مقاله پژوهشی

مجله سلول و بافت (علمی - پژوهشی)
جلد ۱۱، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۹

بررسی تاثیر سطوح مختلف عصاره سیر بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم در قوچ عربی

شادان گلاندام .M.Sc، صالح طباطبایی وکیلی .Ph.D*، خلیل میرزاده .Ph.D

- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، گروه علوم دامی، اهواز، ایران

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: tabatabaei@asnrukh.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۸/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۹/۱۷

چکیده

هدف: هدف از پژوهش حاضر، بررسی تاثیر افزودن سطوح مختلف عصاره سیر به‌عنوان آنتی اکسیدانت به رقیق‌کننده بر خصوصیات منی قوچ عربی تحت شرایط مایع در ۵ درجه سانتی‌گراد بود.

مواد و روش‌ها: اسپرم‌گیری از ۱۲ راس قوچ عربی به‌طور هفتگی به‌مدت ۸ هفته انجام و منی آن‌ها بلافاصله با هم مخلوط و رقیق‌سازی شده و به تعداد تیمارهای آزمایشی تقسیم و سطوح مختلف عصاره سیر را دریافت نمودند. تیمارها شامل سطوح عصاره سیر (صفر، ۵۰، ۱۰۰ ، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر) بود. در زمان‌های مختلف نگه‌داری منی رقیق شده حاوی تیمارها (صفر، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) به‌صورت مایع، فراسنجه‌های کیفی منی بررسی شدند.

نتایج: در زمان صفر (بلافاصله پس از اسپرم‌گیری و افزودن عصاره سیر)، فراسنجه‌های کیفی اسپرم در تیمارهای آزمایشی نسبت به شاهد اختلاف آماری معنی‌داری نداشتند. در زمان ۲۴ ساعت، سطح ۵۰ عصاره سیر باعث بهبود تحرک پیش‌رونده و جنبایی کل اسپرم شده، ولی سطح ۲۰۰ عصاره میزان جنبایی کل اسپرم‌ها را کاهش داد ($p<0/05$). در زمان ۴۸ ساعت، بیش‌ترین درصد زنده‌مانی اسپرم‌ها مربوط به سطح ۵۰ عصاره سیر بود ($p<0/05$). ۷۲ ساعت پس از اسپرم‌گیری، بیش‌ترین میزان تحرک پیش‌رونده اسپرم‌ها در سطح ۵۰ عصاره سیر مشاهده شد ($p<0/05$). غلظت مالون‌دی‌آلدئید پلاسمای منی به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی، با افزودن ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره سیر به رقیق‌کننده منی قوچ عربی و سپری شدن مدت زمان نگه‌داری منی به‌حالت مایع در ۵ درجه سلسیوس، فراسنجه‌های کیفی اسپرم بهبود یافتند.

واژگان کلیدی: آنتی اکسیدانت، عصاره سیر، قوچ، کیفیت منی

مقدمه

از زمان اسپرم‌گیری تا تلقیح آن به دستگاه تناسلی حیوان ماده، اسپرم در معرض انواع مختلفی از عوامل مضر محیطی قرار می‌گیرد. لیپیدهای غشا پلاسمایی اسپرم پستانداران به‌دلیل وجود مقادیر بالای اسیدهای چرب غیراشباع به‌شدت به خسارت‌های ناشی از ترکیبات فعال اکسیژن (ROS) حساس است (۱). تولید مقادیر اندک و کنترل شده ROS برای انجام فرایندهایی مانند ظرفیت‌دار شدن اسپرم، واکنش آکروزومی و اتصال اسپرم به زوناپلاسیدا در پستانداران اهمیت دارد. اما اگر تولید ROS بیش‌تر از توان آنتی اکسیدانتی اسپرم برای خنثی کردن اثر آن ها باشد، اسپرم دچار نوعی تنش اکسیداتیو می‌شود که از ویژگی‌های آن آسیب به غشای اسپرم و آسیب فیزیکی به DNA است (۲).

از آن‌جایی‌که غشای اسپرم قوچ نسبت به دیگر گونه‌های پستانداران دارای نسبت بالاتری از اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد، بنابراین در مقایسه با سایر گونه‌ها نسبت به تنش‌های اکسیداتیو حساسیت بالاتری از خود نشان می‌دهد (۳). مالون‌دی‌آلدئید محصول نهایی پراکسیداسیون چربی است و افزایش آن در منی نشانه پراکسیداسیون لیپیدی می‌باشد. لذا افزایش غلظت این ماده با کاهش قدرت باروری اسپرم‌ها همراه است (۴). آنتی اکسیدانت‌ها موادی هستند که با کاهش سرعت اکسیداسیون، باعث حفظ سلول از آسیب‌های شدید اکسیده شدن می‌شوند. این ترکیبات ممکن است به‌طور طبیعی در مواد وجود داشته باشند و یا به‌طریق روش‌های مصنوعی سنتز و به‌آن‌ها اضافه شدند. (۵). اسپرم‌ها دارای سازوکار آنتی‌اکسیدانتی آنزیمی و غیرآنزیمی هستند اما مقدار آن کافی نبوده و برای فرآوری اسپرم نیاز به افزودن آنتی‌اکسیدانت با منشا خارجی می‌باشد (۶).

در گذشته، برای حفاظت اسپرم در برابر رادیکال‌های آزاد از آنتی اکسیدانت‌های ساختگی استفاده می‌کردند. استفاده از این آنتی اکسیدانت‌ها به‌دلیل داشتن ترکیبات سمی سایتوتوکسیک و مشکلات ایمنی، مناسب نبوده و لذا استفاده از آنتی‌اکسیدانت‌های طبیعی مورد توجه محققان قرار گرفته است (۷). در سال‌های اخیر در رابطه با خواص آنتی اکسیدانتی برخی گیاهان پژوهش‌های بسیاری انجام شده است و انواع مختلفی از ترکیب‌های آنتی اکسیدانتی در گیاهان یافت شده است که می‌توانند برای کنترل رادیکال‌های آزاد مفید واقع شوند. فعالیت آنتی اکسیدانتی عصاره برخی از گیاهان هم‌سان و برخی حتی بیشتر از آنتی اکسیدانت‌های سنتتیک است (۷).

سیر با نام علمی *Allium sativum* گیاهی علفی و دائمی بوده و حاوی ترکیبات متعدد آلی، معدنی و ویتامین‌ها می‌باشد. قسمت آلی این گیاه عمدتا شامل کربوهیدرات بوده و بیش‌ترین بخش ترکیبات غیرآلی آن را سولفور تشکیل می‌دهد که در طعم و بوی این گیاه مشارکت دارد. قسمت اعظم بخش سولفوری سیر، آلیسین و ترکیبات دی‌آلیل دی‌سولفید و دی‌آلیل تری‌سولفید است که دارای خاصیت آنتی اکسیدانتی و ضدمیکروبی بوده و سبب طعم تند این گیاه می‌شود (۸). سیر هم‌چنین حاوی پروستاگلندین‌ها، فروکتان، پکتین، اسیدهای چرب، گلیکولیپیدها، فسفولیپیدها و اسیدهای آمینه ضروری است (۹). سیر دارای ملاتونین می‌باشد که به‌عنوان یک آنتی اکسیدانت قوی از دژنره شدن سلول‌های جنسی جلوگیری می‌کند. سلنیوم موجود در سیر، به‌عنوان یک آنتی اکسیدانت قوی در بهبود عمل‌کرد تولیدمثلی جنس نر از طریق بهبود قدرت جنبندگی اسپرم‌ها نقش دارد. از طرف‌دیگر، آلیسین در سیر سبب محافظت اسپرم‌های مردان می‌شود (۱۰). افزودن عصاره‌ی سیر به آب آشامیدنی موش‌های نر، وزن اپی‌دیدیم و غدد وزیکول سمینال را افزایش داده و هم‌چنین شمار اسپرم‌ها به‌میزان قابل توجهی

افزایش یافت (۱۱). ویتامین C موجود در سیر می‌تواند رادیکال‌های آزاد سلول‌های بیضه را تعدیل داده و در تولید و تحریک آندروژنیک بیضه و تمایز بافت بیضه‌ای اثرگذار باشد (۲۱، ۳۱).

هدف از پژوهش حاضر، بررسی تاثیر افزودن سطوح مختلف عصاره گیاه سیر به منی قوچ عربی بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم می‌باشد.

مواد و روش‌ها

بخش مزرعه‌ای پژوهش حاضر طی فصل تولیدمثل (پاییز) گوسفند عربی، در ایستگاه دامپروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان واقع در شهر ملاثانی در ۳۶ کیلومتری شمال شرقی اهواز انجام شد. قوچ‌های مورد مطالعه در یک جایگاه مسقف نیمه باز با کف بتونی، در نزدیکی جایگاه میش‌ها نگه‌داری می‌شدند. جایگاه دارای آخور و آبشخور دسته جمعی بوده و آب و غذا در حد اشتها در اختیار دام‌ها قرار داشت. جیره‌ی دام‌ها متشکل از جو، یونجه‌ی خشک، کاه و سیلاژ ذرت بود. هم‌چنین جهت جلوگیری از کمبود احتمالی مواد معدنی، بلوک لیسیدنی در اختیار دام‌ها قرار گرفت. در این آزمایش، تعداد ۱۲ راس قوچ بالغ نژاد عربی با سن ۲ تا ۳ سال و وزن ۷۵ کیلوگرم به‌کار رفتند. اسپرم‌گیری به‌روش تحریک الکتریکی با دستگاه الکترواجاکولیتور به‌طور هفتگی و به‌مدت ۶ هفته طی ماه‌های مهر تا آذر که مصادف با فصل تولیدمثلی گوسفند عربی بود انجام گرفت. منی جمع‌آوری شده از قوچ‌ها به‌منظور از بین بردن اثرات فردی بلافاصله با هم مخلوط شده و پس از رقیق‌سازی با رقیق‌کننده بر پایه تریس، به ۵ قسمت جهت تخصیص تیمارهای آزمایشی تقسیم شد. جنبایی اولیه اسپرم‌ها حدود ۰۸ درصد بود. مشخصات رقیق‌کننده منی در جدول ۱ ارایه شده است. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح مختلف عصاره گیاه سیر (صفر، ۰۵، ۰۰۱، ۰۵۱ و ۰۰۲ میکرولیتر در میلی‌لیتر) بودند که به منی رقیق‌شده قوچ عربی افزوده شدند. عصاره آماده و خالص سیر از شرکت دارویی زردبند تهران تهیه شد. نمونه‌های منی مربوط به‌هر تیمار، در زمان‌های صفر، ۴۲، ۸۴ و ۲۷ ساعت پس از نگه‌داری به حالت مایع در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد، تحت ارزیابی فراسنجه‌های کیفی اسپرم‌ها شامل درصد جنبایی، زنده‌مانی، ناهنجاری‌های مورفولوژیکی و سلامت غشای پلاسمایی قرار گرفتند.

جدول ۱: ترکیب رقیق‌کننده‌ی تریس و زرده‌ی تخم‌مرغ

اجزای رقیق‌کننده	مقدار اجزا
تریس(هیدروکسی متیل آمینومتان) (گرم)	۳/۶۳۴
فروکتوز (گرم)	۰/۵
اسیدسیتریک(منوهیدرات) (گرم)	۱/۹۹
زرده‌ی تخم‌مرغ (میلی‌لیتر)	۱۴
آب مقطر (میلی‌لیتر)	۱۰۰

به‌منظور بررسی میزان جنبایی اسپرم، از سیستم کاسا و برای ارزیابی درصد اسپرم‌های زنده و نیز برآورد اسپرم‌های ناهنجار از روش رنگ‌آمیزی ائوزین- نیگروزین استفاده شد. برای بررسی سلامت غشای اسپرم‌ها نیز محلول هیپواسموتیک به‌کار رفت. واکنش اسپرم‌ها به محیط هیپواسموتیک به‌صورت تورم دم است. در این حالت اسپرم‌هایی که غشای پلاسمایی سالمی دارند به محلول واکنش نشان می‌دهند، ولی اسپرم‌های ناسالم بدون واکنش باقی می‌مانند. در زمان پایانی نگه‌داری منی (۷۲ ساعت

پس از افزودن تیمارها)، غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در نمونه‌ها جهت بررسی نرخ پر اکسیداسیون لیپیدهای غشای پلاسمایی اسپرم‌ها با استفاده از واکنش تیوباربیتوریک اسید (TBA) طبق روش پلسر و همکاران (۱۴) انجام شد.

نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر در قالب طرح کامل تصادفی، با استفاده از برنامه‌ی نرم افزاری SPSS (نسخه ۲۰) مورد آنالیز قرار گرفت. جهت بررسی کیفیت اسپرم و غلظت مالون‌دی‌آلدئید پلاسمای منی در هر کدام از زمان‌ها از تحلیل واریانس یک طرفه (One way ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها، آزمون مقایسه‌ای چند دامنه‌ای دانکن به‌کار رفت.

مدل آماری طرح به‌صورت زیر می‌باشد:

$$Yij = \mu + Tij + Eij$$

Yij: مشاهدات مربوط به صفات

μ : میانگین کل مشاهدات

Ti: اثر تیمار

Eij : اثر خطا

نتایج

تاثیر افزودن سطوح مختلف عصاره سیر به منی قوچ عربی بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم بلافاصله پس از اسپرم‌گیری در جدول ۲ ارائه شده است. در این زمان، درصد تحرک پیش‌رونده، جنبایی کل، زنده‌مانی و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم در سطوح مختلف عصاره سیر افزوده شده، تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت (p>۰/۰۵). اما به لحاظ عددی، عصاره سیر در سطح ۵۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر منی، بیش‌ترین مقدار این فراسنجه‌ها را به‌خود اختصاص داد. بلافاصله پس از اسپرم‌گیری، میزان ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند (p>۰/۰۵).

جدول ۲: تاثیر سطوح مختلف عصاره سیر بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم (درصد) قوچ عربی (بلافاصله پس از اسپرم‌گیری)

تیمارها (μl/ml)	تحرک پیشرونده	جنبایی کل	زنده‌مانی	ناهنجاری مورفولوژیکی	سلامت غشای پلاسمایی
شاهد	۴۳/۱۵ ±۵/۷۴^{ab}	۸۰/۵۵ ±۳/۳۱^{ab}	۸۲/۲۵ ±۳/۰۳^{ab}	۳/۷۵ ±۰/۴۸	۶۷/۵۰ ±۳/۲۲^{ab}
۵۰	۶۲/۸۵ ± ۹/۴۷^{a}	۹۰/۴۳ ±۳/۸۲^{a}	۹۲/۰۸ ±۳/۰۳^{a}	۳/۵۰ ±۰/۶۵	۸۰/۰۰ ±۴/۵۶^{a}
۱۰۰	۴۸/۸۳± ۴/۵۱^{ab}	۸۴/۳۸ ±۱/۸۰^{ab}	۸۴/۷۵ ±۳/۲۵^{ab}	۴/۰۰ ±۰/۴۱	۷۳/۷۵ ±۴/۲۷^{ab}
۱۵۰	۴۶/۵۳ ± ۶/۸۶^{ab}	۷۹/۱۳ ±۶/۷۴^{ab}	۸۱/۲۵ ±۶/۱۰^{ab}	۴/۰۰ ±۰/۴۴	۶۷/۵۰ ±۶/۶۱^{ab}
۲۰۰	۴۰/۷۸ ± ۵/۴۴^{b}	۷۰/۸۳ ±۵/۰۵^{b}	۷۲/۵۰ ±۴/۷۹^{b}	۴/۲۵ ±۰/۴۸	۶۲/۵۳ ±۳/۲۳^{b}

تفاوت میانگین‌ها (± خطای معیار) با حروف نامشابه در هر ستون معنی دار است (P<۰/۵۰)

تاثیر افزودن سطوح مختلف عصاره سیر به منی قوچ عربی بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم در زمان ۲۴ ساعت پس از اسپرم‌گیری و نگه‌داری منی به‌حالت مایع در ۵ درجه سانتی‌گراد در جدول ۳ آمده است. بیش‌ترین میزان تحرک پیش‌رونده و جنبایی کل اسپرم در سطح ۰۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر عصاره سیر مشاهده شد (p<۰/۰۵).

در این زمان، درصد اسپرم‌های زنده و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم در گروه شاهد نسبت به تیمارهای آزمایشی با عصاره سیر اختلاف معنی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵)، هر چند به لحاظ عددی، بیش‌ترین میزان این فراسنجه‌ها در همان سطح ۵۰

میکرولیتر در میلی‌لیتر عصاره سیر ثبت شد. درصد اسپرم‌های با ناهنجاری‌های مورفولوژیکی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (p<۰/۰۵).

جدول ۳: تاثیر سطوح مختلف عصاره سیر بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم (درصد) قوچ عربی (۲۴ ساعت پس از اسپرم‌گیری)

تیمارها (µl/ml)	تحرک پیشرونده	جنبایی کل	زنده‌مانی	ناهنجاری مورفولوژیکی	سلامت غشای پلاسمایی
شاهد	۲۶/۸۳ ±۲/۴۷^{b}	۶۶/۱۰ ±۶/۹۴^{b}	۷۰/۲۵ ±۶/۷۴^{ab}	۵/۰۰ ±۰/۴۲	۵۶/۲۵ ±۶/۲۵^{ab}
۵۰	۴۴/۱۷ ± ۷/۳۱^{a}	۸۴/۹۰ ±۴/۶۷^{a}	۸۷/۰۰ ±۳/۷۹^{a}	۵/۵۰ ±۰/۲۹	۷۳/۳۳ ±۴/۴۱^{a}
۱۰۰	۲۳/۸۸± ۴/۴۵^{b}	۶۳/۱۰ ±۵/۰۳^{bc}	۶۸/۷۵ ±۴/۲۷^{ab}	۵/۷۵ ±۰/۲۵	۵۵/۰۰ ±۴/۰۸^{abc}
۱۵۰	۲۱/۰۸ ± ۴/۱۳^{b}	۵۵/۸۰ ±۶/۶۰^{bc}	۶۱/۲۵ ±۵/۸۲^{b}	۵/۲۵ ±۰/۲۶	۴۷/۵۰ ±۵/۹۵^{bc}
۲۰۰	۱۶/۵۰ ± ۴/۰۴^{b}	۴۳/۴۳ ±۷/۱۹^{c}	۴۸/۷۵ ±۶/۲۵^{b}	۶/۰۰ ±۰/۴۱	۳۶/۲۵ ±۷/۱۸^{c}

تفاوت میانگین‌ها (خطای± معیار) با حروف نامشابه در هر ستون معنی دار است (p<۰/۰۵).

تاثیر افزودن سطوح مختلف عصاره سیر به منی قوچ عربی بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم در زمان ۴۸ ساعت پس از اسپرم‌گیری و نگه‌داری منی به‌حالت مایع در ۵ درجه سیلویوس، در جدول ۴ مشاهده می‌شود. در این زمان، به‌غیر از سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ عصاره سیر که باعث کاهش میزان تحرک پیشرونده اسپرم نسبت به گروه شاهد شدند (p<۰/۰۵)، سایر سطوح عصاره سیر تاثیر معنی‌داری بر این فراسنجه اسپرم در مقایسه با گروه شاهد نداشتند (p>۰/۰۵). هر چند که سطح ۵۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر عصاره سیر موجب بهبود معنی‌دار درصد جنبایی کل اسپرم‌ها نسبت به سایر سطوح سیر شد (p<۰/۰۵)، اما در مقایسه با شاهد بی‌تاثیر بود. در این زمان، بیش‌ترین درصد اسپرم‌های زنده مربوط به سطح ۵۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر عصاره سیر بود که اختلاف معنی‌داری با همه تیمارهای آزمایشی داشت (p<۰/۰۵). تاثیر تیمارها بر میزان ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم غیرمعنی‌دار بود (p>۰/۰۵). ضمنا با توجه به جدول مشخص می‌شود که دوز بالای عصاره سیر، اثر نامطلوبی بر اغلب این این فراسنجه‌های اسپرم داشت.

جدول ۴: تأثیر سطوح مختلف عصاره سیر بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم (درصد) قوچ عربی (۴۸ ساعت پس از اسپرم‌گیری)

تیمارها (µl/ml)	تحرک پیشرونده	جنبایی کل	زنده‌مانی	ناهنجاری مورفولوژیکی	سلامت غشای پلاسمایی
شاهد	۲۵/۳۷ ±۲/۷۵^{a}	۵۵/۹۵ ±۴/۰۴^{ab}	۵۷/۰۰ ±۴/۱۴^{b}	۵/۷۵ ±۰/۴۲	۴۶/۲۵ ±۳/۶۶^{ab}
سیر ۵۰	۲۵/۰۷ ± ۳/۳۷^{ab}	۶۵/۰۰ ±۴/۵۶^{a}	۷۱/۶۷ ±۶/۰۱^{a}	۷/۵۰ ±۰/۶۵	۵۵/۰۰ ±۵/۰۴^{a}
سیر ۱۰۰	۱۳/۱۰± ۳/۴۹^{bc}	۴۱/۱۰ ±۱۰/۲۲^{b}	۵۶/۶۷ ±۶/۰۵^{b}	۷/۲۵ ±۰/۴۸	۴۳/۳۳ ±۶/۰۰^{abc}
سیر ۱۵۰	۱۹/۵۳ ± ۴/۳۷^{abc}	۴۳/۰۰ ±۴/۶۷^{b}	۴۷/۵۰ ±۴/۷۹^{bc}	۶/۵۰ ±۰/۶۵	۳۵/۰۰ ±۴/۴۹^{bc}
سیر ۲۰۰	۱۱/۹۰ ± ۳/۸۵^{c}	۳۹/۲۷ ±۳/۷۷^{b}	۴۱/۳۳ ±۲/۹۶^{c}	۷/۵۰ ±۰/۶۳	۳۱/۶۷ ±۱/۶۴^{c}

تفاوت میانگین ها (± خطای معیار) با حروف نامشابه در هر ستون معنی دار است (p<۰/۰۵).

در جدول ۵، تاثیر افزودن سطوح مختلف عصاره سیر به منی قوچ عربی بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم در زمان ۷۲ ساعت پس از اسپرم‌گیری و نگه‌داری منی به حالت مایع در درجه ۵ درجه سیلویوس، ارایه شده است. بیش‌ترین میزان تحرک پیش‌رونده و زنده‌مانی اسپرم مربوط به سطح ۵۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر عصاره سیر بود (p<۰/۰۵). در این زمان، جنبایی کل اسپرم بین تیمارهای آزمایشی با شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵). هرچند که ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند (p>۰/۰۵)، اما سلامت غشای پلاسمایی اسپرم در غلظت ۵۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر عصاره سیر بیشتر از گروه شاهد بود (p<۰/۰۵).

جدول ۵: تأثیر سطوح مختلف عصاره سیر بر فراسنجه‌های کیفی اسپرم (درصد) قوچ عربی (۷۲ ساعت پس از اسپرم‌گیری)

تیمارها (µl/ml)	تحرک پیشرونده	جنبایی کل	زنده‌مانی	ناهنجاری مورفولوژیکی	سلامت غشای پلاسمایی
شاهد	۸/۶۳ ±۱/۰۹^{b}	۲۶/۸۷ ±۴/۲۳^{ab}	۲۸/۳۳ ±۳/۵۳^{bc}	۶/۵۰ ±۰/۶۵	۱۵/۱۰ ±۲/۸۹^{bcd}
سیر ۵۰	۱۷/۳۳ ± ۱/۴۵^{a}	۳۹/۶۷ ±۸/۴۳^{a}	۵۵/۰۰ ±۲/۸۹^{a}	۸/۵۰ ±۰/۶۴	۳۳/۳۳ ±۴/۴۱^{a}
سیر ۱۰۰	۶/۵۷± ۰/۳۸^{b}	۲۶/۵۰ ±۴/۷۰^{ab}	۳۸/۳۳ ±۱/۶۷^{b}	۷/۰۰ ±۰/۷۱	۲۶/۶۷ ±۱/۶۷^{ab}
سیر ۱۵۰	۵/۷۷ ± ۱/۴۲^{b}	۱۶/۷۷ ±۳/۸۳^{b}	۳۰/۰۰ ±۲/۸۹^{bc}	۷/۵۰ ±۰/۶۴	۱۲/۵۰ ±۲/۵۰^{d}
سیر ۲۰۰	۸/۱۳ ± ۲/۲۸^{b}	۲۰/۷۰ ±۳/۳۳^{b}	۲۳/۳۳ ±۲/۴۰^{c}	۷/۷۵ ±۰/۴۸	۱۲/۵۵ ±۲/۵۶^{cd}

تفاوت میانگین‌ها (خطای± معیار) با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$).

با توجه به جدول ۶، با افزودن سطوح مختلف عصاره سیر به منی قوچ عربی و نگه‌داری آن به‌مدت ۷۲ ساعت تحت شرایط مایع در ۵ درجه سیلویوس، غلظت مالون‌دی‌آلدئید پلاسمای منی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

جدول ۶: تأثیر سطوح مختلف عصاره سیر بر غلظت مالون‌دی‌آلدئید منی قوچ عربی (۷۲ ساعت پس از اسپرم‌گیری)

تیمارها (µl/ml)	مالون دی آلدئید (نانومول در میلی‌لیتر)
شاهد	۱/۶۵ ±۰/۰۳
سیر ۵۰	۱/۴۵ ± ۰/۰۳
سیر ۱۰۰	۱/۶۰ ۰±/۰۳
سیر ۱۵۰	۱/۸۴ ± ۰/۰۸
سیر ۲۰۰	۱/۶۹ ± ۰/۰۵

تفاوت میانگین‌ها (خطای± معیار) معنی‌دار نیست ($p>۰/۰۵$).

بحث

در تحقیقی، با بررسی تاثیر تغذیه‌ای پودر سیر بر خصوصیات منی قوچ دولان مشخص شد که سطوح مختلف پودر سیر بر حرکت پیش‌رونده، جنبایی و زنده‌مانی اسپرم اثر معنی‌داری نداشت (۱۵). از طرفی، در بررسی تاثیر عصاره آبی سیر بر میزان مورفولوژی طبیعی، تحرک و غلظت اسپرم و نیز فعالیت آنتی اکسیدانتی منی موش صحرایی معلوم شد که میزان این فراسنجه‌ها در گروه‌های درمانی در مقایسه با شاهد کاهش یافت (۱۶)، که مغایر با مشاهدات مطالعه حاضر با افزودن مستقیم عصاره سیر به منی قوچ عربی می‌باشد. چرا که در تحقیق حاضر، با گذشت زمان نگه‌داری منی به‌حالت مایع در ۵ درجه سلسیوس، سطوح کمتر عصاره سیر (به‌خصوص ۵۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر) موجب بهبود اغلب فراسنجه‌های کیفی اسپرم قوچ عربی شد. در مطالعه دیگر، عصاره هیدروالکلی سیر به‌عنوان یک آنتی اکسیدانت قوی توانست بافت بیضه موش را در برابر استرس اکسیداتیو محافظت کند (۱۰). با بررسی اثر سیر خام و پخته بر تغییرات هیستوپاتولوژیک و هیستومورفومتریک بیضه و اپیدیدیم و اثر بر روند اسپرماتوژنز در موش صحرایی، تجویز سیر پخته ضمن تاثیرگذاری بر تکثیر سلول‌های جنسی در لوله‌های منی‌ساز بیضه و اپیدیدیم، روند اسپرماتوژنز را نسبت به گروه کنترل سرعت بخشید. تجویز سیر خام دارای اثرات مخرب روی بافت بیضه و فرایند اسپرماتوژنز در گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل بود (۱۷). در تحقیق دیگر مشخص شد که سیر از اکسیداسیون منی در بیضه موش محافظت می‌کند. طوری‌که استفاده از عصاره سیر نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری فعالیت MDA منی را کاهش داد (۴)، که مغایر با یافته‌های مطالعه حاضر است. در بررسی تاثیر عصاره‌ی سیر بر

اسپرماتوژنز و هورمون‌های جنسی در موش نر آزمایشگاهی تحت استرس گرمایی مشاهده شد که استرس گرمایی موجب کاهش میزان هورمون‌های تولیدمثلی نر و سلول‌های اسپرماتوژنیک شده ولی عصاره‌ی سیر به‌صورت وابسته به دوز توانست با خاصیت محافظتی، این کاهش را جبران نموده و نقش تعدیل‌کننده‌ای بر پتانسیل تولیدمثلی تحت استرس‌گرمایی داشته باشد (۱۸). نتایج یک مطالعه که جمع‌بندی ۱۸ تحقیق تجربی در رابطه با تاثیر سیر بر باروری مردان است، حاکی از تاثیر بالقوه سیر در افزایش باروری و اسپرماتوژنز، افزایش سطح تستسترون و بهبود ساختار بیضه می‌باشد. سیر احتمالا به‌دلیل خاصیت آنتی اکسیدانتی آن باعث افزایش باروری می‌شود. با این حال، آزمایشات بالینی بیش‌تری توصیه می‌شود (۱۹). در تحقیقی که اثر مکمل روغن سیر بر استرس اکسیداتیو بیضه و غدد درون‌ریز ناشی از سیکلوفسفامید در موش مورد بررسی قرار گرفت، مشخص شد که مکمل روغن سیر می‌تواند سطح هورمون‌های جنسی را تقویت کرده و با خاصیت آنتی اکسیدانتی خود آسیب بافتی را کاهش دهد (۲۰). کاظمیان و همکاران (۲۱) با بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی موسیر بر روی بیضه و فرایند اسپرماتوژنز در موش گزارش کردند که عصاره‌ی هیدروالکلی موسیر با افزایش سلول‌های جنسی در بافت بیضه، به تقویت قوای جنسی موش سوری نر کمک می‌کند. در تحقیقی، افزودن عصاره سیر به منی خرگوش نر سبب کاهش معنی‌دار غلظت مالون-دی‌آلدئید در مقایسه با گروه شاهد شد (۲۲). جلالی‌کوهی و همکاران (۲۳) در تحقیقی به بررسی اثر عصاره برگ زیتون بر ذخیره‌سازی منی خروس پرداخته و بیان نمودند که افزودن سطوح پایین عصاره برگ زیتون به منی خروس، میزان تولید مالون‌دی‌آلدئید را به‌طور معنی‌داری کاهش داد، ولی در نمونه‌هایی که دوز بالاتری از عصاره برگ زیتون استفاده شده بود، غلظت مالون‌دی‌آلدئید نسبت به گروه شاهد افزایش چشم‌گیری داشت. در مطالعه حاضر، سطوح به‌کار رفته عصاره سیر بر غلظت مالون‌دی‌آلدئید پلاسمای منی قوچ عربی بی‌تاثیر بود. مطالعات در خصوص افزودن عصاره‌های گیاهی مختلف به منی حیوانات که همچون سیر خاصیت آنتی اکسیدانتی دارند، با نتایج متفاوتی همراه بوده است. در تحقیقی، عصاره اتانولی مریم-گلی سهندی باعث بهبود تحرک، زنده‌مانی و یک‌پارچگی غشایی اسپرم‌های گاو هلشتاین بعد از فرایند انجماد-یخ‌گشایی شد (۲۴). در مطالعه دیگر، افزودن دوز کمتر عصاره مرزه ماکرانتا در مقایسه با دوزهای بالای آن سبب بهبود فراسنجه‌های کیفی اسپرم گاو هلشتاین متعاقب فرایند انجماد–یخ‌گشایی شد (۲۵). استفاده از سطوح پایین اسانس الکلی رزماری در رقیق کننده منی خروس با افزایش کیفیت اسپرم پس از فرآیند یخ‌گشایی همراه بود (۲۶). در تحقیق دیگر، افزودن عصاره آبی گیاه رزماری به رقیق‌کننده منی بز، سبب افزایش فراسنجه‌های کیفی اسپرم شامل تحرک، زنده‌مانی، یک‌پارچگی غشای پلاسمایی و کاهش مقدار ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم‌ها شد (۲۷). طباطبایی وکیلی و همکاران (۲۸) با افزودن عصاره اسطوخودوس به رقیق‌کننده منی خروس مشاهده کردند که دوزهای پایین این عصاره در مقایسه با سطوح بالاتر آن سبب بهبود فراسنجه‌های کیفی اسپرم در مقایسه با شاهد شد که موافق با یافته‌های مطالعه حاضر در قوچ عربی با استفاده از عصاره سیر می‌باشد. در مطالعه دیگر، با افزودن سطوح مختلف عصاره گیاه پونه (شامل صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر مشابه با مطالعه ما) به منی قوچ بلوچی، بیش‌ترین درصد تحرک پیش‌رونده اسپرم مربوط به بیش‌ترین دوز عصاره بود که تحقیق حاضر مغایر با یافته‌های این پژوهش می‌باشد (۲۹). با بررسی تاثیر افزودن سطوح ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرولیتر عصاره زغال اخته به رقیق‌کننده منی قوچ قزل مشخص شد که سطح ۱۵۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر این عصاره با بهبود فراسنجه‌های کیفی اسپرم بعد از فرایند انجماد – یخ‌گشایی همراه بود (۳۰). در تحقیق دیگر، استفاده از مقادیر افزایشی عصاره آویشن در رقیق‌کننده منی قوچ مغانی نشان داد که دوزهای پایین این عصاره (۲، ۴ و ۸ میلی‌لیتر در دسی‌لیتر) سبب بهبود فراسنجه‌های درصد تحرک کلی و پیش‌رونده، زنده مانی و سلامت غشای پلاسمایی اسپرم‌ها متعاقب فرایند انجماد و یخ‌گشایی شد. این در حالی است که بالاترین دوز به‌کار رفته عصاره آویشن یعنی ۱۶ میلی‌لیتر در دسی‌لیتر اثر منفی بر تمام صفات ارزیابی شده داشت

(۳۱). عسگری و همکاران (۳۲) نیز با افزودن سطوح مختلف عصاره دانه خرنوب به رقیق‌کننده منی قوچ نژاد فراهانی گزارش دادند که سطح ۰/۰۵ میلی‌لیتر این عصاره در مقایسه با سطوح بالاتر آن (۰/۱، ۰/۱۵ و ۰/۲۰ میلی‌لیتر) می‌تواند سبب محافظت بهتر اسپرم‌ها طی فراید انجماد و یخ‌گشایی شود. این مشاهدات مشابه با نتایج مطالعه حاضر مبنی بر عمل‌کرد بهتر دوز پایین عصاره سیر (۵۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر) در محافظت از اسپرم‌های قوچ عربی طی فرایند نگه‌داری منی به‌حالت مایع می‌باشد. تقریبا تمام سلول‌ها دارای مواد و آنزیم‌هایی هستند که می‌توانند اثرات سمی انواع اکسیژن‌های واکنش پذیر را خنثی کنند. اما میزان توانایی آنتی اکسیدانت‌های اسپرم در مقایسه با دیگر سلول‌ها پایین‌تر است و این سلول‌ها نسبت به فشارهای اکسیداتیو آسیب پذیرتر هستند (۳۳). فعالیت آنتی اکسیدانتی سیر به‌واسطه ترکیبات سولفوری موجود در آن می‌باشد که این مواد در عصاره سیر، فراوان دیده می‌شود. افزودن عصاره‌ی سیر به آب آشامیدنی موش‌های نر سبب بهبود عمل‌کرد تولیدمثلی آن‌ها شد (۱۱). آلیسین موجود در سیر دارای خواص ضدمیکروبی قوی‌تر از برخی آنتی بیوتیک‌ها نظیر پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین، داکسی‌سیلین، استرپتومایسین و سفاکسیلین علیه بسیاری از باکتری‌های گرم مثبت و منی می‌باشد (۳۴). این نکته می‌تواند در نگه‌داری منی حیوانات تحت شرایط مایع نیز حائز اهمیت باشد. چرا که یکی از عوامل افت کیفیت اسپرم‌ها، رشد میکروارگانیسم‌ها در مایع منی است. سیر در محافظت از DNA اسپرم و بازسازی آن نیز موثر بوده و با دارا بودن ویتامین‌های C، B و E، در ظرفیت‌یابی اسپرم نقش داشته و خاصیت آنتی اکسیدانتی دارد (۱۹).

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی از مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که با افزودن سطوح مختلف عصاره سیر به رقیق‌کننده منی قوچ عربی، استفاده از دوزهای پایین‌تر عصاره سیر (ترجیحا ۵۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر) سبب بهبود اغلب فراسنجه‌های کیفی اسپرم طی زمان‌های مختلف نگه‌داری منی به‌حالت مایع تحت دمای ۵ درجه سلسیوس شد. هر چند غلظت مالون‌دی‌آلدئید پلاسمای منی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. لذا مصرف مقادیر پایین عصاره سیر در رقیق‌کننده منی قوچ به‌منظور بهبود عمل‌کرد اسپرم توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به‌سبب فراهم نمودن امکانات تحقیق حاضر تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Storey BT. Biochemistry of the induction and prevention of lipoperoxidative damage in human spermatozoa. Mol Hum Reprod. 1997; 3(3): 203-214.
2. Aitken RJ, de Iuliis GN, Finnie JM, Hedges A, et al. Analysis of the relationships between oxidative Stress, DNA damage and sperm vitality in a patient population: development of diagnostic criteria. Hum Reprod. 2010; 25(10): 2415-2426.
3. Baumber J, Ball BA, Gravance CG, Medina V. et al. The effect of reactive oxygen species on equine sperm moltility, viability, acrosomal integtity, mitochondrial membrane potential and membrane lipid peroxidation. Androl. 2000; 21(6): 895-902.
4. Ghiasi Ghalehkandi J. Garlic (Allium sativum) juice protects from semen oxidative stress in male rats exposed to chromium chloride. Anim. Reprod. 2014; 11(4): 526-532.

5. Agarwal A, Sekhon LH. The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility. Hum Fertil. 2010; 13(4) : 217-225.
6. Bansal AK, Bilaspuri GS. Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. Veterinary Medicine International. 2011; Article ID 686137: 1-7.
7. Malo C, Gil L, Cano R, Martinez F, et al. Amtioxidant effect of rosemary (Rosmarinus officinalis) on boar epididymal spermatozoa during cryopresetrvation. Theriogenol. 2011; 75(9): 1735-1741.
8. Block E. Garlic and other Alliums: the lore and the science. Cambridge: Royal Society of Chemistry. 2010; 49(40): Pp7162.
9. Mousavi T. Rafiei A, Amjadi O, Yoosefpour M, et al. Medicinal and nutritional properties of grapes in islamic references, traditional, and modern medicine. J Mazandaran Univ Med Sci. 2015; 25(130): 169-190.
10. Soleimanzadeh A, Malekifard F, Kabirian A. Protective effects of hydro-alcoholic garlic extract on spermatogenic disorders in streptozotocin- induced diabetic C57BL/6 mice. Sci J Kurdistan Uni Med Sci. 2017; 22(4): 8-117.
11. Pedraza chaverri J, Maldonado PD, Medinacampos ON, Olivares-corichi IM. Garlic ameliorates gentamicin ne phrotoxicity: relation to antioxidant enzymes. Free Rad Biol Med. 2000; 29(7): 602-11.
12. Santos J, Almajano MP, Carbo R. Antimicrobial and antioxidant activity of crude onion (*Alliam cepa* L.) extracts. Int J Food Sci Tech. 2010; 45(2): 403-409.
13. Mirfarhadi M, Johari H. The effect of hydroalcohlic *Allum sativum* extract on Sexual hormones in mature male rats under chemotherapy with cyclophosphamide. Zahedan J Res Med Sci. 2015; 27(7): 1-5.
14. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. Anal Biochem 1966; 16(2): 359-364.
15. Amini M, Jafari Ahangari Y, Hassanpour Y, Bazyar A. et al. Effect of differen levels of garlic powder on semen parameters in Dallagh ram. Fifth Congress Ani Sci. 2012.
16. Hosseini N, khaki A. Effect of Aqueous extract of garlic (*Allium saivum*) on sperms morphology, motility, concentration and its antioxidant activity in rats. Afinidad. 2014; 80(566): 201-204.
17. Bahrami Kh, Mahjoor A, Johari H, Bahrami R. et al. Comparative study on histopatological and histomorphometric effect of raw and cooked garlic on spermatogenesis in testis and epidydims of rats. J Fasa Univ Med Sci. 2014; 3(4): 371-379.
18. Modaresi M, Mohajer M. The effect of garlic extract on spermatogenesis and sexual hormones in heat-stressed male mice. J Adv Biomed Res. 2015; 23(101): 88-97.
19. Mousavi H, Tabnak M, Alaei Sheini F, Hasanzadeh Bezvan M. et al. Effect of garlic (*Allium sativum*) on male fertility: a systematic review. J Herbmed Pharmacol. 2018; 7(4): 306-312.

20. Ekeleme-Egedigwe CA, Famurewa AC, David EE, Eleazu CO. et al. Antioxidant potential of garlic oil supplementation prevents cyclophosphamide-induced oxidative testicular damage and endocrine depletion in rats. J Nutr Intermed Met. 2019;18(2019): 1-6.
21. Kazemian S, Karimi A, Pilevariyan A, Ghandi AR. The effect of hydro-alcoholoc shallots extract on testis and spermatogenesis in Balb/C mice. J Adv Med Biomed Res. 2017; 25(109): 50-62.
22. Alsenosy AWA, Ayman HAA. Effect of garlic supplementation to rabbit semen extender on semen metabolic and oxidative markers. Alexandria J Vet Sci. 2019; 60(1): 94-101.
23. Jalali Kohi SM, Mohammadi M, Rostaei-Ali Mehr M. Effect of olive leaf extract on rooster semen storage. J Anim Prod. 2016; 18(2): 377-385.
24. Farhadi R, Daghighkia H., Hosseinkhani A, Ghasemi Panahi B. et al. Effect of *Origanum vulgare* ethanol extract on quality parameters and malondialdehyde concentration of cryopreserved Holstein bull sperm. Anim Sci Res. 2015; 25(1): 1-11.
25. Daghighkia H, Shahbazzadeh R, Ashrafi I. Antioxidant effect of *Macrantha satureja* extraction on microscopic and biochemical parameters of bull sperm after freeze -thawing process. Anim Sci J. 2015; 28(108): 101-112.
26. Shafigh H, Shakeri M, Zeinoaldini S, Kohram H, et al., Improving sperm cryopreservation of rooster by using rosemary alcoholic essential oil. J Anim Prod. 2016; 18(3): 615-624.
27. Zanganeh Z, Zhandi M, Zare-Shahneh A, Najafi A. et al. Does rosemary aqueus extract improve buck semen cryopreservation? Small Ruminant Res. 2013; 114(2013): 120-125.
28. Tabatabaei Vakili S, Aghaei A, Kazemizadeh A. Effect of different concentrations of *Lavandula angustifolia* extract on semen quality of rooster during storage in liquid condition. Res Anim Prod. 2020; 27(11): 74-81.
29. Alizadeh K, Bahri Binabaj F, Mojtahedin A. Study of effect of adding horsmint ethanol extract and cysteine into extender on fertility features of frozen Baluchi ram semen after thawing. J Ruminant Res. 2020; 8(1): 49-62.
30. Daghighkia H, Zare Ghaleh Jigh F, Najafi A, Vaseghi H. Effect of Bilberry extract in semen extender on ram semen quality after freeze-thawing process. J Anim Prod. 2016; 18(4): 831-840.
31. Vahedi V, Hedayat Evrigh N, Behroozlak M, Dirandeh E. Antioxidant effects of Thyme (*Thymus vulgaris*) extract on ram sperm quality during cryopreservation. Iran J Applied Anim Sci. 2018; 8(2): 263-269.
32. Asgari M, Khodaei Motlagh M, Kazemi Bonchenari M, Vahedi V. Antioxidant effect of carob seedextract (Ceratoniasiliqua L) on quality parameters Farahani ram sperm after freeze-thawing. J Cell Tissue. 2020; 11(1): 1-13.
33. Sreejith JN, Brar AS, Ahuja CS, Sangha SPS. et al. A comparative study on lipid peroxidation, activities of antioxidant enzymes and viability of cattle and buffalo bull spermatozoa during storage at refrigeration temperature. Anim Reprod Sci. 2006; 96: 21-29.
34. Bakri IM, Douglas CW. Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. Arch Oral Biol. 2005; 50(7): 645-651.

Journal of Cell & Tissue (JCT)
Autumn 2020; 11(3)

Original Article

Effect of different levels of garlic (*Allium sativum*) extract on semen quality parameters in Arabi ram

Golandam SH, M.Sc., Tabatabaei Vakili, S* Ph.D., Mirzadeh KH, Ph.D.

- Department of Animal Science, Faculty of Animal and Food Science, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran

* Email corresponding author: tabatabaei@asnrukh.ac.ir

Received: 17 Nov. 2020 Accepted: 7 Dec. 2020

Abstract

Aim: The purpose of the present study was to investigate the effect of adding different levels of garlic extract as an antioxidant to diluent on the semen characteristics of Arabi rams under liquid conditions at 5°C.

Material and Methods: Semen samples were collected from 12 Arabi rams weekly for 8 weeks and their semen was immediately mixed, diluted, and divided into the number of experimental treatments and received different levels of garlic extract. Treatments included garlic extract levels (zero, 50, 100, 150 and 200 µl/ml). At different storage times of diluted semen containing experimental treatments (zero, 24, 48, and 72 hours), semen quality parameters were evaluated.

Results: At time zero (immediately after sperm collection and addition of garlic extract), sperm quality parameters in experimental treatments were not statistically significant compared to the control. At 24 hours, 50 µl/ml of garlic extract improved the spermatozoa progressive motility of total motility rates, but 200 µl/ml of extract reduced the total motility of sperm ($P<0.05$). At 48 hours, the highest sperm viability was related to the level of 50 µl/ml garlic extracts ($P<0.05$). 72 hours after semen collection, the highest progressive motility of spermatozoa was observed at the level of 50 µl/ml garlic extracts ($P<0.05$). Malondialdehyde concentration of seminal plasma as an indicator of peroxidation was not affected by experimental treatments.

Conclusion: In general, sperm quality parameters were improved by adding 50 µg/ml garlic extract to the semen diluent of Arabian rams and storage the diluted semen in liquid condition at 5°C.

Keywords: Antioxidant, Garlic extract, Ram, Semen quality