

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



بسمه تعالی

دانشگاه لرستان

دانشکده کشاورزی

عنوان پایان نامه:

بررسی مقایسه ای اثر آنتی اکسیدان های اولئوروپئین، ویتامین C و ویتامین E بر روی منی سرد شده گاو

نگارنده:

شهین مظاهری

اساتید راهنما:

دکتر علی کیانی

دکتر آرش خردمند

استاد مشاور:

دکتر مسعود علیرضایی

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته مهندسی علوم دامی (فیزیولوژی دام)

۱۳۹۳

همه ی امتیازات این پایان نامه به دانشگاه لرستان تعلق دارد. در صورت استفاده از تمام یا بخشی از مطالب در مجلات، کنفرانس یا سخنرانی ها، باید نام دانشگاه لرستان (یا استاد یا اساتید راهنمای پایان نامه) و نام دانشجو با ذکر نام و ضمن کسب مجوز کتبی از دفتر تحصیلات تکمیلی دانشگاه ثبت شود. در غیر این صورت مورد پیگرد قانونی قرار خواهد گرفت.

چکیده

غشای سلول اسپرم گاو حاوی نسبت بالایی از اسیدهای چرب غیر اشباع است به همین دلیل مستعد تولید رادیکال های آزاد می باشد. از آنجائیکه رادیکال های آزاد اثرات مخربی بر تحرک و باروری اسپرم دارند، استفاده از ترکیبات آنتی اکسیدان در نگهداری اسپرم ضروری است. برگ زیتون غنی از ترکیبات فنلی و اولئوروپئین است که ویژگی های آنتی اکسیدانی دارند. هدف این مطالعه مقایسه اثر آنتی اکسیدانی عصاره برگ زیتون با ویتامین های C و E در اسپرم سرد شده گاو می باشد. در این مطالعه، اسپرم از قسمت دم اپیدیدیم بیضه ده راس گاو نر نژاد هولشتاین جمع آوری شد و با افزودن رقیق کننده تخم مرغ و سترات سدیم حاوی عصاره برگ زیتون و یا ویتامین های E و C رقیق شد. عصاره برگ زیتون در سه غلظت ۰/۵، ۱ و ۲ میلی گرم بر میلی لیتر استفاده شد. به تیمار شاهد هیچ ماده آنتی اکسیدانی اضافه نشد در حالیکه تیمارهای ویتامین های E و C هرکدام حاوی ۲ میلی گرم بر میلی لیتر از این ویتامین ها بود. میزان تحرک اسپرم و سلامت غشای اسپرم و غلظت مواد واکنش دهنده با اسید تیوباربیتیک (TBARS) به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در زمان های مختلف ۰، ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت بررسی شد. نتایج نشان داد که عصاره برگ زیتون در سه غلظت استفاده شده تحرک اسپرم را به طور معنی داری کاهش داد ($P < 0.05$). در حالیکه ویتامین های E و C تغییر معنی داری در تحرک اسپرم در مقایسه با گروه شاهد ایجاد نکردند ($P > 0.05$). سلامت غشای اسپرم در ساعت های ۰، ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت در تیمارهای حاوی عصاره برگ زیتون و ویتامین C تفاوت معنی داری با گروه شاهد نداشت ($P > 0.05$) در مقابل ویتامین E سبب بهبود سلامت غشا در مقایسه با سایر تیمارها شد ($P < 0.05$). غلظت مواد واکنش دهنده با اسید تیوباربیتوریک در تیمار حاوی ۲ میلی گرم در میلی لیتر عصاره برگ زیتون ۶ و ۲۴ ساعت پس از نگهداری، به طور معنی داری کمتر از گروه شاهد و سایر تیمارها بود ($P < 0.05$). این پژوهش نشان داد که عصاره برگ زیتون حاوی اولئوروپئین اثر منفی روی تحرک اسپرم گاو داشت. هرچند غلظت ۲ میلی گرم بر میلی لیتر این عصاره سبب کاهش غلظت TBARS در اسپرم گاو شد ولی تأثیر معنی داری بر سلامت غشای اسپرم نداشت.

کلید واژه ها: آزمون HOS، اولئوروپئین، پراکسیداسیون لیپیدی، مواد واکنش دهنده با اسید

تیوباربیتوریک

شکر و قدردانی

بر خود لازم می‌دانم که:

از زحمات و راهنمایی‌های اساتید گرامی که تقدیر خود، جناب آقای دکتر علی کیانی، دکتر آرش خردمند و دکتر مسعود علیرضایی که با صبر و حوصله فراوان در تمامی مراحل کار راهنما و مشوق اینجانب در پیشبرد این پایان نامه بودند و زحمات بسیاری را متحمل شدند قدردانی و شکر نمایم.

به رسم ادب از استاد داور گرامی جناب آقای دکتر آرش آذفر که زحمت داوری این پروژه را به عهده گرفتند تقدیر و شکر نمایم.

از مسئول محترم آزمایشگاه میکروبی شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه لرستان جناب آقای مهندس حسن نیاب آقایی به خاطر همکاری شایسته ایشان در انجام مراحل آزمایش تقدیر و شکر نمایم.

از مدیریت محترم مرکز تحقیقاتی علوم پزشکی رازی، به خاطر همکاری شایسته این مرکز در انجام مراحل آزمایش شکر نمایم.

از همسر عزیزم که همواره مشوق من در راه تحصیل علم بوده و در این راه از بیچ تلاشی فروگذار نکرده قدردانی و شکر کنم.

از دوستان عزیز و ارجمندم سرکار خانم مهندس مریم میردیکوندی، مهندس محمد جواد حدادی، مهندس مرگانه کیان فرو مهندس زینب برومند نیاب خاطر یاری‌هایشان و محبت‌هایشان شکر ویژه دارم.

شبنم مطهری

فهرست مطالب

عنوان

چکیده

فصل اول: مقدمه و اهداف

۱-۱- مقدمه ۲

۲-۱- اهداف پژوهش ۷

فصل دوم: بررسی منابع

۲-۱- اهمیت باروری گاو نر و سلامت اسپرم ۹

۲-۲- مروری بر دستگاه تولید مثل نر ۹

۲-۳- فیزیولوژی منی ۹

۲-۳-۱- مایع منی و اجزای آن ۹

۲-۴- متابولیسم انرژی در اسپرم و عوامل موثر بر آن ۱۱

۲-۴-۱- دما ۱۲

۲-۴-۲- PH ۱۳

۲-۴-۳- فشار اسمزی ۱۳

۲-۴-۴- غلظت اسپرم ۱۳

۲-۴-۵- هورمون ها ۱۴

۲-۴-۶- گازها ۱۴

- ۲-۴-۷-نور.....۱۴
- ۲-۴-۸-آنتی بیوتیک.....۱۴
- ۲-۵-اهمیت مایع منی در باروری اسپرم.....۱۵
- ۲-۶-مرفولوژی و ترکیب شیمیایی اسپرم.....۱۵
- ۲-۶-۱-سر اسپرم.....۱۵
- ۲-۶-۲-فلاژلوم اسپرم.....۱۶
- ۲-۷-ترکیب شیمیایی اسپرم.....۱۶
- ۲-۸-غشای پلاسمایی اسپرم، ترکیبات و عوامل موثر بر آن.....۱۷
- ۲-۹-تکامل اسپرم در اپیدیدیم و تغییرات غشایی آن.....۱۸
- ۲-۱۰-غشای پلاسمایی اسپرم و استرس های محیطی.....۱۹
- ۲-۱۱-اسپرم استخراج شده از دم اپیدیدیم.....۲۲
- ۲-۱۲-رادیکال های آزاد.....۲۲
- ۲-۱۲-۱-ROS(Reactive Oxygen Species).....۲۳
- ۲-۱۲-۲-تأثیرات مثبت و منفی ROS.....۲۳
- ۲-۱۲-۲-۱-تأثیرات مثبت.....۲۳
- ۲-۱۲-۲-۲-تأثیرات منفی.....۲۳
- ۲-۱۳-پراکسیداسیون لیپیدی (LPO).....۲۴
- ۲-۱۴-آنتی اکسیدان ها و جلوگیری از استرس اکسیداتیو.....۲۴

۲-۱۴-۱-آنتی اکسیدان های آنزیمی.....۲۵

۲-۱۴-۲-آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی.....۲۵

۲-۱۴-۳-آنتی اکسیدان های گیاهی.....۲۷

۲-۱۵-برگ درخت زیتون.....۲۸

فصل سوم: مواد و روشها

۳-۱-مواد و روش ها.....۳۳

۳-۱-۱-زمان و مکان اجرای طرح.....۳۳

۳-۱-۲-طرح آزمایشی.....۳۳

۳-۱-۳-مواد و وسایل آزمایشگاهی.....۳۳

۳-۲-تهیه رقیق کننده ها برای گروه شاهد و تیمارها.....۳۴

۳-۳-استخراج عصاره برگ زیتون.....۳۴

۳-۴-استخراج اسپرم از دم اپیدیدیم.....۳۵

۳-۵-ارزیابی تحرک اسپرم.....۳۵

۳-۶-ارزیابی سلامت غشای اسپرم.....۳۶

۳-۷-اندازه گیری غلظت TBARS.....۳۶

۳-۸-مدل آماری آزمایش.....۳۸

نتایج و بحث

۴-۱-صفات مورد ارزیابی.....۴۰

- ۴-۲- تأثیر سطوح مختلف عصاره برگ زیتون، ویتامین های E و C بر تحرک اسپرم..... ۴۰
- ۴-۲-۱- تأثیر غلظت تیمارها بر تحرک اسپرم..... ۴۰
- ۴-۲-۲- درصد تحرک اسپرم در زمان های مختلف..... ۴۱
- ۴-۳- تأثیر سطوح مختلف عصاره برگ زیتون، ویتامین های E و C بر سلامت غشای اسپرم..... ۴۲
- ۴-۳-۱- تأثیر غلظت تیمارها بر سلامت غشای اسپرم..... ۴۲
- ۴-۳-۲- درصد سلامت غشای اسپرم در زمان های مختلف..... ۴۳
- ۴-۴- تأثیر سطوح مختلف عصاره برگ زیتون، ویتامین های E و C بر پراکسیداسیون لیپیدی غشای اسپرم (محتوای TBARS)..... ۴۴
- ۴-۴-۱- تأثیر غلظت تیمارها بر محتوای TBARS..... ۴۴
- ۴-۴-۲- غلظت TBARS در زمان های مختلف..... ۴۵
- ۴-۵- بحث..... ۴۶
- ۴-۶- پیشنهادات..... ۵۰

فصل پنجم: منابع

- منابع..... ۵۲

فصل اول

مقدمه

۱-۱: مقدمه

خداوند حکیم، هستی را به گونه ای مدبرانه خلق فرموده که همه چیز با نظم خاصی در جای خود قرار گرفته است. یکتای بی همتا برنامه عالم را به نحوی مدون فرموده که متضمن بقای حیات باشد. وقتی صحبت از حیات می شود بی درنگ ذهن ما متوجه موجودات زنده می شود. ویژگی منحصر به فرد همه موجودات زنده اعم از گیاهان، موجودات تک سلولی و موجودات عالی و پستانداران قابلیت تولید مثل و به وجود آوردن موجودی مشابه خود است که تضمین کننده بقای نسل آن موجود زنده و در نهایت بقای حیات می باشد.

فرایند تولید مثل در موجودات زنده مختلف، متفاوت است و می توان گفت در پستانداران کامل ترین شکل روند تولید مثل دیده می شود که به صورت جنسی است. در پستانداران چون تولید مثل جنسی است لذا جنس نر و ماده از همدیگر جدا هستند و برای انجام فرایند تولید مثل نیاز به جفت گیری می باشد که طی آن سلول جنسی نر (اسپرم) وارد دستگاه تولید مثلی حیوان ماده شده و پس از طی کردن مجاری تولید مثلی، به سلول جنسی ماده (تخمک) رسیده و طی فرایند لقاح با تخمک در آمیخته و سلول تخم (زایگوت) را به وجود می آورند و در ادامه، فرایند تکوین جنین در داخل رحم ادامه یافته و تکمیل می شود. در نهایت در زمان معین و طی فرایند زایمان، نوزاد متولد شده و به این ترتیب دو حیوان نر و ماده یک حیوان مشابه خود را تولید می کنند که این حیوان می تواند نر، ماده و یا در بعضی از موارد به صورت دو یا چند قلو شامل هر دو جنس نر و ماده باشد.

امروزه به دلیل افزایش جمعیت و نیاز مبرم به مواد پروتئینی، صنعتی شدن پرورش دام و طیور به ویژه پرورش گاو افزایش چشمگیری یافته است. به دنبال این امر و به دلیل اینکه جمعیت گاو های ننگه داری شده در مزارع پرورشی زیاد است و امکان انتقال بیماری های مقاربتی از طریق جفت گیری وجود دارد. لذا انجام جفت گیری طبیعی امری زمان بر، پرهزینه و به نوعی غیر ممکن است. از طرفی اکثر واحد های پرورشی ترجیح می دهند. که از گاوهای نر اصلاح نژاد شده از لحاظ صفتی خاص (مثل صفت تولید شیر) برای تولید گوساله های نسل بعد استفاده کنند و این دسته از گاوها معمولاً در مراکز اصلاح

نژاد نگه داری شده و بعضاً این مراکز در خارج از کشور یا حداقل در فواصل دور قرار دارند و لذا حمل و نقل این گاو های اصلاح نژاد شده به دلیل مشکلات بهداشتی و همچنین صرف هزینه، زمان و نیروی انسانی زیاد، مقرون به صرفه نبوده و به نوعی غیر ممکن می باشد. بنابراین برای دست یابی به این مهم تکنیک تلقیح مصنوعی حدود ۶۰ سال قبل ابداع گردید.

لازمه این کار جمع آوری اسپرم از حیوانات نر و به دنبال آن ذخیره و نگه داری اسپرم ها در شرایط دمایی و تغذیه ای مناسب می باشد، به گونه ای که اسپرم در زمان تلقیح ویژگی های خود را مشابه زمانی که از بدن حیوان نر جمع آوری شده است، حفظ کرده باشد و یا حداقل تغییرات اندکی را متحمل شده باشد. عوامل زیادی بر فعالیت و سلامت اسپرم تاثیر گذار هستند، لذا از زمان استفاده از تکنیک تلقیح مصنوعی تلاش های فراوانی در جهت حفظ خصوصیات اسپرم ها انجام شده است.

امروزه برای نگه داری اسپرم ها برای مدت زمان طولانی، مایع منی جمع آوری شده از حیوان نر ابتدا توسط رقیق کننده های خاصی رقیق کرده و در نهایت درون ازت مایع در دمای ۱۹۶ درجه سانتی گراد زیر صفر ذخیره و نگه داری می کنند. البته در این نوع ذخیره سازی بایستی از رقیق کننده های خاصی استفاده نمود تا سلول بتواند سلامت خود را به طور کامل حفظ نماید. رقیق کننده هایی که امروزه متداول اند، عموماً بر پایه شیر و زرده تخم مرغ بوده و یا از رقیق کننده های تجاری از قبیل بایوکسل^۱ استفاده می شود. به هر حال با انجام همه این اقدامات، در طی فرایند انجماد منی در ازت مایع به طور قابل توجهی آسیب پذیر هستند. یکی از مهمترین آسیب هایی که متوجه اسپرم ها می باشد، تشکیل کریستال های یخ در داخل آن است که سبب پاره شدن غشا و در نهایت از هم پاشیدن آن می شود.

امروزه اقدامات زیادی جهت بهبود نتایج حاصل از انجماد و نگه داری اسپرم ها، تقلیل آسیب های وارده به اسپرم، کاهش تعداد اسپرم های کم تحرک و مرده و در نهایت بالا بردن میزان باروری اسپرم ها انجام می شود. این اقدامات با بهبود شرایط تغذیه ای، ماهیت شیمیایی رقیق کننده ها و یا افزودن موادی که سبب افزایش کیفیت رقیق کننده ها می شوند، انجام می گیرد.

1-Bioxcell

از جمله موادی که سبب افزایش کیفیت رقیق کننده ها میشود، افزودن آنتی اکسیدان ها هستند. اخیراً کاربرد آنتی اکسیدان های طبیعی مشتق از منابع گیاهی توجه زیادی را به خود جلب نموده و در پیش گیری از ابتلا به تعداد زیادی از بیماریها حائز اهمیت باشند. تعدادی از ترکیبات با خواص آنتی اکسیدانی به عنوان فراورده ثانویه توسط گیاهان ساخته می شود، و از آن جمله می توان به ترکیبات فنولی اشاره نمود. و یکی از محصولات غنی از ترکیبات فنولی عصاره برگ زیتون است. اولئوروپئین^۲ فراوان ترین نوع از ترکیبات فنولی در برگ زیتون است. و اثرات درمانی به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی به خوبی شناخته شده است (هاشمی و رئیسی ۱۳۸۷).

زیتون درختچه ای است از گیاهان خانواده Oleaceae با برگ های سبز دائمی که در شرایط مساعد می تواند بیش از هزار سال عمر کند. نام علمی این گیاه *Olea Europaea* است. قسمت مورد استفاده این درخت برگ و میوه آن است که برگ های آن دارای خواص دارویی فراوانی است. عمده ترین ترکیب فعال موجود در برگ

Oleuropein است. ترکیب شیمیایی برگ درخت زیتون شامل مواد قندی، مواد رزینی، موم، کلروفیل، تانن، ساپونین ها، اسید گالیک، مانیت و سه نوع الکل به نام های اولئاس ترول (Oleastrol)، اولئاس ترانول (Oleastranol) و همواولئاس ترانول (Hemo-Oleastranol) می باشد (زرگری ۱۳۶۹). همچنین ترکیباتی نظیر اولئوروپئین (Oleuropein)، هیدروکسی تیروزول (Hydroxytyrosol) و اولروپئوزید (Oleuropeoside) در برگ های زیتون شناسایی شده اند (Ranalli et al., 2006; Gonzalez et al., 1992).

عصاره برگ زیتون دارای ۱۰/۶ درصد خاصیت آنتی رادیکالی است (رفیعی و همکاران ۱۳۹۱). خاصیت آنتی رادیکالی ترکیبات گیاهی امروزه به دلیل مورد استفاده قرار گرفتن این مواد در استفاده از آنها به منظور آنتی اکسیدان گردیده است. خاصیت آنتی رادیکالی بیانگر غلظت مورد نیاز از آنتی اکسیدان مورد نظر برای خنثی کردن رادیکال های DPPH[•] است. در واقع هرچه این درصد پایین تر باشد خاصیت آنتی رادیکالی آنتی اکسیدان مورد نظر بالاتر است. همچنین میزان ترکیبات فنلی عصاره برگ زیتون ۱۹۶/۶۰ میلی گرم بر گرم عصاره است (رفیعی و همکاران ۱۳۹۱). ترکیبات فنلی یکی از بهترین

²-Oleuropein

منابع آنتی اکسیدانی طبیعی هستند که در گیاهانی مانند تیره نعنائیان و تیره کاسنی وجود دارند (ضیایی و همکاران ۱۳۹۳). این ترکیبات متابولیت های ثانویه ای از فنیل آلانین و تیروزین اند و عمدتاً دارای یک حلقه آروماتیک با یک یا چند گروه هیدروکسیل هستند (Sefidkon and Ahmadi 2000). ترکیبات فنلی که در عصاره برگ زیتون وجود دارند شامل اولئوروپئین (356 mg/g)، تیروزول ($3/73 \text{ mg/g}$)، هیدروکسی تیروزول ($4/89 \text{ mg/g}$) و کافئیک اسید ($49/41 \text{ mg/g}$) است (Esmaeili-Mahani and et al., 2010). در واقع اولئوروپئین مهمترین ترکیب فنلی برگ زیتون است. یکی از ترکیبات مهم حاصل از هیدرولیز اولئوروپئین، هیدروکسی تیروزین است که ظرفیت جذب رادیکال آزاد اکسیژن در آن ۱۰ برابر چای سبز است و یک ماده با ویژگیهای آنتی اکسیدانی قوی است. اخیراً مشخص شده که میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره برگ زیتون تقریباً ۲ برابر چای سبز و ۴ برابر بیشتر از ویتامین C را در خود دارد (Guinda 2006). در واقع اولئوروپئین قادر است تا یون های فلزی از جمله Fe^{2+} و Cu^{2+} که واکنش تولید رادیکال ها را کاتالیز میکنند، به دام ببندد (Andrikopoulos 2002).

برگ زیتون با خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی خود از بروز یا پیشرفت عوارض دیابت جلوگیری می کند (Alhamdani and Al-Azzawiea 2006) و همچنین به عنوان داروی ضد فشار خون، پائین آورنده کلسترول خون، کاهش صدمات پوستی، ضد درد، ترمیم صدمات غضروفی و آهسته کردن پاتوژنز بیماری مفصلی دژنراتیو در انسان استفاده می شود (Karakaya 2009). این عصاره سبب کاهش چربی خون و کاهش آنزیم های کبدی AST و ALT می شود که بیانگر اثر محافظتی بر کبد است و همچنین جهت جلوگیری از بیماریهای سیستم قلبی عروقی استفاده می شود و منافع عمده این عصاره معمولاً روی عروق خونی و سیستم ایمنی می باشد (Eidi et al., 2009; Onderoglu 1999; کمیلی ۱۳۸۷). تمام اثرات ذکر شده حاکی از خاصیت قوی آنتی اکسیدانی این عصاره است.

اطلاعات کمی در ارتباط با خواص آنتی اکسیدانی عصاره برگ درخت زیتون در بهبود خصوصیات سلول اسپرم وجود دارد. اما تاکنون درباره اثرات عصاره برگ زیتون به شکل یک آنتی اکسیدان افزودنی به منی حیوانات جهت حفاظت اسپرم ها در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از سرما صورت نگرفته است. لذا این تحقیق با هدف مقایسه اثرات حفاظتی و آنتی اکسیدانی عصاره برگ زیتون با ویتامین های E

و C، بر تحرک، سلامت غشا و پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلول اسپرم در دمای ۵ درجه سانتیگراد برای مدت صفر، ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از جمع آوری و رقیق سازی اسپرم انجام گرفت.

۱-۲: اهداف پژوهش

در این تحقیق سطوح مختلف عصاره برگ زیتون و ویتامین های E و C با اهداف ذیل به رقیق کننده اسپرم گاوها افزوده شد:

۱- بررسی مقایسه اثرات عصاره برگ زیتون، ویتامین E و ویتامین C بر تحرک اسپرم در زمان های مختلف

۲- بررسی مقایسه اثرات عصاره برگ زیتون، ویتامین E و ویتامین C بر سلامت غشای اسپرم در زمان های مختلف

۳- بررسی مقایسه اثرات عصاره برگ زیتون، ویتامین E و ویتامین C بر غلظت TBARS (به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی) در زمان های مختلف

فصل دوم

بررسی منابع

۱-۲: اهمیت باروری گاو نر و سلامت اسپرم

از گاو نر در جفت گیری طبیعی و به عنوان تولید کننده منی در تلقیح مصنوعی استفاده می شود. در جفت گیری طبیعی یک گاو نر می تواند عهده دار تلقیح ۶۰ گاو ماده و یا بیشتر باشد. در تلقیح مصنوعی میتوان از گاو نر تعداد زیادی واحد منی در هر بار انزال تهیه کرد. بنابراین باروری و ظرفیت تولید مثلی یک گاو نر نقش اصلی در تعیین عملکرد تولید مثلی گاوهای ماده دارد. تاکنون قدرت باروری گاوهای نری که در جفت گیری طبیعی استفاده می شوند، کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است که این امر هزینه های زیادی را در برنامه ریزی های تولید مثلی در گاوداری ها تحمیل می کند(ضمیمه ۱، ۱۳۸۵).

۲-۲: مروری بر دستگاه تولید مثل نر

بخش های اصلی دستگاه تولید مثل نر شامل: طناب بیضه، بیضه، اسکروتوم (کیسه بیضه)، سیستم لوله برون بیضه ای، غدد تناسلی پیوست و آلت تناسلی هستند. بیضه ها عضو تولید کننده اسپرم هستند. در دام، تولید اسپرم در بیضه ها روزانه بین یک تا ۲۴۵ بیلیون است. که نشان دهنده تولید ۳۵ تا ۲۹۰ هزار اسپرم در هر ثانیه است. اسپرم ها در لوله های ظریفی به نام لوله های اسپرم ساز ساخته می شوند و پس از خروج از آن ها، از راه لوله های ریته به لوله برون بیضه ای منتقل می شوند. نخستین بخش از این لوله، لوله های افرنت هستند و پس از آن اسپرم به اپیدیدیم منتقل شده و در بخش انتهایی آن ذخیره می شود. در زمان انزال، اسپرم از راه وازدفرنس به میزراه (مجرای مشترک ادرار و منی) و از منفذ پایانی آلت خارج می شود. اسپرم هنگام عبور از وازدفرنس با ترشحات غدد تناسلی پیوست مخلوط شده و تشکیل منی را میدهد(ضمیمه ۱، ۱۳۸۵).

۳-۲: فیزیولوژی منی

منی از دو بخش سلول های اسپرم (اسپرماتوزوئید) و مایع منی (پلاسمای منی) تشکیل می شود اسپرمها در لوله های اسپرم ساز ساخته می شوند و مایع منی، مخلوطی از ترشحات غدد تناسلی ضمیمه است که در آن مقداری از ترشحات بیضه و اپیدیدیم نیز وجود دارد(ضمیمه ۱، ۱۳۸۵).

۱-۳-۲: مایع منی و اجزای آن

حجم مایع منی در گونه های مختلف متفاوت است. علاوه بر این، تفاوت های نژادی، فردی و فصلی نیز در برخی گونه ها بر حجم ترشحات غدد تناسلی ضمیمه تاثیر می گذارند. با افزایش تعداد انزال یا اسپرم گیری، حجم مایع منی کاهش می یابد. بیشترین حجم مایع منی، پس از استراحت های جنسی طولانی به دست می آید. منشأ مواد شیمیایی مایع منی، سلول های ترشحات بیضه (سرتولی و ریته)، لوله های افرنت، اپیدیدیم و غدد تناسلی ضمیمه می باشند. از ترکیب های شیمیایی مایع بیضه می توان آندروژن ها، استرادیول (در گاو، گوسفند و خوک)، هورمون های پپتیدی (مانند اینهیبین) و پپتید مهار کننده آکروزین را نام برد. آکروزین آنزیمی در اسپرم است که در لقاح اووسیت نقش دارد. اپیدیدیم، منشأ مواد شیمیایی فراوانی است که نقش فیزیولوژیکی بسیاری از آنها ناشناخته است. برخی از آنها می توانند برای تولید انرژی برای اسپرم به کار برده شوند. مانند لاکتات و گلوتامات، هرچند گلوتامات به آهستگی اکسید می شود.

در ترشحات اپیدیدیم، گلوکوز، استات و فروکتوز دیده نمی شود که به نظر می رسد که علت آن مبادله پیوسته این مواد بین خون و اپیدیدیم باشد. گلیسرل فسفریل کولین، سبب افزایش طول عمر اسپرم در اپیدیدیم می شود و همراه با کارنیتین، گلیکوپروتئین ها، گلوتامات و سیالیک اسید در تکامل اسپرم نقش دارد. از طرفی اپیدیدیم، پپتیدی می سازد که به غشای سر اسپرم می چسبد و از ظرفیت پذیر شدن³ زود هنگام اسپرم تا قبل از رسیدن به دستگاه تولید مثل ماده جلوگیری می کند.

غدد تناسلی ضمیمه نیز منشأ مواد شیمیایی گوناگونی هستند که در مایع منی دیده می شوند. غلظت این مواد ثابت نیست و در شرایط گوناگون متفاوت می باشد و عملکرد بسیاری از آنها مشخص نیست. چندین پروتئین که با باروری همبستگی دارند، در مایع منی گاو شناسایی شده اند. توانایی پیوند یافتن اسپرم گاو به هپارین و گلیکوزآمینوگلیکان ها، نشان دهنده توان باروری اسپرم است. این پروتئین ها در مایع منی و نیز روی غشای اسپرم وجود دارند و منشأ آنها غدد و سیکولار است. مطالعات دیگر دو پروتئین را شناسایی کردند که غلظت آنها در منی گاوهای دارای باروری بالا، بیشتر بود. همچنین غلظت دو پروتئین دیگر نیز در مایع منی گاوهای دارای باروری پایین، بیشتر بود. به نظر می رسد که بتوان از این پروتئین ها در ارزیابی باروری گاوهای نر جوان می توان بهره گرفت.

³-Capacitation

سدیم و کلر یون های اساسی در مایع منی هستند و غلظت های کلسیم و منیزیم، کمتر می باشد. غلظت پتاسیم در اسپرم بیش از غلظت آن در مایع منی است. سدیم و پتاسیم از نظر حفظ یکپارچگی غشای اسپرم، اهمیت دارند. یون های غیرآلی، همراه با مولکول های آلی، فشار اسمزی مناسبی را برای اسپرم فراهم می کنند. فشار اسمزی مایع منی، برابر با فشار اسمزی خون است (معادل فشار اسمزی محلول نمک ۰/۹ درصد).

یون بیکربنات تولید شده در غدد و سیکولار، نقش بافری مهمی دارد. بافرهای مایع منی در حدی نیستند که بتوانند pH مایع منی را برای زمان های طولانی ثابت نگه دارند. بنابراین برای نگه داری طولانی مدت اسپرم، باید منی را با محلول هایی که توان بافری بالایی داشته باشند، رقیق کرد چندین ترکیب آلی در مایع منی می توانند مواد انرژی زا برای اسپرم باشند که مهمترین آن ها فروکتوز، سوربیتول و گلیسریل فسفریل کولین هستند.

فرکتوز و سوربیتول در غدد و سیکولار، و گلیسریل فسفریل کولین در اپیدیدیم ساخته می شوند و در دیگر بافت های بدن، مقدار کمی از آن ها یافت می شود. فرکتوز، هم در شرایط هوازی و هم بی هوازی، متابولیسم می شود و انرژی مورد نیاز اسپرم را تامین می کند. سوربیتول و گلیسریل فسفریل کولین فقط می توانند در شرایط هوازی مصرف شوند.

گلیسریل فسفریل کولین در دستگاه تولید مثل ماده توسط آنزیمی تجزیه می شود که کولین را از مولکول جدا می کند و اسپرم، گلیسروفسفات را برای تولید انرژی به کار می برد. متابولیسم بی هوازی فروکتوز، به تولید لاکتیک اسید می انجامد که در مایع منی ذخیره می شود و هنگامی که اسپرم در شرایط هوازی قرار گیرد، می تواند به عنوان منبع انرژی به کار رود (ضمیری، ۱۳۸۵).

۲-۴: متابولیسم انرژی در اسپرم و عوامل موثر بر آن

تداوم تحرک اسپرم نیازمند داشتن منابع کافی از ATP است. مصرف ATP را cAMP تنظیم می کند که اثر مستقیمی نیز بر تحرک اسپرم دارد. اگرچه اسپرم، بسیاری از اندامک های وابسته به فرایندهای متابولیسی را ندارد، اما از نظر متابولیسی فعال است و آنزیم های لازم برای انجام واکنش های چرخه های متابولیسی گوناگون را دارد. آنزیم های متابولیسی اسپرم در میتوکندری هایی هستند که روی اندام حرکتی