

تأثير إضافة مستخلص نبات شرش الزلوع *Ferula hermonis* وبعض مضادات الأكسدة إلى مخفف Tris في النسبة المئوية لحركة النطف الفردية والحية لدى ثيران الهولشتاين بعد مدد

### مختلفة من الحفظ بالتجميد

طلال أنور عبد الكريم\*، رائد إبراهيم خليل\*\*، وأيسر حامد سلمان\*\*

\*قسم الإنتاج الحيواني/ كلية الزراعة - جامعة بغداد

\*\*قسم الإنتاج الحيواني/ كلية الزراعة - جامعة ديالى

### الخلاصة

أجريت هذه الدراسة لبيان تأثير إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع وبعض مضادات الأكسدة إلى مخفف Tris في النسبة المئوية لحركة النطف الفردية والحية لثيران الهولشتاين بعد الحفظ بالتبريد والتجميد لمدد مختلفة (التبريد عند درجة حرارة 5°م وبعد 2 و30 و60 يوم من الحفظ بالتجميد). أستخدم في هذه الدراسة ثمانية ثيران هولشتاين بأعمار تتراوح بين 2.5 - 3 سنة. تمّ تجميع السائل المنوي للثيران جميعها (Pooled semen) وتقسيمه بالتساوي على المعاملات الثمانية المختلفة. أضيف إلى المجموعة الأولى (T<sub>1</sub>) مخفف Tris فقط وعدت بمثابة مجموعة السيطرة، في الوقت الذي أضيف فيه مع مخفف Tris المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع (0.03 مل/ 50 مل مخفف) في المجموعة الثانية (T<sub>2</sub>)، L-Carnitine (0.06 غم/ 50 مل مخفف) في المجموعة الثالثة (T<sub>3</sub>)، Reduced glutathione (0.03 غم/ 50 مل مخفف) في المجموعة الرابعة (T<sub>4</sub>)، فيتامين C (0.2 غم/ 50 مل مخفف) في المجموعة الخامسة (T<sub>5</sub>)، L-Carnitine (0.06 غم/ 50 مل مخفف) والمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع (0.03 مل/ 50 مل مخفف) في المجموعة السادسة (T<sub>6</sub>)، Reduced glutathione (0.03 غم/ 50 مل مخفف) والمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع (0.03 مل/ 50 مل مخفف) في المجموعة السابعة (T<sub>7</sub>) وفيتامين C (0.2 غم/ 50 مل مخفف) والمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع (0.03 مل/ 50 مل مخفف) في المجموعة الثامنة (T<sub>8</sub>). بلغ تركيز المركبات الفينولية الكلية للمستخلص بلغت  $5.05 \pm 124.38$  ملغم مكافئ حامض الكاليك/ غم من مستخلص النبات وان المستخلص بتركيز 0.01 و0.03% لم يؤدي إلى تحلل كريات الدم الحمراء وليس له تأثير سمي بالنسبة لخلايا الدم. من جانب آخر، تفوقت المجموعة T<sub>2</sub> معنوياً ( $P \leq 0.05$ ) في النسبة المئوية للنطف الحية وحركة النطف الفردية خلال مدد الحفظ المدروسة جميعها مقارنةً بالمجموعة T<sub>1</sub>. من ناحية أخرى، تفوقت المجموعة T<sub>3</sub> معنوياً ( $P \leq 0.05$ ) في النسبة المئوية لحركة النطف الفردية والنطف الحية مقارنةً بالمجموعة T<sub>1</sub> خلال مدد الحفظ المختلفة. يمكن الاستنتاج بأن إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع بتركيز 0.03 مل/ 50 مل مخفف و L-Carnitine بتركيز 0.06 غم/ 50 مل مخفف إلى مخفف Tris كان لهما تأثيراً واضحاً في تحسين صفات السائل المنوي لثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتبريد والتجميد مقارنةً بمجموعة السيطرة (T<sub>1</sub>) ان ذلك يمكن ان ينعكس إيجابياً في تحسين نسب الإخصاب والحمل للأبقار الملقحة وبالتالي زيادة العائد الاقتصادي للمربي.

الكلمات المفتاحية: L-Carnitine، نبات شرش الزلوع، نوعية السائل النوي، ثيران الهولشتاين.

e-mail: talal200320032000@yahoo.com, Dr.Raed@agriculture.uodiyala.edu.iq

## Effect of adding *Ferula hermonis Boiss* roots and some antioxidants to Tris extender on post-cryopreserved sperm's cell individual motility and live sperm percentages of Holstein bulls

Talal Anwer Abdulkareem<sup>\*</sup>, Raaed Ibrahim Khalil<sup>\*\*</sup> and Aysar Hhamid Salman<sup>\*\*</sup>

<sup>\*</sup> Department of Animal Production, College of Agriculture/ University of Baghdad

<sup>\*\*</sup> Department of Animal Production, College of Agriculture/ University of Diyala

### Abstract

This study was carried out to explore the adding effect of alcoholic extract of *Ferula hermonis Boiss* roots and some antioxidants to Tris extender on post-cryopreserved sperm's cell individual motility and live sperm percentages of Holstein bulls for different preservation periods (cooling at 5°C, 2, 30 and 60 days post cryopreservation, PC). Eight Holstein bulls of 2.5-3 years of age were used in this study. Semen was collected via artificial vagina in one ejaculate per bull per week for the 7-week experimental period. Pooled semen was equally divided into eight treatments using Tris extender. The alcoholic extract of *Ferula hermonis Boiss* roots (0.03 ml/ 50 ml extender; T<sub>2</sub>), L-Carnitine (0.06g/ 50 ml extender; T<sub>3</sub>), reduced glutathione (0.03 g/ 50 ml extender; T<sub>4</sub>), vitamin C (0.2 g/ 50 ml extender; T<sub>5</sub>), L-Carnitine; 0.06g/ 50 ml extender + alcoholic extract of *Ferula hermonis Boiss* roots; 0.03 ml/ 50 ml extender (T<sub>6</sub>), reduced glutathione; 0.03 g/ 50 ml extender + alcoholic extract of *Ferula hermonis Boiss* roots; 0.03 ml / 50 ml extender (T<sub>7</sub>) and vitamin C; 0.2 g/ 50 ml extender + alcoholic extract of *Ferula hermonis Boiss* roots; 0.03 ml/ 50 ml extender (T<sub>8</sub>) were added to Tris extender and comparisons in response were made with the control group (Tris extender, A<sub>1</sub>). The total phenolic compound of the extract was 124.38 ± 5.05 mg GAE/ g extract and the extract with 0.01 and 0.03% did not hemolyze the red blood cells and had not poisoning effect on blood cells. The T<sub>2</sub> group exhibited higher (P≤0.05) sperm's cells individual motility and live sperm percentage as compared with the T<sub>1</sub> group at all preservation periods. On the other hand, T<sub>3</sub> group was significantly (P≤0.05) exhibited greater percentages of sperm's cells individual motility and live sperms percentages in comparison with the T1 group at all preservation periods. In conclusion, the adding of alcoholic extract of *Ferula hermonis Boiss* roots (0.03 ml/ 50 ml extender) and L-Carnitine (0.06g/ 50 ml extender) to Tris extender had an obvious influence in enhancing the sperm's cell individual motility and live sperm percentages of Holstein bulls at different cooling and cryopreservation periods as compared with the control (T<sub>1</sub>) group. This may contribute to a positive enhancement in conception and pregnancy rates of the inseminated cows, and consequently increase the owner's economic income.

Keywords: L-Carnitine, *Ferula hermonis Boiss*, semen quality, Holstein bulls.

### المقدمة

أجريت العديد من الدراسات حول مخففات السائل المنوي والإضافات المتعلقة بهذه المخففات بما يضمن نسبة إخصاب جيدة عند إجراء عملية التلقيح الاصطناعي (1). تُعد عملية حفظ النطف بالتجميد Sperms cryopreservation من العمليات المعقدة التي تؤدي في اغلب الأحيان إلى إحداث ضرر في خلايا النطف لذكور اللبائن ومنها الثيران (2)، نتيجة ارتباطها بإنتاج أنواع الأوكسجين التفاعلي Reaction oxygen species (ROS) الذي له دور في أكسدة الدهون (LPO) Lipid peroxidation، لأغشية النطفة كونها تحتوي على كميات كبيرة من الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة ويرافق ذلك انخفاض فعالية مضادات الأكسدة المنوية عند التحرر المستمر لأنواع الأوكسجين الفعال نتيجة الاضطراب في ميزان مضادات الأكسدة وأنواع الأوكسجين

التفاعلي (3، 4)، كما ان عملية تجميد السائل المنوي تتم بعد تخفيفه وهذا يعني انخفاض مضادات الأكسدة الطبيعية الموجودة في البلازما المنوية مثل Superoxide dismutase و Reduced glutathione وغيرها (4) وعليه تم التوجه من قبل الكثير من الدراسات إلى إضافة مضادات الأكسدة إلى مخففات السائل مثل فيتامين C والكارنتين والكلوتاثيون (2، 5) للتقليل أو الحد من اثر الإجهاد التأكسدي الناتج من الجذور الحرة. يعد فيتامين C من مضادات الأكسدة غير الأنزيمية Non-enzymatic antioxidants الفعالة التي تعمل على إزالة الجذور الحرة Free radicals scavenger، إذ لوحظ عند إضافة فيتامين C إلى مخففات السائل المنوي قد حسن من نوعية نطف الثيران (6) من خلال تحسين حيويتها وقابليتها للتجميد وخفض نسب النطف الميتة والمشوهة وحركتها الحيوية (1، 7). كما يقوم الكارنتين Carnitine بنقل الأحماض الدهنية إلى الماييتوكوندريا حيث يؤدي دورا في توليد طاقة التمثيل الغذائي (8)، وبالتالي تحصل على الطاقة خلايا البربخ والنطف بمساعدة الكارنتين المتواجد في السائل البريخي Ford Epididymal fluid (9). وقد أدى استعمال الكارنتين في مخففات السائل المنوي إلى تحسين نوعية السائل المنوي بعد الحفظ بالتجميد في ثيران الهولشتاين (10، 11). من جانب آخر، يعد الكلوتاثيون من مضادات الأكسدة الموجودة في السائل المنوي للثيران والذي يؤدي دوراً مهماً في إزالة أنواع الأوكسجين التفاعلي والجذور الحرة (12)، حيث يسبب اختزال بيروكسيد الهيدروجين إلى كحول وماء (13)، وقد وجد أن إضافة الكلوتاثيون إلى مخفف السائل المنوي للثيران يعمل على تحسين نوعيته (14، 15) من خلال دوره كمضاد أكسدة، إذ وجد أنه يوفر وسيلة دفاع خلوية للنطفة ضد الإجهاد التأكسدي خلال عمليات تجميد وإسالة النطف (16). لقد زاد الاهتمام في الآونة الأخيرة باستخدام مضادات الأكسدة الطبيعية من المستخلصات النباتية لاحتوائها على كميات كبيرة من المركبات الفلافونيدية ويعد نبات شرش الزلوع (*Ferula hermonis Boiss*) أو ما يعرف بالفياجرا اللبنانية من أكثر النباتات الطبية احتواء على المركبات الفينولية مقارنة ببقية مضادات الأكسدة الطبيعية وتعمل على حماية الخلايا من الإصابة بالأمراض السرطانية (17، 18، 19). إن دراسة تأثير إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع كمضاد أكسدة طبيعي مع توليفة مختلفة من مضادات الأكسدة الصناعية إلى مخفف Tris في النسبة المئوية لحركة النطف الفردية والحية لثيران الهولشتاين لم يتم التطرق إليها سابقاً سواء على مستوى العراق أو العالم. لذا فقد أجريت هذه الدراسة على بيان تأثير إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع كمضاد أكسدة إلى مخفف Tris في النسبة المئوية لحركة النطف الفردية والحية لثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة في الحفظ بالتبريد والتجميد.

### المواد وطرائق العمل

- **الاستخلاص الكحولي لنبات شرش الزلوع:** أجريت عملية الاستخلاص الكحولي في المختبرات المركزية لقسم علوم الأغذية/ كلية الزراعة- جامعة بغداد استناداً لما أورده (20) وتم تحضير المستخلص الكحولي لنبات شرش الزلوع بأخذ 100 غرام من جذور النبات وإضافته إلى 500 مل من كحول اثيلي تركيزه 80% وتركه المزيج لمدة 24 ساعة مع المزج المستمر باستخدام المازج المغناطيسي المزود بقاعدة حرارية Rotary Hot plate with magnetic stirrer، ثم رشح الخليط بوساطة قمع بوخنر وركز بالمبخر الدوراني Petri dishes evaporator عند درجة 60°م، بعدها تم أخذ ما تبقى من الراشح وتوزيعه في أطباق بتري Petri dishes ووضعها في أفران التجفيف بدرجة حرارة 40°م ولمدة 24 ساعة.

- **تقدير المردودية الإنتاجية للمستخلص الكحولي:** تم تقدير المردودية الإنتاجية للمستخلص الكحولي من خلال النسبة بين الوزن الجاف للمادة المستخلصة والتي تم الحصول عليها ووزن المادة النباتية الجافة المستخدمة من خلال ما أورده (21).
- **تقدير تركيز المركبات الفينولية الكلية للمستخلص الكحولي لنبات شرش الزلوع:** تم تقدير تركيز المركبات الفينولية الكلية للمستخلص الكحولي لنبات شرش الزلوع استنادا لما جاء به (22) مع بعض التحويرات التي أجراها (23).
- **تقدير السمية الخلوية للمستخلص الكحولي لنبات شرش الزلوع:** تم إجراء فحص السمية الخلوية Cellular toxicity للمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع استنادا لما جاء به (24)، وذلك بخلط 1 مل من دم الثيران مع 20 مل من المحلول الملحي الفسيولوجي Normal Saline ثم استخدمت تراكيز مختلفة لعينة المستخلص الكحولي لنبات شرش الزلوع والمراد فحصه (100، 300 و 600 جزء بالمليون)، بعدها أخذ 100 مايكروليتر من المستخلص الكحولي المعد مسبقاً وخلطه مع 2 مل من عالق الدم، وحضنه بالفرن بدرجة حرارة 37°م، في حين ترك الوسط الغذائي بدون إضافة للمقارنة، ثم وضعت الأوساط في أطباق بتري معقمة قطرها 9.5 سم وملاحظة نتائج تخثر الدم لمدد زمنية مختلفة (10، 30 و 60 دقيقة).
- **حيوانات وتصميم التجربة:** نُفِدت هذه التجربة في قسم التلقيح الاصطناعي التابع لدائرة الثروة الحيوانية/ وزارة الزراعة في منطقة أبي غريب (25 كم غرب بغداد) للمدة من 24/ تشرين الأول/ 2016 ولغاية 29 آذار/ 2017. أُستخدم فيها 8 ثيران هولشتاين تم جمع السائل المنوي فيها عن طريق المهبل الاصطناعي هذه الدراسة ثمانية ثيران هولشتاين بأعمار تتراوح بين 2.5- 3 سنة تم جُمع السائل المنوي بوساطة المهبل الاصطناعي بواقع قذفة واحدة/ ثور/ أسبوع ولمدة 7 أسابيع. تمّ تجميع السائل المنوي للثيران جميعها Pooled semen وتقسيمه بالتساوي على المعاملات الثمانية المختلفة.
- **أضيف إلى المعاملة الأولى (T<sub>1</sub>) السائل المنوي الطازج إلى مخفف Tris حيث عدت معاملة السيطرة، بينما تضمنت المعاملة الثانية (T<sub>2</sub>): إضافة السائل المنوي الطازج إلى مخفف Tris مع إضافة 0.03 مل من المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع لكل 50 مل من المخفف. وتضمنت المعاملة الثالثة (T<sub>3</sub>): إضافة السائل المنوي الطازج إلى مخفف Tris مع إضافة الكارنتين L-Caritine (0.06 غم) لكل 50 مل من المخفف. بينما تضمنت المعاملة الرابعة (T<sub>4</sub>): إضافة السائل المنوي الطازج إلى مخفف Tris مع إضافة Reduced glutathione (0.03 غم) لكل 50 مل من المخفف. والمعاملة الخامسة (T<sub>5</sub>): التي تضمنت إضافة السائل المنوي الطازج إلى مخفف Tris مع إضافة فيتامين C (0.2 غم) لكل 50 مل من المخفف. بينما تضمنت المعاملة السادسة (T<sub>6</sub>): إضافة السائل المنوي الطازج إلى مخفف Tris مع إضافة الكارنتين L-Caritine (0.06 غم) والمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع 0.03 مل لكل 50 مل من المخفف. وكذلك في المعاملة السابعة (T<sub>7</sub>): التي تضمنت إضافة السائل المنوي الطازج إلى مخفف Tris مع إضافة Reduced glutathione (0.03 غم) والمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع بنسبة 0.03 مل لكل 50 مل من المخفف. وأخيرا تضمنت المعاملة الثامنة (T<sub>8</sub>): إضافة السائل المنوي الطازج إلى مخفف Tris مع إضافة فيتامين C (0.2 غم) والمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع بنسبة 0.03 مل لكل 50 مل من المخفف.**
- **تقييم السائل المنوي:** تم تقديرا لحركة الفردية للنطف على وفق ما جاء به (25، 26) وتم حساب النطف الميتة استنادا لما ذكره (27) واستعمل البرنامج الإحصائي (28) في التحليل البيانات وفق التصميم العشوائي الكامل

(CRD) لدراسة تأثير المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع والإضافات المختلفة الأخرى، في الصفات المدروسة وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستعمال اختبار دنكن المتعدد الحدود (29) الأنموذج الرياضي الأول: للتحري عن تأثيرات المعاملات المدروسة في الصفات المختلفة ولكل وقت.

$$Y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$$

إذ إن:

$Y_{ij}$ : قيمة المشاهدة  $z$  العائدة للمعاملة.

$\mu$ : المتوسط العام للصفة.

$t_i$ : تأثير المعاملات (i) (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8) للتجربة.

$e_{ij}$ : الخطأ العشوائي الذي يتوزع توزيعاً طبيعياً بمتوسط يساوي صفر وتباين قدره  $e^2$

الأنموذج الرياضي الثاني: للتحري عن تأثير مدد الحفظ المدروسة في الصفات المختلفة لكل معاملة

$$Y_{ij} = \mu + p_i + e_{ij}$$

إذ إن:

$Y_{ij}$ : قيمة المشاهدة  $z$  العائدة للمعاملة.

$\mu$ : المتوسط العام للصفة.

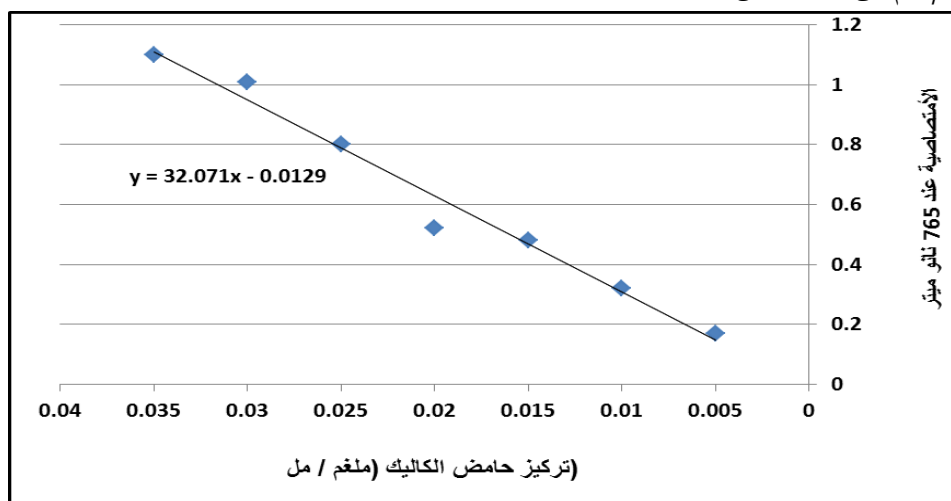
$t_i$ : تأثير مدة الحفظ (التبريد، يومين و 30 يوم و 60 يوم بعد الحفظ بالتجميد).

$e_{ij}$ : الخطأ العشوائي الذي يتوزع توزيعاً طبيعياً بمتوسط يساوي صفر وتباين قدره  $e^2$

وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستعمال اختبار دنكن المتعدد المديات (29).

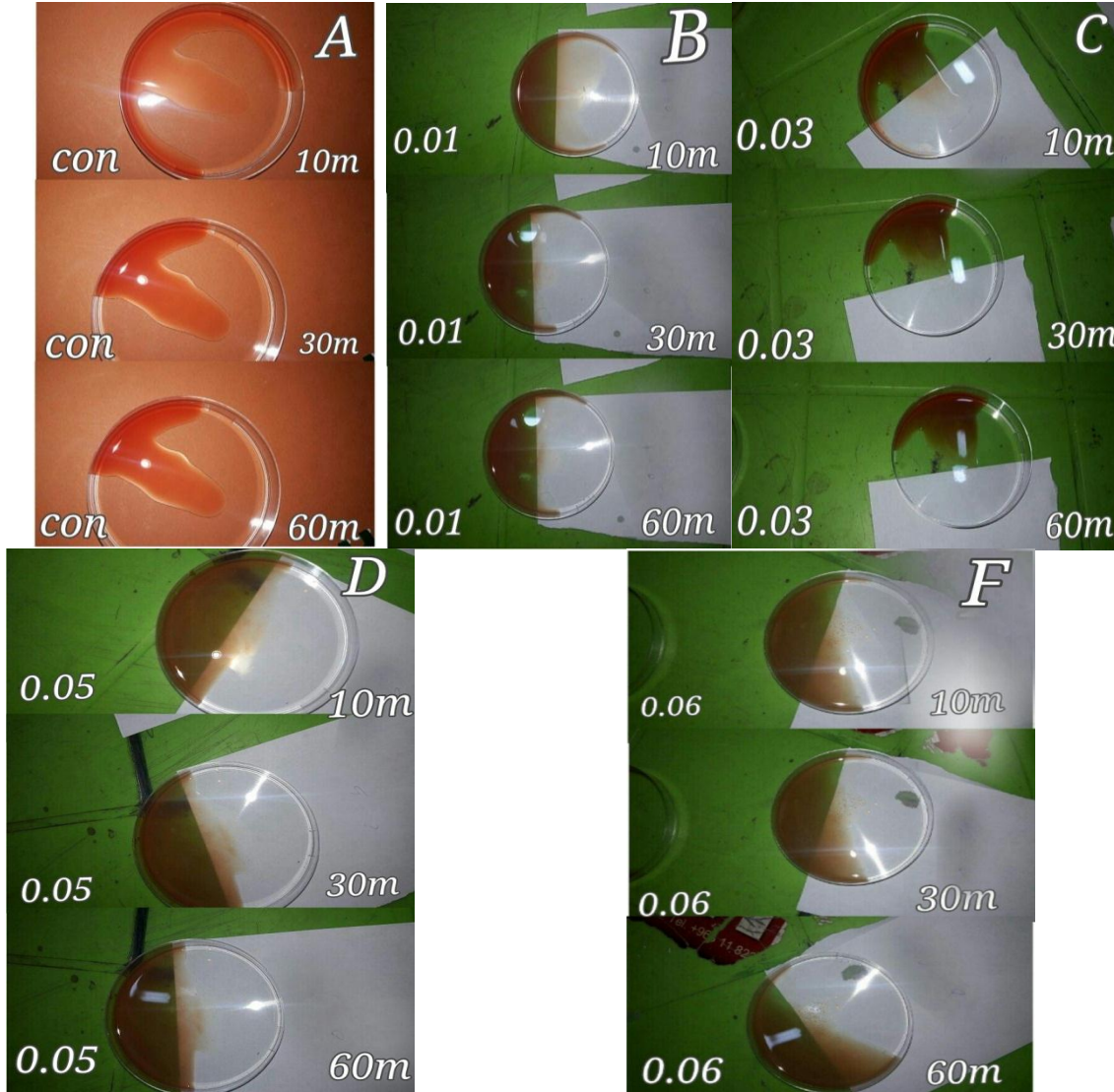
### النتائج والمناقشة

- المردودية الإنتاجية للمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع: يتضح من خلال حساب النسبة المئوية للمردودية الإنتاجية لمستخلص جذور نبات شرش الزلوع الكحولي ان المردودية بلغت 10% إذ تم الحصول على 10 غم من المستخلص الكحولي عنده استخدام 100 غم من وزن النبات الجاف.
- تركيز المركبات الفينولية الكلية للمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع: يتضح من خلال المنحنى القياسي لحمض الكالليك (شكل 1) للمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع ان متوسط تركيز المركبات الفينولية الكلية للمستخلص ومن خلال فحص ثلاث عينات بلغ  $0.505 \pm 124.38$  ملغم من مكافئ حامض الكالليك/ غم من المستخلص.



شكل (1) المنحنى القياسي لحمض الكالليك لتقدير المركبات الفينولية الكلية للمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع

- السمية الخلوية للمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع: يتبين من الصورة (1) نتائج اختبار فحص السمية الخلوية لتراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع مع نموذج مجموعة السيطرة، إذ وجد عدم ظهور لتحلل كريات الدم الحمراء وعدم وجود ترسبات في المحلول الملحي للمستويين 0.01 و 0.03 مل في الوقت الذي ظهرت فيه ترسبات وتحليل كريات الدم الحمراء في المستويات 0.05 و 0.06 مل من المستخلص الكحولي. من جانب آخر، ازدادت نسبة تحلل كريات الدم الحمراء بزيادة المدد من 10 إلى 30 و 60 دقيقة. مما يدل على عدم امتلاكها لخواص سمية وتعد بذلك آمنة عند استخدامها في مخففات السائل المنوي.



صورة (1) نتائج فحص السمية الخلوية للمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع بتراكيز مختلفة. A=Control, B=0.01, C=0.03, D=0.05, F=0.06

- الحركة الفردية للنفط: يتضح من نتائج التحليل الإحصائي وجود تأثيرات معنوية ( $P \leq 0.05$ ) بين المجاميع المختلفة ضمن مدة الحفظ الواحدة في النسبة المئوية لحركة النفط الفردية لثيران الهولشتاين إذ تفوقت المجموعة T3 ( $2.54 \pm 50.00\%$ ) معنويًا على المجاميع T1 ( $4.47 \pm 40.00\%$ ) و T5 ( $2.10 \pm 37.68\%$ ) و T8 ( $2.02 \pm 35.71\%$ )، (في جدول 6). من جانب آخر تفوقت المجموعة T2

(48.57 ± 4.04%) معنويا ( $p \leq 0.05$ ) على المجموعتين T5 و T8، في الوقت الذي لم تختلف فيه المجموعات T2, T3, T4, T6, T7 فيما بينها معنويا ضمن مدة الحفظ بالتبريد وقد اتخذت النتائج الاتجاه نفسه بعد 2 يوم من الحفظ بالتجميد، إذ تفوقت معنويا ( $p \leq 0.05$ ) المجموعة T3 (45.00 ± 3.59%) على المجموعات T1 (35.7 ± 4.84%)، T5 (33.33 ± 3.35%) و T8 (30.00 ± 3.80%)، في الوقت الذي تفوقت فيه المجموعة T2 معنويا ( $p \leq 0.05$ ) على المجموعة T8 فقط وحسابيا على بقية المجموعات باستثناء المجموعة T3 للصفة ذاتها وبعد مرور 30 يوم و 60 يوم من الحفظ بالتجميد، تفوقت معنويا ( $p \leq 0.05$ ) المجموعتين T2 (44.29 ± 4.73% و 43.57 ± 2.88% على التوالي) و T3 (43.57 ± 3.45% و 42.86 ± 2.97% على التوالي) على المجموعات T1 و T5 و T8 في الوقت الذي تفوقت فيه حسابيا على بقية المجموعات للصفة ذاتها وتبين من جدول تحليل التباين عدم وجود تأثيرات معنوية بين مدد الحفظ المختلفة ضمن المجموعات T1-T5 في النسبة المئوية لحركة النفط الفردية مع وجود اتجاه للانخفاض حسابيا بتقديم مدة الحفظ بالتجميد من جانب آخر سجلت مدة الحفظ بالتبريد اعلى نسبة مئوية لحركة النفط الفردية مقارنة ببقية مدد الحفظ المختلفة للمجموعات T6-T8 مع انعدام الفروق المعنوية بين مدد الحفظ بالتجميد الثلاثة المدروسة ضمن المجموعات المذكورة. قد يعزى التفوق الحاصل في النسبة المئوية لحركة النفط الفردية لدى المجموعة T2 (مخفف Tris + المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع) مقارنة بالمجموعتين T5 و T8 ضمن مدة الحفظ بالتبريد و 2 يوم بعد الحفظ بالتجميد ومقارنة بالمجموعات T1، T5 و T8 ببقية مدد الحفظ بالتجميد إلى احتواء نبات شرش الزلوع على العديد من المركبات الفعالة مثل Feruitinin و Sesquiterpene اللتان يحسنان وظائف الخصية من خلال زيادة هرمون التستوستيرون (30)، فضلا عن احتواءه على مضادات الأكسدة مثل Feratinol phydroxybenzoate والتي تقلل من الأثر الضار للجذور الحرة التي تعيق حركة النفط (17، 31) من خلال جميعها للأحماض الدهنية غير المشبعة متعددة الأواصر. من جانب آخر فإن الانخفاض المعنوي والحسابي للحركة الفردية لدى المجموعات T5 و T8 مقارنة ببقية المجموعات قيده الدراسة قد يعود إلى ظهور نتائج عكسية عنده خلط فيتامين C مع المستخلص الكحولي لنبات شرش الزلوع من خلال ظهور تفاعلات عكسية للمركبات الفعالة للنبات مع فيتامين C المضاف إلى المخفف خلال مدد الحفظ المختلفة. من ناحية أخرى، فإن النتائج المتميزة للمجموعة T3 قد تعود إلى دور الكارنتين في تسهيل نقل الأحماض الدهنية إلى المايتوكوندريا (8) وبالتالي تحسين توليد طاقة التمثيل الغذائي علاوة على فعاليته في منع تكوين الجذور الحرة المكونة للبيروكسيدات المسببة للتأكسد وتحطيم الجذور الحرة المتكونة (32). وتتفق هذه النتائج مع ما أورده (5، 10، 11) ان إضافة الكارنتين إلى مخفف Tris قد يكون وسيلة جيدة لتحسين نوعية السائل المنوي لثيران الهولشتاين بعد مرور مدد مختلفة من الحفظ بالتبريد والتجميد مقارنة بمجموعة السيطرة.

جدول (1) تأثير إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع وبعض مضادات الأكسدة إلى مخفف Tris في النسبة المئوية للحركة الفردية لنتف ثيران الهولشتاين (المتوسط ± الخطأ القياسي)

مستوى المعنوية	مدة الحفظ				المعاملات
	تجميد لمدة 60 يوم	تجميد لمدة 30 يوم	تجميد لمدة 2 يوم	التبريد 5°م	
N.S.	3.35±32.86 b	3.35±32.86 B	4.84±35.71 Bc	4.47±40.00 Bcd	T1
N.S.	2.88±43.57 a	4.73±44.29 A	4.47 ±44.92 Ab	4.04±48.57 Ab	T2
N.S.	2.97±42.86 a	3.45±43.57 A	3.59±45.00 A	2.54±50.00 A	T3
N.S.	2.60±37.86 ab	3.52±38.57 Ab	4.42±41.43 Abc	4.36±45.71 Abc	T4
N.S.	2.43±31.43 b	3.22±32.14 B	3.35±33.33 bc	2.10±37.68 Cd	T5
*	2.45±37.14 Bab	1.42±37.86 Bab	2.40±40.71 Babc	3.08±45.71 Aabc	T6
*	2.14±34.29 Bab	1.70±35.71 Bab	2.82±36.43 Babc	3.03±41.43 Aabcd	T7
*	3.00±30.00 Bb	3.80±30.00 Bb	3.80±30.00 Bc	2.02±35.71 Ad	T8
	*	*	*	*	مستوى المعنوية

\* تشير إلى وجود تأثيرات معنوية عند مستوى 0.05 في جدول تحليل التباين.

N.S تشير إلى عدم وجود تأثيرات معنوية في جدول تحليل التباين.

الحروف الصغيرة المختلفة تشير إلى الفروق المعنوية بين متوسطات المعاملات ضمن العمود الواحد في مدة الحفظ الواحدة.

الحروف الكبيرة المختلفة تشير إلى الفروق المعنوية بين متوسطات مدد الحفظ المختلفة ضمن الصف الواحد.

- النسبة المئوية للنتف الحية: يتضح من نتائج التحليل الإحصائي وجود تأثيرات معنوية ( $p \leq 0.01$ ) لصفة النسبة المئوية للنتف الحية لثيران الهولشتاين عند المقارنة بين المجاميع المختلفة ضمن مدة الحفظ الواحدة إذ تفوقت معنويًا ( $p \leq 0.05$ ) المجموعتين T2 ( $76.71 \pm 3.83\%$ ) و T3 ( $77.71 \pm 2.49\%$ ) مقارنة بمجموعة السيطرة T1 ( $68.57 \pm 3.82\%$ ) و T8 ( $69.14 \pm 1.59\%$ ) في الوقت الذي لم تختلف فيه معنويًا عن المجاميع T4 و T6 و T7 وتفوقت المجموعة T3 معنويًا ( $p \leq 0.05$ ) على مجموعة T5 خلال مدة الحفظ بالتبريد وقد اتخذت النتائج الاتجاه نفسه خلال بعد مرور 2 يوم من الحفظ بالتجميد، إذ تفوقت المجموعة T3 ( $73.86 \pm 2.60\%$ ) على مجموعتي T1 و T7 و T8 في حين لم تختلف فيه معنويًا مع بقية المجاميع وقد أكدت المجموعة T3 ( $71.57 \pm 2.27\%$ ) تفوقها المعنوي ( $p \leq 0.05$ ) على المجاميع T1، T5، T7 و T8 للصفة ذاتها بعد مرور 30 يوم من الحفظ بالتجميد وقد سجلت فيه المجموعة T1 ( $58.71 \pm 2.25\%$ ) كقيمة الأقل لهذه الصفة وكانت نتائج الحفظ بالتجميد لمدة 60 يوم مقارنة بعد مرور الحفظ 30 يوم، إذ سجلت المجموعة T3 أعلى نسبة مئوية للنتف الحية ( $68.14 \pm 2.63\%$ ) مقارنة بالمجاميع T1 التي سجلت القيم الأقل بين المجاميع ( $56.71 \pm 3.15\%$ ) و T5 و T8 مع عدم اختلافها معنويًا مع بقية المجاميع (جدول 7). كذلك نلاحظ وجود تأثيرات معنوية بمدد الحفظ المختلفة ضمن المجموعة الواحدة، إذ سجلت مدة الحفظ بالتبريد

تفوقا معنويا واضحا مقارنة بمدة التجميد 60 يوم لدى المجموعتين T1 و T2 و T4 في الوقت الذي تفوقت فيه مدة الحفظ بالتبريد على مدد الحفظ بالتجميد جميعها لدى المجموعتين T6 و T7. من جانب آخر لم تختلف النسبة المئوية للنظف الحية بين مدد الحفظ بالتجميد جميعها لدى المجموع كلها. قد يعزى تفوق المجموعة T3 إلى فعل الكارنتين في تقليل ضرر الأوكسدة بفعل الجذور الحرة الناجمة خصوصا عند الحفظ بالتجميد (8) من خلال تقليل تراكم الحوامض الدهنية في السائل المنوي (33) بالإضافة إلى عملة بصورة متأخرة مع صفار البيض الموجود في مخفف Tris وإحاطته للنظفة من الخارج وبالتالي المحافظة عليها (34) فضلا عن عمله التآزري مع الكليسرول في منع تكوين البلورات الثلجية داخل النظفة وعدم تمزقها (35). أما الدور الذي من المحتمل قد أداه المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع من خلال تفوق المجموعة T2 فقد يعزى إلى احتواءه على مضادات الأوكسدة التي تحسن من فعالية النظف ومنها مادة الفلافونويدات (Flavonoids) التي تلعب أدوارا متعددة في النباتات فهي تحميها من التأثيرات الضارة للأشعة فوق البنفسجية وإن الفلافونويد الغذائي مفعوله مضاد للأوكسدة ومنع تكون الجذور الحرة (36). مما تقدم يمكن الاستنتاج ان الكارنتين والمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع عند إضافتهما إلى مخفف (Tris) أدى إلى زيادة نسبة النظف الحية لثيران الهولشتاين بعد الحفظ بالتجميد من خلال دورة كمضاد أكسدة من جهة وكعامل واقى من ضرر التجميد من جهة أخرى والذي قد ينعكس إيجابيا في زيادة نسبة الأخصاب والحمل لدى الأبقار الملقحة بهذا السائل المنوي.

**جدول (2) تأثير إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع وبعض مضادات الأوكسدة إلى مخفف Tris في النسبة المئوية للنظف الحية لثيران الهولشتاين (المتوسط ± الخطأ القياسي).**

مستوى المعنوية	مدة الحفظ				المعاملات
	تجميد 60 يوم	تجميد 30 يوم	تجميد 2 يوم	التبريد 5 م	
*	3.15±56.71 Bc	2.25 ±58.71 ABc	3.64±62.50 ABc	3.82±68.57 Ac	T1
*	1.67±66.43 Bab	3.60±68.71 ABab	3.37±70.86 ABab	3.83±76.71 Aab	T2
**	2.63±68.14 Ca	2.27±71.57 BCa	2.60±73.86 ABa	2.49 ±77.71 Aa	T3
*	2.24 ±65.43 Bab	1.94±67.71 ABab	2.53±70.71 ABab	3.03 ±74.68 Aabc	T4
*	1.53±60.00 Bbc	2.39±62.71 Bbc	2.10±65.00 ABbc	2.33±70.00 Abc	T5
*	1.73±65.86 Bab	1.03 ±67.36 Bab	1.53 ±69.71 Babc	1.78 ±72.57 Aabc	T6
**	1.57±61.43 Cabc	1.38±63.43 BCbc	1.51±66.07 Bbc	1.69±70.00 Aab	T7
**	1.13±60.17 Cbc	2.81±62.83 BCbc	3.39±65.33 ABbc	1.59±69.14 Ac	T8
	*	**	*	*	مستوى المعنوية

\* تشير إلى وجود تأثيرات معنوية عند مستوى 0.05 في جدول تحليل التباين.

\*\* تشير إلى وجود تأثيرات معنوية عند مستوى 0.01 في جدول تحليل التباين.

N.S: تشير إلى عدم وجود تأثيرات معنوية في جدول تحليل التباين.

الحروف الصغيرة المختلفة تشير إلى الفروق المعنوية بين متوسطات المعاملات ضمن العمود الواحد في مدة الحفظ الواحدة.

الحروف الكبيرة المختلفة تشير إلى الفروق المعنوية بين متوسطات مدد الحفظ المختلفة ضمن الصف الواحد.

## المصادر

1. 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.
2. Amirat-Briand, L.; Bencharif, D.; Vera-Munoz, O.; Bel Hadj Ali, H.; Destrumelle, S.; Desherces, S.; Schmidt, E.; Anton, M. & Tainturier, D. (2009). Effect of glutamine on post-thaw motility of bull spermatozoa after association with LDL (low density lipoproteins) extender: preliminary results. *Theriogenology*, 71(8): 1209-1214.
3. Sikka, S. C. (1996). Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. *Front. Biosci.*, 1:e78-86.
4. Sikka, S. C. (2004). Role of oxidative stress and antioxidants in andrology and assisted reproductive technology. *J. Androl.*, 25(1): 5-18.
5. عبد الكريم، طلال أنور، نون، محمود سعدي وسلطان، خالد حساني. (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 الأنبار للعلوم البيطرية، 10 (1): 10-20.
6. Hu, J. H.; Tian, W. Q.; Zhao, X. L.; Zan, L. S.; Wang, H.; Li, Q. W. & Xin, Y. P. (2010). The cryoprotective effects of ascorbic acid supplementation on bovine semen quality. *Anim. Reprod. Sci.*, 121(1-2): 72-77
7. الزبيدي، عمر حسين عباس. (2014). إضافة بعض مضادات الأكسدة والاوميكا 3 إلى مخفف Tris وأثرها في تحسين صفات السائل المنوي بعد الحفظ بالتجميد لثيران الهولشتاين. رسالة ماجستير، كلية الزراعة- جامعة بغداد.
8. Bucak, M. N.; Tuncer, P. B.; Sarıozkan, S.; Başpınar, N.; Taşınar, M.; Cayan, K.; Bilgili, A.; Akalın, P. P.; Büyükleblebici, S.; Aydos, S.; Ilgaz, S.; Sunguroğlu, A. & Oztuna, D. (2010). Effects of antioxidants on post-thawed bovine sperm and oxidative stress parameters: antioxidants protect DNA integrity against cryodamage. *Cryobiology*, 61 (3): 248-253.
9. Lewin, A. & Lavon, H. (1997). The effect of coenzyme Q10 on sperm motility and function. *Mol. Aspects. Med.*, 18Supple: 213-219.
10. الناصري، عمر عادل محمد. (2013). إضافة بعض الأحماض الأمينية وتوليقاتها إلى مخفف Tris وأثرها في تحسين بعض صفات السائل المنوي المجمد لثيران الهولشتاين في العراق. رسالة ماجستير، كلية الزراعة- جامعة بغداد.
11. عبد الكريم، طلال أنور، محمد، عمر عادل، شبر، عبد الله محمد حسن، إبراهيم، فارس فيصل ولطيف، وفاء يدام. (2016). تأثير إضافة الكارنتين والايونستول إلى مخفف Tris في نوعية السائل المنوي بعد التجميد لثيران الهولشتاين. مجلة الأنبار للعلوم البيطرية، 9(1): 8-18.
12. Meister, A. & Anderson, M. E. (1983). Glutathione. *Annu. Rev. Biochem.*, 52:711-760.
13. Bansal, A. K. & Bilaspuri, G. S. (2011). Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. *Vet. Med. Int.*, 1-7.
14. عيدان، ساجدة مهدي، الزبيدي، عمر حسين عباس، إبراهيم، فارس فيصل، التميمي، باسمة عبد رجب ولطيف، وفاء يدام. (2015). تأثير إضافة بعض مضادات الأكسدة الأنزيمية وغير الأنزيمية إلى مخفف Tris في قابلية التجميد لثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتجميد. المجلة الطبية البيطرية العراقية، 39 (2): 19-24.
15. Munsı, M. N.; Bhuiyan, M. M.; Majumder, S. & Alam, M. G. (2007). Effects of exogenous glutathione on the quality of chilled bull semen. *Reprod. Domest. Anim.*, 42(4): 358-362.
16. Kim, S. Y.; Kim, J. W.; Ko, Y. S.; Koo, J. E.; Chung, H. Y. & Lee- Kim, Y. C. (2003). Changes in lipid peroxidation and antioxidant trace elements in serum of women with cervical intraepithelial neoplasia and invasive cancer. *Nutr. Cancer*, 47(2): 126-130.
17. Kakhmonkulov, U. (1999). *Izvestiya Akademii Nauk Respubliki Tadzhikistan Otdelenie Biologicheskikh I Medittesinskikh Nauk.*, 140 (1-2):10-14.

- 18.El-Thaher, T. S.; Matalka, K. Z.; Taha, H. A. & Badwan, A. A. (2001). Ferula harmonis 'zallouh' and enhancing erectile function in rats: efficacy and toxicity study. *Int. J. Impot. Res.*, 13(4): 247- 251.
- 19.Hilan, Ch.; Sfeir, R.; El Hage, R.; Jawich, D.; Frem, M. E. & Jawhar, K. (2007). Evaluation of the antibacterial activities of Ferula Hermonis (BOISS.) Lebanese Sci. J., 8 (2): 135- 151.
- 20.Duh, P. D. & Yen, G. C. (1997). Antioxidative activity of three herbal water extracts. *Food Chem.*, 60(4): 639-645.
- 21.Boukri, N. H. (2014). Contribution a l'etude phytochimique des extraits bruts des epices contenus dans 1 e mélange Ras-el-hanout. Theme Master Academique. Universite Kasdi Merbah Ouargla, Algeria. P.99.
- 22.Singleton, V. L. & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult.*, 16: 144-158
- 23.Chavan, Y. and Singhal, R. S. (2013). Ultrasound-assisted extraction (UAE) of bioactives from arecanut (*Areca catechu* L.) and optimization study using response surface methodology. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 17: 106-113.
- 24.Donaldson, K.; Stone, V.; Tran, C.; Kreyling, W. & Borm, P. (2004). Nanotoxicology. *Occup. Environ. Med.*, 61(9): 727-728.
- 25.Walton, A. (1933). Technique of artificial insemination. *Mp. Bur. Anim. Genet. Iiius-Edinburgh*. P. 56.
- 26.Chemineau, D.; Cogine, Y.; Guerin, Y.; Orgeure, P. & Valtet, J. C. (1991). Training manual on Artificial insemination in sheep and goat. *FAO. Animal Productive and Health*, 3: 83- 90.
- 27.Swanson, E. W. & Beardon, H. J. (1951). An eosin- nigrosin stain differentiating live and dead bovine spermatozoa. *J. Anim. Sci.*, 10(4): 981-987.
- 28.SAS. (2012). SAS/STAT User's Guide for Personal Computers. Release 9.1 SAS Institute Inc., Cary, N.C., USA.
- 29.Duncan, D. B. (1955). Multiple range and multiple F. Tests. *Biometrics*. 11: 1-42.
- 30.Ikeda, K.; Arao, Y.; Otsuka, H.; Nomoto, S.; Horiguchi, H.; Kato, S. & Kayama, F. (2002). Terpenoids found in the umbelliferae family act as agonists/antagonists for ER(alpha) and ERbeta: differential transcription activity between ferutinine-liganded ER(alpha) and ERbeta. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 291(2): 354-360.
- 31.Abourashed, E. A.; Galal, A. M.; El-Feraly, F. S. & Khan, I. A. (2001). Separation and quantification of the major daucane esters of Ferula hermonis by HPLC. *Planta Med.*, 67(7): 681-682.
- 32.Sarica, S.; Corduk, M.; Suicmez, M.; Cedden, F.; Yildirim, M. & Kilinc, K. (2007). The effects of dietary L- carnitine supplementation on semen traits, reproductive parameters, and testicular histology of Japanese quail breeders. *J. Appl. Poult. Res.*, 16: 178- 186.
- 33.Vicari, E. & Calogero, A. E. (2001). Effects of treatment with carnitines in infertile patients with prostato-vesiculo-epididymitis. *Hum. Reprod.*, 16(11): 2338- 2348.
- 34.Trimeche, A.; Renard, P. & Tainturier, D. (1996). La glutamine: un nouveaucryoprotecteur pour congeler le sperme. Mode`le d'e`tude: le baudet du Poitou. *Bull Acad. Vet. de France*, 69: 447-454.
- 35.Khlifaoui, M.; Battut, I.; Bruyas, J. F.; Chatagnon, G.; Trimeche, A. & Tainturier, D. (2005). Effects of glutamine on post-thaw motility of stallion spermatozoa: an approach of the mechanism of action at spermatozoa level. *Theriogenology*, 63(1): 138-149.
- 36.Matin, M. M.; Nakhaeizadeh, H.; Bahrami, A. R.; Iranshai, M.; Arghiani, N. & Rassouli, F. B. (2014). Ferutin, an apoptosis inducing terpenoid from Ferula ovina. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 15(5): 2123-2128.