تأثير غرز هرمون الميلاتونين في نوعية السائل المنوي لثيران الهولشتاين:1- حجم القذفة والعدد الكلي للنطف الطبيعية

ساجدة مهدي عيدان[*]، رائد إبراهيم خليل[**] وزيد حسن علي[1**]

[*]قسم الإنتاج الحيواني- كلية الزراعة/ جامعة بغداد

[**]قسم الإنتاج الحيواني - كلية الزراعة/ جامعة ديالى

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة بهدف بيان تأثير غرز هرمون الميلاتونين في حجم القذفة والعدد الكلي للنطف الطبيعية لثيران الهولشتاين. نفذت هذه الدراسة في قسم التلقيح الاصطناعي التابع لدائرة الثروة الحيوانية/ وزارة الزراعة في منطقة أبو غريب (25 كم غرب بغداد) للمدة من 7/12/2015 ولغاية 1/6/2016 باستعمال 12 ثور هولشتاين تراوحت أعمارها بين 5- 3 سنوات وأوزانها بين 500-750 كغم/ ثور. وزعت الثيران عشوائيا إلى ثلاثة مجاميع متساوية (4 ثور/ مجموعة)، تركت المجموعة الأولى بدون معاملة وعدت بمثابة مجموعة سيطرة (T1). في الوقت الذي غرزت فيه المجموعتين الثانية (T2) والثالثة (T3) بهرمون الميلاتونين تحت جلد قاعدة الاذن اليسرى بمقدار 54 و72 ملغم على التوالي، وأعيد غرز الهرمون للثيران بعد شهر من الغرزة الأولى. تم جمع السائل المنوي من الثيران بواسطة المهبل الأصطناعي (1 قذفة/ ثور/ اسبوعياً) لدراسة تأثير غرز هرمون الميلاتونين للسائل المنوي الطازج والمحفوظ بالتجميد لمدة 48 ساعة وأسبوع من الحفظ. لم يكن للمعاملات اي تاثير معنوي في حجم القذفة. في الوقت الذي ازداد فيه العدد الكلي للنطف الطبيعة لدى المعاملتين T2 و T3 ولدى اغلب مدد التجربة مقارنة مع المعاملة T1. يمكن الاستنتاج ان الغرز بهرمون الميلاتونين كان له دور ايجابي في زيادة العدد الكلي للنطف الطبيعية لدى ثيران الهولشتاين مما ينعكس ايجابياً في تحسين الاداء التناسلي وزيادة انتاجية مراكز التلقيح الاصطناعي والعائد المادي لمربي الابقار.

الكلمات المفتاحية :هرمون الميلاتونين، نوعية السائل المنوي، ثيران الهولشتاين.

e-mail:dr_staaa@yahoo.com, Dr.Raed@agriculture.uodiyala.edu.iq, Zaidhassan649@yahoo.com

Effect of melatonin implantation on Semen quality Holstein bulls:1- Ejaculate volume and Total normal morphology sperm

S. M. Eidan[*], R. I. Khalil[**] and Z. H. Ali[**]

[*]Dep. Animal Production- College of Agriculture/ University of Baghdad

[**]Dep. Animal Production- College of Agriculture/ University of Diyala

Abstract

This study was conducted to investigate the effect of melatonin implantation on ejaculate volume and total normal morphology sperms of Holstein bulls. This study was executed at the department of artificial insemination pertaining to the directorate of animal resource ministry of agriculture, Abu-Ghraib (25 km west of Baghdad) during the period from 7th of December, 2015 to 1st of June, 2016 using 12 Holstein bulls of 3-5 years old and 500-750 kg live body weight the bulls were randomly distributed into three equal groups (4 bulls/ group). The first group was left without any treatment, regarding as control group (T1), whereas left, second and third group were subcutaneous-ear implanted with 54 (T2) and 72 (T3) mg of melatonin respectively Re-implantation of hormone was done, one month later, Semen was also

[1] البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثالث.

collected from each experimental bulls via artificial vagina, as once ejaculate per bull weekly to explore the effect of melatonin implantation on fresh, cooled as well as 48hr and 1 week post cryopreservation (PC). Non- significant differences were observed among treatments in ejaculate volume among treatments, preservation periods and weeks, Greater ($p \leq 0.05$) total normal morphology (TNM) was noticed in T2 and T3 groups as compared with the T1 group for most experimental periods. In conclusion, the melatonin implantation has a positive role in improving total normal morphology sperms of Holstein bulls, which in turn enhancing the reproductive performance and fertility percentage of cows as well as increasing the artificial insemination productivity and owners income.

Keywords: Melatonin hormone, semen quality, Holstein bulls.

المقدمة

أن استخدام التلقيح الاصطناعي (Artificial insemination) في برامج التربية يسرع من عملية التحسين الوراثي ويزيد الانتاج في مشاريع الإنتاج الحيواني. ولغرض تحقيق هذه الفوائد فأن خزن النطف لمدة طويلة بواسطة التجميد يعد أمراً ضروريا، ومع ذلك فأن عملية الحفظ بالتجميد تؤدي إلى حدوث أضرار للنطف وانخفاض حركتها وحيويتها وقابليتها الاخصابية وحدوث تدهور في الغشاء البلازمي وضرر المادة الوراثية DNA (1) وقد يعزى حدوث هذا الضرر خلال عملية الحفظ بالتجميد إلى صدمة البرد Cold shocks(2) وإنتاج أنواع الأوكسجين التفاعلي (ROS) الذي له دور كبير في أكسدة الدهون لأغشية النطف الثديات التي تكون عرضة بشكل خاص للضرر الناجم عن الجذور الحرة وذلك لاحتواء السائل المنوي على كميات قليلة من مضادات الأكسدة الداخلية، وكميات كبيرة من الأحماض الدهنية الغير المشبعة الموجودة في الغشاء البلازمي (3). يعد هرمون الميلاتونين (Melatonin) الإفراز الرئيسي للغدة الصنوبرية، وتوجد مستقبلاته في العديد من خلايا وأعضاء الجسم، إذ وجد في القطعة الوسطية لنطف الإنسان (4) والغشاء البلازمي لنطف الكباش (5)، ويعمل على حماية الأمشاج من الضرر التأكسدي (6) من خلال تحفيز إنزيمات المضادة للأكسدة مثل إنزيم سوبر أوكساید دسميوتيز(SOD) وكلوتاثيون بيروكسيديز (GPx) والكتاليز، وتثبيط إنزيمات محفزات الأكسدة مما يشير إلى الفعالية الواسعة لهرمون الميلاتونين(7). ونظرا لأهمية الميلاتونين كمضاد للأكسدة ودوره الفعال في الحفاظ على نوعية النطف من الضرر التأكسدي والذي ينعكس ايجابيا في اطالة مدة حفظ السائل المنوي وتحسين نوعيته وبالتالي زيادة نسب الاخصاب والحمل. ونظرا لعدم وجود دراسات سابقة حول تأثير غرز هرمون الميلاتونين في صفات السائل المنوي لثيران الهولشتاين، لذا فقد صممت هذه الدراسة بهدف بيان تأثير غرز هرمون الميلاتونين في حجم القذفة والعدد الكلي للنطف الطبيعية خلال مدد مختلفة للحفظ بالتبريد والتجميد لدى ثيران الهولشتاين.

المواد وطرائق العمل

أجريت هذه الدراسة في قسم التلقيح الاصطناعي التابع لدائرة الثروة الحيوانية/ وزارة الزراعة في منطقة أبو غريب (25 كم غرب بغداد)، للمدة من 7/ 12/ 2015 ولغاية 1/ 6/ 2016 اختير 12 ثور من سلالة الهولشتاين جميعها مدربة على جمع السائل المنوي بطريقة المهبل الاصطناعي تتراوح أعمارها بين 3-5 سنوات، وبوزن جسم يتراوح بين 500-750 كغم/ ثور تم إيواء الحيوانات في حظائر مكونة من جزء مضلل بأبعاد (4×4 م) وجزء مكشوف بأبعاد (4×13 م). فحصت جميع الثيران قبل البدء بالدراسة وكانت جميعها بصحة جيدة وخالية من الأمراض وذلك لخضوعها للإشراف البيطري بصورة مستمرة غُذيت جميع الثيران طيلة مدة الدراسة بنظام غذائي موحد، إذ قدم لها العلف المركز يومياً بمعدل 4-6 كغم/ حيوان، وقد كانت العليقة المنتجة في معمل علف القسم مكونة من 35% شعير و33% نخالة الحنطة و10%

ذره صفراء و20% كسبة فول الصويا و0.5% حجر الكلس و0.5% ملح الطعام و1% فيتامينات وبلغ مستوى البروتين الخام في العليقة 18% وكمية الطاقة 3323 كيلو سعرة لكل كيلو غرام. تألف العلف الخشن (Roughage) من دريس الجت بكمية تراوحت ما بين 7-9 كغم/ حيوان/ يومياً والعلف الأخضر بواقع 50-60 كغم/ حيوان/ يومياً. اما قوالب الأملاح (سعودي المنشأ) والماء الصالح للشرب فكانتا موجودة أمام الحيوانات باستمرار. قسمت الثيران عشوائياً الى ثلاث مجاميع متساوية (4 ثيران/ مجموعة) كالاتي: تركت ثيران المجموعة الأولى بدون أي معاملة وعدت كمجموعة سيطرة (T1). غرزت ثيران المجموعة الثانية (T2) بثلاث غرز من الميلاتونين (54 ملغم) تحت جلد قاعدة الاذن اليسرى. غرزت ثيران مجموعة الثالثة (T3) بأربع غرز من الميلاتونين (72 ملغم) تحت جلد قاعدة الاذن اليسرى. أُعيد غرز ثيران المجموعة الثانية والثالثة (54 و72 ملغم) على التوالي بعد شهر من الغرزة الأولى.

احتوت علبة غرز الميلاتونين (®Melovine) (Ceva Sante Animal-France) على 2 شريط ، واحتوى كل شريط على 25 غرزة. وكل غرزة تحوي على 18 ملغم من هرمون الميلاتونين. جمع السائل المنوي بعد اسبوع من المعاملة وذلك باستخدام المهبل الاصطناعي، اذ تراوحت درجة الحرارة المهبل الاصطناعي عند الجمع ما بين 41 - 42°م، بدأت عملية الجمع الساعة السابعة صباحاً بواقع 1 قذفة/ ثور/ اسبوع. ولغرض التهيئة للقذف سمح لكل ثور بقيام بوثبة كاذبة (False mount) وذلك لزيادة الرغبة الجنسية (8)، وتم التأكيد على بقاء مكان وموعد الجمع ثابتين طيلة مدة الدراسة، وقد بلغ عدد القذفات التي جمعت خلال مدة التجربة 120 قذفة، وبمعدل 10 قذفة/ ثور. خفف السائل المنوي بمخفف Tris المعد مسبقاً بدرجة حرارة 37 مْ واجراء الفحوصات (العدد الكلي للنطف المتحركة والسليمة الغشاء البلازمي)، بعدها وضعت العينات بعد اجراء الترقيم في بيكر يحتوي على ماء بدرجة حرارة 32 مْ ونقلت الى الثلاجة وبعد استقرار درجة الحرارة عند درجة 5مْ فحص العدد الكلي للنطف المتحركة والسليمة الغشاء البلازمي. ومن ثم تم تعبئة العينات آليا في قساطر (French straws) بقياس 0.25 مل (IMV,France) ، وإكمال فترة التعادل (Equilibration) والتي أمدها اربع ساعات لتعادل الكليسيرول حسب ما اشار اليه (9)، بعدها نقل الى حوض النتروجين السائل وترك لمدة 10 دقائق في بخار النتروجين -120 مْ، ثم غمرت في سائل النتروجين -196 مْ حسب ما اشار اليه (10). تم تقدير حجم القذفة باستخدام انابيب مدرجة معدة لهذا الغرض، كما تم تقدير العدد الكلي للنطف الطبيعية استناداً إلى طريقة (11).

تم إجراء التحليل الإحصائي بتطبيق التجربة العاملية (3×10) وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة باستخدام مشاهدة واحدة باعتبار العمر كقطاع لدراسة تأثير المعاملة (T) والأسابيع (W)، باستخدام البرنامج الاحصائي الجاهز SPSS، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستخدام اختبار (12)عند مستوى معنوية ($P<0.05$) وبغض النظر عن معنوية اختبار F في جدول تحليل التباين (13)، وباستخدام الانموذج الرياضي الآتي:

الأنموذج الرياضي الأول: للتحري عن تأثير المعاملات والأسابيع لصفة حجم القذفة.

$$Yijk = \mu + \tau i + Wj + \tau W(ij) + Bk + \varepsilon ijk$$

إذ تمثل:

Yijk: قيمة المشاهدة للوحدة التجريبية k التي أخذت المستوى i من العامل T والمستوى j من العامل W.

μ: المتوسط العام للتجربة.

τi: تأثير المعاملة (i = معاملة السيطرة والميلاتونين1 والميلاتونين2).

Wj: تأثير الأسابيع (j = الاسبوع الاول والثاني والثالث والرابع والخامس والسادس والسابع والثامن والتاسع والعاشر).

Bk: تأثير القطاع (k=عمر ثلاث سنوات وعمر خمس سنوات)

τW(ij): تأثير التداخل بين المستوى i من العامل T والمستوى j من العامل W.

Εijk: تأثير الخطأ التجريبي العشوائي للوحدة التجريبية في القطاع k من العامل T والعامل W.

الأنموذج الرياضي الثاني: للتحري عن تأثير المعاملات والأسابيع وفترات الحفظ لصفة العدد الكلي للنطف الطبيعية.

$$Yijkl = \mu+\tau i+Wj+Pk+\tau W(ij)+\tau P(ik) +WP(jk) +\tau WP(ijk)+B +Eijkl$$

إذ تمثل:

Yijkl: قيمة المشاهدة للوحدة التجريبية l التي أخذت المستوى k من العامل P والمستوى j من العامل W والمستوى i من العامل T.

μ: المتوسط العام للتجربة.

τi: تأثير المعاملة (i = معاملة السيطرة والميلاتونين1 والميلاتونين2).

Wj: تأثير الأسابيع (j = الاسبوع الاول والثاني والثالث والرابع والخامس والسادس والسابع والثامن والتاسع والعاشر).

Pk: تأثير فترات الحفظ (k = الطازج، بعد التبريد 5°م، بعد 48 ساعة من التجميد، بعد أسبوع من التجميد).

B: تأثير القطاع (l=عمر ثلاث سنوات 2=عمر خمس سنوات).

τW(ij): تأثير التداخل بين المستوى i من العامل T والمستوى j من العامل W.

τP(ik): تأثير التداخل بين المستوى i من العامل T والمستوى P من العامل P.

WP(jk): تأثير التداخل بين المستوى j من العامل W والمستوى k من العامل P.

τWP(ijk): تأثير التداخل بين المستوى i من العامل T والمستوى j من العامل W والمستوى k من العامل P.

Εijkl: تأثير الخطأ التجريبي العشوائي للوحدة التجريبية في القطاع l من العامل T والعامل W والعامل P.

النتائج والمناقشة

- **حجم القذفة:** أوضحت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية لمعدل حجم القذفة ما بين المعاملات المختلفة، إذ بلغ المعدل العام لحجم القذفة 6.04 ±0.41، 6.80±0.28 و6.95 ±0.36 مل لمعاملات السيطرة (T1) و54 (T2) و72 (T3) ملغم من غرز هرمون الميلاتونين على التوالي (جدول1). لم يكن هنالك أي فرق معنوي لحجم القذفة ما بين المعدل العام للأسابيع المختلفة 10 أسابيع (جدول 2). وضمن السياق نفسه اظهرت نتائج التحليل الإحصائي انعدام الفروق المعنوية لحجم القذفة ما بين قيم التداخل للمعاملات المختلفة وطوال مدة التجربة 10 اسابيع (جدول1).

جدول(1) تأثير تداخل غرز هرمون الميلاتونين والفترات على حجم القذفة (مل) لدى ثيران الهولشتاين (المتوسط ± الخطأ القياسي)

أسابيع / المعاملة	الأسبوع الأول	الأسبوع الثاني	الأسبوع الثالث	الأسبوع الرابع	الأسبوع الخامس	الأسبوع السادس	الأسبوع السابع	الأسبوع الثامن	الأسبوع التاسع	الأسبوع العاشر	المعدل العام
T_1	1.12±5.88 a	1.12±5.13 a	0.12±6.13 a	2.70±7.80 a	0.85 ±5.35 a	1.37 ±5.13 a	0.5±5.75 a	2 ±5.25 a	0.5 ±5.75 a	2.25 ±8.25 a	0.41±6.04 A
T_2	1.5±5.75 a	1.37±7.63 a	0.75±7.00 a	0.99 ±7.50 a	0 ± 6.50 a	0.75 ±7.00 a	0.75±7.75 a	0.37 ±6.37 a	1.87±6.63 a	0.37 ±5.88 a	0.28±6.80 A
T_3	1.37±6.63 a	1.12±7.38 a	2.25±6.75 a	1.35±7.35 a	0.75±5.75 a	0.75± 6.75 a	2.62±7.88 a	0.5 ±6.50 a	0.99 ±8.50 a	0.4 ±6.10 a	0.36 ± 6.95 A
المعدل العام	0.62±6.09 A	0.74±6.71 A	0.63±6.63 A	0.82 ±7.55 A	0.36 ±5.87 A	0.58 ±6.29 A	0.84 ±7.12 A	0.59 ±6.05 A	0.76±6.96 A	0.76±6.74 A	0.21 ±6.60

*المتوسطات التي تحمل أحرف كبيرة عموديا تشير للمقارنة بين المعاملات، والمتوسطات التي تحمل احرف كبيرة أفقيا تشير للمقارنة بين الفترات المدروسة، والمتوسطات التي تحمل احرف صغيرة أفقيا تشير للمقارنة بين قيم التداخل.

*المتوسطات التي تحمل حروف متشابهة لا تختلف عن بعضها معنويا عند مستوى احتمال ($P\leq0.05$)وفق اختبار توكي.

T_1 = مجموعة السيطرة؛ T2 و T3 = غرز الثيران 54 و72 ملغم/ شهر من هرمون الميلاتونين على التوالي وأعيدت عملية الغرز للمعاملتين بعد مرور شهر من المعاملة وبالجرعة نفسها.

- **العدد الكلي للنطف الطبيعية:** أوضحت نتائج التحليل الإحصائي وجود تأثير معنوي ($P\leq0.05$) للمعاملات على العدد الكلي للنطف الطبيعية، إذ تفوقت المعدل العام لكل من المعاملة الثانية والثالثة معنويًا ($P\leq0.05$)على المعاملة الأولى في الوقت الذي لم تختلف فيه المعاملتين الثانية والثالثة معنويًا عن بعضهما البعض، وقد بلغ العدد الكلي للنطف الطبيعية 13.23±0.02 و13.42±0.04 و13.42±0.04 ×10^6 للمعاملات الأولى والثانية والثالثة على التوالي (جدول2). يتضح من جدول (3) وجود تأثير معنوية ($P\leq0.05$) لفترات الحفظ على المعدل العام للعدد الكلي للنطف الطبيعية، إذ انخفض العدد الكلي للنطف الطبيعية معنويًا ($P\leq0.05$) بمرور فترات الحفظ بالتبريد (13.40±0.02 ×10^6) والتجميد لمدة 48 ساعة (13.28±0.02×10^6) وأسبوع (13.22±0.02 ×10^6) مقارنة مع العدد الكلي للنطف الطبيعية للسائل المنوي الطازج (13.53±0.02 ×10^6) (جدول2). يتضح من الجدول (3) وجود فروق معنوية للعدد الكلي للنطف الطبيعية بين قيم التداخل للمعاملة مع السائل المنوي الطازج وفترات الحفظ المختلفة (تبريد، 48 ساعة وأسبوع من الحفظ بالتجميد)، إذ سجلت المعاملتين الثانية والثالثة اعلى عدد للنطف الكلية الطبيعية لدى السائل المنوي الطازج في حين سجلت المعاملة الأولى اقل عدد للنطف الكلية الطبيعية بعد أسبوع من الحفظ بالتجميد. ومن جانب اخر، ارتفع العدد الكلي للنطف الطبيعية لدى المعاملتين الثانية والثالثة معنويًا($P\leq0.05$) مقارنة مع المعاملة الأولى للسائل المنوي الطازج .ومن جهة اخرى لم يختلف العدد الكلي للنطف الطبيعية معنويًا لدى المعاملتين الثانية والثالثة في السائل المنوي الطازج، وقد بلغ العدد الكلي للنطف الطبيعية في السائل المنوي الطازج 13.40±0.04 و13.61±0.04 و13.58±0.04 ×10^6 للمعاملات T_1،T_2وT_3 على التوالي (جدول 2). أزداد العدد الكلي للنطف الطبيعية لدى المعاملتين الثانية (13.45±0.04 ×10^6) والثالثة (13.49±0.04 ×10^6) عند التبريد مقارنة مع المعاملة الأولى (13.27±0.04 ×10^6) في حين لم يختلف العدد الكلي للنطف الطبيعية ما بين المعاملتين الثانية والثالثة عند التبريد (جدول3). ارتفع العدد الكلي للنطف الطبيعية لدى المعاملة الثالثة (13.35±0.02 ×10^6) مقارنة مع المعاملة الاولى (13.16±0.04 ×10^6) بعد 48 ساعة من الحفظ بالتجميد (جدول2). تفوقت المعاملة الثانية (13.29±0.02 ×10^6) في العدد الكلي للنطف الطبيعية على المعاملة الاولى (13.10±0.03 ×10^6) بعد اسبوع من الحفظ بالتجميد (جدول2). بينت نتائج التحليل الإحصائي وجود تأثير معنوية ($P\leq0.05$) للمعدل العام للعدد الكلي للنطف الطبيعية لدى ثيران الهولشتاين وبين أسابيع التجربة المختلفة، إذ بلغ اعلى معدل لدى الأسبوع الخامس (13.52±0.04×10^6) واقل معدل لدى الأسبوع الرابع (13.15±0.03 ×10^6) (جدول 3). كما كان هنالك تأثير معنوية ($P<0.05$) لقيم التداخل بين المعاملات وأوقاتها، إذ سجلت المعاملة الثالثة ضمن الأسبوع الخامس (13.60±0.08×10^6) والسادس (13.56±0.06 ×10^6) اعلى عدد للنطف الطبيعية الكلية في حين سجلت المعاملة الأولى ضمن الأسبوع الرابع (12.97±0.06 ×10^6) أقل عدد للنطف الطبيعية (جدول 3) ومن جانب آخر لم يكن هنالك أي فرق معنوي للعدد الكلي للنطف الطبيعية بين المعاملات وضمن الأسبوع الواحد ولدى معظم الأسابيع باستثناء تفوق الأسبوع الثاني في العدد الكلي للنطف الطبيعية للمعاملة الثالثة (13.42±0.04×10^6) على المعاملة الأولى وضمن نفس الأسبوع (13.05±0.04 ×10^6) (جدول 3). ان التفوق المعنوي للمعدل العام للعدد الكلي للنطف الطبيعية لكل من المعاملة الثانية والثالثة على المعاملة الأولى ربما يعود إلى دور هرمون الميلاتونين في المعاملتين على تحفيز مضادات الأكسدة (14) مما يعمل على خفض أكسدة الأغشية الدهنية للنطف. نحن نعتقد إلى ان تفوق العدد الكلي للنطف الطبيعية لدى المعاملة الثانية (خلال فترة الطازج والحفظ بالتبريد وبعد أسبوع من الحفظ بالتجميد) والثالثة (خلال فترة الطازج والحفظ بالتبريد والتجميد لمدة 48 ساعة) على المعاملة الأولى ولدى الأوقات نفسها قد يرجع ذلك إلى دور هرمون الميلاتونين في الحفاظ على أغشية الخلايا من أضرار جهد الأكسدة نتيجة التبريد والتجميد والإسالة (15). مما يؤدي إلى قلة نسبة تشوهات النطف وزيادة سلامة أغشيتها.

جدول (2) تأثير تداخل غرز هرمون الميلاتونين والفترات في العدد الكلي للنطف الطبيعية (15×10^6 نطفة) لدى السائل المنوي الطازج وبعد الحفظ بالتبريد (5°م) والتجميد لدى ثيران الهولشتاين (المتوسط ±الخطأ القياسي)

المدة / المعاملات	الطازج	تبريد عند درجة حرارة 5°م	بعد 48 ساعة من الحفظ بالتجميد	بعد اسبوع من الحفظ بالتجميد	المعدل العام
T1	0.04±13.40 bcd	0.04±13.27 def	0.04±13.16 ef	0.03±13.10 f	0.02±13.23 B
T2	0.04±13.61 a	0.04±13.45 abc	0.02±13. 33 bcde	0.02±13.29 cde	0.04±13.42 A
T3	0.04±13.58 a	0.04±13.49 ab	0.02±13.35 bcd	0.02±13.27 cdef	0.04±13.42 A
المعدل العام	0.02±13.53 A	0.02±13.40 B	0.02±13.28 C	0.02±13.22 D	0.01±13.46

*المتوسطات التي تحمل أحرف كبيرة عموديا تشير للمقارنة بين المعاملات، والمتوسطات التي تحمل احرف كبيرة أفقيا تشير للمقارنة بين الفترات المدروسة، والمتوسطات التي تحمل احرف صغيرة أفقيا تشير للمقارنة بين قيم التداخل.

*المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة تختلف عن بعضها معنويا عند مستوى احتمال ($P\leq 0.05$) وفق اختبار توكي.

T_1 = مجموعة السيطرة؛ T2 وT3 = غرز الثيران 54 و72 ملغم/ شهر من هرمون الميلاتونين على التوالي واعيدت عملية الغرز للمعاملتين بعد مرور شهر من المعاملة وبالجرعة نفسها.

جدول (3) تأثير تداخل غرز هرمون الميلاتونين والأسابيع في العدد الكلي للنطف الطبيعية (TNM)(15× 10^6 نطفة) لدى ثيران الهولشتاين (المتوسط ± الخطأ القياسي)

الأسابيع / المعاملات	الأسبوع الأول	الأسبوع الثاني	الأسبوع الثالث	الأسبوع الرابع	الأسبوع الخامس	الأسبوع السادس	الأسبوع السابع	الأسبوع الثامن	الأسبوع التاسع	الأسبوع العاشر	المعدل العام
T_1	0.04±13.17 defg	0.04±13.05 fg	0.04±13.12 efg	0.06±12.97 g	0.07±13.44 abcd	0.05±13.29 abcdef	0.04±13.46 abcd	0.06±13.25 bcdefg	0.07±13.35 abcdef	0.06±13.24 bcdefg	0.02±13.23 B
T_2	0.05±13.39 abcde	0.03±13.21 cdefg	0.04±13.33 abcdef	0.02±13.23 bcdefg	0.08±13.53 ab	0.05±13.53 ab	0.08±13.50 abc	0.06±13.45 abcd	0.06±13.51 abc	0.07±13.51 abc	0.02±13.42 A
T_3	0.06±13.39 abcde	0.04±13.42 abcde	0.02±13.31 abcdef	0.04±13.23 bcdefg	0.08±13.60 a	0.06±13.56 a	0.06±13.52 abc	0.06±13.45 abcd	0.07±13.33 abcdef	0.06±13.43 abcde	0.07±13.42 A
المعدل العام	0.03±13.32 DE	0.03±13.23 EF	0.03±13.25 EF	0.03±13.15 F	0.04±13.52 A	0.04±13.46 ABC	0.03±13.49 AB	0.04±13.38 CD	0.04±13.40 BCD	0.04±13.39 BCD	0.01±13.36

*المتوسطات التي تحمل أحرف كبيرة عموديا تشير للمقارنة بين المعاملات، والمتوسطات التي تحمل احرف كبيرة أفقيا تشير للمقارنة بين الفترات المدروسة، والمتوسطات التي تحمل احرف صغيرة أفقيا تشير للمقارنة بين قيم التداخل.

*المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة تختلف عن بعضها معنويا عند مستوى احتمال ($P\leq0.05$)وفق اختبار توكي.

T_1 = مجموعة السيطرة؛ T2 و T3 = غرز الثيران 54 و72 ملغم/ شهر من هرمون الميلاتونين على التوالي واعيدت عملية الغرز للمعاملتين بعد مرور شهر من المعاملة وبالجرعة نفسها.

المصادر

1. Medeiros, C. M.; Forell, F.; Oliveira, A. T. & Rodrigues, J. L. (2002). Current status of sperm cryopreservation: why isn't it better. Theriogenology, 57: 327-344.
2. Bailey, J. L.; Bilodeau, J. F. & Cormier, N. (2000). Semen cryopreservation in domestic animals: A damaging and capacitating phenomenon. J. Androl., 21: 1-8.
3. Saleh, R. & Agarwal, A. (2002). Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. J. Androl., 23: 737–752.
4. du Toit, D.; Bornman, M. S.; van Aswegen, C. H. & du Plessis, D. J. (1994). Sialic acid concentration and sperm motility. Arch Androl., 32: 21-23.
5. Casao, A.; Luna, C.; Perez-Pe, R.; Muino- Blanco, T. & Cebrian-Perez, J. A. (2012). Receptor mediated effect of melatonin on ram sperm calcium patterns. In: Rodriguez- Martinez, H. (ed.), 11th International Congress of the Spanish Association for Animal Reproduction, Cordoba. Reprod. Domest. Anim., 47, S3. Wiley-Blackwell, New York, NY.
6. Sarabia, L.; Maurer, I. & Bustos-Obregon, E. (2009). Melatonin prevents damage elicited by the organ phosphorous pesticide diazinon on mouse sperm DNA. Ecotoxicol Environ Saf., 72: 663-668.
7. Rodriguez, C.; Mayo, J. C.; Sainz, R. M.; Anatoln, I.; Herrera, F.; Martn, V. & Reiter, R. J. (2004). Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. J. Pineal Res., 36(1):1-9.
8. Badawy, A. M.; Yaseen, A. M.; El-Bashary, A. S. & 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.
9. Salhab, S. A. & Merilan, C. P. (1991). Some effects of collection equipment, glycerolation and post-thaw re-equilibration times on the motility and survival of bovine spermatozoa. Anim. Reprod. Sci., 24:53-61.
10. Mitchell, J. R. & Doak, G. A. (2004). The artificial insemination and embryo transfer of dairy and beef cattle (including information pertaining to goat, sheep, horses, swine and other animals): a handbook and laboratory manual, Ninth edition. Upper Saddle River, NJ. Peason Education. Inc. PP.57-135.
11. Hancock, J. L. (1951). Astaining technique for the study of temperature shock in semen. Nature. Land., 167:323-324.
12. Tukey, J. W. (1953). Some selected quick and easy methods of statistical analysis. transactions of the New York Acad-emy of sciences, Series. 16:88-97.
13. الراوي، خاشع محمود وعبد العزيز محمد حلف الله. (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. دار الكتب للطباعة والنشر/ جامعة الموصل. العراق.
14. Casao, A.; Mendoza, N.; Perez-Pe, R.; Grasa, P.; Abecia, J. A.; Forcada, F.; Cebrian-Perez, J. A. & Muino-Blanco, T. (2010). Melatonin prevents capacitation and apoptotic-like changes of ram spermatozoa and increases fertility rate. J. Pineal Res., 48: 39-46.
15. Urata, Y.; Honma, S.; Goto, S.; Todoroki, S. & Iida, T. (1999). Melatonin induces γ-glutamylcysteine synthetase mediated by activator protein-1 in human vascular endothelial cells. Free Radic. Biol. Med., 27:838-847.