DOI: 10.22092/vj.2019.127151.1602
شماره ۱۲۹ زمستان ۱۳۹۹
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

اثر تغذیه‌ای پودر برگ گیاه مورد *(Myrtus communis)* بر فراسنجه‌های کمی و کیفی اسپرم و عملکرد آنتی‌اکسیدانی منی و خون در قوچ عربی

• **صالح طباطبائی وکیلی (نویسنده مسئول)**
گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
• **عماد محیسن زاده**
گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
• **طاهره محمدآبادی**
گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
• **مهدی زارعی**
گروه بهداشت و مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

تاریخ دریافت: ۲۹-۰۴-۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: ۱۶-۰۶-۱۳۹۸
Email: tabatabaei@asnrukh.ac.ir

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی تأثیر پودر برگ گیاه مورد با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بر پارامترهای کمی و کیفی اسپرم، ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسمای منی و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز خون قوچ عربی در فصل غیرتولیدمثلی بود. تعداد ۱۲ رأس قوچ عربی بالغ در قالب ۳ تیمار آزمایشی و ۴ تکرار استفاده شد. تیمارها شامل سطوح پودر برگ گیاه مورد (۰، ۱۲/۵ و ۲۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره) بودند. پس از ۴۲ روز از تغذیه دام‌ها، اسپرم‌گیری و خون‌گیری به مدت ۴ هفته متوالی انجام و پارامترهای کمی و کیفی اسپرم و توان آنتی‌اکسیدانی تام پلاسمای منی ارزیابی شدند. همچنین، غلظت تستوسترون سرم خون و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز پلاسمای خون مورد سنجش قرار گرفتند. سطح ۲۵ گرم پودر برگ مورد بهترین تأثیر در بهبود شاخص‌های اسپرم و منی شامل جنبایی (۷۳/۸۸٪)، زنده‌مانی (۷۴/۱۹٪)، ناهنجاری (۱۰٪)، سلامت غشای پلاسمایی اسپرم (۴۳/۳۸٪)، حجم منی (۱/۹۱ml)، غلظت اسپرم ($۱/۳۹ \times ۱۰^{۹}$/ml)، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام پلاسمای منی (۱۰۹/۳۸ µmol/litr) و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز خون (۵۰۰/۱۹U/ml) نسبت به سطح ۱۲/۵ گرم پودر برگ مورد و گروه شاهد داشت (P<۰/۰۵). غلظت تستوسترون سرم خون تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. همبستگی مثبت و معنی‌داری میان توان آنتی‌اکسیدانی تام پلاسمای منی و سوپراکسید دیسموتاز پلاسمای خون با فراسنجه‌های کمی و کیفی اسپرم یافت شد (p<۰/۰۵). بطور کلی استفاده از پودر برگ گیاه مورد در جیره موجب بهبود فراسنجه‌های اسپرم و آنتی اکسیدانی پلاسمای منی و خون در قوچ عربی شد. بهترین نتیجه با استفاده از سطح ۲۵ گرم در کیلوگرم جیره از این گیاه بدست آمد.

کلمات کلیدی: اسپرم، آنتی‌اکسیدان، گیاه مورد، رادیکال‌های آزاد، قوچ

www.SID.ir

Archive of SID

Veterinary Researches & Biological Products No 129 pp: 102-111

Effect of dietary *Myrtus communis* leaf powder on Quantitative and Qualitative Characteristics of Sperm and Antioxidant Function of Semen and Blood in Arabi Ram

By: Saleh Tabatabaei Vakili, S., (Corresponding Author) Department of Animal Science, Agricultural and Natural Resources University of Khuzestan. Mohaysenzadeh, E., Department of Animal Science, Agricultural and Natural Resources University of Khuzestan. Mohammadabadi, T., Department of Animal Science, Agricultural and Natural Resources University of Khuzestan. Zarei M., Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz.

Received: 2019-07-20 **Accepted: 2019-09-07**

Email: tabatabaei@asnrukh.ac.ir

The aim of this study was to investigate the effect of different levels of Myrtle leaf powder on quantitative and qualitative parameters of sperm, antioxidant capacity of semen plasma, and blood superoxide dismutase activity (SOD) in Arabi ram in non-breeding season. 12 adult Arabic rams were used in 3 experimental treatments with 4 replicates per treatment. The treatments consisted of 3 levels of Myrtle leaf powder (0, 12.5 and 25 g/kg of DM). After 42 days feeding of experimental treatments, semen samples were collected and blood samples were obtained once a week for 4 consecutive weeks and the quantitative and qualitative parameters of sperm and total antioxidant capacity of semen were measured. Also, blood samples were subjected to measure testosterone level and SOD activity. 25 g/kg of myrtle powder had the best effect on improvement the sperm and semen characteristics include the motility (73.88%), viability (74.19%), morphological defects (10%), plasma membrane integrity (43.38%), semen volume (1.91 ml) and spermatozoa concentration (1.39×10^9/ml) as well as increased the seminal plasma total antioxidant capacity (TAC) (109.38 µmol/litr) and blood plasma SOD (500.19 U/ml) ($P<0.05$). The blood sera testosterone concentration was not affected by treatments. A positive and significant correlation was found between the TAC and SOD with quantitative and qualitative parameters of sperm in Arabi ram ($P<0.05$). In conclusion, the use of Myrtle leaf powder in diet improved reproductive performance, seminal plasma TAC and blood SOD activity in Arabi ram. The best result was obtained from 25 g/kg of this plant.

Key words: Antioxidants, Free radicals, Myrtle, Ram, Sperm

مقدمه

تنش اکسیداتیو امروزه به عنوان یک بیماری پاتولوژیک تعریف شده است و به دلیل عدم تعادل بین گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و عملکرد آنتی اکسیدان‌ها ایجاد می‌شود. به طور کلی سلول برای ادامه حیات به اکسیژن نیاز دارد، به طوری که ROS تولید شده نتیجه یک فرآیند بیولوژیکی طبیعی در بدن می‌باشد (۱۲). در بدن مواد مغذی حاصل از خوراک جهت انتقال به درون بافت‌های بدن و تامین انرژی مورد نیاز فرآیندهای متابولیک، اکسیده می‌شوند. بنابراین اکسیداسیون یک فرآیند بافتی در متابولیسم بدن است و جزء لاینفک فرآیندهای متابولیسمی می‌باشد، ولی تولید مقادیر زیاد گونه‌های فعال اکسیژن می‌تواند باعث آسیب اجزای حیاتی سیستم‌های بیولوژیکی شود (۲۶). رادیکال‌های آزاد به غشای سلول آسیب می‌رسانند و با افزایش پروکسیداسیون لیپیدها و شاخص‌های تنش اکسیداتیو منجر به التهاب بافت و مرگ سلول‌ها می‌شوند (۴۳). مطالعات متعددی نشان می‌دهد که تقریباً ۴۰ درصد علت ناباروری حیوانات نر به دلیل افزایش میزان گروه‌های فعال اکسیژن است (۲).

ترکیب لیپیدی غشاء پلاسمایی اسپرم پستانداران متفاوت از سلول‌های سوماتیک است و شامل فسفولیپیدها، استرول‌ها، اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع می‌باشد (۵). به علت غنی بودن اسپرم پستانداران از اسیدهای چرب غیراشباع، سلول حساسیت بالایی در برابر حمله گروه‌های فعال اکسیژن دارد که منجر به کاهش جنبایی اسپرم (احتمالاً به وسیله کاهش سریع میزان ATP درون سلولی در اثر آسیب به آکسونم)، کاهش زنده‌مانی و افزایش آسیب‌های مورفولوژیکی به قطعه میانی با اثرات تخریبی روی ظرفیت‌پذیری و واکنش آکروزومی می‌شود (۱۶). رادیکال‌های آزاد که سبب ناباروری می‌شوند، اکسیژن و یا اکسیدان‌های مشتق از اکسیژن هستند که از این دسته از مواد می‌توان یون سوپراکسید

www.SID.ir

Archive of SID

(-O2)، پروکسید هیدروژن (H2O2)، رادیکال‌های پروکسیل(-ROO) و رادیکال‌های هیدروکسیل (-OH) را نام برد (۶). این اکسیدانت‌ها دارای گروه‌های فعال اکسیژن هستند و به واسطه الکترون‌های جفت نشده با دیگر ترکیبات شیمیایی، واکنش قوی ایجاد می‌نمایند. گروه‌های فعال اکسیژن در طی متابولیسم طبیعی اکسیژن تولید می‌شوند و تقریباً یک تا دو درصد از اکسیژن متابولیزه شده را شامل می‌شوند. افزایش میزان تولید رادیکال‌های آزاد شده و کاهش برداشت و دفع آن‌ها سبب تجمع رادیکال‌های آزاد و موجب آسیب به غشای پلاسمایی و DNA اسپرم می‌شوند (۳۵).

مورد یا مورت با نام علمی *Myrtus communis* از جمله گیاهان نادری است که در مناطق محدودی در ایران و دنیا وجود دارد. درختچه‌های کوچکی هستند که ارتفاع آن‌ها در شرایط عادی به ۱ تا ۳ متر می‌رسد (۳۹). از جمله مواد موثره موجود در گیاه مورد می‌توان به اسیدهای فنولی مانند گالیک اسید، وانیلیک اسید و فرولیک اسید، تانن‌ها مانند گالوتانین و فلاوونوئیدها مانند میریستین، کاتچین وکوئرستین اشاره کرد (۴). همچنین، قسمت‌های مختلف مورد از جمله برگ، میوه و گل، دارای ویتامین C و ترکیبات روغنی از جمله اسیدهای چرب اولئیک، لینولئیک و پالمیتیک می‌باشد (۲۳).

براثر فعالیت اسپرم‌ها، pH منی به دلیل تولید اسید لاکتیک کاهش می‌یابد. کاهش pH به کمتر از ۶/۹ در محیط بی‌هوازی خود سبب کاهش متابولیسم و نهایتاً مرگ اسپرم می‌گردد (۹). اسپرم در محیط اطراف خود جهت تولید ATP در درجه حرارت پایین نیاز به اکسیژن زیادی دارد به طوری که اکسیژن مربوطه نیز ممکن است منجر به تولید رادیکال‌های آزاد شود، در نتیجه سبب تخریب غشای اسپرم می شود. تصور می‌شود که گیاهان دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالقوه با جلوگیری از اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species) بتوانند تأثیر مهمی در زمینه کاهش پراکسیداسیون چربی اسپرم داشته باشند. این گونه‌های مخرب اثرات خود را به صورت کاهش تعداد اسپرم، تغییر حرکت و مورفولوژی اسپرم در آنالیز منی در شرایط مایع نشان می دهند (۴۷).

بنابراین با توجه به نقش آنتی‌اکسیدان‌ها در عملکرد اسپرم و خاصیت فراوان گیاه مورد به عنوان آنتی‌اکسیدان به دلیل وجود وسیع ماده موثره فلاونوئید در این گیاه، مطالعه حاضر با هدف افزودن سطوح مختلف گیاه مورد به جیره قوچ عربی و بررسی تأثیر آن بر عملکرد تولیدمثلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در قوچ عربی انجام گرفت.

مواد و روش‌کار

پژوهش حاضر از اوایل دی ماه تا اواخر اسفند ماه سال ۱۳۹۵ که مصادف با فصل غیر تولیدمثلی گوسفند عربی بوده (۱۹)، در ایستگاه دامپروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، واقع در شهر ملاثانی در ۳۶ کیلومتری شمال شرقی اهواز انجام گرفت. در این آزمایش، از تعداد ۱۲ رأس قوچ عربی بالغ با میانگین سنی ۲/۵ سال و متوسط وزن ۷۰ کیلوگرم و تحت تغذیه یکسان استفاده شد. دام‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی به ۳ تیمار آزمایشی با ۴ تکرار تقسیم شدند. گروه اول به عنوان تیمار شاهد و بدون استفاده از پودر گیاه مورد در نظر گرفته شد. دو گروه دیگر به ترتیب سطوح ۱۲/۵ و ۲۵ گرم پودر برگ گیاه مورد در کیلوگرم ماده خشک جیره به صورت روزانه دریافت کردند. نمونه گیاهی

جدول ۱- ترکیب شیمیایی مواد خوراکی و جیره پایه مورد استفاده در آزمایش

ماده خوراکی	مقدار (درصد)
یونجه	۱۰
دانه جو	۶۴
کاه گندم	۲۶
مجموع	۱۰۰
ترکیبات مغذی	مقدار
ماده خشک (درصد)	۹۰
روی (PPM)	۱۷/۶۶
کلسیم (درصد)	۰/۵۱
فسفر (درصد)	۰/۲۲
پروتئین خام (درصد)	۱۰/۸
انرژی قابل متابولیسم (مگاکالری در کیلوگرم)	۲/۱۶

www.SID.ir

Archive of SID

از دشت‌های شهرستان دهدشت واقع در استان کهگیلویه و بویراحمد جمع‌آوری و در سایه خشک گردید. قسمت برگ گیاه مورد آسیاب و سپس مورد استفاده گوسفندان قرار گرفت. فاصله زمانی آغاز تغذیه قوچ‌ها با تیمارهای آزمایشی تا نمونه‌گیری ۴۲ روز طول کشید. مشخصات جیره پایه در جدول ۱ ارائه شده است (NRC,۲۰۰۷). پس از گذشت ۴۲ روز از مصرف تیمارها، اسپرم‌گیری توسط دستگاه الکترواجاکولاتور هفته‌ای یک بار و به مدت ۴ هفته برای ارزیابی فراسنجه‌های کمی و کیفی اسپرم شامل غلظت، جنبایی پیشرونده، زنده‌مانی، ناهنجاری‌های مورفولوژیکی و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم انجام شد. همزمان با اسپرم‌گیری، خون‌گیری برای ارزیابی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز پلاسمای خون و غلظت هورمون تستوسترون سرم خون انجام شد.

برای ارزیابی جنبایی پیش‌رونده اسپرم‌ها، به وسیله پیپت پاستور، نمونه‌ای از منی رقیق‌شده به نسبت ۱ به ۱۰۰ در رقیق‌کننده بر 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) را برداشته و به روی لام با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده و پس از لامل روی آن قرار داده شد، آنگاه توسط میکروسکوپ نوری و با بزرگنمایی ۴۰۰× درصد اسپرم‌های با جنبایی پیش‌رونده در چند میدان میکروسکوپی تعیین شد و میانگین این میدان‌ها به عنوان درصد جنبایی پیش‌رونده اسپرم‌ها در آن لام (نمونه) ثبت شد.

به منظور بررسی درصد اسپرم‌های زنده، ابتدا یک قطره منی رقیق شده را بر روی یک انتهای لام قرار داده و پس از افزودن قطره‌ای از

جدول ۲- تأثیر سطوح مختلف پودر برگ گیاه مورد در جیره قوچ عربی بر فراسنجه های کیفی اسپرم (درصد)

پودر برگ گیاه مورد	جنبایی پیشرونده	زنده مانی	ناهنجاری	سلامت غشاء
صفر(شاهد)	۵۹/۸۸ ^{c}	۵۹/۸۸ ^{c}	۱۳/۸۱ ^{a}	۳۳/۷۵ ^{b}
۱۲/۵ گرم در کیلوگرم	۶۶/۵۶ ^{b}	۶۵/۸۱ ^{b}	۱۱/۳۱ ^{b}	۳۵/۳۱ ^{b}
۲۵ گرم در کیلوگرم	۷۳/۸۸ ^{a}	۷۴/۱۹ ^{a}	۱۰/۰۰ ^{b}	۴۳/۳۸ ^{a}
SEM	۰/۸۸	۰/۸۹	۰/۲۶	۰/۶۴
P-value	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون میانگین‌های با حروف نامشابه اختلاف آماری معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

جدول ۳-تأثیر سطوح مختلف پودر برگ گیاه مورد در جیره قوچ عربی بر فراسنجه‌های کمی اسپرم (درصد)

پودر برگ گیاه مورد	حجم (میلی لیتر)	غلظت اسپرم (ml/۱۰۶)
صفر (شاهد)	۱/۰۰ ^{c}	۱۲۲۵ ^{b}
۱۲/۵ گرم درکیلوگرم	۱/۵۰ ^{b}	۱۴۱۲ ^{a}
۲۵ گرم درکیلوگرم	۱/۹۱ ^{a}	۱۳۹۰ ^{a}
SEM	۰/۰۶	۱۲/۱۶
P.value	۰/۰۴	۰/۰۰۰۵

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون میانگین‌های با حروف نامشابه اختلاف آماری معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID

مخلوط رنگ آماده ائوزین- نیگروزین به آن، توسط یک لام دیگر گسترش تهیه گردید. ائوزین به آسانی از غشای اسپرم‌های مرده عبور نموده و باعث صورتی رنگ شدن سر اسپرم‌ها می‌شود. در حالی‌که اسپرم‌های زنده رنگی به خود نگرفته و در رنگ زمینه حاصل از نیگروزین بی‌رنگ مشاهده می‌شوند. زنده‌مانی با میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی ۱۰۰۰× ارزیابی شد. درصد اسپرم‌های زنده و مرده در چندین میدان از لام (با شمردن حداقل ۲۰۰ اسپرم در هر اسلاید) تعیین شد. درصد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی در نمونه‌های رنگ‌آمیزی با ائوزین- نیگروزین انجام شد. درصد اسپرم‌های ناهنجار با ارزیابی حداقل ۲۰۰ اسپرم در هر لام تحت بزرگنمایی ۱۰۰۰× میکروسکوپ تعیین گردید.

سلامت غشای پلاسمایی اسپرم با استفاده از تست تورم هیپوسموتیک تعیین شد. محلول هیپوسموتیک با حل‌کردن ۰/۷۳۵ گرم تری‌سدیم‌سیترات‌دی‌هیدرات و ۱/۳۵۱ گرم فروکتوز در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر آماده شد. برای این آزمایش، ابتدا ۵۰۰ میکرولیتر محلول هیپوسموتیک با ۵۰ میکرولیتر از هر نمونه اسپرم مخلوط و به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شد و سپس یک قطره از محلول را برداشته و گسترش تهیه کرده و پس از خشک‌شدن، نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری بررسی شدند. در هر اسلاید ۲۰۰ اسپرم شمارش و درصد اسپرم با دم پیچ‌خورده و سر متورم که حاکی از سلامت غشای اسپرم است تعیین شد (۱).

غلظت اسپرم در نمونه‌های منی رقیق شده، با استفاده از لام هموسایتومتر تعیین شد (۱۸). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) پلاسمای منی به روش FRAP اندازه‌گیری شد. اساس این روش بر مبنای توانایی آنتی‌اکسیدان‌های مایع منی در احیای یون فریک به یون فرو است، که نشان‌دهنده‌ی فعالیت آنتی‌اکسیدانی تام می‌باشد. آزمایش FRAP با استفاده از روش بنزی و استراین (۱۹۹۶)، اندازه‌گیری و نتایج بصورت میکرومولار یون فریک در هر لیتر از مایع منی بیان شد (۱۰).

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز خون توسط کیت راندوکس ساخت کشور انگلیس اندازه‌گیری گردید. اثر این آنزیم، خنثی‌کردن رادیکال‌های سمی سوپراکسید تولید شده طی واکنش‌های انرژی‌زای، اکسیداتیو و تبدیل آن‌ها به هیدروژن پراکسید و اکسیژن مولکولی می‌باشد. در این روش از زانتین و زانتین‌اکسیداز برای تولید رادیکال‌های سوپراکسید

جدول ۴- تأثیر سطوح مختلف پودر گیاه مورد بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسمای منی قوچ عربی

تیمارهای آزمایشی (پودر مورد)	صفر(شاهد)	۱۲/۵ گرم در کیلوگرم	۲۵ گرم در کیلوگرم	SEM	P-value
ظرفیت‌آنتی‌اکسیدانی تام (µmol/litr)	۹۰/۳۴^{b}	۹۲/۵۹^{b}	۱۰۹/۳۸^{a}	۱/۲۵	۰/۰۱

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون میانگین‌های با حروف نامشابه اختلاف آماری معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

جدول ۵- تأثیر سطوح مختلف پودر برگ گیاه مورد بر غلظت هورمون تستوسترون و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سرم خون قوچ عربی

تیمارهای آزمایشی (مورد)	تستوسترون (ng/ml)	SOD (U/ml)
صفر (شاهد)	۱/۹۷	۳۳۹/۰۶ ^{c}
۱۲/۵ گرم در کیلوگرم	۱/۹۶	۴۲۰/۲۵ ^{b}
۲۵ گرم در کیلوگرم	۱/۶۵	۵۰۰/۱۹ ^{a}
SEM	۰/۱۳	۹/۶۱
P-value	۰/۵۰	۰/۰۱

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها، در هر ستون میانگین‌های با حروف نامشابه اختلاف آماری معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID

استفاده گردید. این رادیکال‌های تولید شده با ماده‌ای موسوم به آیانتی (INT) که در کیت موجود بود واکنش داده و ماده قرمز رنگی موسوم به رد فرمازن دای تولید کرد. سپس فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از طریق اندازه‌گیری درصد مهار انجام این واکنش تعیین گردید (۳۷).

داده‌های بدست آمده از این مطالعه، پس از پردازش توسط نرمافزار Excel ، با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۱۶)، در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه واریانس قرار گرفت و مقایسه‌ی میانگین تیمارهای آزمایشی با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. پیش از انجام آنالیز، نرمال بودن توزیع داده‌های آزمایشی با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk و رویه UNIVARIATE مورد آزمون قرار گرفت. جهت ارزیابی همبستگی میان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با برخی پارامترهای کمی و کیفی منی و همچنین هورمون تستوسترون سرم خون، از آزمون همبستگی دو متغیره پیرسون استفاده گردید. مدل آماری طرح به شرح زیر می‌باشد:

$$Yij=\mu+Ti+Eij$$

Yij: مشاهدات مربوط به صفات

μ: میانگین کل مشاهدات

Ti: اثر تیمار

Eij: اثر خطا

نتایج

نتایج ارائه شده در جدول ۲ نشان می‌دهد که پودر مورد در سطوح مختلف تأثیر معنی‌داری بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم قوچ عربی داشت. بیشترین و کمترین درصد جنبایی پیشرونده، زنده‌مانی و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم به ترتیب مربوط به تیمار ۲۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک از پودر مورد و گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). یافته‌های مربوط به ناهنجاری مورفولوژیکی اسپرم گویای آن است که گروه‌های تیمار با پودر گیاه مورد موجب کاهش درصد ناهنجاری‌های اسپرم در مقایسه با گروه شاهد شدند (P<۰/۰۵)، اما میزان این فراسنجه تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای ۱۲/۵ و ۲۵ گرم پودر گیاه مذکور نداشت.

نتایج ارائه شده در جدول ۳ نشان می‌دهد که با افزایش سطح پودر گیاه مورد، حجم مایع منی و نیز غلظت اسپرم بطور معنی‌داری افزایش یافتند، بطوری که کمترین و بیشترین مقدار این فراسنجه‌های کمی منی به ترتیب مربوط به شاهد و سطح ۲۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک گیاه بود (P≤۰/۰۵). نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که پودر برگ گیاه مورد در سطح ۲۵ گرم در کیلوگرم ماده خشک بطور معنی‌داری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) پلاسمای منی را نسبت به گروه شاهد و تیمار ۱۲/۵ گرم در کیلوگرم پودر این گیاه افزایش داد (P<۰/۰۵)، ولی تفاوت معنی‌داری بین تیمار ۱۲/۵ گرم در کیلوگرم و شاهد برای این فراسنجه مشاهده نشد (جدول ۴).

پودر گیاه مورد در سطوح ۱۲/۵ و ۲۵ گرم در کیلوگرم جیره قوچ‌های عربی باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز خون در مقایسه با تیمار شاهد شد (P≤۰/۰۵). اما مکمل کردن جیره قوچ‌ها با پودر مورد تأثیر معنی‌داری بر غلظت هورمون تستوسترون خون قوچ‌ها نداشت (جدول ۵).

همبستگی میان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز خون و فراسنجه‌های کمی و کیفی منی قوچ عربی در جدول ۶ ارائه شده است. همبستگی مثبت و معنی‌داری میان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز خون با درصد جنبایی (r=۰/۹۵)، زنده‌مانی (r=۰/۹۶)، سلامت غشاء (r=۰/۸۹) و غلظت اسپرم (r=۰/۹۵) و نیز حجم منی (r=۰/۸۰) یافت شد (P<۰/۰۱). همچنین، همبستگی منفی معنی‌داری میان میزان SOD خون و درصد ناهنجاری‌های اسپرم (r= -۰/۸۶) مشاهده شد (P<۰/۰۱). همچنین در جدول ۶، همبستگی میان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسمای منی و برخی پارامترهای کمی و کیفی منی قوچ عربی مشاهده می‌شود. همبستگی مثبت و معنی‌داری میان میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسمای منی با درصد جنبایی (r=۰/۸۷)، زنده مانی (r=۰/۹۱)، سلامت غشاء (r=۰/۹۵) و غلظت اسپرم (r=۰/۴۹) و نیز حجم منی (r=۰/۸۴) یافت شد (P<۰/۰۱). همچنین، همبستگی منفی معنی‌داری میان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسمای منی و درصد ناهنجاری اسپرم (r= -۰/۷۲) بدست آمد (P<۰/۰۱).

بحث

در تحقیقی، عصاره گیاه مرزه ماکرانتا که خواص آنتی‌اکسیدانی مشابه با گیاه مورد دارد، باعث بهبود خصوصیات کمی و کیفی اسپرم گاو مانند

جدول ۶- همبستگی میان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز خون و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام پلاسمای منی با برخی پارامترهای کمی و کیفی منی قوچ عربی

پارامتر	جنبایی پیشرونده (٪)	زنده مانی (٪)	سلامت غشاء (٪)	ناهنجاری (٪)	غلظت اسپرم (۱۰^۶/ml)	حجم منی (ml)
SOD (U/ml)	۰/۹۵**	۰/۹۶**	۰/۸۹**	-۰/۸۶	۰/۹۵**	۰/۸۰**
ظرفیت آنتی اکسیدانی تام	۰/۸۷**	۰/۹۱**	۰/۹۵**	-۰/۷۲	۰/۴۹**	۰/۸۴**

اعداد داخل جدول بیانگر ضریب همبستگی (r) هستند.

علامت ** نشان دهنده ی همبستگی معنی دار در سطح ۰/۰۱ می باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

جنبایی پیشرونده، زنده‌مانی و سلامت غشای پلاسمایی شد (۱۴) که موافق با یافته‌های مطالعه حاضر با استفاده از گیاه مورد در قوچ عربی می‌باشد. در مطالعه دیگر، افزودن ۱۵۰ میکرولیتر در میلی لیتر عصاره گیاه مرزنجوش با خواص آنتی اکسیدانی باعث بهبود جنبایی پیش‌رونده اسپرم قوچ شد (۱۳). همچنین تأثیر مثبت عصاره مرزنجوش بر کیفیت اسپرم گاو نشان داده شده است (۲۱). مطالعات اخیر تأثیرات مثبت ناشی از استفاده عصاره رزماری با خواص مشابه گیاه مورد در رقیق کننده انجماد منی چندین گونه از جمله گوسفند (۲۴)، بز (۴۹) و سگ (۲۵) را گزارش کرده‌اند. عصاره آبی رزماری باعث بهبود جنبایی، زنده‌مانی، یکپارچگی غشای پلاسمایی و کاهش میزان ناهنجاری‌های مورفولوژیکی در اسپرم بز گردید (۴۹). در تحقیقی، اثر آنتی‌اکسیدانی آب انار بر پارامترهای اسپرم و پتانسیل باروری موش‌ها بررسی گردید و مشاهده شد که مصرف خوراکی آب انار باعث کاهش معنی‌دار درصد اسپرم‌های غیرپیشرونده و غیرطبیعی شد (۷).

مصرف خوراکی آب انار با دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی موجب افزایش غلظت اسپرم در موش شد (۷). با بررسی تأثیر آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه شاه‌تره نیز افزایش معنی‌داری در غلظت اسپرم موش‌ها مشاهده شد (۴۲). در تحقیق دیگر، تأثیر عصاره چای سبز نشان‌دهنده تأثیرات مثبت آنتی‌اکسیدان‌های موجود در این گیاه بر روی پارامترهای جنبایی و غلظت اسپرم موش‌ها بود (۴۵). در مطالعه‌ای دیگر، تزریق عصاره آبی ریشه گیاه ثعلب به موش‌ها باعث افزایش معنی‌دار غلظت اسپرم شد (۲۰). با بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی موسیر در موش، افزایش معنی‌دار غلظت اسپرم و حجم مایع منی را مشاهده گردید (۳۰). در تحقیقی، استفاده از گیاه خرنوب به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی باعث افزایش حجم مایع منی در مردان نابارور شد (۳۶). این یافته‌ها موافق با نتایج مطالعه حاضر مبنی بر بهبود فراسنجه‌های کیفی و کمی اسپرم با استفاده از سطوح مختلف پودر برگ گیاه مورد در قوچ عربی می‌باشد. بهبود پارامترهای اسپرم در این گیاهان را می‌توان به کوئرسیتین موجود در آن‌ها نسبت داد. کوئرسیتین که جزء ترکیبات گیاه مورد نیز است، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قوی بوده و می‌تواند استرس اکسیداتیو را کاهش دهد. کوئرسیتین اثر مثبتی بر هورمون‌های جنسی و اندام‌های تناسلی شامل بیضه‌ها، اپیدیدیم، لوله‌های منی، غده و نیز کمیت و کیفیت اسپرم به طور وابسته به دوز و طول دوره درمان دارد (۳۱).

افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام به‌واسطه پودر گیاه مورد را می‌توان دلیل احتمالی بر افزایش پارامترهای کیفی اسپرم قوچ عربی مشاهده شده و در تحقیق حاضر دانست. از آنجایی که آنتی‌اکسیدان‌ها نقش محوری در دفاع از سلول‌ها علیه رادیکال‌های آزاد دارند، بنابراین احتمال می‌رود که کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی تام مایع منی با کاهش کیفیت سلول‌های اسپرم مرتبط باشد (۳۳). در همین راستا، همبستگی مثبتی بین کاهش جنبایی اسپرم و کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مردان نابارور مشاهده شد (۱۱). در مطالعه‌ای، سطح TAC مایع منی در مردان نابارور آستنواسپرمی به طور معنی‌داری پایین‌تر از مردان بارور بود، همچنین همبستگی مثبتی بین جنبایی و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام مشاهده گردید (۳۲). در تحقیقی دیگر استفاده از عصاره آبی الکلی ویتانیا کواگولانس به عنوان آنتی اکسیدان باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسمای منی در رت‌ها شد (۴۴). عصاره ویتانیا باعث بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام منی و افزایش تعداد اسپرم در مردان نابارور شد. گیاه مورد همانند ویتانیا کواگولانس با داشتن ترکیبات فلاوونوئیدی دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی است و باعث کاهش سطح پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود (۳). در مطالعه‌ای دیگر استفاده از عصاره آبی الکلی کهورک به عنوان آنتی‌اکسیدان، باعث افزایش معنی دار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در موش‌های صحرایی دیابتی تحت درمان با کهورک شد (۲۲). استفاده از گیاه خرنوب به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام منی در مردان نابارور شد (۳۶).

در تحقیقی، افزودن عصاره آبی برگ گیاه حرا به عنوان آنتی‌اکسیدان به جیره موش‌های صحرایی باعث افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاهش فعالیت مالون دی آلدئید و در نتیجه، کاهش استرس اکسیداتیو شد (۱۷). در یک مطالعه دیگر، اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه شیرین‌بیان بر روی مسمومیت کلیوی القا شده با اتانول در موش‌های صحرایی نر مثبت بوده و باعث افزایش معنی دار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و در نتیجه کاهش استرس اکسیداتیو و حفاظت موش‌ها در برابر مسمومیت شد (۲۹). همچنین، افزودن عصاره الکلی ریشه گیاه شلغم به عنوان آنتی‌اکسیدان به موش‌های صحرایی مبتلا به مسمومیت کبدی سیسپلاتین باعث حفاظت موش‌ها و فروکش مسمومیت شده و از کاهش بیشتر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و افزایش مالون دی آلدئید جلوگیری کرد (۳۸). افزایش سوپراکسید دیسموتاز در اثر مصرف این آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی احتمالاً به دلیل زدایش رادیکال‌های آزاد توسط فلاوونوئیدهایی مانند کوئرسیتین روی می‌دهد که باعث حفظ و بقای این آنزیم و آنزیم مشابه می‌شود. در تحقیقی، مصرف خوراکی عصاره گیاه دارویی Aphinozemonone به عنوان آنتی‌اکسیدان به مدت ۱۰ روز توسط موش‌های آزمایشگی مبتلا به مسمومیت کبدی استامینوفن اثر حفاظتی روی آن‌ها داشته و باعث کاهش استرس اکسیداتیو موش‌ها از طریق افزایش معنی‌دار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز شد (۳۴). در مطالعه‌ای دیگر استفاده از عصاره آبی الکلی کهورک به عنوان آنتی‌اکسیدان، باعث افزایش معنی‌دار سوپراکسید دیسموتاز در موش‌های صحرایی دیابتی تحت درمان با کهورک شد (۲۲).

اسپرم پستانداران حاوی مقادیر بالایی از اسیدهای چرب غیر اشباع می‌باشد این امر موجب گردیده که سلول اسپرم به شدت به پراکسیداسیون لیپیدی مستعد شود (۸). سوپراکسید دیسموتاز یک جزء مهم از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی است که نقش مهمی در حفاظت اسپرم از آسیب‌های اکسیداتیو بازی می‌کند (۴۸). تنش اکسیداتیو باعث تخریب اسپرم انسان می‌گردد و این تخریب نتیجه‌ی عدم تعادل بین گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد. مشخص شده که سلول‌های ژرمینال به طور فیزیولوژیک گونه‌های فعال اکسیژن را تولید می‌کنند زیرا گونه‌های فعال اکسیژن در حد نرمال برای بلوغ و ظرفیت‌پذیری اسپرم و همچنین فرآیند لقاح ضروری می‌باشند (۱۵). با این وجود تولید بیش از حد ROS، عملکرد طبیعی اسپرم را مختل کرده و یکپارچگی غشاء اسپرم را از بین می‌برد و در نهایت موجب تخریب DNA اسپرم می‌شود (۲). برای محافظت از اسپرم در برابر تنش اکسیداتیو، پلاسمای منی دارای یک سیستم

www.SID.ir

Archive of SID

ممانعت‌کننده برای گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد که این سیستم حاوی یکسری آنزیم‌هایی است که یکی از این آنزیم‌ها سوپراکسید دیسموتاز می‌باشد (۴۸). در بیضه، سلول‌های لایدیگ و سرتولی در تولید سوپراکسید دیسموتاز نقش دارند (۴۰). محققین گزارش کردند که در افراد نابارور فعالیت SOD بسیار کمتر از افراد بارور می‌باشد (۴۱). مطالعه قبلی در مردان نشان داد که همبستگی مثبتی بین فعالیت SOD و درصد جنبایی، غلظت و درصد اسپرم‌های زنده وجود دارد (۴۶). با این حال در تحقیق دیگر هیچگونه همبستگی بین سوپراکسید دیسموتاز پلاسمای منی مردان و کیفیت اسپرم آن‌ها مشاهده نشد (۲۷). محققین با مطالعه بر روی مردان نابارور، از آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به عنوان یک سیستم ممانعت‌کننده تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن نام بردند و عنوان کردند که همبستگی مثبتی بین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و جنبایی اسپرم وجود دارد، همچنین همین پژوهشگران همبستگی مثبتی را بین فعالیت سوپراکسید دیسموتاز پلاسمای منی و غلظت اسپرم و رابطه‌ی منفی بین میزان قطعه قطعه شدن DNA اسپرم با فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مشاهده کردند. در همین راستا، همبستگی مثبتی بین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کیفیت منی در مردان مشاهده گردید (۴۸). افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد و همچنین تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن به شدت باروری در جنس نر را تحت تأثیر قرار می‌دهد. یکی از از پیامدهای افزایش ROS در بدن، تسریع روند آپوپتوز سلول‌های زایا می‌باشد که در نهایت منجر به تخریب DNA و کاهش تعداد اسپرم می‌شود (۲). کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بدن و به خصوص در پلاسمای منی باعث ایجاد مشکلات باروری در جنس نر می‌شود (۲۸). پس می‌توان نتیجه گرفت که در مطالعه حاضر، یکی از دلایل کاهش غلظت اسپرم در تیمار شاهد، افزایش گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد که در تیمارهای دیگر با اعمال پودر مورد خوراکی از زیاد شدن گونه‌های فعال اکسیژن جلوگیری و غلظت اسپرم افزایش پیدا کرده است.

نتیجه‌گیری

بطور کلی از مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که استفاده خوراکی از پودر گیاه مورد به دلیل دارا بودن مواد موثره با خاصیت آنتی‌اکسیدانی، احتمالاً با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن موجب بهبود پارامترهای کیفی و کمی منی قوچ عربی در فصل غیر تولیدمثلی شده است.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به سبب فراهم نمودن امکانات تحقیق تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

منابع مورد استفاده

1. Adeel, M., A. Ijaz, M. Aleem, H. Rehman, M.S. Yousaf and M.A. Jabbar. 2009. Improvement of liquid and frozen-thawed semen quality of Nili-Ravi buffalo bulls (Bubalus bubalis) through supplementation of fat. *Theriogenology* 71(8): 1220-1225.

2. Agarwal, A., R.A. Saleh and M.A. Bedaiwy. 2003. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertility and Sterility* 79(4): 829-843.

3. Ahmad, M.K., A.A. Mahdi, K.K. Shukla, N. Islam, S. Rajender, D. Madhukar, S.N. Shankhwar and S. Ahmad. 2010. Withania somnifera improves semen quality by regulating reproductive hormone levels and oxidative stress in seminal plasma of infertile males. *Fertilility and Sterility* 94(3): 989-996.

4. Aidi Wannes, W., B. Mhamdi, J. Sriti and B. Marzouk. 2010. Changes in essential oil composition of Tunisian Myrtus communis var. italica during its vegetative cycle. *Journal of Essential Oil Research* 22: 3-18.

5. Alvarez, J.G. and B.T. Storey. 1995. Differential incorporation of fatty acids into and peroxidative loss of fatty acids from phospholipids of human spermatozoa. *Molecular Reproduction and Development* 42(3): 334-346.

6. Amidi, F., A. Pazhohan, M.S. Nashtaei, M. Khodarahmian and S. Nekoonam. 2016. The role of antioxidants in sperm freezing: a review. *Cell Tissue Bank* 17(4): 745-756.

7. Amini Rad, O., M.A. Khalili and H.R. Soltani Gord Faramarzi. 2009. Influence of pomegranate juice on sperm parameters and fertility in mice. *Medical Journal of Hormozgan University* 13(3): 182-188.

8. Angrimani, D.S.R., M. Nichi, J.D.A. Losano, C.F. Lucio, G.A.L. Veiga, M.V.J. Franco and C.I. Vannucchi. 2017. Fatty acid content in epididymal fluid and spermatozoa during sperm maturation in dogs. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 8(1): 18.

9. Bearden, H.J. and J.W. Fuquay. 1980. Applied Animal Reproduction. Reston Publishing Company, Inc. P: 53.

10. Benzie, I.F.F. and J.J. Strain. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay.

11. Bidmeshkipour, A., A. Hosseinzadeh Colagar, M. Gholinezhad Chari and P. Biparva. 2010. Seminal plasma total antioxidant capacity and vitamin- C levels in asthenozoospermia: a case- control study. *Tehran University Medical Journal* 67(12): 835-842.

12. Cassano, T., L. Pace, G. Bedse, A. Michele Lavecchia, F. De Marco, S. Gaetani and G. Serviddio. 2016. Glutamate and mitochondria: two prominent players in the oxidative stress-induced neurodegeneration. *Current Alzheimer Research* 13(2): 185-197.

13. DaghighKia, H., F. Sadeghi Sadeghabad, H. Mohamadzadeh, H. Vaseghi Dodran and I. Ashrafi. 2017. The effect of Origanum Vulgare extract as natural antioxidant on quality cryopreserved ram sperm. *Animal Science Research* 26(4): 111-120.

14. Daghighkia, H., R. Shahbaz zadeh and I. Ashrafi. 2015. Antioxidant effect of Macrantha Satureja extraction on microscopic and

www.SID.ir

Archive of SID

biochemical parameters of bull sperm after freeze-thawing process. *Animal Science Journal* 108(28): 101-112.

15. De Lamirande, E. and C. Cagnon. 1993. Human sperm hyperactivation and capacitation as parts of an oxidative process. *Free Radical Biology and Medicine* 14(2): 157-166.

16. Dos Santos Hamilton, T. R., C.M. Mendes, L.S. de Castro, P.M. de Assis, A.F.P. Siqueira, J. de Carvalho Delgado and J.A. Visintin. 2016. Evaluation of lasting effects of heat stress on sperm profile and oxidative status of ram semen and epididymal sperm. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 1-12.

17. Esmaeili Sabzevar, H., R. Rahbarian, M. Saleh Moghadam and S.D. Sadoughi. 2017. Effect of aqueous extract of mangrove leaves (Avicennia marina) on the antioxidant enzyme activities of the ovarian tissue in diabetic rats. *Journal of Health Chimes* 5(1): 32-41.

18. Evan, G. and W.M.C. Maxwell. 1987. Salamon's Artificial Insemination of sheep and goat. Butter woth, Sydney, Australia.

19. Ezzatpour, M. 2003. Sheep and goat breeding in Iran. Moalef publication, Tehran, 181.

20. Faraji, Z., H. Nikzad, K. Parivar and M. Nikzad. 2013. The effect of aqueous extract of Salep Tubers on the structure of testis and sexual hormones in male mice. *Journal of Jahrom University of Medical Science* 11(1): 71-76.

21. Farhadi, R., H. Daghighkia, A. Hoseinkhani, B. Ghasemi Panahi, G.R. Dehghan and I. Ashrafi. 2015. Effect of Origanum vulgare ethanol extract on quality parameters and malondialdehyde concentration of cryopreserved Holstein bull sperm. *Animal Science Research* 25(1): 1-11.

22. Ghanbari, E., M. Khazaei and F. Yosefzaei. 2017. The restorative effect of prosopis farcta on fertility parameters and antioxidant status in diabetic rats. *Journal of Babol University of Medical Sciences* 19(5): 53-60.

23. Ghasemi, A. 2009. Iranian medicinal and aromatic herbs (Recognizing and investigating their effects). Islamic Azad University, Shahrekord, 491.

24. Gill-Guzman, E., M. Ollero, M.C. Lopez, R.K. Sharma and J.G. Ala varez. 2001. Differential production of reactive oxygen species by subsets of human spermatozoa at different stages of matauration. *Human Reproduction* 16(9): 1922-30.

25. González, N., L. Gil, F. Martinez, C. Malo, R. Cano, Mur, P. and E. Espinosa. 2010. Effect of natural antioxidant rosemary in canine soya freezing extender. *Reproduction in Domestic Animals* 45: 88.

26. Halliwell, B. and J.M. Gutteridge. 2015. Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, USA, 330-332.

27. Hsieh, Y.Y., Y.L. Sun, C.C. Chang, Y.S. Lee, H.D. Tsai and C.S. Lin. 2002. Superoxide dismutase activities of spermatozoa and seminal plasma are not correlated with male infertility. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 16(3): 127-131.

28. Ji, G., A. Gu, Y. Wang, C. Huang, F. Hu, Y. Zhou, L. Song and X. Wang. 2012. Genetic variants in antioxidant genes are associated with sperm DNA damage and risk of male infertility in a Chinese population. *Free Radical Biology and Medicine.* 52(4): 775-780.

29. Karamian, R., M. Asadbeigy and S. Yari. 2018. Antioxidant activity of glycyrrhiza glabra L. extract and protective effect of its leaf extract on ethanol-induced nephrotoxicity in male rats. *Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences* 26(4): 1-12.

30. Kazemian, S., A. Karimi, A. Pilevariyan and A. Ghandi. 2017. The effect of hydro-alcoholic shallots extract on testis and spermatogenesis in Balb/C Mice. *Journal of Zanjan University Medical Science* 109(25): 50-63.

31. Khaki, A., M. Nouri, F. Fathiazad, H.R. Ahmadi Ashtiani, H. Rastgar and S. Rezazadeh. 2009. Protective effects of quercetin on spermato-genesis in streptozotocin induced diabetic rat. *Journal of Medical Plants* 8: 57-64.

32. Koca, Y.O., O.L. Ozdal, M. Celik, S. Unal and N. Balaban. 2003. Antioxidant activity of seminal plasma in fertile and infertile men. *Archives of Andrology* 49(5): 355-359.

33. Kunzle, R., M.D. Mueller, W. Hanggi, M.H. Birkhauser, H. Drescher and N.A. Bersinger. 2003. Semen quality of male smokers and nonsmokers in infertile couples. *Fertility and Sterility* 79(2): 287-291.

34. Kuriakose, G. C. and M.G. Kurup. 2010. Antioxidant and hepatoprotective activity of Aphanizomenon flos-aquae Linn against paracetamol intoxication in rats. *Indian Journal of Experimental Biology* 48(11): 1123-1130.

35. Love, C. C., T.L. Blanchard, S.P. Varner, J. Voge and S. Bliss. 2012. Effect of daily semen centrifugation and resuspension on the longevity of equine spermquality following cooled storage. *Theriogenology* 77: 1911-1917.

36. Mahdiani, E., H. Khadem Haghighian, M. Javadi, A.A. Karami and M. Kavianpour 2018. Effect of Carob (Ceratonia siliqua L.) oral supplementation on changes of semen parameters, oxidative stress, inflammatory biomarkers and reproductive hormones in infertile men. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Science* 95: 56-66.

37. McCord, J.M. and I. Fridovich. 1969. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *Journal of Biological Chemistry* 244: 6049-6055.

www.SID.ir

Archive of SID

38. Mohajeri, D., Y. Doustar and Gh. Mousavi. 2012. Protective and antioxidant activities of turnip root ethanolic extract against cisplatin induced hepatotoxicity in rats. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences* 13(9): 8-15.

39. Mozaffarian, V. 2004. Trees and shrubs of Iran. Farhang Moaser Publication.

40. Mruk, D.D. and C.Y. Cheng. 2000. In vitro regulation of extracellular superoxide dismutase in sertoli cells. *Life Science* 67(2): 133-145.

41. Murawski, M., J. Saczko, A. Marcinkowska, A. Chwilkowska, M. Grybos and T. Banas. 2007. Evaluation of superoxide dismutase activity and its impact on semen quality parameters of infertile men. *Folia Histochemica et Cytobiologica.* 45: 123-126.

42. Naseri, M., M. Heydari Nasrabadi, P. Khodarahmi, F. Ahmadi, P. Mojibi and H. Abotalebei. 2011. Study of the effect of Fumaria parviflora alcoholic extract on spermatogenesis in male rats. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal* 1(2): 61-65.

43. Puntarulo, S. 2005. Iron, oxidative stress and human health. *Molecular Aspects of Medicine* 26(4): 299-312.

44. Sarbishegi, M. and O. Khajavi. 2018. Effects of hydro-alcoholic extract of withania coagulans on antioxidant status and sperm parameters following testosterone administration in rat. *Journal of Ilam University of Medical Sciences* 26(2): 11-20.

45. Sato, K., K. Sueoka, R. Tanigaki R., H. Tajima, A. Nakabayashi, Y. Yoshimura and Y. Hosoi. 2010. Green tea extracts attenuate doxorubicin-induced spermatogenic disorders in conjunction with higher telomerase activity in mice. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 27(8): 501-508.

46. Shamsi, M.B., S. Venkatesh, R. Kumar, N.P. Gupta, N. Malhotra, N. Singh, S. Mittal, S. Arora, D.S. Arya, P. Talwar and R.K. Sharma. 2010. Antioxidant levels in blood and seminal plasma and their impact on sperm parameters in infertile men. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics* 47(1): 38-43.

47. Sugioka, K., M. Nakano, H. Totsune, H. Minakami, S. Tero-Kubota and Y. ikegami. 1998. Mechanism of O2-generation in reduction and oxidation cycle of ubiquinones in a model of mitochindrial electeron transport systems. *Biochimica et Biophysica Acta* 936(3): 377-385.

48. Yan, L., J. Liu, S. Wu, S. Zhang, G. Ji and A. Gu A. 2014. Seminal superoxide dismutase activity and its relationship with semen quality and SOD gene polymorphism. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 31(5): 549-554.

49. Zanganeh, Z., M. Zhandi, A. Zare Shahneh, A. Najafi, M. Mahdi Nabi and A. Mohammadi-Sangcheshmeh. 2013. Does rosemary aqueous extract improve buck semen cryopreservation? *Small Ruminant Research* 114(1): 120-125.

www.SID.ir