۰۵). ٤۸ ساعت پس از نگه‌داری منی، میزان تحرک پیش‌رونده و زنده‌مانی اسپرم در سطوح ۵ تا ۱۵ میلی‌مول سیستئین افزایش یافت. بیشترین میزان توان‌آنتی-اکسیدانی تام پلاسمای منی در زمان‌های یک و ۲٤ ساعت، مربوط به سطوح ۱۵ و ۲۰ میلی‌مول سیستئین بود(P<۰/۰۵).

نتیجه¬گیری: 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

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 دچار استرس حرارتی شده و در دماهای پایین و بالا با کاهش خواص حیاتی خود مثل تحرک و زنده مانی 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

www.SID.ir

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(۳۳، ۲۵، ۲۱). 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 بیوسنتز گلوتاتیون داخل سلولی هم در برون تنی و هم درون تنی و محافظت لیپیدها و پروتئین های غشایی به علت خواص خنثی کنندگی غیر مستقیم رادیکال های 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 یخ گشایی 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 دناتوره 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 می-دهند(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 تأثیرافزودن سطوح مختلف اسیدآمینه سیستئین به رقیق‌کننده، 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

Archive of SID

www.SID.ir

گرفت. در فصل تولیدمثلی، اسپرم‌گیری به طور هفتگی برای مدت ۸ هفته توسط تحریک الکتریکی با الکترو اجا کولاتور انجام و منی جمع‌آوری شده از قوچ‌ها به منظور حذف اثرات فردی بلافاصله با هم مخلوط و به نسبت ۱ به ۱۰ در رقیق کننده پایه تریس(تریس ۳/۶۳ گرم، فروکتوز ۰/۵ گرم، اسید سیتریک ۱/۹۹ گرم، زرده تخم مرغ ۱۴ میلی‌لیتر و آب مقطر ۱۰۰ میلی‌لیتر) رقیق سازی شد.

تیمارهای آزمایشی

نمونه‌های انزال مخلوط و رقیق شده به ۵ قسمت تقسیم و هر کدام سطح مختلف سیستئین(صفر یا شاهد، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰میلی‌مول) را دریافت کردند. در زمان-های مختلف نگه‌داری منی رقیق‌شده حاوی تیمارهای آزمایشی(یک، ۱۲، ۲۴، ۳۶ و ۴۸ ساعت) به صورت مایع تحت دمای $5^{\circ}C$، فراسنجه‌های کیفی منی بررسی شدند.

ارزیابی فراسنجه‌ها

تحرک پیش‌رونده اسپرم: برای ارزیابی تحرک پیش‌رونده اسپرم‌ها، ۵ میکرولیتر از منی رقیق شده بر روی لام گرم قرار داده شده و پس از لامل‌گذاری، تحت میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی۴۰۰X در چند میدان درصد تحرک پیشرونده اسپرم‌ها بررسی قرار گرفته و میانگین حاصل به عنوان درصد تحرک پیشرونده ثبت گردید(۲۷).

زنده‌مانی اسپرم: جهت بررسی درصد اسپرم‌های زنده و مرده از رنگ‌آمیزی ائوزین- نیگروزین با حل کردن ۱/۶۷ گرم ائوزینY، ۱۰ گرم نیگروزین و ۲/۹ گرم سیترات سدیم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استفاده شد.، تحت بزرگنمایی ۱۰۰۰X میکروسکوپ نوری و با استفاده از روغن ایمرسیون انجام گردید. اسپرم‌های مرده رنگ ائوزین را به خود جذب کرده و به رنگ صورتی دیده شدند، اما اسپرم‌های زنده رنگ را به خود جذب نکرده و سفید رنگ ماندند(۳۲)(شکل ۱).

ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم: درصد اسپرم-های ناهنجار در نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده باائوزین-نیگروزین تحت بزرگ‌نمایی۱۰۰۰X میکروسکوپ با استفاده از روغن ایمرسیون و شمارش حداقل ۲۰۰ اسپرم در هرلام 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 ۴/۹ گرم در لیتر سیترات سدیم) به صورت تورم دم یا دم پیچ خورده است. در این حالت اسپرم‌هایی که غشای پلاسمایی سالمی دارند به محلول واکنش نشان می-دهند، ولی اسپرم های ناسالم بدون واکنش باقی می-مانند. برای این منظور، ۱۰ میکرولیتر نمونه منی با ۱۰۰ 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 ۴۰۰X 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 روشFerric Reducing Ability of Plasma یا FRAP(توانایی پلاسما 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 تری‌پریدیل- اس-

Archive of SID

www.SID.ir

تری‌آذیل(TPTZ) محلول در اسیدکلریدریک مخلوط شد. سپس به محلول فوق یک میلی‌لیتر محلول کلرید فریک افزوده گردید. پس از تهیه محلول کار ۴۰۰ سی‌سی 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 طرح به قرار زیر می‌باشد: $Y_{Ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$

Yij مقدار صفت اندازه‌گیری شده، μ میانگین صفت در جامعهٔ مورد نظر، ai اثر سطوح سیستئین و eij اثر خطای آزمایشی است.

نتایج

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

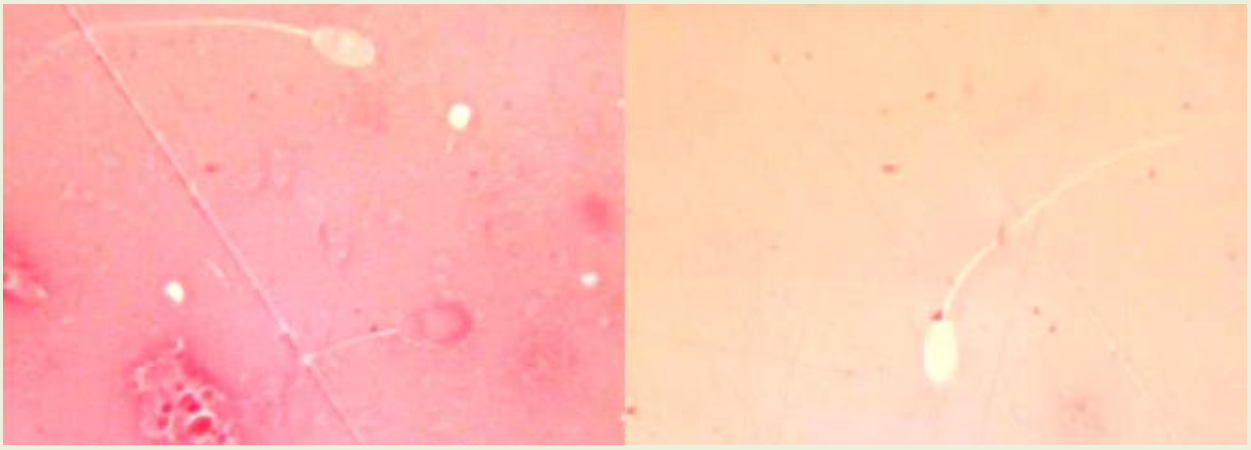
یک ساعت پس از نگهداری منی: میزان تحرک پیش‌رونده، زنده‌مانی، ناهنجاری مورفولوژیکی اسپرم و pH منی در بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشتند($P>0/05$). اما، درصد اسپرم‌های با غشای پلاسمایی سالم در تمام سطوح سیستئین به طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بودند($P<0/05$) (جدول ۱).

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 معنی‌داری 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 کم‌ترین 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 ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم در مقایسه با شاهد شدند($P<0/05$). pH منی اختلاف آماری معنی‌داری در بین تیمارها نداشت($P>0/05$)(جدول۳).

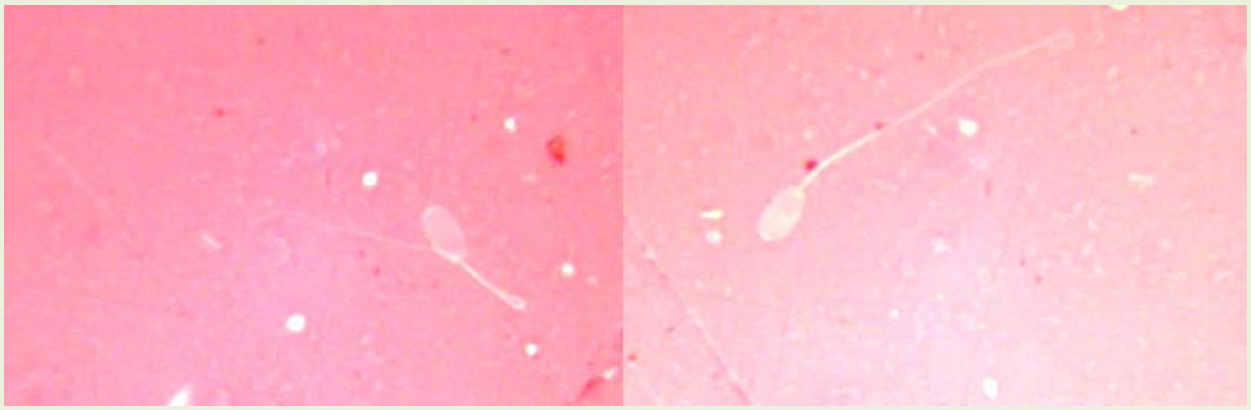
Archive of SID

www.SID.ir



اسپرم زنده (بدون رنگ) اسپرم زنده (بالا) و اسپرم مرده (پایین)

شکل ۱- اسپرماتوزوئیدهای زنده و مرده در بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰× میکروسکوپ نوری (رنگ‌آمیزیائوزین- نیگروزین)



اسپرم با مورفولوژی طبیعی اسپرم با مورفولوژی ناهنجار

شکل ۲- اسپرماتوزوئیدهای با مورفولوژی طبیعی و ناهنجار در بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰× میکروسکوپ نوری (رنگ‌آمیزیائوزین- 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	تحرک پیش‌رونده	زنده‌مانی	ناهنجاری مورفولوژیکی	سلامت غشای پلاسمایی	pH
شاهد	۹۲/۴۰ ±۱/۵۰	۹۴/۸۰ ±۱/۲۸	۴/۴۰ ±۰/۶۸	۵۳/۰۰ ±۲/۰۰ ^{b}	۷/۲۲ ±۰/۱۸
سیستئین۵	۹۱/۲۰ ±۰/۷۰	۹۵/۶۰ ±۱/۵۰	۴/۰۰ ±۰/۳۶	۷۲/۰۰ ±۲/۰۰ ^{a}	۷/۴۰ ±۰/۲۳
سیستئین ۱۰	۹۲/۴۰ ± ۱/۵۰	۹۶/۰۰ ±۱/۵۲	۴/۲۰ ±۰/۴۹	۷۱/۰۰ ±۱/۸۷ ^{a}	۷/۲۶ ±۰/۱۷
سیستئین ۱۵	۹۳/۰۰ ± ۱/۸۴	۹۵/۶۰ ±۱/۵۰	۴/۴۰ ±۰/۴۰	۶۷/۰۰ ±۳/۳۹ ^{a}	۷/۳۰ ±۰/۱۹
سیستئین ۲۰	۹۳/۶۰ ± ۱/۵۰	۹۵/۶۲ ±۱/۴۴	۴/۰۰ ±۰/۳۲	۶۵/۰۰ ±۴/۷۴ ^{a}	۷/۴۲ ±۰/۰۶

a-bتفاوت میانگین‌ها (± خطای معیار) با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).

www.SID.ir

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	تحرک پیشرونده	زنده‌مانی	ناهنجاری مورفولوژیکی	سلامت غشای پلاسمایی	pH
شاهد	^{a}۷۶/۰۰ ±۴/۳۰	^{ab}۷۷/۰۰ ±۴/۹۰	۵/۸۰ ±۰/۵۸	^{b}۴۲/۰۰ ±۵/۱۵	۷/۱۲ ±۰/۱۸
سیستئین ۵	^{a}۷۳/۰۰ ±۱۲/۴۱	^{a}۹۱/۰۰ ±۴/۰۰	۵/۴۰ ±۰/۲۴	^{a}۵۸/۰۰ ±۳/۷۴	۷/۲۴ ±۰/۱۵
سیستئین ۱۰	^{a}۸۷/۶۰ ±۶/۹۹	^{a}۹۰/۸۰ ±۵/۲۲	۵/۴۰ ±۰/۲۴	^{a}۶۲/۰۰ ±۲/۰۰	۷/۳۰ ±۰/۱۸
سیستئین ۱۵	^{a}۷۳/۴۰ ±۱۲/۵۵	^{ab}۸۳/۲۰ ±۱۲/۰۵	۶/۲۰ ±۰/۳۷	^{a}۵۹/۰۰ ±۲/۴۵	۷/۲۲ ±۰/۱۷
سیستئین ۲۰	^{b}۳۶/۰۰ ±۱۲/۸۸	^{b}۶۹/۰۰ ±۱۱/۹۸	۷/۰۰ ±۰/۵۵	^{a}۵۶/۰۰ ±۳/۳۲	۷/۳۲ ±۰/۱۳

a-b: تفاوت میانگین‌ها (± خطای معیار) با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است(P<۰/۰۵).

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	تحرک پیش‌رونده	زنده‌مانی	ناهنجاری مورفولوژیکی	سلامت غشای پلاسمایی	pH
شاهد	^{a}۵۲/۰۰ ±۳/۷۴	^{b}۵۱/۰۰ ±۳/۸۲	^{a}۱۰/۰۰ ±۱/۳۴	^{b}۲۷/۰۰ ±۳/۷۴	۷/۱۰ ±۰/۱۷
سیستئین ۵	^{a} ۷۵/۴۰ ±۷/۸۸	^{a} ۸۸/۰۰ ±۲/۰۰	^{c} ۶/۶۰ ±۰/۶۷	^{a} ۵۵/۰۰ ±۵/۷۰	۷/۴۶ ±۰/۱۷
سیستئین ۱۰	^{a} ۷۱/۴۰ ±۷/۶۸	^{a} ۸۵/۴۰ ±۳/۳۴	^{bc} ۷/۰۰ ±۰/۸۴	^{a} ۶۰/۰۰ ±۴/۴۷	۷/۳۸ ±۰/۱۸
سیستئین ۱۵	^{a} ۶۷/۰۰ ±۱۱/۷۹	^{a} ۷۹/۰۰±۱۱/۱۱	^{bc} ۷/۴۰ ±۰/۵۱	^{a} ۵۶/۰۰ ±۵/۵۷	۷/۲۰ ±۰/۱۶
سیستئین ۲۰	^{b} ۲۲/۴۰ ±۱۲/۳۸	^{b} ۴۸/۰۰ ±۹/۶۹	^{ab} ۹/۶۰ ±۰/۸۱	^{a} ۵۴/۰۰ ±۶/۹۶	۷/۳۰ ±۰/۱۵

a-c: تفاوت میانگین‌ها (± خطای معیار) با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

۳۶ ساعت پس از نگه‌داری منی: میزان تحرک پیش‌رونده‌ی اسپرم در تیمارهای دارای سیستئین اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت(P>۰/۰۵). در همین زمان، سطوح ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مول سیستئین باعث بهبود میزان زنده‌مانی اسپرم نسبت به شاهد شدند(P<۰/۰۵). هم‌چنین، کاهش معنی‌داری در میزان ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم برای سطوح ۵ و ۱۰ میلی‌مول سیستئین در مقایسه با شاهد مشاهده شد(P<۰/۰۵). در زمان ۳۶ ساعت، تمام سطوح به کار رفته سیستئین موجب بهبود سلامت غشای پلاسمایی اسپرم نسبت به شاهد شدند(P<۰/۰۵). سطوح مختلف سیستئین تاثیر معنی‌داری بر pH منی نداشتند(P>۰/۰۵)(جدول ۴).

۴۸ ساعت پس از نگه‌داری منی: سطوح ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مول سیستئین باعث بهبود میزان تحرک پیش‌رونده و زنده‌مانی اسپرم نسبت به شاهد شدند(P<۰/۰۵). هم‌چنین، میزان ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم کم‌تری در سطوح ۵ و ۱۰ میلی‌مول سیستئین در مقایسه با شاهد یافت شد(P<۰/۰۵). در زمان ۴۸ ساعت، کم‌ترین سلامت غشای پلاسمایی اسپرم متعلق به شاهد بود(P<۰/۰۵). همانند زمان‌های قبل، میزان pH منی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵) (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 میلی‌مول سیستئین باعث افزایش توان آنتی‌اکسیدانی تام

Archive of SID

www.SID.ir

پلاسمای منی نسبت به شاهد شدند($P<0/05$)(جدول۶).

جدول ٤- تأثیر سطوح مختلف سیستئین(mmol) بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم(٪) و اسیدیته منی قوچ عربی(٣٦ ساعت پس از نگه-داری منی در ۵°C).

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

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

جدول ۵- تأثیر سطوح مختلف سیستئین (mmol) بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم (٪) و اسیدیته منی قوچ عربی (٤٨ ساعت پس از نگهداری منی در ۵°C).

تیمارها	تحرک پیشرونده	زنده‌مانی	ناهنجاری مورفولوژیکی	سلامت غشای پلاسمایی	pH
شاهد	۲۵/۰۰ ±۳/۸۷^{c}	۴۳/۰۰ ±۷/۱۸^{c}	۱۲/۰۰ ±۰/۸۹^{a}	۱۵/۰۰ ±۳/۸۷^{b}	۶/۹۶ ±۰/۱۴
سیستئین ۵	۵۴/۵۰ ±۱۱/۳۰^{a}	۸۱/۴۰ ±۳/۸۰^{a}	۷/۶۰ ±۰/۶۰^{b}	۴۳/۰۰ ±۴/۹۰^{a}	۷/۰۶ ±۰/۱۷
سیستئین ۱۰	۵۳/۷۵ ± ۱۲/۸۱^{a}	۸۱/۰۰ ±۱/۸۷^{a}	۸/۲۰ ±۰/۸۰^{b}	۴۸/۰۰ ±۴/۳۶^{a}	۷/۰۶ ±۰/۲۱
سیستئین ۱۵	۵۰/۰۰ ± ۱۱/۷۳^{ab}	۸۱/۰۰ ±۳/۶۷^{a}	۸/۸۰ ±۱/۰۲^{ab}	۴۷/۰۰ ±۷/۵۲^{a}	۶/۹۶ ±۰/۲۰
سیستئین ۲۰	۱۲/۰۰ ± ۷/۳۵^{c}	۵۸/۰۰ ±۱۲/۱۰^{bc}	۱۰/۸۰ ±۱/۳۹^{ab}	۳۹/۰۰ ±۴/۳۰^{a}	۷/۰۴ ±۰/۱۷

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

جدول ٦- تأثیر سطوح مختلف سیستئین(*mmol*) بر توان آنتی‌اکسیدانی تام پلاسمای منی(*µmol/ml*) قوچ عربی در زمان‌های ۱ و ٤٨ ساعت پس از نگه‌داری منی در *C* °۵.

تیمارها	زمان ۱ ساعت	زمان ٤٨ ساعت
شاهد	۴۰۳/۰۰±۵۶/۶۶^{c}	۴۶۸/۳۳ ±۵۳/۴۵^{c}
سیستئین ۵	۴۵۴/۶۷ ±۴۸/۵۵^{bc}	۴۶۵/۰۰ ±۷۸/۶۹^{c}
سیستئین ۱۰	۵۵۱/۰۰ ±۷۵/۷۲^{bc}	۶۳۳/۶۷ ±۷۵/۴۱^{abc}
سیستئین ۱۵	۶۵۳/۶۷ ±۸۳/۰۳^{b}	۶۸۶/۳۳ ±۱۲۹/۶۵^{ab}
سیستئین ۲۰	۸۷۸/۰۰ ±۱۰۳/۶۴^{a}	۷۶۸/۰۰ ±۶۳/۰۵^{a}

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

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که افزودن اسیدآمینه سیستئین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان به رقیق کننده منی قوچ عربی باعث بهبود فراسنجه‌های کیفی اسپرم متعاقب نگه‌داری منی به حالت مایع در ۵°C شده و از آسیب‌های ناشی از نگه داری منی محافظت نمود. مشابه با این یافته‌ها، در بررسی اثر آنتی‌اکسیدان‌های سیستئین، اسیدآسکوربیک 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 سیستئین و ۱۰ میلی‌مول هیپوتارین سبب بهبود فراسنجه‌های فوق گردیدند(۲۳). در مطالعه‌ی Khalili و همکاران(۲۰۱۰) که در آن اثر غلظت‌های مختلف اسیدهای آمینه سیستئین و گلیسین، بر اسپرم قوچ مغانی در شرایط انجماد بررسی شد، مشاهده گردید که این

Archive of SID

www.SID.ir

دو اسیدآمینه سبب بهبود قابل توجه حرکت پیش-رونده‌ی اسپرم، زنده‌مانی و یک‌پارچگی غشای آکروزوم اسپرم قوچ شدند، طوری که از بین سطوح ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌مول سیستئین و گلیسین به کار رفته، مقادیر ۱۰ و ۱۵ میلی‌مول سیستئین نسبت به شاهد سبب بهبود قابل توجه حرکت، زنده‌مانی و سلامت غشای اسپرم گردیدند(۱۷،۳۱). Topraggaleh و همکاران (۲۰۱۴)، با بررسی اثر اسیدآمینه‌های 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 شده اند، طوری که سیستئین در غلظت ۷/۵ میلی‌مول افزایش حرکت پیش‌رونده اسپرم را موجب گردید. اثر اسیدهای آمینه‌ی 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، اسیدآمینه‌ی تورین نیز سبب افزایش تحرک اسپرم گردید (۳۰، ۲۷). طی پژوهشی که درآن 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، یک‌پارچگی آکروزوم و سلامت غشای اسپرم داشته‌اند، طوری‌که غلظت ۲۵ میلی‌مولار این اسیدهای آمینه و هم چنین غلظت ۵ میلی‌مولار سیستئین سبب افزایش تحرک، یک‌پارچگی آکروزوم و غشای اسپرم شده و نیز ثابت شد که غلظت‌های بالاتر مانند ۱۰۰ میلی‌مولار سبب کاهش معنی‌دار تحرک، یک‌پارچگی غشای اسپرم و آکروزومی می گردد(۱۰). در مطالعه ما نیز بالاترین سطح به کار رفته سیستئین یعنی ۲۰ مول آن تاثیر معنی-داری بر بیشتر فراسنجه‌های کیفی اسپرم طی ذخیره منی قوچ عربی به حالت مایع نداشت. اما افزودن سطوح کمتر آن به منی یعنی ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مول سیستئین، این فراسنجه‌ها را بهبود دادند. در تحقیقی، سیستامین، جنبایی و ظرفیت آنتی اکسیدانی اسپرم قوچ را بعد از یخ‌گشایی افزایش داد(۶). Khalili و همکاران(۲۰۱۰) با انجام پژوهشی بر انجماد اسپرم قوچ مغانی نشان دادند که گلایسین و سیستئین در غلظت‌های ۵ تا ۱۵ میلی مولار موجب افزایش تحرک، زنده‌مانی و سلامت غشاء اسپرم قوچ در دو مرحله سرد سازی و پس از یخ گشایی شد که مشابه با یافته‌های مطالعه حاضر در ذخیره منی قوچ عربی به صورت مایع می‌باشد. هرچند نقش حفاظتی آمینواسیدها نامشخص است، ولی فرضیات متعددی توسط محققین برای مکانیسم حفاظتی آن ها در طول انجماد مطرح شده است. پژوهش گران معتقدند اثر حفاظتی آمینواسیدها ممکن است از توان آن ها به شکل یک لایه بر روی سطح اسپرم منشاء بگیرد. آن ها مولکول‌های بارداری هستند و می‌توانند با گروه‌های فسفات موجود در فسفولیپیدهای غشاء پلاسمایی اسپرم ترکیب شوند و در اسمولاریته و زنده مانی اسپرم تاثیر داشته باشند(۲۰، ۱۷). افزودن اسیدآمینه سیستئین سبب افزایش درصد تحرک و زنده مانی اسپرم بعد از یخ گشایی می شود. افزودن سیستئین به عنوان اسیدآمینه به رقیق کننده منی در انجماد اسپرم دام‌های اهلی موجب بهبود حرکت رو به جلو اسپرم بعد از یخ گشایی و باروری آن شده است. درپژوهشی، افزودن آنتی‌اکسیدان‌هایی از قبیل تائورین، هیپوتائورین،گلوتامین، سیستئین، آلبومین سرم گاوی، تره‌هالوز و هیالورونان به رقیق کننده قبل از انجماد باعث بهبود درصد تحرک اسپرم، مورفولوژی اسپرم، قابلیت زنده‌مانی اسپرم و محافظت فراسنجه‌های منی پس از یخ گشایی در خوک گردید(۹). در آزمایشی دیگر، افزودن آنتی اکسیدان سیستئین با دوز ۱۰ میلی مولار سبب بهبود درصد تحرک، توان زنده-

Archive of SID

www.SID.ir

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 میلی مولار سیستئین 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، گلایسین، آلانین و سیستئین به رقیق‌کننده منی گاو میش قبل از انجماد، باعث بهبود فراسنجه‌های کیفی منی گاومیش بعد از یخ گشایی آن شد(۸). افزودن سیستئین به رقیق کننده منی خوک نر، باعث محافظت‌فراسنجه‌های منی در شرایط انجماد شد(۱۸). در مطالعه‌ی دیگر که در آن اثر ال- سیستئین بر کیفیت اسپرم گاو نر ساهیوال بررسی شد، مشخص گردید که پس از ۲۴ ساعت از ذخیره‌سازی در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، تحرک، زنده‌مانی و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم بهبود یافت، به طوری که ال- سیستئین به مقدار ۲-۱ میلی‌مول سبب بهبود کیفیت اسپرم در این دام شد(۲). در تحقیق دیگر، اثر ال-سیستئین بر اسپرم نریان در شرایط انجماد بررسی و گزارش گردید که این اسیدآمینه سبب بهبود پارامترهای کیفی اسپرم در طول ذخیره سازی در دمای ۵ درجه‌ی سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت شد، طوری که غلظت ۲۰۰ مول بر لیتر آن سبب بهبود تحرک پیش‌رونده، زنده‌مانی و یک‌پارچگی آکروزوم اسپرم گردید(۲۸). بررسی اثر آنتی‌اکسیدان‌های ویتامین E و سیستئین بر پارامترهای اسپرم گربه بیان گر بهبود تحرک اسپرم و سلامت غشای پلاسمایی پس از انجماد می‌باشد(۲۹). در پژوهشی اثر گلوتاتیون، سیستئین و هیپوتائورین بر پارامترهای اسپرم خوک در دمای ۱۰ درجه سانتی گراد بررسی و مشاهده گردید که طی ۷ و ۱۴ روز در حضور گلوتاتیون و سیستئین میزان زنده‌مانی اسپرم بالاتر بود(۱۴). Bucak و همکاران(۲۰۰۹) با انجام آزمایشی گزارش کردند، رقیق کردن منی با سیستامین، های پوتائورین و محلول اسیدآمینه‌ای باعث افزایش معنی‌دار در جنبایی اسپرم بز می‌شود. هایپوتائورین پیش-سازآمینواسیدتائورین است که در اسپرم پستانداران وجود دارد و در تولید پایانی متابولیسم سیستئین می-باشد. 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 می کند(۳،۷).

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

تشکر و قدردانی

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

منابع

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

Archive of SID

www.SID.ir

post-thaw quality ofSahiwal 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 off spring 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-O 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 hyaloronan on ram semen. Microscopic and oxidative stressparameters after freeze-thawing process. Theriogenology, 67; 1060-1061.
7.Bucak, M.N., Tuncer, P.B., Sariozkan, S., Ulutas, P.A., Coyan, K., Baspinar, N., et al.(2009). Effects of hypotaurine, cycteamine 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. Cryobiol, 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. Cryopreserv, 2(4); 146-150.
11. Erkkilä, K., Hirvonen, V., Wuokko, E., Parvinen, M., Dunkel, L. (1998). N-acetyl-L-cysteine inhibits apoptosis in human male germ cells in vitro. J.Clin.Endocrinol.Met, 83(7); 2523-2531.
12. Evans, G., Maxwell, W.M.C. (1987). Handling and examination semen. In: Maxwell WMC, 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. JafariAhangari, 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., Paresh-Khiavi, 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. Khlifaoui, 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 zoo spennic cases. J. Androl, 2;18-23.
20. Kundu, C.N., Das, K., Majumder, G.C.(2001). Effect of amino acids on goat cauda epididimal sperm cryo preservation using a chemically defined model system. J. Cryobiol, 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(*Maca cafascicularis*) 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. ParizadianKavan, B., JafariAhangaran Y. (2010). Comparison the different extender

Archive of SID

www.SID.ir

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. Sarıozkan, S., Bucack, M.N., Tuncer, P.B., Ulutaş, 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 glutathaion 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.1st ed. HaghShenas publication. Tehran, Iran.

Archive of SID

www.SID.ir

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

Z. Yoosefzadeh[1], **S.Tabatabaei Vakili**[2], M. Mamouei[3], M. Zarei[4]

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**

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

Inroduction & Objective: During the semen storage, oxidative damages by oxidation are the major causes of decrease in sperm quality.The aim of this study was toevaluate 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 sampleswere 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 semenal 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 spermatozoaqualitycharacteristics. 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.

Archive

www.SID.ir