بررسی اثرات نانو سیلور کلوئیدی بر روی باروری آزمایشگاهی اسپرم گاو

رخساره دماوندی نژاد[1]، جعفر یدی[2]*، محمدرضا واعظی[3]

تاریخ دریافت:۱۳۹۴/۰۲/۱۸
تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۰۴/۲۰

چکیده

در این تحقیق نانوسیلور کلوئیدی با آنتی بیوتیکهای معمول به کار رفته در اکستندر جایگزین و تاثیر غلظت و حجم مختلف از نانو سیلور کلوئیدی بر روی عوامل موثر بر باروری آزمایشگاهی اسپرم گاو مورد بررسی قرار گرفت. محلول نانو سیلور کلوئیدی بر پایه الکلی (اتیلن گلیکول) با غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲ قسمت در میلیون،باسایز ۱۰ نانومتر وحجمهای ۰/۱ و ۰/۰۱میلی لیتر جایگزین آنتی بیوتیک بکار رفته در رقیق کننده منی گاو شد و تاثیرات آن پس از اضافه کردن نانو سیلور به رقیق کننده و منی در دمای اتاق، در دمای ۴درجه سانتی گراد و پس از مرحله انجماد و یخگشایی مورد ارزیابی پارامترهای موثربر باروری اسپرم (در شرایط آزمایشگاهی) یعنی تحرک، حرکت پیش رونده اسپرمی و نیز تست کلنی کنت قرار گرفتند.بر اساس یافته‌های این مطالعه با افزایش میزان غلظت محلول نانو سیلور کلوئیدی، زنده مانی و عوامل موثر بر باروری اسپرم کاهش می‌یابند. با این حال محلول نانو سیلور کلوئیدی بر پایه الکلی اتیلن گلیکول با غلظت ۰/۵ قسمت در میلیون و در سایز ۱۰ نانومتر با حجم ۰/۱ میلی لیتر در ضمن دارا بودن خواص ضد میکروبی در حد آنتی بیوتیکها، آسیبی از نظر زنده مانی و حرکت پیش رونده که دو شاخص مهم باروری هستند به اسپرم‌ها وارد نمی‌سازد و می‌تواند جایگزین مناسبی برای آنتی بیوتیکها در رقیق کننده‌های اسپرم باشد.

واژه‌های کلیدی: نانو سیلور کلوئیدی، رقیق کننده‌های منی، اسپرم گاو، آنتی بیوتیکها.

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، گروه علوم دامی، کرج، ایران
۲- گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، ساوه، ایران.
۳- استادیار پژوهشگاه مواد و انرژی، کرج، ایران
* نویسنده مسئول: (amiryadi@yahoo.com)

مقدمه

نانو تکنولوژی را می‌توان به عنوان تکنولوژی در مقیاس نانو متری یا یک میلیاردم متر تعریف کرد.معمولا منظور از مقیاس نانو ابعادی در حدود ۱ نانو متر تا ۱۰۰ نانو متر می‌باشد.نانو تکنولوژی علم ایجاد ذرات بسیار ریز در مقیاس مولکولی به منظور ایجاد موادی با رفتارها و خواص شیمیایی جدید و متفاوت است. (Roco et al.,2003) یکی از نمونه‌های نانو ترکیبات، نانو نقره می‌باشد که در داروسازی، الکترونیک، صنعت ساختمانی و تکنولوژی شیمیایی به عنوان یک عنصر ضدباکتریایی و ضد قارچی به طور استثنایی تاثیرگذار می‌باشد.نانو ذرات نقره ذراتی با حد اقل بعدی کوچکتر از ۱۰۰نانومتر هستند. (Oberdorste,2005) خصوصیات منحصر به فرد آنها آنتی باکتریال و آنتی سپتیک بودن آنهاست (Kim,2007) به همین دلیل کاربردهای فراوانی در زمینه‌های مختلف دارند.از جمله در اهداف پزشکی برای جلوگیری از عفونت باکتریایی (Wu,2009) تیمار و درمان برخی از سوختگی ها، مانع از کلون شدن باکتری‌ها روی سطوح مختلف مثل پروتزها، پوست انسان،و غیره (Greulich,2010) امروزه افزایش مقاومت باکتری‌ها به آنتی بیوتیکها یک مشکل اساسی در حوزه سلامتی می‌باشد. نانو ذرات نقره دارای خواص ضد باکتری، ضد قارچ و ضد ویروسها و پروتوزوئرها می‌باشند.نانو ذرات نقره نسبت به آنتی بیوتیکها دارای مزایایی می‌باشند که عبارتند از:۱- باکتری‌ها به نانو ذرات نقره مقاومت پیدا نمی‌کنند زیرا نانو ذرات نقره بر روی قسمتهای مختلف وآنزیمهای متعددی موثر هستند.۲- نانو ذرات نقره بر روی طیف گسترده‌ای از باکتری‌ها موثر هستند.۳- نانو ذرات بر روی سلول‌های انسانی اثر سوء ندارند زیرا سلولهای انسانی یه صورت بافت هستند.۴- برخلاف آنتی بیوتیکها که پس از واکنش با سلول تغییر شکل یافته و بی اثر می‌شوند، نانوذرات نقره پس از اثر بر میکروبها آزاد شده و بر میکروارگانیسمهای دیگر اثر می‌گذارند. تلقیح مصنوعی ارزشمندترین روش مدیریتی موجود برای گاوداران است.هم اکنون تلقیح مصنوعی در سطح گسترده در بسیاری از کشورها به کار برده می‌شود. با این روش تلقیح اسپرم گاوهای نر برترنه تنها سبب پیشرفت شایان توجه ژنتیک گله‌ای می‌شود، بلکه دربسیاری موارد بازدهی تولید مثلی نیز افزایش می‌یابد.لازمه‌ی این روش مدیریتی نگهداری اسپرم در شرایط مطلوب و حفظ زنده مانی و عوامل موثر بر باروری اسپرم تا حد امکان است. تهیه‌ی اکستندرها این شرایط را برای اسپرم فراهم می‌کند که در این میان عاری بودن اکستندر از عوامل میکروبی توسط آنتی بیوتیکها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.امروزه نانو سیلورها با دارا بودن مزیتهایی نسبت به آنتی بیوتیکها جایگزین خوبی برای آنها می‌باشند اما همچنان با توجه به استفاده وسیع از نانوذرات نقره ما با یک فقدان جدی اطلاعات در مورد اثرات بیولوژیکی آن بر روی سلول‌های زنده مواجه هستیم. (Greulich,2010) با وجود اینکه تعداد زیادی اثرات قابل ملاحظه در نانو نقره وجود دارد، افزایش گزارشات متوالی بر روی خواص سمی این ساختار نشان داده می‌شود که با میزان غلظت، سایز و حجم نانو ذرات نقره در ارتباط است.(Linkove,2008) به همین منظور تحقیق حاضر برای بررسی اثرات نانو ذرات نقره و غلظت آن بر روی سلول‌های اسپرم و تاثیر آن بر زنده مانی و عوامل موثر بر باروری اسپرم انجام شده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در مرکز اصلاح نژاد و بهبود تولیدات دامی کشور واقع در کرج و بر روی ۵ راس گاو بالغ و سالم این مرکز انجام شد. منی پس از عادت دهی گاو به انزال در مهبل مصنوعی، هفته‌ای ۲بار به مدت ۱۶ هفته جمع آوری شد. برای آماده سازی رقیق کننده که پیش از اسپرم گیری انجام میشد از مواد زیر استفاده شد.

جدول ۱- مواد مصرفی در تهیه اکستندر

نام ماده	میزان مصرف	توضیحات
آب مقطر	۱۰۰میلی لیتر	دوبار تقطیر
تریس	۲/۴۲گرم	
اسید سیتریک	۱/۴گرم	
فروکتوز	۱گرم	
گلیسیرین	۵میلی لیتر	
زرده تخم مرغ	۲۰میلی لیتر	
جنتامایسین	۰/۰۵میلی لیتر آنتی بیوتیک	
لینکواسپکتین	۰/۰۳میلی لیتر	آنتی بیوتیک
تایلوزین	۰/۰۰۳میلی لیتر	آنتی بیوتیک
نانوسیلور کلوئیدی	ppm ۰/۵و ۰/۱و ۰/۰۱میلی لیتر	سایز ۱۰نانومتر
نانوسیلور کلوئیدی	ppm ۱و۰/۱و ۰/۰۱میلی لیتر	سایز ۱۰ نانومتر
نانو سیلور کلوئیدی	ppm ۰/۱و ۰/۰۱میلی لیتر	سایز ۱۰نانومتر

پس از آماده سازی رقیق کننده، به تعداد تیمارها در فالکون‌هایی تقسیم بندی شدند. در هر فالکون به میزان ۱۰ میلی لیتر اکستندر ریخته شد.آنگاه یک فالکون به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. فالکون بعدی به عنوان تیمار آنتی بیوتیکدرنظر گرفته شد. فالکون‌های بعدی شامل تیمار نانو سیلور کلوئیدی بودند که با غلظت ۰/۵، ۱و ۲ قسمت در میلیون که همگی دارای سایز ۱۰نانومتر و به میزان ۰/۰۱و ۰/۱میلی لیتر به فالکونهای تیمار نانو سیلور اضافه شدند. برای ارزیابی نمونه منی مقدار ۲۰ میکرولیتر مایع منی را در ۲۰۰ میکرولیتر اکستندر مخلوط حاصل در زیر میکروسکوپ نوری مشاهده شد.و پس از ارزیابی با نرم افزار کاسا در صورت دارا بودن غلظت مناسب،کل نمونه‌ها رقیق شدند.اکثر نمونه‌ها در این آزمایش به نسبت ۱:۲۰ رقیق شدند (بسته به غلظت نمونه منی). از طریق نرم افزار کاسا پارامترهایی مانند زنده مانی، تحرک، حرکت پیش رونده و مورفولوژی اسپرمها با یکدیگر مقایسه و ثبت شد. سپس به ارزیابی تیمارها پس از ۱ساعت در دمای ۴درجه با نرم افزار کاسا پرداخته شد و پارامترهای نام برده مورد بررسی قرار گرفتند. ارزیابی نمونه اسپرمی به وسیله نرم افزار کاسا در چند منطقه میکروسکوپی از

هرنمونه انجام گرفت. سپس نمونه‌ها که به طور اولیه بمدت ۱ساعت در دمای ۴درجه سانتی گراد سرد شده بودند درون تانکهای انجماد منجمد شدند و ۲۴ ساعت بعد، پس از اقدامات یخ گشایی با نرم افزار کاسا از لحاظ زنده مانی، تحرک، حرکت پیش رونده و موروفولوژی بررسی شده و نتایج ثبت گردید. همزمان با ارزیابی اسپرمهای رقیق شده در دمای اتاق، از هرکدام از نمونه‌ها درون میکروتیوب‌های جداگانه برای انجام تست کلنی کنت نمونه برداری شد. نمونه‌ها کشت میکروبی داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور نگهداری شدند و پس از آن تست کلنی کنت و شمارش کلنی‌های ایجاد شده روی نمونه‌ها صورت گرفت.

اعداد بدست آمده از نرم افزار کاسا بطور خام به کامپیوتر داده شد و آنگاه تحلیل و مقایسه بین میانگین این اعداد با استفاده از نرم افزار SPSS16 و با در نظر گرفتن انحراف معیار انجام و میانگین و انحراف از معیار تحرک اسپرمی و حرکت رو به جلو در تیمارهای مختلف بدست آمد.

نتایج

نتیجه ارزیابی‌های صورت گرفته بر روی تیمارهای مختلف بیان کننده این مطلب بود که تغییرات غلظت و حجم نانو ذرات نقره کلوییدی بر روی تیمارهای ارزیابی شده در حالت تازه(دمای اتاق)تاثیرات معنا داری را به همراه نداشت که علت آن مکانیسم اثرگذاری نفوذی نانو ذرات نقره می‌باشد که یک مکانیسم زمان بر است که در تیمارهای مورد بررسی در حالت تازه، به دلیل نبودن زمان کافی اثر چندانی نداشت. اما در ارزیابی تیمارهای نگهداری شده در دمای ۴درجه سانتی گراد به مدت ۱ ساعت و تیمارهای منجمد شده به مدت ۲۴ ساعت، افزایش غلظت نانوذرات نقره کلوئیدی سبب افزایش سمیت گردیده و به دلیل داشتن زمان برای نفوذ نانو ذرات نقره به دیواره‌ی سلول‌های اسپرم، کاهش معنا دار میزان تحرک و حرکت پیش رونده‌ی اسپرم را در پی داشت. بنابراین افزایش غلظت و حجم نانوسیلور کلوئیدی باعث افزایش اثرات سمی بر روی سلول وکاهش زنده مانی سلول‌های اسپرم می‌شود. به طوری که بیشترین مرگ و میر اسپرمی در غلظت ۲ قسمت در میلیون در حجم ۰/۱میلی لیتر و پس از یخ گشایی مشاهده شد (جدول ۳و۲).

جدول۲- میانگین و انحراف از معیار تحرک و حرکت رو به جلوی اسپرمی در تیمارهای مختلف در حجم ۰/۱میلی لیتر نانو سیلور کلوئیدی

	تحرک اسپرمی								حرکت رو به جلوی اسپرمی							
	پس از یخ گشایی		۴درجه سانتی گراد		دمای اتاق		پس از یخ گشایی		۴درجه سانتی گراد		دمای اتاق		پس از یخ گشایی		۴درجه سانتی گراد		دمای اتاق	
	SE	AVG%	SE	AVG%	SE	AVG%	SE	AVG%	SE	AVG%	SE	AVG%	SE	AVG%	SE	AVG%	SE	AVG%
کنترل	±۲/۷	۴۲	±۴/۶	۸۰	±۴/۳	۹۱	±۱/۷	۳۲	±۳/۲	۷۰	±۴/۳	۷۹						
انتی بیوتیک	±۴/۱	۶۳	±۶	۸۲	±۳/۶	۸۹	±۲/۹	۴۴	±۱/۳	۷۵	±۳/۳	۸۱						
نانوسیلور0/5ppm	±۲/۳	۶۲	±۶/۲	۸۱	±۷/۱	۸۷	±۱/۶	۴۷	±۲/۵	۷۴	±۳/۶	۷۴						
نانوسیلور1ppm	±۴/۷	۳۶*	±۴	۵۹*	±۵/۲	۸۳	±۴/۸	۱۶*	±۲/۳	۴۷*	±۱/۴	۵۵*						
نانوسیلور2ppm	±۴/۴	۱۹*	±۲/۳	۲۷*	±۵/۵	۷۵*	±۲/۳	۰*	±۳/۵	۲۶*	±۲/۴	۴۳*						

در هر ستون اعداد ستاره دار از لحاظ آماری دارای اختلاف معنادار هستند.(p<0/05)

جدول۳- میانگین و انحراف از معیار تحرک و حرکت رو به جلوی اسپرمی در تیمارهای مختلف در حجم ۰/۰۱میلی لیتر نانو سیلور کلوئیدی

	تحرک اسپرمی								حرکت رو به جلوی اسپرمی							
	پس از یخ گشایی		۴درجه سانتی گراد		دمای اتاق		پس از یخ گشایی		۴درجه سانتی گراد		دمای اتاق		پس از یخ گشایی		۴درجه سانتی گراد		دمای اتاق	
	SE	AVG%	SE	AVG%	SE	AVG%	SE	AVG%	SE	AVG%	SE	AVG%	SE	AVG%	SE	AVG%	SE	AVG%
کنترل	±۲/۷	۴۲	±۴/۶	۸۰	±۴/۳	۹۱	±۱/۷	۳۲	±۳/۲	۷۰	±۴/۳	۷۹						
انتی بیوتیک	±۴/۱	۶۳	±۶	۸۲	±۳/۶	۸۹	±۲/۹	۴۴	±۱/۳	۷۵	±۳/۳	۸۱						
نانوسیلور۰/۵ ppm	±۳/۶	۵۵	±۴/۶	۷۷	±۳/۲	۹۰	±۵/۵	۴۰	±۱/۹	۷۰	±۴/۹	۷۷						
نانوسیلور۱ ppm	±۲/۱	۴۰*	±۲/۳	۵۴*	±۵/۳	۸۴	±۶/۵	۲۰*	±۵/۶	۵۰*	±۵/۲	۵۹*						
نانوسیلور۲ ppm	±۷/۷	۲۳*	±۵/۶	۳۱*	±۲/۳	۷۶*	±۴/۵	۲*	±۷/۶	۳۰*	±۸/۵	۴۷*						

در هر ستون اعداد ستاره دار از لحاظ آماری دارای اختلاف معنادار هستند.(p<0/05)

در ارزیابی خواص ضد میکروبی نانوذرات نقره به بررسی هر نمونه و شمارش تعداد کلنی‌های تشکیل شده پرداخته شد. در حقیقت هر کلنی تشکیل شده از ۱۰۰۰باکتری با واحد ul/mL می‌باشد. ارزیابی‌های انجام شده در مورد میزان آلودگی میکروبی در تیمارهای مختلف بیان کننده این مطلب بود که با افزایش غلظت و حجم نانو ذرات نقره، کاهش معناداری در میزان آلودگی میکروبی تیمارهای نانو نقره کلوئیدی بوجود می‌آید(جدول ۵و ۴).

جدول۴- میانگین و انحراف از معیار تعداد کلنی‌های میکروبی در تیمارهای مختلف در حجم ۰/۱میلی لیتر نانوسیلورکلوئیدی

	AVG%	SE
کنترل	۵	±۱/۴۲
آنتی بیوتیک	۱	±۰/۶۱
نانوسیلور۰/۵ ppm	۰/۹	±۰/۱۱
نانوسیلور۱ ppm	۰*	۰
نانوسیلور۲ ppm	۰*	۰

اعداد ستاره دار از لحاظ آماری دارای اختلاف معنادار می باشند.(p<0/05)

جدول۵- میانگین و انحراف از معیار تعداد کلنی‌های میکروبی در تیمارهای مختلف در حجم ۰/۰۱میلی لیتر نانوسیلورکلوئیدی

	AVG%	SE
کنترل	۵	±۱/۴۲
آنتی بیوتیک	۱	±۰/۶۱
نانوسیلور۰/۵ ppm	۲	±۰/۶۳
نانوسیلور۱ ppm	۰/۴۹*	±۰/۰۵
نانوسیلور۲ ppm	۰*	۰

اعداد ستاره دار از لحاظ آماری دارای اختلاف معنادار می باشند.(p<0/05)

بحث

در آزمایشی که انجام شد از محلول نانو سیلور کلوییدی بر پایه الکلی در سه غلظت ۰/۵، ۱ و ۲ پی پی ام که دارای سایز ۱۰نانومتر بودند به میزان ۰/۱ و ۰/۰۱میلی لیتر در رقیق کننده اسپرم استفاده شد و اثرات غلظت نانو ذرات سیلور کلوئیدی بر روی میزان تحرک، حرکت رو به جلو و مورفولوژی اسپرم و همچنین میزان آلودگی رقیق کننده در سه مرحله در حالت تازه(دمای اتاق)، پس از ۱ساعت نگهداری در دمای ۴درجه سانتی گراد و پس از انجماد به مدت ۲۴ ساعت و یخگشایی مورد ارزیابی قرار گرفت و اثرات آن بر تحرک، حرکت رو به جلو، مورفولوژی و میزان آلودگی باکتریایی اسپرم مورد بررسی قرار گرفت.

در مطالعه‌ای بیان کرد که اثرات نانو نقره به سایز و دوز آن بستگی دارد و بر روی باکتری گرم منفی بیشتر از باکتری گرم مثبت می‌باشد(Mritunjisingh et al, 2008). هنچنیندر طی تحقیقاتی دیگر به این نتیجه رسید که نانو نقره باعث بیان ژنهایی می‌شود که مسئول آپوپتوسیس هستند(linkov et al, 2008).

بنابر این نانو نقره می‌تواند مضر باشد حتی اگر سمیتی نداشته باشد.همچنین محققین اظهار داشتند ROS و تولید رادیکال آزاد یکی از مکانیسم‌های اولیه از سمیت نانو ذرات می‌باشد که ممکن است فشار اکیسژنی،التهاب، آسیب دیدن پروتئینها، غشاها و DNA را نتیجه دهد.در تحقیق ما که بر روی اسپرم گاوی انجام شد تولید ROS و رادیکال‌های آزاد دارای اثرات سمیتی شدیدی بر روی سلول‌های اسپرمی بود.در حقیقت یکی از مشکلات کار با اسپرم، تولید رادیکال‌های آزاد توسط خود سلول‌های اسپرمی با گذشت زمان می‌باشد(Kulthong et al,2007).

یکی از دلایل مهم تیمار مایع منی و اضافه کردن رقیق کننده به مایع منی جلوگیری و کاهش سطح تولید رادیکال‌های آزاد می‌باشد. حال در اینجا همانطور که گفته شد از مکانیسم‌های اولیه سمیت ذرات نانو تولید رادیکال‌های آزاد است.

در نتایج ما مشخص شد در غلظتهای بیش از ۱ قسمت در میلیون محلول کلوئیدی نانو ذرات نقره حتی اضافه کردن رقیق کننده نیز نتوانست اثرات سمیتی نانو ذرات نقره را خنثی کند و نانو نقره منجر به مرگ سلول‌های اسپرمی شد.در این تحقیق وجود تیمار شاهد و مقایسه آن با تیمارحاوی نانو نقره در غلظتهای بالای ۱پی پی ام مشخص ساخت علت مرگ سلولهای اسپرمی در تیمارهای دارای این مقادیر از نانو نقره به دلیل وجود رادیکالهای آزاد حاصل از نانو ذرات می‌باشد زیرا اسپرم‌های موجود در تیمار شاهد که فاقد نانو ذرات بودند هنوز سالم بودند.

در مطالعه‌ای پیشنهاد کردند سمیت نانو نقره از طریق واکنش با میتو کندری در القاء روشهای آپوپتوسیس از طریق تولید ROS ، آنچه که باعث مرگ سلولی می‌شود،می باشد. همچنین پیشنهاد کردند که بین سایز نانو ذرات و اثرات ممانعتی بر روی میتوکندری رابطه وجود دارد.نانو ذرات کمتر از ۱۵ نانومتر سمیت بیشتری را نسبت به نانو ذرات بیشتر از ۵۵ نانو متر نشان می‌دهند (Carlson et al, 2008).

در تحقیقی اثر نانو نقره بر روی مورفولوژی سلول،عملکرد میتوکندری و تراوش غشاء مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد نانونقره در دوز بیش از ۰/۱ میلی لیتر منجر به اثراتی همچون نکروز و آپوپتوسیس سلولی می‌شود.نانو ذرات در دوز ۰/۱ تا ۰/۵ میلی لیتر زنده مانی سلول و عملکرد میتوکندریایی را کاهش می‌دهند(Braydich et al, 2008).

در تحقیق انجام گرفته میزان زنده مانی و حرکت پیش رونده‌ی اسپرم و در نتیجه میزان باروری آن در زمان ۱ساعت پس از اضافه کردن محلول نانو ذرات نقره به رقیق کننده و مایع منی در تیمارای مختلف کاهش چشمگیری نداشت اما در زمان پس از یخ گشایی به ویژه در غلظتهای بالای ۱ قسمت در میلیون میزان زنده مانی و حرکت پیش رونده اسپرم به طور معنی داری کاهش می‌یابد و تعداد اسپرم‌های مرده افزایش می‌یابد.

نتیجه گیری

نانو ذرات نقره کلوئیدی دارای خواص آنتی بیوتیکی بوده و از طرفی به دلیل آزاد کردن رادیکالهای آزاد دارای

اثرات سمی بر روی سلول زنده هستند که این عوامل با غلظت نانو ذرات ارتباط مستقیم داشته و با افزایش غلظت میزان اثر آنتی بیوتیکی و همچنین اثرات سمی بیشتر خواهد شد. با این حال محلول نانو سیلور کلوئیدی بر پایه الکلی اتیلن گلیکول با غلظت ۰/۵ قسمت در میلیون و در سایز ۱۰نانومتر با حجم ۰/۱میلی لیتر در ضمن دارا بودن خواص ضد میکروبی در حد آنتی بیوتیکها،آسیب چندانی از نظر زنده مانی و حرکت پیش رونده که دو شاخص مهم باروری هستند به اسپرم‌ها وارد نمی‌سازد و می‌تواند جایگزین مناسبی برای آنتی بیوتیکها در رقیق‌کننده‌های اسپرم باشد.

Reference

1. Abdelhakeam. A,Graham. E, Vazquez. I, 1991, Studies on the presence and absence of glycerol in unfrozen and frozen ram semen: fertility trails and the effect of dilution methods on freezing ram semen in the absence of glycerol. Cryobiology ;20: 36-42
2. Abou-Haila. A, D.R.P. Tulsiani ,2000,Mammalian sperm Acrosome:formation, contents ,and function.Archives of Biochemistry and Biophysics 379: 173-182.
3. Ahamed.M, Sidiqi MKJ,2007,Low level lead exposure and oxidative stress:current opinion.Clin chim Acta ;383:57-64
4. Ahamed M.,Alsalhi M.S. and Siddiqi M.K.J.: Clin. Chinm. Acta, 2010, 411, 1841-1848.
5. Ahmad R.Shahverdi, Ali fakhimi, Hamid R.Shahverdi ,Sara Minaian,2007 Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against Staphylococcus aureus and Escherichia coli, Nanotechnology, Biology,and medicine.
6. Atiken R.J,1995. Free radicals ,lipid peroxidation and sperm function.Reproduction ,fertility and Development 7:659-668.
7. Amman.R.P ,Cristane M.J and Squires E.L, 1987.Proteine in stallion seminal plasma.Journal of Reproduction and fertility.Supplement 35:113-120
8. Arore S.,Jain. J,Rajwade J.M and Paknikar K.M:Toxicol.Lett, 2008,179,93-100.
9. Asharani PV,Mun GK,Hande MP,Valiyaveettil S.2009,Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells.ACS Nano;3:279-290.
10. Ball.B.A.AT.Vo, and J.Baumber.2001.Generation of reactive oxygen species by equine spermatozoa.American journal of Veterinary Reserch 62:508-515.
11. Baker.M.A and R.J Aitken.2004,The importance of redox regulated pathways in sperm cell biology.Molecular and cellular Endocrinology 216:4754.
12. Baumber.J,B.Ball,C.G>gravance ,V.Medina,and M.C.veis-Morel.2000.The effect of reactive oxygen species on equine sperm motility, Viability, acrosomal integrity, mitochondrial membrane potential, and membrane lipidperoxidation.Journal of Andrology 21:895-902.
13. Benn, T.M and Westerhoff, P.(2008) Nano particle silver released into water from commercially available sock fabrics. Environ. Sci. Technol. 42:4133-4139.

14. Blom E.1950 Interpretation of spermatic cytology in bulls.Am Fertil Soc;1:223-30.
15. Carlson, C. et al.2008, Unique cellular interaction of silver nanoparticles:size dependent generation of reactive oxygen species. J.Phys. Chem. B 112,13608-13619.
16. Campell, R.C, Dott, H.M. and Glover , T.D. 1956 , Nigrosin-eosin as a stain fod differentiating the live and dead spermatozoa. Age. Sci.,48: 1-8.
17. Chatterjee S,Gagnon C.2001 , Production of reactive oxygen spesies by spermatozoa undergoing cooling, freezing and thawing. Mol Reprod Dev;50:451-458.
18. Choi, O. et al. 2008. The inhibitory effects of silver nanoparticles ,silver ions, and silver chloride on microbical growth.Water Res. 42:3066-3074.
19. Conner SD,Schmid SL. 2003 , Regulated of entery into the cell.Nature;422:37-44.
20. Courrol, L.C.et al. 2007, A simple method to synthesize silver nanoparticles by photo-reduction. Colloids Surf. A305,54-57.
21. Das I ,Ansari S,2009,Nanomatherial in science and thechnology , Journal of science & industrials research ;168:657-667.
22. Dott,H.M.1975.Morphology of stallion spermatozoa.Journal of Reproduction and fertility. Supplement 23:41-46.
23. Egorva E.M, Revina A,2000.Colloids and Surfaces A.V.168.P.87. Foot RH ,Brockett CC,Kaproth MT.2002,Motility and fertility of bull sperm in whole milk extender ,71:3-23.
24. Garner.D.P and L.Jost.1994.Viability assessment of mammalian sperm using SYBR-14and propidium iodide.Biology of Reprodution 53:267-284.
25. Carlson, C. et al.2008, Unique cellular interaction of silver nanoparticles:size dependent generation of reactive oxygen species. J.Phys. Chem. B 112,13608-13619.
26. Greulich C,Diendor J, Simon T, Eggeler G ,Epple M, Koller M.2010,uptake and intracellular distribution of silver nanoparticles in human mesenchymal stem cells.Acta Biomaterialia 65a;613-622.
27. Hafez, E.S.E. 1994,Sperm evaluation in Reproduction in farm animals Ed.Hafez E.S.E. Lea and Febiger, Philedelphia,USA, 405-423.
28. Oberdorster.G,Maynard.A,Donaldson.K,Castranova.V,Fizpatric.J,Ausman.K,2005,Priciples for

characterizing the potential human health effects from exposure to nanoparticles: elements of a screening strategе.part fiber Toxicol;2:8-17.

29. Ochepa. N.A,Olorunfemi. P.O,Ngwuluka.N.C,2009,Nano technology and drug delivery part!: Background and Aoolications; Tropical Journal of Pharmaceutical research;8:265-274.
30. Singh.M, Singh.S, Prasada S, Gambhir. I.S, 2006,nanotechnology in medicine and Antibacterial effect od silver nanoparticles ,Digest Journal of nanomaterials and Biostructures Vol.3,No.3,September 2008,p.115-122.
31. Panyam.J,Labhasetwar. V,2003,Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue.Adv Drug Delivery Rev ;55:329-47.
32. Parks. J.E, Gaham J.K. 1992.Effect of cryopreservation producers on sperm membrane. Theriogenology;38:209-222.
33. Peng, Y.S,Locke. S.Y,Nasr. M.E and Lio. T.P,Differential staining for live and dead sperm of honeybees.Physiol. Enotmol.,15:211-217.
34. .Jose Ruben Morones, Jose Luis Elechiguerra, Alejandra Camacho, Katherine Holt, Juan B Kouri, Jose Tapia Ramirez and Miguel Jose Yacaman, 2005,The bactericidal effect of silver nano particles
35. .Lackner, P.et al. (2008) Efficacy of silver nanoparticles-impregnated external ventricular drain catheters in patients with acute occlusive.hydrocephalus. Neurocrit. Care 8,360-365.
36. Mirshokraei,P. et al.(2011) The in vitro effects of nanosilver colloid on kinematic parameters of ram spermatozoa 32:124-34.
37. Roco.M.C,2003,Broader societal issues of nano technology ,Joiurnal of nano particles research; 5:181-189.
38. Vaidyanathan R.,Kalishwaralal K.Gopalram S.and Gurunathan E: Biotechnol.Adv,2009.27,924-937.
39. Watson PF,2000,The causes of reduced,fertility with cryopreseved semen,Anim,Repord Sci;60:81-92.
40. Yacaman.M.J,Ascecio,J.A.,Liu.H.B,Gardea-Torresdey.J,Vac.Sci.J,Technol.B 19.1091 (2001).

Effect of silver nanoparticles on fertility of cow's sperm

R.Damavandi Nejad[1],J.Yadi[2]* and M.R.Vaezi[3]

Received Date: 08/05/2015

Accepted Date: 11/07/2015

Abstract

Silver Nanoparticles atoms are those that have a diameter of about 1 to 100Nanomtr among many applications of silver disinfectant properties is important.

Artificial insemination is a management system for owners It has been recognized that the toxic effect of silver nanoparticles affect sperm In this research was replaced with antibiotic colloidal silver nanoparticles and the effects were examined.

The study of silver nanoparticles in ethylene glycol solution at concentrations of 5. 0, 1 and 2 ppm in the average size of 80 nm and 10 and 30 and 50 and 0.1 , 0.01 & 0.001 ml volumes and its effect on bovine semen was examined extender.

According to the research of nano silver colloidal solution based on ethylene glycol at a concentration of 0 . 5 ppm and 10 nm in size and volume ml of antibiotics and anti-microbial properties to survive and move forward with sperm damage .

And can be an alternative to antibiotics in Extender

All treatments at the zero time point after adding nano- silver extender , after storage at 4 ° C for 1 hour and 24 hours after freezing and thawing for the motility, viability , sperm move forward and morphology were examined.

Treatments in laboratory testing for bacterial contamination was assessed by colony

According to the research of nano silver colloidal solution based on ethylene glycol at a concentration of 0 . 5 ppm and 10 nm in size and volume 0.1ml of antibiotics and anti-microbial properties to survive , motility and move forward(progressive) with sperm damage .And can be an alternative to antibiotics in Extender.

Keywords: silver nanoparticles, semen extender, sperm, antibiotics

1- Department of Animal Science, Islamic Azad University, Karaj Branch, Karaj, Iran.

2- Department of Animal Science, Islamic Azad University, Saveh Branch, Saveh, Iran.

3-Material and Energy Research Institute, Karaj, Iran.

*Corresponding author:(amiryadi@yahoo.com)