دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

بهبود کیفیت اسپرم خروس طی نگهداری در دمای ٤ درجه با افزودن کوئرستین به شکل نانو لیپوزوم و NLC در محیط رقیق‌کننده

ابوذر نجفی[۱]، حسین دقیق‌کیا[۲]، مهدیه مهدی‌پور[۲] و حسین محمدی[۳]

۱- گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، تهران، ایران، (نویسنده مسوول: abozar.najafi@ut.ac.ir)
۲- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۳- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه اراک، اراک، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۷/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۸/۲۳
صفحه: ۱۰۴ تا ۱۱۳

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: نرخ باروری پایین اسپرم منجمد طیور در مقایسه با دیگر گونه‌ها، یک چالش جدی برای تلقیح مصنوعی در گله‌های تجاری است. این چالش ممکن است با برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی اسپرم طیور مرتبط باشد. از طرف دیگر، تنش‌های اسمزی، شیمیایی و مکانیکی طی فرآیندهای سردسازی مهم‌ترین دلایلی هستند که باعث بوجود آمدن تغییرات فراساختاری، بیوشیمیایی و عملکردی در اسپرم می‌شوند که نتیجه آن مجموعه‌ای از پدیده‌های آبشاری است که منجر به کاهش باروری اسپرم خواهد شد. کوئرستین یک ترکیب زیست فعال با منشأ گیاهی است که با داشتن ساختمان شیمیایی پلی فنلی دارای ویژگی آنتی‌اکسیدانی است. این ترکیب به‌عنوان یک فلاونویید مهم و یک آنتی‌اکسیدان قوی باعث حذف رادیکال‌های آزاد و کاهش تنش اکسیداتیو در اسپرماتوگونی جوجه‌ها شد. هدف از این مطالعه، استفاده از کوئرستین به شکل نانو در رقیق‌کننده اسپرم خروس طی نگهداری در دمای ۴ درجه می‌باشد.

مواد و روش‌ها: بلافاصله پس از جمع‌آوری منی از خروس‌ها بررسی‌های اولیه صورت گرفت. منی جمع‌آوری شده از هر ۱۵ خروس به‌منظور حذف اثرات فردی با یکدیگر مخلوط و به محیط رقیق‌کننده اضافه شدند. غلظت‌های مختلف کوئرستین (۱۰، ۱۵ و ۲۰ میکرومولار) در سه شکل (غیرمحافظت شده و در داخل ساختارهای لیپوزومی و NLC) به‌ترکیب رقیق‌کننده پایه اضافه شد. سپس سرد شدن تدریجی نمونه‌های منی رقیق‌شده در دمای $^{\circ}C$ ۴ به‌مدت ۳ ساعت انجام گردید. سپس در زمان‌های صفر (بلافاصله پس از رسیدن نمونه‌ها به دمای ۴ درجه سانتی‌گراد)، ۲۴ و ۴۸ پارامترهای جنبایی، یکپارچگی غشایی، پراکسیداسیون لیپیدی، درصد اسپرم‌های غیرطبیعی و درصد زنده‌مانی نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج بیانگر آن است که تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر پارامترهای مورد ارزیابی در زمان صفر نداشته‌اند. در زمان ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۴ درجه، ۱۵ میکرومولار کوئرستین لودشده در NLC باعث بهبود معنی‌دار پارامترهای جنبایی کل، پیش‌رونده، زنده‌مانی و یکپارچگی غشای اسپرم در مقایسه با گروه کنترل شد. در زمان ۴۸ ساعت نگهداری در دمای ۴ درجه تیمار ۱۵ میکرومولارکوئرستین لود شده در NLC باعث بهبود معنی‌دار پارامترهای جنبایی کل، پیش‌رونده، زنده‌مانی و یکپارچگی غشای اسپرم در مقایسه با گروه کنترل می‌شود. همچنین، نتایج بیانگر آن است که تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری روی درصد ناهنجاری اسپرم خروس طی نگهداری در دمای ۴ درجه در سه زمان ۰، ۲۴ و ۴۸ ساعت در مقایسه با گروه کنترل نداشته است. در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت نگهداری در دمای ۴ درجه تیمار ۱۵ میکرومولار کوئرستین لودشده در NLC باعث کاهش معنی‌دار میزان MDA اسپرم در مقایسه با گروه کنترل شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این آزمایش نشان‌دهنده آن است که تیمار ۱۵ میکرومولار کوئرستین لود شده در NLC باعث بهبود بسیاری از پارامترهای مورد ارزیابی می‌شود و بنابراین برای استفاده در رقیق‌کننده اسپرم خروس توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسپرم، آنتی‌اکسیدان، خروس، نانو

مقدمه

تلقیح مصنوعی یک تکنولوژی تولیدمثلی است که در آن از بهترین نرهای پرورشی استفاده مؤثر می‌شود. بنابراین تا حد زیادی منجر به‌بهبود کیفیت ژنتیکی گله پرورشی می‌گردد. تلقیح مصنوعی امکان بهبود بازده ژنتیکی و کاهش بیماری‌های تولیدمثلی را مهیا می‌سازد. لازمه استفاده بهینه از تلقیح مصنوعی، امکان ذخیره‌سازی اسپرم به‌صورت مایع و منجمد می‌باشد، اما محدودیت‌های زمانی ذخیره‌سازی اسپرم به‌صورت مایع موجب گرایش به‌سوی انجماد اسپرم شده است (۱،۸).

نرخ باروری پایین اسپرم منجمد طیور در مقایسه با دیگر گونه‌ها، یک چالش جدی برای تلقیح مصنوعی در گله‌های تجاری است. این چالش ممکن است با برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی اسپرم طیور مرتبط باشد. از طرف دیگر، تنش‌های اسمزی، شیمیایی و مکانیکی طی فرآیندهای سردسازی مهم‌ترین دلایلی هستند که باعث بوجود آمدن تغییرات فراساختاری، بیوشیمیایی و عملکردی در اسپرم می‌شوند که نتیجه آن مجموعه‌ای از پدیده‌های آبشاری است که منجر به کاهش باروری اسپرم خواهد شد (۹).

تمامی موجودات زنده هوازی با پارادوکسی به‌نام اکسیژن روبرو هستند یعنی از یک‌سو نیازمند به O_2 مولکولی بوده و از سویی دیگر با وجود ضروری بودن اکسیژن، متابولیت‌های آن همانند رادیکال هیدروکسیل (OH) آنیون سوپراکسید (O_2^-) و یا هیدروژن پراکسید (H_2O_2) بر عملکرد و ساختار سلول‌ها تأثیر منفی نهاده و بقاء موجود زنده را در معرض خطر قرار می‌دهند؛ به‌همین علت اکسیژن را نوعی تیغ دو لبه در نظر می‌گیرند (۳). مجموعه مشتقات اکسیژن موسوم به انواع اکسیژن فعال بوده که به‌عنوان یکی از عوامل ایجاد ناباروری در پستاندارا شناخته می‌شوند. اکسیژن فعال دارای اثری دوگانه بر عمل و ساختار سلول‌های اسپرم است، از یک‌طرف جهت انجام برخی روندهای طبیعی همانند واکنش آکروزومی ضروری بوده و از طرفی دیگر در غلظت‌های زیاد در محیط باعث تنش اکسیداتیو می‌شود، که موجب مهار قدرت تحرک و نیز تغییر در شکل ظاهری این سلول‌ها شده و بدین‌ترتیب درصدهایی از ناباروری را ایجاد خواهند نمود. یکی از علائم مهم تنش اکسیداتیو در سلول‌ها، پراکسیداسیون چربی‌های

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-09-14]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1401.13.36.12.0]
[DOI: 10.52547/rap.13.36.104]

غشاء است. پراکسیداسیون چربی یک پدیده فیزیولوژیک بوده و در همه سلول‌هایی که غنی از اسیدهای چرب غیراشباع هستند، رخداده و از مجموعه واکنش‌هایی که شامل تخریب و تشکیل مجدد پیوندهای دوگانه در این اسیدهای غشایی است، تشکیل می‌شود. روند پراکسیداسیون چربی موجب تخریب ساختار غشاء، کاهش قدرت تحرک، مهار فعالیت‌های آنزیمی و ایجاد شکستگی در DNA سلول‌های اسپرم شده، که منجر به کاهش توان باروری اسپرم می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که قادر به جمع‌آوری اکسیژن فعال و سپس خنثی‌سازی آنان در داخل و خارج سلول‌های بدن می‌باشند (۳). سلول‌های اسپرم طی روند اسپرماتوژنز، مقدار زیادی از سیتوپلاسم خود را همراه با مواد آنتی‌اکسیدانی موجود در آن، ازدست‌داده و بدین ترتیب در مقابل روند تنش اکسیداتیو حساس می‌شوند. امروزه استراتژی کاربرد آنتی‌اکسیدان‌ها در راستای رفع صدمات وارده به سلول‌ها مدنظر محققان قرار گرفته است.

به‌منظور جلوگیری از آسیب‌ها، به‌طور طبیعی در مایع منی، سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی وجود دارد. سیستم آنتی‌اکسیدانی در پستانداران و پرندگان اهلی مشتمل بر سه سطح عمده‌ی گلوتاتیون پراکسیداز[1]، سوپراکسید دیسموتاز[2] و کاتالاز[3] است. سیستم آنتی‌اکسیدانی موجود در پلاسمای منی پرندگان اهلی در تولیدمثل طبیعی تنها برای مدت کوتاهی مؤثر است. پژوهش‌های گوناگون نشان داده‌اند که افزودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به جیره غذایی پرندگان اهلی موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای منی می‌شود (۲۹).

کوئرستین یک ترکیب زیست فعال با منشأ گیاهی است که با داشتن ساختمان شیمیایی پلی-فنلی دارای ویژگی آنتی‌اکسیدانی است. در یک تحقیق، کوئرستین خواص محافظت‌کننده سلولی و بافتی در برابر عوامل استرس‌زا و اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های فعال اکسیژن در موش‌های صحرایی دیابتی نشان داد (۴). این ترکیب به‌عنوان یک فلاونویید مهم و یک آنتی‌اکسیدان قوی باعث حذف رادیکال‌های آزاد و کاهش تنش اکسیداتیو در اسپرماتوگونی جوجه‌ها شد. پژوهش‌های فراوان نشان دادند که کوئرستین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان پلی‌فنلی موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله آنزیم کاتالاز شد. کوئرستین موجود در گیاهانی مانند کنگر، دارای اثر محافظتی بر سلول‌های اسپرماتوگونی تحت تنش اکسیداتیو بود و با دادن الکترون به ROS، تخریب DNA سلولی را کاهش داد (۱۱).

اثر غلظت‌های ۲۰، ۳۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ میکرومولار کوئرستین را در رقیق‌کننده اسپرم انسان بر پراکسیداسیون لیپیدها بررسی و گزارش کردند غلظت ۳۰ تا ۲۰۰ میکرومولار کوئرستین پراکسیداسیون لیپیدها در اسپرم را کاهش داد (۲۰). در مطالعه‌ای گزارش کردند که افزودن ۱۰، ۱۰۰، و ۲۰۰ میکرومولار کوئرستین به اسپرم موش صحرایی به‌طور قابل‌توجهی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را بهبود بخشید و اسپرم را در برابر آسیب‌های H_2O_2، محافظت کرد و موجب کاهش تولید مالون‌دی‌آلدئید و درصد آکروزوم‌های نابهنجار شد (۲).

وجود یک آنتی‌اکسیدان مؤثر و قوی برای جلوگیری از تنش اکسیداتیو ضروری به‌نظر می‌رسد؛ از طرف دیگر استفاده از آنتی‌اکسیدان بیش از حد باعث صدمه به اسپرم می‌شود. هدف این پژوهش استفاده از فناوری نانو هم‌زمان با استفاده از آنتی‌اکسیدان جهت هدفمندی اثر این آنتی‌اکسیدان می‌باشد. با استفاده از فناوری نانو این آنتی‌اکسیدان به‌صورت بهینه‌شده در اختیار اسپرم قرار گرفته و از صدمات ناشی از پراکسیداسیون جلوگیری می‌شود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گروه علوم دامی دانشگاه تبریز انجام شد. در ابتدای آزمایش ۱۵ خروس گله مادر گوشتی سویه تجاری راس ۳۰۸ (۳۰ هفته‌ای) به سالن نگهداری خروس‌ها منتقل شدند. سپس خروس‌ها از نظر سلامت عمومی و وضعیت سلامتی و اسپرم دهی مورد معاینه قرار گرفتند. اسپرم‌گیری از خروس‌ها پس از یک ماه دوره عادت‌پذیری به اسپرم‌دهی به صورت هفته‌ای دو بار و به روش مالش پشتی- شکمی از تمام خروس‌ها صورت گرفت.

غلظت‌های مختلف کوئرستین (سیگما آلدریچ- آمریکا) (۱۰، ۱۵ و ۲۰ میکرومولار) به رقیق‌کننده پایه به سه شکل به‌صورت معمولی (نانو نشده)، لیپوزوم و حامل‌های لیپیدی نانوساختار (NLC[4]) و تیمار شاهد (فاقد آنتی اکسیدان) اضافه شدند. تهیه NLCهای حاوی آنتی‌اکسیدان به روش هموژنیزاسیون گرم انجام شد (۲۱). جهت تهیه لیپوزوم‌ها از لسیتین استفاده شد. اندازه ذرات با دستگاه سنجش اندازهٔ ذرات (SALD 2101) ساخت ژاپن، در آزمایشگاه تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز اندازه‌گیری شدند. بلافاصله پس از جمع‌آوری منی از خروس‌ها (به‌روش مالش پشتی- شکمی) بررسی‌های اولیه صورت گرفت و حجم بین ۱-۰/۲ میلی‌لیتر، غلظت بیشتر از ۳ میلیارد اسپرم در هر میلی‌لیتر، جنبایی بیش از ۸۰ درصد و درصد اسپرم‌های غیرطبیعی کمتر از ۱۰ درصد در هر انزال، به‌عنوان اسپرم طبیعی در نظر گرفته‌شد. منی جمع‌آوری شده از هر ۱۵ خروس به‌منظور حذف اثرات فردی با یکدیگر مخلوط و به محیط رقیق‌کننده اضافه شدند. رقیق‌سازی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به نسبت یک به بیست انجام شد (غلظت نهایی اسپرم $10^8 \times 2$). غلظت‌های مختلف کوئرستین (۱۰، ۱۵ و ۲۰ میکرومولار) در سه شکل (غیرمحافظت شده و در داخل ساختارهای لیپوزومی و NLC) به ترکیب رقیق‌کننده پایه اضافه شد. سپس سرد شدن تدریجی نمونه‌های منی رقیق‌شده در دمای $4\ ^\circ C$ به مدت ۳ ساعت انجام گردید. این آزمایش در پنج تکرار انجام گرفت. سپس در زمان‌های صفر (بلافاصله پس از رسیدن نمونه‌ها به دمای $4\ ^\circ C$ ، ۲۴ و ۴۸ ساعت (در داخل یخچال)، پارامترهای جنبایی، یکپارچگی غشایی، پراکسیداسیون لیپیدی، درصد اسپرم‌های غیرطبیعی و درصد زنده‌مانی نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

جنبایی اسپرم با استفاده از CASA ارزیابی شد. برای این پژوهش از سیستم CASA، مدل video test sperm 3.1 کالیبره شده استفاده شد. از هر نمونه حداقل ۵ زمینه به

1- Glutathione peroxidase 2- Superoxide dismutase 3- Catalase 4- Nanostructured Lipid Carriers

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-09-14]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1401.13.36.12.0]
[DOI: 10.52547/rap.13.36.104]

صورت کاملاً تصادفی انتخاب و به تعداد ۲۰۰ اسپرم به‌وسیله سیستم CASA آنالیز شدند (۲۷).

برای ارزیابی زنده‌مانی از رنگ‌آمیزی ائوزین- نیگروزین استفاده شد (ائوزین ۱/۶۷ گرم، نگروزین ۱۰ گرم، سدیم سیترات ۲/۹ گرم، در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد) (۲۲). برای ارزیابی هر نمونه، ۱۰ میکرولیتر رنگ ائوزین- نیگروزین به‌وسیله سمپلر بر روی یک لام گرم و تمیز قرار داده شد. سپس ۱۰ میکرولیتر از منی رقیق‌شده با استفاده از سمپلر بر روی رنگ ریخته و مخلوط گردید. با کشیدن لام دیگری بر روی نمونه‌ی مخلوط شده اسپرم و رنگ، گسترشی از مخلوط آن‌ها بر روی لام تهیه شد. پس از خشک شدن، لام در زیر میکروسکوپ قرار داده شد و با بزرگنمایی ۴۰۰ مورد مشاهده قرار گرفت. از هر نمونه ۲۰۰ اسپرم شمارش شد و درصد اسپرم‌های رنگی (مرده) و رنگ نشده (زنده) محاسبه شد.

در این پژوهش برای بررسی یکپارچگی غشای اسپرم از آزمون تورم هیپواسموتیک (HOST) استفاده شد (۲۳). ده میکرولیتر از منی به ۱۰۰ میکرولیتر از محیط هایپواسموتیک هاست (اسمولاریته ۱۰۰)، که داری فروکتوز و سیترات سدیم بود، افزوده شد و سپس به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ $^{\circ}C$ انکوبه شد. پس از گذشت این زمان ۱۰ میکرولیتر از نمونه انکوبه شده بر روی لام قرار داده شد و با استفاده از لامل بر روی لام گسترده شد. بررسی میکروسکوپی در دمای ۳۷ $^{\circ}C$ و با بزرگنمایی ۴۰۰ به‌کمک میکروسکوپ فازکنتراست (Labomed LX400; Labomed Inc., Culver City, CA, USA) صورت گرفت. از هر تیمار ۲۰۰ اسپرم شمارش شد و درصد اسپرم‌های با دم گره‌خورده نسبت به کل اسپرم محاسبه شد.

برای ارزیابی ریخت‌شناسی اسپرم‌ها از محلول هانکوک استفاده شد. برای ساخت محلول هانکوک از روش هانکوک استفاده شد (۱۷). محیط هانکوک شامل ۶۲/۵ میلی‌لیتر فرمالین (۳۷ درصد)، ۱۵۰ میلی‌لیتر محلول سالین، ۱۵۰ میلی‌لیتر محلول بافر و ۵۰۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر است. برای ارزیابی ناهنجاری‌های اسپرم سه قطره از هر نمونه اسپرم به میکروتیوب حاوی یک میلی‌لیتر از محلول هانکوک افزوده شد. سپس یک قطره از این محلول روی لام قرار گرفته و لامل‌گذاری شد و با استفاده از میکروسکوپ (Labomed LX400; Labomed Inc., Culver City, CA, USA) با بزرگنمایی ۴۰۰ مورد بررسی قرار گرفت. برای محاسبه درصد کل اسپرم‌های نابهنجار (ناهنجاری‌های آکروزوم، سرهای چسبیده، بخش میانی غیرطبیعی و آسیب‌های دم) تعداد ۲۰۰ اسپرم از هر نمونه مورد بررسی و شمارش قرار گرفت.

غلظت مالون‌دی‌آلدهید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در نمونه‌های منی است که با استفاده از واکنش تیوباربیتوریتیک اسید اندازه‌گیری شد (۱۸). معمولاً در دمای ۹۵ $^{\circ}C$ و شرایط اسیدی، یک مولکول MDA با دو مولکول تیوباربیتوریتیک اسید واکنش داده و کمپلکس صورتی‌رنگی را به‌وجود می‌آورد. برای اندازه‌گیری غلظت MDA، ابتدا نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند (ده هزار دور در دقیقه). در ادامه مقدار ۲۵۰ میکرولیتر از مایع رویی به یک میلی‌لیتر محلول حاوی‌تری کلرواستیک اسید (۲۰٪) و تیوباربیتوریتیک اسید (۰/۵٪) اضافه گردید و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ $^{\circ}C$ حرارت داده شد. در مرحله بعد نمونه‌ها بعد از سرد شدن در داخل یخ، عدد جذب هر یک از نمونه‌ها در طول‌موج ۵۳۲ به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (T80 (UV/VIS) PG Instruments Ltd, UK) خوانده شد.

آنالیز آماری

نتایج حاصل از آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به وسیله نرم‌افزار SAS (۹/۲) و با استفاده از Proc GLM آنالیز و سطح معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) در نظر گرفته خواهد شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون Tukey انجام گرفت. این آزمایش در پنج تکرار انجام شد.

نتایج و بحث

اثر استفاده از کوئرستین، کوئرستین لودشده در لیپوزوم و کوئرستین لودشده در NLC بر جنبایی اسپرم خروس طی نگهداری در دمای ۴ $^{\circ}C$ در جدول ۱ آورده شده است. نتایج نشان‌دهنده آن است که تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری در میزان جنبایی اسپرم در زمان صفر نداشته‌اند. همچنین در زمان ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۴ $^{\circ}C$، تیمار ۱۵ میکرومولار کوئرستین لودشده در NLC باعث بهبود معنی‌دار جنبایی اسپرم در مقایسه با گروه کنترل شده است. در زمان ۴۸ ساعت نگهداری در دمای ۴ $^{\circ}C$ تیمار ۱۵ میکرومولار کوئرستین لودشده در NLC باعث بهبود معنی‌دار جنبایی اسپرم در مقایسه با گروه کنترل می‌شوند ($p<۰/۰۵$).

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-09-14]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1401.13.36.12.0]
[DOI: 10.52547/rap.13.36.104]

جدول ۱- اثر کوئرستین، کوئرستین لودشده در لیپوزوم و کوئرستین لودشده در NLC بر جنبایی کل اسپرم خروس طی نگهداری در دمای ۴°C
Table 1. The effect of quercetin, quercetin loaded liposome and quercetin -loaded NLC on sperm total motility during storage at 4 °C

تیمارها/ زمان	۰	۲۴	۴۸
کنترل	۸۶/۷۳	۴۸/۵۴^{DC}	۲۳/۵۰^{cd}
کوئرستین (میکرومولار)			
۱۰	۸۸/۲۲	۵۴/۹۶^{abc}	۲۵/۷۳^{bcd}
۱۵	۹۰/۶۳	۵۸/۷۱^{ab}	۲۹/۱۰^{ab}
۲۰	۸۸/۷۷	۵۰/۵۰^{bc}	۲۲/۴۵^{cd}
کوئرستین لود شده در لیپوزوم (میکرومولار)			
۱۰	۸۸/۵۷	۵۲/۸۱^{bc}	۲۳/۷۱^{cd}
۱۵	۹۰/۲۹	۵۵/۵۵^{abc}	۲۶/۰^{bc}
۲۰	۸۸/۸۰	۴۵/۵۰^{c}	۲۱/۴۷^{d}
کوئرستین لود شده در NLC (میکرومولار)			
۱۰	۹۰/۶۸	۵۶/۸۹^{abc}	۲۶/۷۰^{bc}
۱۵	۹۱/۹۱	۶۵/۸۷^{a}	۳۱/۸۵^{a}
۲۰	۸۹/۲۹	۵۱/۳۲^{bc}	۲۵/۰۴^{bcd}
SEM	۲/۱۵	۲/۴۴	۰/۹۰

اعداد دارای حروف غیرمشابه در هر ستون تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) دارند.

اثر استفاده از کوئرستین، کوئرستین لودشده در لیپوزوم و کوئرستین لودشده در NLC بر جنبایی پیش‌رونده اسپرم خروس طی نگهداری در دمای ۴ °C در جدول ۲ آورده شده است. نتایج نشان‌دهنده آن است که تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری در میزان جنبایی پیش‌رونده در زمان صفر نداشته‌اند. همچنین در زمان ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۴ °C، تیمار ۱۵ میکرومولار کوئرستین لودشده در NLC باعث بهبود معنی‌دار جنبایی پیش‌رونده اسپرم در مقایسه با گروه کنترل شده است. در زمان ۴۸ ساعت نگهداری در دمای ۴ °C تیمار ۱۵ میکرومولار کوئرستین لودشده در NLC باعث بهبود معنی‌دار جنبایی پیش‌رونده اسپرم در مقایسه با گروه کنترل می‌شوند (p<۰/۰۵).

جدول ۲- اثر کوئرستین، کوئرستین لودشده در لیپوزوم و کوئرستین لودشده در NLC بر جنبایی پیش‌رونده اسپرم خروس طی نگهداری در دمای ۴ °C
Table 2. The effect of quercetin, quercetin loaded liposome and quercetin -loaded NLC on sperm progressive motility during storage at 4 °C

تیمارها/ زمان	۰	۲۴	۴۸
کنترل	۵۹/۲۱	۱۸/۷۷^{D}	۸/۴۴^{cd}
کوئرستین (میکرومولار)			
۱۰	۶۱/۴۳	۲۰/۳۵^{D}	۱۲/۸۸^{abc}
۱۵	۶۳/۵۸	۲۶/۲۷^{ab}	۱۴/۵۳^{ab}
۲۰	۵۹/۵۱	۱۸/۷۸^{D}	۱۰/۱۵^{bcd}
کوئرستین لود شده در لیپوزوم (میکرومولار)			
۱۰	۵۸/۸۰	۱۹/۰۵^{D}	۸/۷۳^{cd}
۱۵	۶۱/۳۶	۲۳/۵۷^{ab}	۱۳/۰۹^{abc}
۲۰	۶۰/۷۰	۱۸/۶۹^{D}	۷/۸۴d
کوئرستین لود شده در NLC (میکرومولار)			
۱۰	۶۱/۹۳	۲۲/۸۷^{D}	۱۳/۲۹^{abc}
۱۵	۶۴/۳۹	۳۱/۲۵^{a}	۱۶/۶۰^{a}
۲۰	۵۹/۸۳	۲۲/۲۲^{ab}	۱۰/۹۶^{bcd}
SEM	۲/۲۳	۱/۹۲	۱/۰۶

اعداد دارای حروف غیرمشابه در هر ستون تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) دارند.

اثر استفاده از کوئرستین، کوئرستین لودشده در لیپوزوم و کوئرستین لودشده در NLC بر زنده‌مانی اسپرم خروس طی نگهداری در دمای ۴ °C در جدول ۳ آورده شده است. نتایج نشان‌دهنده آن است که تیمار آزمایشی تأثیر معنی‌داری در زنده‌مانی اسپرم در زمان صفر نداشته‌اند. همچنین در زمان ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۴ °C، تیمار ۱۵ میکرومولار کوئرستین لودشده در NLC باعث بهبود معنی‌دار زنده‌مانی اسپرم در مقایسه با گروه کنترل شده‌است. در زمان ۴۸ ساعت نگهداری در دمای ۴ °C تیمارهای ۱۵ میکرومولار کوئرستین لودشده در NLC باعث بهبود معنی‌دار زنده‌مانی اسپرم در مقایسه با گروه کنترل می‌شوند (p<۰/۰۵).

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-09-14]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1401.13.36.12.0]
[DOI: 10.52547/rap.13.36.104]

جدول ۳- اثر کوئرستین، کوئرستین لودشده در لیپوزوم و کوئرستین لودشده در NLC بر زنده‌مانی اسپرم خروس طی نگهداری در دمای ۴°C
Table 3. The effect of quercetin, quercetin loaded liposome and quercetin -loaded NLC on sperm viability during storage at 4 °C

تیمارها/ زمان	۰	۲۴	۴۸
کنترل	۸۹/۸۶	۵۵/۵۰^{c}	۲۷/۹۵^{bc}
کوئرستین (میکرومولار)			
۱۰	۸۹/۲۵	۵۸/۳۶^{bc}	۳۰/۳۶^{bc}
۱۵	۹۱/۵۰	۶۷/۹۴^{ad}	۳۳/۴۰^{ad}
۲۰	۸۹/۷۸	۵۲/۶۲^{c}	۲۷/۶۲^{c}
کوئرستین لود شده در لیپوزوم (میکرومولار)			
۱۰	۸۸/۲۴	۵۲/۱۷^{c}	۲۶/۸۲^{c}
۱۵	۹۰/۲۱	۵۸/۴۴^{bc}	۳۰/۲۵^{c}
۲۰	۸۷/۰۶	۴۹/۳۷^{c}	۲۴/۹۱^{c}
کوئرستین لود شده درNLC (میکرومولار)			
۱۰	۸۹/۵۹	۵۷/۲۱^{c}	۲۹/۳۰^{bc}
۱۵	۹۲/۷۱	۷۴/۳۶^{a}	۳۸/۹۷^{a}
۲۰	۸۸/۱۹	۵۴/۷۶^{c}	۲۸/۸۸^{bc}
SEM	۱/۸۲	۲/۰۳	۱/۲۱

اعداد دارای حروف غیر مشابه در هر ستون تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) دارند.

اثر استفاده از کوئرستین، کوئرستین لودشده در لیپوزوم و کوئرستین لودشده در NLC بر یکپارچگی غشای اسپرم خروس طی نگهداری در دمای ۴°C در جدول ۴ آورده شده است. نتایج بیانگر آن است که تیمار آزمایشی تأثیر معنی‌داری در میزان یکپارچگی غشای اسپرم در زمان صفر نداشته است. همچنین در زمان ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۴°C، ۱۵ میکرومولار کوئرستین لودشده در NLC باعث بهبود معنی‌دار یکپارچگی غشای اسپرم در مقایسه با گروه کنترل شده‌اند. در زمان ۴۸ ساعت نگهداری در دمای ۴ °C تیمارهای ۱۵ میکرومولارکوئرستین لودشده در NLC باعث بهبود معنی‌دار یکپارچگی غشای اسپرم در مقایسه با گروه کنترل می‌شود (p<۰/۰۵).

جدول ۴- اثر کوئرستین، کوئرستین لودشده در لیپوزوم و کوئرستین لودشده در NLC بر یکپارچگی غشای اسپرم خروس طی نگهداری در دمای ۴°C
Table 4. The effect of quercetin, quercetin loaded liposome and quercetin -loaded NLC on membrane integrity during storage at 4 °C

تیمارها/ زمان	۰	۲۴	۴۸
کنترل	۸۰/۳۴	۴۴/۶۲^{D}	۱۹/۶۶^{cα}
۱۰ کوئرستین (میکرومولار)	۸۳/۸۲	۴۸/۵۷^{D}	۲۰/۶۶^{bcα}
۱۵	۸۵/۳۹	۶۲/۶۵^{a}	۲۸/۶۹^{a}
۲۰	۸۲/۷۰	۴۶/۵۴^{D}	۲۰/۶۴^{bcα}
کوئرستین لود شده در لیپوزوم (میکرومولار)			
۱۰	۸۰/۱۴	۴۵/۷۱^{D}	۱۹/۷۹^{cα}
۱۵	۸۳/۹۵	۵۲/۳۴^{D}	۲۴/۶۷^{abc}
۲۰	۷۹/۸۸	۴۴/۱۵^{D}	۱۷/۸۵^{cα}
کوئرستین لود شده درNLC (میکرومولار)			
۱۰	۸۳/۰۴	۵۰/۳۵^{D}	۲۵/۶۲^{aD}
۱۵	۸۵/۰۳	۶۷/۵۶^{a}	۲۹/۲۳^{a}
۲۰	۸۲/۰	۴۹/۹۲^{D}	۲۲/۲۵^{bcα}
SEM	۲/۳۰	۱/۹۶	۱/۰۸

اعداد دارای حروف غیر مشابه در هر ستون تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) دارند.

اثر استفاده از کوئرستین، کوئرستین لودشده در لیپوزوم و کوئرستین لودشده در NLC بر درصد ناهنجاری اسپرم خروس طی نگهداری در دمای ۴°C در جدول ۵ آورده شده است. نتایج بیانگر آن است که تیمارهای آزمایشی تاثیری روی درصد ناهنجاری اسپرم خروس طی نگهداری در دمای ۴°C در سه زمان ۰، ۲۴ و ۴۸ ساعت در مقایسه با گروه کنترل نداشته است.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-09-14]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1401.13.36.12.0]
[DOI: 10.52547/rap.13.36.104]

جدول ۵- اثر کوئرستین، کوئرستین لودشده در لیپوزوم و کوئرستین لودشده در NLC بر درصد ناهنجاری اسپرم خروس طی نگهداری در دمای ۴ °C

Table 5. The effect of quercetin, quercetin loaded liposome and quercetin-loaded NLC on abnormal forms duringstorage at 4 °C

تیمارها/ زمان	۰	۲۴	۴۸
کنترل	۸/۴۹	۱۷/۸۹	۲۰/۷۵
کوئرستین (میکرومولار)			
۱۰	۸/۳۹	۱۵/۳۰	۱۹/۵۱
۱۵	۷/۹۳	۱۴/۵۹	۱۶/۰۵
۲۰	۸/۵۹	۱۷/۵۹	۱۹/۸۲
کوئرستین لود شده در لیپوزوم (میکرومولار)			
۱۰	۸/۴۵	۱۶/۶۸	۲۰/۶۵
۱۵	۸/۳۰	۱۵/۵۱	۱۷/۹۶
۲۰	۹/۰۷	۱۷/۸۶	۲۱/۸۳
کوئرستین لود شده در NLC (میکرومولار)			
۱۰	۸/۰۳	۱۵/۵۰	۱۷/۴۷
۱۵	۷/۶۴	۱۴/۰۷	۱۵/۲۲
۲۰	۸/۶۴	۱۷/۶۶	۱۸/۷۰
SEM	۰/۸۶	۱/۴۳	۱/۴۱

اعداد دارای حروف غیرمشابه در هر ستون تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) دارند.

اثر استفاده از کوئرستین، کوئرستین لودشده در لیپوزوم و کوئرستین لودشده در NLC بر میزان MDA اسپرم خروس طی نگهداری در دمای ۴ °C در جدول ۶ آورده شده است. نتایج بیانگر آن است که تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری در میزان MDA در زمان صفر نداشته‌اند. همچنین در زمان ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۴ °C، ۱۵ میکرومولار و کوئرستین لودشده در NLC باعث کاهش معنی‌دار میزان MDA اسپرم در مقایسه با گروه کنترل شد. در زمان ۴۸ ساعت نگهداری در دمای ۴ °C تیمارهای ۱۵ میکرومولار کوئرستین لودشده در NLC باعث کاهش معنی‌دار میزان MDA اسپرم در مقایسه با گروه کنترل می‌شود (p<۰/۰۵).

جدول ۶- اثر کوئرستین، کوئرستین لودشده در لیپوزوم و کوئرستین لودشده در NLC بر میزان MDA اسپرم خروس طی نگهداری در دمای ۴ °C

Table 6. The effect of quercetin, quercetin loaded liposome and quercetin -loaded NLC on MDA levels during storage at 4 °C

تیمارها/ زمان	۰	۲۴	۴۸
کنترل	۱/۶۲	۴/۰۱^{ab}	۴/۳۷^{abc}
کوئرستین (میکرومولار)			
۱۰	۱/۶۳	۳/۳۵^{ab}	۳/۵۰^{bc}
۱۵	۱/۴۵	۱/۸۱^{c}	۲/۱۷^{d}
۲۰	۱/۶۱	۴/۰^{ab}	۴/۷۲^{ab}
کوئرستین لود شده در لیپوزوم (میکرومولار)			
۱۰	۱/۶۴	۳/۴۹^{ab}	۴/۳۹^{abc}
۱۵	۱/۵۷	۳/۰۶^{abc}	۳/۵۶^{bc}
۲۰	۱/۶۹	۴/۵۶^{a}	۵/۱۰^{a}
کوئرستین لود شده در NLC (میکرومولار)			
۱۰	۱/۵۸	۲/۹۰^{bc}	۳/۱۹^{cd}
۱۵	۱/۴۳	۱/۷۳^{c}	۲/۱۷^{d}
۲۰	۱/۶۱	۳/۹۰^{ab}	۴/۴۵^{abc}
SEM	۰/۲۳	۰/۳۲	۰/۲۷

اعداد دارای حروف غیرمشابه در هر ستون تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) دارند.

نتایج نشان‌دهنده آن است که استفاده از کوئرستین در لیپوزوم نمی‌تواند خاصیت آنتی‌اکسیدانی این ماده را افزایش دهد. جالب آن است که وقتی کوئرستین در روی NLC لود می‌شود، باعث بهبود کیفیت اسپرم در زمان نگهداری در دمای ۴ °C می‌شود.

به‌طورکلی افزایش میزان ROS در مایع منی موجب پراکسیداسیون لیپید، آسیب غشایی و درنتیجه کاهش حرکت اسپرم، غیرفعال‌سازی آنزیم‌های گلیکولیز، آسیب به غشای آکروزوم و اکسیداسیون DNA می‌شود. به‌همین دلیل اسپرم قادر به بارور کردن تخمک نبوده و ناباروری رخ می‌دهد. بارزترین اثر پراکسیداسیون لیپیدی در سلول‌ها، ایجاد اختلال در نظم و کار غشاء سلول است، به‌طوری‌که روند انتقال یون‌ها دست‌خوش تغییر و در کار سلول اختلال ایجاد می‌شود. غشاء اسپرم بدلیل داشتن مقادیر زیادی اسیدهای چرب غیراشباع، مستعد پراکسیداسیون لیپیدی است (۱۵).

نتایج حاکی از آن است که تیمار ۱۵ میکرومولار کوئرستین لودشده در NLC باعث بهبود معنی‌دار جنبایی اسپرم در مقایسه با تیمار کنترل می‌شود. گیب و همکاران (۱۲) نشان دادند که افزودن ۱۵ میلی‌مول کوئرستین به اسپرم اسب، جنبایی کل اسپرم‌ها را پس از یخ‌گشایی افزایش داد. همچنین، باعث افزایش شمار اسپرم‌های پیوندیافته با اووسیت نسبت به گروه کنترل شد. اما، اثر معنی‌داری بر یکپارچگی

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-09-14]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1401.13.36.12.0]
[DOI: 10.52547/rap.13.36.104]

آکروزوم و زنده‌مانی اسپرم نداشت (۱۲). سیلویا و همکاران (۲۸) نشان دادند که افزودن ۵ تا ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کوئرستین به رقیق‌کننده تریس گلیسرول–زرده تخم‌مرغ پتانسیل غشای میتوکندری اسپرم قوچ را بهبود بخشید و سبب افزایش یکپارچگی آکروزوم و جنبایی اسپرم شد. از علل ساختاری خواص آنتی‌اکسیدانی کوئرستین می‌توان به هیدروکسیل موقعیت ۳ در حلقه C، باند دوگانه بین کربن ۲ و ۳ در حلقه C، گروه کربونیل C4 در حلقه C و الگوی هیدروکسیلاسیون آن اشاره کرد. همچنین وجود کربونیل C4 و گروه هیدروکسیل C5 یا C3 با یون‌های آهن کلاته شده و خاصیت جاروب کردن رادیکال‌های آزاد را بدست می‌آورد (۲۶). در تأیید مطالعه حاضر، خاکی و همکاران (۱۴) گزارش کردند کوئرستین با حفظ سلامت اسپرم و عملکرد تولیدمثلی در موش‌های صحرایی، جنبایی و درصد اسپرم‌های زنده را به‌طور قابل‌توجهی افزایش داد (۱۴).

تیمارهای ۱۵ میکرومولار کوئرستین لودشده در NLC باعث بهبود معنی‌دار یکپارچگی غشا اسپرم در مقایسه با تیمار کنترل می‌شوند. نتایج ما گویای آن است که یکپارچگی غشا، ارتباط مثبتی با کیفیت اسپرم و جنبایی آن دارد. به‌طوری‌که با کاهش یکپارچگی، کیفیت اسپرم نیز کاهش می‌یابد. ناس آردن و همکاران نشان دادند که درصد اسپرم‌های متحرک در قوچ طی دوره ۳/۵ ساعت انکوباسیون به‌شدت کاهش می‌یابد. اما در حضور کوئرستین درصد اسپرم‌های متحرک در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت، همچنین سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و مانع آسیب به چربی غشا اسپرم شد (۶). ضریبی و همکاران (۳۰) نشان دادند افزودن ۵۰ میکروگرم کوئرستین سبب کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود تحرک و زنده‌ماندن اسپرم انسان پس از انجماد می‌شود (۳۰). در زمان ۲۴ ساعت نگهداری در دمای $^{\circ}C$ ۴، ۱۵ میکرومولار کوئرستین لودشده در NLC باعث کاهش معنی‌دار میزان MDA اسپرم در مقایسه با گروه کنترل شد. بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی کوئرستین را می‌توان بدلیل وجود ترکیبات فنلی بسیار قوی در آن نسبت داد. کوئرستین سبب جلوگیری از تولید رادیکال‌های سوپراکسید و پراکسی لیپید شده و با کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا موجب کاهش آثار مخرب آنها بر ساختار اسپرم پستانداران می‌شود (۵). کوئرستین در غلظت‌های بالا با کاهش فعالیت آنزیم Ca^{2+} ATPase، آنزیم کلیدی درگیر در تنظیم جنبایی اسپرم، و بستن کانال‌های کلسیمی در غشاها سبب تجمع کلسیم در سلول و افزایش تولید ROS می‌شود و در نهایت جنبایی و زنده‌مانی اسپرم را کاهش می‌دهد (۵). اگرچه ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی کوئرستین به‌طور کامل اثبات شده است اما اثر منفی آن در غلظت‌های بالا در نتیجه تولید زیاد رادیکال‌های سوپراکسید و هیدروژن‌پروکساید است که سبب آسیب‌های غشایی و کاهش کنش‌های ویژه اسپرم می‌شود (۲۵). از سوی دیگر، احتمال دارد اثر زیان‌آور کوئرستین در غلظت‌های بالا ناشی از خاصیت پرواکسیدانت باشد. از سوی دیگر، ویژگی پروکسیدانت کوئرستین به غلظت استفاده شده از آن بستگی دارد (۱۰). افزون بر این، واکنش پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش تولید ROS بوسیله برهم‌کنش با لیپیدهای غشا، پروتئین‌های آن و DNA اسپرم می‌تواند سبب تغییر در سیالیت غشای اسپرم، کاهش ثبات غشا و کاهش جنبایی و زنده‌مانی اسپرم شود (۲۵). از سویی، در یک تحقیق نشان داده شد که غلظت‌های کمتر از ۵۰۰ میکرومولار کوئرستین سبب افزایش درصد اسپرم‌های زنده و نیز کاهش تولید مالون‌دی‌آلدئید و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدهای غشای اسپرم بز مرخز شد. از سوی دیگر، آن‌ها نشان دادند کوئرستین در غلظت‌های ۱۰۰۰ میکرومول و بیشتر، نه‌تنها نقش حفاظتی نداشت بلکه موجب بروز آسیب‌های متعدد در ساختار غشا با افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید و کاهش درصد واکنش‌های آکروزومی و زنده‌مانی اسپرم شد. هم‌سو با نتایج پژوهش حاضر، بن عبدالله و همکاران گزارش کردند ۱۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومول کوئرستین به اسپرم موش صحرایی به‌طور قابل‌توجهی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را بهبود بخشید و اسپرم را در برابر آسیب‌های H_2O_2، محافظت کرد و موجب کاهش تولید مالون‌دی‌آلدئید و درصد آکروزوم‌های نابهنجار شد (۲). مورتی و همکاران (۲۰) گزارش کردند غلظت ۳۰ تا ۲۰۰ میکرومولار کوئرستین، پراکسیداسیون لیپیدها در اسپرم انسان را کاهش داد. از آنجاییکه آنتی‌اکسیدان‌ها با از بین بردن رادیکال‌های آزاد سبب اکسیده شدن خودشان نیز می‌شوند، تولید فرآورده‌های شکست آنها در اثر اکسیداسیون، ممکن است برای اسپرم مخرب باشد (۲۰). اکسیداسیون کوئرستین در برخی از غلظت‌ها، سبب تولید دو ترکیب سمی از جمله ارتوکوینون و ارتوسمی کوینون می‌شود که اثرهای پرواکسیدانت آن‌ها سبب ایجاد آسیب‌های سلولی می‌شوند (۱۳). به‌نظر می‌رسد تولید زیاد این ترکیب‌ها در رقیق‌کننده‌ی دارای ۲۰ میکرومول کوئرستین دلیل اصلی کاهش ویژگی‌های اسپرم در فرایند سردسازی شده باشد.

در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت نگهداری در دمای ۴ درجه، ۱۵ میکرومولار کوئرستین لودشده در NLC باعث افزایش معنی‌دار میزان زنده‌مانی اسپرم اسپرم در مقایسه با گروه کنترل شد. یافته‌های یک پژوهش نشان داد که افزودن ۱۰ و ۲۰ میکرومول کوئرستین به‌تنهایی، سبب بهبود زنده‌مانی اسپرم نسبت به گروه شاهد شدند، اما اثر آنها معنی‌دار نبود. مک نئون و ریچاردسون گزارش کردند کوئرستین به‌طور کامل، سبب مهار پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش زنده‌مانی اسپرم اسب شد (۱۶). فزون بر این، ناس آردن و بریتبارت گزارش کردند مکمل‌سازی اسپرم تازه قوچ با کوئرستین، زنده‌مانی اسپرم را بهبود بخشید (۲۴). مخالف با نتایج مطالع حاضر، کوردوبا و همکاران گزارش کردند که کوئرستین اثر معنی‌داری بر زنده‌مانی اسپرم یخ‌گشایی شده‌ی گاو نداشت (۷). همچنین مخالف با نتایج پژوهش حاضر، سیلوا و همکاران گزارش کردند افزودن ۲۰ میکرومول کوئرستین در رقیق‌کننده، فعالیت میتوکندری و زنده‌مانی اسپرم قوچ را به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد (۲۸). مخالف با پژوهش حاضر گیب و همکاران گزارش کردند افزودن ۰/۱۵ میکرومول کوئرستین به اسپرم اسب، اثر معنی‌داری بر زنده‌مانی اسپرم نداشت. این فرضیه وجود دارد که کوئرستین

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-09-14]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1401.13.36.12.0]
[DOI: 10.52547/rap.13.36.104]

می‌تواند با پیوند به سطح غشای اسپرم، سبب حفظ یا افزایش تراوایی غشا به آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز شود و با افزایش توان دفاعی سلول در برابر رادیکال‌های آزاد موجب حفظ جنبایی اسپرم و کاهش پراکسیداسیون اندامک‌های اسپرم و کاهش میزان‌مالون‌دی آلدئید منی و در نهایت، کاهش آسیب به اسپرم شود (۱۹).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان‌دهنده آن است که تیمار ۱۵ میکرومولار کوئرستین لودشده در NLC باعث بهبود بسیاری از پارامترهای مورد ارزیابی می‌شود و بنابراین برای استفاده در رقیق‌کننده اسپرم خروس توصیه می‌گردد.

منابع

1. Amini, M.R., H. Kohram, A. Zare-Shahaneh, M. Zhandi, H. Sharideh and M.M. Nabi. 2015. The effects of different levels of catalase and superoxide dismutase in modified Beltsville extender on rooster post-thawed sperm quality. Cryobiology, 70: 226-32.
2. Ben Abdallah, F., N. Zribi and L. Ammar-Keskes. 2011. Antioxidative potential of Quercetin against hydrogen peroxide induced oxidative stress in spermatozoa in vitro. Andrologia, 43: 261-5.
3. Blokhina, O., E. Virolainen and K.V. Fagerstedt. 2003 .Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Annals of Botany, 91: 179-194.
4. Boots, A.W., G.R.M.M. Haenen and A. Bast. 2008. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. European Journal of Pharmacology, 585: 337-325
5. Breitbart, H., S. Rubinstein and L. Nass-Arden. 1985. The role of calcium and Ca2+-ATPase in maintaining motility in ram spermatozoa. Journal of Biological Chemistry, 260: 11548-11553.
6. Collodel, G., M.G. Federico, M. Geminiani, S. Martini, C. Bonechi, C. Rossi, N. Figura and E. Moretti. 2011. Effect of trans-resveratrol on induced oxidative stress in human sperm and in rat germinal cells. Reprod Toxicol, 31: 239-46.
7. Cordoba, M., L.N. Pintos and M.T. Beconi. 2007. Heparin and quercitin generate differential metabolic pathways that involve aminotransferases and LDH-X dehydrogenase in cryopreserved bovine spermatozoa. Theriogenology, 67: 648-54.
8. Davila, S.G., J.L. Campo, M.G. Gil, C. Castano and J. Santiago-Moreno. 2015. Effect of the presence of hens on roosters sperm variables. Poult Sciense, 94: 1645-9.
9. Donoghue, A.M. and G.J. Wishart. 2000. Storage of poultry semen. Animal Reproduction Science, 62: 213-232.
10. Farombi, E.O., S.O. Abarikwu, A.C. Adesiyan and T.O. Oyejola. 2013. Quercetin exacerbates the effects of subacute treatment of atrazine on reproductive tissue antioxidant defence system, lipid peroxidation and sperm quality in rats. Andrologia, 45: 256-265.
11. Formica, J.V. and W. Regelson. 1995. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. Food and Chemical Toxicology, 33: 1061-1080.
12. Gibb, Z., T.J. Butler, L.H. Morris, W.M. Maxwell and C.G. Grupen. 2013. Quercetin improves the postthaw characteristics of cryopreserved sex-sorted and nonsorted stallion sperm. Theriogenology, 79: 1001-9.
13. Jeong, J.H., J.Y. An, Y.T. Kwon, J.G. Rhee and Y.J. Lee. 2009. Effects of low dose quercetin: Cancer cell-specific inhibition of cell cycle progression. Journal of Cellular Biochemistry, 106: 73-82.
14. Khaki, A., F. Fathiazad, M. Nouri, A. Khaki, N.A. Maleki, H.J. Khamnei and P. Ahmadi. 2010. Beneficial effects of quercetin on sperm parameters in streptozotocin-induced diabetic male rats. Phytotherapy Research, 24: 1285-1291.
15. Kothari, S., A. Thompson, A. Agarwal and S.S. du Plessis. 2010. Free radicals: Their beneficial and detrimental effects on sperm function. Indian Journal of Experimental Biology, 48: 425-35.
16. McNiven, M.A. and G.F. Richardson. 2002. Chilled storage of stallion semen using perfluorochemicals and antioxidants. Cell Preservation Technology, 1: 165-174.
17. Mehdipour, M., H. Daghigh Kia, G. Moghaddam and H. Hamishehkar. 2018. Effect of egg yolk plasma and soybean lecithin on rooster frozen-thawed sperm quality and fertility. Theriogenology, 116: 89-94.
18. Mehdipour, M., H.D. Kia, M. Nazari and A. Najafi. 2017. Effect of lecithin nanoliposome or soybean lecithin supplemented by pomegranate extract on post-thaw flow cytometric, microscopic and oxidative parameters in ram semen. Cryobiology, 78: 34-40.
19. Mieusset, R. 2011. Malformations urogénitales: rapport de l'Institut de veille sanitaire sur les cryptorchidies et hypospadias opérés en France chez les garçons de moins de sept ans. Basic Clin Androl, 21: 167.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-09-14]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1401.13.36.12.0]
[DOI: 10.52547/rap.13.36.104]

20. Moretti, E., L. Mazzi, G. Terzuoli, C. Bonechi, F. Iacoponi, S. Martini, C. Rossi and G. Collodel. 2012. Effect of quercetin, rutin, naringenin and epicatechin on lipid peroxidation induced in human sperm. Reproductive Toxicology, 34: 651-657.
21. Najafi, A., H.D. Kia, M. Mehdipour, H. Hamishehkar and M. Álvarez-Rodríguez. 2020. Effect of quercetin loaded liposomes or nanostructured lipid carrier (NLC) on post-thawed sperm quality and fertility of rooster sperm. Theriogenology, 152: 122-128.
22. Najafi, A., H.D. Kia, H. Mohammadi, M.H. Najafi, Z. Zanganeh, M. Sharafi, F. Martinez-Pastor and H. Adeldust. 2014. Different concentrations of cysteamine and ergothioneine improve microscopic and oxidative parameters in ram semen frozen with a soybean lecithin extender. Cryobiology, 69: 68-73.
23. Najafi, A., H. Daghigh Kia, M. Mehdipour, M. Shamsollahi and D.J. Miller. 2019. Does fennel extract ameliorate oxidative stress frozen-thawed ram sperm? Cryobiology, 87: 47-51.
24. Nass-Arden, L. and H. Breitbart. 1990. Modulation of mammalian sperm motility by quercetin. Molecular Reproduction and Development, 25: 369-373.
25. Noiles, E.E., K.A. Thompson and B.T. Storey. 1997. Water permeability, Lp, of the mouse sperm plasma membrane and its activation energy are strongly dependent on interaction of the plasma membrane with the sperm cytoskeleton. Cryobiology, 35: 79-92.
26. Russo, M., C. Spagnuolo, I. Tedesco, S. Bilotto and G.L. Russo. 2012. The flavonoid quercetin in disease prevention and therapy: facts and fancies. Biochemical Pharmacology, 83: 6-15.
27. Safa, S., G. Moghaddam, R.J. Jozani, H.D. Kia and H. Janmohammadi. 2016. Effect of vitamin E and selenium nanoparticles on post-thaw variables and oxidative status of rooster semen. Anim Reprod Science, 174: 100-106.
28. Silva, E.C., J.F. Cajueiro, S.V. Silva, P.C. Soares and M.M. Guerra. 2012. Effect of antioxidants resveratrol and quercetin on in vitro evaluation of frozen ram sperm. Theriogenology, 77: 1722-6.
29. Surai, P., I. Kostjuk, G. Wishart, A. Macpherson, B. Speake, R. Noble, I. Ionov and E. Kutz. 1998. Effect of vitamin E and selenium supplementation of cockerel diets on glutathione peroxidase activity and lipid peroxidation susceptibility in sperm, testes, and liver. Biological trace element research, 64: 119-132.
30. Zribi, N., N.F. Chakroun, F.B. Abdallah, H. Elleuch, A. Sellami, J. Gargouri, T. Rebai, F. Fakhfakh and L.A. Keskes. 2012. Effect of freezing-thawing process and quercetin on human sperm survival and DNA integrity. Cryobiology, 65: 326-331.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-09-14]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1401.13.36.12.0]
[DOI: 10.52547/rap.13.36.104]

Improving the Quality of Rooster Sperm During Storage at 4 °C by Adding Quercetin in the form of Nano-Liposomes and NLC in a Diluting Medium

Abouzar Najafi[1], Hossein Daghigh Kia[2], Mahdieh Mehdipour[2] and Hossein Mohammadi[3]

1- Department of Animal and Poultry Science, College of Aburaihan, University of Tehran, Tehran, Iran,
(Corresponding Author: abozar.najafi@ut.ac.ir)
2- Department of Animal Science, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
3- Department of Animal Science, College of Agriculture, University of Arak, Arak, Iran
Received: 3 October, 2021 Accepted: 14 November, 2021

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-09-14]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1401.13.36.12.0]
[DOI: 10.52547/rap.13.36.104]

Extended Abstract

Introduction and Objective: The low fertility rate of frozen sperm of poultry compared to other species is a serious challenge for artificial insemination in commercial flocks. This challenge may be related to some physiological characteristics of poultry sperm. On the other hand, osmotic, chemical and mechanical stresses during cooling processes are the most important reasons that cause structural, biochemical and functional changes in sperm, which results in a series of cascade phenomena that will lead to a decrease in sperm fertility. Quercetin is a bioactive compound with a plant origin, which has a polyphenolic chemical structure and has antioxidant properties. This composition, as an important flavonoid and a strong antioxidant, eliminates free radicals and reduces oxidative stress in chicken spermatogonia. The purpose of this study is to use quercetin in nano form in the diluent of rooster sperm during storage at 4 degrees.

Material and Methods: Immediately after collecting semen from roosters, initial evaluations were done. Semen collected from all 15 roosters were mixed together and added to the dilution medium in order to eliminate individual effects. Different concentrations of quercetin (10, 15 and 20 μM) in three forms (unprotected and inside liposomal and NLC structures) added to base diluent composition. Then the diluted semen samples were gradually cooled at 4°C for 3 hours. Then, at time zero (immediately after the samples reach the temperature of 4 °C), 24 and 48, the motility parameters, membrane integrity, lipid peroxidation, the percentage of abnormal sperms and the percentage of viability of the samples were evaluated.

Results: The results indicated that the experimental treatments did not have a significant effect on the evaluated parameters at zero time. During 24 hours of storage at 4 degrees, 15 μM of quercetin loaded in NLC significantly improved the parameters of sperm total motility, progressive motility, viability and integrity of sperm membrane compared to the control group. During 48 hours of storage at 4 degrees, the treatment of 15 μM quercetin loaded in NLC caused a significant improvement in the parameters of sperm total motility, progressive motility, viability and integrity of sperm membrane compared to the control group. Also, the results showed that the experimental treatments did not have a significant effect on the abnormality percentage of rooster sperm during storage at 4 degrees in three times of 0, 24 and 48 hours. During 24 and 48 hours of storage at 4 degrees, the treatment of 15 μM quercetin loaded in NLC caused a significant decrease in sperm MDA compared to the control group.

Conclusion: The results of this experiment show that the treatment of 15 μM quercetin loaded in NLC improves many evaluated parameters and therefore it is recommended for use in rooster sperm diluent.

Keywords: Antioxidant, Nano, Rooster, Sperm