Archive of SID

اثر افزودن غلظت‌های مختلف ژله رویال به رقیق‌کننده‌ی تریس بر فراسنجه‌های کیفی منی قوچ عربی

ثریا رئیسی‌ده‌کهنه[۱*]، مرتضی مموییی[۲]، صالح طباطبایی[۳]، جمال فیاضی[۲] و سیدحسام‌الدین نقیبی‌رکنی[۴]

تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۳ تاریخ پذیرش: ۹۵/۴/۲۰

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف ژله رویال بر میزان تحرک پیشرونده، زنده‌مانی، ناهنجاری مورفولوژیکی و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم قوچ عربی در رقیق‌کننده‌ی تریس انجام شد. برای انجام این کار منی ۱۰ قوچ عربی با هم مخلوط شده و سپس تحت ۵ تیمار شامل رقیق‌کننده‌ی تریس با غلظت‌های صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد ژله رویال در سه زمان صفر، ۲۴ و ۴۸ ساعت در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل ۳×۵ قرار گرفت. نتایج حاصله نشان داد که اختلاف معنی‌داری در میزان تحرک پیشرونده‌ی اسپرم بین تیمارهای حاوی غلظت‌های مختلف ژله رویال و شاهد وجود دارد ($P<0/05$). در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد ژله رویال میزان تحرک اسپرم به طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه شاهد بود ($P<0/05$). میزان زنده‌مانی اسپرم‌ها تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. همچنین، غلظت‌های به کار رفته ژله رویال تأثیر معنی‌داری بر میزان ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم قوچ عربی در مقایسه با تیمار شاهد نداشت. بین تیمارهای با غلظت‌های مختلف ژله رویال و شاهد تفاوت معنی‌داری از نظر سلامت غشای پلاسمایی اسپرم مشاهده نشد. اما غلظت‌های ۱ و ۱/۵ درصد ژله رویال افزایش میزان سلامت غشای پلاسمایی اسپرم را در مقایسه با غلظت‌های ۰/۵ و ۲ درصد ژله رویال موجب شدند ($P<0/05$). به طور کلی از مطالعه‌ی حاضر می‌توان نتیجه گرفت که سطوح پایین ژله رویال (۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد) سبب بهبود تحرک پیشرونده‌ی اسپرم قوچ عربی در طول ذخیره‌سازی منی به صورت مایع می‌شود.

کلمات کلیدی: اسپرم، رقیق‌کننده‌ی تریس، ژله رویال، فراسنجه‌های کیفی، قوچ عربی

مقدمه

تلقیح مصنوعی روشی مناسب برای استفاده‌ی بهینه از خصوصیات قوچ برتر در گله‌های گوسفند است. تنها در صورتی می‌توان از این روش به عنوان یک ابزار مؤثر در برنامه‌های اصلاح نژادی استفاده کرد که امکان ذخیره‌سازی منی وجود داشته باشد. اسپرم قوچ حساسیت بالایی نسبت به تنش اعمال شده در زمان عمل‌آوری و ذخیره‌سازی منی از جمله رقیق‌سازی، سردکردن، انجماد و یخ‌گشایی دارد (Senger 2003). نشان داده شده است که تلقیح مصنوعی منی ذخیره شده‌ی قوچ در دمای چهار درجه‌ی سانتی‌گراد برای مدت کم‌تر از یک روز با نتایج رضایت بخشی همراه است (Paulenz et al. 2002). در صورتی که کاهش چشم‌گیر کیفیت اسپرم پس از ۴۸ ساعت ذخیره‌سازی در چهار درجه‌ی سانتی‌گراد امکان استفاده آن را در تلقیح مصنوعی با محدودیت مواجه کرده است (Salamon and Maxwell 2000). تحقیقات نشان داده است که پروتئین‌های مایع منی بلافاصله پس از انزال

[۱*] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، دانشکده‌ی علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
E-mail: soraya.raeesi@gmail.com (نویسنده‌ی مسئول)
[۲] دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده‌ی علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
[۳] استادیار گروه علوم دامی، دانشکده‌ی علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
[۴] کارشناس ارشد فیزیولوژی دام، گروه علوم دامی، دانشکده‌ی علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

www.SID.ir

Archive of SID

به سطح غشای اسپرم متصل شده و با القای خروج فسفولیپیدها و کلسترول از آن، موجب ناپایداری غشای پلاسمایی و کاهش زنده‌مانی اسپرم در طی مدت ذخیره‌سازی می‌شوند (Manjunath et al. 2002).

ذخیره‌ی منی در شرایط مایع از طریق کاهش متابولیسم اسپرم، با استفاده از کاهش دما و مواد شیمیایی انجام می‌شود تا از پیر شدن اسپرم در مدت ذخیره‌سازی جلوگیری شود (Forouzanfar et al. 2007). اسپرم عموماً به صورت مایع، در دماهای صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ درجه‌ی سلسیوس نگهداری می‌شود که در قوچ بهترین درجه‌ی حرارت ۵ درجه است. مهم‌ترین عامل در نگهداری به صورت مایع کاهش متابولیسم اسپرم به واسطه‌ی کاهش دما است (Salisbury and Vandemark 1961). نگهداری اسپرم در دوره‌های کوتاه مدت و بلند مدت می‌تواند کمک مؤثری در موفقیت تلقیح مصنوعی که در مقایسه با آمیزش طبیعی دارای مزایای زیادی است داشته باشد. ذخیره و نگهداری مناسب اسپرم، انتقال موفقیت‌آمیز اسپرم را از مناطق دورتر تسهیل کرده و گسترش استفاده از ذخایر ژنتیکی بهتر را امکان‌پذیر می‌سازد (Baily et al. 2000). اما معمولاً اسپرماتوزوئیدها درطی نگهداری دچار استرس حرارتی شده و در دماهای پایین و بالا با کاهش خواص حیاتی خود مثل تحرک و زنده‌مانی روبرو می‌شوند که این امر یک عامل نامطلوب در توسعه‌ی استفاده از تلقیح مصنوعی است (Trinchero et al. 1990). یک رقیق‌کننده‌ی مطلوب حجم منی را زیاد کرده و سبب نگهداری و افزایش طول عمر اسپرم می‌گردد (پریزادیان‌کاوان و جعفری‌آهنگری ۱۳۸۹). از ابتدای به کارگیری تکنیک تلقیح مصنوعی، رقیق‌کننده‌های مختلفی جهت نگهداری منی در شرایط مایع و منجمد استفاده شده است. محققین استرالیایی پس از مقایسه‌ی تعدادی از رقیق‌کننده‌های اسپرم قوچ، استفاده از بافرتریس، فروکتوز و زرده‌ی تخم‌مرغ را برای نگهداری در شرایط مایع و اضافه کردن پنج درصد گلیسرول به بافر تریس را برای نگهداری در شرایط انجماد، پیشنهاد نمودند (Salamon and Maxwell 2000). به دلیل فقدان یک منبع پروتئینی در ترکیب رقیق‌کننده‌ی تریس امکان دارد که افزودن یک منبع پروتئینی به آن موجب بهبود کیفی اسپرم قوچ در شرایط نگهداری مایع و منجمد شود (جعفری‌آهنگری و عطارچی ۱۳۸۷).

ژله رویال ماده‌ای است که از یک جفت غده‌ی مغزی زنبورهای کارگر پرستار بنام غده‌ی هیپوفارینژل در سنین دو تا ۱۲ روزگی ترشح شده و مورد استفاده‌ی تغذیه‌ای ملکه در تمام طول عمر و نوزادان زنبور در مراحل اولیه‌ی رشد قرار می‌گیرد (Etemadi 1993, Winston 1991). ژله رویال ترشحی اسیدی، با رنگ زرد مایل به سفید و با بو و طعم کمی تند می‌باشد که ماده‌ی غذایی اصلی زنبور ملکه می‌باشد. ژله رویال غنی از پروتئین، چربی، کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها، هورمون‌ها، آنزیم‌ها و مواد معدنی می‌باشد که به عنوان کاتالیزورهای حیاتی در فرآیندهای بازسازی سلول در بدن انسان عمل می‌کنند (Lercker and Gelatina 2003). ژله رویال در آب نیمه محلول بوده و بسیار اسیدی (pH ۴/۵- ۳/۴) با چگالی ۱/۱ گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد (Sabatini et al. 2009). ژله رویال دارای ویتامین‌های A، B، C، D و E می‌باشد و خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد که، خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن به اسید پنتوتنیک نسبت داده شده است. همچنین دارای مواد معدنی از قبیل پتاسیم، کلسیم، سدیم، روی، آهن، مس و منگنز و نیز برخی آنزیم‌ها و ترکیبات آنتی‌بیوتیکی می‌باشد. این ماده حاوی نوکلئیک اسید فراوان شامل DNA و RNA بوده و دارای ترکیبات دیگری مانند استرول‌ها، ترکیبات فسفری و استیل کولین است که برای انتقال پیام عصبی از یک سلول به سلولی دیگر مورد نیاز است (Howe et al. 1985, Kodai et al. 2007). تجزیه‌ی شیمیایی ژله رویال نشان داد که این ماده به طور متوسط دارای ۶۶ درصد آب، ۱۵ درصد کربوهیدرات، ۱۳ درصد پروتئین، ۵ درصد چربی و سایر ترکیبات شامل مواد مواد معدنی و ویتامین‌ها است (Dimick et al. 1985). ژله رویال یک منبع پروتئینی غنی از اسیدآمینه‌هایی همچون

www.SID.ir

Archive of SID

اسید آسپارتیک است که دارای ترکیب شیمیایی ضروری برای ساختمان بافت‌ها می‌باشند (Hanes and Simuth 1992). ژله رویال یک ماده غذایی بسیار ارزشمند و دارویی است که در کمک به باروری و تسریع در بهبود ناتوانی جنسی بسیار مؤثر است (Hadad Kaveh 1987). در تحقیقی که با عنوان اثر ژله رویال در مقابله با ناباروری در فصل تابستان در خرگوش انجام شد، اثبات گردید که مصرف ژله رویال در استرس گرمایی در خرگوش‌های نر می‌تواند با ناباروری در تابستان مقابله کرده و موجب بهبود وضعیت فیزیولوژیکی شود (Elnagar 2010).

از آنجایی که گزارش منتشر شده‌ای در خصوص اثر غلظت‌های مختلف ژله رویال بر پارامترهای کیفی اسپرم قوچ عربی یافت نشده، این پژوهش به منظور بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف ژله رویال بر میزان تحرک، زنده‌مانی، ناهنجاری مورفولوژیکی و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم قوچ عربی انجام گرفت.

مواد و روش کار

این تحقیق در دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان در سه بخش ایستگاه تحقیقاتی پرورش دام و طیور و آزمایشگاه تشریح و فیزیولوژی دام و ایستگاه تحقیقاتی پرورش زنبور عسل انجام گرفت. ابتدا در بهار سال ۱۳۹۳ به منظور تولید ژله رویال به کمک سلول‌های کوچک مومی اقدام گردید. به این منظور توسط یک قطعه‌ی کوچک چوبی که سلول‌هایی به اندازه‌ی یک انگشتانه‌ی کوچک برای تولید ملکه فراهم می‌آورد، ساخته و استفاده گردید. در این آزمایش با استفاده از کلنی شروع‌کننده و کلنی پرستار فاقد ملکه، تعداد زیادی سلول ملکه در تیرک‌های مربوطه تعبیه و به تولید ژله رویال اقدام گردید. پس از ۴ روز، ژله رویال موجود در آن سلول‌ها جمع‌آوری شده و نمونه‌های به دست آمده در داخل لوله‌های آزمایش دربدار بسته‌بندی گردیده و تا زمان مصرف در داخل فریزر (در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد) نگهداری شد.

برای انجام این تحقیق از ۱۰ رأس قوچ ۲ تا ۳ ساله‌ی نژاد عربی با وزن تقریباً یکسان (۴±۶۴ کیلوگرم) موجود در ایستگاه تحقیقاتی دام به طور هفتگی برای ۸ هفته اسپرم‌گیری صورت گرفت. قوچ‌ها در یک جایگاه مسقف نیمه‌باز با کف بتونی، نگهداری می‌شدند. جایگاه دارای آخور و آبشخور دسته‌جمعی بوده و جیره‌ی دام‌ها متشکل از جو، یونجه‌ی خشک، کاه و سیلاژ ذرت بود. اسپرم‌گیری از قوچ‌ها به وسیله‌ی دستگاه اسپرم‌گیر الکتریکی انجام شد. در این تحقیق از رقیق‌کننده‌ی یک مرحله‌ای منی قوچ که حاوی ۳/۶۳۴ گرم تریس (هیدروکسی متیل آمینومتان)، ۰/۵ گرم فروکتوز، ۱/۹۹ گرم اسید سیتریک، ۱۵ میلی‌لیتر زرده‌ی تخم مرغ، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی پنی‌سیلین، ۱۰۰ میلی‌گرم استرپتومایسین در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر بود، استفاده شد (Mamouei 2000). به منظور اجرای آزمایش، ابتدا ۵ لوله آزمایش با زدن برچسب، شماره‌گذاری انجام گرفت و منی رقیق شده با غلظت‌های مختلف ژله رویال به داخل آن‌ها ریخته شد. تیمارهای آزمایشی شامل رقیق‌کننده‌ی تریس بدون ژله رویال (شاهد)، با ۰/۵ درصد ژله رویال، ۱ درصد ژله رویال، ۱/۵ درصد ژله رویال و رقیق‌کننده‌ی تریس با ۲ درصد ژله رویال بودند. ژله رویال به همان گونه که در برنامه‌ی پرورش ملکه مورد استفاده قرار می‌گیرد، به نسبت یک به یک با آب مقطر مخلوط شده و سپس با استفاده از سرنگ انسولین به نسبت‌های ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد به لوله‌های آزمایش مربوطه اضافه شد. نسبت رقیق‌سازی منی به صورت یک قسمت منی و ده قسمت رقیق‌کننده بود . منی اخذ شده از قوچ‌ها به طور هفتگی که در ساعت واحد مشخصی از هفته گرفته می‌شد با یکدیگر مخلوط و سپس به پنج قسمت مساوی، هریک به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر تقسیم شد. لوله‌های حاوی منی و رقیق‌کننده‌ها در حمام آب گرم در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شده، سپس به هر یک از لوله‌های آزمایش حاوی ۰/۵ میلی‌لیتر منی یکی از شش رقیق‌کننده به میزان ۵ میلی‌لیتر اضافه شد. در زمان‌های صفر، ۲۴ و

www.SID.ir

Archive of SID

۴۸ ساعت از نگهداری منی رقیق‌شده در دمای ۵ درجه‌ی سانتی‌گراد فراسنجه‌های کیفی اسپرم‌ها شامل درصد اسپرم‌های با حرکت پیشرونده، درصد زنده‌مانی اسپرم‌ها، درصد اسپرم‌های ناهنجار و درصد اسپرم‌های با غشای پلاسمایی سالم مورد ارزیابی قرار گرفت . برای اندازه‌گیری درصد اسپرم‌های پیشرونده، یک قطره‌ی کوچک از نمونه‌ی منی رقیق شده را روی یک لام تمیز از پیش گرم شده (۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد) قرار داده و روی آن یک لامل گذاشته تا نمونه به طور یکنواخت در زیر سطح لامل پخش شود. آن‌گاه با استفاده از بزرگ‌نمایی ۴۰X میکروسکوپ و با بررسی چند شان از لام، درصد اسپرم‌هایی که حرکت پیشرونده دارند، مشخص گردید. برای اندازه‌گیری درصد اسپرم‌های زنده و ناهنجار از رنگ‌آمیزی ائوزین – نیگروزین استفاده گردید. برای رنگ‌آمیزی ابتدا یک قطره از منی رقیق شده را در یکی از دو انتهای لام تمیز و گرم شده قرار داده و سپس یک قطره از رنگ را در کنار منی قرار می‌دهیم و سپس با هم مخلوط می‌کنیم، آنگاه بعد از مدت ۳۰ ثانیه توسط لبه‌ی لام دیگری گسترش نازکی از آن تهیه نموده و برای مدت ۵ دقیقه منتظر مانده تا کاملاً خشک گردد آن‌گاه با استفاده از بزرگ‌نمایی ۱۰۰X میکروسکوپ در چند ناحیه از لام درصد اسپرم‌های زنده و مرده شمارش گردید (Ahangari 1992).

برای بررسی سلامت غشای پلاسمایی اسپرم[1] مقدار ۵ میکرولیتر از نمونه‌ی اسپرم با ۵۰ میکرولیتر از محلول هایپواسمتیک شامل (۰/۷۳۵ گرم سیترات سدیم دی‌هیدرات و ۱/۳۵۱ گرم فروکتوز در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر، pH=۷) مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه آون با دمای ۳۷ قرار گرفت (Jeyendran et al. 1992). سپس با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۴۰X، حداقل در پنج میدان دید ۲۰۰ عدد اسپرم بررسی شد. اسپرم‌های دارای دم متورم و پیچ‌خورده به عنوان پاسخ مثبت (غشای پلاسمایی سالم) و اسپرم‌های با دم بدون تورم به عنوان پاسخ منفی (غشای پلاسمایی ناسالم) در نظر گرفته شدند (García-Artiga 1994). مطالعه‌ی حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت آزمایش فاکتوریل ۳ × ۵ شامل ۵ سطح ژله رویال (صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد) و ۳ زمان نگهداری منی انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری (SAS) و جهت مقایسه‌ی میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

اثر اصلی غلظت‌های مختلف ژله رویال بر تحرک پیشرونده، زنده‌مانی، ناهنجاری و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم قوچ عربی در جدول ۱ ارائه شده است. غلظت‌های به کار رفته‌ی ژله رویال تأثیر معنی‌داری بر افزایش تحرک اسپرم قوچ عربی در مقایسه با گروه شاهد داشته است . به طوری که میزان تحرک اسپرم در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد ژله رویال به طور معنی‌داری بیش‌تر از غلظت صفر ژله رویال (تیمار شاهد) بود (P<۰/۰۵). نتایج زنده‌مانی اسپرم نشان داد که غلظت‌های به کار رفته‌ی ژله رویال تأثیر معنی‌داری بر میزان زنده‌مانی اسپرم قوچ عربی در مقایسه با تیمار شاهد نداشت. کم‌ترین میزان زنده‌مانی اسپرم مربوط به سطح صفر و بیش‌ترین زنده‌مانی اسپرم مربوط به سطح ۱ درصد ژله رویال بود. میزان ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم در بین تیمارهای ژله رویال تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت . اما تیمار ۱/۵ درصد ژله رویال باعث کاهش معنی‌دار میزان ناهنجاری‌های اسپرم در مقایسه با تیمار ۰/۵ درصد آن شد (P<۰/۰۵). همچنین نتایج مربوط به سلامت غشای پلاسمایی اسپرم نشان داد که بین تیمار صفر و تیمارهای دیگر ژله رویال تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. اما غلظت‌های ۱ و ۱/۵ درصد ژله رویال باعث افزایش معنی‌دار سلامت غشای پلاسمایی اسپرم در مقایسه با غلظت‌های ۰/۵ و ۲ درصد ژله رویال شد (P<۰/۰۵).

1- Hypo-osmotic swelling test

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱: مقایسه‌ی میانگین اثرات اصلی غلظت‌های مختلف ژله رویال (درصد) در رقیق‌کننده‌ی تریس برمیزان فراسنجه‌های کیفی اسپرم قوچ عربی

غلظت‌های ژله رویال	تحرک پیشرونده	زنده‌مانی	ناهنجاری	سلامت غشای پلاسمایی
صفر	۶۸/۶۱ ± ۳/۳۰ ^{b}	۷۷/۵۰ ± ۲/۵۰	۶/۳۳ ± ۰/۶۲ ^{ab}	۵/۶۱±۵۰/۰۰ ^{ab}
۰/۵	۷۷/۵۰ ± ۲/۴۶ ^{a}	۸۱/۸۳ ± ۲/۱۰	۶/۸۳± ۰/۵۷ ^{a}	۳۹/۱۷ ± ۲/۲۹ ^{b}
۱	۷۵/۵۰ ± ۳/۴۱ ^{a}	۸۱/۹۴ ± ۲/۲۲	۵/۶۷ ±۰/۲۱ ^{ab}	۶۰/۰۰ ± ۵/۵۷ ^{a}
۱/۵	۷۵/۸۹ ±۳/۵۵ ^{a}	۸۱/۵۰ ± ۲/۷۲	۵/۳۳± ۰/۱۸ ^{b}	۵۸/۳۳ ± ۴/۱۴ ^{a}
۲	۷۱/۸۳ ± ۳/۳۰ ^{ab}	۷۹/۴۴ ± ۲/۴۹	۶/۲۸ ± ۰/۵۹ ^{ab}	۴۰/۸۳ ± ۲/۲۹ ^{b}

در هر ستون اعداد با حروف نامشابه اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

اثر متقابل غلظت‌های مختلف ژله رویال (درصد) و زمان‌های مختلف نگهداری منی بر سلامت غشای پلاسمایی اسپرم قوچ عربی بر تحرک پیشرونده، زنده‌مانی، ناهنجاری و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم قوچ عربی در جدول ۲ ارائه شده است.

در خصوص تحرک اسپرم، تیمارهای ۱ و ۱/۵ درصد ژله رویال در زمان صفر دارای تحرک پیشرونده بیش‌تری نسبت به تیمارهای بدون ژله رویال در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت، ۰/۵ درصد ژله رویال در زمان ۴۸ ساعت، ۱ درصد ژله رویال در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت، ۱/۵ درصد ژله رویال در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت و ۲ درصد ژله رویال در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت بود (P<۰/۰۵). کم‌ترین تحرک اسپرم در تمامی سطوح ژله رویال، در زمان ۴۸ ساعت از ذخیره‌ی منی مشاهده شد (P<۰/۰۵). در مورد زنده‌مانی اسپرم، تیمارهای ۱، ۱/۵ و ۲ درصد ژله رویال در زمان صفر دارای میزان زنده‌مانی اسپرم بیش‌تری نسبت به سطوح ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد ژله رویال در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت از ذخیره منی بود (P<۰/۰۵). میزان زنده‌مانی در زمان ۴۸ ساعت از ذخیره‌ی منی در تمامی سطوح ژله رویال کم‌ترین مقدار را داشت (P<۰/۰۵). سطوح صفر و ۲ درصد ژله رویال در زمان صفر دارای میزان ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم کم-تری در مقایسه با سطوح صفر، ۰/۵ و ۲ درصد ژله رویال در زمان ۴۸ ساعت از نگهداری منی بودند (P<۰/۰۵). به طور کلی نتایج نشان داد که در تمام سطوح ژله رویال با افزایش مدت زمان نگهداری اسپرم میزان تحرک و زنده‌مانی روند کاهشی، اما ناهنجاری اسپرم روند افزایشی داشته است. اثر متقابل سطوح مختلف ژله رویال و زمان‌های مختلف نگهداری منی بر سلامت غشای پلاسمایی اسپرم اثر معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). بیش‌ترین سلامت غشای پلاسمایی اسپرم مربوط به سطح ۱/۵ درصد ژله رویال در زمان صفر و کم‌ترین سلامت غشای پلاسمایی اسپرم مربوط به سطوح ۰/۵ و ۲ درصد ژله رویال در زمان ۴۸ ساعت نگهداری اسپرم می‌باشد. در زمان صفر، سطح ۰/۵ درصد ژله رویال با سطوح ۱ و ۱/۵ درصد تفاوت معنی‌داری داشته (P<۰/۰۵) اما با سطوح صفر و ۲ درصد ژله رویال تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). به طوری که سطوح ۱ و ۱/۵ درصد ژله رویال در زمان صفر موجب افزایش معنی‌دار سلامت غشای پلاسمایی اسپرم در مقایسه با سطوح ۰/۵ و ۲ درصد ژله رویال در زمان صفر شدند (P<۰/۰۵). در زمان ۲۴ ساعت از نگهداری منی، سطح ۱ درصد ژله رویال موجب افزایش معنی‌دار سلامت غشای پلاسمایی اسپرم در مقایسه با سطح ۰/۵ درصد ژله رویال شد (P<۰/۰۵) اما با سطوح دیگر ژله رویال تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بین سطوح مختلف ژله رویال در زمان ۴۸ ساعت نگهداری اسپرم از نظر سلامت غشای پلاسمایی اسپرم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). به طور کلی نتایج نشان داد که در تمام سطوح ژله رویال با افزایش مدت زمان نگهداری اسپرم سلامت غشای پلاسمایی اسپرم روند کاهشی داشته است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲: مقایسه‌ی میانگین اثر متقابل سطوح مختلف ژله رویال (درصد) و زمان‌های مختلف نگهداری منی (ساعت) بر درصد تحرک، زنده‌مانی، ناهنجاری و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم قوچ عربی

تیمارهای آزمایشی	زمان	تحرک	زنده‌مانی	ناهنجاری	سلامت غشای پلاسمایی
صفر	صفر	۸۰/۸۳ ±۴/۳۶ ^{abcd}	۸۷/۵۰ ± ۲/۱۴ ^{ab}	۵/۰۰ ±۰ /۴۵ ^{c}	۶۲/۵۰ ± ۱۱/۸۱ ^{abc}
	۲۴	۶۹/۱۷ ± ۳/۷۵ ^{def}	۷۷/۵۰ ± ۲/۱۴ ^{cd}	۶/۳۳ ± ۰/۸۰ ^{abc}	۴۸/۷۵ ± ۸/۲۶ ^{bcde}
	۴۸	۵۵/۸۳ ± ۳/۹۶ ^{g}	۶۷/۵۰ ± ۳/۸۲ ^{e}	۷/۶۷ ± ۱/۵۲ ^{ab}	۳۸/۷۵ ± ۶/۵۷ ^{de}
۰/۵	صفر	۸۷/۱۷ ± ۲/۳۷ ^{ab}	۹۰/۰۰ ± ۲/۱۴ ^{ab}	۵/۸۳ ± ۰/۶۰ ^{abc}	۴۶/۲۵ ± ۲/۳۹ ^{cde}
	۲۴	۷۹/۱۷ ± ۲/۳۹ ^{abcd}	۸۱/۶۷ ± ۲/۷۹ ^{bc}	۶/۵۰ ± ۰/۵۰ ^{abc}	۳۸/۷۵ ± ۳/۱۵ ^{de}
	۴۸	۶۶/۱۷ ± ۲/۳۹ ^{efg}	۷۳/۸۳ ± ۳/۱۱ ^{cde}	۸/۱۷ ± ۱/۴۵ ^{a}	۳۲/۵۰ ± ۳/۲۳ ^{e}
۱	صفر	۸۹/۸۳ ± ۱/۸۳ ^{a}	۹۲/۵۰ ± ۱/۱۲ ^{a}	۵/۰۰ ± ۰/۲۶ ^{abc}	۷۰/۰۰ ± ۱۰/۲۱ ^{ab}
	۲۴	۷۴/۰۰ ± ۵/۳۴ ^{cdef}	۸۰/۸۳ ± ۲/۳۹ ^{bc}	۵/۶۷ ± ۰/۲۱ ^{abc}	۶۱/۲۵ ± ۱۰/۸۷ ^{abc}
	۴۸	۶۲/۶۷ ± ۳/۵۴ ^{fg}	۷۲/۵۰ ± ۱/۷۱ ^{de}	۶/۳۳ ± ۰/۴۲ ^{abc}	۴۸/۷۵ ± ۶/۵۷ ^{bcde}
۱/۵	صفر	۸۹/۳۳ ± ۲/۳۳ ^{a}	۹۳/۱۷ ± ۱/۰۱ ^{a}	۵/۰۰ ± ۰/۲۶ ^{abc}	۷۱/۲۵ ± ۶/۵۷ ^{a}
	۲۴	۷۵/۸۳ ± ۵/۴۷ ^{bcde}	۷۹/۶۷ ± ۳/۳۶ ^{bcd}	۵/۱۷ ± ۰/۳۱ ^{bc}	۵۶/۲۵ ± ۵/۵۴ ^{abcd}
	۴۸	۶۲/۵۰ ± ۴/۶۰ ^{fg}	۷۱/۶۷ ± ۴/۰۱ ^{de}	۵/۸۳ ± ۰/۳۱ ^{abc}	۴۷/۵۰ ± ۴/۳۳ ^{cde}
۲	صفر	۸۴/۶۷ ± ۳/۵۷ ^{abc}	۹۰/۰۰ ± ۲/۵۸ ^{a}	۴/۶۷ ± ۰/۳۳ ^{c}	۴۷/۵۰ ± ۳/۲۳ ^{cde}
	۲۴	۷۳/۵۰ ± ۴/۰۷ ^{cdef}	۷۹/۱۷ ± ۲/۳۹ ^{cd}	۶/۰۰ ± ۰/۲۶ ^{abc}	۴۱/۲۵ ± ۳/۱۵ ^{cde}
	۴۸	۵۷/۳۳ ± ۲/۵۰ ^{g}	۶۹/۱۷ ± ۲/۷۱ ^{e}	۸/۱۷ ± ۱/۴۵ ^{a}	۳۳/۷۵ ± ۲/ ۳۹ ^{e}

در هر ستون اعداد با حروف نامشابه اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

بحث

پژوهش‌های انجام شده نشان داده است که ژله رویال افزایش معنی‌داری در پارامترهای تحرک اسپرم قوچ قزل داشته است. به طوری که غلظت‌های پایین‌تر ژله رویال (۰/۵ و ۱ درصد) موجب بهبود تحرک اسپرم قوچ قزل در طول ذخیره‌سازی مایع و سرد شد. این نتایج موافق با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر می‌باشد . حداکثر قدرت آنتی‌اکسیدانی ژله رویال زمانی حاصل شد که نمونه‌ی اسپرم برای مدت کوتاه با غلظت بالا و یا برای مدت طولانی با غلظت پایین ژله رویال ذخیره شد. در نتیجه اثر حفاظتی ژله رویال را می‌توان به خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن نسبت داد (Moradi et al. 2013). اثر حفاظتی ژله رویال ممکن است به ترکیب شیمیایی آن و به ویژه پروتئین‌های اصلی آن از جمله اسیدهای آمینه‌ی ضروری و ۱۰ هیدروکسی- ۲- دسنوئیک اسید، که نقش مهمی در یکپارچگی غشای سلولی ایفا می‌کند نسبت داد (Tamura et al. 2009). ژله رویال ممکن است تحرک اسپرم را از طریق ظرفیت‌دار کردن جزئی سلول‌های اسپرم به دلیل بالا بودن میزان یون‌های کلسیم موجود در آن افزایش دهد (Kodai et al. 2007). ژله رویال ممکن است حاوی محرک‌های تحرک اسپرم مانند آدنوزین و آدنوزین مونو فسفات باشد، که با مهار فعالیت فسفو دی‌استراز موجب افزایش cAMP در دم اسپرم و تحرک اسپرم شود (Vijayaraghavan and Hoskins 1986). درصد تحرک اسپرم به طور معنی‌داری در طول ذخیره‌سازی کاهش می‌یابد، این ممکن است به دلیل عدم توانایی اسپرم برای تولید ATP از طریق تنفس میتوکندریایی (Cummins et al. 1994, Viswanath and Shannon 1997) و یا اثرات سمی اسپرم مرده در ارتباط با آزاد شدن فعالیت

www.SID.ir

Archive of SID

آمینواکسیداز می‌باشد (Shannon and Curson 1972). ترکیب شیمیایی ژله رویال و عملکرد فیزیولوژیکی پروتئین آن از یک سو و اثرات آنتی‌اکسیدانی قابل توجه آن از سوی دیگر، ممکن است اثرات مفید و محافظتی آن بر کیفیت اسپرم در طی ذخیره‌سازی مایع را بیان کند (Nagai and Inoue 2004). شایان ذکر است که با وجود اثرات حفاظتی ژله رویال در غلظت‌های پایین‌تر در زنده‌مانی اسپرم، تحرک و سلامت غشای پلاسمایی، موفق به نشان دادن همه‌ی این خواص محافظتی در غلظت بالا (۲ درصد) نشده‌اند (Bouayed and Bohn 2010). اثر حفاظتی ژله رویال در زنده‌مانی اسپرم قوچ، تحرک و سلامت غشای پلاسمایی در ذخیره‌سازی مایع را شاید بتوان به خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن نسبت داد (Moradi et al. 2013). در مطالعه‌ی حاضر میزان زنده‌مانی اسپرم تحت تأثیر غلظت‌های مختلف ژله رویال قرار نگرفت. این نتیجه برخلاف نتایج مرادی و همکاران در سال ۲۰۱۳ بوده، به طوری که این محققین گزارش کردند که افزودن ژله رویال به منی قوچ قزل باعث افزایش زنده‌مانی اسپرم در مقایسه با گروه شاهد شد. تفاوت در گزارش‌های مختلف ممکن است ناشی از تفاوت نژادی و شرایط محیطی باشد.

نتایج به دست آمده از آزمایش سلامت غشای پلاسمایی اسپرم قوچ قزل بعد از ذخیره‌ی اسپرم در دمای پائین نشان داد که ژله رویال می‌تواند از آسیب غشای پلاسمایی اسپرم در طی ذخیره‌سازی به صورت مایع محافظت کند و بالاترین اثر محافظتی ژله رویال در کم-ترین غلظت مشاهده شد. اثر محافظتی معنی‌دار در غلظت‌های پایین‌تر (۰/۵ و ۱ درصد) ژله رویال به دست آمد. با این حال، در غلظت‌های بالاتر (۲ درصد) تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد پیدا شد (Moradi et al. 2013). این نتایج همسو با یافته‌های این پژوهش می‌باشد.

بیان شده است که ژله رویال ممکن است سلامت غشای پلاسمایی را به عنوان ترکیب متغیر حاوی هورمون که باعث کاهش رادیکال‌های اکسیژن و در نتیجه کاهش تعداد مولکول‌های مورد نیاز برای آنزیم سوپراکسید دسموتاز که به طور طبیعی در پلاسمای منی برای مقابله با اثرات گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در پراکسیداسیون و جلوگیری از آسیب اسپرماتوزوآ وجود دارد، شود (Gancarczyk et al. 2006).

در مطالعه‌ی مرادی و همکاران در سال ۲۰۱۳، گزارش شده است که مدت زمان ذخیره‌سازی با کاهش در زنده‌مانی و تحرک اسپرم همراه بوده است. این نتیجه همسو با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر می‌باشد. دلیل این کاهش ممکن است به تولید رادیکال‌های آزاد درون‌زا مرتبط باشد و یا می‌تواند به دلیل سطح بالای نیترات اکسیداتیو یا کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی باشد (Paulenz et al. 2002). با طولانی‌تر شدن زمان ذخیره‌سازی، کاهش معنی‌داری در ارزش سلامت غشای پلاسمایی اسپرم به دست آمده است، که ممکن است به افزایش در تولید رادیکال‌های آزاد و تأثیر منفی بر روی چربی غشای پلاسمایی و توزیع پروتئین و در نهایت، کاهش عملکرد فیزیولوژیکی مرتبط باشد (Camara et al. 2011). این نتایج همسو به یافته‌های مطالعه‌ی حاضر می‌باشد. ژله رویال اثر محافظتی معنی‌داری بر غشای سلول داشته است. غلظت پایین ژله رویال می‌تواند به عنوان یک روش کاربردی برای محافظت از اسپرم قوچ از اثرات منفی ذخیره‌سازی بر عملکرد غشای پلاسمایی اسپرم به کار رود. نتایج نشان داده که با طولانی‌تر شدن زمان ذخیره‌سازی، میزان سلامت غشای پلاسمایی اسپرم کاهش معنی‌داری یافته است (Camara et al. 2011). نتایج نشان داده که عملکرد پارامترهای اسپرم با افزایش ژله رویال در رقیق‌کننده‌ی تریس از صفر تا ۰/۴ درصد بهبود یافته است. عملکرد پارامترهای اسپرم بالاترین معنی‌داری را در سطح ۰/۴ درصد ژله رویال نسبت به گروه شاهد داشته است. این اثر ممکن است به خاصیت ژله رویال در کاهش استرس اکسیداتیو با از بین بردن گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در محیط مایع منی به دلیل بالا بودن مقدار پنتوتنیک اسید ژله رویال مرتبط باشد (Howe et al.

www.SID.ir

Archive of SID

1985). شواهد نشان داده است که مواد طبیعی با اثرات آنتی‌اکسیدانی مانند یک شمشیر دو لبه عمل می‌کند، به این معنی که غلظت بالایی از آنتی‌اکسیدان‌های با منشأ خارجی می‌تواند تعادل اکسیداسیون را مختل کند. اعتقاد بر این است که غلظت‌های بالاتر آنتی‌اکسیدان با منشأ خارجی مانند پراکسیداسیون عمل می‌کنند (Bouayed and Bohn 2010). بنابراین اثر معکوس ژله رویال در سطح ۲ درصد ممکن است به غلظت غیرفیزیولوژیک آنتی‌اکسیدان با منشأ خارجی مرتبط باشد. اثر پراکسیداسیون ژله رویال در غلظت بالا ممکن است به واکنش با سطح فیزیولوژیک گونه‌های اکسیژن فعال که برای عملکرد بهینه‌ی سلولی ضروری است مربوط باشد (Bucak and Tekin 2007). شواهد نشان داده است که زمان ذخیره‌سازی طولانی تولید نیترات اکسیداتیو و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پایین را موجب می‌شود. همچنین نشان داده شده که طول دوره‌ی ذخیره‌سازی و نیز غلظت اسپرم می‌تواند تحت تأثیر سطح تولید نیترات اکسیداتیو و مالون دی آلدئید قرار گیرد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را کاهش دهد (Gundogan et al. 2010).

با توجه به نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر، افزدن ژله رویال زنبور عسل به عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدانی به رقیق‌کننده‌ی تریس برای نگهداری اسپرم قوچ عربی به صورت مایع توصیه می‌شود. غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد ژله رویال بالاترین افزایش را در بهبود میزان تحرک پیشرونده اسپرم نشان دادند.

منابع

پریزادیان‌کاوان، بهمن و جعفری‌آهنگری، یوسف (۱۳۸۹). مقایسه تأثیر رقیق کننده‌های مختلف بر خصوصیات اسپرم قوچ آتابای در شرایط نگهداری مایع، چهارمین کنگره علوم دامی ایران، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.

جعفری‌آهنگری، یوسف و عطارچی، حسین (۱۳۸۷). اثر ژله رویال در رقیق کننده تریس بر خصوصیات اسپرم قوچ دالاق، مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد پانزدهم، شماره سوم، صفحات ۱۲۹-۱۲۵.

Ahangari, Y.J. (1992). Cryopreservation of ram semen for artificial insemination phD, Thesis, University of wales, Bangor, United Kingdom, P: 243.

Baily, J.F.; Bilodeau, J.F. and Cormier, N. (2000). Semen cryopreservation in domestic animals: a damaging and Capacitating phenomenon, minireview. Andrology, 21: 1-7.

Bouayed, J. and Bohn, T. (2010). Exogenous antioxidants–double-edged swords in cellular redox state: health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 3 (4): 228-237.

Bucak, M.N. and Tekin, N. (2007). Protective effect of taurine, glutathione and trehalose on the liquid storage of ram semen. Small Ruminant Research, 73: 103-108.

Camara, D.R.; Mello-Pinto, M.M.C.; Pinto, L.C.; Brasil, O.O.; Nunes, J.F. and Guerra, M.M.P. (2011). Effects of reduced glutathione and catalase on the kinematics and membrane functionality of sperm during liquid storage of ram semen. Small Ruminant Research, 100: 44-49.

Cummins, J.M.; Jequier, A.M. and Kan, R. (1994). Molecular biology of the human male fertility: links with ageing, mitochondrial genetics and oxidative stress. Molecular Reproduction and Development, 37: 345-362.

Dimick, P.S.; Howe, S.R. and Benton, A.W. (1985). composition of freshly harvested and commercial royal jelly. Journal of Apicultural Research, 24(1): 52-61.

Elnagar, S.A. (2010). Royal jelly counteracts bucks Summer infertility. Animal Reproduction Science, 121(1-2): 174-180.

Etemadi, M. (1993). Royal jelly. Journal of Animal Husbandry, 20: 42-50.

Forouzanfar, M.; Fazilati, M.; Hosseini, S.M.; Moulavi, F.; Hajian, M.; Salehi, S. et al. (2007). Investigation of different glycerol and Egg Yolk concentration on freezing Bakhtiari Ram Semen. Journal of Iranian Anatomical Sciences, 5: 17-25.

www.SID.ir

Archive of SID

Gancarczyk, M.; Kuklinska, M.; Sadowska, J.; Strzezek, J. and Bilinska, B. (2006). Aromatization and antioxidant capacity in the testis of seasonally breeding bank voles: effects of LH, PRL and IGF-I. Theriogenology, 65: 1376-1391.

García-Artiga, C. (1994). Test de endósmosis en ovino, in: 7th International Meeting on Animal Reproduction, Murcia, Spain, Pp: 77-81.

Gundogan, M.; Yeni, D.; Avdatek, F. and Fidan, A.F. (2010). Influence of sperm concentration on the motility, morphology, membrane and DNA integrity along with oxidative stress parameters of ram sperm during liquid storage. Animal Reproduction Science, 122: 200-207.

Hadad-Kaveh, S. (1987). Winged pharmaceutist, Tehran Enghelab Islamic press, P: 152.

Hanes, J. and Simuth, J. (1992). Identification and partial characterization of the major royal jelly protein of the honey bee (*Apis mellifera* L.). Journal of Apicultural Research, 31: 22-26.

Howe, S.R.; Dimick, P.S. and Benton, A.W. (1985). Composition of freshly harvested and commercial royal jelly. Journal of Apicultural Research, 24: 52-61.

Jeyendran, R.S.; Van der Ven, H.H. and Zaneveld, L.J. (1992). The hypoosmotic swelling test an update. Archives of Andrology, 29: 105-116.

Kodai, T.; Umebayashi, K.; Nakatani, T.; Ishiyama, K. and Noda, N. (2007). Compositions of royal jelly II. Organic acid glycosides and sterols of the royal jelly of honeybees. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 55: 1528-1531.

Lercker, G. and Gelatina reale, La. (2003). composizione, autenticita ed adulterazione. In Atti del Convegno, Strategie per la valorizzazione dei prodotti dell' alveare. Universitá degli Studi del Molise, Campobasso, Pp: 67-81.

Mamouei, M. (2000). Artificial insemination of sheep and goats, Ahwaz University, Press, P: 244.

Manjunath, P.; Nauc, V.; Bergeron, A. and Menard, M. (2002). Major proteins of bovine seminal plasma bind to the low-density lipoprotein fraction of hen's egg yolk. Biology of Reproduction, 67: 1250-1258.

Maxwell, W.M.C. and Salamon, S. (1993). Liquid storage of ram semen—a review. Reproduction and Fertility Development, 5: 613-638.

Moradi, A.R.; Malekinejad, H.; Farrokhi–Ardabili, F. and Bernousi, I. (2013). Royal Jelly improves the sperm parameters of ram semen during liquid storage and serves as an antioxidant source. Small Ruminant Research, 113: 346-352.

Nagai, T. and Inoue, R. (2004). Preparation and the functional properties of water extract and alkaline extract of royal jelly. Food Chemistry, 84: 181-186.

Paulenz, H.; Soderquist, L.; Perez-Pe, R. and Berg, K.A. (2002). Effect of different extenders and storage temperatures on sperm viability of liquid ram semen. Theriogenology, 57: 823-836.

Sabatini, A.G.; Marcazzan, G.L.; Caboni, M.F.; Bogdanov, S. and Almeida-Muradian, L.B. (2009) Quality and standardisation of royal jelly. Journal of ApiProduct and ApiMedical Science, 1(1): 1-6.

Salamon, S. and Maxwell, W.M.C. (2000). Storage of ram semen. Animal Reproduction science, 62: 77-111.

Salisbury, G.W. and Vandemark, N.L. (1961). Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle. Department of Dairy Science, University of Illinois, Urbana, Volume 44, Issue 12, Pp: 2314-2322.

Senger, P.L. (2003). Pathways of pregnancy and parturition, 2nd ed, USA, Cadmus Professional Communication.

Shannon, P. and Curson, B. (1972). Toxic effect and action of dead sperm on diluted bovine semen. Journal of Dairy Science, 55: 614-620.

Tamura, S.; Kono, T.; Harada, C.; Yamaguchi, K. and Moriyama, T. (2009). Estimation and characterisation of major royal jelly proteins obtained from the honeybee *Apis merifera*. Food Chemistry, 114: 1491-1497.

Trinchero, G.D.; Affranchino, M.A.; Schang, L.M. and Beconi, M.T. (1990). Antioxidant effect of bovine spermatozoa on lipid peroxidation. Computational Biology and Chemistry, 8: 339-350.

Vijayaraghavan, S. and Hoskins, D.D. (1986). Regulation of bovine sperm motility and cyclic adenosine 3´, 5´– monophos phate by andenosine and its analogues. Biology of Reproduction, 34: 468-77.

Viswanath, R. and Shannon, P. (1997). Do sperm cells age? A review of the physiological change in sperm during storage at ambient temperature. Reproduction, Fertility and Development, 9: 321-331.

Winston, M.L. (1991). The Biology of the Honey Bee. Harvard Cambridge.London, 4th Edition University Press.

www.SID.ir

Archive of SID

Vol. 13, No. 2, Summer, 2017

The effect of different concentrations of royal jelly supplementation in tris diluent on semen quality parameters of Arabi rams

Raeesi Dehkohneh, S.[1]; Mamouei, M.[2]; Tabatabaei, S.[3]; Fayazi, J.[2] and Naghibi-Rokni, H.[4]

Received: 24.11.2015 Accepted: 10.07.2016

Abstract

This experiment was conducted to investigate the effects of different concentrations of royal jelly in tris extender on motility, viability, morphological abnormalities and membrane integrity of spermatozoa in Arabi rams. For this purpose, the semen of 10 Arabi rams were polled and then examined under 5 treatments including the tris diluent containing the concentrations of zero, 0.5, 1, 1.5 and 2% royal jelly in three times of zero, 24 and 48 hours in a completely randomized design. The results showed a significant difference in motility of spermatozoa among royal jelly treatments and control ($P<0.05$). At 0.5, 1 and 1.5% of royal jelly, sperm motility was significantly more than the control group ($P<0.05$). Sperm viability rate was not affected by treatments. The used concentrations of royal jelly have not significantly effect on the amount of morphological abnormalities of Arabic ram spermatozoa in comparison with control group. Between different concentrations of royal jelly treatments and control group, there was not significant difference in the sperm plasma membrane integrity ($P>0.05$). Concentrations 1 and 1.5% of royal jelly improved the amount of sperm plasma membrane integrity when compared with 0.5 and 2% of royal jelly concentrations ($P<0.05$). In general, according to this study, it is concluded that the low levels of royal jelly (0.5, 1 and 1.5%) improved the sperm progressive motility during liquid storage in Arabi ram.

Key words: Arabi ram, Royal Jelly, Sperm, Tris diluent, Quality parameters

1- MSc Graduated of Animal Physiology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran
2- Associate Professors, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran
3- Assistant Professors Department of Animal Sciences, Faculty of Animal Science and Food Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran
4- MSc of Animal Physiology, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran
Corresponding Author: Raeesi Dehkohneh, S., E-mail: soraya.raeesi@gmail.com

www.SID.ir