جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى

تأثير غرز ثيران الهولشتاين بهرمون الميلاتونين في نوعية السائل المنوي الطازج والمحفوظ بالتجميد

رسالة مقدمة إلى مجلس كلية الزراعة في جامعة ديالى
وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في العلوم الزراعية / الإنتاج الحيواني

من قبل
زيد حسن علي

بإشراف

أ.م. د. رائد ابراهيم خليل
كلية الزراعة – جامعة ديالى

أ. م. د. ساجدة مهدي عيدان
كلية الزراعة – جامعة بغداد

1438 هـ
2017 م

الفصل الأول

المقدمة

(Introduction)

تؤدي عملية حفظ السائل المنوي بالتجميد (Semen cryopreservation) إلى احداث اضرار في خلايا النطف لدى معظم اللبائن ومنها الثيران(Amirat-Briand وآخرون ، 2009)، إذ أشارت دراسات عديدة إلى انخفاض معدلات الأخصاب عند استخدام سائل منوي محفوظ بالتجميد مقارنة مع السائل المنوي الطازج (Evans و Maxwell ، 1987 ؛ Salamon و Maxwell ، 1995 ؛ Bailey وآخرون ، 2000). كما تؤدي عملية حفظ السائل المنوي بالتجميد إلى تدني نوعية السائل المنوي(Andrabi،2007 ؛ Mahfouz وآخرون،2010)، من خلال احداث تدهور في الغشاء البلازمي للنطف و سلامة الاكروسوم وفقدان حركتها وحيويتها وقابليتها الاخصابية، فضلاً عن تلف المادة الوراثية (DNA)، (Aitken وآخرون، 1989 ؛ Vishwanath و Shannon، 2000 ؛ Medeiros وآخرون، 2002). وقد تعزى هذه الاضرار إلى تعرض النطف لصدمة البرودة والتي تؤدي إلى حدوث تغيرات في الفعالية الأنزيمية الناتجة عن ضرر أغشية النطف وخروج بعض الانزيمات منها، مثل: Glucose-6- phosphate- dehydrogenase، ومن ثم زيادة نسبة ADP/AMP وانخفاض الطاقة ATP (Manafi،2011). وقد لاحظ Kumaresan وآخرون (2006) ان كل من الاكروسوم والغشاء البلازمي للنطف يعدان من أكثر المواقع المعرضة للضرر اثناء الحفظ بالتبريد، إذ ان التبريد يؤثر على هيكلية الدهون في اغشية النطفة. كما أن عملية تجميد واسالة السائل المنوي تسبب تراكم أيونات الكالسيوم المرتبطة مع البروتين داخل خلايا النطف وبالتالي تضعف حركتها (Schuh وآخرون، 2004)

إنّ التحرر المستمر لأصناف الاوكسجين التفاعلي (ROS) من قبل النطف غير الناضجة والمشوهة وخلايا الدم البيضاء تؤدي إلى انخفاض حركتها الفردية وقابليتها الاخصابية (Fraczekوآخرون،2007). تكون نطف اللبائن بصورة عامة ومنها نطف الثيران بشكل خاص عرضة لتأكسد اغشيتها من قبل الجذور الحرة في السائل المنوي بسبب قلة مضادات الأكسدة الطبيعية الموجودة في السائل المنوي مع وجود كميات كبيرة من الاحماض الدهنية غير المشبعة في اغشية النطف (Alvarez وآخرون، 1987 ؛ Saleh و Agarwal، 2002 ؛ Taşdemir واخرون، 2013)، مما يؤدي إلى تغيرات في الغشاء البلازمي وتغير في فعالية البروتينات ومن ثم تتغير نفاذية الماء والمواد المذابة وفقدان حيوية النطف (Purdy وآخرون،2010).

يعدّ هرمون الميلاتونين (Melatonin) الافراز الرئيسي للغدة الصنوبرية، وتوجد مستقبلاته في العديد من خلايا واعضاء الجسم ، مما يشير إلى الفعالية الواسعة لهرمون الميلاتونين، إذ يعمل على تنظيم التناغم (Circadian rhythm) اليومي والموسمي للفعاليات الحيوية في الجسم (Amin، 2006)، ومعزز لمناعة الجسم (Haldar،2012)، كما يعمل على ازالة الجذور الحرة بأنواعها المختلفة من خلال تنشيط مضادات الأكسدة الانزيمية(Tanواَخرون،1993؛Barlow-waldenواَخرون،1995؛Pablos واَخرون،1998)،وتثبيط إنزيمات محفزات الأكسدة (Pozoواَخرون،1997 ؛ Rodriguezواَخرون،2004)، وتقليل من الضغط الجزيئي للأوكسجين (Tan واَخرون،2000 ؛ Reiter واَخرون،2001) . وقد وجد ان الميلاتونين يلعب دوراً في اتزان الكلوكوز(Glucose homeostasis) (Cipolla-Neto واَخرون،2014) بالدم والخصية ،فضلاً عن تأثيره في نوعية النطف من خلال تنظيم انتاج التستستيرون(Ortiz واَخرون،2011)، وحماية الامشاج والاجنة مختبرياً (Cruze واخرون، 2014) والمحافظة على سلامة الغشاء البلازمي للنطف وزيادة انتاج الطاقة من قبل المايتوكوندريا(Martin واَخرون، 2000 ، 2002) وتنظيم أيض خلايا سرتولي وكونه مضاد للموت المبرمج (Anti-apoptosis) بشكل غير مباشر(Rocha واخرون، 2014). وقد اظهرت دراسات عديدة أن الميلاتونين أكثر كفائه من مضادات الاكسدة الاخرى كونه محب للدهون والماء والذي يمكن العبور بسهولة عبر الاغشية (Reiterواَخرون،2004)، مثل حاجز الخصية الدموي (Blood testis barrier) وبالتالي حماية معظم خلايا النطف داخل النبيبات المنوية (Lena واَخرون،2003)، من خلال تحفيز نشاط الأنزيمات المضادة للأكسدة (El-Sokkary واَخرون،2003).

ونظراً لأهمية الميلاتونين كمضاد للأكسدة ودوره الفعال في الحفاظ على نوعية النطف من الضرر التأكسدي والذي ينعكس إيجابيا في اطالة مدة حفظ السائل المنوي وتحسين نوعيته وبالتالي زيادة نسب الاخصاب والحمل . ونظرا لعدم وجود دراسات حول تأثير غرز هرمون الميلاتونين في صفات السائل المنوي ومستوى هرمون التستستيرون لثيران الهولشتاين، لذا فقد صممت هذه الدراسة بهدف بيان الاهداف الاتية:

1- تأثير غرز هرمون الميلاتونين في صفات السائل المنوي الطازج والمبرد والمحفوظ بالتجميد لمدد مختلفة لدى ثيران الهولشتاين .

2- - تأثير غرز هرمون الميلاتونين على مستوى هرمون التستستيرون في بلازما الدم لدى ثيران الهولشتاين .

3- تأثير غرز هرمون الميلاتونين في تركيز المالون داي الديهايد وتركيز مضادات الاكسدة الكلية في البلازما المنوية لدى ثيران الهولشتاين.

الخلاصـــة

اجريت هذه الدراسة بهدف بيانتأثير غرزهرمون الميلاتونين في مستوى هرمون التستستيرون وصفات السائل المنوي الطازج والمحفوظ بالتبريد والتجميدلثيران الهولشتاين. نفذتهذه الدراسة في قسم التلقيح الاصطناعي التابع لدائرة الثروة الحيوانية / وزارة الزراعة في منطقة أبي غريب (25 كم غرب بغداد)للمدة من 7/12/2015 ولغاية 1/6/2016باستعمال12 ثور هولشتاين تتراوح اعمارها بين 3-5 سنوات وأوزانها بين500-750كغم / ثور.وزعت الثيران عشوائيا إلى ثلاث مجاميع متساوية (4 ثور/مجموعة)،تركت المجموعة الأولى بدون معاملة وعدت بمثابة مجموعة سيطرة (T1). في الوقت الذيغرزت فيه المجموعتين الثانية (T2) والثالثة (T3)بهرمون الميلاتونين تحت جلد قاعدة الاذن اليسرى بمقدار54 و72 ملغم على التوالي،وأعيد غرز الهرمون للثيران بعد شهر من الغرزة الأولى.تم سحب عينات الدم من الوريد الوداجي ولثلاث مدد من التجربة (قبل الجرعة الأولى وبعد4 و8 اسابيع من المعاملة) لدراسة مستوى هرمون التستستيرون.كما تم جمع السائل المنوي من الثيران بواسطة المهبل الأصطناعي (1قذفة / ثور/اسبوعياً) لدراسة تأثير غرز هرمون الميلاتونينفيصفات السائل المنوي الطازجوالمحفوظ بالتبريد و بعد 48 ساعة و اسبوع من الحفظ بالتجميد. أظهرت النتائج عدم وجود تأثيرات معنوية بين المعاملاتفي مستوى هرمون التستستيرون .لم يكن للمعاملات ومدد الحفظ والاسابيع اي تاثير معنوي في الحركة الجماعية للنطف وحجم القذفة. من ناحيةٍ اخرى، أظهرت المعاملة T3 تاثير معنويا ($P<0.05$)في المعدل العام لتركيز النطف مقارنة مع المعاملتين T1وT2. كما تفوقت الحركة الفردية والعدد الكلي للنطف المتحركة والنسبة المئوية للنطف الحية معنويا ($P<0.05$) لدى المعاملتين T2وT3 مقارنة مع المعاملةT1 للمعدل العام وبعد اسبوع من الحفظ بالتجميد.ارتفعت النسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي والعدد الكلي للنطف السليمة الغشاء البلازمي(10^6) معنويا ($P<0.05$) لدى المعاملتين T2(بعد 48 ساعة واسبوع من الحفظ بالتجميد وللمعدل العام) و T3(للسائل المنوي الطازج والتبريد و48 ساعة واسبوع من الحفظ بالتجميد) مقارنة مع المعاملة T1. تفوقت المعاملة T3 في سلامة الاكروسوم (%) والعدد الكلي لسلامة الاكروسوم(10^6) معنويا($P<0.05$) مقارنة مع المعاملة T1 في المعدل العام لدى السائل المنوي الطازج. انخفضت نسبة التشوهات معنوياً ($P<0.05$)لدى المعاملتين T2(للمعدل العام وبعد اسبوع من الحفظ بالتجميد) T3(للمعدل العام ولدى السائل المنوي الطازج والتبريد و48 ساعة من الحفظ بالتجميد)مقارنة مع المعاملةT1.انخفضت نسبة تشوهات رأس النطف(للمعدل العام و48 ساعة من

الحفظ بالتجميد)والقطعة الوسطية والقطع الرئيسية والنهائية لذيل النطف(للمعدل العام) معنويا ($P<0.05$) لدى المعاملتين T2وT3مقارنة مع المعاملةT1، وفيالأوقات نفسها. ازداد العدد الكلي للنطف الطبيعة لدى المعاملتين T2وT3 ولدى اغلب مدد التجربة مقارنة مع المعاملةT1. يمكن الاستنتاج ان الغرز بهرمون الميلاتونين كان له دور ايجابي في تحسين نوعية السائل المنوي لدى ثيران الهولشتاين مما ينعكس هذا في تحسين الاداء التناسلي،وزيادة انتاجية مراكز التلقيح الاصطناعي و العائد المادي لمربي الابقار.