جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى

تأثير إضافة فيتامينات B_1 وB_6 وB_{12} الى مخفف ترس في بعض صفات السائل المنوي المبرد لذكور الماعز

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

من قبل
سعاد رحيم حسوني

بإشراف
أ.م. د. علي شهاب احمد
كلية الزراعة – جامعة ديالى

1442 هـ 2021 م

أَلَمْ يَكُ نُطْفَةً مِنْ مَنِيٍّ يُمْنَى ﴿37﴾

صَدَقَ اللهُ العَظِيم

الإهـــداء

الى من خرج نورا " له القمر ، وبكى لفراقه الشجر، وسبّح في يده الحجر، من ارسله الله بالهدى ودين الحق فجعله شاهدا ومبشرا ونذيرا وسراجا منيرا خير الخلائق والبشر محمد عليه الصلاة والسلام . . .

إلى من حملتني وهناً على وهن، قرة عيني ونبض قلبي ينبوع الحنان ونهر العطاء ملاذي الأخير امي حماها الله . . .

الى عزّي وفخري وذاكرتي ونجواي ابي رحمك الله . . .

الى ذخري وسندي وقوتي . . . أغلى شيء في الوجود . . إخوتي وأخواتي حفظكم الله . . . .

الى وطني الجريح عافاك الله . . .

اهدي ثمرة جهدي المتواضع هذا . . .

الباحثة

سعاد رحيم حسوني

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على عبده ورسوله افضل الرسل وخاتم النبيين وعلى آله وصحبه ومن اهتدى بهديه الى يوم الدين، أتقدم بجزيل الشكر والعرفان إلى السادة أعضاء لجنة المناقشة متمثلة بالأستاذ الدكتور رائد إبراهيم خليل مناقشة رسالتي وإبداء أراءهم وملاحظاتهم العلمية السديدة .

كما أتقدم بشكري وامتناني إلى الأستاذ المشرف الدكتور علي شهاب احمد لمى قدمه لي نصائح ودعم دائم خلال فترة الدراسة والبحث، ويطيب لي أن أتوجه بالشكر والعرفان الى رئيس وأعضاء لجنة المناقشة الدكتور رائد إبراهيم خليل الدكتور فراس احمد محمود والدكتور احمد علي عذاب، كما يطيب لي أن أتوجه بالشكر والعرفان الى كافة أساتذة قسم الثروة الحيوانية في جامعة ديالى واخص بالذكر اساتذتي الافاضل الدكتور صالح حسن جاسم والدكتور خالد حامد حسن والدكتور محمد احمد شويل.

ويطيب لي أن أتقدم بعميق شكري وعرفاناً بالجميل إلى كل من ساعدني في مسيرتي زملائي في الدراسة لما قدموه لي من دعم وسند أيام الدراسة.

كما أتقدم بالشكر إلى زملائي طلبة الدراسات العليا في قسم الثروة الحيوانية واشكر كل من ساعد في اظهار بحثي المتواضع بالمظهر اللائق.

ومن الله التوفيق

سعاد رحيم حسوني

المستخلص

أجريت هذه الدراسة في الحقل الحيواني الكائن في كلية الزراعة / جامعة ديالى للمدة من 2020/3/1 الى 2020/5/10 بهدف بيان تأثير إضافة بعض فيتامينات مجموعة B (B_1، B_6، B_{12}) لمخفف Tris على حيوية السائل المنوي المبرد لمُدد مختلفة اشتملت هذه التجربة 9 ذكور من الماعز بعمر 1.5- 2 سنوات وتتراوح اوزانها 35.45 كغم، اذ تم تجميع السائل المنوي وتم اجراء عملية الغسل للبلازما المنوية وقسمت التجربة الى أربع مجاميع هي معاملة السيطرة (T1) والمعاملة الثانية (T2) إضافة فيتامين B_1 والمعاملة الثالثة (T3) إضافة فيتامين B_6 والمعاملة الرابعة (T4) إضافة من فيتامين B_{12}، علما ان الإضافة للفيتامينات المذكورة أعلاه (B_1 وB_6 وB_{12}) كانت بتركيزين هما 0.1 و0.2غم /25مل مخفف ترس. بعدها تم تبريد السائل المنوي لمُدد التبريد1و3 و5 يوم، وتم اجراء الفحوصات الفيزيائية لبعض الصفات الحيوية للسائل المنوي. بينت نتائج الدراسة الحالية تفوقاً معنوياً ($P\leq0.05$) للمعاملة T2 في النسبة المئوية للحركة الفردية؛ إذ بلغت (77.111%). وتفوق معنوي($P\leq0.05$) للمعاملة T2 في النسبة المئوية للنطف الحية؛ إذ بلغت (77.083%). وتفوق معنوي ($P\leq0.05$) للمعاملات T2و T3وT3؛ إذ بلغت (73.183، 70.222، 73.777%) على التوالي (66.888%). وتفوق معنوي ($P\leq0.05$) للمعاملات T2وT3وT4 لقيمة pH؛ إذ بلغت (6.366، 6.188، 6.172) على التوالي وانخفضت معنويا ($P\leq0.05$) النسبة المئوية لتشوهات النطف الكلية للمعاملة T2 (11.722%). اما بالنسبة لمدد الحفظ بالتبريد فقد بينت نتائج الدراسة تفوق معنوي ($P\leq0.05$) لليوم الأول من الحفظ بالتبريد في النسبة المئوية للحركة الفردية (76.145%) والنسبة المئوية للنطف الحية (77.291%) والنسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي (74.395%) وقيمة pH (6.470) وانخفاض معنوي ($P\leq0.05$) للنسبة المئوية للنطف المشوهة الكلية (12.291%) على بقية مدد الحفظ بالتبريد. اما بالنسبة لتأثير إضافة تركيز 0.2غم/25مل من فيتامينB فقد تفوق معنويا ($P\leq0.05$) في النسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي (70.263%) وانخفضت معنويا ($P\leq0.05$) في النسبة المئوية للنطف المشوهة الكلية (13.102%). اما بالنسبة لتأثير التداخل بين إضافة فيتامينات B_1 وB_6 وB_{12} ومدد الحفظ بالتبريد فقد تفوقت معنوياً ($P\leq0.05$) المعاملة T2 واليوم الأول من الحفظ بالتبريد في النسبة المئوية للحركة الفردية (80.750%). وتفوق معنوي ($P\leq0.05$) للمعاملة T2 واليوم الثالث في النسبة المئوية للنطف الحية (77.167%) وتفوق معنوي ($P\leq0.05$) للمعاملة T2 واليوم الأول من الحفظ بالتبريد في النسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي (76.00%) والمعاملة T4 واليوم الأول (75.917%) وتفوق معنوي للمعاملات T2و T2 T2 واليوم الثالث من الحفظ بالتبريد لقيمة pH إذ بلغت (6.50، 6.433، 6.133) على التوالي وتفوق المعاملة T2 واليوم الخامس من الحفظ بالتبريد (6.017).

وانخفاض معنوي (P≤0.05) للمعاملة T2 واليوم الأول والثالث والخامس من الحفظ بالتبريد في النسبة المئوية للنطف المشوهة (11.417، 11.833، 11.917). اما بالنسبة لتأثير التداخل بين إضافة فيتامينات B_1 وB_6 وB_{12} والتركيز فقد تفوقت معنويا (P≤0.05) المعاملة T2 وتركيز 0.1 و0.2 غم/25 مل في النسبة المئوية للحركة الفردية، إذ بلغت (76.167، 78.056%). وتفوق معنوي (P≤0.05) للمعاملة T2 و0.2غم/25 مل في النسبة المئوية للنطف الحية، إذ بلغت (78.333%). وتفوق معنوي (P≤0.05) للمعاملة T2 وتركيز 0.2غم/25 مل في النسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي (73.556%) أيضا المعاملة T4 و0.1 و0.2غم/25 مل (73.444، 74.111%). وتفوق معنوي (P≤0.05) بين المعاملة T2 وتركيز0.1، 0.2غم/25 مل لقيمة pH (6.311، 6.422). وانخفاضاً معنوياً (P≤0.05) للمعاملة T2 وتركيز 0.2غم/25مل في النسبة المئوية للنطف المشوهة (11.111%). اما بالنسبة لتأثير التداخل بين مدة الحفظ بالتبريد وتركيز الفيتامين كان هناك تفوق معنوي (P≤0.05) لليوم الأول من الحفظ بالتبريد عند تركيز 0.1 و0.2غم/25مل لكل من النسبة المئوية للحركة الفردية (75.750، 76.542%) والنسبة المئوية للنطف الحية (76.833، 77.750%) والنسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي (74.125، 74.667%) وقيمة pH (6.458، 6.483) وانخفاض معنوي (P≤0.05) في النسبة المئوية للنطف المشوهة (12.458، 12.125%).اما بالنسبة لتأثير التداخل بين كلا من فيتامينات B_1 وB_6 وB_{12} مع مدد الحفظ بالتبريد وتركيز الفيتامين فقد تبين وجود تفوق معنوي (P≤0.05) للمعاملة T2 وتركيز 0.2غم/25مل واليوم الأول والثالث والخامس من الحفظ بالتبريد في النسبة المئوية للحركة الفردية؛ إذ بلغت (81.50، 78.00، 74.666%). وتفوق معنوي (P≤0.05) للمعاملة T2 وتركز 0.2غم/25مل واليوم الأول والثالث والخامس من الحفظ بالتبريد في النسبة المئوية للنطف الحية؛ إذ بلغت (81.333، 78.167، 75.50%). وتفوق معنوي (P≤0.05) للمعاملة T2 وتركز 0.2غم/25مل واليوم الأول والثالث والخامس من الحفظ بالتبريد في النسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي؛ إذ بلغت (76.333، 74.00، 72.00%). وتفوق معنوي (P≤0.05) للمعاملة T2 وتركز 0.2غم/25مل واليوم الأول والثالث والخامس من الحفظ بالتبريد في قيمة pH؛ إذ بلغت (6.67، 6.60، 6.00). وانخفاض معنوي (P≤0.05) للمعاملة T2 وتركز 0.2غم/25مل واليوم الأول والثالث والخامس من الحفظ بالتبريد في النسبة المئوية للنطف المشوهة؛ إذ بلغت (11.00، 11.333، 11.00%). يمكن الاستنتاج أنَّ إضافة فيتامين B_1 له دور إيجابي في تحسين صفات السائل المنوي المبرد لدى الماعز مما ينعكس إيجابا في رفع نسبة الخصوبة وتطوير إنتاجية قطعان الماعز وزيادة العائداتالاقتصاديةللمربين.

قائمة المحتويات

التسلسل	الموضوع	الصفحة
	المستخلص	أ- ب
الفصل الاول		
1	المقدمة	2-1
الفصل الثاني		
2	مراجعة المصادر Review of Literatures	19-3
1-2	الجذور الحرة Free radicals	3
1-1-2	اصناف الجذور الحرة	4-3
3-1-2	مصادر الجذور الحرة	5-4
3-1-2	أنواع الأوكسجين التفاعلي Reactive oxygen species (ROS)	5
4-1-2	وتأثير الجذور الحرة في الخلية	7-6
2-2	مضادات الاكسدة	7
1-2-2	انواع مضادات الاكسدة	8-7
2-2-2	آلية عمل مضادات الأكسدة	9
3-2	فيتامين B_1 (الثيامين):	9
1-3-2	مصادر انتاج فيتامين B_1	10
2-3-2	الدور البايولوجي لفيتامين B_1 في الجسم	11-10
3-3-2	تأثير إضافة فيتامين B_1 على حيوية السائل المنوي	12
4-2	فيتامين B_6 (البيريدوكسين)	12
1-4-2	مصادر انتاج فيتامين B_6	13
2-4-2	الدور البايولوجي لفيتامين B_6 (البيريدوكسين) في الجسم	14-13
3-4-2	تأثير إضافة فيتامين B_6 على حيوية السائل المنوي	15-14
5-2	فيتامين B_{12}	15
1-5-2	مصادر انتاج فيتامين B_{12}	16
2-5-2	الدور البيولوجي لفيتامين B_{12} (الكوبالامين) في الجسم	16
3-5-2	تأثير اضافة فيتامين B_{12} في حيوية السائل المنوي	17-16
6-2	تأثير التبريد في حيوية السائل المنوي	19-17

الفصل الثالث		
3	المواد وطرائق العمل Materials and Methods	26-20
1-3	حيوانات التجربة Experimental Animal	20
2-3	تصميم التجربة	20
3-3	تحضير مخفف ترس (Tris)	20
4-3	المجموعات التجريبية	21
5-3	جمع السائل المنوي	24
6-3	تقدير النسبة الأمثل لإضافة فيتامينات B	24
7-3	غسل وتحضير السائل المنوي	24
8-3	تقييم السائل المنوي	27-25
9-3	التحليل الإحصائي	27
الفصل الرابع		
4	النتائج والمناقشة Results and discussion	47-28
1-4	تأثير إضافة فيتامينات B_1 وB_6 وB_{12} الى مخفف ترس في بعض الصفات الحيوية للسائل المنوي.	31-28
2-4	تأثير مُدّات التبريد في بعض الصفات الحيوية للسائل المنوي	33-31
3-4	تأثير تركيز الفيتامين(غم/25مل مخفف) في بعض الصفات الحيوية للسائل المنوي	35-33
4-4	تأثير التداخل بين إضافة فيتامينات B_1 وB_6 وB_{12} ومدة الحفظ بالتبريد في بعض الصفات الحيوية للسائل المنوي لذكور الماعز	38-35
5-4	تأثير التداخل بين إضافة فيتامينات B_1 وB_6 وB_{12} الى مخفف ترس والتركيز في بعض الصفات الحيوية للسائل المنوي لذكور الماعز	40-38
6-4	تأثير التداخل بين مدة التبريد وتركيز الفيتامين في بعض الصفات الحيوية للسائل المنوي لذكور الماعز	43-40
7-4	تأثير التداخل بين كلاً من إضافة فيتامينات B_1 وB_6 وB_{12} مع مدد التبريد وتركيز الفيتامين في بعض الصفات الحيوية للسائل المنوي لذكور الماعز	47-43
الفصل الخامس		
5	الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendations	48

1-5	الاستنتاجات	48
2-5	التوصيات	48
	الفصل السادس	
6	المصادر References	67-49
	المصادر العربية	49
	References	67-50

قائمة الجداول

التسلسل	عنوان الجدول	الصفحة
1	مكونات مخفف الترس Tris في 100 مل ماء مقطر	21
2	المواد والأجهزة المستخدمة في التجربة	22
3	معايير الحركة الفردية للنطف	25
4	تأثير إضافة فيتامينات B_1 وB_6 وB_{12} الى مخفف ترس في بعض الصفات الحيوية للسائل المنوي لذكور الماعز	29
5	تأثير مُدّات التبريد في بعض الصفات الحيوية للسائل المنوي لذكور الماعز	32
6	تأثير تركيز الفيتامين (غم/25مل مخفف) في بعض الصفات الحيوية للسائل المنوي لذكور الماعز	34
7	تأثير التداخل بين إضافة فيتامينات B_1 وB_6 وB_{12} ومدة الحفظ بالتبريد في بعض الصفات الحيوية للسائل المنوي لذكور الماعز	37
8	تأثير التداخل بين إضافة فيتامينات B_1 وB_6 وB_{12} الى مخفف ترس والتركيز في بعض الصفات الحيوية للسائل المنوي لذكور الماعز	39
9	تأثير التداخل بين مدة التبريد وتركيزالفيتامين في بعض الصفات الحيوية للسائل المنوي لذكور الماعز	42
10	تأثير التداخل بين كلاً من إضافة فيتاميناتB_1وB_6وB_{12}مع مدد التبريد وتركيز الفيتامين في بعض الصفات الحيوية للسائل المنوي لذكور الماعز	45

قائمة الاشكال

التسلسل	عنوان الشكل	الصفحة
1	مضادات الاكسدة داخل الخلية	8
2	التركيب الكيميائي لفيتامين B_1	9
3	يوضح وظائف الثيامين .يعمل الثيامين كعامل مساعد للنشاط الإنزيمي لـ transketolase، α –ketoglutarate dehydrogenase ومركب dehydrogenase pyruvate.	11
4	التركيب الكيميائي لفيتامين B_6	12
5	التركيب الكيميائي لفيتامين B_{12}	15
6	تأثير الجذور الحرة على حركة النطف وسلامة الغشاء الأكروسومي والمادة الوراثية وموت الخلايا المبرمج	19
7	مخطط التجربة	23

قائمة الملاحق

التسلسل	عنوان الملحق	الصفحة
1	**متوسطات مربعات في جدول تحليل التباين لتأثير إضافة بعض فيتامينات B الى مخفف Tris ضمن** مُدات **مختلفة من الحفظ بالتبريد للسائل المنوي المبرد لذكور الماعز في النسبة المئوية للحركة الفردية والنطف الحية والميتة**	68
2	**متوسطات مربعات في جدول تحليل التباين لتأثير إضافة بعض فيتامينات B الى مخفف Tris ضمن مُدات مختلفة من الحفظ بالتبريد للسائل المنوي المبرد لذكور الماعز في النسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي وقيمة pH والنسبة المئوية لتشوهات النطف الكلية**	69
3	**متوسطات مربعات في جدول تحليل التباين لتأثير إضافة بعض فيتامينات B الى مخفف Tris ضمن** مُدات **مختلفة من الحفظ بالتبريد للسائل المنوي المبرد لذكور الماعز في النسبة المئوية للحركة الفردية والنطف الحية والميتة**	70
4	**متوسطات مربعات في جدول تحليل التباين لتأثير إضافة بعض فيتامينات B الى مخفف Tris ضمن** مُدات **مختلفة من الحفظ بالتبريد للسائل المنوي المبرد لذكور الماعز في النسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي وقيمة pH والنسبة المئوية لتشوهات النطف الكلية**	70

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

يعدُّ الماعز من حيوانات المزرعة المهمة اقتصاديا وله القدرة على تحمل الظروف البيئية الصعبة وقابليته على تناول المحاصيل رديئة النوعية، لذا فإنَّ تحسين أدائها التناسلي يعدُّ من الأمور الضرورية في زيادة الكفاءة الانتاجية لها وبالتالي زيادة أعدادها، وتكمن أهمية الماعز في إنتاجه من الحليب واللحوم والجلود يضاف الى ذلك إمكانية استخدام شعر الماعز في الصناعات النسيجية (عماشة وآخرون،2003). إن استخدام عمليات تبريد وتجميد للسائل المنوي شائعة الاستخدام لما توفره من فوائد إنتاجية كثيرة (Olivera وآخرون، 2013)، إلا إنَّ استخدام تقنيات التبريد تؤدي الى الحاق اضرار بالسائل المنوي منها موت النطف او تشوهها إذْ إنَّ أضرار العمليات الايضية وعمليات الأكسدة في النطف عند حفظ السائل المنوي يسبب أنتاج الجذور الحرة من جراء اكسدة الدهون والاحماض الدهنية التي تؤدي الى انخفاض حركة النطف وعدم قدرتها على الاخصاب (Amirat–Briand وآخرون،2009)، كما إنَّ النطف الميتة او المشوهة تعد من مصادر إنتاج الجذور الحرة Reactive oxygen species (ROS) المختلفة مثل جذر الهيدروكسيل (OH.) وجذر ايون سوبر أوكسايد (O_2^-)، ايضاً أنواع الاوكسجين التفاعلي مثل بيروكسيد الهيدروجين(H_2O_2) (Agarwalوآخرون،2008 ؛Tremellen ،2008 ؛ Bucak وآخرون ،2010 ؛ Bansal وBilaspuri ، 2011)، و التي تعمل على مهاجمة النطف مما يؤثر عليها وبالتالي حدوث اضرار وتشوهات فيها ومِنْ ثَمَّ موتها ، إنَّ انخفاض مضادات الاكسدة الطبيعية عند اجراء عمليات حفظ السائل المنوي تؤدي الى ارتفاع الجذور الحرة وموت النطف (Sikka 1996 ، Sikka ،2004) ، ولحل هذه المشاكل تم اضافة مواد مختلفة من المواد الحافظة الى مخففات السائل المنوي التي تعمل على حماية النطف من أضرار هذه الجذور الحرة وترفع من مدة حفظها وبالتالي زيادة الخصوبة. ولمعالجة ارتفاع هذه الجذور عن طريق رفع تراكيز مضادات الاكسدة عن طريق اضافتها الى مخففات السائل المنوي مثل بعض مضادات الاكسدة الغذائية كالفيتامينات A,E,C (محمد واخرون ،2018) او اضافة بعض مضادات الاكسدة الانزيمية مثل الكلوتاثيون و الكارنتين (عبد الكريم وآخرون ،2017). كما يتم اضافة فيتامين B_1 كمضاد اكسدة لمحاربه للجذور الحرة وكبح نشاطها من خلال تأثيره على منع تكوين أنواع الاوكسجين التفاعلي ROS وزيادة اعداد الجذور الحرة لأنه يعمل كمرافق انزيم (Co-Enzem) في ايض الكاربوهيدرات والدهون (Wooley ، 2008 ؛ Sica ،2007)، كما يعدُّ فيتامين B_1 عاملاً مؤكسداً قوياً للجذور الحرة .OH و.LOO في السائل

المنوي (Nga وQuang ،2019)، كما أن فيتامين B_6 هو من مضادات الاكسدة اذ يمنع تكوين بيروكسيد الدهون ويقلل من تأثير الاجهاد التأكسدي (Choi وcho ،2009)، إنَّ إضافة مستويات مختلفة من فيتامين B_6 أدى الى تحسين صفات السائل المنوي المبرّد في الماعز وحركة النطف والنطف الحية وتقليل النطف المشوهة وتقليل تركيز المالون ثنائي الالديهايد وخفض أعداد كريات الدم البيضاء في السائل المنوي (Daramola واخرون ،2017). كذلك فيتامين B_{12} له دور كبير في عملية تكوين النطف وتحسين نوعيتها (Boxmeer وآخرون ،2007)، و انخفاض كمية فيتامين B_{12} يؤدي الى انخفاض الخصوبة (Papadopoulou وآخرون ،2013) ولغرض بحث إمكانية تحسين حيوية السائل المنوي المبرد للماعز تم إضافة فيتامينات B_1 وB_6 وB_{12} كمضادات اكسدة غذائية الى مخفف ترس والمقارنة بينهما من حيث الفعالية ضمن مُدَّات حفظ مختلفة بالتبريد ومدى انعكاس ذلك في الصفات التالية:

1- النسبة المئوية للحركة الفردية.
2- النسبة المئوية للنطف الحية والنطف الميتة.
3- النسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي.
4- النسبة المئوية للنطف المشوهة.
5- الاس الهيدروجيني (pH) للسائل المنوي.
6- النسبة المئوية للتشوهات في النطف.

ومن الجدير بالذكر هنا ان اجراء مقارنة بين هذه المجموعة من فيتامينات B قيد الدراسة لم تمر علينا، عليه نعتقد انها الدراسة الأولى التي تطرقت الى هذه المقارنة ضمن مدد حفظ مختلفة بالتبريد.