Effect of using different diluents for preservation the semen of the cross breed rams in cooling(5°)

تأثير استعمال مخففات مختلفة في حفظ السائل المنوي للكباش المضربة بالتبريد بدرجة حرارة (5° مئوية)

صلاح مهدي عبد مهدي التميمي* عبد الكريم عبد الرضا هوبي* احمد علاء الدين طه العاني**
* قسم الثروة الحيوانية، كلية الزراعة، جامعة بغداد، أبي غريب / العراق.
** الهيأة العامة للبحوث الزراعية ، وزارة الزراعة / العراق.

البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الأول.

المستخلص

أجري هذا البحث في محطة تربية وتحسين الأغنام في عكركوف التابعة للهيأة العامة للأبحاث الزراعية / وزارة الزراعة ، أستعمل فيها 10 كباش مضربة (عواسي × التركي) لتقييم الكباش وتحديد أفضل مخففين لتخفيف وحفظ السائل المنوي بالتبريد، واجريت هذه الدراسة للفترة من كانون الاول 2008 الى ايلول 2008 وتم الحصول على النتائج الاتية:

1. بلغ المتوسط العام لكل من حجم القذفة المنوية والنسبة المئوية للحركة الجماعية والفردية للنطف 1.12 سم3 و 77.97 و 79.26 على التوالي ، وبلغ المتوسط العام لنسبتي النطف الميتة والمشوهة 6.73% و2.58% على التوالي .
2. حقق الكبش رقم 11195 زيادة معنوية ($P<0.05$) في الحركة الجماعية والفردية للنطف مقارنة ببقية الكباش والتي بلغت 85.72 و 85.83 على التوالي. بينما كانت أقل نسبة للحركة الجماعية والفردية للنطف للكبش رقم 12241 والتي بلغت 68.14% و 74.73 % على التوالي.
3. بلغ المعدل العام لتركيز النطف في القذفة لكافة الكباش 4.03×10^9
4. سجل الكبش رقم 12241 أوطأ نسبة نطف ميتة مقارنة ببقية الكباش(3.34) ، بينما بلغ المعدل العام لنسبة النطف الميته والمشوهة لكافة الكباش في التجربة 6.73 % و 2.58 % على التوالي.
5. تفوق مخفف الترس معنوياً ($P<0.05$) بحفظ الحركة الفردية للنطف بالتبريد (5 مْ ولمدة 12 ساعة) بالمقارنة مع مخفف Illinois variable temperature (IVT).

Abstract

This study was carried out at Agargof sheep improvement station, which belong to the state board of agricultural research, Ministry of Agriculture, from a period of January / 2008 to September 2008. Result indicated that :

The over all mean of the volume of semen was 1.12 ± ml, while the percentage of the mass and individual sperm activity for all rams were 77.97 and 79.26 % respectively.

1. Ram number 11995 recorded a highest mass and individual sperm activity (85.72 and 85.83 % respectively, while ram number 12241 recorded the lowerest mass and individual motility of sperm 68.94 and 74.73 % respectively .
2. The over all of the sperm concentration in the ejaculate was $4.0 \pm 0.38 \times 10^9$ sperm / ejaculate.
3. Ram no 12241 have been recorded a significantly ($p< 0.05$) lowers dead sperm (3.34%) and the over all means of the dead and abnormalities of sperm for all rams in the study were 6.73 and 2.58 % respectively.
4. Also, data indicated that the Tris diluents have been recorded a significant, ($p< 0.05$) individual motility for sperms which kept in the refrigerator (5◦C) for about 12 hr in comparable of Illinois variable temperature (IVT) diluents.

المقدمة

الهدف الأساسي من تخفيف السائل المنوي عند استخدامه في التلقيح الاصطناعي هو زيادة حجمه واستخدامه في تلقيح اكبر عدد ممكن من النعاج ، وهو يجهز النطف بمصدر الطاقة اللازمة لها ويحميها من الصدمة الحرارية والتغيير الحاصل في درجة الحموضة (pH) ونمو البكتريا ويحافظ على حيوية النطف لأطول مدة ممكنة ، كما إن حفظ السائل المنوي سواء بالتبريد أوبالتجميد فإن العمليتين تتطلبان استخدام المخففات لإكمال إجراءات حفظ السائل المنوي وبكلا الطريقتين السابقتين (17 و 29 و 33).

يعتمد نجاح تقانات التلقيح الاصطناعي على خصوبة الكباش بدرجة رئيسة وعلى كفاءة عملية جمع وتخفيف السائل المنوي وحفظه بالتبريد أو تجميده لاستعماله في المواسم القادمة (6) ومن الشروط المهمة والواجب إتباعها عند إجراء التخفيف بالمخففات للسائل المنوي هو أن يكون كلا من المخفف المستخدم والسائل المنوي بدرجة حرارة 37 مْ وتعتمد نسبة التخفيف على حجم السائل المنوي المستحصل وعلى معدل تركيز النطف في القذفة ولغرض معرفة الكفاءة التناسلية للكباش وقابلية الإخصاب فانه غالباً ما يقيم السائل المنوي سريعاً بعد عملية الجمع و بعد التخفيف (11) ، وهناك مواد تضاف للمخففات لحفظ النطف بحيوية لأطول مدة زمنية، منها، المضادات الحيوية وتعمل على القضاء على البكتريا التي من المحتمل أن تتواجد في السائل المنوي

فضلاً عن احتمال حصول التلوث أثناء عملية الجمع (34 و18) وعوامل منع أو التقليل من حالات التأكسد التي تحدث للنطف بسبب العمليات الايضية لها خلال عملية التقييم أو عند الحفظ وعند التجميد والإذابة (3) واستخدام المركبات التي تحافظ على الغشاء الخلوي للحيمن أثناء عمليات التجميد والإذابة للسائل المنوي ومنها Trehalose وهي مركبات سكرية معقدة (20).

على العموم فعند اختيار أي مخفف يجب أن يأخذ بنظر الاعتبار أن يعمل المخفف على المحافظة على الضغط الازموزي للسائل المنوي لاطول مدة زمنية ممكنة وخصوصاً عند الحفظ بالتبريد أو التجميد لذلك فان الهدف الرئيسي من اجراء هذه التجربة هو دراسة بعض صفات السائل المنوي للكباش واختيار أفضل المخففات الممكن استخدامها في تخفيف السائل المنوي للكباش وحفظه بالتبريد بدرجة حرارة 5°م ولاطول مدة زمنية ممكنة.

المواد وطرائق العمل

أجريت هذه الدراسة في محطة تربية وتحسين الاغنام في منطقة عكركوف والتابعة للهيأة العامة للبحوث الزراعية (25 كم غرب بغداد) ، إذ استخدم في هذه التجربة 10 كباش مضربة (عواسي x التركي) دربت على عملية جمع السائل المنوي باستخدام المهبل الاصطناعي ولمدة شهرين، واستمرت التجربة للمدة من كانون الاول لعام 2008 ولغاية أيلول 2008 . كانت جميع الكباش الداخلة في هذه الدراسة تتمتع بصحة جيدة وخالية من من الامراض وخاضعة للاشراف البيطري إذ تم تغطيسها باستخدام Cyper methrin 10 % للقضاء على الطفيليات الخارجية ، كما تم تجريعها بمادة Fendex 22 للقضاء على الطفيليات الداخلية ، كما تم تلقيحها بلقاح الحمى القلاعية Pox – Virus وبلقاح Fasinex ضد طفيليات الكبد.

وضعت الكباش في حضائر نصف مغلقة وخضعت الى نظام غذائي موحد أذ كانت تعطى العلف المركز وبمعدل 500 غم / كبش / يومياً مع تقديم العلف الاخضر بصورة كافية .

انتخبت 10 كباش من مجموع 23 كبش أدخلت في التقييم تراوحت أعمار الكباش المنتخبة بين 3– 4 سنوات وكانت أوزانها الحية قبل بدء التجربة بين 89 – 110 كغم، واعتمد جمع السائل المنوي في البداية على الرغبة الجنسية للكبش وكذلك على استجابة الكبش للتدريب ، وعدد مرات الجمع الناجحة التي يحققها الكبش تم جمع السائل المنوي أسبوعيا بوساطة المهبل الاصطناعي ، درجة حرارته 41 - 42 مْ ، إذ تبدأ عملية الجمع عند الساعة الثامنة صباحاً ، بواقع قذفتين/كبش/اسبوع ، ولغرض التهيئة للقذفة سمح للكباش القيام بوثبة كاذبة (False mount) لزيادة رغبتها الجنسية (8) ، استخدمت نعجة لوثب الحيوانات عليها في أثناء عملية جمع السائل المنوي ، وتم التأكيد على بقاء مكان وموعد الجمع ثابتين طيلة مدة التجربة ، وقد بلغ عدد القذفات التي جمعت أثناء مدة التجربة 188 قذفة ، وبمعدل 19 قذفة / كبش عدا الكبش تسلسل 9 والذي جمع 17 قذفة .

وقد اجريت الفحوصات على السائل المنوي وكالاتي

- الفحوص العيانية (Macroscopic examinations)

حجم القذفة (Ejaculate Volume): سجل حجم القذفة في الأنبوبة مباشرة بعد الجمع أذ كانت تحصل بأنابيب زجاجية مدرجة خاصة للسائل المنوي ولون القذفة(Ejaculate Color): سجل اللون بعد الجمع مباشرة أيضا ، ودرجت الألوان لكريمي ورمز له بالرقم 1 وحليبي رمز له بالرقم 2 ومائي رمز له بالرقم3.

- الفحوص المجهرية (Microscopic examinations) وشملت :

الحركة الجماعية (Mass Activity) وقدرت الحركة الجماعية حسب ما أوصى به (10)، أما الحركة الفردية (Individual Motility) فقدرت حسب ما أوصى به (40) بوضع قطرة من السائل المنوي على شريحة زجاجية بدرجة حرارة 37 مْ مع إضافة قطرة من سترات الصوديوم 2.9 %، ووضع غطاء الشريحة Cover Slide على العينة ، وفحصت تحت المجهر بقوة تكبير 400x وقدرت النسبة المئوية على أساس نسبة الحيامن المتحركة حركة تقدمية أمامية. في حين تم حساب تركيز النطف(Sperm Concentration)باستخدام السلايد الخاص بعد كريات الدم الحمراء والبيضاء ، أما نسبة النطف الميتة(Dead Sperm Percentage) فقد تم تقديرها بحسب (37) بأخذ قطرة من السائل المنوي الطازج ووضعت

على شريحة زجاجية نظيفة ومدفئة بدرجة حرارة 37 مْ ثم أضيفت قطرة واحدة من مزيج (صبغة ألايوسين 5% والنكر وسين 10%) ، وعملت مسحة على شريحة أخرى بزاوية 45 درجة ، فحصت تحت المجهر بقوة تكبير 400x إذ تظهر النطف الميتة ملونة بالوردي بينما النطف الحية بلون شفاف لعدم تقبلها الصبغة ،وحسب 200 نطفة بحقول مختلفة من الشريحة ثم قدرت النسبة المئوية للنطف الميتة، بينما نسبة النطف المشوهة (Abnormal Sperm Percentage) فقد تم تقديرها وفق (25) وبأستخدام الشريحة الخاصة بتقدير نسبة النطف الميتة ، وفحصت بالمجهر بقوة تكبير 400x وحددت من خلال عد 200 نطفة في حقول مختلفة من الشريحة .

تقييم السائل المنوي بالمخففات: استخدم نوعان من المخففات، لتحديد أفضلهما بالمحافظة على حيوية النطف بعد الخزن بالتبريد على درجة حرارة 5 مº هما:

1. مخفف Tris (Hydroxyl methyl Amino Methane)
2. مخفف I.V.T (Illinois variable temperature)

جدول (1) المكونات المستخدمة لتحضير المخففات المستعملة في الدراسة.

المكونات	Tris[8]	IVT[9]
ترس (غم)	4.64	-
كلوكوز (غم)	0.749	-
بيكاربونات الصوديوم (غم)	-	0.21
كلوريد البوتاسيوم (غم)	-	0.04
حامض الستريك (غم)	2.6	0.1
ماء مقطر (مل)	100	100

المصدر (32 و19).

أما بشأن طريقة التخفيف فقد أضيف المخفف إلى السائل المنوي الطازج وكلاهما بدرجة حرارة 37° م وتمت الإضافة ببطء وبشكل تدريجي على جدار الأنبوبة و مزج المخفف مع السائل المنوي بهدوء وتأني وتم حفظه بالتبريد بدرجة حرارة 5 م^0 و كانت نسبة التخفيف 5 :1 لكل من المخفف والسائل المنوي على التوالي ، وسجلت حيوية السائل المنوي(الحركة الفردية) قبل التخفيف وبعده مباشرة وبعد مرور 2 ، 4 ، 6 ، 8 و 12 ساعة وسجلت النتائج لكافة العينات ولكلا النوعين من المخففات لمعرفة أي المخففين يفضل استخدامه لتخفيف وحفظ السائل المنوي للكباش .

التحليل الاحصائي

أستعمل البرنامج الاحصائي SAS (2001) في دراسة تأثير الكبش(الانموذج الرياضي الاول) وتأثير المخفف (الانموج الرياضي الثاني) في الصفات المدروسة وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستخدام اختبار دنكن (1955) متعدد الحدود ، وقدر معامل الارتباط البسيط بين الصفات المدروسة.

الانموذج الرياضي الاول :

$$Yij = \mu + Ri + eij$$

حيث ان :

Yij = قيم المشاهدة J العائدة للكبشi

μ = المتوسط العام للصفة

Ri = تأثير الكبش إذ شملت الدراسة 10 كباش

eij = الخطأ العشوائي الذي يتوزع طبيعياً .

الانموذج الرياضي الثاني :

$$Yij = \mu + Xi + eij$$

حيث ان :
Yij= قيم المشاهدة J العائدة للمخففات
μ = المتوسط العام للصفة
Xi = تأثير المخفف إذ شملت الدراسة على نوعين من المخففات وهما مخفف TRIS ومخفف IVT
eij = الخطأ العشوائي الذي يتوزع طبيعياً .

النتائج والمناقشة :

أشارت النتائج إن لون لقذفة للكباش قيد الدراسة كان كريمي ما عدا الكبش تسلسل 6 والذي كان لون القذفة له مائي (جدول 2). أما فيما يخص حجم القذفة فقد بينت نتائج الدراسة إلى وجود اختلافات معنوية ($P<0.05$) في حجم القذفة بين الكباش قيد الدراسة ، إذ سجل الكبش تسلسل 10 تفوقاً معنوياً في حجم القذفة (1.65± 0.05 مللتر^3) عن كافة الكباش في حين لم يختلف معنوياً مع الكبش تسلسل 7 ، وقد أظهر الكبش تسلسل 6 أوطأ قيمة لهذه الصفة (0.51 ± 0.02 مللتر^3) لكنه لم يختلف معنوياً مع الكبش تسلسل 4 ، وقد بلغ المتوسط العام لها (1.12±0.11 مللتر^3) (جدول2) ، وقد جاء ضمن نفس المدى لدراسات سابقة (26) إذ كانت 1.43± 0.04 مللتر^3، وهي مطابقة لما وجده كل من الباحث (2 و 28 و 38) إذ كانت المعدلات المسجلة 1.12±0.06 و1.00±0.1 و1.2±0.1 مللتر^3 على التوالي وكانت أعلى مما وجد الباحث(15) إذ سجل 0.63 ± 0.02 مللتر^3 واقل مما وجده الباحث(4) إذ سجل 1.8 مللتر^3.

أما بخصوص الحركة الجماعية للنطف فقد بينت النتائج أن هنالك اختلافات معنوية بين الكباش ($P<0.05$) في النسبة المئوية للحركة الجماعية إذ سجل الكبش تسلسل 10 تفوقاً معنوياً في النسبة المئوية للحركة الجماعية مقارنة بالكباش الأخرى (85.72 ± 1.24 %) في حين لم يختلف معنوياً مع الكبش تسلسل 7 ، وقد أظهر الكبش تسلسل 6 أوطأ معدل في النسبة المئوية للحركة الجماعية إذ بلغت (68.94 ± 1.40 %) وقد كان المتوسط العام للحركة الجماعية لكافة الكباش (77.97± 1.79%) (جدول 2).

الحركة الفردية للنطف: أشارت نتائج الدراسة إلى وجود اختلافات معنوية ($P<0.05$) في النسبة المئوية للحركة الفردية إذ سجل الكبش تسلسل 10 تفوقاً معنوياً في النسبة المئوية للحركة الفردية (85.83 ± 1.40%) على كافة الكباش وقد أظهر الكبش تسلسل 6 أوطأ معدل للنسبة المئوية للحركة الفردية بين الكباش (74.73 ± 1.96 %) إلا انه لم يختلف عن الكباش (1 و2 3 و 4 و5 و8 و9) كان المتوسط العام للحركة الفردية لكافة الكباش (79.26± 1.74%) جدول(2) وكانت مقاربة لما وجد الباحث (39) إذ كانت النسبة 79.4±1.8% وكان معدل الحركة الفردية أعلى مما سجله الباحث (15) وكان معدل الحركة الجماعية أعلى مما سجله الباحث (38) حيث كانت المعدلات المسجلة للباحثين السابقين73.46 ±0.68 % و 72.7± 3.8 للحركة الفردية والحركة الجماعية على التوالي ، وكانت النسبة أعلى مما وجده كلا من الباحثين (26 و 28) إذ سجل 74.8± 3.4 و 69.8± 2.5 %، بينما سجل الباحث (4) نسباً متفاوتة بين 80-90 %، وكانت أقل مما سجله (2) إذ سجل 80.68 ±3.76 و84.09 ±3.49 % للحركة الجماعية والفردية على التوالي.

وتؤثر طريقة جمع السائل المنوي في الحركة الجماعية والفردية للنطف ، إذ ترتفع حركة النطف الجماعية والفردية عند استخدام المهبل الصناعي (1) مقارنة مع طريقة التحفيز الكهربائي ، و تؤثر درجات الحرارة المرتفعة او المنخفضة على حيوية النطف (31 و 27) ، وقد ذكر الباحث (5) إن انخفاض مستويات التغذية قد أدى الى خفض تركيز وعدد النطف في القذفة.

أما بخصوص تركيز النطف/ مللتر^3 فقد أشارت نتائج الدراسة إلى وجود اختلافات معنوية ($P<0.05$) لصفة تركيز النطف/ مللتر^3، ففي الوقت الذي سجل الكبش تسلسل 5 أعلى معدل لصفة تركيز النطف (4.29 ±0.11×10^9) نطفة / مللتر^3 ، أظهر الكبش تسلسل 6 أوطأ معدل لهذه الصفة (1.43±0.06×10^9) نطفة/ مللتر^3 وكان المتوسط العام لصفة تركيز النطف / مللتر^3 للكباش (3.53 ± 0.29 ×10^9) نطفة\ مللتر^3 (جدول3).

في حين اظهرت نتائج الدرسة وجود اختلافات معنوية ($P<0.05$) لصفة تركيز النطف في القذفة ففي الوقت الذي سجل فيه الكبش تسلسل 10 أعلى معدل لصفة تركيز النطف (5.74± 0.26 × 10^9) نطفة في القذفة ، أظهر الكبش تسلسل 6 أوطأ معدل لهذه الصفة (0.73 ±0.04× 10^9) نطفة/ قذفة وكان المتوسط العام لتركيز النطف في القذفة للكباش(4.0± 0.38 ×10^9) نطفة/ قذفة (جدول3).

أما بخصوص النسبة المئوية للنطف الميتة فقد أظهرت النتائج وجود إنخفاض معنوي ($P<0.05$) لنسبة النطف الميتة لدى الكبش تسلسل 6 (3.34 ± 0.08 %) بالمقارنة مع الكباش التي تحمل التسلسلات (1 ،2 ،3 ،5 ،7 و10) ، حين لم يختلف معنوياً بالمقارنة مع بقية الكباش وكان المتوسط العام لهذه الصفة (6.73± 1.20%) (جدول 3) وهي تقع ضمن الحدود الطبيعية لصفات السائل المنوي إذ جاءت مقاربة لما سجله الباحث (39) إذ سجل 5.6 ±0.8 % والباحث (15) إذ سجل 4.15 ±0.24 % ، وما سجله الباحث (28) إذ سجل 6.9 ±0.4 % ، وكانت اقل مما سجله الباحث(2) إذ سجل 14.79 ±2.65 %.

كما ان نتائج الدراسة لم تظهر وجود اختلافات معنوي في صفة النسبة المئوية للنطف المشوهة فقد سجل الكبش تسلسل 6 أوطأ معدل لهذه الصفة (1.84±0.67 %) والكبش تسلسل 8 أعلى معدل لهذه الصفة (3.19±1.14%) ، وقد كان المتوسط العام للنسبة المئوية للنطف المشوهة (2.58± 1.01%) جدول (3)، وهي تقع ضمن المدى الطبيعي لهذه الصفة ولما وجده البعض منهم (28 و26) إذ كانت9.1±1.0و7.01± 0.20 % وما وجده الباحث(15) والبالغة 2.90 ±0.14 % واقل مما وجده (38) إذ كانت 18.10 ± 2.0 % والباحث (39) إذ وجد نسبة تشوهات 15.5± 0.7 % وباستخدام مخفف الترس ، وكانت النسبة اقل مما سجله (2) إذ سجل (13.82 ±2.10%) ، إن للعمر تأثير على هذه الصفة حيث ترتفع عند بداية البلوغ الجنسي بسبب عدم اكتمال نمو أجزاء الجهاز التناسلي وتنخفض بصورة مباشرة عند عمر ثمانية أشهر كذلك تتأثر بدرجات الحرارة (1 و 36).

ومما يجدر الاشارة اليه ، ان هنالك فروقات معنوية في صفات السائل للكباش المضربة يمكن ان تستغل في برامج التربية والتحسين لاختيار أفضل الكباش في التلقيح.

بينت النتائج أن هنالك ارتباط عالي المعنوية (P<0.01) بين صفة حجم القذفة مع النسبة المئوية للحركة الجماعية (0.51) وبين حجم القذفة والنسبة المئوية للحركة الفردية (0.65)، في حين لم تظهر بقية الصفات الأخرى المدروسة ارتباط عالي أو معنوي بينها وبين حجم القذفة جدول (4) ، كما تبين إن هناك علاقة ارتباط موجبة ومعنوية (P<0.01) بين النسبة المئوية للحركة الجماعية والنسبة المئوية للحركة الفردية (0.56) وبين النسبة المئوية للحركة الجماعية وتركيز النطف/ مللتر^3 (0.44) أي انه كلما كانت الحركة الجماعية للنطف عالية نتوقع أن تكون الحركة الفردية وتركيز النطف عالي أيضا تبعا لذلك ، كما بينت النتائج وجود ارتباط معنوي (P<0.05) بين النسبة المئوية للحركة الجماعية والنسبة المئوية للنطف الميتة (0.14) وكان الارتباط ضعيفاً بين نسبة الحركة الجماعية ونسبة للنطف المشوهة (0.04) (جدول 4).

وكان هناك ارتباط موجب وعالي المعنوية (P<0.01) بين النسبة المئوية للحركة الفردية مع تركيز النطف/ مل (0.29) وكذلك بين النسبة المئوية للنطف الميتة و تركيز النطف/مل (0.22)، وبين نسبة النطف الميتة ونسبة النطف المشوهة (0.42)

أن لنوع المخفف تأثيراً معنوياً (P<0.05) في النسبة المئوية للحركة الفردية للنطف فقد سجل مخفف Tris تفوقا معنوياً (P<0.05) بالحفاظ على الحركة الفردية للنطف المحفوظة بالتبريد 5°م ، ولمدة 12 ساعة بالمقارنة مع مخفف IVT (شكل1).

ولم يلاحظ وجود فروق معنوية بين مخفف Tris و مخفف IVT في معدل الحركة الفردية للنطف بعد التخفيف مباشرة إذ بلغت معدلاتها وبعد التخفيف مباشرة حوالي (75.52±0.61% و75.64 ±0.87%) ، في حين كانت معدلاتها قبل إجراء التخفيف 78.88±0.67 و80.00 ±0.87% لمخففTris و IVT على التوالي جدول (5).

أما فيما يخص معدل ألانخفاض بالحركة الفردية بعد التخفيف فقد تفوق مخفف Tris معنوياً (P<0.05) على نظيره IVT بخفض معدل الانخفاض بالحركة الفردية بعد 2 و 4 ساعة من الخزن بالتبريد إذ كانت (14.80±1.01 و23.78±1.26%) (23.94± 0.98 و 37.01 ± 1.33%) للوقتين وللمخففين على التوالي (جدول 6) إن مقدار ألانخفاض في الحركة الفردية للنطف بتقدم مرحلة الحفظ كانت أقل معنويا للعينات المخففة بمخفف الترس (جدول 6) ، إن هذا المخفف والمتكون من الـ Tris ، حامض الستريك والكلوكوز وبالتراكيز المثبتة بينت أن هذا المحلول المخفف يوفر حماية أفضل للنطف من التغيرات التي قد تحصل في درجة الحموضة خلال مراحل التخفيف إذ أن الـ (Buffering capacity) لهذا المركب يتراوح بين 7.0- 9.0 ، لذلك فأن له القابلية على امتصاص الغازات الناتجة وتقليل الحموضة المتكونة ، ولهذا المركب قابلية على النفوذ إلى داخل الخلايا وتزداد هذه القابلية بتقدم المدة ، ويعمل الـ Tris في هذه الحالة محلولاً منظماً داخلياً ، يعمل على الحفاظ على درجة حموضة للمحلول تكون بين 6.0 – 7.0 (12).

يرجع تفوق مخفف الترس في عملية حفظ النطف الى إنه ليس له تأثير سام عليها وكذلك نفوذه الى داخل خلية الحيمن ليعمل منظماً داخلياً لها ضد التغيرات التي تحدث في الأس الهيدروجيني (30 و 13) ، وجود سكر الكلوكوز في مخفف الترس يعمل كمصدر لطاقة الحيمن خلال مدة الحفظ من خلال سهولة نفوذه إلى غشاء خلية الحيمن وإدامة الضغط الازموزي ، وتعد الكاربوهيدرات مصدراً مهما لطاقة الحيمن خلال فترة الحفظ بالتبريد (23) ، وتعمل على ربط مجاميع رؤوس الحيامن بتثبيت الجزيئات فيما بين المجاميع مع ترك مسافات بينها (24) ، ويعد سكر الكلوكوز والمانوز من السكريات واسعة ألاستعمال في المخففات بسبب سرعة نفوذه الى غشاء خلية الحيمن ، كما إن انخفاض ، أو زيادة نسبة الكلوكوز في المخفف يؤثر على حيوية الحيامن (9) و يعمل على زيادة حركة الحيامن وخفض الأس الهيدروجيني خلال فترة الحفظ (33).

جدول (2) المقارنة لصفة اللون والحجم والحركة الجماعية والفردية للسائل المنوي لكباش التجربة
(المتوسط ± الخطأ القياسي)

ت	رقم الكبش	عدد المشاهدات	لون القذفة	حجم القذفة (ملليتر^3)	النسبة المئوية للحركة الجماعية (%)	النسبة المئوية للحركة الفردية (%)
1	11948	19	كريمي	0.05 ± 1.33^{bc}	1.88 ± 78.61^{bcd}	1.50 ± 79.44^{bc}
2	11909	19	كريمي	0.06 ± 0.88^{fe}	1.42 ± 75.52^{de}	1.13 ± 78.68^{bc}
3	1264	19	كريمي	0.09 ± 1.15^{dc}	1.11 ± 81.05^{b}	1.66 ± 79.47^{bc}
4	11978	19	كريمي	0.04 ± 0.71^{fg}	0.86 ± 76.11^{cde}	0.91 ± 78.05^{bc}
5	1265	19	كريمي	0.10 ± 1.19^{dc}	1.49 ± 79.21^{bcd}	1.66 ± 79.47^{bc}
6	12241	19	مائي	0.02 ± 0.51^{g}	1.40 ± 68.94^{f}	1.96 ± 74.73^{c}
7	12030	19	كريمي	0.10 ± 1.47^{ab}	1.68 ± 82.89^{ab}	1.53 ± 81.57^{b}
8	11985	19	كريمي	0.09 ± 1.01^{de}	1.41 ± 72.77^{ef}	1.03 ± 77.50^{bc}
9	11902	17	كريمي	0.04 ± 0.97^{de}	1.24 ± 80.33^{bc}	1.33 ± 78.66^{bc}
10	11995	19	كريمي	0.05 ± 1.65^{a}	1.24 ± 85.72^{a}	1.22 ± 85.83^{a}
	المعـــــدل العام	188		0.11±1.12	1.79 ±77.97	1.74 ±79.26

المتوسطات التي تحمل أحرف مختلفة ضمن العمود نفسه تختلف معنوياً (P<0.05)

جدول(3) تركيز النطف في الملليتر والقذفة والنسبة المئوية للنطف الميتة والمشوهة للسائل المنوي للكباش العواسية (المتوسط ±الخطأ القياسي)

ت	رقم الكبش	تركيز النطف/ ملليتر^3 $\times 10^9$	تركيز النطف/القذفة $\times 10^9$	(%)للنطف الميتة	(%) للنطف المشوهة	عدد المشاهدات
1	11948	0.13 ± 3.94^{a}	0.28 ± 5.25^{bc}	0.92 ± 7.63^{a}	0.74 ± 2.47^{a}	18
2	11909	0.15 ± 3.50^{b}	0.24 ± 3.03^{d}	1.18 ± 7.42^{a}	0.82 ± 2.71^{a}	19
3	1264	0.14 ± 3.97^{a}	0.49 ± 4.53^{bc}	1.30 ± 7.94^{a}	0.52 ± 2.44^{a}	19
4	11978	0.21 ± 3.50^{b}	0.25 ± 2.54^{d}	0.60 ± 6.17^{ab}	0.94 ± 2.38^{a}	17
5	1265	0.11 ± 4.28^{a}	0.45 ± 5.24^{bc}	0.89 ± 7.28^{a}	0.72 ± 2.65^{a}	19
6	12241	0.06 ± 1.43^{c}	0.04 ± 0.73^{e}	0.88 ± 3.34^{b}	0.67 ± 1.84^{a}	19

7	12030	0.16±4.08 ^{a}	0.47 ±5.66 ^{ab}	1.43±8.10 ^{a}	0.50 ±2.23 ^{a}	19
8	11985	0.19±3.22 ^{b}	0.45 ± 3.13^{d}	0.65±6.13 ^{ab}	1.14 ±3.19 ^{a}	18
9	11902	0.14±3.17 ^{b}	0.11 ± 3.07^{d}	0.68±6.30 ^{ab}	1.36 ±3.10 ^{a}	15
10	11995	0.09±4.17 ^{a}	0.26 ± 5.74^{a}	0.60±7.91 ^{a}	0.53 ±2.75 ^{a}	18
	المعدل العام	0.29 ±3.53	0.38± 4.03	1.20±6.73	1.01±2.58	171

المتوسطات التي تحمل أحرف مختلفة ضمن العمود نفسه تختلف معنوياً (P<0.05)

جدول (4) معامل الارتباط البسيط بين صفات السائل المنوي الفيزياوية المدروسة في الكباش العواسية .

- **مع *معنوي (P< 0.05) ** معنوي (P< 0.01) N.S = غير معنوي**

الصفة / الصفة	حجـــم القذفة	(%) للحركة الجماعية	(%) للحركة الفردية	(%) للنطف الميتة	(%) للنطف المشوهة	تركيز النطف/ مللتر^{3}
حجم القذفة	–	0.51**	0.65**	0.06$^{n.s}$	0.08$^{n.s}$	0.18$^{n.s}$
(%) للحركة الجماعية		–	0.56**	0.14*	0.04$^{n.s}$	0.44**
(%) للحركة الفردية			–	- 0.02$^{n.s}$	- 0.03$^{n.s}$	0.29**
(%) للنطف الميتة				–	0.42**	0.22**
(%) للنطف المشوهة					–	- 0.01^{ns}
تركيز النطف/ مللتر^{3}						–

جدول (5) تأثير نوع المخفف في النسبة المئوية للحركة الفردية للنطف بعد التخفيف في السائل المنوي للكباش (المتوسط ± الخطأ القياسي)

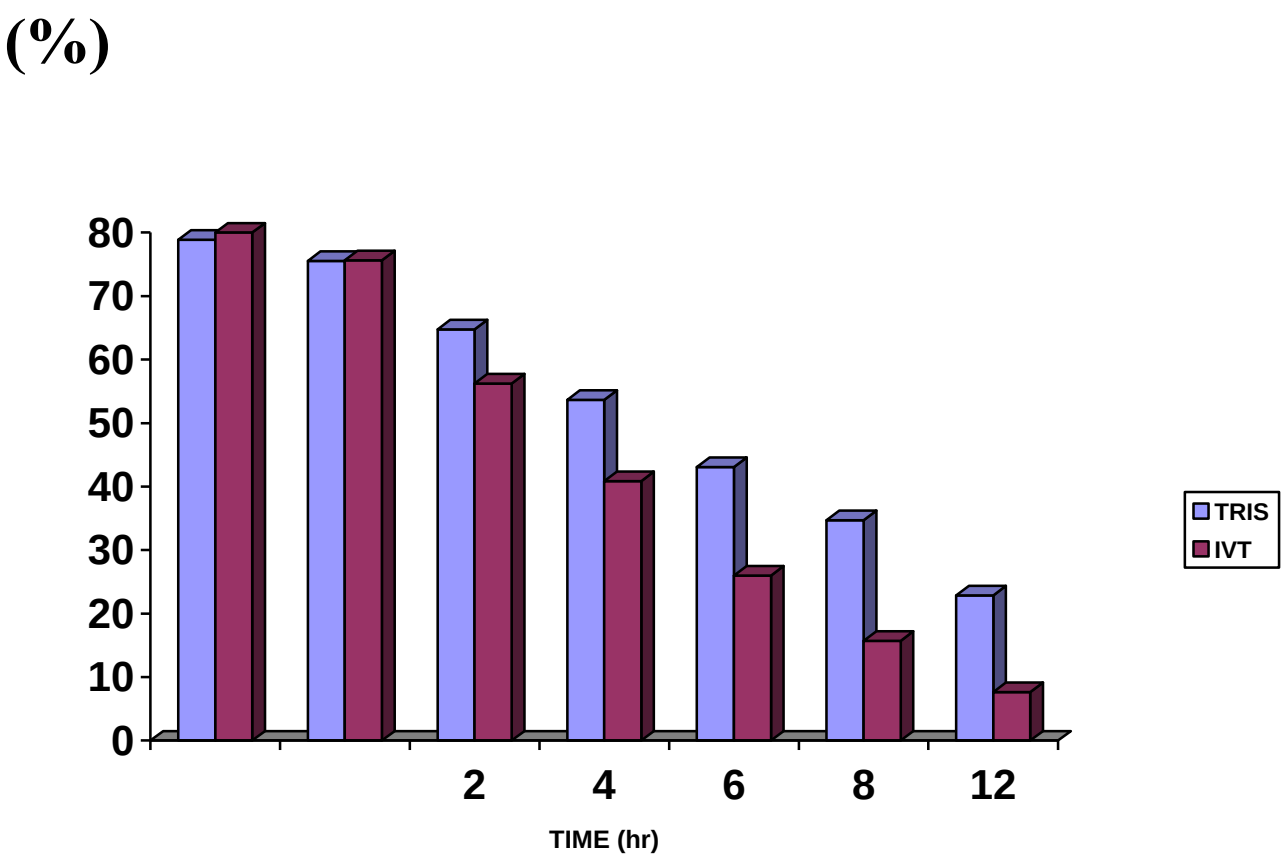
وقت القياس قبل وبعد التخفيف	عدد المشاهدات	المخفف الأول Tris	المخفف الثاني IVT
قبل التخفيف	85	0.67 ±78.88 [a]	0.87±80.00[a]
بعد التخفيف مباشرة	85	0.61 ±75.52 [a]	0.82 ±75.64 [a]
بعد 2 ساعة	76	1.06 ±64.73 [a]	1.35 ±56.21[b]
بعد 4 ساعة	85	1.17 ±53.64 [a]	1.60 ±40.84[b]
بعد 6 ساعة	75	1.52 ±43.06 [a]	1.42 ±26.01[b]
بعد 8 ساعة	85	1.60 ±34.70 [a]	1.01 ±15.71[b]
بعد 12 ساعة	80	1.41 ±22.88 [a]	0.61 ±7.64 [b]

المتوسطات التي تحمل أحرف مختلفة ضمن نفس الصف تختلف معنويا(P<0.05)

جدول (6) معدل الانخفاض بالحركة الفردية للنطف بعد مدة على الحفظ بالتبريد.

معدل الانخفاض للحركة الفردية(%)	نوع مخفف	
	Tris	IVT
بعد التخفيف مباشرة	0.32 ±3.64[a]	0.43 ±4.34[a]
بعد 2 ساعة	1.01 ±14.80[b]	1.26 ±23.78[a]
بعد 4 ساعة	0.98 ±23.94[b]	1.33 ± 37.01[a]

المتوسطات التي تحمل أحرف مختلفة ضمن نفس الصف تختلف معنويا(P<0.05)



شكل (1) تأثير نوع المخفف على الحركة الفردية للنطف بعد التخفيف في السائل المنوي للكباش لمدة 12 ساعة.

المصادر:

1. **ألمقطري** ، خالد محمد علي، 1994. دراسة تأثير المواسم وطرق الجمع على صفات السائل المنوي ونشاط الخصية في الكباش العواسية. رسالة ماجستير ، كلية الزراعة والغابات - جامعة الموصل.
2. **الملالي** ، حيدر محمد حسن ، 2000. تقويم بعض صفات الأداء التناسلي لدى ذكور الأغنام العواسية وتضربياتها. رسالة ماجستير، كلية الزراعة - جامعة بغداد.
3. **خليفة** ، طارق عبد الوهاب عبد المحسن ،2001. العوامل المؤثرة على حيوية السائل المنوي في بعض حيوانات المزرعة . أطروحة دكتوراه، كلية الطب البيطري، جامعة القاهرة.(مستخلص).
4. **كاظم** ، كامل عباس ، 1989. دراسة حول مخففات السائل المنوي للكباش العواسية. رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري - جامعة الموصل.
5. **AL-Kass, J. E.; Bryant, M. J.; and Walton, J.S. 1982.** Some effect of level of feeding and body condition upon sperm conduction and gonadotropin concentrations in the ram. Anim. prod., 34:265-277.
6. **Amoah, E. A. and Gelaye, S. 1997.** Biotechnological advances in goat reproduction. J. Anima. Sci., **75**:578–585.
7. **Anuberta, D. B.; Kakati, N.; Rajkanwar C. K. and Borgohain, B. N. 1985.** Survival of buck spermatozoa in egg yolk citrate, milk and Tris diluters at 4°C. Indian J. Anima. Sci., 55: 670-672.

8. **Badawy, A.M.; Yaseen, A.M.; El-Bashary, A.S. and Ibrahim, M. A. (1975).** Effect of sexual preparation on some characteristics of the semen of buffaloes and cattle bulls. Alexandria J. Agric. Res., 21: 185-191. (Anim. Breed. Abstr., 43: 1055).
9. **Bartlett, F. D. and Van Demark, N. L. 1961.** Effect of diluents composition on survival and fertility of bovine spermatozoa stored in carbonated diluents. J. Dairy Sci., 45: 360-367.
10. **Blom, E. 1946.** Corporation skammeret.et hijaelope middle tell for be drat microscopic under Sogelse of often der tyresperma, Scand. Vetervinatidskr, for Bacterial pathology .Smut. Kit ock, Miolkhygien, 613, (Abstr.Vet:102:252).
11. **Bretzlaff, K. and scarfe, A. D. 1989.** Goat semen collection evaluation and processing. Proc. 4th Ann. field day of the American Inst. for goat research. Langston univ, Langston, Oklahoma 73050 May 20., PP: 66-72.
12. **Chemineau, P.; Caginie, Y.; Guerin, Y.; Arguer, P. and Vallet, J.C. 1991.** Training Manual on Artificial Insemination in Sheep and Goat. F. A. O. Animal Production and Health Paper No: 83.
13. **Davis, I. S.; Bratton, R. W. and Foote. R. H. 1963.** Livability of bovine spermatozoa at 5, −25, and −85°C in Tris-buffered and citrate buffered yolk-glycerol extenders. J. Dairy Sci., 46:333–336.
14. **Dziuk, P. J.; Graham, E. F.; Danker, J. D.; Marion, G. B. and Petersen, W. E. 1954.** Some observations in collection of semen from bulls, goats, boars and rams by electrical stimulation. Vet. Med., 49: 455–458.
15. **El-Azab, A. I.; Khaddar, N. A.; and Zahran, K. 1997.** Effect of non-protein nitrogen in the ration on ram semen quality S. R. Research, 27:37-77.
16. **Enos, J.P. 1968.** The artificial insemination of farm animal. 4th ed. New York: Pearson prentice Hall. Inc Asimov and Schuster CO. Englewood Cliffs, pp: 267.
17. **Foote, R. H. 1999.** Artificial insemination from its origins up to today. In: V. Russo, S. Dally 'Olio, and L. Fontanels (ed.) Proc. Of the Spallanzani Int. Symp., Reggie Emilio, Italy. pp. 23–67.
18. **Foote, R. H. 1998.** Artificial Insemination to Cloning: Tracing 50 Years of Research. Published by the author, Ithaca, New York.
19. **Foote, R. H.; Gray, L. C.; Young, D. C. and Dunn, H. O. 1960.** Fertility of bull semen stored up to four days at 5°C in 20% egg yolk extenders. J. Dairy Sci., 43:1330–1334.
20. **Gil, Laurie J. 2001.** Fertility of frozen-thawed ram semen: with special reference to influence of extenders and freezing procedures, Uppsala, Swedish University of Agricultural Sciences .PhD Thesis.
21. **Gordon, Ian R. 2005.** Reproductive technology in farm animals/ Ian R. Gordon P. CM .Livestock. Repord
22. **Gunn, R. M. C. 1936.** Fertility in Sheep. CSIRO Bull. 94, Melbourne, Australia.
23. **Hafez, E. S. E. 2000.** Preservation and cry preservation of gametes and embryos. In: Hafes, B. and Hafes, E.S.E., Ed reproduction in farm animal .7th ed. Bale more: Williams, And Wilkins. Pp. 431-442.
24. **Hammerstedt, R. H.; Gorham, J. K. and Nolan, J. P. 1990.** Cry preservation of mammalian sperm: What we ask them to survive. J. Androl., 11:72-88.
25. **Hancock, J.L.1951**. Attaining technique for the study of temperature shock in semen .Nature. Land. 167:323-324.
26. **Karagiannidis, A.; Varsakeli, S.; Alexopoulos, C. and Amarantidis, I. 2000.** Seasonal variation in semen characteristics of Chios and Friesian rams in Greece Small. Rumin. Res., 37: 125-130.
27. **Mandiki, S. N. M.; Derycke, G.; Bister, J. L.; and Paquay, R. 1998.** Influence of season and age on sexual maturation parameters of Texel, Suffolk and Ile-de-France rams1. Testicular size, semen quality and reproductive capacity.

28. **Marco-Jimenez, F.; Puchades, S.; Gadea, J.; Vicente, J. S. and Videos de-Castro, M. P. 2005.** Effect of semen collection method on pre-and post-thaw Guerra ram spermatozoa. Theriogenology, 64: 1756 –1765.
29. **Maxwell, W.M.C., Salamon, S. 1993.** Liquid storage of ram semen: a review. Reprod. Fertile. Dev., 5: 613–638.
30. **Melachlan, J. and Gorham, P. R. 1961.** Growth of microcystis aeruginosakutz in a precipitate free medium buffered with tris. Candy. J. Microbial, 7:869.
31. **Pandey, R. P.; Singh. B. and Akhtar, M. H. 1985.** Characters of semen and fertility rate in sanen and Barbary bucks. Ind. J. Anim. Sci., 55: 773-774.
32. **Ritar, A. J. 1993.** Control of ovulation, storage of semen and artificial insemination of fiber – production goat in Australia a review .Aust. J. Exp. Agric., 33: 807-820.
33. **Salamon, S. and Maxwell; W. M. C. 2000.** Storage of ram semen. Anima. Reprod. Sci., 62: 77–111
34. **Salisbury, G. W.; Van Demark, N. L. and Lodge, J. R 1978.** Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle. 2nd ed. W. H. Freeman Co., San Francisco.
35. **Salisbury, G. W.; beak, G. H.; Elliot, I. and Willett, E. L. 1943.** Rapid method of estimating the number of spermatozoa in bull semen. J. Dairy Sci., 26: 483-486.
36. **Skalet, L.H.; Rodrigues, H. D.; Goyal, H.O.; Maloney, M.A.; Vig, M. M. and Noble, R. C. 1988.** Effect of age and season on the type and occurrence of sperm abnormalities in Nubian bucks. Am. j. vet. Res., 49: 1284-1289.
37. **Swanson, E. W. and Beardon, H. J. 1951.** An eosin nigrosin stain differentiating live and dead bovine spermatozoa. J. Anim. Sci., 10:981-987.
38. **Tabaa, M. J.; Kridli, R.T.; Alghalban, A. and Barakeh, F.S. 2006.** Age-related changes in scrotal circumference and some semen characteristics in Awassi rams Anim. Reprod., v.3, n., 4: 431- 438.
39. **Ulgen, G.; Ibrahim, D.; Zekari, Y.; Ivan, M.; Harkin, S.; Mustafa, K. S.; Cuneyt, K. and Latif, A. 2006.** Influence of bull seminal plasma on post-thaw ram semen parameters and fertility. Bull Vet Inst Pulawy, 50: 503-507.
40. **Walton, A. 1933.** Technique of artificial insemination. Mp. Bur. Anim. Genet., 56, Iiius-Edinburgh.