اثرات پرتوتابی ایکس بر تحرک و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم گاو هلشتاین

پروین شورنگ[۱]*، مریم رهبر[۲]، مهدی بهگر[۱]، بهنام آرضابک[۳]

۱- پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای (* نویسنده مسئول: pshawrang@aeoi.org.ir)
۲- شرکت نهاده‌های دامی جاهد، کرج، ایران
۳- مرکز نظام ایمنی هسته‌ای کشور، سازمان انرژی اتمی ایران، تهران، ایران

چکیده

به‌منظور تعیین دز مناسب پرتوتابی ایکس برای افزایش تحرک و زنده‌مانی اسپرم گاو، نمونه‌های اسپرم منجمد در داخل ظرف ازت با دزهای صفر، ۰/۳، ۰/۶، ۰/۹ و ۱/۲ گری پرتو ایکس پرتوتابی شد. آنالیز کمی و کیفی اسپرم با استفاده از سیستم CASA انجام شد. مقدار مالون‌دی‌آلدهید منی با استفاده از روش تیوباربیتوریک اسید اندازه‌گیری شد. از تست HOST برای ارزیابی سلامت غشای پلاسمایی اسپرم استفاده شد. داده‌های آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS آنالیز شد. اثر پرتوتابی بر تحرک و زنده‌مانی اسپرم معنی‌دار بود (P< ۰/۰۵). افزایش درصد اسپرم‌های سالم در نمونه‌های پرتوتابی شده با دز ۰/۶ و ۰/۹ گری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). پرتوتابی با دز ۰/۹ گری پرتو ایکس می‌تواند بدون اثرات منفی بر اسپرم و منی، سبب افزایش فعالیت غشای میتوکندری و بهبود تحرک و زنده‌مانی اسپرم بعد از یخ گشایی شود.

واژه‌های کلیدی: پرتوتابی ایکس، تحرک، زنده‌مانی، اسپرم گاو

The effects of x-ray irradiation on motility and plasma membrane integrity of bovine sperm

Parvin Shawrang[1*], Maryam Rahbar[2], Mehdi Behgar[1], Behnam Arezabak[3]

[1]Assisstant professor, Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Atomic Energy Organization of Iran, *Corresponding author: pshawrang@aeoi.org.ir
[2]NDJ Company, Karaj, Iran
[3] Iran Nuclear Regulatory Autority, Atomic Energy Organization of Iran, Tehran, Iran

This This study was done to determine the suitable dose of x-ray irradiation for increasing sperm motility and viability after freezing and thawing and to assess its effects on malondialdehyde concentration and plasma membrane integrity of bovine sperm. Sperm samples in liquid nitrogen were x-ray irradiated at doses of zero, 0.3, 0.6, 0.9, and 1.2 Gy. The sperm quality and quantity parameters were evaluated using CASA system. Malondialdehyde concentration was determined based on thiobarbituric acid method. To evaluate the plasma membrane integrity, HOST test was done. Data were analysied based on completely randomized design by SAS Software. The results showed that irradiation influenced (P<0.05) on motility and viability of sperms. Sperm percentage with plasma membrane integrity was higher in sample irradiated at doses of 0.6 and 0.9 Gy (P>0.05). Based on these results, x-ray irradiation at dose of 0.9 Gy could increase the mitochondrial membrane activity and enhance the motility and viability of sperms after thawing without negative effect on semen and sperm quality.

Key words: X-ray irradiation, Motility, Viability, Bovine sperm.

Email: shawrang@gmail.com

۱. مقدمه

ذخیره بلندمدت اسپرم به روش انجماد یکی از فناوری‌های زیستی در صنعت دام است؛ اما این روش سبب آسیب جدی به اسپرم پس از یخ گشایی می‌شود که می‌تواند منجر به کاهش تحرک و زنده‌مانی، کاهش سلامت آکروزوم و یکپارچگی غشای پلاسمایی و آسیب به DNA شود [۱]. اگرچه از ترکیباتی مثل گلیسرول، برخی اسید آمینه‌ها (گلوتامین، گلایسین، پرولین، آلانین و هیستیدین) برای ایجاد مقاومت اسپرم در دماهای پایین و محافظت آن از شوک سرمایی استفاده می‌شود؛ هنوز کاهش ۲۵ درصدی در قابلیت تحرک اسپرم گاو بعد از یخ‌گشایی مشاهده می‌شود [۲].

پرتو ایکس پرتو پرانرژی و یون‌ساز است. منشأ پرتو ایکس از میدان‌های الکترون اطراف هسته است و به‌وسیله شتاب‌دهنده‌های ذرات، زمانی که الکترون‌ها از یک اوربیتال به اوربیتال دیگر با سطح انرژی پایین حرکت کنند، تولید می‌شود. شتاب‌دهنده‌های الکترون با استفاده از نیروهای الکتریکی الکترون‌های آزاد را تا رسیدن به انرژی‌های زیاد شتاب می‌دهند. برای تعیین مقدار انرژی منتقل‌شده از پرتو ایکس به ماده تحت پرتو، از کمیت دز استفاده می‌شود. واحد دز در سیستم بین‌المللی، گری (Gy) است که معادل جذب یک ژول انرژی در کیلوگرم ماده تحت پرتو (J/Kg) است [۳].

درباره اثرات پرتوتابی روی کیفیت اسپرم حیوانات آزمایشگاهی (موش، رت و همستر) برخی گزارشات منتشر شده است [۴]. این پژوهشگرها حیوانات آزمایشگاهی را در معرض پرتوهای یون‌ساز شامل پرتو گاما و ایکس قرار داده و اثرات آن را بر روی کروموزوم اسپرم و مقدار پراکسیدهای منی دو نژاد مختلف همستر (چینی و طلایی) مورد مطالعه قرار دادند. لوبارت و همکاران [۵] اثرات پرتوتابی لیزر را بر فعالیت میتوکندری و غشای پلاسمایی اسپرم پستانداران مطالعه کردند. پاپلیس و همکاران [۶] اثرات پرتوتابی ایکس را بر آسیب DNA و اثرات آن را بر تولیدمثل مورد مطالعه قرار داد.

هدف مطالعه حاضر تعیین دز مناسب پرتوتابی ایکس و مطالعه اثرات آن بر کیفیت اسپرم جهت افزایش تحرک و زنده‌مانی اسپرم گاو پس از یخ‌گشایی بود.

۲. روش کار

پرتوتابی نمونه‌های اسپرم: تعداد ۲۵ پایوت ۰/۵ میلی‌لیتری حاوی اسپرم منجمد در دمای ۱۹۶- درجه سانتی‌گراد نیتروژن مایع از مرکز فروش اسپرم شرکت نهاده‌های دامی جاهد تهیه و پرتوتابی ایکس در مرکز نظام ایمنی هسته‌ای سازمان انرژی اتمی انجام شد.

با توجه به مطالعات انجام شده پرتوتابی با دز بیشتر ۱ گری سبب آسیب DNA خواهد شد [۴]؛ بنابراین پرتوتابی نمونه‌های اسپرم منجمد با دزهای ۰/۳، ۰/۶، ۰/۹ و ۱/۲ گری با استفاده از سیستم پرتابل پرتوتابی ایکس مدل Balteau 235 به‌ترتیب به مدت ۳، ۶، ۹ و ۱۲ دقیقه (kV=120, mA=2.4) در ۵ تکرار انجام شد. پایوت‌های اسپرم در حین پرتوتابی در داخل ظرف نیتروژن مایع قرار داشت و تا زمان انجام آزمایشات ارزیابی کیفیت اسپرم درون تانک نیتروژن مایع نگهداری شد.

تعیین غلظت و درصد تحرک اسپرم بعد از یخ گشایی: برای ارزیابی کیفیت اسپرم پرتوتابی شده و مقایسه آن با نمونه پرتوتابی نشده از نظر تحرک و زنده‌مانی، پایوت‌های اسپرم در بن‌ماری ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ثانیه یخ‌گشایی شد. آنالیز کمی و کیفی اسپرم شامل تعیین غلظت، درصد اسپرم‌های دارای تحرک، حرکت پیش‌رونده، حرکت دایره‌وار، حرکت سریع، حرکت آهسته، حرکت درجا و عدم تحرک قبل و بعد از پرتوتابی با استفاده از سیستم (CASA: Computer Assisted Semen Analysis) انجام شد. برای این منظور ۴ میکرولیتر از اسپرم ذوب شده روی یک لام از قبل گرم شده گذاشته شد و با یک لامل پوشانده شد و سه مشاهده از سه مکان مختلف به‌عنوان یک داده واحد در نظر گرفته شد.

تعیین ویژگی‌های مورفولوژیکی و میزان زنده‌مانی اسپرم: برای تعیین میزان زنده‌مانی اسپرم ۲۰ میکرولیتر نمونه منجمد-ذوب شده را روی اسلایدی که قبلاً گرم شده بود قرار داده و با ۱۰۰ میکرولیتر ترکیب رنگ‌آمیزی سوپراویتال (۱ درصد (W/V) ائوزین B، ۵ درصد (W/V) نیگروزین در ۳ درصد تری- سدیم سیترات دی هیدرات محلول) مخلوط شد. سپس یک قطره (۵

میکرولیتر) از مخلوط آماده شده را روی لام گرم شده قرار داده و گسترش تهیه شد. بعد از خشک شدن در هوا، نمونه اسلاید زیر میکروسکوپ (بزرگنمایی × ۱۰۰) بررسی شد. ۲۰۰ اسپرم برای سرهای غیر رنگ‌آمیزی شده، اسپرم در حالت زنده و نیز برای سرهای رنگ‌آمیزی شده (به طور کامل یا جزئی) اسپرم در حالت مرده، شمارش شد [۷]. پس از رنگ‌آمیزی نمونه‌ها با ائوزین- نگروزین، وضعیت مورفولوژیکی نمونه‌های اسپرم از نظر درصد اسپرم‌های طبیعی، بدون سر، دارای سر غیرطبیعی، دارای بدنه غیرطبیعی، دارای دم غیرطبیعی، دارای قطره سیتوپلاسمیک پروکسیمال، دارای قطره سیتوپلاسمیک دیستال مورد مطالعه قرار گرفت.

تعیین مقدار مالون‌دی‌آلدهید: برای تعیین مقدار مالون‌دی‌آلدهید از روش تیوباربیتوریک اسید استفاده شد [۸]. در این روش یک مولکول تیوباربیتوریک اسید با دو مولکول مالون‌دی‌آلدئید واکنش داده و رنگ صورتی نمایان می‌شود.

برای اندازه‌گیری مقدار مالون‌دی‌آلدهید ابتدا نمونه‌ها رقیق شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از هر نمونه با ۰/۵ میلی‌لیتر EDTA ، ۰/۵ میلی‌لیتر BHT و ۱ میلی‌لیتر TCA به هر فالکون اضافه شد. فالکون‌ها در g× ۹۳۶ برای ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس در لوله-های آزمایش درب‌دار به ۱ میلی‌لیتر از محلول بالای فالکون ۲ میلی‌لیتر TBA اضافه شد. لوله‌ها به‌مدت یک ساعت در حمام آب گرم ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از خنک شدن با استفاده از اسپکتروفتومتر جذب نوری در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد. با استفاده از منحنی استاندارد و با توجه به مقادیر جذب نوری، غلظت مالون‌دی‌آلدهید (نانومول در میلی‌لیتر منی) محاسبه شد. رسم نمودار استاندارد با استفاده از غلظت‌های مختلف مالون‌دی‌آلدئید خالص در برابر مقدار جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر انجام شد.

سلامت غشای پلاسمایی اسپرم: برای ارزیابی سلامت غشای پلاسمایی اسپرم منجمد-ذوب قبل و بعد از پرتوتابی از آزمون التهاب هیپواسموتیک (HOST) استفاده شد [۹]. برای این منظور ابتدا با حل کردن ۰/۴۹ گرم تری سدیم سیترات دی هیدرات و ۰/۹ گرم (-) D فروکتوز در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر یونیزه یک محلول هیپواسموتیک تهیه شد. واکنش اسپرم‌ها به محیط هیپواسمول به‌صورت تورم دم است. در این حالت اسپرم‌هایی که غشای پلاسمایی سالم دارند به محلول واکنش داده ولی اسپرم‌های ناسالم بدون واکنش باقی می‌مانند. با انجام این تست اسپرم‌های با دم گره خورده به‌عنوان اسپرم زنده و اسپرم‌هایی که دم آن‌ها صاف است به‌عنوان اسپرم مرده شمارش شد. برای هر تیمار حداقل ۲۰۰ اسپرم شمارش شد و درصد اسپرم با دم تاب‌خورده شمارش شد.

طرح آزمایشی، طرح کاملاً تصادفی و مدل آماری $Yij = \mu + Ti + eij$ بود. در این مدل Yij: مقدار هر مشاهده، μ: میانگین، Ti: اثر تیمار i و eij: خطای آزمایش است. داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS آنالیز شد و از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ برای مقایسه میانگین استفاده شد.

۳. نتایج و بحث

غلظت و درصد تحرک اسپرم بعد از یخ‌گشایی: غلظت اسپرم نمونه‌های پرتوتابی شده ایکس با نمونه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). آنالیز داده‌های درصد تحرک اسپرم تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های پرتوتابی شده با نمونه شاهد نشان داد (P<۰/۰۵). پرتوتابی ایکس سبب افزایش تحرک اسپرم پس از یخ‌گشایی شد. بیشترین تأثیر دز پرتو ایکس مربوط به دز ۱/۲ گری بود. دز ۱/۲ گری پرتو ایکس سبب افزایش ۷ درصدی تحرک اسپرم پس از یخ‌گشایی شد. درصد اسپرم‌های دارای حرکت پیش‌رونده و اسپرم‌های دارای حرکت دایره‌وار تحت تأثیر پرتوتابی ایکس قرار نگرفت (P>۰/۰۵). درصد اسپرم‌های دارای حرکت سریع تحت تأثیر پرتوتابی ایکس قرار گرفت به‌طوری که در دزهای ۰/۶ و ۰/۹ گری کاهش و در دز ۱/۲ گری دوباره افزایش پیدا کرد. بین دز ۱/۲ گری و نمونه شاهد تفاوت معنی‌دار وجود نداشت. درصد اسپرم‌های دارای حرکت آهسته تحت تأثیر پرتوتابی ایکس افزایش پیدا کرد. افزایش درصد اسپرم‌های با حرکت آهسته متناسب با افزایش دز پرتوتابی بود. بیشترین درصد اسپرم‌های با حرکت آهسته مربوط به دز ۰/۹ و ۱/۲ گری بود.

درصد اسپرم‌های دارای حرکت درجا در نمونه‌های پرتوتابی شده ایکس نسبت به نمونه شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵). پرتوتابی ایکس سبب کاهش درصد اسپرم‌های بدون حرکت شد (P<۰/۰۵). بیشترین تأثیر پرتو ایکس بر تحرک اسپرم دز ۱/۲ گری بود. دز ۱/۲ گری پرتو ایکس سبب افزایش ۷ درصدی تحرک اسپرم و کاهش ۱۷ درصدی اسپرم‌های بدون حرکت شد.

افزایش تحرک اسپرم می‌تواند به‌دلیل ایجاد تحرک در اسپرم‌های بدون حرکت باشد. پرتوتابی با تغییر پوشش‌های محافظتی و برداشته شدن تدریجی آن از سطح اسپرم سبب آشکار شدن کانال‌های کلسیم و محل گیرنده‌ها و در نهایت افزایش تحرک و باروری اسپرم می‌شود [۵].

جدول ۱: غلظت (ml/ ۱۰۹) و درصد تحرک اسپرم قبل و بعد از پرتوتابی ایکس (گری)

فراسنجه‌ها	شاهد	۰/۳گری	۰/۶گری	۰/۹گری	۱/۲گری	اشتباه معیار
غلظت	۳۹/۸	۳۸/۸۲	۳۷/۹۵	۳۸/۲۹	۳۶/۶۹	۴/۵۱۳
تحرک	b۷۰/۲۱	ab۷۲/۵۶	ab۷۱/۵۹	ab۷۲/۶۶	a۷۵/۴۳	۵/۱۴۷
حرکت پیش‌رونده	۶۴/۷۶	۶۲/۸۳	۶۵/۹۰	۶۴/۷۶	۶۸/۹۰	۷/۲۹۲
حرکت دایره‌وار	۱/۸۱	۱/۴۰	۱/۴۰	۱/۲۳	۱/۱۳	۰/۲۱۱
حرکت سریع	a۵۷/۷۸	a۵۵/۵۵	bc۵۷/۶۶	c۵۳/۸۳	a۵۸/۰۰	۷/۹۸۶
حرکت آهسته	c۵/۱۴	b۶/۸۸	b۶/۸۰	ab۱۰/۷۰	a۱۰/۸۳	۳/۰۶۸
حرکت درجا	۵/۴۵	۹/۷۶	۴/۱۶	۷/۸۶	۶/۵۰	۴/۷۳۵
عدم تحرک	a۲۹/۸	ab۲۷/۴۳	a۲۹/۰۰	ab۲۷/۳۳	c۲۴/۵۶	۴/۶۴۷

حروف غیرمشابه در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) می‌باشد.

ویژگی‌های مورفولوژیکی و میزان زنده‌مانی اسپرم: پرتوتابی ایکس هیچ یک از فراسنجه‌های مرفولوژیکی اسپرم را تحت تأثیر قرار نداد (P>۰/۰۵). درصد زنده‌مانی اسپرم نمونه‌های پرتوتابی شده بعد از یخ‌گشایی تحت تأثیر پرتوتابی ایکس قرار گرفت و با افزایش دز پرتوتابی تا دز ۰/۹ گری درصد زنده‌مانی اسپرم افزایش پیدا کرد (P<۰/۰۵) و با افزایش دز پرتو به ۱/۲ گری درصد زنده‌مانی اسپرم بعد از یخ‌گشایی کاهش پیدا کرد. درصد زنده‌مانی اسپرم پرتوتابی شده با دز ۱/۲ گری پرتو ایکس تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد نداشت (P>۰/۰۵).

تغییرات درصد اسپرم‌های طبیعی در نمونه‌های پرتوتابی شده می‌تواند به‌دلیل اثر پرتو در ایجاد مقاومت در اسپرم-ها به تغییرات مورفولوژیکی باشد. این پدیده که در دزهای پایین مشاهده می‌شود پدیده هورمسیس[1] نام دارد. تئوری هورمسیس بیان می‌کند که دزهای کم پرتوهای یون‌ساز می‌تواند سازوکارهای ترمیمی را در سلول زنده فعال کند که در غیاب پرتوها فعال نمی‌شود. این سازوکارهای ترمیمی قادرند سلول زنده را محافظت کنند [۱۰].

مطالعه‌ای جهت بررسی اثرات پرتوهای یون‌ساز بر روی کروموزوم اسپرم در دو نژاد مختلف همستر (چینی و طلایی) توسط تاتینو و همکاران [۴] انجام شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد؛ که اثرات پرتوهای گاما (۱/۱۰، ۲/۱۵، ۲/۹۵ و ۴/۰۱ گری) و پرتو ایکس (۰/۹۱، ۱/۸۲ و ۳/۶۳ گری) اختلاف عمده‌ای را در ساختمان کروموزومی اسپرم‌ها ایجاد نکرد.

[1] Hormesis theory

جدول ۲: درصد اسپرم‌های زنده، طبیعی و غیرطبیعی قبل و بعد از پرتوتابی ایکس (گری)

فراسنجه‌ها	شاهد	۰/۳گری	۰/۶گری	۰/۹گری	۱/۲گری	اشتباه معیار
طبیعی	۸۴/۸	۸۵/۷	۸۲/۶	۸۳/۷	۸۳/۴	۴/۳۷
بدون سر	۱/۶	۱/۰	۰/۵	۱/۰	۱/۵	۱/۱۲
سر غیرطبیعی	۱/۰	۱/۰	۲/۰	۰/۳	۱/۲	۱/۵۹
بدنه غیرطبیعی	۵/۴	۶/۲	۵/۱	۸/۳	۴/۰	۴/۸۵
دم غیرطبیعی	۴/۶	۴/۲	۳/۶	۵/۲	۳/۷	۲/۸۱
قطره سیتوپلاسمیک پروکسیمال	۲/۰	۱/۳	۲/۰	۱/۲	۲/۴	۱/۶۰
قطره سیتوپلاسمیک دیستال	۰/۶	۱/۰	۰/۸	۱/۲	۱/۷	۱/۲۴
زنده مانی	۸۱/۲[b]	۸۲/۵[ab]	۸۴/۱[a]	۸۵/۷[a]	۸۰/۴[b]	۳/۴۱

عدم درج حروف در هر ردیف بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار (P>۰/۰۵) و حروف غیرمشابه در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) است.

مقدار مالون‌دی‌آلدهید: مقدار مالون‌دی‌آلدئید در دزهای صفر، ۰/۳، ۰/۶، ۰/۹ و ۱/۲ گری به ترتیب ۰/۰۰۴، ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۳ و ۰/۰۰۴ نانومول در ۱۰۰ میلی‌لیتر بود و تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های پرتوتابی شده و شاهد وجود نداشت (P>۰/۰۵). در دزهای کم پرتوهای یون‌ساز تولید پراکسیدها در محصول پرتوتابی شده کمتر مشاهده شده است. تاتینو و همکاران [۴] گزارش کردند که دزهای ۱/۱۰، ۲/۱۵، ۲/۹۵ و ۴/۰۱ گری پرتوهای گاما و دزهای ۰/۹۱، ۱/۸۲ و ۳/۶۳ گری پرتو ایکس تغییری در مقدار پراکسیدهای نمونه‌های اسپرم دو نژاد همستر ایجاد نکرد.

سلامت غشای پلاسمایی اسپرم: درصد اسپرم‌های سالم در نمونه‌های اسپرم قبل و بعد از پرتوتابی ایکس در جدول ۵ گزارش شده است. در نمونه‌های پرتوتابی شده با دز ۰/۳ گری پرتو ایکس درصد اسپرم‌های سالم تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد نداشت (P>۰/۰۵) ولی دزهای ۰/۶ و ۰/۹ گری پرتو ایکس سبب افزایش معنی‌دار درصد اسپرم‌های سالم در نمونه‌های پرتوتابی شده نسبت به گروه شاهد شد (P<۰/۰۵). سلامت غشای پلاسمایی در اسپرم‌های پرتوتابی شده با دز ۱/۲ گری پرتو ایکس تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد نداشت (P>۰/۰۵). پرتوتابی ایکس با دز ۰/۹ گری درصد اسپرم‌های سالم را ۴ درصد افزایش داد.

طبق نتایج تست HOST، درصد اسپرم‌های سالم در نمونه‌های پرتوتابی شده با دز ۰/۹ گری پرتو ایکس ۴ درصد افزایش یافت. نتایج این تست با نتایج زنده‌مانی مطابقت دارد و افزایش درصد اسپرم‌های سالم در نمونه‌های پرتوتابی شده نسبت به نمونه پرتوتابی نشده می‌تواند به‌دلیل پدیده هورمسیس باشد.

طبق استانداردهای ارزیابی اسپرم، کیفیت اسپرم بعد از یخ‌گشایی با دمای یخ‌گشایی ۳۷ درجه سانتی‌گراد شامل حداقل اسپرم‌های زنده ۴۰ درصد، مطلوب است [۱]. بنابر این استانداردها، در پژوهش حاضر سلامت غشای پلاسمایی اسپرم نه تنها تحت تأثیر پرتوتابی خارج این استانداردها قرار نگرفت بلکه در مواردی پرتوتابی سبب بهبود کیفیت اسپرم شد.

جدول ۵: سلامت غشای پلاسمایی اسپرم قبل و بعد از پرتوتابی (گری)

فراسنجه‌ها	شاهد	۰/۳گری	۰/۶گری	۰/۹گری	۱/۲گری	اشتباه معیار
یکپارچگی غشای پلاسمایی(درصد)	۸۲/۳[b]	۸۲/۹[b]	۸۷/۱[a]	۸۸/۲[a]	۸۱/۹[b]	۵/۳۱

حروف غیرمشابه در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) است.

پرتوتابی با تغییر پوشش‌های محافظتی و برداشته شدن تدریجی آن از سطح اسپرم سبب آشکار شدن کانال‌های کلسیم و محل گیرنده‌ها و در نهایت افزایش تحرک و باروری اسپرم می‌شود. در سلول‌های پرتوتابی شده غلظت یون‌های کلسیم سیتوپلاسمی در اسپرماتوزوا افزایش یافته و نقش تنظیم‌کنندگی در کنترل حرکت اسپرم و واکنش اکروزوم دارد [۴]. طبق استانداردهای ارزیابی اسپرم، کیفیت اسپرم بعد از یخ‌گشایی با دمای یخ‌گشایی ۳۷ درجه سانتی‌گراد شامل آکروزوم سالم بیشتر از ۶۰ درصد، مطلوب است [۱]. بنابر این استانداردها، در پژوهش حاضر سلامت آکروزوم اسپرم اگرچه در دز ۱/۲ گری ایکس نسبت به نمونه شاهد کاهش پیدا کرد ولی تحت تأثیر پرتوتابی خارج این استانداردها قرار نگرفت.

۴. نتیجه‌گیری

پرتوتابی با دز ۰/۹ گری پرتو ایکس می‌تواند با افزایش فعالیت میتوکندری بدون اثرات منفی بر اسپرم و منی، سبب افزایش تحرک و زنده‌مانی اسپرم بعد از یخ گشایی شود.

مراجع

[1] Holt WV, 2000. Basic aspects of frozen storage of semen. Animal Reproduction Science. 62: 3-22.
[2] Amirat-Briand L, Bencharif D, Vera-Munoz O, Bel Hadj Ali H, Destrumelle S, Desherces S, Schmidt E, Anton M and Tainturier D, 2009. Effect of glutamine on post-thaw motility of bull spermatozoa after association with LDL (low density lipoproteins) extender: preliminary results. Theriogenology. 71: 1209 -1214.
[3] Shawrang P, and Sadeghi AA, 2013. Nuclear Techniques in the nutrition and physiology of ruminant. Islamic azad university science and research branch Publication. Tehran. Iran. (In Persian).
[4] Tateno H, Kamiguchi Y, Shimada M and Mikamo K, 1996. Difference intype of radiation-induced structural choromosome aberrations and theirincidences between Chinese and Syrian hamster spermatozoa. MutationRasearch / Funndamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis.350:339-348.
[5] Lubart R, Friedmann H, Sinyakov M, Cohen N and Breitbart H, 1997. Changes in calcium transport in mammalian sperm mitochondria and plasma membranes caused by 780 nm irradiation. Lasers Lasers in Surgery and Medicine. 21(5):493-9.
[6] Parplys AC, Petermann E, Petersen C, Dikomey E and Borgmann K, 2008. DNA damage by X-rays and their impact on replication processes. Radiotherapy and Oncology. 102(3):466-71.
[7] Mohammadi G, Mahdion H, Goraninejad S and Khadjeh GH, 2011. Modified methods for evaluation of bull frozen-thawed sperm. 3(2): 135-146.
[8] Zeb A and Ullah F, 2016. A Simple Spectrophotometric Method for the Determination of Thiobarbituric Acid Reactive Substances in Fried Fast Foods. Journal of Analytical Methods in Chemistry, vol. 2016, Article ID 9412767, 5 pages.
[9] Revell SG and Mrode RA, 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. Animal Reproduction Science 36: 77–86.
[10] Mattson MP, 2008. Hormesis Defined. Ageing Research Reviews. 7(1): 1–7.