تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی زنجبیل بر پارامترهای بیولوژیک اسپرم در خروس گلپایگانی

علیرضا پایمرد[۱] ، بنفشه حیدری[۱،۲]، مجید غلامی آهنگران[۱*]

۱- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۲- مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی تولید مثل، پژوهشکده فناوری‌های نوین جهاد دانشگاهی- ابن سینا، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات: mgholamia1388 @yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۱٤

چکیده

گیاهان دارویی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌توانند با ایجاد اختلال در روند تولید رادیکال‌های آزاد و خنثی‌سازی استرس اکسیداتیو باعث بهبود کمی و کیفی شاخص‌های باروری اسپرم و افزایش نطفه‌داری در خروس گردند. هدف از این مطالعه، بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره گیاه زنجبیل بر پارامترهای بیولوژیک اسپرم خروس‌های گلپایگانی می‌باشد. در این بررسی، عصاره هیدروالکلی گیاه زنجبیل در غلظت‌های ۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه و به مدت چهار هفته به آب آشامیدنی ۳٦ خروس بالغ نژاد بومی گلپایگانی اضافه شد. پس از ٤ هفته، تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره بر پارامترهای بیولوژیک اسپرم (تعداد، تحرک کلی، زنده مانی و مورفولوژی نرمال) مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. به‌منظور ارزیابی انواع ناهنجاری‌ها در قسمت های مختلف اسپرم از رنگ‌آمیزی پاپانیکولا استفاده شد. نتایج نشان داد افزودن عصاره زنجبیل در تمامی غلظت‌ها به آب آشامیدنی موجب افزایش معنی‌دار تحرک کلی اسپرم و درصد اسپرم‌های با مورفولوژی نرمال گردید. این در حالی بود که افزایش معنی‌دار تعداد کلی اسپرم با قابلیت زنده‌مانی بالا نیاز به افزودن دوزهای بالای عصاره (۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی-گرم) دارد. تفاوت معنی‌داری در برخی شاخص‌های فوق بین دو غلظت متوسط و بالای عصاره دیده نشد ($p > ۰/۰۵$). به‌طور-کلی، **مصرف مداوم** زنجبیل موجب افزایش معنی‌دار شاخص‌های کمی و کیفی اسپرم خروس می‌گردد که می‌تواند در بهبود باروری نقش داشته باشد.

کلمات کلیدی: زنجبیل، اسپرم، خروس، باروری.

مقدمه

تحقیقات صورت گرفته در دهه‌های اخیر نشان می-دهد که مصرف بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها، داروهای شیمی‌درمانی، مواد سمی و آفت‌کش‌ها، تشعشعات رادیواکتیو، استرس، آلودگی هوا و عدم مصرف کافی ویتامین‌ها می‌توانند منجر به اختلال در روند اسپرماتوژنز، کاهش قدرت باروری و بروز ناتوانی‌های جنسی شوند (۱٤). این عوامل با تولید رادیکال‌های آزاد و ایجاد استرس اکسیداتیو نه تنها باعث کاهش سنتز و آزادسازی تستوسترون توسط سلول‌های لیدیگ و دژنره‌شدن سلول‌های سرتولی بیضه می-

گردند، بلکه منجر به افزایش پروکسیداسیون لیپیدی در غشای سیتوپلاسمی اسپرم، غیرفعال‌سازی آنزیم-های گلیکولیز، آسیب به غشای آکروزومی اسپرم، اکسیداسیون DNA و در نهایت اختلال در روند اسپرماتوژنز می‌شوند. از طرف دیگر، گزارشات متعددی نیز در خصوص تاثیر مضر رادیکال‌های آزاد بر تعداد کلی اسپرم، میزان تحرک و مورفولوژی نرمال اسپرم‌ها نیز وجود دارد (١٦).

اخیرا تحقیقات وسیعی در زمینه استفاده از آنتی-اکسیدان‌های طبیعی جهت درمان ناتوانی‌های جنسی و افزایش قدرت باروری صورت گرفته است. این ترکیبات از طریق کاهش تولید رادیکال‌های آزاد، پایان دادن به واکنش‌های زنجیره اکسیداسیون، تقویت و استحکام سدخونی – بیضه‌ای و حفاظت از DNA اسپرم باعث بهبود پارامترهای بیولوژیک اسپرم و افزایش شاخص‌های تخصصی باروری می‌گردند (١، ١٢، ١٤).

در سال‌های اخیر تلاش‌های زیادی جهت دستیابی به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با منشا گیاهی که بتوانند بدون ایجاد آثار تخریبی جانبی باعث تقویت روند اسپرماتوژنز و افزایش قدرت باروری شوند صورت گرفته است. زنجبیل ریزوم گیاه تازه یا خشک شده *Zingiber officinale* است که از دوران باستان به عنوان یک گیاه دارویی در طب سنتی مورد استفاده قرار گرفته است. این گیاه چند ساله دارای یک ساقه باریک و نی‌مانند، برگ‌های سرنیزه‌ای به رنگ سبز براق و گل‌های سبز مایل به زرد با لبه‌ای ارغوانی و لکه‌های کرم‌رنگ می باشد. پراکندگی جغرافیایی آن از شرق آسیا (به‌ویژه آسیای جنوب شرقی) تا نواحی گرمسیری استرالیا بوده و در درمان آنفلوآنزا و سرماخوردگی، اسپاسم و نفخ شکم، کم‌اشتهایی عصبی، برونشیت، رماتیسم، آرتریت و غیره مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گیاه ضد باکتری و ضد قارچ بوده و بواسطه حضور جینجردیول موجب کنترل ژن‌های التهابی بواسطه تنظیم مسیر NF-κB، مهار ترشح پروستاگلاندین‌ها و کاهش معنی‌دار التهاب در بدن می‌گردد (١٨).

در گذشته، استفاده از این گیاه دارویی به منظور تحریک سیستم ایمنی، تقویت دستگاه گردش خون بیماران و نیز افزایش میل جنسی و جلوگیری از زودانزالی در مردان کاربرد فراوانی داشت. ترکیب شیمیایی گیاه زنجبیل شامل کربوهیدارت (٧٠-٥٠ درصد)، لیپید (٨-٣ درصد)، ویتامین‌ها (به‌ویژه ویتامین C)، املاح معدنی (آهن، منیزیم و کلسیم)، ترکیبات فنولی (شوگااول‌ها، جینجرول‌ها، جینجردیول، پارادول‌ها، زینجیبرن، زینجرون) و ترپن-ها (بتا- بیزابولن، آلفا-فارنس، بتا-سزکوئی فلاندرن و آلفا-کورکومن) می‌باشد (٥، ٦، ٨، ٩).

اغلب ترکیبات فنولی فعال موجود در زنجبیل به‌ویژه جینجرول‌ها، جینجردیول، زینجیبرن، زینجرون و شوگااول‌ها دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی بوده و موجب حذف رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از شکل‌گیری متابولیت‌های فعال و مضر در بدن می‌شود (١٤، ١٧).

این ترکیبات با افزایش معنی‌دار غلظت هورمون تستوسترون در بدن موجب افزایش وزن بیضه، افزایش میل جنسی، جلوگیری از زودانزالی، تقویت صفات ثانویه جنسی و تسریع روند اسپرماتوژنز در مردان می‌گردند. بررسی‌ها نشان داده است که استفاده از زنجبیل باعث افزایش غلظت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بیضه و اپیدیدیم می‌گردد. این آنزیم موجب کاهش معنی‌دار رادیکال‌های آزاد، جلوگیری از شکست DNA اسپرم، ترمیم مولکول‌های DNA آسیب‌دیده، حفاظت تمامی سلول‌های جنسی (اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید و اسپرم) در مقابل پراکسیداسیون لیپیدی و در نهایت بلوغ و تکامل

نهایی اسپرم می‌گردد (١٤). با توجه به حجم بالای اسیدهای چرب غیر اشباع در غشای پلاسمایی اسپرم، این سلول جنسی نسبت به استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی بسیار حساس می‌باشد. پراکسیداسیون لیپیدی موجب تخریب ساختار ماتریکس لیپیدی در غشاهای سیتوپلاسمی اسپرم و از بین رفتن یکپارچگی غشاء و عدم تحرک اسپرم می‌شود (۹، ۱۲، ۱۳ و ١٤).

بنابراین، به‌نظر می‌رسد استفاده از ترکیبات دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بتواند از پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو اسپرم جلوگیری نموده و موجب افزایش قدرت باروری اسپرم گردد.

تا کنون تاثیر عصاره زنجبیل بر روند اسپرماتوژنز، شاخص‌های بیولوژیک اسپرم و نیز پارامترهای تخصصی باروری اسپرم مورد بررسی قرار نگرفته است. با توجه به اثرات آنتی اکسیدانی این گیاه و تاثیر آن بر غلظت آندروژن‌ها، به‌نظر می‌رسد استفاده از این گیاه دارویی بتواند موجب بهبود روند اسپرماتوژنز، افزایش کیفیت اسپرم و نطفه‌داری در ماکیان گردد.

در این تحقیق به بررسی غلظت‌های مختلف عصاره زنجبیل بر پارامترهای بیولوژیک اسپرم (تعداد، تحرک، میزان زنده مانی و مورفولوژی نرمال اسپرم) در خروس‌های بالغ نژاد بومی گلپایگانی مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

گروه‌بندی: ٣٦ خروس بالغ نژاد گلپایگانی در سن ۳۲ هفتگی وارد مطالعه شده و پس از ارزیابی اولیه، در غالب طرح کاملا تصادفی در ٤ گروه تقسیم شدند.

خروس‌ها در قفس‌های انفرادی و با شرایط محیطی استاندارد و یکسان نگه‌داری شدند. گروه اول به‌عنوان گروه کنترل و سه گروه دیگر به‌عنوان گروه‌های درمان در نظر گرفته شدند. در سه گروه درمان، عصاره هیدروالکلی زنجبیل به ترتیب به میزان ۵۰۰ میلی گرم در لیتر (دوز پایین)، ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر (دوز متوسط) و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر (دوز بالا) به مدت ٤ هفته به آب آشامیدنی خروس‌ها اضافه شد. آب آشامیدنی گروه کنترل فاقد عصاره هیدروالکلی زنجبیل بود.

آماده‌سازی عصاره هیدرولیکی زنجبیل: پس از جمع‌آوری گیاه زنجبیل از مراتع شهرستان کیان در توابع استان چهارمحال و بختیاری و تایید توسط کارشناس، این گیاه دور از نور خورشید و در دمای ٤٠ درجه سانتی گراد خشک و سپس با آسیاب آزمایشگاهی (مدل مولینکس، ساخت کشور ایتالیا) خرد گردید. به‌منظور عصاره گیری از حلال اتانول ۷۰ درصد استفاده شد (٤ لیتر اتانول برای۱۰۰۰ گرم گیاه زنجبیل) و نمونه به مدت ۷۲ ساعت در آون ۵۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد.

در مرحله بعد، دبریدها و اجزاء حل نشده گیاه با استفاده از کاغذ صافی واتمن جدا شد و حلال نیز با استفاده از دستگاه روتاری (استریک، ایتالیا) طی مدت ۳ ساعت از عصاره جدا گردید. عصاره گیری در دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد و تحت شرایط خلاء صورت گرفت. در نهایت، از عصاره تهیه شده رقت‌های ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر تهیه شد. رقت‌های تهیه شده تا زمان استفاده در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

نمونه‌گیری منی و ارزیابی اسپرم: پس از کالبدگشایی خروس‌ها و باز کردن ناحیه کلواک، نمونه منی از مخازن جمع آوری اسپرم که در انتهای بدن و نزدیک کلواک قرار گرفته است اخذ گردید. مایع جمع آوری شده داخل میکروتیوپ ریخته شد و ظرف مدت ۱۵ دقیقه دور از نور و در دمای ٣٧-٢٤ درجه سانتی‌گراد

به آزمایشگاه آندرولوژی مرکز تشخیص ناباروری ارسال گردید.

به‌منظور جلوگیری از هر گونه پیش داروی و تبعیض بین گروه‌ها بلافاصله پس از اخذ نمونه، نام گروه تحت مطالعه از روی میکروتیوپ‌ها برداشته و یک کد اختصاصی به آنها تعلق گرفت.

سپس میکروتیوپ‌ها به منظور تکمیل روند مایع (همگن) شدن به مدت ۵ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. پس از اتمام روند همگن شدن، تمامی نمونه‌های دریافت شده مورد ارزیابی ماکروسکوپی و میکروسکوپی قرار گرفتند. در ارزیابی ماکروسکوپی، رنگ، بو و ویسکوزیته نمونه توسط دو کارشناس باتجربه آندرولوژی ثبت گردید. سپس حجم کلی نمونه منی با استفاده از پیپت سرولوژی با درجه‌بندی ۰/۱ میلی‌لیتر و pH آن با استفاده از استریپ‌های استاندارد تعیین و مشخص گردید.

در ارزیابی میکروسکوپی، حرکت دسته جمعی (توده ای) اسپرم‌ها با استفاده از روش قطره گذاری روی لام، حرکت انفرادی اسپرم‌ها با استفاده از مشاهده مستقیم اسپرم‌ها زیر میکروسکوپ فاز کنتراست، غلظت و تعداد کلی اسپرم‌ها در واحد حجم با استفاده از لام مکلر و درصد اسپرم‌های زنده با استفاده از رنگ‌آمیزی تریپان بلو تعیین و ثبت گردید.

شاخص‌های بیولوژیک اسپرم که در این تحقیق مورد ارزیابی قرار گرفتند شامل تعداد اسپرم، تحرک کلی اسپرم، مورفولوژی نرمال اسپرم و قابلیت زنده‌مانی آنها بودند. برای تشخیص ناهنجاری‌های سر، قطعه میانی و دم اسپرم از رنگ‌آمیزی پاپانیکولا استفاده شد. در صورت آلودگی نمونه منی با خون و یا هر مواد مداخله‌گر دیگر، نمونه‌ها ۲-۳ بار با محلول شستشو دهنده اسپرم شسته شد و با دستگاه اسپرم فیوژ سانترفیوژ گردید.

آنالیز آماری: داده‌ها با نرم افزار آماری سیگما پلات ۲ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. داده های کمی با برنامه آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه داده‌ها آنالیز شد و در صورت وجود اختلاف آماری بین میانگین داده‌ها در گروه‌های مختلف، میزان اختلاف با تست توکی بیان شد. سطح اختلاف معنی‌دار کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

میانگین حجم منی جمع‌آوری شده از ۳۶ خروس تحت مطالعه ۱۱/۵ ± ۳۸۰ میکرولیتر (۰/۰۱۱۵ ± ۰/۳۸ میلی‌لیتر) بود. رنگ منی در تمامی میکروتیوپ ها سفید شیری و pH آنها ۰/۳ ± ۶/۸ اندازه‌گیری شد. تمامی نمونه‌های مورد بررسی فاقد خون، دبرید و آلاینده‌های دیگر بود و حرکت دسته‌جمعی (ماکروسکوپی) اسپرم‌ها نیز بسیار خوب (+۴) مشاهده شد. قبل از شروع درمان، تمامی پارامترهای بیولوژیک و شاخص‌های مورد مطالعه اسپرم در جدول ۱ نشان داده شده است. تعداد کلی، تحرک و موروفولوژی نرمال اسپرم‌ها قبل از شروع درمان در تمامی گروه‌ها به ترتیب ۲/۳۵ ± ۳۷/۹۰ میلیون، ۱/۵۲ ± ۶۶/۳۳٪ و ۳/۰۵ ± ۵۶/۷۲ درصد بود.

تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره گیاه زنجبیل بر پارامترهای بیولوژیک اسپرم: تاثیر عصاره زنجبیل بر شاخص‌های کمی و کیفی اسپرم خروس‌های نژاد بومی گلپایگانی در جدول ۱ نشان داده شده است. افزودن عصاره زنجبیل به آب آشامیدنی موجب افزایش معنی‌دار قابلیت زنده‌مانی اسپرم‌ها گردید. کمترین و بیشترین پتانسیل زنده مانی اسپرم به ترتیب در گروه کنترل و گروه دریافت کننده دوز بالای عصاره (۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده شد (۳/۹ ±۷۷ و ۵/۳± ۹۶ درصد، $p \leq ۰/۰۵$). تفاوت آماری معنی داری در قابلیت حیاتی اسپرم‌های گروه کنترل با

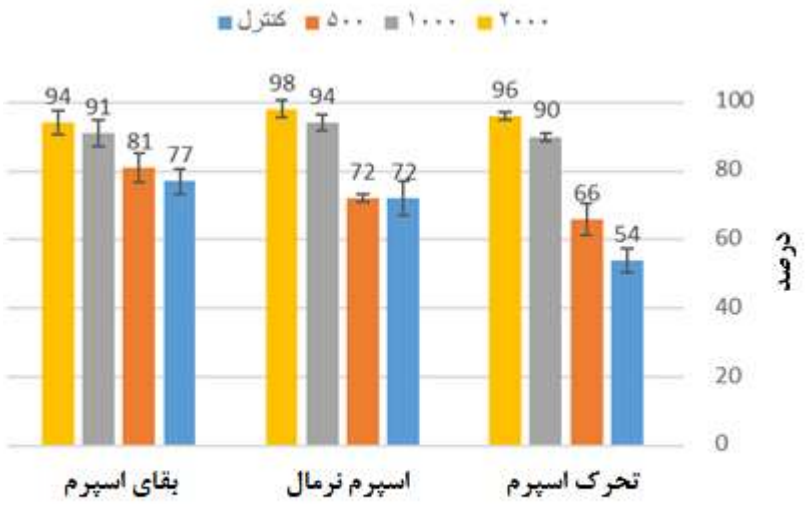
گروه دریافت کننده دوز پایین زنجبیل (۵۰۰ میلی گرم) دیده نشد (جدول ۱، $p > ۰/۰۵$). استفاده از عصاره زنجبیل موجب افزایش تعداد کلی اسپرم در مایع منی گردید. بیشترین تعداد اسپرم در گروه دریافت کننده دوز بالای زنجبیل مشاهده شد (٤/٤ ± ٦٦/٥ میلیون، $p \leq ۰/۰۵$). اختلاف آماری معنی‌داری بین تعداد کلی اسپرم در گروه دریافت‌کننده ۵۰۰ میلی‌گرم و ۱۵۰۰ میلی‌گرم (دوز پایین و متوسط) زنجبیل مشاهده شد (به ترتیب ۲/۸ ± ٤٥/٤ میلیون و ۳/٤ ± ٦١/٩ میلیون، $p \leq ۰/۰۵$). افزودن عصاره زنجبیل به آب آشامیدنی موجب افزایش معنی‌دار میزان تحرک اسپرم‌ها گردید. این در حالی بود که کمترین میزان تحرک اسپرم در گروه کنترل مشاهده شد (۵/۲ ± ٥٤/٣٣ درصد، $p \leq ۰/۰۵$).

بیش از ۹۰ درصد اسپرم‌ها در گروه‌های دریافت کننده دوز متوسط و دوز بالای عصاره زنجبیل متحرک بوده و قابلیت نطفه‌دار نمودن تخم مرغ را دارند (٦/١ ± ۹۰/٦ درصد و ٤/٨ ± ۹٦/٥ درصد، جدول ۱). استفاده از عصاره زنجبیل موجب افزایش معنی‌دار تعداد اسپرم‌های با مورفولوژی نرمال گردید. کمترین میزان اسپرم‌های نرمال از لحاظ ساختاری در گروه کنترل (۵/۳ ± ۷۲/۷۲ درصد) مشاهده شد. این در حالی بود که بیشترین درصد اسپرم‌های با مورفولوژی نرمال در گروه‌های دریافت کننده دوز متوسط و بالای عصاره مشاهده شد (۳/۳۲ ± ۹٤/٦٣ درصد و ۲/۵۲ ± ۹۸/۷٦ درصد، جدول ۱ و نمودار۱ و۲).

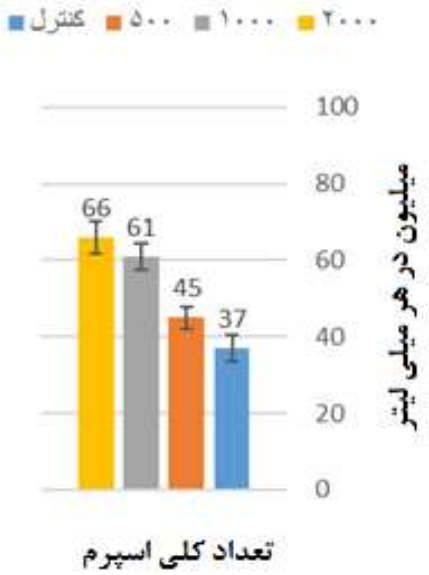
جدول ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره گیاه زنجبیل بر پارامترهای بیولوژیک اسپرم (میانگین ± انحراف معیار)

گروه	تعداد کلی اسپرم	تحرک کلی اسپرم	مورفولوژی نرمال اسپرم	درصد زنده مانی اسپرم
۵۰۰ میلی‌گرم	٤٥/٤ ± ۲/۹^{a}	٦٦/٧٢ ± ٤/٦٦^{a}	۷۲/۸۳ ± ۱/۱٤^{a}	۸۱/٤٦ ± ٤/۱^{a}
۱۰۰۰ میلی‌گرم	٦١/۹ ± ۳/٤^{b}	۹۰/٦ ± ۱/۱۵ ^{b}	۹٤/٦٣ ± ۲/۳۲ ^{b}	۹۱/۷۵ ± ۳/۸^{b}
۲۰۰۰ میلی‌گرم	٦٦/۵ ± ٤/۲٦^{b}	۹٦/۵ ± ۱/ ۲۳^{c}	۹۸/۷٦ ± ۲/۵۲ ^{b}	۹٦/٤۷ ± ۳/۵^{c}
کنترل	۳۷/٦۸ ± ۳/۳۵^{c}	٥٤/۳±۵/۵۲^{d}	۷۲/۷۲ ۵±/۰۵ ^{c}	۷۷/۰٤ ± ۳/٦^{a}

بالانویس های مختلف در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار آماری در بین گروه‌ها می‌باشد ($p < ۰/۰۵$).



نمودار ۱- مقایسه غلظت های مختلف عصاره گیاه زنجبیل (صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر) بر میزان تحرک، اسپرم های نرمال و بقای اسپرم (بر حسب درصد)



نمودار ۲- مقایسه غلظت های مختلف عصاره گیاه زنجبیل (صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر) بر تعداد کل اسپرم (میلیون در هر میلی لیتر)

بحث

روند اسپرماتوژنز درون مجاری سمینی‌فروس با قطر تقریبی ۲/۸ ± ۹۶/۷ میکرومتر و در طی سه مرحله متوالی (اسپرماتوسیتوژنز، اسپرمیوژنز و اسپرمیشن) رخ می دهد. طول دوره اسپرماتوژنز در پرندگان بسیار کوتاه‌تر از پستانداران بوده و تقریبا ۲۵ روز می‌باشد.

در طی این روند، سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونی تکثیر یافته و به سلول‌های اختصاصی‌تر اسپرماتوسیت اولیه و سپس اسپرماتوسیت ثانویه تمایز می‌یابند. در هفته‌های ششم و دهم از روند تکامل به ترتیب سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه و سلول‌های اسپرماتوسیت ثانویه در اپی تلیوم مجاری سمینی فروس تظاهر یافته و شروع به تکثیر می‌کنند. رشد بیضه‌ها بعد از هفته پانزدهم تسریع می‌گردد، به‌طوری‌که وزن هر یک از آنها در هفته بیست و سوم به تقریبا ۱۲ تا ۲۲ گرم می‌رسد. در این زمان، تقریباً تمامی مجاری سمینیفروس حاوی سلول‌های اسپرماتوسیت ثانویه بوده و روند تمایز آن‌ها به سلول‌های اسپرماتید و در نهایت اسپرم بالغ تکمیل می‌گردد. بیشترین وزن بیضه و بالاترین میزان باروری در خروس در سن ۳۰-۲۸ هفتگی حاصل می‌شود. وزن بیضه‌ها، حجم منی و قدرت باروری معمولاً پس از سن ۳۵ هفتگی کاهش معنی‌داری می‌یابد. در گله‌های مادر گوشتی، بیشترین سطح باروری در خروس‌ها (بیش از ۹۵ درصد) در آغاز دوره تولید مثلی (سن ٤٠- ۳۰ هفتگی) حاصل می‌شود. میزان باروری پس از ٤٥-٤٠ هفتگی بسیار کاهش یافته و در ۷۰-٦٥ هفتگی به پایین‌ترین سطح خود می‌رسد. در این سن، معمولاً خروس‌ها از گله حذف و با خروس‌های بارور جوان جایگزین می‌گردند (۱۱، ۲۰).

یکی از فاکتورهای مهم که سن باروری، کیفیت منی و پتانسیل تولیدمثلی خروس‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد تغذیه آنها می‌باشد. به‌نظر می‌رسد که استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی یا مصنوعی در جیره غذایی بتواند میزان استرس اکسیداتیو در اسپرم را کاهش داده و موجب بهبود کیفیت منی و افزایش قدرت باروری اسپرم گردد. شکل‌گیری استرس اکسیداتیو در اسپرم منجر به پروکسیداسیون لیپیدی غشای سیتوپلامی اسپرم، آسیب غشای آکروزومی، اکسیداسیون و شکست DNA و درنهایت ناهنجاری‌های کروموزومی در اسپرم می‌گردد (۸).

از طرف دیگر، افزایش میزان استرس اکسیداتیو با کاهش تولید تستوسترون، دژنره شدن سلول‌های سرتولی و از هم گسستن سد خونی - بیضه‌ای موجب اختلال در روند اسپرمیوژنز شده و در نهایت منجر به کاهش تعداد اسپرم‌های اپیدیمی و باروری می‌گردد (۷، ۱۲). بنابراین، به منظور کاهش استرس اکسیداتیو، بهبود روند اسپرماتوژنز و افزایش پتانسیل بارروی اسپرم، استفاده از ترکیبات حاوی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی یا مصنوعی ضروری به‌نظر می‌رسد. داروهای گیاهی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی نظیر زنجبیل با برداشتن رادیکال‌های آزاد واسطه‌ای موجب خاتمه یافتن واکنش‌های زنجیره اکسیداسیون شده و درنهایت منجر به بهبود شاخص‌های تخصصی باروری اسپرم، افزایش پتانسیل باروری و نظفه‌داری در خروس می‌گردد (١٤، ١٦).

در این تحقیق، تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی گیاه زنجبیل بر پارامترهای بیولوژیک اسپرم (تعداد، تحرک، میزان زنده‌مانی و مورفولوژی نرمال اسپرم) خروس‌های بالغ نژاد بومی گلپایگانی مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. نتایج بررسی حاضر نشان داده است که استفاده از دوز پایین عصاره زنجبیل (۵۰۰ میلی‌گرم) تاثیر مثبت و افزایشی بر برخی پارامترهای باروری اسپرم نظیر تعداد کلی اسپرم و درصد زنده مانی آنها ندارد. این در حالی است که

با افزایش غلظت عصاره در آب آشامیدنی (۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم) تمامی پارامترهای بیولوژیک اسپرم افزایش می‌یابد. مطالعات مختلفی به اثر زنجبیل بر شاخص‌های تولیدمثلی در شرایط فیزیولوژیک مختلف پرداخته‌اند (۲، ٤). در تایید نتایج مطالعه حاضر، اخلاقی و همکاران در سال ۲۰۱٤ به مطالعه تاثیر زنجبیل بر بازدهی تولیدمثلی خروس‌های گوشتی تجاری پرداخته و بهبود معنی‌دار کیفیت منی، افزایش میزان اسیدهای چرب اسپرم و بالا رفتن بازدهی تولیدمثلی را در خروس‌های تغذیه شده گزارش نمودند (۱).

در مطالعه صورت گرفته توسط این محققین، پودر زنجبیل با غلظت‌های ۰، ۱۵ و ۳۰ گرم به‌مدت ۱٤ هفته به جیره غذایی خروس‌ها اضافه شد و سپس ویژگی‌های منی و پارامترهای اسپرم هر ۱٤ روز یکبار مورد ارزیابی قرار گرفت. این محققین افزایش معنی-دار تحرک پیشرونده اسپرم، کاهش ناهنجاری‌های ساختاری، افزایش قابلیت زنده مانی سلول‌های جنسی و یکپارچگی بیشتر غشای سیتوپلاسمی اسپرم را در خروس‌های دریافت کننده پودر زنجبیل مشاهده نمودند. در این تحقیق، زنجبیل باعث افزایش میزان اسیدهای چرب غیراشباع و کاهش غلظت اسیدهای چرب اشباع در اسپرم گردید. همچنین، میزان اسیدهای چرب C22:4 (n-6) در اسپرم و نیز ویژگی آنتی اکسیدانی پلاسمای منی در خروس‌های دریافت کننده پودر زنجبیل بسیار بالا بود. با اینکه استفاده از غلظت بالای زنجبیل (۳۰ گرم) موجب افزایش معنی-دار قدرت نفوذ اسپرم در غشای پری ویتلین و بهبود میزان باروری گردید، اما تفاوت آماری معنی‌داری در میزان هچ شدن و مرگ و میر جنین جوجه در اثر استفاده از پودر زنجبیل مشاهده نشد. این محققین، تغذیه با زنجبیل را به‌منظور بهبود کیفیت منی بویژه در خروس‌های گوشتی تجاری توصیه نمودند (۱).

در تحقیقی مشابه، سعید و همکاران نیز در سال ۲۰۱۱ به بررسی تاثیر عصاره زنجبیل بر پتانسیل باروری و فعالیت‌های تولیدمثلی خروس‌های نژاد گوشتی پرداخته و از دو غلظت ۵٪ و ۱۰٪ عصاره زنجبیل در آب آشامیدنی استفاده نمودند. در این بررسی، تمامی پارمترهای باروری اسپرم، غلظت هورمون‌های موجود در سرم و نیز هورمون‌های پلاسمای منی با فواصل زمانی هر ٤ هفته (از ۲٤ تا ٤٤ هفتگی) اندازه گیری شد. درمان با استفاده از زنجبیل موجب افزایش معنی‌دار وزن بافت بیضه در هر دو گروه گردید. حجم کلی منی و تعداد سلول‌های اسپرم در گروه دریافت کننده زنجبیل با غلظت ۱۰٪ به‌طور معنی‌دار بیشتر از خروس‌هایی بود که از غلظت پایین-تر عصاره زنجبیل استفاده نمودند. همچنین، افزودن غلظت بالای عصاره موجب کاهش قابل توجه و معنی‌دار میزان ناهنجاری‌های اسپرم گردید. این محققین، افزایش معنی‌دار سطح سرمی گلوتاتیون، افزایش غلظت هورمون‌های LH، FSH و تستوسترون سرم و نیز کاهش میزان پروتئین پلاسمای منی را در گروه دریافت کننده عصاره زنجبیل مشاهده نمودند. در این تحقیق به‌دنبال استفاده از عصاره زنجبیل، غلظت کلسترول و گلوکز موجود در پلاسمای منی نیز افزایش یافت (۲۱).

در سایر گونه‌ها نظیر موش و رت نیز تحقیقات مشابهی صورت گرفته و نتایج مطالعه حاضر در خصوص تاثیر زنجبیل بر افزایش قدرت باروری و پتانسیل تولیدمثلی خروس‌ها را تایید نموده است.

خاکی و همکاران در سال ۲۰۰۹ به بررسی اثرات زنجبیل بر روند اسپرماتوژنز و کیفیت منی موش های صحرایی پرداخته و از غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم پودر زنجبیل در هر کیلوگرم جیره غذایی استفاده نمودند. در این بررسی، استفاده از پود ر زنجبیل در هر دو غلظت موجب افزایش معنی‌دار قابلیت زنده

مانی و میزان تحرک اسپرم‌ها گردید. با این حال، استفاده از زنجبیل با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم تغییر آماری معنی داری را در وزن بافت بیضه، تعداد کلی اسپرم، مورفولوژی نرمال اسپرم و غلظت هورمون‌های LH و FSH ایجاد نکردند. این محققین، تاثیر افزایشی زنجبیل بر غلظت تستوسترون سرم و نیز سطح سرمی گلوتاتیون را تایید نموده و استفاده از آن را به‌منظور کاهش آسیب وارده به DNA و نیز کاهش استرس اکسیداتیو در اسپرم توصیه نمودند (۱۳).

در مطالعه ای دیگر، موراکینو و همکاران در سال ۲۰۰۸ از عصاره هیدروالکلی زنجبیل با غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم استفاده و آن را به مدت ۲۸-۱٤ روز به‌صورت خوراکی به جیره غذایی رت‌ها اضافه نمودند. در این بررسی، افزودن عصاره زنجبیل موجب افزایش معنی‌دار وزن بافت بیضه و اپیدیدیم، بالا رفتن سطح تستوسترون سرم، افزایش تعداد کلی اسپرم و میزان تحرک آن‌ها در پلاسمای منی گردید. در رت‌های تحت درمان با عصاره زنجبیل، میزان مالونیدیل دهاید و استرس اکسیداتیو بطور معنی‌دار کاهش یافت. این محققین، افزایش پتانسیل باروری به‌دنبال استفاده از زنجبیل را به‌دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی و آندروژنی این گیاه دارویی می‌دانند (۱۹).

در زمینه تاثیر زنجبیل بر افزایش قدرت باروری انسان نیز تحقیقات مختلفی صورت گرفته و نتایج مطالعه حاضر را تایید نموده است. حسینی و همکاران در سال ۲۰۱٦ به بررسی تاثیر عصاره زنجبیل بر میزان قطعه قطعه شدن DNA اسپرم و پتانسیل تولیدمثلی در مردان مبتلا به ناباروری پرداختند. در این مطالعه، بیماران به مدت ۳ ماه از کپسول‌های ۲۵۰ میلی گرمی پودر زنجبیل به میزان دو بار در روز استفاده نمودند. سپس تعداد کلی اسپرم، میزان تحرک آنها و نیز میزان قطعه قطعه شدن DNA اسپرم در دو زمان (قبل و بعد از شروع درمان) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که میزان آسیب DNA در بیماران نابارور دریافت‌کننده عصاره زنجبیل بطور معنی‌دار کمتر از بیماران گروه کنترل بود. هرچند، تفاوت آماری معنی‌داری در تعداد کلی اسپرم و میزان تحرک آن‌ها بین گروه‌های درمان و کنترل مشاهده نشد (۱۰).

در تحقیقی مشابه، میرز و همکاران در سال ۲۰۱۲ نیز با اندازه گیری سطوح سرمی هورمون‌های LH، FSH و تستوسترون به بررسی تاثیر عصاره زنجبیل بر پارامترهای اسپرم (تعداد کلی، تحرک، قابلیت زنده مانی و مورفولوژی نرمال اسپرم) در مردان نابارور ٤۰-۱۹ ساله پرداختند. در این مطالعه، استفاده از زنجبیل به مدت ۳ ماه در مردان نابارور باعث افزایش معنی‌دار تعداد کلی اسپرم (بیش از ۱٦/۲ درصد)، بهبود قابل توجه میزان تحرک اسپرم (بیش از ٤۷/۳ درصد)، افزایش قابلیت زنده مانی (بیش از ٤۰/۷ درصد) و مورفولوژی نرمال اسپرم‌ها گردید. همچنین، حجم کلی منی در بیماران تحت درمان با عصاره زنجبیل تا ۳٦ درصد افزایش یافت. این محققین، کاهش معنی دار میزان آسیب DNA (قطعه قطعه شدن DNA)، افزایش سطح سرمی گلوتاتیون و بالا رفتن غلظت هورمون‌های LH، FSH و تستوسترون را در بیماران دریافت کننده عصاره زنجبیل گزارش نمودند (۱۷).

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی، نتایج این مطالعه نشان می دهد بکارگیری عصاره زنجبیل در غلظت های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر آب آشامیدنی، به مدت ٤ هفته می تواند پارامترهای بیولوژیک اسپرم (مانند تعداد، تحرک کلی، میزان زنده مانی و مورفولوژی نرمال) را در خروس نژاد گلپایگانی افزایش دهد. لذا به نظر می رسد بکارگیری این ترکیبات در قبل از شروع فصل

تولیدمثلی در افزایش باروری و نهایتاً افزیش جوجه درآوری در فصل تولید مثلی موثر و مفید باشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد و آزمایشگاه آندرولوژی مرکز تشخیص ناباروری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد قدردانی می‌گردد. هزینه این پروژه تحقیقاتی توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد تامین شده است.

منابع

1. Akhlaghi A., Ahangari Y.J., Navidshad B., Pirsaraei Z.A., Zhandi M., Deldar H., Rezvani M.R., Dadpasand M., Hashemi S.R., Poureslami R., Peebles E.D.2014. Improvements in semen quality, sperm fatty acids and reproductive performance in aged Cobb 500 breeder roosters fed diets containing dried ginger rhizomes (*Zingib officinale*). *Poultry Science*, 93(5): 1236-1244.

2. Akinyemi A.J., Adedara I.A., Thome G.R., Morsch V.M., Rovani M.T., Mujica L.K.S., Duarte T., Duarte M., Oboh G., Schetinger M.R.C., 2015. Dietary supplementation of ginger and turmeric improves reproductive function in hypertensive male rats. *Toxicology Reports*, 13(2): 1357-1366.

3. Altman R.D., Marcussen K.C., 2001. Effects of a ginger extract on knee pain in patients with osteoarthritis. *Arthritis and Rheumatism*, 44(11): 2531-2538.

4. Amin A., Hamza A.A., 2006. Effect of Rosella and Ginger on cisplatin induced toxicity in rates. *Asian Journal of Andrology*, 8(5): 607-612.

5. Bhattaria S., Tran V.H., Duke C.C., 2001. The stability of gingerol and shogaol in aqueous solutions. *Journal of Pharmacological Science*, 90(10): 1658-1664.

6. Dugasani S., Pichika M.R., Nadarajah V.D., Balijepalli M.K., Tandra S., Korlakunta J.N., 2010. Comparative antioxidant and anti-inflammatory effects of [6]-gingerol, [8]-gingerol, [10]-gingerol and [6]-shogaol. *Journal of Ethnopharmaco logy*, 127(2): 515-520.

7. EL-Shahat A.E., Gabr A., Meki A.R., Mehana E.S., 2009. Altered testicular morphology and oxidative stress induced by cadmium in experimental rats and protective effect of simultaneous green tea extract. *International Journal of Morphology*, 27(3): 757-64.

8. Hemmati S., Gholami-Ahangaran M., Heidari B., 2020. The Effect of different concentrations of knotgrass (*Polygonum avicular*) extract on biological parameters of sperm fertility in rooster. *Iranian Veterinary Journal*, 16(1): 113-123.

9. Hosseini J., Mardi Mamaghani A., Hosseinifar H., Sadighi Gilani M.A., Dadkhah F., Sepidarkish M., 2016. The influence of ginger (*Zingiber officinale*) on human sperm quality and DNA fragmentation: A double-blind randomized clinical trial. *International Journal of Reproduction Biomedicine (Yazd)*, 14(8): 533–540.

10. Johari H., Sharifi A., Ansari N., Hosseini M., Amiri F., 2010. Effect of hydro-alcoholic extract of *Zingiber officinale* on body weight, testis weight and spermatogenesis in rats under chemotherapy with cyclophosphamide. *Journal of Medical University- Shahid Saddoghi of Yazd*, 17(5): 365-374.

11. Jones D.R., Johansen K., 1972. The blood vascular system of birds. In: Avian Biology, 2nd edition (eds. Farner DS, King JE). Academic Press, New York, pp: 157–285.

12. Jorsaraei S.G.A., Yousefnia Pasha Y.R., Zainalzadeh M., Moghadamnia A.A., Beiky A.A., Rayati Damavandi M., 2008. The effects of methanolic extracts of Ginger (*Zingiber officinale*) on human sperm parameters; An in vitro study. *Pakistan Journal of Biological Science*, 11: 1723-1727.

aqueous extract on semen characteristic and some blood plasma, semen plasma parameters in the broilers breeder male. *International Journal of Poultry Science*, 10(8): 629-633.

13. Khaki A., Fathiazad F., Nouri M., Khaki A.A., Ozanci C.C., Ghafari-Novin M., Hamadeh M., 2009. The effects of Ginger on spermatogenesis and sperm parameters of rat. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 7(1): 7-12.

14. Khaki A., Khaki A.A., Hajhosseini L., Sadeghpour Golzar F., Ainehchi N., 2014. The Anti-Oxidant Effects of Ginger and Cinnamon on Spermatogenesis Dys-function of Diabetes Rats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicine*, 11(4): 1–8.

15. Kota N., Krishna P., Polasa K., 2007. Alterations in antioxidant status of rats following intake of ginger through diet. *Food Chemistry*, 106(3): 991-996.

16. Kubra I.R., Jaganmohanrao L., 2012. An overview on inventions related to ginger processing and products for food and pharmaceutical applications. *Recent Paterns in. Food, Nutrtion and Agriculture*, 4(1): 31-49.

17. Mares A.K., Abid W., Najam W.S., 2010. The effect of Ginger on semen parameters and serum FSH, LH & testosterone of infertile men. *Tikrit Medical Journal*, 18: 322-324.

18. Mirheydar H., 2003. Herbal information: usage of plants in prevention and treatment of diseases, Islamic Culture Publishing Center, Tehran, pp: 39-42.

19. Morakinyo A.O., Adeniyi O.S., Arikawe A.P., 2008. Effects of *Zingiber Officinale* on reproductive functions in the male rat. *African Journal of Biomedical Research*, 11: 329-334.

20. Razi M., Hassanzadeh S.H., Najafi G.R., Feyzi S., Amin M., Moshtagion M., Janbaz H., Amin M., 2010. Histological and anatomical study of the White Rooster of testis, epididymis and ductus deferens. *International Journal of Veterinary Research*, 4: 229-236.

21. Saeid J.M., Shanoon A.K., Marbut M.M., 2011. Effects of *Zingiber officinale*