مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (40) العدد (5) 2018
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (40) No. (5) 2018

تأثير إضافة فيتامين E والسيلينوم ودرجة الحفظ (4 م^0) على حركية وحيوية نطاف الديك البلدي

د. زهير جبور*
د. محسن حميشة**
نهال أحمد ملحم***

(تاريخ الإيداع 28 / 5 / 2018. قبل للنشر في 25 / 9 / 2018)

□ ملخّص □

أجري هذا البحث بهدف دراسة تأثير إضافة فيتامين E والسيلينوم على حركية وحيوية الحيوانات المنوية للديك السوري عند الحفظ على الدرجة +4 م^0 لمدة 24 و48 ساعة.

أظهرت النتائج أن إضافة فيتامين E، وفيتامين E مع السيلينوم حسنت حيوية الحيوانات المنوية وحركتها، لكن الحركة الاهتزازية انخفضت خلال 24 و48 ساعة. كما أظهرت النتائج أن التركيز (5ملغ E +0.6 ملغ Se)، أعطى أعلى قيمة لحيوية الحيوانات المنوية وحركتها السريعة والبطيئة، إذ بلغت هذه الزيادة (17.79%)، (10.65 %)، (8.28%) خلال 24 ساعة على التوالي، و (19.29%)، (10.06%)، (10.37%) خلال 48 ساعة على التوالي، في حين أن التركيز (10ملغ E +0.6 Se) أعطى أدنى قيم للمؤشرات التي تم ذكرها، بينما أعطى التركيز الأول أدنى القيم والثاني أعلى القيم للحركة الاهتزازية. أظهر التحليل الاحصائي اختلافاً كبيراً بين المؤشرات المدروسة (P<0.001).

الكلمات المفتاحية: ديك بلدي، سائل منوي، فيتامين E، السيلينوم، حيوية النطاف، حركة النطاف.

* أستاذ مساعد، قسم الإنتاج الحيواني، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سوريا.
** أستاذ، قسم الإنتاج الحيواني، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سوريا.
*** طالبة دراسات عليا (ماجستير)، قسم الإنتاج الحيواني، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سوريا.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (40) العدد (5) 2018
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (40) No. (5) 2018

Effect of addittion Vitamin E and Selenium and conservation degree ($4c^0$) on motility and viability of local rooster sperm

Dr. Zuhair Jabbour*
Dr. Mohsen Hamishi**
Nehal Ahmed Melhem***

(Received 28 / 5 / 2018. Accepted 25 / 9 /2018)

□ ABSTRACT □

In this study are evaluated the effects of addition of vitamin E and Selenium on the sperm motility and vitality of Syrian rooster, at storing at 4 C^0 for 24 and 48 hours. The Results showed that the addition of both vitamin E and E with Selenium improved the sperm vitality and movement, but the vibration movement was decreased during 24 and 48 hours. Our results also showed that the concentration of (5mg E+0.6mg Se) gave the highest value of sperm vitality, rapid and slow movement with 17.79%, 10.65%, 8. 28% respectively for 24 hours, and 19.29%, 10.06% 10.37% respectively for 48 hours. Whereas the concentration of (10 mgE+0.6 Se) gave the lowest values of mentionned parameters. Contrarily, the first concentration gave the lowest and the second the highest values of the vibration movement. Finally, the statistical analysis ($p<0.001$) showed a significant difference between studied parameters.

Key word: Local rooster, Semen, Vitamin E, Selenium, sperm Viability, sperm Motility

* **Assistant Professor, Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria**
** **Professor, Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
*** **Postgraduate Student. Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria**

مقدمة

تعد عملية حفظ السائل المنوي للأنواع الحيوانية إحدى التقنيات الحيوية للتناسل، إذ تستخدم للحفاظ على الأصول الوراثية والأنواع المهددة بالانقراض، وقد جرت المحاولة الأولى لحفظ السائل المنوي في الدواجن منذ حوالي ثمانين عاماً، إذ تم الحصول على بيضة مخصبة من دجاجة ملقحة بسائل منوي مذاب بعد التجميد، دون أن يستمر الجنين على قيد الحياة (Shuffner *et al*.,1941).

على الرغم من التقدم في حفظ السائل المنوي بالتجميد عند الماشية، إلا ان هذه الطريقة ليست ناجحة عند بعض أنواع الطيور بسبب ارتفاع تكاليف إعداد وتخزين السائل المنوي بالمقارنة مع أسعار الصيصان وانخفاض جودة السائل المنوي ومستويات الخصوبة التي نحصل عليها باستخدام السائل المنوي المجمد والمذاب (Blesbois ,2007)، بالإضافة الى أن بيولوجيا التناسل تؤثر على القدرة الإخصابية للحيوانات المنوية المخزنة للطيور (Blesbois and Brilliard ,2007).

يمدد السائل المنوي قبل حفظه؛ لأنه يحمي الحيوانات المنوية من التغيرات الفيزيائية والكيمائية ويمنع التلوث (Chuhong and Chapman,2005)، ويزيد من نسبة الحيوانات المنوية القادرة على الاخصاب (Donoghue and Wishart,2000)، كما يؤمن زيادة حجم السائل المنوي، وتلقيح عدد أكبر من الإناث، وسهولة التعامل مع السائل المنوي وتأمين لزوجة مناسبة (Mian *et al.*,1990)، اذ تنخفض قدرة الحيوان المنوي على الاخصاب والحركة في السائل المنوي غير المخفف خلال ساعة واحدة من جمع السائل (Dumpala *et al.*,2006)، وفي الآونة الأخيرة بات الباحثون يضيفون بعض مضادات الاكسدة لتخفيف التأثيرات السلبية للإجهاد الفيزيولوجي والاجهاد الحراري، وتجنب تشكل بيروكسيد الدهن وبالتالي الحفاظ على جودة الحيوانات المنوية وقدرتها الإخصابية، كما تمت إضافة مزيج من مضادات الاكسدة الى ممددات السائل المنوي، إذ أنه في السنوات الأخيرة استخدم هذا بنجاح في ممددات السائل المنوي للخنازير (Roca *et al*.,2005) و الثيران (Foote *et al*.,2002). و يعتبر فيتامين E (a Tocopherol) من مضادات الاكسدة الهامة القابلة للذوبان في الدهون ويقوم بوظائفه المضادة للأكسدة بواسطة أنزيم جلوتاثيون بيروكسداز الذي يحمي أغشية الخلايا من الاكسدة عن طريق التفاعل مع الجذور الحرة المنتجة في سلسلة تفاعلات بيروكسيد الدهن وبالتالي إزالة الجذور الحرة، ويمنع تفاعلات الاكسدة من الاستمرار (Herrera,2001)، ويعمل على تحسين جودة الحيوانات المنوية، إذ يزيد من تركيز الحيوانات المنوية (Khan *et al*.,2012)، ومن النسبة المئوية للحيوانات المنوية الحية للطيور (Cerolini *et al*.,2006)، كما يعزز حركية الحيوانات المنوية وحيويتها (Panda and Cherian,2014;Rengaraj and Hong,2015)، ويقلل من نسبة الحيوانات المنوية الشاذة (Tabatabaei *et al*.,2011)، كما يعمل على تحرير الهرمونات الضرورية عند إعطائه للحيوانات لتحسين إنتاج السائل المنوي للدجاج (Khan *et al*.,2013)، كما أنه من الممكن التغلب على انخفاض حركة الحيوانات المنوية أثناء الحفظ بالتبريد والتي سببها الجذور الحرة عن طريق إضافة فيتامين E الى وسط الحفظ ، لأنه يعمل على كسر السلسلة الرئيسة لتفاعلات الاكسدة في غشاء الحيوانات المنوية (Surai *et al*.,2000)، وإضافة الى ذلك تبين أن نقص فيتامين E يسبب ضعف الخصوبة عند الحيوانات المنوية المخزنة في المختبر وخاصة عند الدواجن، كما يسبب اضطرابات في الجهاز التناسلي (Herting,1966;combs,1981 Tengerdy,1989;) ، وضرر في الانسجة الدهنية (Herting,1966)، ويؤدي الى تشوهات في الحيوانات المنوية (Bjorneboe *et al*.,1990)، ويسبب انخفاضاً في تركيز الحيوانات المنوية وفي قدرتها الاخصابية (Franchini *et al* .,2001).ويعمل السيلينوم الى جانب فيتامين E في منع الاكسدة، إذ أن

لهما دوراً تكميلياً في حماية الخلية ضد اكسدة الدهون والجذور الحرة، وهذا بسبب دور السيلينوم في تعزيز دور فيتامين E (Gerald and Combs,1992)، وأن اضافتهما الى العلائق الغذائية معاً يحسن جودة وكمية السائل المنوي عند الأوز (Jerysz and Lukaszewicz,2013)، كما يأتي دوره الإيجابي أيضاً من خلال قدرته على تأمين ظروف أفضل للتخزين وحماية الدهون في الغشاء الخلوي للحيوانات المنوية عند التخزين لفترة طويلة، ويحفز جلوتاثيون البيروكسيداز وهو الانزيم المسؤول عن حماية الغشاء الخلوي من الجذور الحرة، إذ يعتبر مضاد أكسدة فعال لحماية الغشاء الخلوي، (Dimitrove *et al*.,2007) .

ولذلك كرس هذا البحث لدراسة إضافة تراكيز مختلفة من فيتامين Eوالسيلينوم كمضادات أكسدة الى ممددات السائل المنوي للدجاج السوري المحلي قبل اجراء عملية الحفظ بالتبريد لمعرفة تأثيرهما في الحفاظ على خصائص السائل المنوي لأطول فترة ممكنة وعلى قدرته الإخصابية.

أهمية البحث وأهدافه:

تأتي أهمية البحث من عدم توفر دراسات في سوريا تتناول موضوع حفظ السائل المنوي للطيور بالتبريد ومعرفة مدى تأثير ذلك على خصائص السائل المنوي، نظراً لأن الحيوانات المنوية قد تنخفض حيويتها وقدرتها على الاخصاب بعد ساعة واحدة من جمع السائل المنوي. ويهدف البحث الى دراسة تأثير إضافة تراكيز مختلفة من فيتامين E والسيلينوم إلى ممددات السائل المنوي للديك السوري المحلي قبل إجراء عملية حفظه بالتبريد لمعرفة قدرتها كمضادات أكسدة في الحفاظ على خصائص السائل المنوي للطيور لأطول فترة ممكنة.

طرائق البحث ومواده:

أجري البحث في مركز بحوث الإنتاج الحيواني في فديو التابع لكلية الزراعة بجامعة تشرين، وفي مخابر الكلية خلال الفترة الممتدة من شهر أذار لعام 2017 ولغاية شهر نيسان من عام 2018.

- الطيور المدروسة:

أخضعت للبحث ديكة من النمط البني من الديك السوري المحلي، إذ تم جمع خمسين ديكاً بعمر ثلاثة أشهر من القرى المجاورة لبانياس وتربيتها تربية أرضية، وعند بلوغها ستة أشهر تم انتقاء الديكة المتماثلة من حيث الوزن ولون الريش، ومنتظمة القوام والهيكل، وواضحة العلامات الجنسية الثانوية، وتم وضعها في أقفاص فردية بعد تقسيمها الى ثلاثة مكررات كل مكرر يحتوي أربعة ديوك، إذ تم حساب كافة المؤشرات المدروسة لكل ديك على حدة، ثم استخرجت متوسطات المكررات وتم تدريبها على عملية جمع السائل المنوي، إذ تم التدريب مرتين يومياً و في نفس التوقيت، مرة في الثامنة صباحاً والثانية بعد الظهر، لمدة أربعة أسابيع، أي حتى بلوغها النضج الجنسي. كما تم تقديم خلطة علفية متوازنة للديوك المدروسة بواقع 120 غرام لكل طير/يوم حتى بلوغ النضج الجنسي، وبعد ذلك تم زيادة الحصة العلفية إلى 160 غرام / طير/يوم جدول (1).

الجدول (1): كميات ونسب المواد الغذائية الداخلة في تركيب الخلطة العلفية

المادة	النسبة المئوية%
ذرة صفراء	63
كسبة صويا (44%)	16
شعير علفي	2
نخالة قمح	2
مركّز	10
نحاتة	7
الطاقة الاستقلابية Kcal/Kg	2524
البروتين الخام %	14.97

- جمع السائل المنوي:

تمت عملية الجمع بطريقة المساج البطني Abdominal Massage بوضع راحة اليد اليسرى على الجزء اللحمي من الذيل، مع إبقاء ريش الذنب للخلف، وتثبيت الأصابع الإبهام والسبابة حول المجمع، لتكون قريبة لعصر الحليمات عند بروزها، ثم القيام بعملية التدليك باليد اليمنى على جانبي الجزء الرخو من البطن، مع مراعاة السرعة والاستمرارية لضمان حدوث الاستجابة، أي حتى تبرز الحليمات من المجمع، ويبدأ تدفق السائل المنوي كما نجد في الصورة (1)، وتستمر عملية التدليك (15–30) ثانية، ثم تم شفط السائل المنوي باستخدام محقن الأنسولين كما تظهر في صورة (2)، وتمت عملية الجمع مرتين أسبوعيا وفقاً لما جاء في أبحاث (Fan *et al* .,2004; Tarif *et al*.,2013)، وتم الجمع في نفس التوقيت في كل مرة، إذ تم في الساعة الثامنة صباحاً حتى العاشرة.

تم الحفاظ على النظافة خلال عملية الجمع، لمنع تلوث السائل المنوي، إذ تم قص الريش حول فتحة المجمع، كما تم سحب العلف مساءً وحتى الصباح لمدة 16 ساعة قبل عملية الجمع لتجنب تلوث السائل المنوي بالزرق الذي يؤثر على نوعيته، وتم استخدام أدوات معقمة جيداً سواء محاقن الشفط أو أمبولات أبندورف للحفظ.

كما تم تأمين إضاءة بمعدل 16 ساعة يومياً، لإنتاج النطاف، إذ تلعب الإضاءة دوراً هاماً في التأثير على منطقة الهيبوتلامس (ما تحت المهاد البصري) عند الطير، الأمر الذي يؤدي لاحقاً الى زيادة انتاج الحيوانات المنوية عند الذكر (Berry,2003) من خلال افراز هرمون (GnRH) الذي يحفز الغدة النخامية على انتاج هرموني (LH) و (FSH) المسؤولين عن افراز الهرمونات الجنسية في المبايض والخصى وبالتالي التأثير على الخلايا المولدة للنطاف والبويضات (Ottinger and Bakst,1995). وتم مراعاة عدم زيادة الوزن عن 2.5 كغ من أجل استمرار الاستجابة لعملية التدليك.

صورة(1) لحظة قذف السائل المنوي.

صورة(2) جمع السائل المنوي بمحقن الأنسولين.

- تمديد السائل المنوي:

الممدد المستخدم Tris-fructose-egg yolk، الذي يتكون من هيدروكسي ميتيل أمينو الميتان –فركتوز–حمض الستريك–ستربتومايسين–بنسلين–صفار البيض (Azawi,2013)، بنسبة تمديد 1:1. تم تحضير تركيزين من فيتامين E ، وذلك بإضافة 5 ملغ من فيتامين E إلى 1 مل ممدد، و 10 ملغ من فيتامين E الى 1 مل ممدد؛ كما تم تحضير تركيزين من مزيج فيتامين E مع السيلينوم ، وذلك بإضافة 5 ملغ فيتامين E +0.6 ملغ Se الى 1مل ممدد، و10 ملغ فيتامين E+0.6 ملغ Se الى 1 مل ممدد، على درجة حرارة 37 م ^{0} وتم المزج بهدوء، وبعد ذلك وضعت العينات في حمام مائي على نفس درجة الحرارة لمدة ربع الى نصف ساعة ليتم تفاعل مضادات الأكسدة مع الممدد جيداً، وبعد ذلك تم مزج كمية من السائل المنوي لكل طير مع كمية مماثلة من فيتامين E والمزيج (فيتامين E والسيلينوم) لكل تركيز من التراكيز المدروسة على نفس درجة الحرارة ، وتم المزج بتحريك الإمبولة بهدوء في راحة اليد حتى إتمام المزج، و وضعهم في الحمام المائي، ثم تخفيض درجة حرارة الحمام تدريجياً حتى الوصول إلى درجة حرارة الغرفة، عندها نقلت إلى المبرد ووضعت بحامل الإمبولات، وتم تخفيض درجة الحرارة تدريجياً وصولاً الى 4 درجة مئوية، وتركت في المبرد لمدة 24 ساعة، و 48 ساعة، وبعد مضي الفترة المحددة من الحفظ بالتبريد تم من جديد رفع درجة حرارة العينات المدروسة تدريجياً حتى الوصول الى الدرجة 37م^0 بوضع الإمبولات في الحمام المائي وبعد ذلك تم تقييم الحركية المختلفة للحيوانات المنوية، ونسبة النطاف الميتة وذلك بمزج 10 ميكرو ليتر من السائل المنوي مع 25 ميكرو ليتر من محلول صبغة الأيوسين، ثم أخذت قطرة من المزيج لصنع مسحة على شريحة زجاجية معقمة بالكحول ومجففة بورق نشاف، وتم تثبيت المسحة بتحريك الشريحة لتجف هوائياً، ثم وضعت ساترة زجاجية من أجل الفحص المجهري. كما تم مراعاة أن تكون المسحة المأخوذة للفحص المجهري قليلة

السماكة وتم حساب النسبة المئوية للحيوانات المنوية الميتة في السائل المنوي الطازج، إذ ظهرت الحيوانات المنوية الميتة مصبوغة بلون وردي نتيجة نفاذية الغشاء السيتوبلازمي للنطاف الميتة، مما أدى الى دخول صبغة الأيوسين واصطباغ محتويات الحيوانات المنوية باللون الوردي.

التحليل الاحصائي:

تم إجراء التحليل الاحصائي للبيانات باستخدام اختبار Duncan`s، وحساب أقل مدى معنوي L. S. R.

النتائج والمناقشة:

أظهرت نتائج البحث أن إضافة فيتامين E والسيلينوم(Se) إلى ممددات السائل المنوي قبل الحفظ على الدرجة 4 م^0 لمدة 24 و48 ساعة أدت إلى زيادة في الحركة السريعة والبطيئة للحيوانات المنوية، وانخفاض في الحركة الاهتزازية (الحركة الخفيفة في المكان) جدول (2). كما أظهرت النتائج أن أعلى قيمة لمتوسط الحركة الإجمالية بلغ عند إضافة التركيز 5ملغ E+0.6ملغSe/ مل جدول(3).

جدول (2): متوسطات النسبة المئوية للحيوانات المنوية حسب نوع الحركة في السائل المنوي المبرد على الدرجة 4 م^0 لمدة 24 و48 ساعة.

مدة الحفظ / ساعة		24			48		
المعاملات / الحركية%		سريعة	بطيئة	اهتزازية	سريعة	بطيئة	اهتزازية
الشاهد		54.41 f	9.37 ef	19.02 e	49.10 h	5.48i	23.57 g
E	5 ملغ/ مل	59.44 c	11.24 d	16.17 c	54.98e f	8.79g	18.43de
	10 ملغ/ مل	62.68 b	12.76 c	14.43 b	57.60 d	9.86e	17.25cd
E+se	5ملغ E+0.6ملغSe/ مل	65.06 a	17.65a	9.09 a	59.16 c	15.8 b	12.86b
	10ملغ E+0.6ملغSe/مل	56.21 d	9.30 f g	18.22de	51.96 g	6.22 h	20.64f

*الحروف المختلفة بجانب المتوسطات في كل عمود تعني وجود فروق معنوية ($p<0.001$).

يتضح من الجدول رقم (2) أن إضافة 5 ملغ/مل من فيتامين E إلى ممددات السائل المنوي قبل الحفظ على الدرجة 4 م^0 لمدة 24 ساعة، أدت الى زيادة النسبة المئوية للحيوانات المنوية المتحركة حركة سريعة من 54.41% عند الشاهد إلى 59.44%، بفارق قدره 5.03%، كما ارتفعت النسبة المئوية في حالة الحركة البطيئة من 9.37% إلى 11.24% أي بمقدار 1.87%. أما في حالة الحركة الاهتزازية فقد انخفضت هذه النسبة من 19.02% عند الشاهد إلى 16.17 % بفارق قدره 2.85%.

ويبين الجدول أن إضافة التركيز السابق من فيتامين E إلى ممددات السائل المنوي قبل الحفظ على الدرجة 4 م^0 لمدة 48 ساعة أدت وبالمقارنة مع الشاهد إلى زيادة النسبة المئوية في حالة الحركة السريعة من 49.1% إلى 54.98%، بفارق 5.88%، وزيادة هذه النسبة في حالة الحركة البطيئة من 5.48 % إلى 8.79 % بفارق 3.31%، في حين انخفضت النسبة في حالة الحركة الاهتزازية من 23.57% إلى 18.43% أي بمقدار 5.14%.

وعند إضافة 10 ملغ/ مل من فيتامين E قبل الحفظ على الدرجة 4 م^0 لمدة 24 ساعة، وبالمقارنة مع الشاهد، ارتفعت النسبة المئوية المدروسة في حالة الحركة السريعة إلى 62.68% بفارق قدره 8.27%، كما ارتفعت هذه النسبة في حالة

الحركة البطيئة إلى 12.76% بزيادة قدرها 3.39%، في حين انخفضت في حالة الحركة الاهتزازية إلى 14.43% أي بمقدار 4.59%.

كما يتبين من الجدول أنه عند إضافة 10ملغ/مل من فيتامين E قبل الحفظ على الدرجة 4 م^0 لمدة 48 ساعة وبالمقارنة مع الشاهد، فإن النسبة المئوية المدروسة قد ارتفعت في حالتي الحركة السريعة والبطيئة إلى 57.6% و9.86% على التوالي أي بفارق قدره 8.5% و4.38% على الترتيب، وانخفضت في حالة الحركة الاهتزازية إلى 17.25%، بفارق قدره 6.32%.

جدول (3): متوسطات % للحيوانات المنوية المتحركة في السائل المنوي المبرد على الدرجة 4 م^0 لمدة 24 و48 ساعة.

مدة الحفظ / ساعة		24	48
المعاملات / الحركة الاجمالية%		82.2 e	78.15 f
الشاهد			
E	5 ملغ/مل	86.58 cd	82.20 e
	10 ملغ/مل	89.87 ab	84.66 de
E+Se	5ملغ E + 0.6 ملغ Se/مل	91.8 a	87.87 bc
	10ملغ E +0.6 ملغ Se/ مل	83.73 de	78.82 f

*الحروف المختلفة بجانب المتوسطات في الأعمدة والأسطر تعني وجود فروق معنوية ($p<0.001$).

ويتضح من معطيات الجدول رقم (3) أن متوسط النسبة المئوية للحيوانات المنوية المتحركة، عند استخدام التركيز 5 ملغ/ مل من فيتامين E قبل الحفظ على الدرجة 4 م^0 لمدة 24 ساعة و48 ساعة ارتفع إلى 86.58% و82.2% على التوالي مقارنة مع الشاهد الذي بلغ هذا المتوسط عنده 82.8% و78.15 % أي بفارق قدره 3.78% و4.05% على التوالي.

أما عند استخدام التركيز 10 ملغ/مل فقد بلغ المتوسط السابق ولنفس الفترتين الزمنيتين 89.87% و84.66% على الترتيب، أي بزيادة قدرها 7.07% و6.51% على التوالي مقارنة مع الشاهد.

ويفسر تحسن الحركة الاجمالية عند إضافة فيتامين E الى ممددات السائل المنوي قبل حفظه بالتبريد بفعاليته في الحد من التغيرات في خلايا الحيوانات المنوية بسبب قدرته المضادة للأكسدة، إذ تبين بوضوح التأثير المفيد لإضافة فيتامين E الى ممددات السائل المنوي للديكة، على حركية الحيوانات المنوية وجودتها، كما يحد ذلك من تشكل بيروكسيد الدهن في الغشاء البلازمي للحيوانات المنوية (Tabatabaei *et al.*,2011). ويفسر سبب زيادة الحركة الاجمالية عند إضافة فيتامين E بتراكيز عالية بازدياد قدرته على الحد من تشكل بيروكسيد الدهن في خلايا الحيوانات المنوية عند الحفظ والحد بشكل فعال من التغيرات في الصفات المورفولوجية واختلالات الاكروسوم عند وجوده بتراكيز عالية (Marin-Guzman *et al.*,2000)، ومن حيث ارتباط زيادة تركيز فيتامين E المضاف مع زيادة وتحسن الحركة الإجمالية للحيوانات المنوية تتفق نتائج هذه الدراسة مع دراسة (Tabatabaei *et al.*,2011) والتي بينت أنه عند إضافة فيتامين E الى ممددات السائل المنوي للدجاج بتراكيز 5−10−20−30 ملغ/مل قبل الحفظ بالتبريد لمدة 24 ساعة،

بلغت النسب المئوية للحيوانات المنوية المتحركة حركة إجمالية (35.35%)، (37.12%)، (65.33%)، (66.47 %) على التوالي، بينما بلغت قيمتها في عينة الشاهد (16.17%)

وتظهر نتائج البحث من خلال معطيات الجدول (2) أن إضافة 5 ملغ/مل من فيتامين E مع 0.6 ملغ Seإلى ممددات السائل المنوي قبل الحفظ على الدرجة 4 م^0 لمدة 24 ساعة وبالمقارنة مع الشاهد، ارتفعت النسبة المئوية المدروسة في حالة الحركة السريعة إلى 65.06 % بفارق قدره 10.65 %، كما ارتفعت في الحركة البطيئة إلى 17.65% بزيادة قدرها 8.28%، في حين انخفضت في حالة الحركة الاهتزازية إلى 9.09 %أي بمقدار 9.93 %. كما يتبين من الجدول أنه عند إضافة التركيز السابق من فيتامين Eو Se إلى ممددات السائل المنوي قبل الحفظ على الدرجة 4 م^0 لمدة 48 ساعة، أدت وبالمقارنة مع الشاهد، إلى ارتفاع النسبة المئوية المدروسة في حالتي الحركة السريعة والبطيئة إلى 59.16% و15.85% على التوالي أي بفارق قدره 10.06% و10.37% على الترتيب وانخفضت في حالة الحركة الاهتزازية إلى 12.86%، بفارق قدره 10.71 %.

كما يتبين من الجدول أنه عند إضافة 10 ملغ/مل من فيتامين E مع 0.6 ملغ Se إلى ممددات السائل المنوي قبل الحفظ على الدرجة 4 م^0 لمدة 24 ساعة وبالمقارنة مع الشاهد، ارتفعت النسبة المئوية المدروسة في حالة الحركة السريعة إلى 56.21 % أي بفارق قدره 1.8%، في حين انخفضت هذه النسبة في حالة الحركة البطيئة إلى 9.30 % أي بفارق قدره 0.07%، كما انخفضت في حالة الحركة الاهتزازية إلى 18.22% أي بمقدار 0.8%.

كما يتبين من الجدول أنه عند إضافة التركيز السابق من فيتامين E و Se إلى ممددات السائل المنوي قبل الحفظ على الدرجة 4 م^0 لمدة 48 ساعة وبالمقارنة مع الشاهد، ارتفعت النسبة المئوية المدروسة في حالة الحركة السريعة إلى 51.96% أي بفارق قدره 2.86 %، كما ارتفعت هذه النسبة في حالة الحركة البطيئة إلى 6.22% أي بزيادة قدرها 0.74%، في حين انخفضت هذه النسبة في حالة الحركة الاهتزازية إلى 20.64% أي بمقدار 2.93%.

ويتضح من معطيات الجدول رقم (3) أن متوسط النسبة المئوية للحيوانات المنوية المتحركة، عند استخدام التركيز 5 ملغ/ مل من فيتامين E مع 0.6 ملغ Se قبل الحفظ على الدرجة 4 م^0 لمدة 24 ساعة و48 ساعة وبالمقارنة مع الشاهد ارتفع إلى 91.8% و87.87%على الترتيب أي بفارق قدره 9% و9.72% على التوالي. أما عند استخدام التركيز 10 ملغ/مل من فيتامين E مع 0.6 ملغ Se قبل الحفظ على الدرجة 4 م^0 لمدة 24 ساعة وبالمقارنة مع الشاهد ارتفع إلى 83.73% أي بفارق قدره 0.93%، في حين انخفض عند الحفظ لمدة 48 ساعة إلى 78.82% أي بفارق قدره 0.67%.

ويفسر سبب زيادة الحيوانات المنوية المتحركة عند إضافة السيلينوم مع فيتامين E إلى ممددات السائل المنوي قبل حفظه بالتبريد بالمقارنة مع إضافة فيتامين E بمفرده إلى دور السيلينوم في تعزيز دور فيتامين Eعن طريق زيادة نشاط جلوتاثيون البيروكسيداز والحد من حساسية الحيوانات المنوية لأكسدة الدهون (Surai *et al.*,1998). وهذا ما أكدته بعض الدراسات إذ وجدت أن إضافة كميات قليلة من السيلينوم وفيتامين E معاً أكثر فعالية في الحفاظ على جودة الحيوانات المنوية والخصائص المورفولوجية بالمقارنة مع إضافة كل منهما على حدة، إذ وجد أنه عند إضافة(5µg من فيتامين E /مل +10 ملغ/مل من Se) الى ممددات السائل المنوي للديك بلغت الحيوانات المنوية المتحركة (79.28 %)، وعند إضافة(5 µg / مل فيتامين E +20 ملغ/مل Se) بلغت قيمتها (67.62%)، وعند إضافة (10µg /مل من فيتامين E +20 ملغ/مل Se) كانت قيمتها (66.30%)، أما عند إضافة 5 µg /مل من فيتامين E دون السيلينوم تبين أن النسبة المئوية للحيوانات المتحركة بلغت قيمتها (70.89%)، وعند إضافة 10 µg /مل من

فيتامين E دون السيلينوم بلغت قيمتها (74.64%)، بينما بلغت قيمة الحركة في عينة الشاهد (54.08%) (Safa *et al.*,2016).

أما بالنسبة لتأثير فيتامين E والسيلينوم على حيوية النطاف، فقد أظهرت نتائج البحث أن إضافة فيتامين E والسيلينوم إلى ممددات السائل المنوي قبل الحفظ على الدرجة 4 م^0 لمدة 24 و48 ساعة أدت إلى زيادة في حيوية الحيوانات المنوية وكانت هذه الزيادة أكبر عند مزج فيتامين E مع السيلينوم بالمقارنة مع إضافة فيتامين E دون السيلينوم. جدول (4).

الجدول (4): متوسط النسبة المئوية لحيوية الحيوانات المنوية في السائل المنوي المبرد على الدرجة 4 م^0 لمدة 24 و48 ساعة.

مدة الحفظ / ساعة		24	48
المعاملات / الحيوية%		65.67 g	56.29 j
الشاهد			
E	5 ملغ	73.67 d	64.46 h
	10 ملغ	79.65 b	70.46 e
E+Se	5ملغ E + 0.6 ملغ Se	83.46 a	75.58 c
	10ملغ E + 0.6 ملغ Se	67.42 f	57.57 i

*الحروف المختلفة بجانب المتوسطات في الأعمدة والأسطر تعني وجود فروق معنوية P<0.001

يتضح من الجدول رقم (4) أن إضافة 5 ملغ / مل من فيتامين E إلى ممددات السائل المنوي قبل الحفظ على الدرجة 4 م^0 لمدة 24 ساعة أدت، وبالمقارنة مع الشاهد إلى زيادة حيوية الحيوانات المنوية من 65.67% إلى 73.67%، أي بفارق قدره 8%، كما يتبين من الجدول أن إضافة التركيز السابق من فيتامين E إلى ممددات السائل المنوي قبل الحفظ على نفس درجة الحرارة لمدة 48 ساعة أدت إلى زيادة حيوية الحيوانات المنوية من56.29 % إلى 64.46%، أي بفارق بلغت قيمته 8.17%.

وعند إضافة 10 ملغ / مل من فيتامين E قبل الحفظ على الدرجة 4 م^0 لمدة 24 ساعة و48 ساعة، ارتفعت حيوية الحيوانات المنوية إلى 79.65 % و70.46 % على الترتيب، أي بفارق قدره 13.98% و14.17%على التوالي مقارنة مع الشاهد. وتظهر نتائج البحث من خلال معطيات جدول (4) أن إضافة 5 ملغ / مل من فيتامين E مع 0.6 ملغ Seإلى ممددات السائل المنوي قبل الحفظ على الدرجة 24 و48 ساعة أدت وبالمقارنة مع الشاهد إلى زيادة في حيوية الحيوانات المنوية بلغت قيمتها 83.46% و75.58%على الترتيب، بفارق قدره 17.79% و19.29% على التوالي. أما عند استخدام التركيز 10 ملغ / مل من فيتامين E مع 0.6 ملغ Se فقد بلغت حيوية الحيوانات المنوية ولنفس الفترتين الزمنيتين 67.42% و57.57%على الترتيب، أي بفارق قدره 1.75% و1.28% على التوالي مقارنة مع الشاهد، وتتفق نتائج زيادة حيوية الحيوانات المنوية عند إضافة السيلينوم مع فيتامين E إلى ممددات السائل المنوي قبل حفظه بالتبريد بالمقارنة مع إضافة فيتامين E من دون السيلينوم مع نتائج دراسة (Safa *et al.*,2016)، التي بينت أنه عند إضافة

5µg / مل من فيتامين E +10 ملغ/مل Se سيلينوم إلى ممددات السائل المنوي قبل حفظه، أن حيوية الحيوانات المنوية بلغت 81.46 %، بينما بلغت هذه القيمة في عينة الشاهد 60.53%. و يفسر سبب انخفاض حيوية الحيوانات المنوية خلال 24 و48 ساعة من الحفظ عند مزج 10ملغ من فيتامين E مع 0.6 ملغ Se بالمقارنة مع التراكيز المنخفضة، بأن إضافتهما معاً بشكل فائض سببت تلفاً في الحيوانات المنوية، كما تبين أن إضافة السيلينوم إلى السائل المنوي لذكور دجاج اللحم بتراكيز عالية سببت ضرراً في الحيوانات المنوية وأثرت على جودتها، كما وجد أن هذا المعدن داخل الجسم الحي يحسن نوعية السائل المنوي خلال تشكل الحيوانات المنوية بشكل مباشر بدلاً من إضافته مباشرةً إلى الحيوانات المنوية(Barber *et al*.,2005).

ومن الجدير بالذكر أنه لم تلاحظ أية فروق معنوية داخل أو بين المكررات في كافة المؤشرات المدروسة (عند تثبيت التركيز وزمن الحفظ)، وهو أمر طبيعي وسليم طالما أن جميع الديوك لا تنتمي إلى سلالات أو مجموعات متباينة.

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

1. تحسن المؤشرات المدروسة للحيوانات المنوية (الحركية، الحيوية) عند إضافة مزيج من فيتامين E مع Se عند التخزين على الدرجة +4 م^0 لمدة 24 و48 ساعة بالمقارنة مع الشاهد.
2. أفضل تحسن للمؤشرات المدروسة كان عند التخزين على درجة +4 م^0 لمدة 24 ساعة.

التوصيات:

1. إضافة مضادات الأكسدة (فيتامين E، Se) كمزيج وليس كل منهما على حدة الى ممددات السائل المنوي قبل حفظه بالتبريد.
2. ضرورة الاستمرارية في دراسة تأثير مضادات الأكسدة الأخرى على الحيوانات المنوية.

المراجع:

1- AZAWI, O. I. AND HUSSEIN, E. K. *Effect of Vitamin C or E Supplementation to Tris diluent on the Semen quality of Awassi rams preserved at 5^{o}c*. JournaL Listvetres .VOL. 4 (3), 2013, 157-160.

2- BARBER, S. J. AND PARKER, H. M. AND MCDANIEL, and C. D. *Broiler Breeder Semen quality as affected by trace minerals in Vitro*. Poultry Science. V. 84, 2005, 100-105.

3- BERRY, W. R. *The Physiology of Induced Molting*. Poultry Science. Vol. 82, 2003, 971-980.

4- BJORNEBOE, A; BJORNEBOE, G .E AND DREVON, C. A. *Absorption, Transport and Distribution of vitamin E*. Nutr. V. 120, 1990, 233-242.

5- BLESBOIS, E. *Status in Avian Semen Cryopreservation.* World's Poultry Sci. Vol. 63, 2007, 213-222.

6- BLESBOIS, E. AND BRILLIARD, J. P. *Specific features of in Vivo and in Vitro Sperm Storage in Birds*. Animal .Vol. 1 (1472), 2007, 290-1484.

7-CEROLINI, S; ZANIBONI, L; MALDJIAN, A. AND GLIOZZI, T. M. *Effect of Docosahexaenoic Acid and a-Tocopherol Enrichment in Chicken Sperm on Semen quality,*

Sperm lipid composition and susceptibility to peroxidation. Theriogenology. Vol. 66, 2006, 877.
8- CHULHONG, P. AND CHAPMAN, F. A. *An Extender Solution for the Short-Term Storage of Sturgeon Semen.* Nigerian Agricultural Journal. Aquaculture. Vol. 67, 2005, 52-57.
9- COMBS, G. F. *Assessment of Vitamin E status in Animals and Man*. Proc. Nutr. Soc .Vol. 40, 1981, 187-194.
10-DIMITROVE, S. G; ATANASOVE, V. K; SURAI, P. F. AND DENEV, S. A. *Effect of organic Selenium on Turkey Semen quality during liquid storage*. Animal Reproduction Science.Vol.100, 2007, 311-317.
11- DONOGHUE, A. M AND WISHART, G. J. *Storage of Poultry Semen*. Animal Reproductive Science. Vol. 62, 2000, 213-232.
12- DUMPALA, P .R; PARKER, H. M. AND MCDANIEL, C. D. *The effect of Semen storage temperature and diluent type on the Sperm quality index of broiler breeder Semen*. Poultry Science, N. 5, 2006, 838-845.
13- FAN, Y. K; JU, J. C; LEE, S. L; CHEN, C.F; PEH, H.C; HSU, J. C. AND LEE, Y. P. *High ejaculation frequency Enhances Semen Production in Taiwan Country Chickens*. Asian-Aust. J. Anim. Sci. Vol. 17(7), 2004, 924-929.
14- FOOTE, R.H; BROCKETT, C. C. AND KAPROTH, M. T. *Motility and fertility of bull sperm in whole milk extender containing antioxidants.* Anim. Reprod. Sci. Vol. 71, 2002, 13-23.
15- FRANCHINI, A; BERGONZONI, M. L. AND MELOTTI, C. *The Effect of Dietary Supplementation with High doses of Vitamin E and C on the quality traits of Chicken Semen*. Arch Geflugelkd .Vol. 65, 2001, 76-81.
16-GERALD, F. AND COMBS, J. The Vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health. Academic Press, Inc USA, 1992.
17- HERRERA, B .C. *Vitamin E: action, metabolism and perspectives.* Journal of Physiology and Biochemistry. Vol. 57 (2), 2001, 43-56.
18- HERTING, D. C. *Perspective on vitamin E*. J. Clin. Nutr. Vol. 19, 1966, 210-218.
19- JERYSZ, A. AND LUKASZEWICZ, E. *Effect of dietary Selenium and Vitamin E on Ganders' Response to Semen Collection and Ejaculate Characteristics.* Biol Trace Elem Res .Vol. 153, 2013, 196.
20- KHAN, R. U; RAHMAN, Z; JAVED, I. AND MUHAMMAD, F. *Supplementation of Vitamins, protein and probiotics on Semen traits and Immunohistochemical Study of Pituitary Hormones in Zincinduced Molted Broiler Breeders.* Acta Histochem. Vol. 115, 2013,698.
21- KHAN, R. U; RAHMAN, Z. U, NIKOUSEFAT, Z; JAVDANI, M; LAUDADIO, V. AND TUFARELLI, V. *Vitamin E: Pharmaceutical Role in Poultry Male Fecundity*. World's Poultry Science Journal .VOL. 68, 2012, 63-70.
22- MARIN-GUZMAN, J; MAHAN, D. C. AND PATE, J. L. *Effect of Dietary Selenium and Vitamin E on Spermatogenic Development in Boars.* J. Anim. Sci.V.78, 2000, 1537-1543.
23- MIAN, Z; NASIM, A; SHAKOOR, A. AND QURESHI, M. S. *Effect of Dilution of Fowl Semen with Normal Saline on the Fertility of RIR Hens through Artificial Insemination.* Pakistan Journal of Agriculture. Vol. 11(3), 1990, 201-204.
24- OTTINGER, M. A. AND BAKST, M. R. *Endocrinology of the Avian Reproductive System*. Journal of Avian Medicine and Surgery. Vol. 9(4), 1995, 242-250.
25- PANDA, A. K. AND CHERIAN, G. *Role of Vitamin E in Counteracting Oxidative Stress in poultry.* Journal of Poultry Science. Vol. 51, 2014, 109-117.

26- RENGARAJ, D. AND HONG, Y. H. *Effects of Dietary Vitamin E on Fertility Functions in Poultry Species.* International Journal of Molecular Sciences .Vol. 16, 2015, 9910-9921.
27- Roca, J; Rodrıguez, M. J; Gil, M. A; Carvajal, G; Garcia, E. M; Cuello, C; Vazquez, J. M.AND Martinez, E .A. *Survival and in Vitro fertility of Boar Spermatozoa Frozen in the presence of Superoxide dismutase and/or Catalase.* J. Androl .vol. 26, 2005, 15–24.
28- SAFA, S; MOGHADDAM, G; JOZANI, R. J; DAGHIGHKIA, H; JANMOHAMMADI, H. *Effect of Vitamin E and Selenium Nanoparticles on Post-thaw Variables and Oxidative Status of Rooster Semen*. Animal Reproduction Science. < ***http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.*** >
29- SHUFFNER, C .S; HENDERSON, E. W and CARD, C.G. *Viability of Spermatozoa of the Chicken under Various Environmental Conditions.* Poultry Science. Vol. 20, 1941, 259-265.
30- SURAI, P. F ; BRILLARD, J. P; SPEAKE, B. K; BLESBOIS, E; SEIGNEURIN, F. AND SPARKS, N. H. *Phospholipids fatty Acid Composition, Vitamin E content and Susceptibility to Lipid Peroxidation of Duck Spermatozoa*. Theriogenology. Vol. 53, 2000, 1025-1039.
31- SURAI, P; KOSTJUK,I; WISHART, G ; MACPHERSON, A ; SPEAKE, B ;NOBLE ,R ; IONOV, I. AND KUTZ, E. *Effect of Vitamin E and Selenium Supplementation of Cockerel Diets on Glutathione Peroxidase Activity and Lipid Peroxidation Susceptibility in Sperm, Testes, and Liver*. Biol. Trace Elem. Res. Vol. 64, 1998, 119-132.
32- TABATABAEI, S; BATAVANI, R AND AYEN, E. *Effects of Vitamin E Addition to Chicken Semen on Sperm Quality during in Vitro Storage of Semen.* Veterinary Research Forum. Vol. 2, 2011, 103-111.
33- TARIF, A.M; BHUIYAN, M. M; FERDOUSY, R. N; JUYENA, S. S. AND MOLLAH, M. R. *Evaluation of Semen Quality among four Chicken Lines*. IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS).Vol. 6, 2013, 07-13.
34- TENGERDY, R. P. *Vitamin E, Immune Response, and Disease Resistance.* Ann. N. Y. Acad. Sci. Vol. 570, 1989, 335-344.