تأثير نوع المخفف وفترات الخزن على بعض صفات السائل المنوي في الكباش العواسية

عبدالناصر ذنون محمود الخشاب
قسم الثرة الحيوانية، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل، العراق

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية تقييم أربع مخففات مختلفة لحفظ السائل المنوي ومعرفة تأثير نوع المخفف وفترات الخزن بالتبريد للسائل المنوي للكباش العواسية وتظمنت المخففات مايأتي : مخفف السترات – صفار البيض ومخفف الترس – صفار البيض ومخفف حليب الفرز البقري – صفار البيض والمخفف الجديد والمحور – صفار البيض . وكانت نسبة التخفيف (١:١٠) . وتم جمع السائل المنوي من ٦ كباش عواسية باستخدام المهبل الاصطناعي بمعدل قذفه واحدة اسبوعيا من كل كبش في الساعة التاسعة صباحا ولمدة ثلاثة أشهر (ايلول- تشرين الأول – تشرين الثاني) داخل الموسم التناسلي. تم حفظ السائل المنوي بعد تخفيفه بالمخففات بالتبريد عند درجة حرارة ٥ مْ في الثلاجة . وتم تقييم السائل المنوي المخفف والمبرد لمدة ٤ يوم من الخزن بالثلاجة ، وكانت نتائج الدراسة كما يأتي :

١ - وجد ان مخفف الترس – صفار البيض قد حافظ على نطف السائل المنوي المخفف للكباش العواسية بحركة فردية وحيوية أفضل معنويا من باقي المخففات .
٢ - حافظ مخفف الحليب والترس على اقل نسبة تشوهات نطف معنويا في السائل المنوي المخفف وكان الفرق معنويا مقارنة بمخفف السترات والمخفف الجديد والمحور.
٣ - ضعف كفاءة المخفف الجديد والمحور في حفظ نطف السائل المنوي المخفف مع حفاظه على مستوى حموضة خلال فترات الخزن أفضل من باقي المخففات الاخرى .
٤ - وجد ان لفترات الخزن تأثيرا معنويا خافظا لصفات السائل المنوي المخفف والمحفوظ بالتبريد وكان مخفف الترس الافضل في حفظ السائل المنوي طوال فترات الخزن بالتبريد .

المقدمة

ان تزايد أهمية التلقيح الاصطناعي في الأغنام كان سبب الباحثين في الاهتمام في تطوير الظروف الجيدة في حفظ وتخزين السائل المنوي بصورة سائلة بالتبريد أو بالتجميد وان إمكانية التخفيف وتخزين السائل المنوي للاغنام من شأنها ان تجعل تربية الأغنام أسهل بكثير وتمكنهم من نقل السائل المنوي إلى المزارع الكبيرة لإخصاب مجاميع كبيرة من النعاج وتحسين الاستفادة من الحيوانات المنوية المتفوقة (Milko واخرون ،٢٠٠٦). ان الإجراء الأكثر شيوعا على المدى القصير لتخزين السائل المنوي (ساعات الى ايام في درجة حرارة الثلاجة) يتطلب استخدام مخففات لتخفيف السائل المنوي للمحافظة على سلامة وحيوية النطف في المختبر . وان خزن السائل المنوي يتم عن طريق تمديد السائل المنوي بواسطة المخففات وهي ضرورية للمحافظة على نوعية السائل المنوي (Lopez واخرون، ٢٠٠٠ وkulaksiz واخرون ،٢٠١٢) وقد تجلى ذلك بامكانية تخزين السائل المنوي المخفف للكباش عدة ساعات أو أيام دون إضعاف قدرتها على البقاء والتسفيد. وان نجاح التلقيح الاصطناعي المستخدم في الاغنام ادى الى ضرورة إيجاد طرق جديدة لتخفيف السائل المنوي للكباش وضرورة خزنه سواء بالتبريد او التجميد ، وإمكانية استخدامه خارج الموسم التناسلي (Milko واخرون ،٢٠٠٦). وتساعد عملية التخفيف الى اطالة مدة بقاء النطف الحية وذلك لان المخفف له مميزات كثيرة منها احتواءه على مواد غذائية تجهز النطف بالطاقة واحتواءه على مركبات تعمل على حماية النطف من التأثيرات المؤذية للتبريد او التجميد (Chemineua واخرون ،١٩٩١).

ان المخففات المستخدمة في خزن وحفظ السائل المنوي طورت وفق المتطلبات الضرورية لحفظ السائل المنوي للكباش بصورة أفضل وأحسن، وان الخزن الناجح للسائل المنوي للكباش سواء بالتبريد او التجميد يعتمد على مكونات المخفف المستخدم وان المخفف الجيد والمناسب الذي يجهز النطف بمصدر للطاقة للحفاظ على الحيوانات المنوية والحموضة والضغط الازموزي المناسب والمشابه للازموزية في البلازما المنوية والوسط الطبيعي للنطف يعتبر الأساس الناجح في حفظ السائل المنوي بنجاح والحصول على نسبة خصوبة ومعدل حمل جيدة في التجارب الحقلية المستخدمة للسائل المنوي (Salamon و Maxwell ،٢٠٠٠ و Kulaksız وآخرون ،٢٠١٠). وان الدراسات المتوفرة حاليا تبين بأن هناك تباين بين المخففات

تاريخ تسلم البحث ٥ / ٨ / ٢٠١٢ وقبوله ١ / ١٠ / ٢٠١٢

المستعملة في توفر الشروط المناسبة في تخفيف وحفظ السائل المنوي بصورة تامة وكذلك التباين في تأثير فترات الخزن بالتبريد على حيوية النطف وإطالة قابلية إخصاب النطف او إيقاف حركتها وتفاعلاتها الايضية (Evans و Maxwell ،١٩٩٠).

تهدف الدراسة الحالية الى معرفة نوعية المخفف الأفضل المستخدم في حفظ السائل المنوي للكباش العواسية باستخدام عملية الخزن قصير الأمد بالتبريد بدرجة حرارة الثلاجة (٥ مْ) ولمدة (٠ ، ٢٤، ٤٨، ٧٢، ٩٦) ساعة من الخزن بالتبريد باستخدام أربع مخففات محددة لهذا الغرض ودراسة تأثير فترات الخزن في حفظ السائل المنوي للكباش العواسية.

مواد البحث وطرائقه

اجريت هذه الدراسة في حقل الحيوان / كلية الطب البيطري / جامعة الموصل . واستمرت ثلاثة أشهر (آب ، أيلول ، تشرين الأول) واستخدم فيها ٦ كباش عواسية تراوحت أعمارها ١,٥ ــ ٢ سنة وبمعدل وزن ٥٢ كغم وخضعت الكباش للظروف البيئية نفسها . قدمت العلائق المركزة بمقدار ١ كغم بوجبتين صباحية ومسائية واحتوت العليقة المركزة على المواد التالية :

الشعير ٦٥ ٪ ونخالة ٣٣ ٪ وحجر كلس ١ ٪ وأملاح وفيتامينات ١ ٪ وبلغت نسبة البروتين الخام ١٣,٣ ٪ والطاقة التأيضية ٢٧٢٦ كيلوسعرة /كلغم تم حسابها وفقا للخواجة وآخرون (١٩٧٨) وقدم العلف الخشن التبن بمعدل ٥٠٠ غم / حيوان / يوم . فضلا عن تقديم العلف الأخضر إن وجد مع توفر المياه بصورة حرة للحيوانات .

دربت الكباش لمدة ٣٠ يوم على جمع السائل المنوي قبل بدأ التجربة وباستخدام المهبل الصناعي وإجراء الفحوصات العيانية والمجهرية على السائل المنوي . واستخدمت نعاج عواسية مهيئة هرمونيا باستخدام هرمون الاستراديول بجرعة ٥ ملغم / رأس بالعضلة لإظهار علامات الشياع ولغرض تدريب الكباش على القفز وجمع السائل المنوي .بعد التأكد من كفاءة الكباش المستخدمة في إنتاج السائل المنوي الجيد والمطابق للمعايير العلمية ادخلت بالتجربة. واستخدم برنامج التلقيحات البيطرية المتبعة والعلاجات اللازمة للحفاظ على صحة الحيوان.

تصميم التجربة : استخدمت في هذه الدراسة ٦ كباش بعد تدريبها على المهبل الاصطناعي وتم جمع السائل المنوي منها مره واحدة اسبوعيا من كل حيوان وطيلة فترة التجربة. جمع السائل المنوي باستخدام المهبل الاصطناعي الخاص بالكباش في انبوبة الجمع (أنبوبة اختبار مرقمة) ونقلت أنابيب الجمع بوعاء غير شفاف إلى مختبر التحليل الموجود في الحقل اذ وضعت العينات في حمام مائي على درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية . تم تقسيم قذفة السائل المنوي المجموع إلى أربعة أقسام متساوية حيث تم تخفيفها بعد ذلك بالمخففات التالية التي تم تحضيرها كما موضحة في الجدول (١).

تحضير المخففات : تم تحضير مخففات الترس – صفار البيض ومخفف السترات – صفار البيض ومخفف الحليب الفرز – صفار البيض حسب طريقة Salamon و Maxwell (٢٠٠٠) ، بينما حضر المخفف الرابع حسب طريقة Verberckmoes واخرون (٢٠٠٥) الذي يستخدم لاول مرة في العراق ، اذ استخدم هذا المخفف من قبل الباحث للثيران ، وتم تحضير هذا المخفف مع تغيير في نسب بعض مكوناته المذكورة من قبل الباحث.

خزن السائل المنوي : تم خزن السائل المنوي بعد تخفيفه بالمخففات المراد دراستها لفترة (٠، ٢٤، ٤٨، ٧٢، ٩٦) ساعة بالثلاجة عند درجة حرارة ٥ مْ . تم دراسة وتقييم السائل المنوي المحفوظ بالمخففات المدروسة والمخزن خلال الفترات السابقة بالتبريد باجراء الفحوصات التالية :

قياس النسبة المئوية للحركة الفردية للنطف ونسبة النطف الحية والتشوهات الثانوية للنطف والاس **الهيدروجيني (درجة الحموضة)**: اذ تم قياس هذه الصفات حسب الطريقة التي ذكرها (Chemineau وآخرون ، ١٩٩١) وباستخدام صبغات الايوسين (١ ٪) والنكروسين (٥ ٪) في حساب نسبة النطف الحية وصبغة الفاست كرين الخضراء (١٪) لتشخيص التشوهات الثانوية للنطف وتم تحضير هذه الصبغات حسب طريقة الباحث (Well و Awa ،١٩٧٠) كما قيست الدالة الحامضية باستعمال جهاز pH- meter الكهربائي نوع Digital بعد الجمع مباشرة . حللت النتائج احصائيا باستخدام التصميم العشوائي الكامل (CRD) وباستخدام تجربة عاملية ذات عاملين ، واستعمل برنامج التحليل الاحصائي الجاهز (Anonymous ، ٢٠٠٥) لتحليل البيانات . ووفق النموذج الرياضي التالي:

$$Yijk = \mu + Ti + Bj + (TB)ij + eijk$$

الجدول (١) : مكونات المخففات المستخدمة في حفظ السائل المنوي

اسم المادة	مخفف السترات ١	مخفف الترس ٢	مخفف الحليب الفرز ٣	مخفف الجديدوالمحور ٤
ترس (غم)		٣,٦٣		٣,٦٣٠
كلوكوز (غم)	٠,٥٠		١	٠,٢٠٠
فركتوز (غم)		٠,٥٠	١	٠,٩٠٠
سترات الصوديوم (غم)	٢,٣٧			
حامض الستريك (غم)		١,٩٩		١,٩٠٠
حليب فرز (٪)			٨٠	
كلوريد الصوديوم (غم)				٠,١٢٧
كلوريد الكالسيوم (غم)				٠,٠٠٦
بيكاربونات الصوديوم (غم)				٠,١٠٠
صفار البيض (v/v مل)	١٥	١٤	١٠	١٠
البنسلين (IU/ml)	١٠٠٠	١٠٠٠	١٠٠٠	١٠٠٠
ستربتومايسين (ملغم)	١٠٠	١٠٠	١٠٠	١٠٠
ماء مقطر غير متأين	١٠٠	١٠٠	١٠	١٠٠

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود اختلافات معنوية (أ ≥ ٠,٠١) بين المخففات حيث أعطى مخفف الترس أعلى حركة فردية للنطف بلغت ٧١,٣٩ ٪ تلاه مخفف الحليب الفرز بنسبة ٦٩,٩٠ ٪ خلال فترات (صفر،٢٤ ، ٤٨ ،٧٢، ٩٦ ساعة) من الخزن بالتبريد بدرجة حرارة ٥مْ وكانت مختلفة معنويا عن مخفف السترات والمخفف الجديد والمحور اللذان حافظا على نسبة حركة فردية للنطف بلغت ٦٧,٤٢ و ٦٢,٢٢ ٪ على التوالي جدول (٢)، كما أظهرت فترات الخزن بالتبريد تأثيرا معنويا (أ ≥ ٠,٠١) حافظا للحركة الفردية للنطف كلما زادت فترة الخزن ، اذ كانت نسبة الحركة الفردية للنطف ٨٨,١٢ ٪ عند الساعة صفر وانخفضت معنويا الى النسبة ٤٥,٠٧ ٪ عند الساعة ٩٦ من الخزن بالتبريد الجدول (٣).

الجدول (٢) : تأثير نوع المخفف في بعض صفات السائل المنوي للكباش العواسية (المتوسط ± الخطأ القياسي)

الصفات / المخفف	الحركة الفردية للنطف ٪	النطف الحية ٪	النطف المشوهة ٪	درجة الحموضة pH
السترات	٦٨,٧٨ ± ١,٨٩ ب	٧٠,٥٠ ± ١,٦٧ ب	١١,٥٦± ٠,٣٤ أ	٦,٣٩ ± ٠,٠٨٨جـ
الترس	٧١,٧٨ ± ١,٤٤ أ	٧٢,٩٥ ± ١,٠٣ أ	١١,٣١ ± ٠,٦٧ ب	٦,٤٤ ± ٠,٠٣٦ ب
الحليب الفرز	٧٠,٨٠ ± ١,٢٥ أ	٧٢,٤٦ ± ٠,٧٦ أب	١٠,٤٣± ١,٠٣ ب	٦,٤٣ ± ٠,٠٣٣ب
الجديد والمحور	٦٤,٧٨ ± ٢,٠٤ جـ	٦٧,٤١ ± ١,٧٤ جـ	١١,٩٧ ± ٠,٧٤ أ	٦,٥٥ ± ٠,٠٥٣ أ

الحروف العربية المختلفة عموديا تدل على وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمال (أ ≥ ٠,٠١)
عدد المشاهدات = ٧٢

كانت النتائج متفقة مع Salamom و Maxwell (٢٠٠٠) و Paulenz وآخرون (٢٠٠٥) و Gundogan وآخرون (٢٠٠٩) اذ اشاروا الى تفوق مخفف الترس على باقي المخففات ولم تتفق مع Yanize (٢٠٠٨) و Salvador وآخرون (٢٠٠٧) و Kulaksiz وآخرون (٢٠١٢) الذين أشاروا إلى تفوق مخفف الحليب – صفار البيض في حفظ السائل المنوي للكباش والماعز على مخفف الترس والسترات ، في حين لم يجد Lopez وآخرون (١٩٩٩) أي اختلاف معنوي بين مخففات الترس والسترات والحليب الفرز في حفظ السائل المنوي المخفف بالتبريد بدرجة حرارة ٤مْ . كما أظهرت النتائج ان لفترات الخزن تأثيرا معنويا على الحركة الفردية للنطف وأفضلية مخفف الترس في المحافظة على حيوية النطف ونسبة حركة فردية أعلى معنويا من باقي المخففات المستخدمة خلال فترات (٠، ٢٤، ٤٨ ، ٧٢، ٩٦ ساعة) تحت ظروف درجة حرارة

الثلاجة ٥ مْ ، وقد يعود ذلك الى احتواء المخفف على مادة الترس وهو من أهم مكونات المخفف اذ انه ينتشر في داخل خلية النطف ويعمل كمادة دارئه داخل الخلية Intracellular buffer اذ ان السعة الدارئة Buffer capacity لهذا المخفف تتراوح بين ٧ – ٩ لذلك فان له القابلية على ادمصاص Adsorption الغازات الناتجة وتقليل الحموضة المتكونة إذ يعمل الترس كمحلول منظم داخلي لذلك فانه يعمل على الحفاظ على درجة الحموضة pH بين ٦ – ٧ (Chamineau وآخرون ،١٩٩١ و Pintado و Perez ،١٩٩٢) كما انه يعمل على توفير ضغط ازموزي مناسب للوسط الذي تتواجد فيه النطف وبمساعدة سكر الفركتوز المضاف إليه الذي يساعد في المحافظة على الضغط الازموزي فضلا عن كونه مصدرا للطاقة الضرورية لحياة النطف Salamon و Ritar (١٩٨٢) و Shamsuddin و Chanda (١٩٩٨) وربما يعود هذا الاختلاف عند الباحثين أيضا إلى الاختلاف في نوع المخفف وتركيز مادة الترس ونسبة التخفيف وفترة الخزن ودرجته ونسبة صفار البيض في المخفف (Paulenz واخرون ،٢٠٠٥) . كما أظهرت النتائج أفضلية مخفف الحليب الفرز – صفار البيض الذي حافظ على حركة فردية للنطف كانت أعلى معنويا من الحركة الفردية للنطف التي حصل عليها في مخفف السترات – صفار البيض في خلال فترات الخزن بالتبريد وجاءت النتائج متفقة مع Blackshaw (١٩٦٠) و Deka و Rao (١٩٨٠أ) و Lyanize واخرون

الجدول (٣) : تأثير فترات الخزن في بعض صفات السائل المنوي للكباش العواسية (المتوسط ± الخطأ القياسي)

الصفات / فترات الخزن (ساعة)	الحركة الفردية للنطف ٪	النطف الحية ٪	النطف المشوهة ٪	درجة الحموضة pH
صفر	٨٩,٧٢ **± ١,٤٤** أ	٨٧,٨٢ **± ١,٠٥** أ	٩,١٦ **± ٠,٤٤** د	٦,٦٦ **± ٠,٢٥** أ
٢٤	٨١,٩٧ **± ٢,٠٤** ب	٨١,٣٧ **± ١,٠٠** ب	١٠,٣٣ **± ١,٠٣** جـ د	٦,٥٧ **± ٠,٠٣٣** ب
٤٨	٧٠,٩٧ **± ٣,٧٥** جـ	٧٢,٥٣ **± ١,١٢** جـ	١١,٣١ **± ٠,٦٧** ب جـ	٦,٤٧ **± ٠,٢١** جـ
٧٢	٥٦,٨١ **± ٢,٥٠** د	٦١,٠٩ **± ٣,٠٣** د	١٢,٣٦ **± ٠,٧٣** ب	٦,٣٥ **± ٠,٠٨٨** د
٩٦	٤٥,٧٠ **± ٢,٣٩** هـ	٥١,٣٤ **± ٣,٩٠** هـ	١٣,٤٣ **± ٠,٣٧** أ	٦,٢١ **± ٠,١٧٨** هـ

الحروف العربية المختلفة عموديا تدل على وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمال (أ ≤ ٠,٠١)
عدد المشاهدات = ٧٢

(٢٠٠٨) ولم تتفق مع Gundogan و Demirici (٢٠٠٣) و Gundogan واخرون (٢٠٠٩) الذين أشاروا إلى أن مخفف السترات حافظ على حركة فردية للنطف أعلى من ٥٠ ٪ خلال أربعة أيام من الخزن بالتبريد بينما حافظ مخفف الحليب الفرز – صفار البيض على حركة فردية اكبر من ٥٠ ٪ خلال ثلاثة أيام . وقد يعود السبب في أفضلية مخفف الحليب الفرز عن مخفف السترات والمخفف الجديد الى الطبيعة الفيزياوية ووجود مواد في الحليب الفرز تحافظ على ديمومة وحيوية النطف ولاسيما عند اضافة صفار البيض إليه إذ أن وجود صفار البيض في المخفف أعطى تأثيرا مفيدا ربما يعود إلى زيادة مستوى الكهارل Electrolytes المجهزة من قبل صفار البيض التي تعتبر كميات جيدة من ايونات الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم (Yassen و Foote ،١٩٦٧) وان دور صفار البيض هنا ربما يعود إلى وجود البروتينات الدهنية Lipoprotiens وبصوره رئيسة الليسثين Licithin الذي يبلغ تركيزه في صفار البيض بحدود ٦- ٨ ٪ والذي يمتلك سعة تعادلية عالية للاتحاد مع المواد المؤذية للنطف ومن ثم تغير درجة إذابتها ، كما أن الشد السطحي لمادة الليسثين لها أهمية كبيره في حفظ شكل غشاء الخلية ووظيفتها (Miller وMayer ،١٩٦٠ و Saacke ،١٩٩٣ و Mohsen واخرون ،٢٠٠٩) كما يعد مصدرا غذائيا جيدا للنطف (Roca وآخرون ،١٩٩٧) كذلك وجود سكر الكلوكوز في تركيب مخفف الحليب الفرز – صفار البيض الذي يساعد في المحافظة على الضغط الازموزي فضلا عن كونه مصدرا مهما للطاقة الضرورية لحياة النطف (Salamon و Ritar ،١٩٨٢ و Shamsuddin و Chanda ،١٩٩٨) .

كما أظهرت نتائج التحليل الاحصائي لصفة النطف الحية وجود اختلافات معنوية (أ ≤ ٠,٠١)بين المخففات حيث لاحظ أن مخفف الترس أعطى أفضل نسبة نطف حية بلغت (٧٢,٠٨ ٪)تلاه مخففي الحليب الفرز والسترات بنسبة نطف حية بلغت (٧٠,٩٣ و ٦٨,٢٥ ٪) على التوالي بينما أقل حركة فردية كانت في المخفف الرابع (٦٥,٠١ ٪) خلال الخزن بالتبريد جدول (٢). كما أظهرت فترات الخزن تأثيرا معنويا (أ ≤ ٠,٠١)على نسبة النطف الحية جدول (٣) اذ كانت نسبة النطف الحية ٨٥,٩١ ٪ عند الساعة صفر وانخفضت الى ٤٩,٩٢ ٪ عند الساعة ٩٦ من الخزن بالتبريد بدرجة حرارة ٥ مْ . وجاءت النتائج متفقة مع ماذكره Azawi وآخرون (١٩٩٣) الذي أشار الى تفوق مخفف الترس – صفار البيض على باقي المخففات

في الحصول على نسبة نطف حية أعلى من باقي المخففات ، في حين لم تتفق النتائج مع Shamsuddin (٢٠٠٠) و Yaniz وآخرون (٢٠٠٨) الذين أشاروا إلى تفوق مخفف السترات – صفار البيض في الحصول على نطف حية أعلى من مخفف الترس – صفار البيض . إن أفضلية مخفف الترس – صفار البيض عن باقي المخففات يعود الى وجود مادة الترس كدارئ مفيد في المحافظة على حيوية النطف ، كما أظهرت النتائج تفوق مخفف الحليب الفرز – صرفار البيض في المحافظة على نسبة نطف حية أعلى من مخفف السترات والمخفف الجديد في فترات الخزن المختلفة من التبريد واتفقت النتائج مع Black shaw (١٩٦٠) وDeka و Rao (١٩٨٠ب) في حين لم تتفق مع Shamsuddin (٢٠٠٠) و Gundogan و Demirici (٢٠٠٣) ويعود أفضلية مخفف الحليب الفرز على مخفف السترات والمخفف الجديد إلى الطبيعة الفيزياوية للحليب ووجود مواد فيه مثل بروتينات الحليب وسكر الحليب التي تبقي ديمومة النطف وحيويتها (Deka و Rao ،١٩٨٠ب).

كما اظهر التحليل الإحصائي تأثيرا معنويا (أ ≥ ٠,٠١) للمخففات على نسبة تشوهات النطف الثانوية ، إذ أن أقل نسبة تشوهات كانت في مخفف الحليب الفرز (١٠,٩١ ٪) وأعلى نسبة تشوهات كانت في المخفف الرابع (١٣,٤٨) خلال فترات الخزن بالتبريد جدول (٢). كذلك كان لفترات الخزن تأثيرا معنويا (أ ≥ ٠,٠١) على تشوهات النطف الثانوية حيث ارتفعت نسبتها من ١٠,٥٧ ٪ عند الساعة صفر من الخزن إلى ١٤,٢١ ٪ عند الساعة ٩٦ من الخزن بالتبريد جدول (٣) . واتفقت النتائج مع Yaniz واخرون (٢٠٠٨) ولم تتفق مع Gundogan (٢٠٠٣) و Kulaksiz واخرون (٢٠١٢) ، ويعود سبب تفوق مخفف الحليب الى وجود مواد مثل البروتينات وسكر اللاكتوز في الحليب تبقي ديمومة وحيوية النطف وانخفاض في نسبة التشوهات الثانوية (Shamsuddin و Chanda ،١٩٩٨)، كذلك فان تفوق مخفف الترس جاءت متفقة مع EL- Menoufy واخرون (١٩٨٢) و Azawy وآخرون (١٩٩٣) ويعود ذلك الى التأثير المفيد لمجموعة مكونات هذا المخفف فضلا إلى أفضلية السعة الدارئة له وانه يخترق بسهولة خلية النطفة ويؤدي دور الدارئ داخل الخلية (Sengupta و Chaube ،١٩٧٢).

كذلك أظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود اختلاف معنوي (أ ≥ ٠,٠١) في الأس الهيدروجيني (درجة الحموضة) PH اذ حافظ المخفف الرابع على درجة حموضة بلغت ٦,٥٥ واختلفت معنويا عن مخفف الترس ٦,٥٠ ومخففي السترات والحليب الفرز والتي لم يكن هناك اختلاف معنوي بينها جدول (٢) ، وكان لفترات الخزن تأثيرا معنويا (أ ≥ ٠,٠١) على درجة الحموضة للسائل المنوي المخفف إذ بلغت درجة الحموضة ٦,٦٨ عند الساعة صفر من الخزن وانخفضت معنويا إلى درجة حموضة ٦,٢٧ عند الساعة ٩٦ من الخزن بالتبريد جدول (٣). يعود السبب في المحافظة على الأس الهيدروجيني في المخفف الجديد والمحور اعلى من باقي المخففات الى وجود دارئ بيكاربونات الصوديوم الداخلة في تركيب المخفف التي تقلل من انتاج حامض اللبنيك Lactic acid (Bhela واخرون ،١٩٨١) ، كذلك مخفف الترس الذي له أفضلية سعة دارئة عن باقي المخففات (Azawi واخرون ، ١٩٩٣). ان الاختلافات بين كلا المخففات وفترات الخزن ربما يعود الى الاختلاف في محتويات المخففات وخصوصا في نسبة السكر (الكلوكوز والفركتوز) ونسبة صفار البيض ومحتوياته من البروتين الزيتي والتي كان لها دور ايجابي في المحافظة على حيوية النطف في المخفف وان انخفاض حيوية ونوعية السائل المنوي المخفف عن السائل المنوي الخام أو قبل الخزن يعود الى النشاط الايضي للنطف خلال الخزن، اذ ان خزن السائل المنوي بصورة سائلة بالتبريد بدرجة ٤م° ادى الى حصول انخفاض في النشاط الايضي في نطف السائل المنوي المخفف (Gundogan واخرون ، ٢٠٠٩) وبالتالي ادى ذلك الى حصول انخفاض تدريجي في حيوية وحركة النطف وشكل النطف خلال فترات الخزن بالتبريد (Graham وآخرون ،١٩٧٨ و Menchaca وآخرون ،٢٠٠٥). اذ ان الخزن عند درجة ٥م° لايتم فيها ايقاف عملية الايض الغذائي للنطف بصورة كاملة او تامة وان تراكم المواد السامة بما فيها الجذور الحرة الناتجة من عمليات الايض الغذائي واكسدة الدهون في جدار النطف ، ربما ادت الى الاضرار التي لحقت بالنطف في المخففات وان تأثير هذه المركبات السامة للنطف تضمنت فقد في حركة النطف وتثبيط في تحلل سكر الفركتوز وعملية التنفس الهوائي وحصول تشوهات في النطف (Dunnet ،١٩٨٠) ، بالرغم من ان زيادة نسبة صفار البيض في المخفف حسن أو قلل من سمية النطف في السائل المنوي المخزن بالتبريد وتخفيف صدمة البرودة (Salamon وMaxwell ، ٢٠٠٠) ، نستنتج من هذه الدراسة بان مخفف الترس ـ صفار البيض كان أفضل المخففات في المحافظة على نوعية السائل المنوي المخفف وحركة نطف ونسبة حيوية نطف أكثر من ٥٠ ٪ خلال ٩٦ ساعة من الخزن بالتبريد

بصورة سائلة بدرجة حرارة ٥م° تلاه مخفف الحليب الفرز ــ صفار البيض مقارنة بباقي المخففات الاخرى ، كما ان مواصفات السائل المنوي انخفضت طبيعيا خلال فترات الخزن (صفر ــ ٩٦ ساعة) بالتبريد.
وكان للتداخل تأثيرا معنويا (أ ≥ ٠,٠١) على صفات السائل المنوي المدروسة (جدول ٤) اذ حافظت المخففات على أفضل حيوية وحركة فردية للنطف عند الساعات الأولى من الخزن وانخفضت قيم هذه الصفات تدريجيا مع ارتفاع في نسبة تشوهات النطف وحموضة المخففات خلال فترات الخزن بالتبريد من صفر ـ ٩٦ ساعة . إن انخفاض حيوية ونشاط النطف في مخففات السائل المنوي خلال فترات الخزن بالتبريد يعود إلى النشاط الايضي للنطف خلا ل الخزن بالتبريد وتكون حامض اللاكتيك الناتج من ايض النطف مع تراكم المواد السامة والجذور الحرة الناتجة من عمليات الايض الغذائي وأكسدة الدهون في جدار النطف (Gundogan، ٢٠٠٩) مما يؤدي إلى ارتفاع حموضة المخفف وانخفاض تدريجي في حيوية وحركة النطف خلال فترات الخزن بالتبريد (Menchaca وآخرون، ٢٠٠٥).

الجدول (٤) : تأثير التداخل بين نوع المخفف وفترات الخزن في بعض صفات السائل المنوي للكباش العواسية (المتوسط ± الخطأ القياسي)

المعاملات / الصفات		الحركة الفردية للنطف ٪	النطف الحية ٪	النطف المشوهة ٪	درجة الحموضة pH
نوع المخفف	فترة الخزن (ساعة)				
السترات	صفر	٨٧,٧٨ ±١,٤٤ أب	٨٥,٢٥ ±١,٧٥ أب	١٠,٠٢ ±١,٠٣ ط ي	٦.٦٤ ± ٠,٠٣٧ جـ
	٢٤	٧٧,٧٨ ±١,٤٤ جـ د	٧٨,٨١ ±١,٠٠ جـد	١١,٤٧ ±٠,٦٧ دح	٦,٥٦ ± ٠,٠٣٥ د
	٤٨	٦٨,٣٤ ±١,٢٥ هـ و	٦٩,٣٤ ±١,٧٤ دهـ	١٢,٤١ ±٠,٦٧ ب-و	٦,٤٧ ± ٠,٠٦٣ و
	٧٢	٥٧,٣٩ ±٢,٨٨ ح ط	٥٨,٩٦ ±١,٨٠ و	١٢,٢٥ ± ٠,٥٨ ب جـ د	٦,٣٤ ± ٠,١٢٠ ح ط
	٩٦	٤٥,٨٣ ±٢,٣٩ ي	٤٨,٩١ ±٢,٣١ زح	١٤,٧٧ ± ٠,٤١ أب	٦,٢٠ ±٠,١٧٨ ك ل
الترس	صفر	٨٩,١٧ ±٠,٠١ أ	٨٦,٦٢ ±٠,٧٦ أب	٩,٦٦ ± ٠,٣٦ ح ي	٦,٦٨ ± ٠,٠٢٧ ب
	٢٤	٨٢,٧٨ ±١,٤٤ ب جـ	٨١,٠٣ ±١,٠٠ ب جـ	١٠,٦٨ ±٠,٣٢ وط	٦,٦٢ ± ٠,٠٣٥ جـ
	٤٨	٧٣,٠٦ ±١,٢٥ دهـ	٧٣,٤٩ ±١,١٤ جـ د	١١,٦٠ ± ٠,٣٤ هـ ط	٦,٥٢ ± ٠,٠٥٩ هـ
	٧٢	٦٠,٨٤ ±١,٢٥ زح	٦٣,٨١ ±٢,١٤ هـ و	١٢,٦١ ±٠,٤٦ جـ-و	٦,٤٠ ± ٠,٠٦٩ ح
	٩٦	٥١,١١ ±٠,٠١ ط ي	٥٥,٤٤ ±٢,٦١ زح	١٢,٧١ ± ٠,٢٢ ب جـ د	٦,٢٨ ± ٠,١٤٠ ي
الحليب الفوز	صفر	٩٠,٥٦ ±١,٢٥ أ	٨٦,٩٢ ±١,٠٣ أ	٨,٤٩ ±٠,١٩ ي	٦,٦٥ ± ٠,٠٢٠ جـ د
	٢٤	٨٣,٦٦ ±٢,٠٤ أب	٨٢,٥٩ ±١,٢٤ أب	٩,٦٢ ±٠,٤١ ح-ط	٦,٥٦ ± ٠,٠٣٣ د
	٤٨	٧٢,٥٠ ±٢,٥٠ دهـ	٧٣,٦٠ ±٢,٣٥ د	١١,٢١ ±٠,١٨ هـ-ط	٦,٤٤ ± ٠,٠١٧ و ز
	٧٢	٥٧,٢٣ ±١,٤٤ ح	٦١,٣٨ ±٣,٠٣ وز	١١,٨٦ ±٠,٤٤ جـ-و	٦,٤٤ ± ٠,٠٣٦ و ز
	٩٦	٤٥,٥٦ ±٢,٨٨ ي	٥٠,١٧ ±٢,٩٥ ح	١٣,٣٨ ±٠,٣٧ ب – هـ	٦,٢٢ ± ٠,٠١٩ ك
الجديد والمحور	صفر	٨٥,٠٠ ±٢,٠٤ أب	٨٤,٨٦ ±٢,٧٨ أب	١٤,١٣ ± ٠,٤٨ ز-ط	٦,٧٤ ± ٠,٠٦٢ أ٠
	٢٤	٧٥,٠٠ ±٣,٧٥ جـ د	٧٥,٨٢ ±٣,٨١ جـ د	١١,٨٩ ±٠,٧٤ د-ز	٦,٦٤ ±٠,٠٦٩ جـ
	٤٨	٦٣,٦١ ±٢,٨٨ وز	٦٥,١٤ ±٣,٨٩ هـ و	١٢,٤٠ ±٠,٧٣ ب – هـ	٦,٥٦ ± ٠,٠٧٥ د
	٧٢	٤٩,٧٢ ±٤,٠٨ ط ي	٥٤,٠٤ ±٣,٩٠ زح	١٣,٩٩ ±٠,٩٢ ب جـ	٦,٤٥ ± ٠,٠٨٣ و ز
	٩٦	٣٧,٧٨ ±٤,٧٨ ك	٤٥,١٨ ±٣,٦٩ ط	١٥,٠٠ ±١,٠١ أ	٦,٣٧ ± ٠,٠٨٨ ح

الحروف العربية المختلفة عموديا تدل على وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمال (أ ≥ ٠,٠١)
عدد المشاهدات = ٧٢

EFFECT OF DILUENT TYPE AND PRESERVATION PERIODS ON SOME SEMEN CHARACTERESTICS OF AWASSI RAMS.

ABDULNASIR THNOON MAHMOOD ALKASHAB
Animal Resources Dep. College of Agri.& Forestry
University of Mosul

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate some diluents and effects of type of diluents and preservation periods of Awassi ram semen. The diluents included egg yolk-sodium citrate, Tris fructose –egg yolk ,Skim milk-egg yolk and new modified diluents. Dilution rate was (1:10) and semen samples were collected with artificial

vagina , one ejaculate per week for 3 months (September , October, and November) in the breeding season and preserved at 5^{o}C for 4 days to evaluated the changes in daily spermatozoa, Individual motility , percentage of alive sperm, pH, and sperm abnormalities. Total ejaculates were collected from 6 Awassi Rams with weight mean 54 kg and aged 1.5- 2 years. Results of the present study showed:

1- Tris fructose – egg yolk diluent was preserved significantly ($p \leq 0,01$) to the sperms in semen's diluent of Awassi Rams and was superior ($p \leq 0,01$) than other diluents in spermatozoa individual motility, percentage of alive sperm than other dilutions.
2- Tris fructose – egg yolk and skim milk – egg yolk diluents were less significant ($p \leq 0,01$) with degree of sperms abnormality in diluted semen than Sodium citrate (SC) and modified dilutions .
3- Decrease the efficiency of Modified dilution for preserving the sperms of diluted semen with keeping good level of acidity (pH) than other dilutions.
4- The preservation periods had a significant effect on diluted and cooling semen characteristics, however the Tris fructose – egg yolk was superior dilution for preserving Awassi semen at 5^{o}C for 4 days.

المصادر

الخواجة ، علي كاظم وإلهام عبدالله البياتي وسمير عبد الأحد (١٩٧٨) التركيب الكيمياوي والقيمة الغذائية لمواد العلف العراقية. الطبعة الثالثة. قسم التغذية- وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي. جمهورية العراق.

Anonymous.(2005). Statistical Analysis system. Users Guide For Personal Computer Rslease. 8, 2, SAS institute, Inc., Cary, Nc, USA

Azawi,O.I.; S.Y.A., AI- Dahash and F.T.Juma(1993). Effect of different diluents on Shami goat semen. Small Ruminant Research.9:347-352.

Bhela, S.L.; B.P. Sengupta and M.N. Razdan.(1981). Effect of buffers on motility, livability and metabolism of buffalo spermatozoa. Indian. J. Anim.Sci. 51(10): 926- 930.

Blackshaw , A.W. (1960). The effect of milk diluent on the livability ram spermatozoa and their revival after freezing. Aust. Vet.36:432-435.

Chemineau, D.; Y. Cogine;Y. Guerin; P. Orgeure and J.C. Valtet (1991). Training manual on Artificial insemination in sheep and goat. FAO. Animal Productive and health, 3: 83- 90.

Deka, B.B.; A.R. Rao(1980 a). Preservation of ram semen. Indian Vet. J., 57: 130-134.

Deka, B.B.; A.R. Rao(1980 b). Effect of extenders on the biometrics of ram sperm head. Indian. Vet. J. 57: 905- 908.

Dunnet C.W.(1980). Pairwise multiple comparisons in the homogenous variance, unequal sample size case. J Am Assoc, 75, 789-795.

EL- Menoufy, A.A.; R.S.A. Radab; AM.M. Nour and Abdou.(1982). Effect of some diluents on pre and post freeze survival of bull spermatozoa . Egypt. Vet. Medical. J. 30. No: 30: 353- 361.

Evans, G., and Maxwell, W.M.C.(1990). Salamons Artificial Insemination Of Sheep And Goats. Butterworths, Sydney, Australia.

Graham E.F., BG. Crabo, MM. Pace:`(1978) **.** Current status of semen

preservation in the ram, boar and stallion. J Anim Sci, 47, 80-119.

Gündoğan, M.(2009).: Short term preservation of ram semen withdiff erent extenders. Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.15:429-435.

Gundogan, M. and E. Demirici (2003). Monthly changes in some reproduvtive parameters testosterone and thyroxine value of rams through on year under continuental climat conditions. Deutsche Tieraztliche wochenschrift. 110 (11): 450-453.(ABST).

Kulaksız, R., İebi, Akçay, E., Daşkın, A.(2010). The protective effect of egg- yolk from different avian species during the cryopreservation of Karayaka ram semen. Small Rum. Res. 88: 12-15.

Kulaksiz,R; C. Cigdem; E. Akcay.(2012). The effect of different extenders on the motility and morphology of ram sperm frozen or stored at 4 °C. Turk.J.Vet. Anim. Sci. 36(1): 1103 – 1111.

Lopez, A., Söderquist, L., Rodriguez-Martinez, H.(1999): Sperm viability in ram semen diluted and stored in three different extenders. Acta Vet. Scand., 40: 1-9.

Lopez-Saez, A., Ortiz, N., Gallego, L., Gadre, J.J.(2000): Liquid storage(5 °C) of ram semen in diff erent diluents. Arch. Androl. 44: 155-164.

Menchaca A, A. Pinezak, D. Queirolo (2005) **.** Storage of ram semenat 5ºC: effects of preservation period and timed artificial insemination on pregnancy rate in ewes. Anim Reprod, 2, 195-198.

Milko, S.; I. Nikolov.; I.K.Maria; R.Stefanov.(2006). Cryopreservation of ram sperm from autochthonous breeds during anon- mating season. 7,(4): 677-682.

Miller, L.D. and D.T. Mayer (1960). Survival of bovine spermatozoa in media containing lipoprptein complex isolated from spermatozoa and other sources. Miss. Agric. Res. Bul. No. 742.(cited by Abdelhakeam et al 1978).

Mohsen, S.; F. Forouzan.,and S. Morteza(2009). Invitro comparison of soybean lecithin based-extender with commercially available extender for ram semens. International J.Fer.and steril.3(3):149-152.

Paulenz, H.; K. Soltun; T. Adnoy; K. Andersen berg, L. Soderquist (2005). Effect of different extenders on sperm viability of buck semen stored at room temperature. Small Ruminant Research 59: 89-94.

Pintado, B. and B. Perez.(1992). Effect of conservation length on buck ejaculates frozen with egg- yolk. In: Proc. of 5th. Inter. Conf. on Goat. NewDelhi, India, 1: 286**.**

Roca, J.; J.A. Carrizosa; I.Campos; A.Lafuente,J.(1997).Viability and ertility of washed Marcaino Granadina Goat spermatozoa diluted in tris- egg yolk Extender and stored at 5˚c.SmallRum.Res.25:147-153.

Saacke. R.G.(1993). Relationship of semen quality to sperm transport, fertilization and embrto quality in ruminants. Theriogenology. 41: 45-50.

Salamon, S.; W.M.C. Maxwell(2000). Storage of ram semen. Anim. Reprod. Sci. 62: 77-111.

Salamon.S. and A.J. Ritar. (1982).Deep Freezing of Angora Goat Semen: Effects of Diluent Composition and Method and Rate of Dilution on Survival of Spermatozoa. Aust. J. Biol. Sci.35:295-303.

Salvador, I.; M.P. Viudes-de-Castro; J. Yaniz, E.A. Gomez; M.A. Silvestre. (2007). Effect of different extenders and washing of seminal plasma on Buck semen storage at 5˚c. J. Anim. and Vet. Advances. 6(2): 272- 277.

Sengupta,B.P. and L.K.Chaube (1972). Anote on preservation of buffalo semen in amodified carbonated dillu- ent at variable ambient temperature. Indina.J. Anim.Sci., 42(3):163-165.

Shamsuddin. M.;Y. Amiri and MMU Bhuiyan (2000). Characteristics of Buck semen with regard to ejaculate numbers, collection intervals, diluents and preservation periods. Reprod Dom Anim 35:53-57.

Shamsudden, M. and P.K.Chanda (1998). Effect of diluents and dilution rates on the preserved buck semen.4th Asi. Symposium on Anim. Biotechn. (Kanina, Japam). Oct.7-9.

Verberckmoes S.; A. Van Soom; J. Dewulf, Aart de Kruif (2005). Comparison of three diluents For the stirage of Fresh bovine semen. Theriogenology. 63:912-922.

Wells, M. E. and O. A. Awa (1970). New technique for assessing acrosomal characteristics of spermatozoa. J. Dairy Sci. 58 (2): 227-232.

Yaniz, J.L.; P. Santolaria; M. A. Marco- Aguado; F. Lopez-gatius (2008).Use of image analysis to assess the plasma membrane integrity of ram spermatozoa in different diluents.Theriogenology: 7.

Yassen, A.M. and E.H.Foote (1967). Freezing of bovine spermat- ozoa in Tras bufferwd yolk extenders containing different lavels of Tris, sodium, potassium and calcium Ions. J.Dairy. Sci.50:887.(Cited by Abdel- hakeam. 1978).