

تأثير إضافة بعض الفيتامينات والاميكات 3 وخليطهما إلى مخفف Tris في سلامة الاكروسوم وتشوهات النطف لثيران الهولشتاين

ساجدة مهدي عيدان عمر حسين عباس الزيدي

الملخص

أجريت هذه الدراسة في قسم التلقيح الاصطناعي التابع لدائرة الثروة الحيوانية، وزارة الزراعة، في أبو غريب بهدف بيان تأثير إضافة فيتاميني C، E والاميكات 3 وخليطهما إلى مخفف Tris في النسب المئوية لأكروسوم النطف السليم وتشوهات رأس النطف والقطع الوسطية والرئيسية والنهائية لذيل النطف بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتجميد. أُستعمل في هذه الدراسة سبعة ثيران هولشتاين بالغة بأعمار تتراوح بين 2.5 - 3 سنوات. تم جمع السائل المنوي منها بواسطة المهبل الاصطناعي بواقع قذفة/أسبوع وأجراء الفحوص اللازمة لتقييمه، ثم جمعت معاً Pooled semen وتقسيمه بالتساوي على المعاملات المختلفة في التجربة باستخدام مخفف Tris. أُضيف فيتامين C (5 ملي مول، A2) وفيتامين E (0.2 ملي مول، A3) والاميكات 3 (0.8 ملغم/مل، A4) وخليط كلاً من فيتامين C وفيتامين E (A5) وفيتامين C والاميكات 3 (A6) وفيتامين E والاميكات 3 (A7) وبالتراكيز نفسها المذكورة آنفاً، في الوقت الذي استخدم للمجموعة الأولى فيه مخفف Tris فقط (مجموعة سيطرة، A1). تمت دراسة النسب المئوية لأكروسوم النطف السليمة وتشوهات رأس النطف والقطع الوسطية والرئيسية والنهائية لذيل النطف على مدد زمنية مختلفة (بعد التبريد على درجة حرارة 5°م وبعد 48 ساعة وشهر وشهرين وثلاثة أشهر من الحفظ بالتجميد). أدت هذه الإضافات إلى تحسن معنوي ($p < 0.01$) في النسبة المئوية للأكروسوم السليم مقارنةً بمجموعة السيطرة في أثناء المدد الزمنية قيد الدراسة. من جانب آخر، لم تختلف نسب تشوهات رأس النطف والقطعة الوسطية والقطعة الرئيسية والنهائية لذيل النطف معنوياً ما بين المعاملات. يمكن الاستنتاج أن إضافة فيتاميني C و E والاميكات 3 وخليطهما إلى مخفف Tris حسنت من نسبة النطف سليمة الأكروسوم من خلال دورها كمضادات للاكسدة من جهة وعاملين واقين من ضرر التجميد من جهة أخرى، مما سينعكس إيجابياً في احتمال زيادة نسبة الإخصاب والحمل لدى الأبقار الملقحة بهذا السائل المنوي.

المقدمة

تعدّ عملية تجميد السائل المنوي للثيران من التقانات الحيوية التي أسهمت في تطوير صناعة أبقار الحليب في العالم عن طريق مساهمتها في حفظ المصادر الوراثية وإنتاج حيوانات متميزة في إنتاجيتها (7). إذ تُعدّ عملية تجميد السائل المنوي من العمليات المعقدة التي تؤدي في أغلب الأحيان إلى إحداث ضرر في خلايا النطفة لدى معظم اللبائن ومنها الثيران (2). وترتبط عملية الحفظ بالتجميد في معظم اللبائن ومنها الثيران بإنتاج أنواع الأوكسجين التفاعلي Reaction oxygen species, ROS الذي له عمل كبير في أكسدة الدهون Lipid peroxidation, LPO لأغشية النطفة، فضلاً عن تحطيم المادة الوراثية (DNA, damage)، الأمر الذي ينعكس سلبياً في انخفاض حركة النطف (Sperm motility) وحيويتها (Viability) وقابليتها على الإخصاب Fertilizing ability في الثيران (9، 10، 32). تحتوي نطف الثيران على كميات قليلة من مضادات الأكسدة الداخلية (Endogenous antioxidants) والمصدر الرئيس لهذه المضادات هي البلازما المنوية (6).

جزء من رسالة الماجستير للباحث الثاني.

كلية الزراعة جامعة بغداد، بغداد، العراق.

يعد فيتامين C من مضادات الأكسدة غير الأنزيمية **Non-enzymatic antioxidants** الفعالة التي تعمل على إزالة الجذور الحرة **Free radicals scavenger**، كما إن وجوده يساعد على إزالة هذه الجذور ومنها أكسدة الدهون (17). إن إضافة فيتامين C إلى مخففات السائل المنوي تجعل أداء نطف الثيران مثالياً (15)، من خلال تحسين حيويتها وحركتها الفردية وقابليتها للتجميد وخفض نسب النطف الميتة والمشوهة (5، 4، 34، 12). من ناحية أخرى، يعد فيتامين E المكون الأساس لنظام مضادات الأكسدة غير الأنزيمية في النطفة (28)، فضلاً عن أنه أحد وسائل الحماية الرئيسة للنطف من أنواع الأوكسجين التفاعلي وأكسدة الدهون (3)، إذ بإمكانه تثبيط أكسدة الدهون من خلال إزالة جذر البيروكسيل **Peroxy** والكوكسيل **Alkoxy** المشتقة من الدهون لأغشية النطفة (26). وكان لإضافة فيتامين E إلى مخفف **Tris** عمل في زيادة العدد الكلي للنطف ذات الأكروسوم السليم عند كافة مدد الحفظ المختلفة كافة لنطف ثيران الهولشتاين (34).

وقد جرت محاولات عديدة لإضافة أنواع عديدة من مضادات الأكسدة إلى مخفف **Tris** وتأثيراتها في نوعية السائل المنوي بعد الحفظ بالتجميد لدى ثيران الهولشتاين في العراق (12، 22، 35، 36، 37، 38، 39)، إلا أن نتائج تأثير خليط هذه المضادات مع بعضها البعض في النسبة المئوية للأكروسوم السليم للنطف بعد الحفظ بالتبريد والتجميد لدى ثيران الهولشتاين لم يتم التطرق إليها سابقاً سواء أكان على مستوى العراق أم العالم. لذا فقد أجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير إضافة بعض مضادات الأكسدة الإنزيمية واللاوميكس 3 وخليطهم إلى مخفف **Tris** في النسبة المئوية لسلامة الأكروسوم لنطف ثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتبريد والتجميد.

المواد وطرائق البحث

حيوانات التجربة وجمع السائل المنوي

أجريت هذه الدراسة في قسم التلقيح الاصطناعي التابع لدائرة الثروة الحيوانية، وزارة الزراعة للمدة من شهر تشرين اول 2012 لغاية شهر شباط 2013. أستخدم في هذه التجربة 7 ثيران مدربة على جمع السائل المنوي باستخدام المهبل الاصطناعي بأعمار تتراوح ما بين 2.5 - 3 سنوات و وزن جسم بين 500 - 750 كغم. خضعت الثيران الى برنامج لقاحات الحمى القلاعية (**Foot and mouth disease, FMD**) وعفونة الدم النزفية (**Haemorrhagic septicemia, HS**) ومرض الساق الاسود (**Black leg**) في اثناء مدة التجربة. تم ايواء الحيوانات في حظائر نصف مفتوحة وخضعت الثيران جميعه الى النظام تغذية موحد اذ كان يقدم لها العلف المركز يومياً بمعدل 4 كغم/ حيوان. وقد تكونت العليقة من 35% شعير، 33% نخالة الحنطة، 10% ذره صفراء، 20% كسبة فول الصويا، 0.5% حجر الكلس، 0.5% ملح الطعام و 1% فيتامينات ومعادن. وقد بلغ البروتين الخام في العليقة 18% وكمية الطاقة 3323 كيلو سرعة/ كيلو غرام، بينما تألف العلف الخشن من دريس الجت وبواقع 60 كغم/ حيوان/يوم. وكان الماء الصالح للشرب متوفر للحيوانات طيلة مدة التجربة. تم جمع السائل المنوي باستخدام المهبل الاصطناعي وتجميعه (**Pooled semen**) لزيادة حجم العينة والتخلص من الفروق الفردية للثيران. وقد بلغ عدد القذفات التي جمعت في اثناء مدة التجربة 98 قذفة وبمعدل 7 قذفة/ثور. تم وضع السائل المنوي المجموع في حمام مائي على درجة حرارة 37°م لحين قياس الحركة الفردية للنطف وتركيزها. تضمنت الدراسة عملية الجمع والتقويم لمدة سبعة أسابيع لكل ثور.

تقويم وحفظ السائل المنوي والمعاملات

سجل حجم القذفة بعد الجمع باستعمال أنابيب زجاجية مدرجة، في الوقت الذي قدرت فيه الحركة الجماعية للنطف استناداً الى الطريقة Knight وجماعته (23) والحركة الفردية لخلايا النطف طبقاً لما جاء به SAS (31). وحسب تركيز النطف باستخدام شريحة عد كريات الدم الحمراء (Neubauer Haemocytometer Chamber) حسب الطريقة التي وصفها Niki (24). تألف مخفف Tris من 24.2 غم من مركب Tris، 13.4 غم من حامض الستريك، 10 غم من الفركتوز، 19.2% من صفار البيض، 64 ملي لتر من الكليسيرول (6.4%) و 1000 مللتر من الماء المقطر وضبط الاس الهيدروجيني (pH) للمخفف عند 6.8. تم خلط المخفف مع السائل المنوي المجموع وتقسيمه الى سبع مجاميع، إذ كانت المجموعة الاولى بمثابة مجموعة سيطرة (A1) التي بدون إضافة أية مادة الى مخفف Tris، في حين تمت إضافة كل 5 ملي مول من فيتامين C (L-Ascorbic acid, SCR, Chiena) و 0.2 ملي مول من فيتامين E (α Tocopherol, BDH, England) والأوميكا 3 بتركيز 0.8 ملغم/مل (Omega-3,EPA & DHA, vitex pharmaceuticals, Pty, Lty, Australia) للمعاملات الثانية (A2)، الثالثة (A3) والرابعة (A4) على التوالي الى مخفف Tris. كما تمت إضافة خليط كل من فيتاميني C و E في المعاملة (A5) وفيتامين C والأوميكا 3 في المعاملة السادسة (A6) وفيتامين E والأوميكا 3 في المعاملة السابعة (A7) وبالتراكيز نفسها المذكورة أنفاً الى مخفف Tris. تم تقدير النسبة المئوية للاكروسيوم السليم لكل المعاملات عند التبريد 5°م و 48 ساعة والشهر الاول والثاني والثالث من الحفظ بالتجميد حيث تم تحضير صبغة الكيمزا (Giemsa) حسب طريقة Burton وجماعته (14) وذلك بمزج 3.8 غم من مسحوق الكيمزا و 375 مل من الميثانول و 125 مل من الكليسيرول وتركزت لمدة أسبوعين لغرض التخثير ثم رشحت وأخذت 3 مل ومزجت مع 2 مل من محلول سورنس (Sorenson buffer) والمحضر من المواد التالية:

1- المحلول الاول: تمت إذابة 21.297 غم من Na_2HPO_4 في لتر من الماء المقطر الخالي من ثاني اوكسيد الكربون.

2- المحلول الثاني: تمت إذابة 20.415 غم من ثاني $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ في لتر من الماء المقطر الخالي من ثاني اوكسيد الكربون.

وحسبت سلامة الاكروسيوم وعلى وفق الخطوات التالية:

- 1- وضعت قطرة من عينة السائل المنوي لعمل مسحة على شريحة زجاجية نظيفة جففت بالهواء الساخن.
- 2- وضعت الشريحة بعد التجفيف لمدة 30 دقيقة في محلول.
- 3- غمرت الشريحة بحمام الصبغة لمدة 90 دقيقة ثم شطفت بماء الحنفية وجففت وفحصت العينة بالعدسة الزيتية وبقوة تكبير $\times 1000$.

اما طريقة التمييز فتمت من خلال تلون غطاء الرأس السليم باللون الازرق المائل الى البنفسجي بينما يبقى المتضرر ايضاً جزئياً يظهر عليه اللون الابيض في الاماكن التي حصل الضرر فيها، اما الاكروسيوم المتضرر فتظهر عليه فقاعات في اماكن مختلفة من الاكروسيوم وخاصة المقدمة.

- 1- حسبت نسبة التشوهات من خلال عد 200 نقطة بمناطق مختلفة من الشريحة وحسبت النسبة بحسب المعادلة التالية:

$$\text{نسبة تشوهات الاكروسوم (\%)} = \frac{\text{عدد النطف المشوهة الاكروسوم}}{\text{عدد النطف الكلية (200)}} \times 100$$

وكذلك تم حساب النسبة للنطف المشوهة وحسب طريقة Burton وجماعته (14)، اذ استخدمت صبغتا الايوسين - نكروسين ومن خلال فحص مائتي نقطة في حقول مجهرية مختلفة. وقد صنف تشوهات الى تشوهات خاصة برأس النطفة (المتضخم Giant، الضيق Narrow، المنفصل Detached، المزدوج Twin، اخرى خاصة بالقطعة الوسطية المنتفخة Swollen، القطيرة البروتوبلازمية العليا والسفلى Proximal and distal protoplasmic droplets، والثناينة القطعة الوسطية Twin، كذلك تشوهات القطعة الرئيسية والنهائية لذيل النطف المزدوج Twin، الملفت Coiled والمنكسر Broken وحسبت النسبة المئوية للنطف المشوهة ولكل تشوه وفق المعادلة الآتية:

$$\text{النسبة المئوية للنطف المشوهة} = \frac{\text{عدد النطف المشوهة}}{\text{العدد الكلي للنطف}} \times 100$$

التحليل الإحصائي

اجري التحليل الاحصائي للنتائج باستخدام البرنامج الاحصائي (25) لدراسة تأثير اضافة كل من فيتامين C، E والاوميجا 3 وخليطهما الى مخفف Tris في صفات النسب المئوية لسلامة الاكروسوم وتشوهات رأس النطف والقطعة الوسطية والرئيسة والنهائية لذيل نطف ثيران الهولشتاين ولمدد زمنية مختلفة وفق تصميم عشوائي كامل (CRD) باستعمال تجربة عاملية (5x7) وفق الانموذج الرياضي الاتي:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + TP_{(ij)} + e_{ijk}$$

إذ إنّ :

Y_{ijk} : قيمة المشاهدة العائدة للمجموعة i ($i = 1, 2, 3, 4, 5$).

μ = المتوسط العام للصفة المدروسة.

T_i = تأثير المعاملة i .

P_j = تأثير مدة الحفظ في التبريد والتجميد j .

$TP_{(ij)}$ = تأثير التداخل ما بين المعاملة والحفظ.

e_{ijk} = الخطأ القياسي.

قورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستعمال اختبار دنكن متعدد الحدود.

النتائج والمناقشة

تفوقت المعاملات جميعها معنوياً ($p < 0.05$) على مجموعة السيطرة (A1) للنسبة المئوية لسلامة اكروسوم النطف بعد التبريد 5م°، اذ تراوحت النسبة للمعاملات جميعها ما بين $73.78 \pm 3.14\%$ - $78.62 \pm 1.83\%$ في حين بلغت في مجموعة السيطرة $67.50 \pm 1.67\%$ (جدول 1). وبعد 48 ساعة من الحفظ بالتجميد أظهرت المعاملتان A7 (72.88 ± 1.77) والمعاملة A4 ($70.86 \pm 2.12\%$) تفوقاً معنوياً ($p < 0.05$) لنسبة سلامة الاكروسوم للنطف مقارنة مع معاملة السيطرة (A1) ($64.99 \pm 0.93\%$) ولم تظهر بقية المعاملات فيما بينها فروقاً معنوية (جدول 1).

تفوقت جميع المعاملات جميعاً تفوقاً عالي المعنوية ($p < 0.01$) في نسبة سلامة الاكروسيوم مقارنة مع مجموعة السيطرة بعد مرور شهر وشهرين وثلاثة أشهر من الحفظ بالتجميد، اذ بلغت أعلى قيمة لها بعد مرور شهر من الحفظ بالتجميد في المعاملة A6 (0.81 ± 71.01) ثم تليها المعاملات A7 (1.18 ± 70.48) A5 (1.20 ± 69.88) A3 (1.05 ± 69.42) A4 (1.70 ± 69.04) A2 (1.16 ± 68.93) مقارنة مع مجموعة السيطرة (0.88 ± 64.88) (جدول 1). في حين بلغت أعلى قيمة لها بعد مرور شهرين من الحفظ بالتجميد لدى المعاملة A7 (1.11 ± 72.35) مقارنة مع مجموعة السيطرة (0.76 ± 64.18) وأستمر تفوق هذه المعاملة A7 حتى بعد مرور ثلاثة أشهر اذ بلغت 1.03 ± 71.36 (جدول 1). وكذلك الحال بخصوص بقية المعاملات على معاملة السيطرة (A1)، إذ تراوحت نسبة سلامة الاكروسيوم في هذه المعاملات ما بين 69.95 ± 0.95 - 1.20 ± 68.31 مقارنة مع 0.81 ± 64.07 لمعاملة A1 وضمن المدة نفسها (جدول 1).

جدول 1: تأثير اضافة فيتامين E، C والاميكيا 3 وخليطهما الى مخفف Tris في سلامة الاكروسيوم للنطف (%) لدى ثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتبريد والتجميد (المتوسط $\pm$ الخطأ القياسي).

المعاملة	المدة	التبريد 5 °م	بعد 48 ساعة من الحفظ بالتجميد	بعد الشهر الاول من الحفظ بالتجميد	بعد الشهر الثاني من الحفظ بالتجميد	بعد الشهر الثالث من الحفظ بالتجميد	مستوى المعنوية
A1		1.67±67.50 Ab	0.93±64.99 A b	0.88±64.88 A b	0.76±64.18 A c	0.81±64.07 A b	N.S
A2		3.14±73.78 Aa	1.72±69.83 Aab	1.16±68.93 ABa	1.38±68.27 Bb	1.20±68.31 Ba	N.S
A3		0.80±75.34 Aa	1.06±69.64 Bab	1.05±69.42 Ba	1.26±70.22 Bab	0.95±69.95 Ba	p < 0.01
A4		1.05±77.14 Aa	2.12±70.86 Ba	1.70±69.04 Ba	1.49±69.88 Bab	1.45±69.10 Ba	p < 0.01
A5		1.42±75.47 Aa	0.90±69.44 Bab	1.20±69.88 Ba	0.55±69.59 Bab	1.01±68.80 Ba	p < 0.01
A6		3.32±75.49 Aa	2.64±70.42 Aab	0.81±71.01 Aa	0.88±70.56 Aab	1.34±69.42 Aa	N.S
A7		1.83±78.62 Aa	1.77±72.88 Ba	1.18±70.48 Ba	1.11±72.35 Ba	1.03±71.36 Ba	p < 0.01
مستوى المعنوية		p < 0.05	p < 0.05	p < 0.01	p < 0.01	p < 0.01	-

المتوسطات التي تحمل حروفاً صغيرة ضمن العمود الواحد تشير للمقارنة بين المعاملات والمتوسطات التي تحمل حروفاً كبيرة ضمن السطر الواحد تشير للمقارنة بين المدد المختلفة ضمن المعاملة الواحدة. N.S-: غير معنوية

A1 : مجموعة السيطرة (مخفف Tris) A2 : مخفف Tris + 5 مليمول فيتامين C A3 : مخفف Tris + 0.2 مليمول فيتامين E
A4 : مخفف Tris + 0.8 ملغم /مل أوميكا 3 A5 : مخفف Tris + 5 مليمول فيتامين C + 0.2 مليمول فيتامين E. A6 : مخفف Tris + 5 مليمول فيتامين C + 0.8 ملغم /مل أوميكا 3 A7 : مخفف Tris + 0.2 مليمول فيتامين E + 0.8 ملغم /مل أوميكا 3.

بينت نتائج تأثير المدد المختلفة من الحفظ إنعدام الفروق المعنوية في المعاملات A1، A2 و A6 لسلامة الاكروسيوم (جدول 1). في حين أوضحت النتائج وجود تفوق عالي المعنوية ($p < 0.01$) ما بين مدة التبريد (5°) وبقية المدد من الحفظ بالتجميد من التجربة لدى بقية المعاملات (A3، A4، A5 و A7) (جدول 1). ولم تكن هنالك أختلافات معنوية ما بين مدد الحفظ بالتجميد المختلفة لسلامة الاكروسيوم (جدول 1).

المتوسطات التي تحمل حروفاً صغيرة ضمن العمود الواحد تشير الى المقارنة بين المعاملات والمتوسطات التي تحمل حروفاً كبيرة ضمن السطر الواحد تشير الى المقارنة بين المدد المختلفة ضمن المعاملة الواحدة. N.S-: غير معنوية.

يعود التحسن الواضح في نسبة الاكروسيوم السليم لنطف ثيران الهولشتاين عند إضافة فيتامين C (A2) الى قابلية الفيتامين مضاداً للأكسدة ومن ثم منع أكسدة الأغشية الدهنية للنطف (15)، أذ يعمل على منع تكوين البيروكسيدات من خلال تفاعله مع جذر $OH^\bullet$ و O_2^- منع تحليل المركبات الخلوية المؤكسدة الى نواتجها التي تعرف

بالهيدروبيروكسيدات مثلاً حامض اليبوكسي الدهنية (Epoxy fatty acid) والالكانات (Alkane) والالكينات (Alkenes) والالكانات (Alkanats) والهيدروكسي الكينالات (Hydroxy Alkenals) والالديهيدات مثل مركب المألون دالديهيد (Malondialdehyde) وهو ناتج ثانوي لعملية البيروكسيدات الدهنية ويعكس حالة زيادة تكوين الجذور الحرة والاجهاد التأكسدي (27، 16). وهذا ما أكدته نتائج الدراسة الحالية عند اضافة فيتامين C بتركيز 5 ملي مول الى مخفف نطف ثيران الهولشتاين Tris مما يدل على إنخفاض الأكسدة الدهنية للنطف وبالتالي المحافظة على أغشية النطف (13).

كما أدت المعاملة بفيتامين E (A3) الى تحسن النسبة المئوية للنطف ذات الاكروسوم السليم عند معظم مدد التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة. يعود هذا التفوق ربما يعود الى أن فيتامين E يعدّ مضاداً للأكسدة يعمل على حماية الكولسترول والاحماض الدهنية غير المشبعة في الاغشية الخلوية ومنها غشاء النطفة. إذ يقوم بعملية كسر سلسلة تفاعلات تكوين الجذور الحرة من خلال كبحه لجذور 0_2^- و $0H^-$ و 0_2^- والجذور الاخرى الناتجة من أكسدة الدهون (الهيدروبيروكسيدات) مؤدياً الى تكوين جذور أخرى عن طريق منحه ذرة هيدروجين لإنتاج مركبات أكثر ثباتاً وبالتالي العمل على توقف سلسلة تفاعل وتضاعف الجذور الحرة (8، 33).

يعود تحسن نسبة سلامة الاكروسوم عند اضافة اوميكا 3 (A4) ربما يعود الى دور الاوميكا 3 في حدوث اندماج فعال (Active infusion) للاوميكا 3 مع أغشية النطف قبل التجميد وحمايتها ومما أدت الى زيادة مقاومة الاغشية للتدهور الناتج عن تكوين الحبيبات الثلجية (Crystal) بسبب اضافة الاوميكا 3 في أغشية النطف (29).

أن سبب تفوق المعاملة A5 الى أن فيتامين C أظهر أثر تعاونياً (Synergistic effect) عند اضافته مع مضادات الاكسدة الأخرى مثل فيتامين E، إذ يعملان على تثبيط أكسدة الدهون (20، 19) وحماية الاغشية الدهنية للنطف بشكل كفوء مقارنة مع عمل هذه الفيتامينات بمفردها. وهذا ما أكدته نتائج الدراسة الحالية، إذ عمل فيتامين E على حماية الأحماض الدهنية غير المشبعة والكولسترول من الأكسدة من خلال كسح سلسلة تفاعلات أكسدة الدهون وتحويلها الى جذر فيتامين E (TO) ثم العودة الى حالته المختزلة الفعالة (TOH) بوجود فيتامين C (18، 20) وبهذا يقوم فيتامين C بتحسين كفاءة فيتامين E مضاداً للأكسدة (11).

أدى اضافة خليط كل من فيتامين C والاوميكا 3 الى التفوق المعنوي ($p < 0.05$) للمعاملة (A6) لمدة التبريد وعالي المعنوية ($p < 0.01$) لمدد الحفظ بالتجميد لسلامة الاكروسوم مقارنة بمجموعة السيطرة. يشير هذا التحسن الى قابلية فيتامين C مضاداً للأكسدة (5، 11، 15) والى دور الاوميكا 3 في المحافظة على سيولة أغشية النطف (Fluidity). ومن خلال مراجعتنا للادبيات العلمية تعد دراسة خليط الاوميكا 3 وفيتامين C الأولى على مستوى العراق و العالم ولا توجد سابقة تعنى بهذا المجال لدى الثيران. وان النتائج الجيدة التي تحققت قد تفتح الباب واسعاً أمام الشركات العالمية المتخصصة في حفظ السائل المنوي.

يمكن ان يعزي التحسن الواضح لصفة الاكروسوم السليم لنطف ثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتبريد والتجميد نتيجة اضافة خليط فيتامين E والاوميكا 3 (A7) الى عمل الاوميكا 3 وعملها التآزري مع فيتامين E في حماية الخلايا والنسجة من الضرر الناتج عن الجذور الحرة، إذ تعمل الاوميكا 3 على زيادة نفاذية الغشاء البلازمي للنطف للعناصر الغذائية والمحافظة على سيولته (1)، في الوقت الذي يقوم فيتامين E بكبح الجذور الحرة وقد ذكرنا ذلك سابقاً (21، 31). وتعد نتائج خليط كل من الاوميكا 3 وفيتامين E في مخففات نطف الثيران الاولى في العراق والثانية على مستوى العالم أستناداً الى مراجعتنا للادبيات العلمية بعد دراسة Salisbury وجماعته

(30) على الرغم من استخدامهم تراكيز مختلفة عن تلك المستخدمة في الدراسة الحالية، ونحن نعتقد أن خلط المركبين قد يوفر خطين للدفاع والمحافظة على صفات النطف بعد التجفيد.

نسبة تشوهات رأس النطف

أشارت النتائج الى عدم وجود فروق معنوية في نسبة حدوث تشوهات رأس النطف بين المعاملات ولكافة مدد التجربة (التبريد 5 °م وبعد 48 ساعة التجفيد وبعد الاشهر (الاول، الثاني والثالث) من الحفظ بالتجميد (جدول 2).

لم تظهر النتائج أية فروق معنوية تذكر لتأثير مدة الحفظ في نسبة تشوهات رأس النطف في المعاملة الواحدة وللمعاملات جميعها (جدول 2).

جدول 2: تأثير اضافة فيتامين C و E والاميكيا 3 وخليطهم الى مخفف Tris في تشوهات رأس النطف (%). لدى ثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتبريد و التجفيد (المتوسط $\pm$ الخطأ القياسي).

المعاملة \ المدة	التبريد 5 °م	بعد 48 ساعة من الحفظ بالتجميد	بعد الشهر الاول من الحفظ بالتجميد	بعد الشهر الثاني من الحفظ بالتجميد	بعد الشهر الثالث من الحفظ بالتجميد	مستوى المعنوية
A1	0.48±8.34 A a	0.42±8.48 A a	0.55±8.85 A a	0.58±8.48 A a	0.53±8.09 A a	N.S
A2	0.79±7.72 A a	0.45±7.33 A a	0.49±7.89 A a	0.49±7.90 A a	0.46±7.88 A a	N.S
A3	0.92±8.21 A a	0.73±7.46 A a	0.72±7.92 A a	0.31±7.49 A a	0.43±7.32 A a	N.S
A4	0.86±9.17 A a	0.66±7.30 A a	0.67±7.83 A a	0.53±7.72 A a	0.62±7.62 A a	N.S
A5	0.37±7.1 A a	0.69±8.48 A a	0.81±8.82 A a	0.70±7.56 A a	0.67±7.45 A a	N.S
A6	0.34±8.53 A a	0.35±8.05 Aa	0.38±8.04 A a	0.41±7.59 Aa	0.39±7.32 Aa	N.S
A7	0.55±7.89 A a	0.46±8.31 A a	0.52±8.21 A a	0.75±7.75 A a	0.65±7.67 A a	N.S
مستوى المعنوية	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	-

المتوسطات التي تحمل حروفاً صغيرة ضمن العمود الواحد تشير للمقارنة بين المعاملات، والمتوسطات التي تحمل حروفاً كبيرة ضمن السطر الواحد تشير للمقارنة بين مدد المختلفة ضمن المعاملة الواحدة.

N.S: غير معنوية، A1 : مجموعة السيطرة (مخفف Tris)، A2 : مخفف Tris + 5 مليمول فيتامين C ، A3 : مخفف Tris + 0.2 مليمول فيتامين E ، A4 : مخفف Tris + 0.8 ملغم /مل أوميكا 3 ، A5 : مخفف Tris + 5 مليمول فيتامين C + 0.2 مليمول فيتامين E ، A6 : مخفف Tris + 5 مليمول فيتامين C + 0.8 ملغم /مل أوميكا 3 ، A7 : مخفف Tris + 0.2 مليمول فيتامين E + 0.8 ملغم /مل أوميكا 3

نسبة تشوهات القطعة الوسطية لذيل النطف

بينت نتائج هذه الدراسة وجود إنخفاض معنوي ($p < 0.05$) في تشوهات القطعة الوسطية للنطف لدى ثيران الهولشتاين في المعاملة بالاميكيا 3 (0.20 ± 0.42 %) مقارنة مع مجموعة السيطرة A1 (0.18 ± 1.28 %) عند مرحلة التبريد 5 °م في حين أنعدمت الفروق المعنوية بين معاملات التجربة المختلفة ومجموعة السيطرة عند المدة ذاتها (جدول 3). ولم تظهر النتائج أية فروق معنوية لتشوهات المنطقة الوسطية لذيل النطف ما بين المعاملات ومجموعة السيطرة بعد 48 ساعة من الحفظ بالتجميد (جدول 3)، في حين اوضحت النتائج وجود فروق معنوية ($p < 0.05$) للمعاملات مقارنة بمجموعة السيطرة وبعد شهر ($p < 0.05$) وشهرين وثلاثة أشهر ($p < 0.01$) من الحفظ بالتجميد، اذ بلغت أعلى قيمة لهذه الصفة لدى مجموعة السيطرة مقارنة بمعاملات التجربة (جدول 3).

أظهرت نتائج الدراسة عدم وجود فروق معنوية ما بين مدد الحفظ المختلفة (التبريد 5 °م و 48 ساعة والشهر الاول والثاني والثالث من الحفظ بالتجميد) لنسبة تشوهات القطعة الوسطية للذيل ضمن المعاملة الواحدة ولكافة معاملات التجربة كافة (جدول 3).

جدول 3: تأثير اضافة فيتامين C و E والاميكيا 3 وخليطهم الى مخفف Tris في تشوهات القطعة الوسطية لذيل النطف (%) لدى ثيران الهولشتاين بعد مدد الحفظ المختلفة من الحفظ بالتبريد والتجميد (المتوسط $\pm$ الخطأ القياسي).

المدة / المعاملة	التبريد 5 °م	بعد 48 ساعة من الحفظ بالتجميد	بعد الشهر الاول من الحفظ بالتجميد	بعد الشهر الثاني من الحفظ بالتجميد	بعد الشهر الثالث من الحفظ بالتجميد	مستوى المعنوية
A1	0.18 $\pm$ 1.28 B a	0.43 $\pm$ 1.00 B a	0.35 $\pm$ 1.28 B a	0.50 $\pm$ 2.14 AB a	0.35 $\pm$ 2.71 A a	N.S
A2	0.28 $\pm$ 0.71 A ab	0.18 $\pm$ 0.28 A a	0.18 $\pm$ 0.28 A b	0.18 $\pm$ 0.28 Abc	0.20 $\pm$ 0.42 A b	N.S
A3	0.26 $\pm$ 0.85 A ab	0.29 $\pm$ 0.42 A a	0.18 $\pm$ 0.28 A b	0.18 $\pm$ 0.28 A bc	0.26 $\pm$ 0.85 A b	N.S
A4	0.20 $\pm$ 0.42 A b	0.20 $\pm$ 0.57 A a	0.20 $\pm$ 0.42 A b	0.18 $\pm$ 0.28 Abc	0.20 $\pm$ 0.42 Ab	N.S
A5	0.29 $\pm$ 0.57 A ab	0.20 $\pm$ 0.42 A a	0.29 $\pm$ 0.42 A b	0.14 $\pm$ 0.85 A b	0.18 $\pm$ 0.28 A b	N.S
A6	0.20 $\pm$ 0.57 A ab	0.18 $\pm$ 0.28 AB a	0.20 $\pm$ 0.42 AB b	0 $\pm$ 0.00 Bc	0.20 $\pm$ 0.42 AB b	N.S
A7	0.18 $\pm$ 0.71 A ab	0.20 $\pm$ 0.57 A a	0.18 $\pm$ 0.28 A b	0.20 $\pm$ 0.57 A bc	0.20 $\pm$ 0.42 A b	N.S
مستوى المعنوية	p < 0.05	N.S	p < 0.05	p < 0.01	p < 0.01	-

المتوسطات التي تحمل حروفاً صغيرة ضمن العمود الواحد تشير للمقارنة بين المعاملات، والمتوسطات التي تحمل حروفاً كبيرة ضمن السطر الواحد تشير للمقارنة بين مدد المختلفة ضمن المعاملة الواحدة.

N.S: غير معنوية، A1 : مجموعة السيطرة (مخفف Tris)، A2 : مخفف Tris + 5 مليمول فيتامين C، A3 : مخفف Tris + 0.2 مليمول فيتامين E، A4 : مخفف Tris + 0.8 ملغم /مل أوميكا3، A5 : مخفف Tris + 5 مليمول فيتامين C + 0.2 مليمول فيتامين E، A6 : مخفف Tris + 5 مليمول فيتامين E، A7 : مخفف Tris + 0.2 مليمول فيتامين E + 0.8 ملغم /مل أوميكا3.

نسبة تشوهات القطعة الرئيسة والنهائية لذيل النطف

اوضحت النتائج عدم وجود فروق معنوية ($p < 0.05$) في نسبة تشوهات القطعة الرئيسة والنهائية لذيل النطف لمعاملات التجربة مقارنة بمجموعة السيطرة عند مدة التبريد 5°م أذ تراوحت النسبة ما بين 1.07 $\pm$ 10.88 - 1.25 $\pm$ 13.16% (جدول 4).

جدول 4: تأثير اضافة فيتامين C و E والاميكيا 3 وخليطهم الى مخفف Tris في تشوهات القطعة الرئيسة والنهائية لذيل النطف (%) لدى ثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتبريد و التجميد (المتوسط $\pm$ الخطأ القياسي).

المدة / المعاملة	التبريد 5 °م	بعد 48 ساعة من الحفظ بالتجميد	بعد الشهر الاول من الحفظ بالتجميد	بعد الشهر الثاني من الحفظ بالتجميد	بعد الشهر الثالث من الحفظ بالتجميد	مستوى المعنوية
A1	1.25 $\pm$ 13.16 A a	1.15 $\pm$ 13.92 A a	0.80 $\pm$ 13.57 A a	0.64 $\pm$ 13.41 A a	0.73 $\pm$ 12.80 A a	N.S
A2	1.07 $\pm$ 10.88 A a	0.96 $\pm$ 10.05 A b	0.82 $\pm$ 11.37 Aa	0.77 $\pm$ 11.36 A a	0.74 $\pm$ 11.29 A a	N.S
A3	1.02 $\pm$ 10.91 A a	0.82 $\pm$ 10.21 A b	0.93 $\pm$ 10.32 A a	1.30 $\pm$ 11.68 A a	0.91 $\pm$ 10.75 A a	N.S
A4	1.62 $\pm$ 12.97 A a	1.03 $\pm$ 10.56 A ab	1.15 $\pm$ 10.96 A a	1.03 $\pm$ 10.67 A a	0.89 $\pm$ 11.22 A a	N.S
A5	1.15 $\pm$ 11.66 A a	1.51 $\pm$ 13.25 A ab	1.30 $\pm$ 12.27 A a	1.14 $\pm$ 12.03 A a	1.20 $\pm$ 11.59 A a	N.S
A6	1.38 $\pm$ 13.62 A a	1.05 $\pm$ 12.76 A ab	1.08 $\pm$ 12.40 A a	1.00 $\pm$ 12.15 A a	1.03 $\pm$ 12.25 A a	N.S
A7	1.41 $\pm$ 11.43 A a	0.99 $\pm$ 12.05 A ab	0.89 $\pm$ 11.18 A a	0.80 $\pm$ 11.00 A a	1.09 $\pm$ 10.19 A a	N.S
مستوى المعنوية	N.S	p < 0.05	N.S	N.S	N.S	-

المتوسطات التي تحمل حروفاً صغيرة ضمن العمود الواحد تشير للمقارنة بين المعاملات، والمتوسطات التي تحمل حروفاً كبيرة ضمن السطر الواحد تشير للمقارنة بين مدد المختلفة ضمن المعاملة الواحدة.

N.S: غير معنوية، A1 : مجموعة السيطرة (مخفف Tris)، A2 : مخفف Tris + 5 مليمول فيتامين C، A3 : مخفف Tris + 0.2 مليمول فيتامين E، A4 : مخفف Tris + 0.8 ملغم /مل أوميكا3، A5 : مخفف Tris + 5 مليمول فيتامين C + 0.2 مليمول فيتامين E، A6 : مخفف Tris + 5 مليمول فيتامين C + 0.8 ملغم /مل أوميكا3، A7 : مخفف Tris + 0.2 مليمول فيتامين E + 0.8 ملغم /مل أوميكا3.

في حين لوحظ انخفاض معنوي ($p < 0.05$) لهذه النسبة في المعاملتين A2 ($10.05 \pm 0.96\%$) وA3 ($10.21 \pm 0.82\%$) مقارنة بمجموعة السيطرة ($13.92 \pm 1.15\%$) بعد مرور 48 ساعة (جدول 4). من جانب آخر، لم تظهر المعاملات جميعها أية فروق معنوية لنسبة تشوهات القطعة الرئيسية والنهائية لذيل النطف بعد مرور شهر وشهرين وثلاثة أشهر من الحفظ بالتجميد (جدول 4).

لم يكن هنالك أي تأثير معنوي مابين مدة التبريد 5°C و 48 ساعة والشهر (الاول، الثاني والثالث) من الحفظ بالتجميد ضمن المعاملة الواحدة في نسبة تشوهات القطعة الرئيسية والنهائية لذيل النطف وللمعاملات كافة (جدول 4).

المصادر

- 1- الزيدي، عمر حسين عباس. (2014). إضافة بعض مضادات الأكسدة و الاوميكا 3 إلى مخفف Tris وأثرها في تحسين صفات السائل المنوي بعد الحفظ بالتجميد لثيران الهولشتاين. رسالة ماجستير، كلية الزراعة – جامعة بغداد.
- 2- ساجدة مهدي عيدان؛ عمر حسين عباس الزيدي؛ فارس فيصل إبراهيم؛ باسمه عبد رجب التميمي ووفاء يدام لطيف (2015). تأثير إضافة بعض مضادات الأكسدة الانزيمية وغير الانزيمية إلى مخفف Tris في قابلية التجميد لثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتجميد. المجلة الطبية البيطرية العراقية، 39 (2): 19-24.
- 3- عبد الكريم، طلال أنور؛ عمر عادل محمد؛ عبد الله محمد حسن شبر؛ فارس فيصل إبراهيم ووفاء يدام لطيف (2016). تأثير إضافة الكارنتين والايونستول إلى مخفف Tris في نوعية السائل المنوي بعد التجميد لثيران الهولشتاين. مجلة الأنبار للعلوم البيطرية، 9: 8-18.
- 4- عبد الكريم، طلال أنور؛ حمود سعدي نون وخالد حساني سلطان (2017). التأثير التآزري لبعض مضادات الأكسدة المضافة إلى مخفف Tris في النسبة المئوية لحركة النطف الفردية لدى ثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتبريد والتجميد. مجلة الانبار للعلوم البيطرية، 10 (1): تحت الطبع.
- 5- عبد الكريم، طلال أنور؛ حمود سعدي نون؛ خالد حساني سلطان؛ فارس فيصل إبراهيم؛ معزز عبد الخالق حيدر ووفاء يدام لطيف (2017). التأثير التآزري لبعض مضادات الأكسدة المضافة إلى مخفف Tris في قابلية تجميد النطف لدى ثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتبريد والتجميد. مجلة الانبار للعلوم البيطرية، 10 (1): تحت الطبع.
- 6- عبد الكريم، طلال أنور؛ حمود سعدي نون وخالد حساني سلطان (2017). التأثير التآزري لبعض مضادات الأكسدة المضافة إلى مخفف Tris في النسبة المئوية لتشوهات النطف الكلية لدى ثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتبريد والتجميد. المؤتمر العلمي الخامس لكلية الزراعة، جامعة الانبار.
- 7- Abavisani, A.; J. Arshami; A. Naserian; A. Kandelousi and M. Azizzadeh (2013). Quality of bovin chilled or frozen – thawed semen after addition of omega-3 fatty acids supplementation to extender. Int. J. fert. Seteril., 7:161-168.
- 8- Akiyama, M. (1990). In vivo scavenging effect of ethyl cysteine on reactive oxygen species in human semen. Nippon. Hinyokika. Gakkai Zasshi, 90:421– 428.

- 9- Amirat-Briand, L.; D. Bencharif; O. Vera-Munoz; BelHadj H. Ali; S. Destrumelle; S. Desherces; E. Schmidt; M. Anton and D. Tainturier (2009). Effect of glutamine on post-thaw motility of bull spermatozoa after association with LDL (low density lipoproteins) extender: Preliminary results. *Theriogenology*, 71: 1209–1214.
- 10- Asadpour, R.J. and H.T. Nasrabadi (2011). Influence of added vitamin C and vitamin E on frozen-thawed bovine sperm cryopreserved in citrate and Tris-based extenders. *Vet. Res. Forum*, 2:37-44.
- 11- Beconi, M.T.; C.R. Francia and N.G. Mora (1993). Effect of natural antioxidants infrozen bovine semen preservation. *Theriogenology*, 40: 841–851.
- 12- Bilodeau, J.F.; S. Chatterjee; M.A. Sirad and C. Gagnon (2000). Levels of antioxidant defenses are decreased in bovine spermatozoa after a cycle of freezing and thawing. *Mol. Reprod.*, 55:282-288.
- 13- Bucak, M.N.; P.B. Tuncer; S. Sariozkan; N. Bas; M. Tas; K. Cayan; A. Bilgili; P.P. Akalın; S. Buyukleblebici; S. Aydos; Ilgaz, S.; Sungurog, A. and Oztuna, D. (2010). Effects of antioxidants on post-thawed bovine sperm and oxidative stress parameters: Antioxidants protect DNA integrity against cryodamage. *Cryobiology*, 61: 248–253.
- 14- Burton, G.W.; A. Joyee and K.U. Lngold (1982). first proof that vitamin E is major lipid-soluble, chain-breaking antioxidant in human blood plasma. *Lancet*, 2:327-333.
- 15- Chatterjee, S.; E. De. Lamirande and C. Gagnon (2001). Cryopreservation alters membrane sulfhydryl status of bull spermatozoa: protection by oxidized glutathione. *Mol. Reprod. Dev.*, 60: 498–506.
- 16- Crespilho, A. M.; M. Nichi; P.I.V. Guasti; C.P. Freitas-Dell'Aqua; M.F. Safilho; R.R. Mazlero; J.A. Dell'aqua, and F.O. Papa (2014). Sperm fertility and viability following 48h of refrigeration: Evaluation of different extenders for the preservation of bull semen in liquid state. *Anim. Reprod. Sci.*, 146: 126-133.
- 17- Dalvit, G.C.; P.D. Cetica and M.T. Beconi (1998). Effect of α -tocopherol and ascorbic bovine in vitro fertilization. *Theriogenology*, 49:619-627.
- 18- Eidan, S.M. (2016). Effect on post-cryopreserved semen characteristics of Holstein bulls of adding combinations of vitamin C and either catalase or reduced glutathione to Tris extender. *Anim. Reprod. Sci.*, 167: 1-7.
- 19- Halliwell, B. (1996). Oxidative stress , nutrition and health . *Free Radical Res.* , 25 : 57-62.
- 20- Hancock, J.L. (1946). Morphology of bull spermatozoa. *Nature.*, 157: 447.
- 21- Hu, J.H.; W.Q. Tlan; X.L. Zhao; L.S. Zan; H. Wang; Q.W. Li and Y.P. Xin, (2010). The cryoprotective effects of ascorbic acid supplementation on bovine semen quality. *Anim. Reprod. Sci.*, 121: 72-77.
- 22- Jialal, I.; G.L. Vega and S.M. Grundy (1990). Physiologic levels of ascorbate inhibit the oxidative modification of low density lipoprotein. *Atherosclerosis*, 82: 185- 190.
- 23- Knight, J.A.; R.C. Blaylock and D.A. Searles (1993). The effect of vitamins C and E on lipid peroxidation in stored erythrocytes. *Ann. Clin. Lab.Sci.*, 23: 51–56.

- 24-Niki, E. (1996). A- tocopherol. In: handbook of antioxidants. M. dekker, Ed, Cadenzas, E. and Packer. L.pp: 3- 25.
- 25- Niki, E.; T. Saito; A. Kawakami and Y. Kamiya (1984). Inhibition of oxidation of methyl linoleate in solution by vitamin E and vitamin C. J. Boil. Chem., 259: 4177.
- 26- Packer, J.E.; T.F. Salter and R.L. Wilson (1979) . Direct observation of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C. Nature, 278: 737-740.
- 27-Safarinejad, M.R.; S.Y. Hosseini; F. Dadkhan and M.A. Agari (2010). Relationship of omega-3 and omega-6 fatty acids with semen characteristics, and antioxidant status of seminal plasma: A comparison between fertile and infertile men. Clin. Nut., 29:100-105.
- 28- Salamon, S. and W.M.C. Maxwell (2000). Storage of ram semen Anim. Reprod. Sci., 62: 77-111.
- 29- Salisbury, G. M.; N.L. Van Denmark and J.R. Lodge (1978). Semen evaluation. Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle., 2nd edn. W. H. Freeman and Co., San Francisco. pp. 326-353.
- 30- Salisbury, G.W.; G.H. Beck; Elliontti, I. and E.L. Willett (1943). Rapid methods for estimating the number of spermatozoa bull semen. J. Dairy Sci., 26:69-79.
- 31- SAS. (2010). SAS/STAT User's Guide for Personal Computers. Release 9.1 SAS Institute Inc., Cary, N.C., USA.
- 32- Silva, P.F.N. (2006). Physiology of peroxidation processes in mammalian sperm. PhD Thesis, College of Veterinary Medicine. University of Utrecht, Portuguese. p: 35- 36.
- 33- Sunderman, F.W.J. (1986). Metals and lipid peroxidation. Acta. Pharmacol. Toxicol., 59: 248- 254.
- 34- Surai, P.F.; I. Kostjuk and G. Wishart (1998). Effect of vitamin E and selenium supplementation of cockerel diets on glutathione peroxidase activity and lipid peroxidation susceptibility in sperm, testes, and liver. Biol. Trace Elem. Res., 64:119–132.
- 35- Towhidi, A.; S. Zeinoaldini; I.R. Ardebili; N.D. Davachi and A. Hossein, (2013). Combined n-3 fatty acids and α -tocopherol supplementation improved the ovine sperm cryosurvival. Iranian Journal of Biotechnology, 11: 238-43.
- 36- Towhidi, A. and J.E. Parks (2012). Effect of n-3 fatty acids and α -tocopherol on post-thaw parameters and fatty acid composition of bovine sperm. J. Assist. Reprod. Genet., 29 :1051-1056.
- 37- Walton, A. (1933). Technique of artificial insemination. mp. Bur. Anim. Genet. 56, Iiius- Edinburgh.
- 38- Wathes, D.C.; D.R.E. Abayasekara and R.J. Aitken (2007). Polyunsaturated fatty acids in male and female Reproduction. Biol. Reprod., 77:190-201.
- 39- Wayner, D.D.; G.W. Lngold and K.U. Barely (1987). The relative contributions of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxyl radical -trapping antioxidant activity of human blood plasma. Biochim. Biophys. Acta., 924:408-419.

EFFECT OF ADDING SOME VITAMINS, OMEGA-3 AND THEIR COMBINATIONS TO TRIS EXTENDER ON SPERM ACROSOME DEFORMATION PERCENTAGE OF HOLSTEIN BULLS AFTER DIFFERENT PRESERVATION PERIODS

S.M. Eidan

O.H.A. Al-Zaidi

ABSTRACT

This study was undertaken at the Department of Artificial Insemination, Abu-Ghraib, the Directorate of Animal Resource, Ministry of Agriculture, during the period from October 2012 to February 2013 to investigate the effect of adding vitamin C, vitamin E and Omega-3 and their combinations to Tris extender on sperm acrosome integrity percentage aged Holstein bulls following different preservation periods. Seven mature bulls of 2.5-3 years old were used in this study. Semen was collected via artificial vagina in one ejaculate per bull per week for the 7 weeks experimental period. The evaluations were performed for fresh semen, and thereafter, pooled, and subdivided to different experimental groups by diluting with Tris-based extender. Vitamin C (5 Mm), Vitamin E (0.2 Mm) and Omega-3 (0.8 mg/ml) were added to Tris extender in the second and third and forth groups, while the Tris was added only to the control group (A1), and were added mixed each of vit. C and vit E as a fifth groups, vit C and Omega-3 as a sixth groups, vit. E and Omega-3 as a seventh groups with same concentration. The acrosome integrity percentage was investigated after different periods (cooling at 5 °C, 48 hrs, 1, 2 and 3 months post cryopreservation, PC). The acrosome integrity percentage had significantly ($p \leq 0.05$) increased in all groups at three months PC as compared with the control group. On the other hand, the differences among treatments in sperm's head, midpiece and tail's principal and terminal abnormalities lacked significance. In conclusion, the addition of non-enzymatic antioxidants and Omega-3 to Tris extender improved the PC acrosome integrity percentage of Holstein bulls through their pivotal role as antioxidant and cryoprotectant agents. These will certainly enhance the conception and pregnancy rates of inseminated cows.