# تأثير إضافة مستخلص نبات شرش الزلوع *Ferula hermonis* وبعض مضادات الأكسدة إلى مخفف Tris في النسبة المئوية لتشوهات النطف 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

أُجريت هذه الدراسة لبيان تأثير إضافة المستخلص الكحولي لجذور لنبات شرش الزلوع وبعض مضادات الأكسدة إلى مخفف Tris في النسبة المئوية لتشوهات النطف 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. تمَّ تجميع السائل المنوي للثيران جميعها (Pooled semen) وتقسيمه بالتساوي على المعاملات الثمانية المختلفة. أضيف إلى المجموعة الأولى ($T_1$) مخفف Tris فقط وعَدت 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 ($T_2$)، L-Carnitine (0.06 غم/ 50 مل مخفف) في المجموعة الثالثة ($T_3$)، Reduced glutathione (0.03 غم/ 50 مل مخفف) في المجموعة الرابعة ($T_4$)، فيتامين C (0.2 غم/ 50 مل مخفف) في المجموعة الخامسة ($T_5$)، L-Carnitine (0.06 غم/ 50 مل مخفف) والمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع (0.03 مل/ 50 مل مخفف) في المجموعة السادسة ($T_6$)، Reduced glutathione (0.03 غم/ 50 مل مخفف) والمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع (0.03 مل/ 50 مل مخفف) في المجموعة السابعة ($T_7$) وفيتامين C (0.2 غم/ 50 مل مخفف) والمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع (0.03 مل/ 50 مل مخفف) في المجموعة الثامنة ($T_8$). بلغ تركيز المركبات الفينولية الكلية للمستخلص بلغت 124.38 ± 5.05 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. انخفضت فيها النسبة المئوية لتشوهات القطعة الوسطية للنطف لدى المجموعة $T_2$ مقارنةً بالمجموعة $T_1$ خلال مدد الحفظ المدروسة جميعها. كما سجلت المجموعة $T_3$ أقل نسبة مئوية لتشوهات رأس النطف بعد مرور 60 يوم من الحفظ بالتجميد مقارنةً بالمجموعة $T_1$. من جانب اخر، سجلت المجاميع $T_4$، $T_5$، $T_6$، $T_7$ و$T_8$ اقل نسب مئوية للتشوهات الكلية مقارنةً بالمجموعة $T_1$ بعد مرور 60 يوم من الحفظ بالتجميد. يمكن الاستنتاج بأن اضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع بتركيز 0.03 مل/ 50 مل مخفف وL-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 ($T_1$) 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، النسبة المئوية لتشوهات النطف، 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 abnormalities percentage of Holstein bulls

**Talal Anwer Abdulkareem[*], Raaed Ibrahim Khalil [**] and Aysar Hhamid Salman [**]**
**[*] Department of Animal Production, College of Agriculture/ University of Baghdad**
**[**] 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 abnormalities percentage 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; $T_2$), L-Carnitine (0.06g/ 50 ml extender; $T_3$), reduced glutathione (0.03 g/ 50 ml extender; $T_4$), vitamin C (0.2 g/ 50 ml extender; $T_5$), L-Carnitine; 0.06g/ 50 ml extender + alcoholic extract of *Ferula hermonis Boiss* roots; 0.03 ml/ 50 ml extender ($T_6$), reduced glutathione; 0.03 g/ 50 ml extender + alcoholic extract of *Ferula hermonis Boiss* roots; 0.03 ml/ 50 ml extender ($T_7$) and vitamin C; 0.2 g/ 50 ml extender + alcoholic extract of *Ferula hermonis Boiss* roots; 0.03 ml/ 50 ml extender ($T_8$) were added to Tris extender and comparisons in response were made with the control group (Tris extender, $A_1$). 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 $T_2$ group exhibited lesser ($P\leq 0.01$) percentage of sperm tail midpiece abnormalities as compared with the $T_1$ group at all preservation periods. Moreover, the $T_3$ was also recorded lesser ($P\leq 0.01$) sperm's head abnormalities percentage at 60 days PC time period in comparison with the $T_1$ group. On the other hand, $T_4$, $T_5$, $T_6$, $T_7$ and $T_8$ exhibited lesser ($P\leq 0.05$) total sperm abnormalities percentage at 60 days PC time period as compared with the $T_1$ group. 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 reducing the sperm abnormalities percentage of Holstein bulls at different cooling and cryopreservation periods as compared with the control ($T_1$) 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*, sperm abnormalities percentage, Holstein bulls.

## المقدمة

تُعد عملية حفظ النطف بالتجميد من العمليات المعقدة التي تؤدي في اغلب الأحيان إلى إحداث ضرر في خلايا النطفة لذكور اللبائن ومنها الثيران (1)، اذ ترتبط عملية الحفظ بالتجميد بإنتاج أنواع الأوكسجين التفاعلي(ROS Reaction oxygen species) الذي له دور كبير في أكسدة الدهون Lipid peroxidation (LPO) لأغشية النطفة كونها تحتوي على كميات كبيرة من الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة (Polyunsaturated fatty acids) ويرافق ذلك انخفاض فعالية مضادات الأكسدة المنوية عند التحرر المستمر لأنواع الأوكسجين الفعال نتيجة الاضطراب في ميزان مضادات الأكسدة وأنواع الأوكسجين التفاعلي (2، 3). من جانب اخر، فان عملية تجميد السائل المنوي تتم بعد تخفيفه وهذا يعني انخفاض مضادات الاكسدة الطبيعية الموجودة في البلازما المنوية مثل Superoxide dismutase وReduced glutathione وغيرها (3). عليه تم

التوجه من قبل الكثير من الدراسات الى اضافة مضادات الاكسدة الى مخففات السائل مثل فيتامين C والكارنتين والكلوتاثيون(4، 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 يحسن من نوعية نطف الثيران (6) من خلال تحسين حيويتها وقابليتها للتجميد وخفض نسب النطف الميتة والمشوهة وحركتها الحيوية (4، 7). من ناحيةٍ أخرى، يشكل الكارنتين (Carnitine) توليفة حيوية من حامضين أمينيين رئيسيين هما اللايسين (lysine) والمثيونين (methionine)، وهذا يحدث في كل من الكبد والكلى والدماغ، وهو مركب شبيهه بالفيتامين ويتواجد بتراكيز كبيرة في بربخ ونطف الثديات (8)، يسهل نقل الأحماض الدهنية إلى المايتوكوندريا حيث يؤدي دورا في توليد طاقة التمثيل الغذائي (9). وقد أدى استعمال الكارنتين في مخففات السائل المنوي إلى تحسين نوعية السائل المنوي بعد الحفظ بالتجميد في ثيران الهولشتاين مما يؤدي إلى تقليل نسبة التشوهات النطف(10، 11). وقد لوحظ ان اضافة الكارنتين إلى مخففات السائل المنوي لثيران Simmental ادى الى تحسن الحركة الفردية للنطف مع انخفاض نسبة التشوهات المورفولوجية بالإضافة إلى تقليل أضرار الحامض النووي DNA بعد الاسالة (9). كما وجد أن إضافة الكارنتين الى مخففات السائل المنوي لذكور الماعز وفر حماية ملحوظة في أكروسوم النطفة (Acrosome) وتقليل المجموع الكلي للتشوهات بعد الاسالة (8). ويعد الكلوتاثيون من مضادات الأكسدة الموجودة في السائل المنوي للثيران والذي يؤدي دوراً مهماً في إزالة أنواع الأوكسجين التفاعلي والجذور الحرة (12)، كما أن الكلوتاثيون المختزل Reduced glutathione(GSH) يسبب اختزال بيروكسيد الهيدروجين إلى كحول وماء (13)، حيث وجد أن إضافة الكلوتاثيون إلى مخفف السائل المنوي للثيران يعمل على تحسين نوعيته ويقلل من تشوهات النطف (14، 15، 16، 17)، من خلال دوره كمضاد أكسده حيث وجد أنه يوفر وسيلة دفاع خلوية للنطفة ضد الإجهاد التأكسدي خلال عمليات تجميد وإسالة السائل المنوي (18). 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 اكثر النباتات الطبية احتواء على المركبات الفينولية مقارنة ببقية مضادات الاكسدة الطبيعية ويعمل على حماية الخلايا من الإصابة بالأمراض السرطانية(19، 20، 21). إن دراسة تأثير إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع كمضاد أكسدة طبيعي مع توليفة مختلفة من مضادات الاكسدة الصناعية الى مخفف Tris في النسبة المئوية لتشوهات النطف لثيران الهولشتاين لم يتم التطرق إليها سابقاً سواءً على مستوى العراق أو العالم. لذا فقد أجريت هذه الدراسة على بيان تأثير اضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع كمضاد أكسده الى مخفف Tris في النسبة المئوية لتشوهات النطف 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(22) 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 (Hot plate with magnetic stirrer)، ثم رشح الخليط بوساطة قمع بوخر وركز بالمبخر الدوار Rotary 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 (23).
- **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 (24) مع بعض التحويرات التي اجراها (25).
- **تقدير السمية الخلوية للمستخلص الكحولي لنبات شرش الزلوع:** تم أجراء فحص السمية الخلوية Cellular toxicity للمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع استنادا لما جاء به (26)، 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 و600 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 و60 دقيقة).
- **حيوانات وتصميم التجربة:** نُفِذَت 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. أستخدم 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 جُمِعَ السائل المنوي بوساطة المهبل الاصطناعي بواقع قذفة واحدة/ ثور/ أسبوع ولمدة 7 أسابيع. تمَّ تجميع السائل المنوي للثيران جميعها (Pooled semen) وتقسيمه بالتساوي على المعاملات الثمانية المختلفة.

أضيف إلى المعاملة الأولى ($T_1$) السائل المنوي الطازج إلى مخفف Tris حيث عَدت معاملة السيطرة، بينما تضمنت المعاملة الثانية ($T_2$): 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 ($T_3$): إضافة السائل المنوي الطازج إلى مخفف Tris مع إضافة الكارنتين L-Caritine (0.06 غم) لكل 50 مل من المخفف. بينما تضمنت المعاملة الرابعة ($T_4$): إضافة السائل المنوي الطازج إلى مخفف Tris مع إضافة Reduced glutathione (0.03 غم) لكل 50 مل من المخفف. والمعاملة الخامسة ($T_5$): 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 ($T_6$): إضافة السائل المنوي الطازج إلى مخفف Tris مع إضافة الكارنتين L-Caritine (0.06غم) والمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع 0.03 مل لكل 50 مل المخفف. وكذلك في المعاملة السابعة ($T_7$): التي تضمنت إضافة السائل المنوي الطازج إلى مخفف Tris مع إضافة Reduced glutathione و(0.03 غم) والمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع بنسبة 0.03 مل لكل 50 مل من المخفف. وأخيرا تضمنت المعاملة الثامنة ($T_8$): 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.

- **تقيم السائل المنوي:** تم تقدير النسبة المئوية للنطف المشوهة استنادا لطريقة (27)، وقد صنفت التشوهات (28) إلى تشوهات رأس النطفة Head abnormalities وتشوهات القطعة الوسطية للذيل Tail midpiece abnormalities وتشوهات القطعة النهائية لذيل النطفة Tail terminal abnormalities. واستعمل البرنامج الإحصائي (29) 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 (30).

الأنموذج الرياضي الأول: للتحري عن تأثيرات المعاملات المدروسة في الصفات المختلفة ولكل وقت.

$$Yij= \mu + ti + eij$$

إذ إن:

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

μ= المتوسط العام للصفة.

ti= تأثير المعاملات (i) (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8) للتجربة.

eij= الخطأ العشوائي الذي يتوزع توزيعاً طبيعياً بمتوسط يساوي صفر وتباين قدره $\delta^2$ e

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

$$Yij= \mu + pi + eij$$

إذ إن:

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

μ= المتوسط العام للصفة.

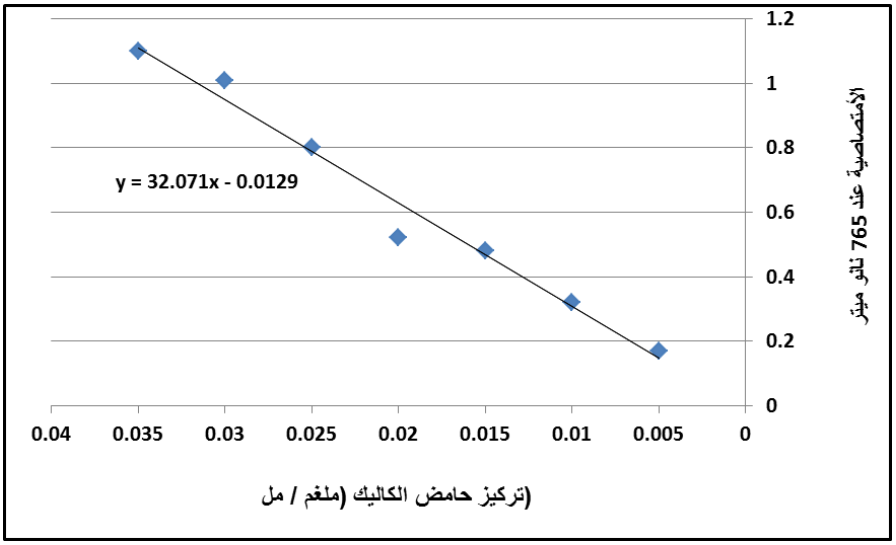
ti= تأثير مدة الحفظ (التبريد، يومين و30 يوم و60 يوم بعد الحفظ بالتجميد).

eij= الخطأ العشوائي الذي يتوزع توزيعاً طبيعياً بمتوسط يساوي صفر وتباين قدره $\delta^2$ e

وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستعمال اختبار دنكن المتعدد المديات.

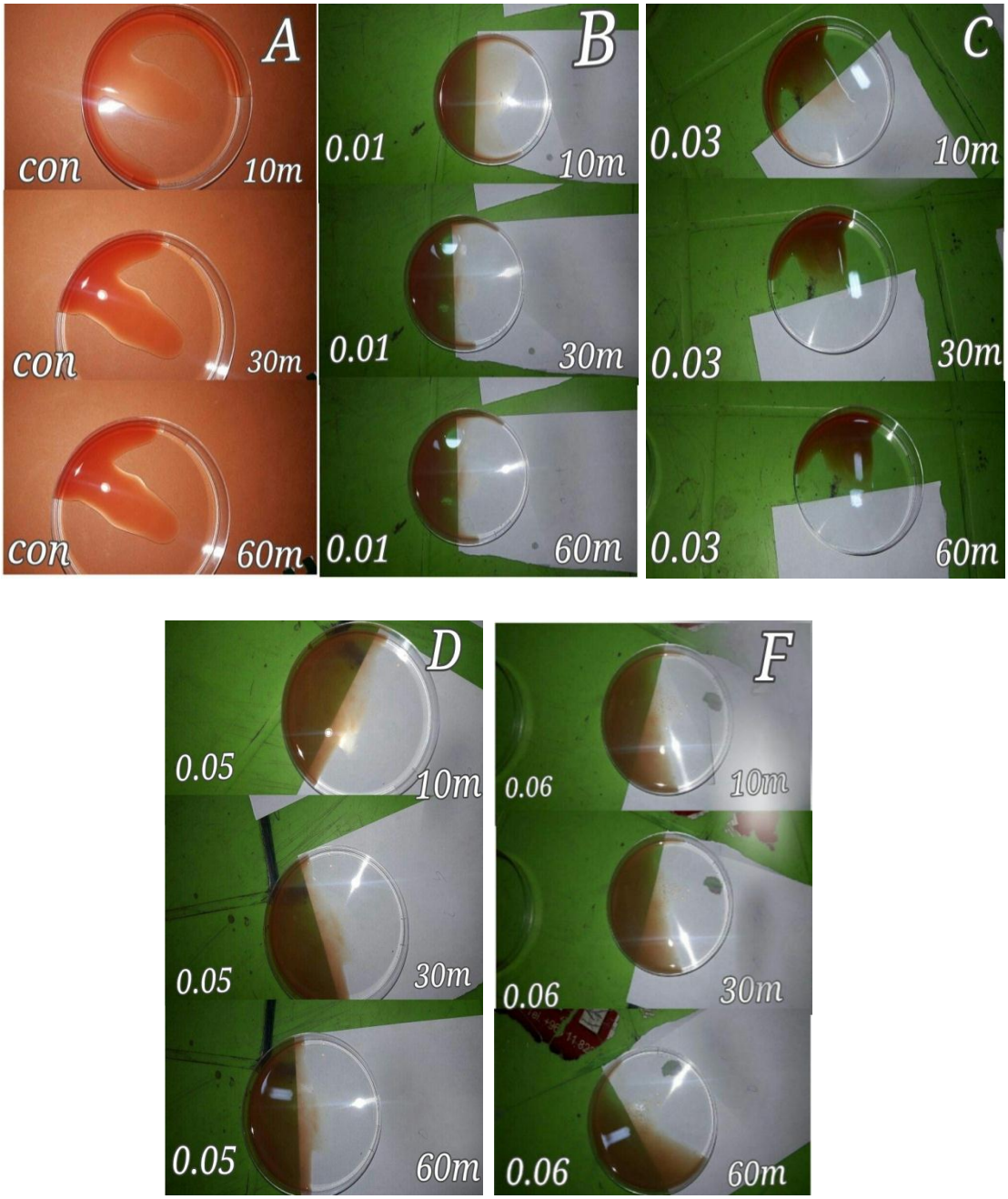
## النتائج والمناقشة

- **المردودية الإنتاجية للمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع:** يتضح من خلال حساب النسبة المئوية للمردودية الانتاجية لمستخلص جذور نبات شرش الزلوع الكحولي ان المردودية بلغت 10% اذ 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 لحامض الكاليك (شكل 1) للمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع ان متوسط تركيز المركبات الفينولية الكلية للمستخلص ومن خلال فحص ثلاث عينات بلغ 124.38 ± 0.505 ملغم من مكافئ حامض الكاليك/ غم من المستخلص.




**شكل(1) المنحنى القياسي لحامض الكاليك 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 للمستويين0.01 و0.03 مل في الوقت الذي ظهرت فيه ترسبات وتحليل كريات الدم الحمراء في المستويات 0.05 و0.06 مل من المستخلص الكحولي. من جانب اخر، ازدادت نسبة تحلل كريات الدم الحمراء بزيادة المدد من 10 الى 30 و60 دقيقة. مما يدل على عدم امتلاكها لخواص سمية وتعد بذلك امنة 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

- **نسبة تشوهات رأس النطفة:** لم تكن هنالك فروق معنوية بين المجاميع في نسبة التشوهات راس النطفة خلال مدتي الحفظ بالتبريد بدرجة حرارة 5م و2 يوم بعد الحفظ بالتجميد مع وجود اتجاه للانخفاض لدى المجموعة ±0.86%) T2 (5.93 خلال مدة الحفظ بالتبريد ولدى المجموعة T7 (6.14±0.44%) بعد مرور 2 يوم من الحفظ بالتجميد

(جدول 1). سجلت المجموعة T2(4.79±0.51%) اقل نسبة تشوهات راس النطف مقارنه بمجموعة السيطرة T1(4.71±0.42%) في الوقت الذي لم تختلف فيه معنويا مع بقية المجاميع بعد مرور 30 يوم من الحفظ بالتجميد (جدول 1). وضمن السياق نفسة سجلت المجموعتان T2 و T3 اقل نسبة مئوية لتشوهات رأس النطف بلغت 4.71±0.42% و4.57±0.52% على التوالي مقارنه بمجموعة السيطرة (6.71±0.64%) في حين لم تختلف مع بقية المجاميع معنويا بعد مرور 60 يوم من الحفظ بالتجميد (جدول 1). اما عند المقارنة بين المجاميع المختلفة ضمن مدد الحفظ المختلفة لم تختلف جميع المجاميع بين مدد الحفظ المختلفة باستثناء المجموعة T3 التي انخفضت فيها نسبة تشوهات راس النطف بعد مرور 60 يوم من الحفظ بالتجميد(4.71±0.52%) مقارنة ببقية مدد الحفظ الاخرى.

- **نسبة تشوهات القطعة الوسطية لذيل النطف:** يتضح من جدول (2) ان المجموعة T2 قد سجلت أوطأ نسبة تشوهات القطعة الوسطية لذيل النطف معنويا (p<0.05، 0.36±0.23%) مقارنه بالمجاميع T1، T4 و T8 (0.93±0.07%) التي لم تختلف في ما بينها معنويا ضمن مدة الحفظ بالتبريد. ولم تختلف المجاميع فيما بينها معنويا بعد مرور 2 يوم من الحفظ بالتجميد، الوقت الذي سجلت فيه المجموعة T2 اقل (P<0.05) نسبة تشوهات للقطعة الوسطية لذيل النطف (0.29±0.14%) مقارنة بالمجاميع T1، T4، T5، T7 و T8 بعد مرور 30 يوم من الحفظ بالتجميد (جدول 2)، وضمن السياق نفسة سجلت المجموعة T2 اقل(p<0.05) نسبة تشوهات القطعة الوسطية (0.29±0.10%) مقارنه بمجموعة T1 1.21±0.30% بعد مرور 60 يوم في الحفظ بالتجميد جدول (2). بأستثناء المجموعة T4 التي سجلت فيها مدة الحفظ بالتجميد بعد مرور 2 يوم اقل (p<0.05) نسبة تشوهات القطعة الوسطية مقارنة ببقية مدد الحفظ قيد الدراسة، لم تسجل النتائج وجود فروق معنوية بين مدد الحفظ المختلفة لبقية المجاميع المدروسة (جدول 2).

**جدول (1) تأثير إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع وبعض مضادات الأكسدة إلى مخفف Tris في النسبة المئوية لتشوهات راس النطفة لنطف ثيران الهولشتاين (المتوسط± الخطأ القياسي).**

| المجاميع | مدة الحفظ | | | | مستوى المعنوية |
|---|---|---|---|---|---|
| | بعد التبريد 5°م | تجميد لمدة 2 يوم | تجميد لمدة 30يوم | تجميد لمدة 60 يوم | |
| T1 | 0.81±6.93 | 0.84±7.57 | 0.44±6.36 a | 0.64±6.71 a | N.S. |
| T2 | 0.86±5.93 | 1.22±6.86 | 0.51±4.79 b | 0.42±4.71 b | N.S. |
| T3 | 0.67±6.36 AB | 0.98±7.14 A | 0.35±5.07 ABab | 0.52±4.57 Bb | * |
| T4 | 0.71±6.43 | 0.80±6.79 | 0.31±5.21 ab | 0.18±5.29 ab | N.S. |
| T5 | 0.55±6.14 | 0.38±7.17 | 0.53±5.64 ab | 0.49±5.64 ab | N.S. |
| T6 | 0.62±7.07 | 0.72±7.00 | 0.42±5.57 ab | 0.43±5.57 ab | N.S. |
| T7 | 0.67±6.79 | 0.44±6.14 | 0.34±5.71 ab | 0.42±5.57 ab | N.S. |
| T8 | 0.61±7.43 | 0.75±6.25 | 0.49±5.67 ab | 0.30±5.83 ab | N.S. |
| مستوى المعنوية | N.S. | N.S. | * | * | |

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

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

الحروف الصغيرة المختلفة تشير الى الفروق المعنوية بين متوسطات المجاميع ضمن العمود الواحد في مده الحفظ الواحدة الحروف الكبيرة المختلفة تشير الى الفروق المعنوية بين متوسطات مدد الحفظ المختلفة ضمن الصف الواحد للمجموعة الواحدة.

**جدول (2) تأثير إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع وبعض مضادات الأكسدة إلى مخفف Tris في النسبة المئوية لتشوهات القطعة الوسطية لذيل النطف لثيران الهولشتاين (المتوسط± الخطأ القياسي).**

| المجاميع | مدة الحفظ | | | | مستوى المعنوية |
|---|---|---|---|---|---|
| | التبريد 5°م | تجميد لمدة 2 يوم | تجميد لمدة 30 يوم | تجميد لمدة 60 يوم | |
| T1 | 0.07±0.93 a | 0.20±0.93 | 0.07±0.93 a | 0.30±1.21 a | N.S. |
| T2 | 0.23±0.36 b | 0.15±0.50 | 0.14±0.29 c | 0.10±0.29 b | N.S. |
| T3 | 0.15±0.50 ab | 0.09±0.64 | 0.09±0.64 abc | 0.10±0.79 ab | N.S. |
| T4 | 0.07±0.93 Aa | 0.13±0.43 B | 0.16±0.79 Aab | 0.16±0.79 Aab | * |
| T5 | 0.10±0.71 ab | 0.17±0.75 | 0.14±0.79 ab | 0.17±0.64 b | N.S. |
| T6 | 0.17±0.64 ab | 0.13±0.93 | 0.10±0.50 bc | 0.14±0.71 ab | N.S. |
| T7 | 0.22±0.57 ab | 0.14±0.79 | 0.14±0.79 ab | 0.17±0.57 b | N.S. |
| T8 | 0.07±0.93 a | 0.16±0.67 | 0.10±0.67 ab | 0.64±0.75 ab | N.S. |
| مستوى المعنوية | * | N.S. | * | * | |

* 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 المجاميع ضمن العمود الواحد في مدة الحفظ الواحدة

الحروف الكبيرة المختلفة تشير الى الفروق المعنوية بين متوسطات مدد الحفظ المختلفة ضمن الصف الواحد للمجموعة الواحدة.

- **نسبة تشوهات القطعة الرئيسية والنهائية لذيل النطف:** تبين من جدول (3) عدم وجود فروق معنوية بين المجاميع المختلفة في النسبة المئوية لتشوهات القطعة الرئيسة والنهائية لذيل النطف خلال مدة الحفظ بالتبريد، لوحظ ان المجموعة T2 قد سجلت اقل ($p<0.05$) نسبة تشوهات القطعة الرئيسية والنهائية لذيل النطف (7.57±0.75%) مقارنة بالمجموعة T8 التي سجلت اعلى نسبة لهذه الصفة بلغت (9.92±0.80%) في الوقت الذي لم تختلف فيه المجموعة T2معنويا مقارنة ببقية المجاميع المدروسة بعد مرور 2 يوم من الحفظ بالتجميد (جدول 10). سجلت المجموعة T2 أيضا اقل ($P<0.05$) نسبة تشوهات لصفة ذاتها (7.50±0.44%) مقارنة بالمجاميع T1, T4, T5 و T8 والتي لم تختلف فيما بينها معنويا بعد مرور 30 يوم من الحفظ بالتجميد. بعد مرور 60 يوم من الحفظ بالتجميد سجلت المجموعة T2 اقل ($p<0.01$) نسبة تشوهات لصفة ذاتها 8.43±0.42% مقارنة ببقية المجاميع باستثناء المجموعة T6 (9.14 ± 0.26%) التي لم تختلف عنها معنويا (جدول 3).عند المقارنة بين المجاميع ضمن مدد الحفظ الواحدة سجلت مجموعة T1 اقل ($p\leq0.05$) نسبة تشوهات القطعة للقطعة الرئيسية والنهائية لذيل النطف خلال مدة الحفظ بالتبريد (8.21±0.86%) مقارنة بمرور 30 يوم و60 يوم من الحفظ بالتجميد (جدول 3). ضمن الاطار ذاته سجلت المجموعتان T4 و T5 اقل ($p<0.05$) لصفة ذاتها ضمن مدة الحفظ بالتبريد مقارنة بمرور 60 يوم من الحفظ بالتجميد وعدم اختلافهما معنويا مع بقية المدد الأخرى. في حين سجلت اقل نسبه لهذه الصفة عند مدة الحفظ بالتبريد مقارنة بمرور 2 يوم من الحفظ بالتجميد لدى المجموعة T6 (جدول 3). ولم تختلف مدد الحفظ المختلفة في الصفة ذاتها لدى المجاميع T2، T3، T7 و T8 (جدول 3).

**جدول (3) تأثير إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع وبعض مضادات الأكسدة إلى مخفف Tris في النسبة المئوية لتشوهات القطعة الوسطية لذيل النطف لثيران الهولشتاين (المتوسط ±الخطأ القياسي).**

| المجاميع | مدة الحفظ | | | | مستوى المعنوية |
|---|---|---|---|---|---|
| | بعد التبريد 5°م | تجميد لمدة 2 يوم | تجميد لمدة 30 يوم | تجميد لمدة 60 يوم | |
| T1 | 0.86±8.21<br>B | 0.60±9.64<br>ABab | 0.52±10.00<br>Aa | 0.35±10.93<br>Aa | * |
| T2 | 0.96±7.71 | 0.75±7.57<br>b | 0.44±7.50<br>b | 0.42±8.43<br>d | N.S. |
| T3 | 0.93±8.07 | 0.96±9.43<br>ab | 0.76±8.64<br>ab | 0.34±10.14<br>abc | N.S. |
| T4 | 0.92±8.00<br>B | 0.52±8.71<br>Bab | 0.47±9.64<br>ABa | 0.42±10.71<br>Aab | * |
| T5 | 0.81±8.93<br>B | 0.47±8.83<br>Bab | 0.38±10.07<br>ABa | 0.28±10.64<br>Aab | * |
| T6 | 0.40±7.86<br>B | 0.55±9.21<br>Aab | 0.42±8.71<br>ABab | 0.26±9.14<br>ABcd | * |
| T7 | 0.89±8.93 | 0.52±8.71<br>ab | 0.30±8.79<br>ab | 0.18±9.71<br>bc | N.S. |
| T8 | 0.64±9.57 | 0.80±9.92<br>a | 0.76±9.67<br>a | 0.49±9.67<br>bc | N.S. |
| مستوى المعنوية | N.S. | * | * | ** | |

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

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

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

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

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

- **نسبة التشوهات الكلية للنطف:** يتبين من الجدول (4) سجلت المجموعة T2 اقل ($P\leq0.05$) نسبة تشوهات كلية (14.00 ±1.56%) مقارنة بالمجموعة T8 والذي سجلت اعلى نسبة تشوهات (17.93±0.62%) في الوقت الذي لم تختلف فيه هذه المجموعة مع بقية المجاميع الاخرى معنويا خلال مدة الحفظ في التبريد (4). تشير النتائج ضمن مدة الحفظ بالتجميد 2 يوم الى عدم وجود فروق معنوية. كما سجلت المجموعة T2 اقل ($p\leq0.01$) نسبة تشوهات الكلية (12.86±1.07%) مقارنة بالمجموعة T1 التي سجلت اعلى نسبة تشوهات كلية (17.29 ± 0.91%) في حين لم تختلف معنويا عن بقية المجاميع الأخرى ضمن مدة الحفظ بالتجميد 30 يوم. وضمن الاطار ذاته المجموعة T2 اقل ($p\leq0.01$) نسبة تشوهات كلية (13.43±0.39%) مقارنة بالمجاميع الأخرى ضمن مدة الحفظ 60 يوم (جدول 4). عند المقارنة بين مدد الحفظ المختلفة ضمن المجموعة الواحدة. وقد سجلت المجموعة T1 اقل ($p\leq0.05$) نسبة تشوهات كلية (15.93±0.60%) خلال مدة الحفظ بالتبريد مقارنه بمدة الحفظ 60 يوم التي سجلت اعلى نسبة تشوهات كلية (18.86±0.99%) وعدم اختلافهما مدتي الحفظ بالتجميد 2 يوم 30 يوم كما سجلت المجموعة T6 اقل ($p\leq0.05$) نسبة تشوهات كلية (14.79±0.43%) خلال مدة الحفظ بالتجميد 30 يوم مقارنة بمرور 2 يوم من الحفظ بالتجميد. لم تختلف نسبة التشوهات الكلية ضمن مدد الحفظ المختلفة لدى بقيت المجاميع المدروسة. ان تميز

المجموعة T2 (مخفف Tris+ المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع) في تسجيلها لأقل نسب تشوهات مختلفة للنطف يعود إلى قابلية المستخلص الكحولي للحفاظ على سلامة النطف من التشوهات المختلفة والتي تعد من الصفات المهمة لتحديد نسب الإخصاب عند إجراء التلقيح الاصطناعي، ان احتواء جذور نبات شرش الزلوع على كمية كبيرة من المركبات الفينولية (124.38±5.05 ملغم من مكافئ حامض الكاليك/ غم هن المستخلص النباتي، شكل 1) والتي تدل على قابلية العالية كمضاد للأكسدة يساهم بشكل كبير في الحفاظ على غشاء البلازمي للنطف بالتالي تقلل من نسبة التشوهات (31، 32، 33).

**جدول (4) تأثير إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع وبعض مضادات الأكسدة إلى مخفف Tris في النسبة المئوية للتشوهات الكلية لنطف ثيران الهولشتاين (المتوسط ±الخطأ القياسي).**

| المجاميع | مدة الحفظ | | | | مستوى المعنوية |
|---|---|---|---|---|---|
| | بعد التبريد 5°م | تجميد لمدة 2 يوم | تجميد لمدة 30 يوم | تجميد لمدة 60 يوم | |
| T1 | 0.60±15.93 Bab | 0.69±18.14 AB | 0.91±17.29 ABa | 0.99±18.86 Aa | * |
| T2 | 1.56±14.00 b | 1.26±14.93 | 1.07±12.86 b | 0.39±13.43 c | N.S. |
| T3 | 0.62±14.93 ab | 1.76±17.21 | 0.89±14.36 bc | 0.30±13.36 b | N.S. |
| T4 | 1.21±15.21 ab | 1.13±15.93 | 0.66±15.64 ab | 0.53±16.50 b | N.S. |
| T5 | 0.93±15.79 ab | 0.69±16.75 | 0.61±16.36 ab | 0.27±16.93 b | N.S. |
| T6 | 0.81±15.71 Bab | 0.43±17.14 A | 0.26±14.79 Bbc | 0.27±15.57 ABb | * |
| T7 | 1.18±16.29 ab | 0.75±15.50 | 0.35±15.14 abc | 0.37±17.71 b | N.S. |
| T8 | 0.62±17.93 a | 1.20±16.83 | 0.93±16.00 ab | 50.49±16.25 b | N.S. |
| مستوى المعنوية | * | N.S. | ** | ** | |

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

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

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

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

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

## المصادر


1. 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.
2. Sikka, S. C. (2004). Role of oxidative stress and antioxidants in andrology and assisted reproductive technology. J. Androl., 25(1): 5-18.
3. Sikka, S. C. (1996). Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. Front. Biosci., 1:e78-86.

4. 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.

5. عبد الكريم، طلال أنور، سلطان، خالد حساني، نون، محمود سعدي، إبراهيم، فارس فيصل، حيدر، معزز عبد الخالق ولطيف، وفاء يدام. (2017). التأثير التآزري لبعض مضادات الأكسدة المضافة إلى مخفف Tris في قابلية تجميد السائل المنوي لثيران الهولشتاين بعد الحفظ بالتجميد لمدد مختلفة. مجلة الأنبار للعلوم البيطرية، 10 (1): 1- 9.

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. الزيدي، 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.; Sarıözkan, S.; Tuncer, P. B.; Sakin, F.; Ateşşahin, A.; Kulaksız, R. & Çevik, M. (2010). The effect of antioxidants on post-thawed Angora goat (Capra hircus ancryrensis) sperm parameters, lipid peroxidation and antioxidant activities. Small Rumin. Res., 89 (1): 24- 30.

9. Bucak, M. N.; Tuncer, P. B.; Sarıozkan, S.; Başpinar, N.; Taşinar, M.; Coyan, 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

10. الناصري، عمر عادل محمد. (2013). إضافة بعض الأحماض الأمينة وتوليفاتها 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 والاينوستول 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. Bilodeau, J. F.; Blanchette, S.; Gagnon, C. & Sirard, M. A. (2001). Thiols prevent $H_2O_2$-mediated loss of sperm motility in cryopreserved bull semen. Theriogenology, 56(2): 275-286.

15. Foote, R. H.; Brockett, C. C. & Kaproth, M. T. (2002). Motility and fertility of bull sperm in whole milk extender containing antioxidants. Anim. Reprod. Sci., 71(1-2): 13-23.

16. عيدان، ساجدة مهدي، الزيدي، 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

17. Munsi, 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.

18. 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.

19. Kakhmonkulov, U. (1999). Izvestiya Akademii Nauk Respubliki Tadzhikistan Otdelenie Biologicheskikh I Medittesinskikh Nauk., 140 (1-2):10-14.

20.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.

21.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.

22.Duh, P. D. & Yen, G. C. (1997). Antioxidative activity of three herbal water extracts. Food Chem., 60(4): 639-645.

23.Boukri, N. H. (2014). Contribution a'1'etude phytochimique des extraits bruts des epices contenus dans 1 e mélange Ras-e1-hanout. Theme Master Academique. Universite Kasdi Merbah Ouargla, Algeria. P.99.

24.Singleton, V. L. & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Viticult., 16: 144-158.

25.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.

26.Donaldson, K.; Stone, V.; Tran, C.; Kreyling, W. & Borm, P. (2004). Nanotoxicology. Occup. Envirn. Med., 61(9): 727-728.

27.Hancock, J. L. (1952). The morphology of bull spermatozoa. J. Exp. Biol., 29: 445-453.

28.Melrose, D. R. & Laing, J. A. (1970). Characteristics of normal semen. In: Fertility and Infertility in the Domestics Animals. J. A. Laing (Eds.), Chapt. 4, Bailling Tindell and Cassell Press, London.

29.SAS. (2012). SAS/STAT User's Guide for Personal Computers. Release 9.1 SAS Institute Inc., Cary, N.C., USA.

30.Duncan, D. B. (1955). Multiple range and multiple F. Tests. Biometrics. 11: 1-42.

31.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.

32.Senger, P. L. (2003). Regulation of reproduction: nerves, hormones and target tissues. In: Pathways to Pregnancy and Parturition. Chapter 5. 2nd revised ed., Current Conceptions Inc., Washington, USA. PP. 102-127.

33.Lhuillier, A. N.; Fabre, N.; Cheble, E.; Oueida, F.; Maurel, S.; Valentin, A.; Fourasté, I. & Moulis, C. (2005). Daucane sesquiterpenes from Ferula hermonis. J. Nat. Prod., 68(3): 468-471.