جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة المثنى / كلية الزراعة

قسم الإنتاج الحيواني

تقييم إضافة المستخلص المائي لنباتي الشبت والمورينجا الى نطف الكباش البربخية تحت ظروف الحفظ بالتبريد والاخصاب المختبري

رسالة قدمها إلى

مجلس كلية الزراعة في جامعة المثنى وهي جزء من متطلبات نيل درجة

الماجستير في العلوم الزراعية / الإنتاج الحيواني

الطالب

أيمن علي حسن الدليمي

بإشراف

أ.د علي عبدالله زعيري الحاج عبيد

1445هـ **2023 م**

المستخلص

أجريت الدراسة الحالية في مختبر الدراسات العليا - كلية الزراعة - جامعة المثنى للفترة من 3 ديسمبر 2022 ولغاية 9 مارس 2023 . وتم استعمال 29 (خصية كبش) لدراسة تقييم النطف البربخية للكباش تحت ظروف الحفظ بالتبريد عند درجة 5م° لمدد مختلفة 96,72,48,24,0 ساعة وقابليته على إخصاب بويضات الأغنام بعد إنضاجها مختبريا .اشتملت الدراسة على تجربتين تضمنت الأولى عملية تقييم السائل المنوي للكباش , اذ تم تحضير المستخلصات المائية لأوراق النباتات المدروسة (المورينجا , الشبت) وتم حفظها في الثلاجة لوقت الاستعمال. تم الحصول على الخصى من الكباش المذبوحة في المجزرة المحلية في محافظة المثنى بعد الذبح مباشرة ونقلت إلى المختبر خلال وقت أقل من ساعة واحدة للحصول على النطف الناضجة من ذيل البربخ وتم تخفيفها باستعمال مخفف Tris الذي تم تحضيره مسبقاً وتم تقسيم العينات الى ثلاث معاملات شملت : معاملة السيطرة (باستعمال مخفف Tris) فقط و المعاملة الثانية تضمنت إضافة تركيز 3 %من مستخلص المورينجا الى مخفف Tris و المعاملة الثالثة تضمنت إضافة تركيز 3% من مستخلص الشبت الى مخفف Tris . تم حفظ العينات تحت ظروف التبريد في الثلاجة بدرجة 5م° للفترات التي اشتملت عليها الدراسة وتم تقييم صفات النطف كل من الحركة الفردية والنسب المئوية للنطف الحية و الميتة والتشوهات الكلية وفحص سلامة الغشاء البلازمي (HOST) في الأوقات 1،24، 48، 72 96 ساعة من الحفظ بالتبريد. بينت نتائج الدراسة حصول زيادة معنوية ($P<0.01$) لدى كل من مخفف المورينجا ومخفف الشبت T2 , T3 مقارنة بمعاملة السيطرة في التداخل بين المخففات ومدد الحفظ في نسبة الحيوانات المنوية الحية في أوقات الحفظ 24،48،96 ساعة من الحفظ بالتبريد والتي قراءاتها (88.59 ±0.52 ، 83.69 ±0.39 ، 74.42 ±0.85) على التوالي للمعاملة T2 و (87.94 ±0.39 ، 82.86 ±0.34 ، 76.11 ±0.70) على التوالي للمعاملة T3 . فيما حصل انخفاض معنوي عالي ($P<0.01$) لدى كل من T2 , T3 مقارنة بمعاملة السيطرة في التداخل بين المخففات ومدد الحفظ في نسبة الحيوانات المنوية الميتة في أوقات الحفظ 24،48،96 ساعة من الحفظ بالتبريد وكانت قراءاتها (11.68±0.41 ,16.31 ±0.39 ,25.57 ± 0.85) على التوالي للمعاملة T2، و (12.05±0.39 , 17.13±0.33 ، 23.84±0.70) على التوالي للمعاملة T3، فيما لم تحصل فروق معنوية بين T2 , T3 خلال المدد 24،48،96 ساعة في نسبة الحيوانات المنوية الحية , الميتة .كما ولم تحصل فروق معنوية بين جميع المعاملات خلال الساعة الاولى من الحفظ .أما عن تأثير

المخففات ومدد الحفظ في نسبة الحيوانات المنوية المشوهة أظهرت نتائج الدراسة عدم حصول فروق معنوية بين المعاملات خلال المدة 24, 96 من الحفظ بالتبريد . فيما حصل انخفاض معنوي عالي ($P<0.01$) لدى كل من مخفف المورينجا ومخفف الشبت T3 , T2 مقارنة بمعاملة السيطرة في نسبة الحيوانات المنوية المشوهة في المدد 1,48 ساعة والتي قراءاتها (3.68±1.15, 6.26±0.23) على التوالي للمعاملة T2، و (3.37±0.13 , 5.93±0.24) على التوالي للمعاملة T3. أما في المدة 72 ساعة بينت النتائج حصول فروق معنوية بين جميع المعاملات كما وتفوقت المعاملة T3 في هذه المدة والتي قراءتها (7.15±0.29) .أما عن تأثيرالتداخل بين المخففات ومدد الحفظ في نسبة الحركة الفردية للحيامن أضهرت نتائج الدراسة حصول تفوق معنوي عالي ($P<0.01$) للمعاملة T3 على المعاملة T2 ومعاملة السيطرة في المدة 72،48،24 ساعة والتي قراءاتها (68.16±1.53, 57.35±1.61, 44.36± 1.36) على التوالي ، كما ولم تحصل فروق معنوية بين المعاملة T2 ومعاملة السيطرة في نفس المدد. . أما عن تأثيرالتداخل بين المخففات ومدد الحفظ في نسبة سلامة الغشاء البلازمي فقد أعطت النتائج تفوقا معنويا ($P<0.01$) عند الحفظ بالتبريد في نسبة سلامة الغشاء البلازمي للمعاملة T2 في المدة 96 ساعة من الحفظ وكانت قراءتها (76.54± 1.22) . التجربة الثانية فتضمنت ثلاث معاملات المعاملة الأولى السيطرة خصبت البويضات بواسطة الحيوانات المنوية المحفوظة بالتبريد لمدة 48 ساعة وغير المضاف لها أي مستخلص , و المعاملة الثانية خصبت البويضات بواسطة الحيوانات المنوية المحفوظة بالتبريد لمدة 48 مع مستخلص المورينجا بتركيز 3%, أما المعاملة الثالثة خصبت البويضات بواسطة الحيوانات المنوية المحفوظة بالتبريد لمدة 48 مع مستخلص الشبت بتركيز 3% . بينت نتائج الدراسة تفوق المخفف T3 ($P<0.05$) في النسبة المئوية للاخصاب للاسابيع الأول ، الثالث ، الثامن وكانت النسبة المئوية للاخصاب في المخفف الثالث (55.56 ، 50.00 ، 55.56) للاسابيع الاول والثالث والثامن على التوالي .وكانت نتائج الاخصاب المختبري تشير إلى تفوق المخفف T1 ($P<0.05$)في الأسبوع الرابع على المخفف الثالث كما تفوق في الأسبوع الأول على المخفف الثاني (50.00 ، 57.14) للاسابيع الاول والرابع على التوالي .أما المخفف T2 تفوق المخفف في الأسبوع الخامس على جميع المخففات كما تفوق في الأسبوع الرابع ($P<0.05$)على المخفف T3 (53.84، 53.84) للاسابيع الثاني الرابع الخامس على التوالي .فيما لم تحصل أي فروق معنوية بين المخففات الثلاثة T1 , T2 , T3 خلال الاسابيع الثاني ، السادس ، السابع .أدى استعمال المستخلص المائي

لأوراق الشبت إلى حصول فروق معنوية في نسبة الاخصاب المختبري مقارنه مع معاملة السيطرة ومعاملة استعمال المستخلص المائي لأوراق المورينجا .

Republic of Iraq

Mininstary of Higher Education an Scinentific Research

Almuthanna university/Agriculture college

Animal Production Department

Evaluation of adding aqueous extracts of dill and moringa plants to ram epididymal sperm under cryopreservation and in vitro fertilization conditions

A Thesis Submitted to

The Council of the Agriculture College/ for Al-Muthanna University in Partial Fulfillment of the Requirements the Degree of Master in Agriculturist Science/Animal Production

By

Ayman Ali Hassan AL-Dulimi

Supervised by

Prof. Dr. Ali Abdullah ALHag Obaid

2023 A,D **1445 H**

Abstract

The current study was conducted in the Graduate Studies Laboratory - College of Agriculture - Al-Muthanna University for the period from December 3, 2022 to March 9, 2023. Twenty-nine samples were used to study the evaluation of epididymal sperms of rams under cooling conditions at 5 °C for different periods (0, 96, 72, 48, 24) hrs. and its ability to fertilize the sheep oocytes after laboratory maturation. The study includes two experiments, the first experiment which included the evaluation of epididymal sperms of Iraqi rams, The aqueous extracts of the leaves of (moringa and dill) were prepared and stored in the refrigerator under 5˚to the time of use. The testes were obtained from the rams slaughtered in the local abattoir in Al-Muthanna Governorate immediately after slaughtering and transferred to the laboratory within a time of less than one hour to obtain the mature epididymal sperm from the tail of the epididymis, and they were diluted using Tris extender. The sample were divided into three treatments that: T1 is the control treatment(with Tris extender), T2 is (Tris extender + 3% of Moringa extrac), and T3(Tris extender + 3% of dill extract). The treatments were preserved under cooling conditions in the refrigerator at 5 °C to the periods of study . The sperm characteristics were evaluated includes individual motility, the percentage of live and dead sperm, the total abnormalities, and the integrity of the plasma membrane (HOST). The results of the study showed that there was a significant increase ($P<0.01$) in each of the moringa diluted and dill diluted T2, T3 compared to the control treatment in the overlap between the dilutions and the periods of

preservation in the percentage of live sperm in the preservation times of 96, 48, 24 hours of cryopreservation, whose readings are (88.59 ± 0.52, 83.69 ± 0.39, 74.42 ± 0.85) respectively for T2 and (87.94 ± 0.39, 82.86 ± 0.34, 76.11 ± 0.70) respectively for T3. While there was a high significant decrease ($P < 0.01$) in each of T2, T3 compared to the control treatment in the overlap between the dilutions and the periods of preservation in the percentage of dead sperm in the preservation times 96,48,24 hours of cryopreservation and its readings were (11.68 ± 0.41, 16.31 ±0.39, 25.57±0.85), respectively, for T2 treatment, and (12.05±0.39, 17.13±0.33, 23.84±0.70) respectively for T3 treatment, while no significant differences were obtained between T2 and T3 during the periods of 96, 48, and 24 hours in the ratio of Live and dead sperm. No significant differences were obtained between all treatments during the first hour of preservation. As for the effect of diluents and periods of preservation on the percentage of deformed sperm, the results of the study showed that there were no significant differences between treatments during the period 96 and 24 of cryopreservation. While there was a high significant decrease ($P<0.01$) in each of the moringa diluted and dill diluted T2, T3 compared to the control treatment in the percentage of deformed sperm in the periods of 1.48 hours, whose readings were (3.68 ± 1.15, 6.26 ± 0.23) respectively for the treatment T2. and (3.37 ± 0.13, 5.93 ± 0.24), respectively, for T3 treatment. As for the period of 72 hours, the results showed that there were significant differences between all treatments, and the T3 treatment excelled in this period, which read (7.15 ± 0.29). In general, we note the superiority of the T2 treatment in the percentage of deformed sperm. As for the effect of the interaction between the diluents and the periods of preservation in the percentage of individual movement of the sperm, the results of the study showed a high significant superiority ($P<0.01$)

of the T3 treatment over the T2 treatment and the control treatment in the period of 72, 48, and 24 hours. whose readings were (68.16 ± 1.53, 57.35 ± 1.61, 44.36 ± 1.36) respectively, and no significant differences were obtained between the T2 treatment and the control treatment in the same periods. . As for the effect of the interaction between the dilutions and the periods of preservation in the percentage of integrity of the plasma membrane, the results gave a significant superiority ($P<0.01$) when cryopreservation in the percentage of integrity of the plasma membrane of treatment T2 in the period of 96 hours of preservation, and its reading was (76.54 ± 1.22). The second experiment included three treatments, the first treatment was control, the eggs were fertilized by sperms cryopreserved for 48 hours without any extract added, and the second treatment was fertilized by sperms cryopreserved for 48 hours with Moringa extract at a concentration of 3%, while the third treatment the eggs were fertilized by animals Semen, cryopreserved for 48 days, with dill extract at a concentration of 3%. The results of the study showed the superiority of the T3 diluted ($P<0.05$) in the percentage of fertilization for the first, third, and eighth weeks, and the percentage of fertilization in the third diluted was (55.56, 50.00, 55.56) for the first, third, and eighth weeks, respectively. The results of in vitro fertilization indicated the superiority of the diluted T1 ($P<0.05$) in the fourth week over the third diluent, and in the first week it was superior to the second diluent (50.00, 57.14) for the first and fourth weeks, respectively. As for the T2 diluent, we note from the table that the fifth diluted was superior to all diluents, as it was superior in the fourth week. ($P<0.05$) on the diluted T3 (53.84, 53.84) for the second, fourth, and fifth weeks, respectively. While there were no significant differences between the three dilutions T1, T2, and T3 during the second, sixth, and seventh weeks.

The use of aqueous extract of dill leaves resulted in significant differences. Significant in the percentage of in vitro fertilization compared with the control treatment and the treatment of using aqueous extract of Moringa leaves.