

تأثير إضافة ممدد صفار بيض السمان الياباني في بعض مواصفات السائل المنوي لثيران الفريزيان بعد الحفظ بالتجميد

ياسين أحمد العريفي^{1*}



¹ قسم الإنتاج الحيواني، كلية الهندسة الزراعية، جامعة حماه، سورية.

(* للمراسلة: ياسين أحمد العريفي، البريد الإلكتروني: elarifi.yassein.ahmad@gmail.com)

تاريخ الاستلام: 2025 / 8 / 30 تاريخ القبول: 2025 / 9 / 29

الملخص

نفذ البحث في مركز الغزلانية للتلقيح الاصطناعي بريف دمشق، وذلك خلال الفترة من 2024/11/17 ولغاية 2025/5/18، بهدف معرفة تأثير استخدام صفار بيض طائر السمان الياباني في ممدد السائل المنوي المجمد لطلائق الفريزيان. استخدمت ستة ثيران بالغة من الفريزيان بأعمار تراوحت بين 3-4 سنوات، جُمعت عينات السائل المنوي من حيوانات التجربة مرة واحدة في الأسبوع باستخدام المهبل الصناعي. تم استخدام العينات التي أبدت حركة جماعية (<70%) فقط. حُطت عينات السائل المنوي مع بعضها وخُففت باستخدام مخفف ترس فركتوز. تم إضافة تراكيز مختلفة من صفار بيض السمان T3 (15%) و T2 (20%) واعتبرت النسبة T1 (20%) من صفار بيض الدجاج (مجموعة الشاهد). حُفظت عينات السائل المنوي داخل قشات (0.5 مل) بدرجة حرارة (-196 م°) لمدة زمنية مختلفة. تمت الإذابة على درجة حرارة (37 م°) في الأيام (1 - 30 - 90 - 180) بعد الحفظ بالتجميد حيث قُدِّر المؤشران التاليان في السائل المنوي وهما: النسبة المئوية للحركة الفردية والنسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي للنتف (HOS-T). أظهرت النتائج أن إضافة صفار بيض السمان بتركيز (15%) في المعاملة T3 أدت إلى ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في النسبة المئوية للحركة الفردية وكذلك في النسبة المئوية للنتف ذات الغشاء البلازمي السليم. كما أظهرت النتائج أن إضافة صفار بيض السمان بتركيز (20%) في المعاملة T2 أدت إلى انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في النسبة المئوية للحركة الفردية و سلامة الغشاء البلازمي للنتف بالمقارنة مع المعاملة T1 (20%) صفار بيض الدجاج (الشاهد) والمعاملة T3 (15%) صفار بيض السمان. أما بالنسبة لتأثير مدة الحفظ بالتجميد فقد بينت النتائج وجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في النسبة المئوية للحركة الفردية و سلامة الغشاء البلازمي للنتف في جميع المعاملات (T1 و T2 و T3) وذلك في اليوم 180 من الحفظ على درجة حرارة (-196 م°)، وكان الانخفاض في المؤشرات المدروسة أكثر في المعاملة T2 بالمقارنة مع المعاملتين (T1 و T3). يمكن الاستنتاج أن إضافة صفار بيض السمان بتركيز (15%) وكذلك إضافة صفار بيض الدجاج بتركيز (20%) كانت أفضل من إضافة صفار بيض السمان بتركيز (20%) في ممدد السائل المنوي المجمد لثيران الفريزيان أثناء الحفظ لمدة ستة أشهر.

الكلمات المفتاحية: بيض السمان، الممددات، ثيران الفريزيان، السائل المنوي المجمد.

المقدمة:

تعتبر عملية حفظ السائل المنوي بالتجميد من التقانات المهمة في نجاح عملية التلقيح الاصطناعي فهي تحافظ على حركة وحيوية و سلامة النطاف لسنوات عديدة تبدأ من سنة وتصل لعشرات السنين (Bahmid et al., 2023). لكن لا تزال هناك

مخاوف تتعلق في كيفية المحافظة على المواصفات الجيدة للسائل المنوي عند استخدام أنواع مختلفة من محاليل التمديد بما يضمن الحصول على نسب مرتفعة من الإخصاب (Pytlík et al., 2022)، وذلك للدور الكبير الذي تقوم به محاليل التمديد في المحافظة على حيوية النطاف وتزويدها بالطاقة وإطالة فترة تخزينها (سلهب وسلوم، 2010)، فهي تعمل على وقايتها من التأثيرات التي قد تسبب تغييرات في درجة الحموضة والضغط الإسموزي أثناء فترة الحفظ (العاني وآخرون، 2008). ومن الاختبارات الهامة للحكم على كفاءة النطاف وقدرتها على الإخصاب هي مؤشر حركة النطاف وسلامة الغشاء البلازمي (Kubovičová et al., 2011 ; Zeidan, 2004; Jeyendran et al., 1992). حيث تعتبر النسبة المئوية للحركة الفردية بعد التجميد والإذابة ($\geq 40\%$) جيدة ومناسبة للتلقيح في حين ترفض العينة إذا كانت الحركة الفردية $< 30\%$ (Bahmid et al., 2023)، أظهرت نتائج الدراسات أن إضافة صفار البيض لمحاليل تمديد السائل المنوي يعتبر خطوة مهمة لحماية النطف من صدمة البرودة خلال عمليتي التبريد والتجميد (Batellier et al., 2001; Shannon and Curson, 2000; De Leeuw et al., 1993). كذلك فإن إضافة الغليسيرول بنسبة (7%) له دور مهم في وقاية النطاف من صدمات البرد (Akhter et al., 2010; Su et al., 2008; Akhter et al., 2017)، ولقد ذكر العديد من الباحثين أن أفضل نسبة لصفار بيض الدجاج في مخففات السائل المنوي المجمد لطلائق الماشية هي (20%) لما حققته من نسب عالية في الحيوية والحركة بالإضافة لحماية للغشاء البلازمي والقلنسوة للنطف خلال فترات زمنية مختلفة من الحفظ بالتجميد (Zeidan et al., 2000; Singh et al., 2013; Akhter et al., 2017)، وحسب نتائج (Achi et al., 2017) أدت إضافة صفار بيض السمان في مخفف السائل المنوي لثيران الهجين (فريزيان × بوناجي) إلى تفوق في الحركة التقدمية للنطف مقارنة مع العينات التي أضيف لها صفار بيض الدجاج الغيني، كما أدت إضافة صفار بيض السمان إلى انخفاض في نسبة النطاف الشاذة والمشوهة مقارنة مع إضافة صفار بيض الرومي وذلك بعد التبريد والتخزين لمدة (72) ساعة. كذلك وجد (Swelum et al., 2022) أن إضافة صفار بيض السمان بنسبة (18%) إلى السائل المنوي المجمد للكباش قد حسّن مؤشرات السرعة وخفض من نسبة النطاف المشوهة والشاذة بعد الإذابة بالمقارنة مع نفس النسبة (18%) من صفار بيض الدجاج. في حين وجد (Singh et al., 2024) أن الحركة الفردية للنطف كانت أفضل عند إضافة صفار بيض السمان بنسبة 10% وذلك بالنسبة للسائل المنوي للثيران بعد التجميد والإذابة. تبلغ النسبة المئوية للصفار في بيض السمان (34.7%) في حين تبلغ (31.9%) في بيض الدجاج، وكذلك فإن النسبة المئوية للبروتين في بيض السمان حوالي (13.2%) أما في بيض الدجاج تقريباً (12.8%)، أما بالنسبة للدهن في بيض السمان (10.8%) وفي بيض الدجاج (11.5%) ويحتوي بيض السمان أيضاً على الفوسفوليبيدات والمعادن مثل (Fe و Zn) وعلى جميع الفيتامينات (مثل A و D و E، الخ) عدا فيتامين C (أبو العلا، 2005). ولقد ذكر (Bayomy et al., 2017) أن بيض السمان يحتوي نسب مرتفعة من الدهون ومن الكوليسترول وLDL وHDL كما أنه غني بالمعادن والفيتامينات ومضادات الأكسدة. وبالمقارنة مع بيض الدجاج وجد (Swelum et al., 2022) أن صفار بيض السمان يتفوق على صفار بيض الدجاج بمحتواه من الأحماض الدهنية المشبعة والأحادية غير المشبعة وبالتالي زيادة في (LDL و HDL)، بينما يمتلك صفار بيض الدجاج على نسبة أعلى من الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة.

يعتبر صفار البيض من المكونات الرئيسية لمخففات السائل المنوي فهو يقي من صدمة البرودة، وقد لوحظ وجود اختلاف بين بيوض الطيور في نسب المكونات الكيميائية، حيث يتمتع بيض السمان الياباني بمستوى عالي من العناصر المغذية، علاوة على

ذلك يتميز طائر السمان بنضج جنسي مبكر وبدورة إنتاجية قصيرة مقارنة مع الدجاج، وبالتالي من الممكن استخدامه صفار بيض السمان كبديل عن صفار بيض الدجاج في ممددات السائل المنوي لثيران الماشية. لهذا كان الهدف من البحث التعرف على أهمية استخدام صفار بيض طائر السمان الياباني في ممدد السائل المنوي المجمد لطلائق الفريزيان وذلك من خلال:

1. استخدام نسب مختلفة من صفار بيض طائر السمان الياباني (15 و20%) في ممدد السائل المنوي لثيران الفريزيان أثناء الحفظ بالتجميد لمدد زمنية مختلفة (1- 30 - 90 - 180) يوم.
2. تقدير النسبة المئوية لكل من الحركة الفردية وسلامة الغشاء البلازمي للنطاف بعد التجميد والإذابة.

مواد البحث وطرقه:

1- الموقع وحيوانات التجربة: أجريت هذه الدراسة في مركز الغزلانية للتلقيح الاصطناعي بريف دمشق، التابع لمديرية الإنتاج الحيواني في وزارة الزراعة، وذلك باستعمال ستة ثيران من سلالة الفريزيان بأعمار تراوحت بين 3-4 سنوات وذلك خلال الفترة من 2024/11/17 ولغاية 2025/5/18.

2- جمع وتخفيف و تجميد السائل المنوي لثيران الفريزيان:

- تم جمع السائل المنوي باستخدام المهبل الاصطناعي وبواقع قذفة واحدة لكل ثور اسبوعياً، ثم جرى تقييم للسائل المنوي من حيث حركة النطف واستخدمت فقط العينات ذات الحركة الجماعية (>70%)، بعدها تم تجميع عينات السائل المنوي عينة واحدة (pooled semen) بغرض إزالة الفروق الفردية بين الثيران. بعد عملية الجمع تم تقسيم السائل المنوي الى ثلاث معاملات وذلك باستخدام مخفف ترس فركتوز وإضافة تراكيز مختلفة من صفار بيض السمان T3(15%) و T2(20%)، حيث تم الحصول على بيض السمان من مزرعة خاصة لأحد مربّي السمان في محافظة حماة، واعتبرت النسبة T1(20%) من صفار بيض الدجاج (مجموعة الشاهد). ثم حفظت عينات السائل المنوي المخفف في النتروجين السائل بدرجة حرارة (196-°م) لمدد زمنية مختلفة (1- 30 - 90 - 180) يوم.

- الخطوات التفصيلية للعمل:

1. قبل عملية جمع السائل المنوي تم تخضير مخفف الترس فركتوز - صفار البيض المكون من (ترس 2.4 غ/100 ميللتر - حمض الليمون 1.4 غ/100 ميللتر - سكر الفركتوز 1 غ/100 مللتر - مضاد حيوي مكون من: جنتاميسين 50 ملغ/100 مللتر، ستربتومايسين 60 ملغ/100 ميللتر، تايلوزين 10 ملغ/100 مللتر، لينكوماميسين 30 ملغ/100 مللتر) بالإضافة الى صفار البيض الذي يعد من المكونات الأساسية لمحاليل التمديد حيث تم تحضير ثلاث مخففات وفقاً لنسب إضافة صفار البيض، (15 و20%) من صفار بيض السمان و (20%) من صفار بيض الدجاج بحيث يكون الباهاء (PH=7)، ثم وضعت المخففات في الحمام المائي بدرجة حرارة (37°م).

2. بعد جمع عينات السائل المنوي من ثيران التجربة تم وضعها في الحمام المائي وفُحصت من أجل تحديد الحركة الجماعية (>70%) وذلك بأخذ قطرة صغيرة (10 مايكرو لتر) من كل عينة قبل التخفيف، ووضعها على شريحة زجاجية نظيفة مع ضبط درجة حرارة الشريحة على 37 °م ثم فحصها تحت المجهر الضوئي بقوة تكبير (10×)، حيث تم تقدير الحركة الكلية على أساس

- سرعة وحركة الأمواج وكثافتها وذلك بوضع درجات من (0-5). بعد ذلك جمعت عينات السائل المنوي مع بعضها في عينة واحدة (Pooling) ووضعت في الحمام المائي (37°م) وقسمت الى ثلاثة أقسام متساوية أضيف إليها مخفف Tris فركتوز - صفار البيض والذي يحوي تراكيز مختلفة من صفار البيض للحصول على نسبة تمديد (1 سائل منوي: 20 مخفف).
3. تمت عملية التمديد على مرحلتين: المرحلة الأولى قسم فيها المحلول المخفف الى قسمين (A) و (B) تم وضعهما حمام مائي على درجة حرارة (37°م)، أضيفت عينة السائل المنوي الى المخفف الأول (A) (1 سائل منوي: 10 مخفف) وأضيف إليها الغليسيرول بنسبة (3%)، أما المخفف الثاني B فقد أضيف اليه الغليسيرول بنسبة (11%) وتمت تغطيته بقطعة من القصدير وضع في الثلجة على درجة (5°م) وترك لحين استكمال عملية التخفيف النهائية. كذلك بالنسبة للمخفف A بعد الانتهاء من إضافة كل من السائل المنوي والغليسيرول تمت التغطية بقطعة من القصدير ثم نقل الى الثلجة، حيث وضع كل قسم من المخففين (A و B) في بيكر (500 ملتر) يحوي ماء بدرجة حرارة (30°م)، ثم وضعا في أسفل الثلجة وبعد مضي ساعتين حصل التوازن ووصلت درجة الحرارة (5°م).
4. المرحلة الثانية (1 سائل منوي: 20 مخفف) تم إجراؤها بعد الوصول الى حالة التوازن والاستقرار عند الدرجة (5°م) حيث تم إضافة المخفف B الى المخفف A بشكل تدريجي للحصول على النسب المطلوبة من التخفيف والغليسيرول (7%). بعد التخفيف وضعت العينات في قشاش سعتها (0.5 مل) حيث تمت عملية التعبئة والإغلاق بشكل آلي، ثم نقلت الى للثلجة للتبريد لمدة ساعتين، بعدها تم وضع القشاش لمدة 10 دقائق على حوامل معدنية على ارتفاع 4 سم عن حوض السائل الأزوتي لتعرضها للبخار المنطلق بدرجة حرارة (-120°م)، أخيراً تم غمس القشاش في السائل الأزوتي (-196°م) وحفظت داخل ترمس التلقيح لحين فحص العينات، حيث تم تقدير المؤشرات المدروسة من خلال فحوصات مخبرية خلال مدد زمنية مختلفة من الحفظ (يوم ، شهر، ثلاثة أشهر، ستة أشهر)، وذلك بإذابة القشاش على درجة حرارة (37°م) ثم بأخذ قطرة من السائل المنوي المخفف ووضعها على شريحة زجاجية تحت المجهر .

3- المؤشرات المدروسة:

- تضمنت هذه المؤشرات تقدير النسبة المئوية لكل من الحركة الفردية وسلامة الغشاء البلازمي للنطف: حيث استخدمت طريقة Walton (1933) لحساب النسبة المئوية للحركة الفردية وذلك بأخذ قطرة صغيرة (10 مايكرو لتر) من عينة السائل المنوي بعد الإذابة، ووضعها على شريحة زجاجية نظيفة مع ضبط درجة حرارة الشريحة على 37°م ثم وضع غطاء من شريحة ساترة، بعدها تفحص العينة تحت المجهر الضوئي وذلك تحت العدسة ذات قوة التكبير (400×) حيث يتم حساب 200 نطفة في حقول مختلفة من الشريحة، ثم تقدر النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية الأمامية كما يلي:

$$\text{الحركة الفردية (\%)} = 100 \times \frac{\text{عدد النطف ذات الحركة التقدمية الأمامية}}{\text{العدد الكلي للنطف (200)}}$$

- في حين تم حساب النسبة المئوية للنطف ذات الغشاء البلازمي السليم باستخدام اختبار الاستجابة لانخفاض الضغط الاسموزي (HOST) Hypoosmotic Swelling Test، وذلك حسب طريقة (Jeyendran et al. 1984) حيث أخذت قطرة صغيرة (10 مايكرو لتر) من السائل المنوي بعد الإذابة، ووضعها في انبوبة اختبار ثم أضيف إليها محلول Hypo- osmotic solution test منخفض الضغط الاسموزي (100 ملي اسمول/لتر) مكون من (فركتوز 8.72

غ/لتر-سترات الصوديوم 4.74 غ/لتر)، وكانت قيمة الباهاء PH (8.0)، ثم نقلت الأنبوبة ووضعت في حمام مائي لمدة 60 دقيقة على درجة حرارة 37°م، بعدها تم أخذ قطرة من انبوبة الاختبار ووضعت على شريحة زجاجية مدفأة (37°م) وتم تغطيتها بساترة زجاجية وفحصت تحت المجهر الضوئي على قوة تكبير (400×) حيث تم حساب 200 نطفة في حقول مختلفة من الشريحة، ثم حسبت النسبة المئوية للنطف السليمة الغشاء البلازمي (تعد النطاف المنتفخة والملتقة الذيل سليمة الغشاء البلازمي) كما يلي:

$$\text{النطف سليمة الغشاء البلازمي (\%)} = \frac{\text{عدد النطف السليمة الغشاء}}{\text{العدد الكلي للنطف (200)}} \times 100$$

4-التحليل الإحصائي:

خضعت جميع النتائج إلى النموذج الخطي العام (GLM) باستخدام البرنامج الإحصائي (SAS, 2012)، حيث تم التحليل الإحصائي للمؤشرات المدروسة باستخدام تحليل التباين وفق التصميم العشوائي التام، كما تم استخدام اختبار Duncan لاختبار معنوية الفروقات بين المتوسطات (Duncan, 1985) عند مستوى معنوية ($P < 0.05$).

وفق النموذج الخطي التالي: $Y_{ijl} = \mu + E_i + T_j + (E * T)_{ij} + e_{ijl}$

حيث: Y_{ijl} : قيم المؤشرات للصفات المدروسة. μ : المتوسط العام للصفة المدروسة.

E_i : تأثير نسبة صفار البيض، i (20% دجاج، 15% سمان، 20% سمان)

T_j : تأثير فترة الحفظ بالتجميد، j (1, 30, 90, 180) يوم.

$(E * T)_{ij}$: تأثير التداخل بين نسبة صفار البيض (20% دجاج، 15% سمان، 20% سمان) (i)، وفترة الحفظ بالتجميد (1, 30, 90, 180) يوم (j).

e_{ijl} = الخطأ العشوائي الذي يتوزع طبيعياً بمتوسط يساوي صفر وتباين قدره σ^2_e .

النتائج والمناقشة:

أولاً: النسبة المئوية للحركة الفردية للنطف:

بينت النتائج في الجدول (1) وجود تأثير كبير لنوع المخفف في الحركة الفردية لنطف ثيران الفريزيان بعد الحفظ بالتجميد على درجة حرارة (196-°م) لمدة (1-30-90-180) يوم، حيث وُجد أن إضافة صفار بيض السمان في ممدد السائل المنوي المجمد بتركيز (15%) في المعاملة T3 أدى إلى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في النسبة المئوية للحركة التقدمية الأمامية للنطف حيث بلغت (51.06±1.05)%. بينما أدت إضافة صفار بيض السمان في المعاملة T2 بتركيز (20%) إلى انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في النسبة المئوية للحركة التقدمية الفردية للنطف حيث بلغت (39.20±1.38)%. في حين لم يلاحظ وجود فروق معنوية ($p > 0.05$) بين المعاملة T3 و معاملة الشاهد T1 (20%) صفار بيض الدجاج حيث كانت الحركة الفردية في معاملة الشاهد (49.69±1.91)%.

الجدول (1): النسبة المئوية للحركة الفردية لنطاف ثيران الفريزيان تحت تأثير تراكيز مختلفة من صفار بيض السمان الياباني بعد الحفظ بالتجميد (المتوسطات \pm الخطأ القياسي).

المتوسط العام	نسبة صفار البيض المضافة (%)			فترة التخزين
	15 % سمان	20 % سمان	20% دجاج	(يوم)
54.32 ^a \pm 1.25	59.41 \pm 1.28	45.61 \pm 1.36	57.94 \pm 1.75	1
49.44 ^b \pm 1.55	52.48 \pm 1.25	44.87 \pm 1.22	50.96 \pm 1.28	30
44.22 ^c \pm 1.22	47.21 \pm 1.12	39.41 \pm 1.14	46.05 \pm 1.91	90
38.61 ^d \pm 1.19	45.14 \pm 1.15	26.90 \pm 1.39	43.80 \pm 1.84	180
	51.06 ^a \pm 1.05	39.20 ^b \pm 1.38	49.69 ^a \pm 1.91	المتوسط العام

المتوسطات ذات الحروف المختلفة ضمن السطر الواحد أو العمود الواحد مختلفة معنوياً ($P < 0.05$)

ربما يعود سبب وجود ارتفاع معنوي في النسبة المئوية للحركة الفردية للنطف عند إضافة صفار بيض السمان بتركيز (15%) كون هذه النسبة مناسبة للتخفيف والحفظ على درجة حرارة (196-م°). وهذا يتفق مع ما ذكرته نتائج الدراسات أن إضافة صفار البيض لمحاليل تمديد السائل المنوي يعتبر خطوة مهمة لحماية النطف من صدمة البرودة خلال عمليتي التبريد والتجميد (Batellier et al.,2001; Shannon and Curson,2000; De Leeuw et al.,1993).

أما بالنسبة لتأثير مدة الحفظ فقد وضحت النتائج في الجدول (1) وجود انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في النسبة المئوية للحركة الفردية للنطف في جميع المعاملات (T1 و T2 و T3) وذلك ابتداءً من الشهر الأول ولغاية الشهر السادس من الحفظ على درجة حرارة (196-م°). ولقد وجد أن الانخفاض في النسبة المئوية للحركة الفردية للنطف كان أكثر في اليوم 180 في جميع المعاملات وبشكل خاص في المعاملة T2 (20%) صفار بيض السمان. وربما يرجع ذلك كما ذكر (سلهب وسلوم، 2010) لوجود دور كبير لمحاليل التمديد في المحافظة على حيوية النطاف. وعلى الأرجح فإن الانخفاض في الحركة الفردية للنطف ربما يعود لانخفاض محتوى النطاف من جزيئات ATP وعدم قدرتها على إعادة إنتاج الطاقة (Mann and Lutwak-Mann, 1981)، حيث أن جزيئات ATP هي المصدر الرئيسي للطاقة المحركة لذيل النطاف وبالتالي دفع النطاف بحركة تقدمية للأمام (Bhattacharyya and Pakrashi,1993).

ثانياً: النسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي للنطف:

أظهرت النتائج في الجدول (2) وجود تأثير كبير لنوع المخفف في سلامة الغشاء البلازمي لنطف ثيران الفريزيان بعد الحفظ بالتجميد على درجة حرارة (196-م°) لمدة (1-30-90-180) يوم، حيث وجد أن إضافة صفار بيض السمان في ممدد السائل المنوي المجمد بتركيز (15%) في المعاملة T3 أدت إلى ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في النسبة المئوية للنطاف ذات الغشاء البلازمي السليم حيث بلغت (78.54 \pm 1.05) % وذلك بالمقارنة مع معاملة الشاهد T1 (20%) صفار بيض الدجاج (74.54 \pm 1.91) %. بينما أدت إضافة صفار بيض السمان في المعاملة T2 بتركيز (20%) إلى انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في النسبة المئوية للنطف سليمة الغشاء البلازمي حيث بلغت (65.50 \pm 1.38) % وذلك بالمقارنة مع المعاملتين T3 (15%) و T1 (20%).

الجدول (2): النسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي لنطاف ثيران الفريزيان تحت تأثير تراكيز مختلفة من صفار بيض السمان الياباني بعد الحفظ بالتجميد (المتوسطات \pm الخطأ القياسي).

المتوسط العام	نسبة صفار البيض المضافة (%)			فترة التخزين
	15 % سمان	20 % سمان	20% دجاج	(يوم)
78.37 ^a ±1.25	82.71±1.28	72.83±1.36	79.58±1.75	1
74.52 ^b ±1.55	80.99±1.25	65.24±1.22	77.34±1.28	30
70.78 ^c ±1.22	76.11±1.12	63.80±1.14	72.42 ±1.91	90
67.76 ^d ±1.19	74.33±1.15	60.14±1.39	68.81±1.84	180
	78.54 ^a ±1.05	65.50 ^c ±1.38	74.54 ^b ±1.91	المتوسط العام

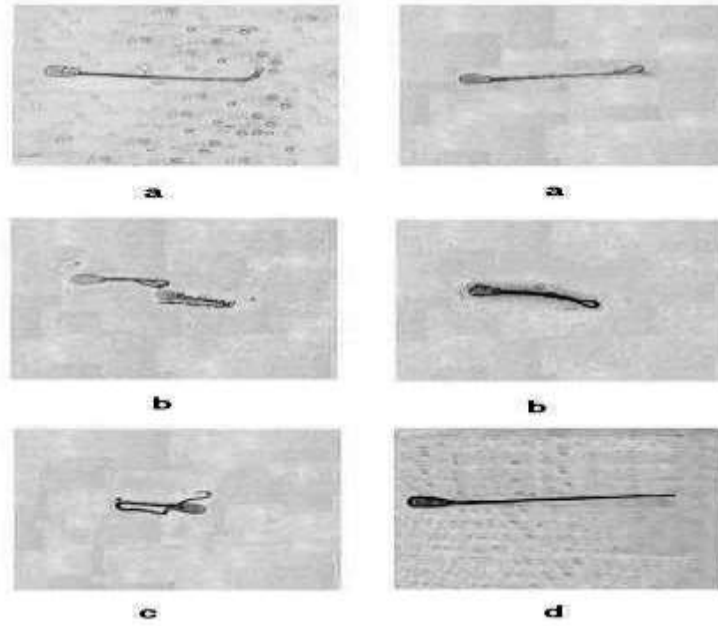
المتوسطات ذات الحروف المختلفة ضمن السطر الواحد أو العمود الواحد مختلفة معنوياً ($P<0.05$)

من الممكن أن سبب الارتفاع المعنوي في النسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي عند إضافة صفار بيض السمان بتركيز (15%) يرجع إلى أن هذا التركيز من صفار البيض مناسب للتخفيف والحفظ على درجة حرارة (196-م°). وهذا يتفق مع ما ذكره (Lahnsteiner et al., 2002) يشترط بمحالييل التمديد المستخدمة أن تحافظ على الغشاء الخلوي للنطف وأن تزودها بالطاقة اللازمة. فهي تعمل على وقايتها من التأثيرات التي قد تسبب تغييرات في درجة الحموضة والضغط الأسموزي أثناء فترة الحفظ (العاني وآخرون، 2008). بالإضافة للدور المهم لمكونات صفار البيض في حماية الغشاء البلازمي للنطاف، مثل فيتامين E والفوسفوليبيدات (أبو العلاء، 2005)، وكذلك المحتوى المرتفع من LDL في بيض السمان (Swelum et al., 2022)، أيضاً فإن إضافة الغليسيرول إلى المخففات قبل التجميد تعمل على وقاية النطاف من صدمات البرد (Akhter et al., 2017 ; Akhter et al., 2010 ; Su et al., 2008).

أما بالنسبة لتأثير مدة الحفظ فقد بينت النتائج في الجدول (2) وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في النسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي للنطف في جميع المعاملات (T1 و T2 و T3) وذلك ابتداءً من الشهر الأول ولغاية الشهر السادس من الحفظ على درجة حرارة (196-م°). وكذلك وجد أن الانخفاض في النسبة المئوية للنطف ذات الغشاء البلازمي السليم كان أكثر في اليوم

180 في جميع المعاملات وبشكل خاص في المعاملة T2 (20%) صفار بيض السمان وكما ذكرت الدراسات السابقة فإن مؤشر حركة النطاف و سلامة الغشاء البلازمي يعتبر من الاختبارات الهامة للحكم على كفاءة النطاف وقدرتها على الإخصاب (Kubovičová et al., 2011 ; Jeyendran et al., 1992). وربما يعود سبب انخفاض عدد الحيوانات المنوية ذات الغشاء البلازمي السليم في وسط منخفض الضغط الأسموزي لوجود خلل أو مشكلة في الغشاء البلازمي. أو ربما يعود لعدم ملائمة المحلول المستخدم في التمديد في المحافظة على سلامة الغشاء البلازمي للنطف أثناء الحفظ والتخزين وهذا يتفق مع ما ذكره كل من (1999) Moussa و (2004) Zeidan.

ويوضح الشكل (1) سلامة الغشاء البلازمي للنطاف بعد التجميد والإذابة.



الشكل (1): تأثير الضغط المنخفض HOS-t على النطاف الحية بعد الحفظ بالتجميد والإذابة: (a) نطاف سليمة في بداية الاستجابة - (b) نطاف سليمة في مرحلة متوسطة من الاستجابة - (c) نطاف سليمة في قمة الاستجابة - (d): نطاف بدون استجابة أي غير سليمة الغشاء البلازمي. قوة تكبير (1000×)

الاستنتاجات:

- دلت الدراسة على عدم وجود فروق معنوية ($p > 0.05$) في النسبة المئوية للحركة الفردية بين المعاملة T3 (15%) صفار ببيض السمان والمعاملة T1 (20%) صفار ببيض الدجاج (الشاهد). في حين كانت الفروق معنوية ($P < 0.05$) بالنسبة لسلامة الغشاء البلازمي للنطف بين المعاملة T3 والمعاملة T1 وذلك خلال فترة الحفظ بالتجميد لمدة ستة أشهر.
- تبين بعد الحفظ بالتجميد أن هناك انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في النسبة المئوية للحركة الفردية وسلامة الغشاء البلازمي للنطف في المعاملة T2 (20%) صفار ببيض السمان بالمقارنة مع المعاملتين T1 (20%) و T2 (15%).
- تم التوصل إلى أن إضافة صفار ببيض طائر السمان الياباني بتركيز (15%) في مخفف السائل المنوي لثيران الفريزيان، حقق نتائج جيدة في الحركة الفردية وسلامة الغشاء البلازمي للنطاف بعد الحفظ بالتجميد لمدة ستة أشهر.

التوصيات:

- إضافة صفار ببيض السمان بتركيز (15%) أو إضافة صفار ببيض الدجاج بتركيز (20%) إلى مخففات السائل المنوي لثيران الفريزيان أثناء فترة الحفظ بالتجميد لمدة ستة أشهر.
- إجراء المزيد من الأبحاث عن تأثير استخدام صفار ببيض السمان الياباني في ممددات السائل المنوي المجمد لدى أنواع أخرى من ذكور حيوانات المزرعة.

الشكر: أتقدم بخالص الشكر والتقدير الى إدارة مركز الغزلانية للتلقيح الاصطناعي بريف دمشق، والى جميع العاملين في المركز وذلك لدعمهم اللامحدود وتعاونهم الذي كان له دور أساسي في إنجاح هذا البحث.

المراجع:

- أبو العلا، صلاح الدين (2005): السمان. كلية الزراعة، جامعة الزقازيق _ مصر.
- العاني، أحمد ومحمد إسحاق وعبد الرزاق الراوي وطلال عبد الكريم (2008). السلوك الجنسي وصفات السائل المنوي للعجول متباينة القدرات الوراثية لإنتاج الحليب. المجلة الأردنية في العلوم الزراعية، المجلد (4)، العدد (1).
- سلهب، سليمان وسلوم عبيد (2010). فيزيولوجيا التناسل في الحيوانات الزراعية. الجزء العملي _ جامعة دمشق.
- Achi, J.N.; P.P. Barje; N.P. Rekwot; N.P. Achi; and C. Alphonsus (2017). Effect of four different avian egg yolks tir- sodium citrate extender on storage time of Friesian x bunaji semen characteristic. *Journal of Animal Production Research*, 29 (1) ;31-40.
- Akhter, S.; B.A. Rakha; S.M.H. Andrabi; and M.S. Ansari (2010). Comparison of egg yolks from three avian species in extender for cryopreservation of Sahiwal bull epididymal spermatozoa. *Animal Science Papers and Reports*, 29 (2); 131-138.
- Akhter, S.; B.A. Rakha; M.S. Ansari; A.U. Husna; S. Iqbal; and M. Khalid (2017). Evaluation of quail and turkey egg yolk for cryopreservation of Nili-Ravi buffalo bull semen. *Theriogenology*, 87: 259–265
- Bahmid, N.A.; N.W.K. Karja; and R.L. Arifiantini (2023). The quality of frozen Friesian Holstein semen after long-term storage. *Tropical Animal Science Journal*, 46 (1);13-19.
- Batellier F.; M. Vidament; J. Fauquant; G. Duchamp; G. Arnaud; J.M. Yvon; and M. Magistrini (2001). Advances in cooled semen technology. *Animal Reproduction Science*; 68:181–190.
- Bayomy, H.M.; M.A. Rozan; and G.M. Mohammed (2017). Nutritional Composition of Quail Meatballs and Quail Pickled Eggs. *Journal of Nutrition and Food Sciences*. 7(2) ;1-5.
- Bhattacharyya, A.; and A. Pakrashi (1993). Specificity of ATP for initiation of flagellar motility of hamster sperm. *Archive of Andrology*, 31: 159-165.
- De Leeuw, F. E.; A. M. De Leeuw; J. H. Den Daas; B. Colenbrander; and A. J. Verkleij (1993). Effects of various cryoprotective agents and membranestabilizing compounds on bull sperm membrane integrity after cooling and freezing. *Cryobiology*, 30:32-44.
- Jeyendran, R. S.; H. H. Vander van; M. Perez-Pelaez.; B. G. Crabo; and L. J. D. Zaneveld (1984). Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *Journal of Reproduction and Fertility* 70, 219- 228.
- Jeyendran, R.S.; H.H. Vander Ven; and L.J.D. Zaneveld (1992). The hypoosmotic swelling test: an update. *International Journal of Andrology* 29: 105-116.
- Kubovičová, E.; A. V. Makarevich¹; E. Špaleková; and Z. Hegedušová (2011). Motility and fertilizing ability of frozen-thawed ram sperm from two sheep breeds. *Slovak. Journal of Animal Science*, 44 (4): 134-139.
- Lahnsteiner, F.; N. Mansour; and T. Weismann (2002). Cryopreservation of spermatozoa of the burbot, *Lota lota* (Gadidae, Teleostei). *Cryobiology*, 45:195–.302.

- Mann, T.; and C. Lutwak-Mann (1981). Male Reproductive Function and Semen. Springer- Verlag, New York, pp 264.
- Moussa, I.A. (1999). Evaluation of Nagdi ram's spermatozoa using hypo-osmotic test. Zagazig Veterinary Journal, 27: 26-33.
- Pytlík, J.; F.G. Savvulidi; J. Duchacek; R. Codi; M. Vrhel; S. Nagy; and L. Stadnik (2022). Effect of extender on the quality and incubation resilience of cryopreserved Holstein bull semen. Czech Journal of Animal Science, 67(3):75-86.
- SAS (2012). SAS User's guide for personal computers, SAS Institute Inc., Cary, NC., USA.
- Singh, G.; A. Saxena; N. Chaudhary; A. Kumar; V. Sachan; A. Kumar; and J.K. Agrawal (2024). Effect of Quail egg yolk in Tris based extender on cryopreservation of Sahiwal bull spermatozoa. Indian Journal of Animal Reproduction, 45(2); 36-38.
- Singh, M.; S. Ramteke; S.K. Ghosh; J.K. Prasad; and J.S. Rajoriya (2013). Efficacy of egg yolk from three avian species on semen friability of Tharparkar Bull. Indian Journal of Animal Reproduction 34 (2);25-28.
- Su, L.; X. Li; J. Quan; S. Yang; Y. Li; X. He; and X. Tang (2008). A comparison of the protective action of added egg yolks from five avian species to the cryopreservation of bull sperm. Animal Reproduction Science, 104;212–219.
- Swelum, A.A.; H.A. Ba-Awadh; I.O. Olarinre; I.M. Saadeldin; and A.N. Alowaimer (2022). Effects of adding mixed chicken and quail egg yolks to the cryodiluent on the quality of ram semen before and after cryopreservation. Journal of Veterinary Science (9);1-13.
- Shannon, P.; and B. Curson (2000). Effect of egg yolk levels on the fertility of diluted bovine sperm stored at ambient temperatures. New Zealand Journal of Agriculture Research, 26: 187-189.
- Walton, A. (1933). Technique of Artificial Insemination .MP. Bur. Anim. Genet, 56, Iiius – Edinburgh.
- Zeidan, A.E.B. (2004). Evaluation of the functional integrity of frozen thawed bovine spermatozoa membrane using hypoosmotic swelling test in relation to different packaging methods. Proc. 3rd Inter. Conf. Anim. Poultry and Fish Prod. and Health in Semi- Arid Areas, 7-9 Sept., 2004, El- Arish, North Sinai, Egypt, pp 138 - 150.
- Zeidan, A.E.B.; G. Absy; A.A. El-Darawany; and F.E. El-Keraby (2000). Freezability, acrosome status, enzymatic activities and conception rate for frozen-bull spermatozoa using different packaging methods. Zagazig Veterinary Journal 28: 68-77.

The effect of adding Japanese quail egg yolk extender on some semen characteristics of Friesian bulls after freeze preservation

Yassein Ahmad El-Arifi ^{1*}

¹Department of Animal Production, Faculty of Agricultural, Hama University, Syria.



(*Corresponding author: Yassein Ahmad El-Arifi, Email: elarifi.yassein.ahmad@gmail.com)

Received: 30/ 8/ 2025 Accepted: 29/ 9/ 2025

Abstract

The experiment was conducted at the Al-Ghazlaniyah Artificial Insemination Center in the Damascus countryside during the period from 17\11\2024 to 18\5\2025. The aim of this study was to investigate the effect of utilization of the Japanese quail egg yolk in frozen semen extender of Friesian bulls. Sixth mature Friesian bulls between 3-4 years old were used; semen samples were collected once a week using an artificial vagina. Immediately after semen collection, semen samples were evaluated and only the ejaculates that showed total motility (> 70 %) were used. The semen samples were pooled and diluted using Tris-fructose extender. Different concentrations of the Japanese quail egg-yolk (QEY), T2 (20%) and T3 (15%) were added, and the T1 (20%) concentration of chicken egg-yolk (CEY) was considered as the (control group). Semen samples were kept inside straws (0.5ml) at a temperature of (-196°C). for different periods of time. After freezing in days 1,30,90 and 180, the semen samples were incubated at (37°C) after thawing and some semen indicators were determined namely of (individual motility and sperm membrane integrity HOS-T). The results showed that using Japanese quail egg-yolk at a concentration of (15%) T3 led to a significant increase (P<0.05) in the percentage of individual motility and the percentage of sperm with an intact plasma membrane. Also, the results showed that using Japanese quail egg-yolk at a concentration of (20%) T2 led to significant decrease (P<0.05) the percentage of individual motility and the percentage of sperm with an intact plasma membrane compared to with T3 QEY and control treatment T1 (20%) chicken egg-yolk (CEY). As for the effect of the freezing period, the results showed a significant decrease (P<0.05) in the percentage of individual motility and sperm membrane integrity in all treatments (T1, T2, T3) on the 180 days of storage at (-196°C). The decrease in the studied indicators was greater in treatment (T2) QEY as compared to (T1) CEY and (T2) QEY. It could be concluded that adding QEY at a concentration of (15%) and adding CEY at a concentration of (20%) was better than adding QEY at a concentration of (20%) in the frozen semen extender of Friesian bulls during storage up to 6 months.

Keywords: Quail egg, extenders, Friesian bulls, frozen semen.