دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره اسطوخودوس بر کیفیت منی خروس طی نگهداری آن به حالت مایع

صالح طباطبائی وکیلی[1]، علی آقائی[2] و امین کاظمی‌زاده[3]

1- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، (نویسنده مسوول: s_tabatabaei58@yahoo.com)
2 و 3- استادیار و دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
تاریخ دریافت: 1398/05/16 تاریخ پذیرش: 1398/09/10
صفحه: 74 تا 81

چکیده

هدف از آزمایش حاضر، بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره اسطوخودوس بر کیفیت منی خروس مادر گوشتی طی ذخیره‌سازی آن به حالت مایع تحت دمای 4°C بود. اسپرم‌گیری از 10 قطعه خروس مادر گوشتی راس 308، دوبار در هفته به مدت 4 هفته انجام و منی آن‌ها بعد از ارزیابی اولیه بلافاصله با هم مخلوط شد. نمونه منی مخلوط پس از رقیق‌سازی، به 5 قسمت تقسیم و مقادیر صفر، 5، 10، 15 و 20 میکروگرم عصاره اسطوخودوس در میلی‌لیتر را دریافت کردند. در زمان‌های صفر، 3، 6، 12، 24 و 48 ساعت پس از نگه‌داری منی رقیق شده در دمای 4 درجه سلسیوس فراسنجه‌های کیفی منی ارزیابی شدند. افزودن غلظت‌های مختلف عصاره اسطوخودوس بعد از زمان 6 ساعت باعث افزایش تحرک کل و پیش‌رونده اسپرم شد (P<0/05). تیمار 10 میکروگرم در میلی لیتر عصاره در زمان‌های 12، 24 و 48 ساعت باعث بهبود درصد زنده‌مانی اسپرم در مقایسه با شاهد شد (P<0/05). افزودن 10 میکروگرم در میلی لیتر عصاره اسطوخودوس به مایع منی خروس در طول زمان 48 ساعت سردسازی باعث افزایش درصد سلامت غشای پلاسمای اسپرم شد (P<0/05). 24 و 48 ساعت پس از نگهداری منی، کمترین میزان ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم متعلق به تیمارهای 10 و 15 میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره اسطوخودوس و بیش‌ترین مقدار آن مربوط به گروه شاهد و تیمار با دوز بالای عصاره بود (P<0/05). در کل، افزودن عصاره اسطوخودوس به منی رقیق شده خروس در غلظت 10 میکروگرم در میلی‌لیتر سبب بهبود فراسنجه‌های اسپرم طی ذخیره‌سازی منی در دمای 4 درجه سلسیوس شد.

واژه‌های کلیدی: اسطوخودوس، خروس، کیفیت منی، ذخیره‌سازی

مقدمه

تلقیح مصنوعی، از ابزارهای مدیریتی کارآمد برای بهینه‌سازی بازدهی تولیدمثل در ماکیان است، اما یکی از کاستی‌های این روش، کاهش سریع قدرت باروری اسپرم‌ها با افزایش مدت زمان نگهداری در پی اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع و تشکیل رادیکال‌های آزاد است. از طرفی، با توجه به سهم بسیار بارز خروس‌ها در هزینه و مشکلات مربوط به مدیریت هم‌زمان خروس‌ها و مرغ‌ها در گله‌های مادر، بحث جداسازی خروس‌ها و استفاده از تلقیح مصنوعی همواره در گله‌های مادرگوشتی مطرح می‌باشد. چرا که کاهش باروری در انتهای دوره تولیدی از طریق تلقیح مصنوعی تا حدی قابل جلوگیری است که لازمه‌ی استفاده‌ی بهینه از آن، امکان ذخیره‌سازی اسپرم به‌صورت مایع و منجمد می‌باشد (17). در فرآیند سردسازی اسپرم مشکل عمده‌ای که رخ می‌دهد، آسیب به غشای پلاسمایی اسپرم در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدها می‌باشد (27). اسپرمی که به لحاظ عملکردی طبیعی است، مقادیر پایینی از رادیکال‌های آزاد (ROS) را تولید می‌کند، اما در اثر فرآیندهای سردسازی و انجماد، کانال‌های یونی کلسیم تحریک شده و یک شیوع وابسته به کلسیمی از ROS اتفاق می‌افتد که در نهایت منجر به بروز تنش اکسیداتیو در سلول می‌شود (8) . فرآیند سردسازی همچنین تنش‌های فیزیکی و شیمیایی روی غشای اسپرم ایجاد می‌کند که باعث کاهش جنبایی، یکپارچگی غشاء و پتانسیل باروری اسپرماتوزوئیدها می‌شود. همچنین در روند ذخیره‌سازی منی به‌صورت مایع، تولید رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون چربی‌ها امری اجتناب ناپذیر است (24).

افزایش میزان رادیکال‌های آزاد علاوه بر پراکسیداسیون چرب‌های غشای اسپرم سبب اختلال در واکنش آکروزمی، تخریب کروماتین اسپرم، کاهش تحرک و کاهش باروری می‌شود (14). در واقع اسپرم سلولی است که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اندکی دارد، به‌همین دلیل اسپرم وابسته به محیط اطراف، یعنی مایع منی است (8) . با توجه به اینکه سازوکارهای متفاوتی برای مهار تنش اکسیداتیو و کاهش آسیب های ناشی از انواع گونه‌های فعال اکسیژن وجود دارد؛ یکی از آن‌ها بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی در منی است.

از آنجایی غشای پلاسمایی اسپرم دارای مقادیر زیادی اسیدهای چرب غیراشباع با چند باند دوگانه (PUFA) است، از این لحاظ آن‌ها را به آسیب‌های پراکسیداتیو بسیار حساس می‌کند (15). این آسیب‌های پراکسیداتیو موجب کاهش یکپارچگی غشاء، آسیب به عملکرد سلول، کاهش جنبایی و نهایتاً کاهش کیفیت و توانایی باروری اسپرم می‌شود (14). بنابراین، برای جلوگیری از آسیب‌های پراکسیداسیون، به‌ویژه هنگام فرآیند سردسازی، استفاده از آنتی اکسیدان‌ها مفید به‌نظر می‌رسد. در تحقیقات قبلی، اضافه کردن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند ویتامین E (26،16) و اسید اولئیک (10) به مایع منی از اثر پراکسیداسیون لیپید اسپرم خروس در طول ذخیره‌سازی مایع منی جلوگیری کرد.

ویژگی‌های اسپرم خروس و توان باروری آن تحت‌تأثیر مدت زمان نگه‌داری منی می‌باشد (22). با توجه به پیشرفت‌های اخیر در اسپرم‌گیری و تکنیک تلقیح مصنوعی پرندگان، به‌نظر می‌رسد حفظ کیفیت اسپرم تا زمان تلقیح مرغ‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار باشد. درک بیش‌تر

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-14]
[DOI: 10.29252/rap.11.27.74]

روش‌های نگـه‌داری منـی، شـرایط مناسـب بـرای حفـظ آن به‌مدت 24 ساعت بدون کاهش باروری را فراهم نموده اسـت. این امر برای مراکز پرورش مرغان مادر گوشتی که در فاصـله کمتر از 24 ساعت از مراکز تهیه منی قرار دارند، می‌تواند مفید و اقتصادی باشد (3).

اسـطوخودوس (*Lavandula officinalis* L.) گیـاهی چندساله و همیشـه سـبز از خـانواده نعناعیـان (Labiatae یـا Lamiaceae) اسـت (13). اسـطوخودوس بـیش از 40 نـوع ترکیب مختلف دارد که مهم‌ترین آنها عبارتند از: لینالیل استات (Linalyl acetate)، سـینئول (Cineole)، لینـالول (Linalool)، نرول (Nerol) و بورنئول (Borneol). همچنـین این گیاه حاوی ترکیباتی نظیر اسید بوتیریک، اسید پروپیونیک و اسید والریک، لینـالول آزاد و ژرامبـول، تـانن، فلاونوئیـدها، لینالول، ترکیبات فنلـی و مونـوترپن اسـت (29،5). ایـن گیـاه دارای فوایدی از جمله کاهش استرس، تنظیم سیستم ایمنـی، کاهش درد، افزایش اشتها، فعالیـت ضـدمیکروبی، و خاصـیت آنتی‌اکسیدانی است (29).

اسـطوخودوس حـاوی اسـترول، کـامفور، کومـارین، فلانوئیدها، آلکالوئیدها، ویتامین‌ها، لیمونین، تـانن و پلـی‌فنـل اسـت (29). خاصـیت آنتـی‌اکسـیدانی عصـاره اسـطوخودوس به‌خاطر وجود ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها است که می‌توانند موجب افزایش غلظـت آنتـی‌اکسـیدانی غیرآنزیمـی و تشـدید فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله گلوتاتیون پراکسـیداز (GPX)، کاتـالاز (CAT) و سوپراکسـید دیسـموتاز (SOD) و کاهش غلظت مـالون‌دی آلدهیـد شـوند (28). اسـطوخودوس همچنین موجب مهـار سـنتز نیتریـک اکسـاید (NO) شـده و دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی قدرتمنـدی اسـت (20). همچنـین میزان ویتامین C موجـود در گیـاه اسـطوخودوس بسـیار بـالا می‌باشد (7).

با توجه به افزایش روزافزون مصـرف گیاهـان دارویـی در جیره غذایی طیور به‌نظر می‌رسد کـه اسـتفاده از عصـاره ایـن گیاهان در رقیق‌کننده منی طیور جای تحقیق زیادی دارد. لذا، پژوهش حاضر با هدف افزودن غلظـت‌هـای مختلـف عصـاره گیاه اسطوخودوس به منی خروس بـر فراسـنجه‌هـای کیفـی اسپرم طی ذخیره‌سازی آن در دمای 4 درجه سلسیوس انجـام گرفت.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر با استفاده از 10 قطعه خروس مادر گوشتی راس 308 بـالغ بـا سـن 45 هفتگـی در ایسـتگاه آموزشـی و تحقیقاتی دامپروری دانشگاه علوم کشاورزی و منـابع طبیعـی خوزستان واقع در 36 کیلومتری شـمال شـرقی اهـواز انجـام گرفت. خروس‌ها در پن‌های انفرادی نگهداری شده و به‌روش مـالش پشـتی- شـکمی اسـپرم‌گیـری مـی‌شـدند. طـی دوره آزمایش، دمای محـیط پرنـده‌هـا 21-17 درجـه سلسـیوس و دوره‌ی نوری 15 ساعت روشـنایی و 9 سـاعت تـاریکی بـود. رطوبت محل نگه‌داری در محدوده 60-50 درصد حفـظ شـد. توزیع خوراک پرنده‌ها به‌طور میانگین روزانه 156 گرم بـه‌ازای هر خروس بود که در یک نوبت، اول صبح در اختیار آن‌ها قرار می‌گرفت. آب مصرفی هم به مقدار آزاد در مدت روشـنایی در اختیـار پرنـده قـرار داده شـد و آب‌خـوری‌هـا مرتـب کنتـرل می‌شدند. جیره خروس‌ها طبق کاتولوگ راهنمای سـویه راس 308 با 2750 کیلوکـالری انـرژی و 12 درصـد پـروتئین بـود (جدول 1).

جدول 1- مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره پایه

Table 1. Ingredients and composition of the base diet

مواد خوراکی	درصد	ترکیب شیمیایی	مقدار
ذرت	69/00	انرژی سوخت و سازی (کیلوکالری در کیلوگرم)	2754/5
سویا	8/50	پروتئین خام (درصد)	12/00
سبوس گندم	19/5	کلسیم (درصد)	0/70
دی کلسیم فسفات	1/25	فسفر (درصد)	0/35
کربنات کلسیم	0/80	سدیم (درصد)	0/15
سدیم کلراید	0/33	کلر (درصد)	0/15
مکمل ویتامینی[1]	0/25		
مکمل معدنی[2]	0/25		
دی ال- متیونین	0/12		

1- هر کیلوگرم جیره حاوی 1500 واحد بین‌المللی ویتامین A، 100 واحد بین المللی ویتامین E، 4 میلی‌گرم ویتامین K3، 25 میکروگرم ویتامین B12، 3000 واحد بین‌المللی ویتامین D3، 7/5 میلی‌گرم B2، 50 میلی‌گرم B3، 18 میلی‌گرم B5، 5/5 میلی‌گرم B6 و50 میکروگرم B7 بود. 2- هر کیلوگرم جیره حاوی50 میلی‌گرم آهن، 120 میلی‌گرم منگنز، 110 میلی‌گرم روی، 2 میلی‌گرم ید و 0/3 میلی‌گرم سلنیوم بود.

جمع‌آوری منـی از خـروس‌هـا دوبـار در هفتـه بـا مـالش پشتی- شکمی انجام گرفته و بلافاصله به آزمایشـگاه منتقـل می‌شد. بعد از ارزیابی اولیه منی، نمونه‌ها به‌منظور حذف اثرات فردی با هم مخلوط و سپس با محلـول رینگـر اصـلاح شـده (Modified Ringer's solution) به‌عنوان رقیق‌کننده منـی طیور مطابق با مشخصات ارائه شده در جدول 2 به نسبت یک به 200 رقیق شدند (18). منی رقیق شده به 5 قسمت تقسـیم و هر کدام مقادیر مختلف عصاره اسطوخودوس (صـفر، 5، 10، 15 و 20 میکروگرم در میلی‌لیتـر) را دریافـت کردنـد. عصـاره اسطوخودوس (لاوندر) خالص از شرکت دکتر زرقانی خراسـان تهیه گردید. در زمان‌های مختلف نگه‌داری منـی رقیـق شـده حاوی تیمارهای آزمایشی (صـفر، 3، 6، 12، 24 و 48 سـاعت) به‌صورت مایع تحت دمای 4 درجه سلسیوس، فراسـنجه‌هـای کیفی منی بررسی شدند.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-14]

[DOI: 10.29252/rap.11.27.74]

جدول 2- ترکیبات محلول رینگر اصلاح شده برای رقیق‌سازی منی خروس (18)
Table 2. Modified Ringer's solution composition for dilution of rooster semen

اجزای رقیق‌کننده	مقدار اجزاء
کلرید سدیم	6/8 گرم
کلرید پتاسیم	1/73 گرم
کلرید کلسیم	0/64 گرم
سولفات منیزیم	0/25 گرم
بی‌کربنات سدیم	2/45 گرم
آب مقطر	1000 میلی‌لیتر

برای تعیین فراسنجه‌های جنبایی‌کل و جنبایی پیش‌رونده اسپرم‌ها، پنج میکرولیتر از منی رقیق شده روی لام گرم قرار داده و با لامل پوشش داده شد. جنبایی و جنبایی پیش‌رونده با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی 400x و به‌شیوه چشمی ارزیابی شد (24). ارزیابی اسپرم‌های زنده و مرده با رنگ‌آمیزی اِئوزین-نیگروزین انجام شد. ترکیبات آن شامل رنگ ائوزین (1/67 گرم در لیتر)، رنگ نیگروزین (100 گرم در لیتر) و سیترات سدیم (29 گرم در لیتر) بود. برای این‌منظور، ابتدا منی رقیق شده تیمارها با نسبت یک به یک با رنگ ائوزین- نیگروزین آمیخته شد و سپس روی لام توسط لام دیگری گسترش داده‌شد و پس از خشک شدن گسترش، درصد اسپرم زنده با شمارش حداقل 200 اسپرم در زیر میکروسکوپ فازکنتراست با بزرگ نمایی 400× مشخص شد. اسپرم‌های رنگ نگرفته، به‌عنوان اسپرم زنده و اسپرم‌هایی که رنگ را جذب کرده بودند، به‌عنوان اسپرم مرده در نظر گرفته شد (15). برای بررسی ریخت‌شناسی اسپرم (مورفولوژی اسپرم) از اسلایدهای تهیه شده برای زنده‌مانی استفاده شد. به‌این ترتیب که با شمردن 200 اسپرم در هر اسلاید، اسپرم‌های با سر جدا شده، سر ناقص، سر دوتایی، دم پیچ خورده، دم دوتایی و دم جدا شده به‌عنوان اسپرم‌های ناهنجار در نظر گرفته شد (25).

برای ارزیابی عملکرد غشایی پلاسمای اسپرم از آزمون تورم هایپو اسموتیک (HOST) استفاده شد. برای انجام این آزمون، 10 میکرولیتر نمونه‌های منی با 100 میکرولیتر محلول هایپواسموتیک (1 گرم سدیم سیترات در 100 میلی‌لیتر آب با فشار اسمزی معادل 100 میلی‌اسمول در کیلوگرم، pH=7) مخلوط و در دمایی 37 درجه سلسیوس به‌مدت 30 دقیقه نگه‌داری (انکوبه) شد (24). سپس یک قطره از آن روی لام ریخته و با لامل پوشش داده‌شد و تحت میکروسکوپ نوری با بزرگ نمایی 400x مورد ارزیابی قرار گرفت. در نهایت درصد اسپرم‌های با دم و ناحیه میانی پیچ خورده یا متورم به‌عنوان غشایی پلاسمایی سالم تعیین شد.

مطالعه حاضر در قالب طرح کاملا تصادفی مشتمل بر 5 تیمار آزمایشی در 8 تکرار اجرا گردید. داده‌ها با کمک نرم‌افزار SAS (9/1) و با استفاده از رویه GLM آنالیز شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن انجام شد. پیش از انجام آنالیز، نرمال بودن توزیع داده‌های آزمایشی با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk و رویه UNIVARIATE مورد آزمون قرار گرفت.

مدل آماری به‌کار رفته عبارت است از:

$Yij= \mu + Ti + eij$

Yij= مقدار هر مشاهده، μ= اثر میانگین، Ti= اثر تیمارهای آزمایشی، eij= اثرات باقیمانده

نتایج و بحث

نتایج مربوط به اثر غلظت‌های مختلف عصاره اسطوخودوس بر درصد تحرک کل و پیش‌رونده اسپرم‌ها طی زمان‌های مختلف ذخیره‌سازی در جداول 3 و 4 گزارش شده است. نتایج پژوهش حاضر نشان‌داد که در زمان‌های صفر، 3 و 6 ساعت پس از نگه‌داری منی به حالت مایع، تحرک کل و پیشرونده اسپرم‌ها تحت تأثیر مقادیر مختلف عصاره گیاه اسطوخودوس قرار نگرفتند ($P>0/05$). اما بعد از زمان 6 ساعت، درصد تحرک کل و پیش‌رونده اسپرم‌ها در تیمارهای 10 و 15 میکروگرم عصاره گیاه اسطوخودوس در میلی‌لیتر منی به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود ($P<0/05$).

جدول 3- تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره اسطوخودوس بر درصد تحرک کل اسپرم خروس طی نگهداری منی به حالت مایع
Table 3. Effect of different concentrations of *Lavandula angustifolia* extract on total motility percent of rooster spermatozoa during liquid storage of semen

غلظت‌های عصاره (میکروگرم در میلی‌لیتر)	زمان ذخیره‌سازی (ساعت)					
	0	3	6	12	24	48
0	86/25	85/00	84/37	$78/75^{c}$	$70/00^{c}$	$58/75^{d}$
5	85/62	84/37	83/75	$80/00^{abc}$	$73/75^{bc}$	$65/62^{b}$
10	86/87	85/62	85/62	$82/50^{a}$	$76/87^{a}$	$70/62^{a}$
15	86/62	86/00	85/00	$81/87^{ab}$	$75/00^{ab}$	$65/00^{bc}$
20	86/25	84/75	82/50	$79/37^{bc}$	$71/87^{bc}$	$60/62^{cd}$
SEM	0/909	0/663	0/804	0/747	1/16	1/19
P-value	0/895	0/429	0/085	0/003	0/002	0/001

میانگین‌های با حروف نامشابه در هر ستون دارای اختلاف آماری معنی‌داری می‌باشند ($P<0/05$).

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-14]

[DOI: 10.29252/rap.11.27.74]

جدول 4- تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره اسطوخودوس بر درصد تحرک پیشرونده اسپرم خروس طی نگهداری منی به‌حالت مایع
Table 4. Effect of different concentrations of *Lavandula angustifolia* extract on progressive motility percent of rooster spermatozoa during liquid storage of semen

غلظت‌های عصاره (میکروگرم در میلی‌لیتر)	زمان ذخیره‌سازی (ساعت)					
	0	3	6	12	24	48
0	80/50	79/12	77/25	71/87^{b}	64/37^{c}	56/25^{c}
5	80/62	79/75	79/37	73/75^{b}	69/37^{b}	59/12^{bc}
10	81/87	81/62	80/75	77/25^{a}	73/12^{a}	66/25^{a}
15	80/62	79/50	78/75	75/00^{ab}	68/12^{b}	61/25^{b}
20	79/50	79/37	77/62	73/75^{b}	66/87^{bc}	58/75^{bc}
SEM	0/645	0/686	0/894	0/870	0/962	1/07
P-value	0/170	0/060	0/062	0/002	0/001	0/001

میانگین‌های با حروف نامشابه در هر ستون دارای اختلاف آماری معنی‌داری می‌باشند (P<0/05).

نتایج نشان می‌دهد که عصاره گیاه اسطوخودوس بر درصد زنده‌مانی اسپرم اثر معنی‌داری دارد (P<0/05). به‌نحوی که در زمان 12 ساعت، غلظت 10 میکروگرم عصاره گیاه اسطوخودوس موجب بهبود میزان زنده‌مانی اسپرم‌ها نسبت به شاهد شد. اما با سپری شدن زمان نگهداری منی (24 و 48 ساعت)، تمام غلظت‌های عصاره به‌غیر از 20 میکروگرم آن، درصد زنده‌مانی اسپرم بیشتری در مقایسه با شاهد داشتند (P<0/05، جدول 5). تا 12 ساعت پس از نگهداری منی خروس به‌حالت مایع، درصد اسپرم‌های با غشای پلاسمایی سالم تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. اما با گذشت زمان یعنی 24 و 48 ساعت، مقادیر 10 و 15 میکروگرم عصاره گیاه اسطوخودوس به‌طور معنی‌داری موجب حفظ سلامت غشای پلاسمایی اسپرم نسبت به شاهد شدند (P<0/05، جدول 6).

جدول 5- تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره اسطوخودوس بر درصد زنده‌مانی اسپرم خروس طی نگهداری منی به‌حالت مایع
Table 5. Effect of different concentrations of *Lavandula angustifolia* extract on viability percent of rooster spermatozoa during liquid storage of semen

غلظت‌های عصاره (میکروگرم در میلی‌لیتر)	زمان ذخیره‌سازی (ساعت)					
	0	3	6	12	24	48
0	86/87	86/00	85/37	80/12^{D}	71/37^{C}	60/62^{c}
5	87/25	87/37	84/12	81/25^{aD}	75/62^{D}	67/50^{b}
10	87/87	86/25	85/50	84/50^{a}	80/12^{a}	73/50^{a}
15	87/62	87/50	85/62	82/87^{aD}	76/12^{D}	68/12^{b}
20	86/87	86/25	83/75	80/62^{aD}	74/50^{DC}	65/00^{bc}
SEM	0/978	1/005	1/06	1/002	0/955	1/17
p-Value	0/931	0/741	0/622	0/023	0/001	0/001

میانگین‌های با حروف نامشابه در هر ستون دارای اختلاف آماری معنی‌داری می‌باشند (P<0/05).

جدول 6- تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره اسطوخودوس بر درصد سلامت غشای پلاسمایی اسپرم خروس طی نگهداری منی به‌حالت مایع
Table 6. Effect of different concentrations of *Lavandula angustifolia* extract on membrane integrity percent of rooster spermatozoa during liquid storage of semen

غلظت‌های عصاره (میکروگرم در میلی‌لیتر)	زمان ذخیره‌سازی (ساعت)					
	0	3	6	12	24	48
0	69/37	68/12	65/62	60/62	53/87^{c}	45/25^{c}
5	70/37	68/75	66/87	62/50	58/12^{aDC}	50/62^{DC}
10	70/00	69/37	70/00	66/87	61/87^{a}	56/25^{a}
15	71/25	69/47	68/75	64/37	59/37^{aD}	51/50^{aD}
20	71/25	68/75	66/75	60/62	55/62^{DC}	46/62^{DC}
SEM	1/87	1/59	1/19	1/65	1/21	1/32
P-value	0/943	0/979	0/103	0/052	0/001	0/001

میانگین‌های با حروف نامشابه در هر ستون دارای اختلاف آماری معنی‌داری می‌باشند (P<0/05).

عصاره اسطوخودوس بعد از گذشت 24 ساعت از فرایند سردسازی منی به‌حالت مایع توانست اثر خود بر درصد ناهنجاری‌های اسپرم را نشان دهد. طوری‌که در این زمان، کمترین میزان ناهنجاری اسپرم مربوط به تیمار10 میکروگرم عصاره گیاه اسطوخودوس بود. با سپری شدن زمان (48 ساعت)، غلظت‌های 5، 10 و 15 میکروگرم عصاره درصد اسپرم‌های ناهنجار کمتری در مقایسه با شاهد بدون عصاره داشتند (P<0/05، جدول 7).

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-14]

[DOI: 10.29252/rap.11.27.74]

جدول 7- تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره اسطوخودوس بر درصد ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم خروس طی نگهداری منی به‌حالت مایع
Table 7. Effect of different concentrations of *Lavandula angustifolia* extract on morphological defect percent of rooster spermatozoa during liquid storage of semen

غلظت‌های عصاره (میکروگرم در میلی‌لیتر)	زمان ذخیره‌سازی (ساعت)					
	0	3	6	12	24	48
0	10/62	11/25	12/37	15/00	18/62^{a}	23/50^{a}
5	10/00	10/62	12/00	13/62	16/62^{ab}	19/37^{b}
10	10/00	11/12	12/25	11/75	14/25^{b}	15/50^{c}
15	9/62	10/87	12/12	11/75	15/62^{ab}	18/50^{bc}
20	9/37	11/12	12/37	14/62	17/12^{ab}	21/50^{ab}
SEM	1/43	0/967	0/756	1/34	1/007	0/816
p-Value	0/979	0/991	0/995	0/283	0/049	0/001

میانگین‌های با حروف نامشابه در هر ستون دارای اختلاف آماری معنی‌داری می‌باشند ($p<0/05$).

غشای پلاسمایی اسپرم خروس، حاوی مقدار بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد که آن‌را مستعد پراکسیداسیون لیپیدی تحت‌تأثیر گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تولید شده در شرایط درون‌تنی و برون‌تنی می‌کند (19). پراکسیداسیون لیپیدی اثر منفی بر روی مورفولوژی، تحرک، قابلیت حیاتی و ظرفیت لقاح اسپرم‌های خروس دارد (15).استرس اکسیداتیو می‌تواند باعث قطعه قطعه شدن DNA در میتوکندری و هسته شود که در نتیجه می‌تواند بر حرکت و زنده‌مانی اسپرم تاثیرگذار باشد (1). این روند زمانی اتفاق می‌افتد که ROS بر دفاع آنتی‌اکسیدانی طبیعی غلبه کند (6). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تیمار منی خروس با عصاره گیاه اسطوخودوس به‌طور موثری فراسنجه‌های تحرک کل و تحرک پیش‌رونده اسپرم خروس را با سپری شدن مدت‌زمان نگهداری منی به‌حالت مایع بهبود می‌بخشد. این بهبود تحرک کل و پیشرونده اسپرم ممکن است با یکپارچگی ساختاری و عملکردی غشاء و زنده‌مانی اسپرم ارتباط داشته باشد. یکی از عوامل موثر در کاهش تحرک اسپرم، آسیب‌های ساختاری ناشی از تنش اکسیداتیو می‌باشد، زیرا کاهش فعالیت غشاء منجر به افزایش نفوذپذیری غشاء و کاهش توانایی تنظیم داخل سلولی یون‌ها می‌شود که مجموعه این شرایط برای تحرک اسپرم مضر است (9). ازجمله خاصیت دیگر عصاره گیاه اسطوخودوس می‌توان به مهار سنتز نیتریک اکساید اشاره کرد. اگرچه غلظت‌های کم NO سبب افزایش ظرفیت‌پذیری اسپرم می‌شود، اما افزایش مقدار آن سبب اختلال در غشای میتوکندری، کاهش ATP و آسیب اکسونیم اسپرم می‌شود که در نهایت منجر به کاهش حرکت پیش‌رونده اسپرم خواهد شد (29). بنابراین عصاره اسطوخودوس احتمالا از طریق کاهش تأثیر NO سبب بهبود تحرک اسپرم خروس در طی ذخیره‌سازی در دمای 4 درجه سیلوس شده است.

در واقع به‌علت وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره گیاه اسطوخودوس نظیر فلانوئیدها، کومارین، مونوترپن و مشتقات سینامیک اسید، این ترکیبات از DNA و RNA در برابر صدمه اکسیداتیو گونه‌های فعال اکسیژن که در طی ساعت طولانی ذخیره‌سازی اسپرم میزان آن به‌مقدار زیادتری افزایش می‌یابد، محافظت می‌کنند (29). در بین گیاهان حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، گیاهان تیره نعناعیان (از جمله اسطوخودوس) بیش‌ترین سهم را به‌خود اختصاص دادند (29).

در تحقیقی، عصاره گیاه رزماری با خاصیت مشابه اسطخودوس از نظر متابولیت‌های ثانویه (ترکیبات فنلی) باعث بهبود فراسنجه‌های اسپرم خروس شد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (23). در مطالعه ما، عصاره اسطوخودوس در مقادیر 10 و 15 میکروگرم در میلی‌لیتر باعث افزایش زنده‌مانی اسپرم شد. عصاره اسطوخودوس در محیط بیولوژیکی باعث کاهش مرگ برنامه‌ریزی شده سلول‌ها با خاصیت ضد آپوپتوزی می‌شود (4). همچنین این گیاه موجب افزایش فعالیت و بیان آنزیم‌های خنثی‌کننده رادیکال‌های آزاد مانند سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز می‌شود (29). به‌نظر می‌رسد اسطوخودوس با مکانسیم‌های بالا منجر به بهبود درصد زنده‌مانی و سلامت غشایی پلاسمای اسپرم خروس در تحقیق حاضر شده باشد.

در این تحقیق، میزان ناهنجاری‌های اسپرم در دوز 10 میکروگرم عصاره گیاه اسطوخودوس در زمان‌های 24 و 48 ساعت از ذخیره‌سازی منی خروس، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان داد که مشابه با یافته‌های مطالعه قبلی با استفاده از اسکوربیک اسید در قوچ است (21). عصاره گیاه اسطوخودوس در مقایسه با دیگر گیاهان مملو از ویتامین C است. این ویتامین به‌عنوان اولین خط دفاعی آنتی‌اکسیدانی در خون و مایع پلاسمایی اسپرم مطرح است که می‌تواند موجب مهار روند اکسیداسیون لیپوپروتئین شود (21). طی فرایند ذخیره‌سازی منی، کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و مهار رادیکال‌های آزاد از خواص اسطوخودوس است (28). از آنجایی که استفاده از اسطوخودوس باعث کاهش ظرفیت کل اکسیداسیون (27) و کاهش غلظت مالون دی‌آلدهید (11) می‌شود؛ بنابراین منجر به بهبود نرمال بودن مورفولوژی اسپرم در طول فرآیند ذخیره‌سازی اسپرم می‌شد.

در مطالعه حاضر، بیشترین غلظت عصاره اسطوخودوس (20 میکروگرم در میلی‌لیتر منی) به‌طور معنی‌داری باعث کاهش عملکرد فراسنجه‌های اسپرمی شد که بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت که افزودن بیش از اندازه اسطوخودوس همانند دیگر آنتی‌اکسیدانت‌ها باعث تغییر خصوصیات غشای پلاسمایی می‌شود که امکان پراکسیداسیون لیپید را فراهم می‌کند. غلظت بالای آنتی‌اکسیدانت‌ها ممکن است بر سیالیت

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-14]

[DOI: 10.29252/rap.11.27.74]

غشاء اثر گذاشته و باعث برهم خوردن تعادل غشایی رادیکال‌های آزاد شود (23). همچنین ممکن است به‌علت تغییر فشار اسمزی، pH و بهم خوردن تعادل ترکیبات رقیق کننده باشد که در طول فرآیند ذخیره‌سازی اسپرم بسیار مهم بوده و در نتیجه زنده‌مانی، تحرک و عملکرد اسپرم را با خطر مواجه می‌کند (12). اولین بار آیتکن و همکاران (2) این فرضیه را مطرح کردند که مقادیر اندک رادیکال آزاد در تنظیم فعالیت‌های فیزیولوژیک اسپرم نقش دارد. این فرضیه با نتایج پژوهش حاضر مبنی بر اثر مثبت غلظت‌های پایین و اثر منفی غلظت بالای عصاره اسطوخودوس بر عملکرد فراسنجه‌های اسپرم خروس مطابقت دارد. در واقع می‌توان این‌طور نتیجه گرفت که ترکیبات دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی تا دامنه خاصی می‌تواند برای اسپرم مفید باشد و اگر از این دامنه فراتر رود خواص معکوسی خواهد داشت.

در کل نتایج پژوهش حاضر موید این موضوع است که اسپرم نیازمند یک مکمل آنتی‌اکسیدانی در محیط رقیق کننده می‌باشد، زیرا تمام سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی در سیتوپلاسم قرار دارد و اسپرم در طی فرایند اسپرماتوژنز حجم قابل توجهی از ستوپلاسم خود را از دست می‌دهد و لذا شدیداً تحت تأثیر تنش اکسیداتیو در بازه زمانی طولانی مدت ذخیره‌سازی اسپرم قرار می‌گیرد. از طرف دیگر وجود اسیدهای چرب غیر اشباع اسپرم خروس نیاز آن را به وجود آنتی اکسیدان قوی‌تر می‌کند. این اسیدهای غیراشباع می‌توانند به‌صورت تصاعدی باعث افزایش رادیکال‌های آزاد در اطراف اسپرم شوند.

به‌طور کلی، اجزای آنتی‌اکسیدانی در عصاره اسطوخودوس نظیر فلانوئیدها، کومارین و رزمارینیک و همچنین میزان بالای ویتامین C با پشتیبانی از سامانه آنتی‌اکسیدانی منی در طول ذخیره‌سازی در دمای 4 درجه سلسیوس به احتمال فراوان نقش مهمی در جلوگیری از پراکسیداسیون چربی اسپرم داشته و باعث حفظ سازوکار اسپرم و بهبود کیفیت اسپرم خروس در این پژوهش شده است، به‌طوری‌که بیشترین تاثیر در دوز 10 میکرولیتر عصاره اسطوخودوس مشاهد شد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاصل مربوط به طرح مصوب پژوهشی در معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان می‌باشد که بدینوسیله تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

منابع

1. Agarwal, A. and A. Majzoub. 2017. Role of antioxidants in assisted reproductive techniques. The World Journal of Men's Health, 35(2): 77-93.
2. Aitken, R.J., A.L. Ryan, M.A. Baker and E.A. McLaughlin. 2004. Redox activity associated with the maturation and capacitation of mammalian spermatozoa. Free Radical Biology and Medicine, 36(8): 994-1010.
3. Akhter, S., B.A. Rakha, R. Iqbal and M.S. Ansari. 2014. Effect of bovine serum albumin on motility, plasmalemma, viability and chromatin integrity of buffalo bull spermatozoa. Pakistan Journal of Zoology, 46(1): 115-120.
4. Azizzadeh Delshad, A.R. and A.R. Farzan. 2013. The prophylactic capacity of Nepeta Menthoides (Ostokhodus) in prevention of spinal motoneuron injury. Journal of Kerman University of Medical Sciences, 20(1): 20-30.
5. Barazandeh, M.M. 2002. Essential oil composition of Lavandula latifolia Medik from Iran. Journal of Essential Oil Research, 14(2): 103-104.
6. Barbato, V., R. Talevi, S. Braun, A. Merolla, S. Sudhakaran, S. Longobardi and R. Gualtieri. 2017. Supplementation of sperm media with zinc, D-aspartate and co-enzyme Q10 protects bull sperm against exogenous oxidative stress and improves their ability to support embryo development. Zygote, 25(2): 168-175.
7. Bouayed, J., K. Piri, H. Rammal, A. Dicko, F. Desor, C. Younos and R. Soulimani. 2007. Comparative evaluation of the antioxidant potential of some Iranian medicinal plants. Food Chemistry, 104(1): 364-368.
8. Breque, C., P. Surai and J.P. Brillard. 2003. Roles of antioxidants on prolonged storage of avian spermatozoa in vivo and in vitro. Molecular Reproduction and Development, 66(3): 314-323.
9. Devasagayam, T.P.A., J.C. Tilak, K.K. Boloor, K.S. Sane, S.S. Ghaskadbi and R.D. Lele. 2004. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. The Journal of the Association of Physicians of India, 52: 794-804.
10. Eslami, M., A. Ghaniei and R.H. Mirzaei. 2016. Effect of the rooster semen enrichment with oleic acid on the quality of semen during chilled storage. Poultry Science, 95(6):1418-1424.
11. Ferreira, A., C. Proenca, M.L.M. Serralheiro and M.E.M. Araujo. 2006. The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. Journal of Ethnopharmacology, 108(1): 31-37.
12. Gharagozloo, M. and Z. Amirghofran. 2007. Effects of silymarin on the spontaneous proliferation and cell cycle of human peripheral blood leukemia T cells. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, 133(8): 525-532.
13. Husseini, Y., H. Sahraei, G.H. Meftahi, M. Dargahian, A. Mohammadi and B. Hatef. 2016. Analgesic and anti-inflammatory activities of hydro-alcoholic extract of Lavandula officinalis in mice: possible

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-14]

[DOI: 10.29252/rap.11.27.74]

involvement of the cyclooxygenase type 1 and 2 enzymes. Revista Brasileira de Farmacognosia, 26(1): 102-108.
14. Kazemizadeh, A., A. Zaree Shahnh, M. Heidari Amale, M. Mohammadi, M. Zhandi and Z. Ansari Pirsaraei. 2018. Correlation of plasma lipids' profile with testicular histology parameters in broiler breeder roosters. Research on Animal Production (Scientific and Research), 9(22): 52-59 (In Persian).
15. Kazemizadeh, A., A. Zare Shahneh, S. Zeinoaldini, A.R. Yousefi, Y.H. Mehrabani, P.Z. Ansari and A. Akhlaghi. 2019. Effects of dietary curcumin supplementation on seminal quality indices and fertility rate in broiler breeder roosters. British Poultry Science, 60(3): 256-264.
16. Kowalczyk, A.M., J. Kleckowska-Nawrot and E.T. Lukaszewicz. 2017. Effect of selenium and vitamin E addition to the extender on liquid stored capercaillie (Tetrao urogallus) semen quality. Reproduction in Domestic Animals, 52(4): 603-609.
17. Leeson, S. and J.D. Summers. 2010. Broiler breeder production: Nottingham University Press.
18. Martin, R.D. 2004. Artficial insemination of poultry. Poultry Essays, Essay 14, Bernal Publishing. www.bernalpublishing.com/poultry/essays/essay1 4.shtml.
19. Min, Y., T. Sun, Z. Niu and F. Liu. 2016. Vitamin C and vitamin E supplementation alleviates oxidative stress induced by dexamethasone and improves fertility of breeder roosters. Animal Reproduction Science, 171: 1-6.
20. Peana, A.T., S. Marzocco, A. Popolo and A. Pinto. 2006. Linalool inhibits in vitro NO formation: probable involvement in the antinociceptive activity of this monoterpene compound. Life Sciences, 78(7): 719-723.
21. Razavian, S., H. Daghigh Kia, G. Moghaddam and S. Alijani. 2016. The effect of adding Ascorbic acid on sperm quality, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of ram seminal plasma in outside of breeding season. Iranian Journal of Animal Science Research, 8(3): 530-540.
22. Safa, S., G. Moghadam, R. Jafari Jozani, H. Gaghgh Kia, H. Janmohammadi and Z. Nemati. 2017. Evaluation the effects of different levels of vitamin E and Nano Selenium on sperm quality parameters of Leghorn rooster during chilled storage on 4◦C. Journal of Animal Science Researchers, 26(4): 59-70.
23. Shafigh, H., M. Shakeri, S. Zeinoaldini, H. Kohram, M. Zhandi and M. Moghbeli. 2016. Improving sperm cryopreservation of rooster by using rosemary alcoholic essential oil. Journal of Animal Production (Journal of Agriculture), 18(3): 615-624 (In Persian).
24. Sharideh, H., M. Zhandi, S. Zenioaldini, M. Zaghari and M. Sadegh. 2019. The effect of coenzyme Q10 on rooster semen preservation in cooling condition. Theriogenology, 129: 103-109.
25. Tabatabaei, S., R.A. Batavani and A.R. Talebi. 2009. Comparison of semen quality in indigenous and Ross broiler breeder roosters. Journal of Animal and Veterinary Advances, 8(1): 90-93.
26. Tabatabaei, S., R.A. Batavani and E. Ayen. 2011. Effects of vitamin E addition to chicken semen on sperm quality during in vitro storage of semen. Veterinary Research Forum, 2(2): 103-111.
27. Uysal, O. and M.N. Bucak. 2007. Effects of oxidized glutathione, bovine serum albumin, cysteine and lycopene on the quality of frozen-thawed ram semen. Acta Veterinaria Brno, 76(3): 383-390.
28. Vakili, A., S. Sharifat, M.M. Akhavan and A.R. Bandegi. 2014. Effect of lavender oil (Lavandula angustifolia) on cerebral edema and its possible mechanisms in an experimental model of stroke. Brain Research, 1548: 56-62.
29. Yaghoobi, K., G.R. Kaka, S. Davoodi and H. Ashayeri. 2016. Therapeutic effects of *Lavandula angustifolia.* Journal of Gorgan University of Medical Sciences, 17(4): 1-9.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-14]

[DOI: 10.29252/rap.11.27.74]

Effect of Different Concentrations of *Lavandula Angustifolia* Extract On Semen Quality of Rooster during Storage in Liquid Condition

Saleh Tabatabaei Vakili[1], Ali Aghaei[2] and Amin Kazemizadeh[3]

1- Associate Professor, Department of Animal Science, Khuzestan Agricultural and Natural Resources University, Ahvaz (Corresponding author: s_tabatabaei58@yahoo.com)
2- Assistant Professor and Ph.D. Student, Department of Animal Science, Khuzestan Agricultural and Natural Resources University, Ahvaz
Received: August 7, 2019 Accepted: December 1, 2019

Abstract

The purpose of this experiment was to investigate the effect of different levels of the *Lavandula angustifolia* extract on semen quality of broiler chickens during storage in a liquid condition at 4°C. Semen was collected from 10 Ross-308 broiler breeder roosters twice a week for 4 weeks, and immediately mixed together after the initial evaluation. The semen samples were divided into 5 parts after dilution and each received 0, 5, 10, 15 and 20 µg/ml levels of *Lavandula angustifolia* extract. Semen quality parameters were evaluated at 0, 3, 6, 12, 24 and 48 hours after storage at 4°C. Adding different levels of *Lavandula angustifolia* extract resulted significant increase in total and progressive sperm motility after 6 hours of semen storage ($P<0.05$). The effect of *Lavandula angustifolia* extract on sperm survival rate was significant ($P<0.05$). So that treatment with 10 µg/ml of this extract at 12, 24 and 48 hours improved this parameter compared to control ($P<0.05$). Adding 10 µg/ml of *Lavandula angustifolia* extract to seminal fluid resulted significant increase in plasma membrane integrity of the sperm after 48 hours of semen storage ($P<0.05$). 24 and 48 hours after semen storage in liquid condition, the least amount of sperm abnormalities belonged to treatments of 10 and 15 µg/ml extract and the highest amount was in the control and high dose extract ($P<0.05$). In general, the addition of *Lavandula angustifolia* extract at 10 µg/ml to diluted semen of broiler roosters improved sperm parameters during semen storage at 4°C.

Keywords: *Lavandula Angustifolia,* Rooster, Semen Quality, Storage

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-14]

[DOI: 10.29252/rap.11.27.74]