جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة المثنى / كلية الزراعة

قسم الإنتاج الحيواني

تقييم تأثير أضافة مستويات مختلفة من مستخلص نبات البردقوش المائي والزيتي ومدد الحفظ على الصفات النوعية للنطف البربخية للثيران المضربه

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية الزراعة في جامعة المثنى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في العلوم الزراعية / الإنتاج الحيواني

من قبل الطالبة

مريم جبار مجباس البدري

بإشراف

أ.م. د غسان سمير دهيرب

1447هـ **2025م**

بسم الله الرحمن الرحيم

وَمِنْ آيَاتِهِ خَلْقُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَمَا بَثَّ فِيهِمَا مِن دَابَّةٍ ۚ وَهُوَ عَلَىٰ جَمْعِهِمْ إِذَا يَشَاءقدير

صدق الله العلي العظيم

سورة الشورى / الاية 29

بسم الله الرحمن الرحيم

اقرار المشرف

أشهد أن إعداد الرسالة الموسومة بـ (تقيم تأثير أضافة مستويات مختلفة من مستخلص نبات البردقوش المائي والزيتي ومدد الحفظ على الصفات النوعية للنطف البربخية للثيران المضربه) والتي تقدمت بها الطالبة (**مريم جبار مجباس**) قد جرى تحت اشرافي في جامعة المثنى / كلية الزراعة. وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الزراعة - قسم الإنتاج الحيواني.

المشرف: أ.م. د غسان سمير دهيرب

التاريخ : / / 2025

توصية رئيس القسم

(بناءً على توصية المقدمة من الاستاذ المشرف ارشح هذه الرسالة الى اللجنة لمناقشتها و بيان الرأي فيها)

أ.م.د احمد ريسان محمد علي

رئيس لجنة الدراسات العليا

لقسم الانتاج الحيواني- كلية الزراعة- جامعة المثنى

التاريخ : / / 2025

الإهداء

إلى من أرسله الله رحمة للعالمين... نبينا محمد وعترته أهل الدجى والعروة الوثقى اللذين اصطفاهم الله لحمل رسالته وتثبيت تعاليم دينه (صلوات الله عليهم أجمعين)

إلى أبي الحبيب ... قدوتي الحبيب. ومثلي الأعلى، نبض قلبي وبلسم فؤادي، إلى والدي أمد الله في عمره ومتعه بالصحة والعافية، كل كلمات الشكر والحب لا تفي حقك يا سيد الرجال، فأبنتك لازالت تكبر كل يوم وتزداد على مسامعها " هنيئاً لك بهذا الرجل أباً ".

إلى أمي الحبيبة إلى من علمتني معنى الإصرار وان لا مستحيل في الحياة مع قوة الإيمان، الى ينبوع العطاء المتفاني أقدم لك شكري وامتناني مدى عمري أمد الله في عمرك.

إلى أخواني وأخواتي رفقاء طفولتي وزهور بستان قلبي، كنتم أيادي الخير التي مدت لي لتعينني، وتذلل الصعاب أمامي، متعكم الله بالصحة وأدامكم لي.

إلى أخي واختي الصغيرين ... إلى أصغر براعم شجرة عائلتي، إلى روح المرح وسعادة البيت، أخوتي الصغار وأبنائي أحياناً..

أهدي لكم ثمرة جهدي ونجاحي .....

مريم

الشكر والتقدير

بسم الله الذي لا أرجو الا فضله ولا أخشى إلا عدله ولا اعتمد إلا قوله والصلاة والسلام على سيد الأنام نبينا المصطفى الأمين أشرف الأنبياء والمرسلين محمداً وعلى آله الطيبين الطاهرين وأصحابه الغر الميامين.

الحمد لله الواحد الأحد احمده ابلغ الحمد على جميع نعمه والشكر دائماً أبدا لما منحه لي نعمة الصبر الجميل وتوفيقه لي في التغلب على الصعوبات لإنجاز هذا العمل المتواضع وتسديده في نحو الصواب والخير طوال مدة البحث والدراسة وبعد أن وفقني الله تعالى وقد اتمت رسالتي هذه وأنا أضع اللمسات النهائية فيها وعرفاناً مني بالجميل والامتنان اتقدم بجزيل شكري وفائق احترامي إلى من زرعا بي هاجس الطموح واشراقة الأمل أستاذي الفاضل الدكتور غسان سمير دهريب لما بذل من جهد عظيم و لم يترك وسعا في سبيل إغناء رسالتي بعلمه الغزير ورأيه السديد فله مني عظيم امتناني وشكري وتقديري.

واجد لزاماً علي أن اتقدم بجزيل الشكر والتقدير الى عمادة كلية الزراعة – جامعة المثنى واخص بها الدكتور حيدر عبد الحسين محسن عميد الكلية والمعاون العلمي الدكتور حنون ناهي كاظم لرعايتهما الصادقة لي واود أن اتقدم بوافر الشكر وعظيم الامتنان الى دكتور هادي عواد حسوني و الدكتور أحمد جواد الياسري والدكتور علاء صالح جاسم لما بذلوه من جهود قيمه في سبيل اغناء رسالتي كما اتقدم بأسمى مشاعر المودة والتقدير والاحترام الى أساتذة قسم الإنتاج الحيواني والى رئيس القسم الدكتور احمد ريسان واخص منهم الدكتور جاسم قاسم مناتي لما بذله من جهود طيبة معي كما أتقدم بفائق الشكر والتقدير والاحترام الى الدكتور حسين علي دهيلي مسؤول شعبة المجازر في المثنى والشكر والتقدير لجميع صديقاتي ورفقاء دربي واخص منهم بالذكر صديقتي الدكتورة نوره كاظم شريف . وشكري وتقديري إلى كل من ساهم في انجاز هذه الرسالة.

الخلاصة

أجريت الدراسة الحالية في مختبر الدراسات العليا التابع الى قسم الانتاج الحيواني كلية الزراعة جامعة المثنى للمدة من9/15/ 2024 ولغاية 2025/2/21 وتم استعمال 57 عينة (الخصية كاملة) لدراسة تأثير إضافة المستخلصات المائية والزيتية من نبات البردقوش بتراكيز2%,1% لتقييم بعض صفات النطف البربخية لثيران المحلية تحت ظروف الحفظ بالتبريد عند درجة 5م خلال مدد مختلفة 96،72،48،24،0 ساعة. إذ تم تحضير كل من مستخلص الزيتي والمائي لنبات البردقوش وتم حفظهما في الثلاجة لوقت الاستخدام تم الحصول على الخصى من ذكور الثيران المذبوحة في المجزرة المحلية في محافظة المثنى بعد الذبح مباشرة ونقلت الى المختبر خلال وقت اقل من ساعة واحدة لحصول على النطف الناضجة من ذيل البربخ, اذ تم تخفيفها باستخدام مخفف Tris الذي تم تحضيره مسبقا. وتم تقسيم العينات الى خمسة معاملات هي معاملة السيطرة باستعمال مخفف Tris فقط وتضمنت المعاملة الثانية إضافة تركيز 1% مستخلص المائي للبردقوش الى مخففTris والمعاملة الثالثة أضيفت لها مستخلص المائي لنبات البردقوش بتركيز2%والمعاملة الرابعة تضمنت إضافة تركيز1% من مستخلص الزيتي للبردقوش الى المخفف Tris والمعاملة الخامسة تضمنت إضافة تركيز2% من مستخلص الزيتي لنبات البردقوش الى المخففTris . تم حفظ العينات تحت ظروف الحفظ بالتبريد في الثلاجة بدرجة 5م لفترات التي شملت عليها الدراسة وتم تقييم صفات النطف كل من الحركة الفردية والنسب المئوية للنطف الميتة والحية وفحص سلامة الغشاء البلازمي(HOST) وسلامة الجسم الطرفي(الأكرسوم) في الاوقات 96,72,48,24,0,ساعة من الحفظ في التبريد .فيما اظهرت النتائج في النسبة للحركة الفردية للحيامن في التداخل بين مخففات ومدد الحفظ حصول تفوق معنوي($P<0.05$) للمعاملةT4 على المعاملة T2 والسيطرة خلال الساعة الاولى من الحفظ وكانت قراءتها (73.90±3.43, 73.83±1.52, 81.73±1.15) على التوالي ,فيما لا توجد فروق معنوية بين T1,T2 خلال المدة نفسها. فيما حصل زيادة معنوية($P<0.05$) في النسبة المئوية للحيامن الحية لدى المعاملات T4,T5 في أوقات الحفظ 0,24ساعة مقارنة بمعاملة السيطرة لنفس الأوقات، فيما حصل انخفاض معنوي ($P<0.05$) في النسبة المئوية للحيامن الميتة في المعاملتين T4,T5عند الحفظ بالتبريد لمدة 96ساعة مقارنة بمعاملة السيطرة وكانت قراءتها (40.80±1.30, 29.70±0.43, 34.41±4.58) على التوالي. أما عن تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في النسبة للحيامن المشوهة أظهرت النتائج عدم حصول فروق معنوية ($P<0.05$) في المعاملة T1خلال الساعة الاولى من الحفظ بالتبريد. فيما حصل انخفاض معنوي ($P<0.05$) لدى كل من مخفف الزيتي للبردقوش بتركيز 1%،2% T4,T5 مقارنة بمعاملة T2, ومعاملة السيطرة في النسبة المئوية للحيامن المشوهة في المدد 48,72 ساعة وكانت قراءة متوسطاتها (21.36,

28.13) للمعاملة T4على التوالي, 24.93, 30.40)على التوالي للمعاملة T5.كذلك أدت زيادة إضافة المستخلصات الزيتية للبردقوش حصول تفوق معنوي ($P<0.05$) في النسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي عند الحفظ بالتبريد لمدد 72,96ساعة مقارنة بالمعاملة السيطرة لنفس الأوقات, فيما لم تحصل فروق معنوية بين المعاملة T2,T3 لأوقات الحفظ نفسها . أما عن تأثير التداخل بين المخففات ومدد الحفظ في نسبة سلامة الجسم الطرفي(الأكرسوم) فقد اظهرت النتائج تفوقا معنويا ($P<0.05$) للمعاملة المستخلص الزيتي للبردقوش T4في المدد0,24,72,96 ساعة من الحفظ بالتبريد.

قائمة المحتويات

التسلسل	العنوان	الصفحة
	الخلاصة	هـ
الفصل الأول	المقدمة	1
الفصل الثاني	مراجعة المصادر .**Review of literature**	4
1.2	أنتاج الخلايا النطفية	4
2.2	الحفظ بالتبريد	7
1.2.2	أهمية الحفظ بالتبريد	8
2.2.2	اضرار التبريد على النطف	9
3.2.2	العوامل المؤثرة على حيوية الحيوانات المنوية اثناء التبريد	10
1.3.2.2	صدمة البرودة	10
2.3.2.2	تركيز ايون الهيدروجين PH	11
3.2	دور المخففات لحفظ السائل المنوي	12
4.2	الإجهاد التأكسدي	14
5.2	الجذور الحرة	16
1.5.2	اضرار الجذور الحرة	17
6.2	دور مضادات الأكسدة في حفظ السائل المنوي	18
1.6.2	تصنيف مضادات الأكسدة	19
1.1.6.2	مضادات الأكسدة الأنزيمية	19
2.1.6.2	مضادات الأكسدة الغير الأنزيمية	21
7.2	الأنواع الأوكسجين التفاعلي	23
1.7.2	مصادر أنواع الأوكسجين التفاعلي في السائل المنوي	24
2.7.2	تأثيرات أنواع الأوكسجين التفاعلي في النطف	25
8.2	النبتات الطبية	26
1.8.2	نبات البردقوش	28
1.1.8.2	الوصف الخارجي لنبات البردقوش وانتشاره	28
2.1.8.2	التصنيف العلمي لنبات البردقوش	29

3.1.8.2	أهمية نبات البردقوش واستعمالاته العامة	30
4.1.8.2	التركيب الكيميائي لنبات البردقوش ومحتواه من العناصر المعدنية	32
5.1.8.2	المركبات الفعالة لنبات البردقوش	32
1.5.8.2	المركبات الفينولية	32
2.5.8.2	الفلافونيدات	33
3.5.8.2	التانينات	34
4.5.8.2	القلويدات	34
6.1.8.2	تأثير استعمال أوراق البردقوش في حفظ السائل المنوي	35
	الفصل الثالث	38
3	المواد وطرائق العمل Materials and Methods	38
1-3	موقع التجربة	38
2-3	جمع النبات	38
3-3	تحضير مستخلصات النباتية	39
4-3	جمع الخصى ونقلها	41
5-3	جمع الحيامن	41
6-3	تحضير المخففات لتبريد الحيامن	42
7-3	تحضير المخفف بإضافة المستخلصات المائية والزيتية لنبات البردقوش	42
8-3	اجراء الفحوصات للمعاملات	44
1-8-3	الحركة الفردية	44
2-8-3	نسبة الحيوانات المئوية الحية	45
3-8-3	النسبة المئوية للنطف المشوهة	46
4-8-3	اختبار سلامة الغشاء البلازمي	46
5-8-3	فحص سلامة الجسيم الطرفي(الأكرسوم)	48
9-3	التحليل الاحصائي	50
	الفصل الرابع	52
	النتائج والمناقشة Result and Desiccation	52
1.4	تأثير المستخلصات على الحركة الفردية، نسبة الحيامن الحية والميتة،المشوهة، سلامة الغشاء البلازمي وسلامة الجسم الطرفي	52
2.4	تأثير مدد الخزن على الحركة الفردية، نسبة الحيامن الحية والميتة،المشوهة،	56

	سلامة الغشاء البلازمي وسلامة الجسم الطرفي.	
3.4	تأثير المستخلصات و مدد الحفظ في نسبة المئوية للحركة الفردية للحيامن .	60
4.4	تأثير المستخلصات و مدد الحفظ في نسبة المئوية للحيامن الحية.	63
5.4	تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في النسبة المئوية للحيامن الميتة.	66
6.4	تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في نسبة المئوية للحيامن المشوهة .	69
7.4	تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في نسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي .	72
8.4	تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في نسبة المئوية لسلامة الجسم الطرفي.	75
	الفصل الخامس	78
5	الاستنتاجات والتوصيات	78
1.5	الاستنتاجات Conclusions	78
2.5	التوصياتRecommendations	79
	الفصل السادس	80
6	المصادر	80
1.6	المصادر العربية	80
2.6	المصادر الأجنبية	82

قائمة الجداول

رقم الجدول	العنوان	رقم الصفحة
1.2	التركيب الكيميائي لنبات البردقوش	32
1.3	الحركة الفردية للنطف ونسبتها	44
2.3	الأدوات والأجهزة المستعملة في الدراسة	51
1.4	تأثير المستخلصات على الحركة الفردية، نسبة الحيامن الحية والميتة،المشوهة، سلامة الغشاء البلازمي وسلامة الجسم الطرفي	55
2.4	تأثير مدد الخزن على الحركة الفردية، نسبة الحيامن الحية والميتة،المشوهة، سلامة الغشاء البلازمي وسلامة الجسم الطرفي.	59
3.4	تأثير المستخلصات و مدد الحفظ في نسبة المئوية للحركة الفردية للحيامن .	62
4.4	تأثير المستخلصات و مدد الحفظ في نسبة المئوية للحيامن الحية.	65

5.4	تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في النسبة المئوية للحيامن الميتة.	68
6.4	تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في نسبة المئوية للحيامن المشوهة .	71
7.4	تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في نسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي .	74
8.4	تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في نسبة المئوية لسلامة الجسم الطرفي.	77

قائمة الأشكال والمخططات

رقم الشكل او المخطط	العنوان	رقم الصفحة
1	أزهار وأعشاب نبات البردقوش	29
2	عملية استخلاص لنبات البردقوش	40
3	عملية ترشيح المستخلص المائي والزيتي لأوراق نبات البردقوش	40
4	طريقة عزل المستخلص المائي والزيتي عن الشوائب بواسطة جهاز الطرد المركزي	41
5	مخطط التجربة	43
6	النطف الحية والميتة	45
7	النطف المشوهة	46
8	فحص سلامة الغشاء البلازمي	47
9	النطف ذات الجسم الطرفي السليم	49

قائمة المختصرات

Adenosine triphosphate	**ATP**
Catalase	**CAT**
Reactive oxygen species	**ROS**
Superoxid Dismutase	**SOD**
World Health Organization	**WHO**

الفصل الأول

المقدمة Introduction

تعد الثروة الحيوانية من القطاعات الحيوية التي تمثل دعم رئيسي للاقتصاد الوطني والامن الغذائي في جميع انحاء العالم، خاصة تلك التي تعتمد على الزراعة كمصدراً رئيسياً للدخل اذ تساهم هذه الثروة في تنويع مصادر الدخل القومي (محمد محمد، واخرون,2022). ما ادى من زيادة تقنيات الحديثة لزيادة من حجم الاستثمار الانتاج الحيواني خلال توفير سلالات تتميز بقيمة اقتصادية عالية لتحسين جوده المنتجات الحيوانية (Atsan واخرون،2007). وتعد الابقار مهمة في جميع بلدان العالم لأهميتها الاقتصادية لأنها توفر دعم للثروة الحيوانية بمنتجاتها العديدة أهمها الحليب واللحوم وايضا وعدها المصدر الاكبر المنتج للحليب في العالم (عبد القادر وجهاد، 2022). وتشكل الثيران مصدرا اقتصاديا مهما اذ تستخدم لأنتاج اللحوم وجلود كما تعد مصدراً اساسياً لبروتين الحيواني في الأسواق العالمية، ويعتمد عليها في تحسين السلالات من خلال التلقيح الاصطناعي وذلك بهدف تحسين نسل القطيع من حيث النمو وجودة اللحوم او كمية الحليب المنتجة، كما تستخدم في برنامج التربية التقليدية ما يجعلها مهمة للضمان استمرارية القطيع وتطويره وراثيا (Atsan واخرون،2007).

تعد الكفاءة التناسلية (Reproductive Efficiency)من الصفات الاقتصادية وأحد الخصائص المهمة في تحديد مدى فعالية الثيران في برامج الاخصاب وتحسين الإنتاج الحيواني (الحلبوني والمسموح,2022). ومن المشاكل التناسلية في الأبقار التي توثر سلباً على الكفاءة التناسلية إما أن تكون هذه المشاكل التناسلية خلقية أو مكتسبة إذ تم ملاحظتها في الأبقار اهمها التكيس للمبايض واضطرابات عنق الرحم وقناة فالوب لوصفها من أكثر المشاكل التناسلية، وتؤدي ممارسات التربية غير السليمة بعد الولادة وغير الصحية إلى إصابة الأبقار بالعدوى والعوامل غير الطبيعية لإدارة مختلف الأبقار، وأداء الحاجة إلى نهج وقائي من خلال اشتراك التقنيات التناسلية الحديثة لتشخيص السليم وتحسين المشاكل التناسلية المختلفة التي تصيب الأبقار(Ntemka ; 2005, AgarwauI واخرون، 2018). أما بالنسبة للذكور فيعد العقم من المشاكل الرئيسية إذ يسبب خسائر اقتصادية في الثروة الحيوانية وبتالي انخفاض الخصوبة بسبب ضعف جودة السائل المنوي (Kasai,M،2002).

وتعد عملية الحفظ بالتبريد للسائل المنوي والتلقيح الاصطناعي ذات تأثير ايجابي ومهم على انتاج الماشية وجوده المنتج، ،وعلى الرغم من تقدم الحفظ بالتبريد للحيوانات المنوية للثيران الا ان لا تزال وجود فجوات لقواعد المعرفة التكنولوجيا، وهذا تشكل النقاط الضعيفة التي تمنع من تقدم كل من العلوم الأساسية والتكنولوجيا الحيوية الانجابية, وبالتالي تم تطوير العديد من المخففات واستكمالها بالمواد

الكيميائية لتقليل الضرر الناتج عن التبريد او الاجهاد التأكسدي لتحقيق مستويات متفاوتة من النجاح(Majeed،2019).

يُعتبر نبات البردقوش من الأعشاب العطرية المعمرة المنتشرة في مناطق مختلفة من آسيا وأوروبا، وخصوصًا في حوض البحر الأبيض المتوسط. ويتميز هذا النبات باحتوائه على مجموعة من المركبات الفعالة، مثل المركبات الفينولية، الفلافونويدات (Farouk,s واخرون , zar واخرون ,2019).

أستخدامات نبات البردقوش عديدة إضافة إلى استخدامه في خفض الكوليسترول وتنشيط الجهاز المناعي وتقليل من تصلب الأوعية الدموية (Raina واخرون , 2012). ويعد البردقوش نبات عطري يحتوي على نواتج ايضية مفيدة لتكاثر الحيوانات ونموها (أحمد عبد العاطى واخرون , 2023).

ويحتوي على مركبات الفينولية وزيوتها تتميز بخصائصها المضادة للأكسدة وعلى الثيمول كمضاد للبكتيريا، إضافة الى دوره كمكمل غذائي للكفاءة الجنسية وسائل المنوي (Banana واخرون، 2020).

هدفت الدراسة الحالية إلى

معرفة تأثير إضافة تراكيز مختلفة من المستخلصات المائية والزيتية لأوراق نبات البردقوش (*Origanum_majorana*) الى مخففات السائل المنوي المحفوظ عند درجة حرارة 5م°خلال مدد الحفظ المختلفة في بعض صفات السائل المنوي للثيران المضربة.

الفصل الثاني

مراجعة المصادر Review of literature

2-1أنتاج الخلايا النطفية

إن عملية تكوين الحيوانات المنوية والحفاظ عليها تعد عملية معقدة تحدها مجموعة كبيرة من المسارات التنظيمية، لتنظيم نمو الخصية وتكوين الحيوانات المنوية بطريقة محدده لكل مرحلة(Wang,2024). إذ يتم انتاج الحيوانات المنوية داخل الانابيب المنوية للخصية بعد النضج الجنسي (Chen واخرون, 2019).

خصوبة الذكور تعتمد على نجاح تكوين الحيوانات المنوية ويتم تكوين هذه العملية بحدوث أربعة انقسامات تستغرق هذه الانقسامات من بداية تكون الخلايا حتى انتاج الحيوانات المنوية الناضجة 60 يوما لتكون محصلتها النهائية 16 خلية ابتدائية أولية بعدها يحصل انقسام اختزالي لكل خليها ابتدائية اولية الى خليتين ثانويتين تحتوي على نصف العدد من الكروموسومات، وبعدها تنقسم كل خلية منوية ثانوية الى خليتين ثم تتطور هذه الخلية مكونه النطف (James واخرون , 2020).

ومن ثم تتكون هذه النطف من الرأس الذي يكون بشكل بيضوي يمثل نواة الخلية وجسم النطفة الذي يتكون من القطعة الوسطية، والذيل الذي يكون دوره في دفع النطف الى الامام، والنطف بعد تكوينها تنتقل الى الشبكة الخصوية وبعدها تصل إلى البربخ (Epididymis) من خلال قنوات الناقلة وان دوره الرئيسي هو نضج النطف وتصبح جاهزة للأخصاب (fang واخرون، 2023) اذ يعد البربخ (Epididymis) قناة شديدة الالتواء تمتد من الخصية إلى الاسهر تتكون من أنبوب وحيد شديد التعرج ويكون طوله 30 م عند الثيران تقديريا وعند الكباش 50 م والخنزير 20 م و بصوره عامة وظيفته نقل الحيامن من الخصية الى الاسهر عند الذكور النشيطة جنسيا ، ومعروف أن البربخ يؤدي دوراً مهما في نقل الحيوانات المنوية وتركيزها ونضجها والحماية المناعية وتخزينها ،ويعرف بأنه عبارة عن أنبوب طويل معقد للغاية، ويتكون من ثلاثة مناطق رئيسية هي الرأس ،والجسم والذيل لكل منهما خصائص وظيفية فردية(capra,2023 و Leir واخرون، 2024).

الرأس يكون عبارة عن مساحة مسطحة عند قمة الخصية، أما الجسم البربخ فيكون على طول المحور الطولي للخصية وهو قناة مفرده تنتهي بذيل البربخ وتكون قناة الملتفة بحدود 34 م في الثور واطول من ذلك في الكبش، يبدا انتقال الحيامن أولاً إلى الشبكة الخصوية وبعدها تصل وتنضج في البربخ وتكون ناضجة وجاهزة لاختراق البويضة بعد خضوعها لعملية التكيف للحيوانات المنوية (Browne واخرون،

2016). اذ يعرف التكيف(Capacitation) هو عملية نضج الحيوانات المنوية داخل الجهاز التناسلي الانثوي وذلك لان الحيوانات المنوية مغطاة بعدد من البروتينات وهذا البروتينات تعمل على اعاقة الحيوان المنوي في عملية الاخصاب، أي أن للبلازما المنوية العديد من العوامل مضادة للتكيف أهمها هذه البروتينات التي تمنع عملية الاخصاب وذلك يجب ان تدخل الحيوانات المنوية مرحلة التكيف لإزالة بعض هذه البروتينات لوجود بعض الانزيمات في الجهاز التناسلي الانثوي لتكون لها القابلية على حدوث التغيرات في الحيوان المنوي الذي يؤثر في المحيط الحيمن وتعمل على تفكيكها وإزالتها وبعدها يتحول الى حيوان منوي مخصب (Browne واخرون، 2018).

ومن المعروف عن الحيوانات المنوية هي خلايا غير ناضجة وغير قادرة على تخصيب البويضة بعد ان تغادر الخصية، ثم تنتقل الحيوانات المنوية على طول البربخ وذلك لاكتساب القدرة على الحركة والاخصاب وهذا التغيرات الملحوظة في البروتين تحدث خلال نضوج البربخ (Gao واخرون، 2020). كما وضحت الدراسات ان الحيوانات المنوية تحتوي على بروتينات وحمض نووي رايبوزي ودهون خارج الخلية التي تعززها الخلايا الظاهرية المبطنة لجهاز التناسلي الذكري (Barrachina واخرون ،2022).

2.2 الحفظ بالتبريد Cryopreservatio

على مدى العقود الماضية برزت تقنيات الحفظ بالتبريد تقدما سريعا وقد ادى هذا التقدم إلى تأثير كبيرا في العديد من المجالات، ولعل أهمها مجال الطب الانجابي، منذ تحقيق نجاح أولي إلى حفظ الحيوانات المنوية بالتبريد ثم استخدامه الأن بشكل واسع لحفظ الحيوان المنوي (Vajta وKuwayama ،2006 ; Nordstoga ،2010). ويمكن اعتبار عملية الحفظ بالتبريد للحيوانات المنوية أهم الإجراءات لتكاثر المساعد لدى بعض الحيوانات وتطور التكنولوجيا الحيوية. (Baghshahi واخرون, 2014 و Yanez-ortiz 2016) أذ تم استخدام تقنية حفظ الأمشاج بالتبريد إلى جانب التقنيات لوصفها تقنية نقل الأجنة، للحفاظ على المتغيرات الجنينية في الحيوانات، وتربية وتكاثر الحيوانات في المزارع، وعلاج للعقم، إضافة الى اعتبار عملية الحفظ بالتبريد وسيلة للحفاظ على الأنواع المهددة بالانقراض، ومع تطور العديد من التقنيات القائمة أصبح الحفظ بالتبريد تقنية أكثر أهمية في العلوم البايلوجية، والطب والزراعة (Kasai، 2002 و Faigl واخرون، 2012).

فيما تبين للحيوانات المنوية المحفوظة بالتبريد لها عمر أقصر بكثير داخل الجهاز التناسلي الانثوي إذا قورنت مع السائل المنوي الطازج، إضافة إلى الحيوانات المنوية المحفوظة بالتبريد يمكنها اختراق

البيوض بسرعة أكبر من الحيوانات المنوية غير المحفوظة (Curry واخرون، 2000) .ما تم استخدام عملية الحفظ بالتبريد كطريقة للحفاظ على الخصوبة (Daramola ،2016 و Hezavehei، 2018).

لحماية الحيوانات المنوية أثناء التبريد من الصدمة البرودة تم استخدام المخففات التي لها دور كبير في سلامة الغشاء البلازمي، والاكرسوم وحالة موت الخلايا، ونشاط المايتوكندريا للحيوانات المنوية بعد اذابتها (Cseh، واخرون، 2012 و Emamverd 2013). لذلك من الضروري استعمال المخففات لأجل الاحتفاظ بخصوبة الحيوانات المنوية تحت ظروف الحفظ بالتبريد (Florin ,2013 و Raheja ,2018). كما اظهرت الدراسات ان السائل المنوي المحفوظ بالتبريد في المجترات يعاني من ضعف الخصوبة إذا قارنه مع السائل المنوي الطازج (Wongtawan ،2006) كذلك هناك أسباب متعددة لفقدان الخصوبة منها تعرض السائل المنوي للصدمة البرودة (Saha واخرون ، 2022).

وعلى الرغم عملية التبريد تعتبر فعالة ووسيلة ناجحة للتخزين لكنها لا تخلو من التأثيرات السلبية على السائل المنوي إذ تؤدي إلى انخفاض قابلية البقاء وانخفاض الحركة ومعدلات الحمل (Wongtawan،2006 ; Dorado،2010 وLemma ،2011)

كما يمكن عد تقنية الحفظ بالتبريد للحيوانات المنوية تقنية معقدة في اللبائن تتطلب توفير توازن مناسب بين العديد من العوامل للحصول على نتائج مثالية، إضافة الى احتواء حيوانات المنوية لدى الكباش داخل الغشاء النطف على نسبة منخفضة من الكوليسترول إذا قورنت بأنواع الاخرى (Barbas واخرون، 2009).

2-2-1 اهمية الحفظ بالتبريد:-

على مدى السنوات الماضية، تطورت تكنولوجيا التبريد للسائل المنوي اذ تم زيادة استخدام السائل المنوي المبرد بسبب النسبة العالية من الحيوانات تستجيب حيواناتها المنوية بشكل سيء لتجميد لذلك تكنولوجيا السائل المنوي المبرد أصبحت ذات أهمية كبيرة عندما يتمكن مربي من المحافظة على خصوبة السائل المنوي خلال ايام وقابل للنقل ومن ثم كلما طالت مدة خصوبة السائل المنوي المحفوظ بالتبريد أصبح من السهل على المربي تحديد توقيت التلقيح الاصطناعي (Kuleshova واخرون، 2002). كما يعتمد نجاح السائل المنوي المبرد المستخدم للتلقيح على عوامل المؤثرة أهمها درجة الحرارة الحفظ وتركيب المخفف (Batellie, واخرون،2001 و Rabadán،2013).

اذ أصبح استخدام السائل المنوي المبرد بطريقة روتينية للمحافظة على الخصوبة وتكون متماثلة تلك الخصوبة الموجودة في السائل المنوي الطازج (Aurich واخرون،2005 و wiebke ،2022).

ومن اهم العوامل التي تؤثر على عملية تبريد الحيوانات المنوية يحتاج اخذ بها بالتفصيل، وهذا العوامل يمكن أن تسبب تأثيراً سلبياً على نتائج التبريد (Jiménez-Rabadán واخرون، 2013). يمكن تسليط الضوء على العديد منها، أهمها النوع وطريقة جمع الحيوانات المنوية وموسم الجمع إضافة إلى نوع المخفف ومعدل التبريد، مدة التعادل ومعدل سرعة التبريد (Leibo، 2002).

2-2-2- اضرار التبريد على النطف

تعتبر تقنية الحفظ للسائل المنوي بالتبريد من اهم التقنيات الفعالة لتحسين برامج التربية في الحيوان لكنها تؤدي الى تغيرات شكلية تؤثر على حيوية النطف وتدمر اغشيتها وقدرتها الوظيفية(Chelucci، 2015). مما ادى الى استخدام المخففات الحيوانية منها صفار البيض لحماية النطف خلال عملية التبريد وحماية اغشيتها من الصدمة الباردة والاجهاد التأكسدي (PapaFO واخرون، 2011).

الضرر الأول الناتج عن التبريد هو الغشاء البلازمي للنطف اي تغيرات هذا الغشاء تؤدي الى تغير النفاذية وضعف حيوية النطف (Bailey، 2003). فيما تعتمد حساسية الغشاء البلازمي على محتواه من البروتين والدهون والاحماض الدهنية الغير مشبعة ونسبه الكوليسترول وتختلف هذه المكونات باختلاف انواع الحيوانات (Medeiros واخرون، 2002).

واشار (Meseguer، 2004) ان نسبة الكولسترول في الغشاء البلازمي لنطف الانسان والارانب تكون أكبر وشديدة المقاومة الى عمليه الحفظ بالتبريد عند مقارنتها مع النطف الكباش يكون فيها الكولسترول منخفض وتصبح اقل مقاومة لعملية الحفظ بالتبريد , لا يبدو ان ارتفاع في نسبة الكوليسترول يحمي الحيوانات المنوية من التلف الناتج عن التبريد, كذلك قابلية الحيوانات المنوية باختلاف انواع الثدييات الاخرى للتلف الناتج عن التبريد ترتبط بالأحماض الدهنية المشبعة مقابل الاحماض الدهنية الغير مشبعة اضافة الى انخفاض في محتوى الكوليسترول.

ان عملية الحفظ بالتبريد للحيوانات المنوية تسبب ضرراً ملحوظاً يمكن اكتشافه بسهولة في المختبر للتغيرات في حركة الحيوانات المنوية وقابلتها للبقاء وسرعتها، وفي نفس الوقت هذا التقنية تسبب ضررا أكثر دقة وأقل فتكا في الحيوانات المنوية التي تبقى متحركة بعد الحفظ بالتبريد، هذا يؤثر سلباً على تفاعل الأكرسوم وتأثيره على وظيفة المايتوكوندريا (Boitrelle واخرون،2012).

3-2-2 العوامل المؤثرة على حيوية الحيوانات المنوية اثناء التبريد

1- صدمة البرودة

عند تبريد الحيوانات المنوية تحدث تغيرات عديدة خلال درجة الحرارة الفسيولوجية الطبيعية وهذه المسببات تؤدي الى الكثير من الاضرار التي تصيب الغشاء الخلوي، ولها تأثيرات وظيفية أهمها التغير في التمثيل الغذائي والتغير في تنظيم مكونات الغشاء البلازمي (Pinho، 2014).

أن التعرض لصدمة البرودة تؤدي الى التغير في شكل الغشاء الدهني ويظهر عليه على شكل غشاء دهني أكثر صلابة وانخفاض سيولته وهذا يؤدي الى تلف غشاء الاكروسوم اثناء تحرر الانزيمات والدهون الفوسفاتية مع انخفاض في نشاط النطف (Trout،2012و Ashrafl واخرون،2019).

أما فيما يخص تعرض الحيوانات المنوية لصدمة البرودة فأنها تختلف باختلاف أنواع الذكور, في الانسان والقطط والكلاب و الخيول تكون أقل تأثير بصدمة البرودة، في حين الحيوانات المنوية للثيران والماعز والكباش يكون حساسيتها متوسطة، أما الحيوانات المنوية للخنازير تكون حساسة للغاية بصدمة البرودة، وهذا بسبب نطف الحيوانات لهذا الأنواع تختلف بمحتويات الغشاء البلازمي للدهون المفسفرة، أي مرونة عالية للغشاء ويكون أكثر تحملاً لصدمة البرودة ، كذلك تعتمد مرونة الحيوانات المنوية على نسبة الكوليسترول اي كلما زادت نسبة الكوليسترول زادت مرونة الغشاء البلازمي(Yangواخرون، 2022).

2- تركيز أيون الهيدروجين PH

إن التغيرات التي تحدث في السائل المنوي تؤدي إلى أضرار خلوية للحيوانات المنوية، وذلك من اجل الحفاظ على حيوية الحيوانات المنوية وقدرتها على الاخصاب، من الضروري توفير البيئة المناسبة لها بواسطة السيطرة على تغيرات ال PH في ظروف التبريد، لذلك يعد تخفيف السائل المنوي بمخففات ملائمة عامل مهم جدا تؤثر على بقاء الحيوانات المنوية عند التبريد (Morse-Wolfe، 2023)

فضلا عن ذلك أن صفات المخفف المثالي يفضل ان يكون PH مائل الى التعادل وقابلية ذوبانه في الماء عالية وقابلية ذوبانه في المذيبات الأخرى تكون عند الحد ادنى وتأثيرات الملح تكون فيه قليلة اما تأثير درجة الحرارة فتكون معدومة إضافة إلى قوة ايونية أكبر (Daigneault، 2012). وأوضحت الدراسات ان تركز الاس الهيدروجين لمخفف تكون مهمة جداً إلى حد كبير في تنفس وحركة الحيوانات المنوية للثيران، اضافة الى امتصاص الاوكسجين من قبل الحيوانات المنوية للثيران وحركة الخلية المنوية هي اقصى حد خلال 7.2 (Fahad، 2012).

وذكر (Nunes واخرون(2024) أن زيادة درجة الرقم الهيدروجيني للوسط من 7 الى 8 سوف يحفز حوالي 50% من نطف ذيل البريخ لتصبح أكثر قدرة على الحركة. فيما تبين أن اختلاف في PH يوثر على حيوية وحركة الحيوانات المنوية ونشاط المايتوكوندريا على النطف للثيران مباشرة بعد إكمال عملية التخفيف، كما أشارت الدارسات أن حركة الحيوانات المنوية تكون اعلى عند PH تساوي 7.5 واقل حيوية عندما تكون 6.5، فيما الزيادة في معدل Ph لها تأثير على نشاط المايتوكوندريا (Rivera واخرون، 2001).

3-2 دور المخففات لحفظ السائل المنوي

يعتمد نجاح برنامج التلقيح الاصطناعي على الإدارة السليمة لجمع السائل المنوي وتخزينه واستخدامه، لذلك تم استخدام المخففات لزيادة حجم السائل المنوي (Leboeuf واخرون،2000). ولحل مشكلة التفاعل الضار بين بلازما سائل المنوي ووسائط الحفظ، تم ايجاد مخففات فعاله لتخزين السائل المنوي اهمها صفار البيض لاحتوائه على مواد تحمي النطف من صدمة البرودة واطالة مده الحفظ (Leboeuf، 2000و Len واخرون،2008).

أن أهم دور تقوم بها المخففات المستعملة في حفظ السائل المنوي هو تحسين نوعية الحيوانات المنوية بعد الاذابة كما تعمل على تقليل الاثار الضارة الحاصلة للنطف نتيجة الحفظ بالتبريد او التجميد لفترة طويلة، وذلك من خلال توفير بعض الصفات المهمة في المخففات منها احتواء المخفف على العناصر الغذائية سهلة التمثيل إضافة الى الضغط الازموزي متعادل وpH قريب الى التعادل، وكذلك تعمل على تخفيف كثافة البلازما المنوية مع تزايد الحيوانات المنوية بالمواد الغذائية ومضادات الميكروبات(pernas،2023).

وأن أهم المخففات التي استخدمت هو مخفف الفوسفات الذي يعتبر مصدرا للفوسفولبيد، بعدها تطورت العديد من المخففات اهمها صفار البيض يستخدم بوصفه مخففات للسائل المنوي للكباش مع سكر الكلوكوز والفركتوز ثم توسع الاستخدام لمخففات اخرى، منها الحليب والسكروز واللاكتوز والTris واسترات الصوديوم وتكون قابليتها للحفظ النطف مختلفة، وبالتالي تحقيق الهدف من استخدام المخففات هو حماية النطف من التأثيرات المميتة وتقليل الاضرار التي تتعرض لها اثناء عملية الحفظ بالتبريد (Salomon واخرون، 2000).

وتلعب المخففات دورا مهما في الحفاظ على سلامة النطف وزيادة الخصوبة بسبب احتوائها على المضادات البكتيرية والحد من التلوث الميكروبي للنطف (Gordon، 2004 و Saieed، 2018).

كذلك تحتوي المخففات على المواد اللازمة للحيوان المنوي أهمها الاحماض الأمينية والفركتوز والفيتامينات، التي توفر الطاقة الكافية للحيوان المنوي والتحرك تدريجيا (Bohlooli، 2012). وتبين إضافة 15% من الحليب منزوع الدسم الى مخففات صفار البيض، يؤدي زيادة قدرة الحيوانات المنوية للثيران والبقاء على قيد الحياة لمدة يومين عند درجة حرارة 5 درجات مئوية (Arif واخرون، 2022).

أن المخفف الجيد يجب ان تتوفر به المتطلبات الآتية لحفظ النطف أثناء التخزين:

1 - يوفر العناصر الغذائية اللازمة لأيض الحيوانات المئوية واحتوائها على مصدر طاقة مناسب (Zhang، 2009).

2 - يوفر حماية كافية للحيوانات المنوية من التلف أثناء التبريد أذ يحافظ على السائل المنوي من الأضرار لاحتوائه على المضادات الحيوية ومنع العدوى البكتيرية (Hasan، 2001)

3- حماية الحيوانات المئوية اثناء التبريد من صدمة البرودة (Cold Shock) وأن يكون متعادل ازموزيا مع السائل المنوي ويحتوي على مضادات التلوث (.Leon،2024).

4-2 الإجهاد التأكسدي (Oxidative stress):-

الاجهاد التأكسدي بأنه حالة عدم توازن بين الجذور الحرة وأنظمة الدفاع المضادة للأكسدة , وذلك يحصل اضطراب في عمل مضادات الأكسدة , أو نتيجة تعرض الخلية لمستوى عالي من الجذور الحرة أو كلاهما (zadak، 2009) ، ويعرف ايضا هو عملية فسيولوجية طبيعية تتغلب جذور الأوكسجين الحرة فيها على استراتيجيات تتخلص من مضادات الأكسدة وبعدها يحصل اختلال بالتوازن بين أنواع (Ros) ومضادات الأكسدة (Chaiyakunapruk واخرون، 2006) ، وبتالي يرفع الاجهاد التأكسدي من مستويات أنواع الأوكسجين الفعالة (ROS) والتي تسمى أيضاً بالمؤكسدات ، أي زيادة في تراكيز الجذور الحرة الفعالة مثل جذر الهيدروكسيل وبيروكسيد Superoxide radical وجذر سوبر اوكسيد و الهيدروكسيل الهيدروجين الى درجة تفوق قدرة مضادات الأكسدة وتخلص منها, ما تسبب تأثيرات سامة وخلل في وظائف اعضاء الجسم(Kaltsas ،2023)

أن تأثير الإجهاد التأكسدي على الحيوانات المنوية هو نتيجة لاختلال التوازن بين أنواع الأوكسجين التفاعلية ومضادات الأكسدة في الجسم، ما يؤدي إلى تلف الحيوانات المنوية وتشوهها وفي النهاية العقم عند الذكور، وعلى الرغم من أن التراكيز العالية من أنواع الأكسجين التفاعلية تسبب أمراض الحيوانات المنوية (استنزاف ثلاثي فوسفات الأدينوسين مما يؤدي إلى عدم كفاية فسفرة المحور العصبي، وأكسدة

الدهون، وفقدان الحركة والحيوية (Gonsalves واخرون، 2010). إلا أن العديد من الأدلة تثبت أن التراكيز المنخفضة من الأنواع الأوكسجين التفاعلية تلعب دورًا مهما في العمليات الفسيولوجية للحيوانات المنوية مثل التكيف، وتفاعل الأكروسوم، وعمليات الإشارة لضمان الإخصاب، وقد ثبت أن إضافة مضادات الأكسدة إلى مخفف التجميد أو التبريد يوفر تأثيرا وقائيا على جودة الحيوانات المنوية لدى الثدييات (Bernardo واخرون، 2023).

لوحظ أن القدرة الاخصابية للذكور حساسة للغاية للاجهاد التأكسدي الناتج عن اختلال التوازن لأنواع الأوكسجين التفاعلية(Ros)، الذي يؤثر بشكل كبير على جودة الحيوانات المنوية، بما فيها الحركة وسلامة الحمض النووي مما يسبب العقم للذكور (Walke,G،2023). ومن ثم حدوث خلل في وظائف الحيوانات المنوية يكون تحت تأثير الإجهاد التأكسدي، وخلل في الميتوكوندريا مما يعمل على تعطيل التعبير الجنيني الضروري لتكوين الحيوانات المنوية والأخصاب، في حين يؤدي إلى انخفاض في الكريات البيضاء في الحيوانات المنوية (Sudhakaran واخرون، 2024). أن العملية الانجابية تتأثر بالإجهاد التأكسدي الذي له دور في تقليل تركيز الامشاج والأخصاب (Aitken واخرون، 2022).

ان للأوكسجين دور مهما في الحياة وله تأثيرات ضارة ومفيدة على الانظمة البيولوجية، ويكون دور الاوكسجين الرئيسي هو توليد ادينوسين -ثلاثي الفوسفاتATP عبر الفسفرة التأكسدية للميتوكوندريا، اذ هذا التفاعل ناتج عنRos عند مستويات معينة الذي تلعب دورا مهما في تنظيم العديد من المسارات داخل الخلايا ،وفي الحفاظ على التوازن الخلوي ،وعلى العكس من ذلك فإنه مستويات Ros الاعلى ناتجة عن الاضرار التأكسدية وبالتالي تسبب تأثيرات خلوية ضارة للبروتينات والاحماض النووية والدهون ومن ثم يتوسط الاجهاد التأكسدي اصابة الأنسجة والخلايا (Mannucci واخرون، 2022).

5-2 الجذور الحرة Free radicals

الجذور الحرة تعرف بأنها ذرة او جزيئة او مجموعة جزيئات تحتوي واحدا او اكثر من الإلكترونات المفردة في غلافها الخارجي، كما تعد من الدقائق القلقة سريعة التفاعل خلال فترة زمنية قصيرة وقابليتها العالية على اكتساب الإلكترونات من خلال المركبات الخلوية الاخرى، وهذا ادى إلى نشوء انواع الاخرى من الجذور الحرة اذ تتفاعل بدورها مع مركبات خلوية اخرى أهمها الريبوسومات وغشاء الخلية والانزيمات والأحماض النووية والاغشية الدهنية مما تؤدي الى أحداث الطفرات الوراثية او الموت المبرمج للخلية وايضا يحدث خلل في عمل الخلايا، والمتحرر منها الى المحيط الخارجي يهاجم الخلايا المجاورة (Stanczy، 2005 وRao، 2011).

تتكون الجذور الحرة في الخلايا الحية لجسم من نواتج العمليات الأيضية , أذ يتم انتاجها داخليا بوصفها ناتجاً عرضياً خلال نضوج النطف في البربخ مثل جذر بيروكسيد الهيدروجين ، ومن مزايا الجذور الحرة أنها عديمة الاستقرار (Unstable) و تكون طاقتها عالية وشديدة الألفة للتفاعل مع كل من الجزيئات الحيوية في الجسم منها الاحماض الدهنية غير المشبعة والبروتينات والاحماض النووية ، وكذلك لها القابلية على بدء سلسلة من التفاعلات التي تؤدي إلى تضخيم نشاطها وتدمير الجزيئات الضخمة الضرورية ومكونات الخلية في الأنظمة البايولوجية (Neha, واخرون، 2019).

تؤثر الجذور الحرة على وظيفة الخلية ويُمْكِنُ أَنْ تُؤدّي إلى تدهور الخلية أو موتها ، وتعدعاملاً رئيسياً في أحداث الأكسدة اي أنها تهاجم النشاط الحيوي والبروتين اللذان يعتبران ضروريين لوظيفة الخلية وعند وجود مضادات الأكسدة الطبيعية فأنها توفر حماية لهذه الانظمة من الجذور الحرة (Tremellon، 2008).

2-5-1- أضرار الجذور الحرة (Damage of free radicals)

إن الأضرار التي تحدثها الجذور الحرة أو أنواع الاوكسجين التفاعلي في الاغشية الدهنية للنطف هي أكسدة أغشيتها (Lipid peroxidation) لاحتوائها على نسب عالية من الاحماض الدهنية غير المشبعة والتي تؤدي الى عدة تغييرات (Kefer، 2009 و Phaniendra ،2015). أهمها :

١- زيادة صلابة الغشاء

٢ - انخفاض فعالية مضخة الصوديوم مما يؤدي الى انتفاخ الخلية

٣-تغيير نفاذية الخلايا والنطف.

4- دنترة البروتينات إذا تعمل على تغيير الأواصر البروتينية ودمج جزئيات البروتين بجزئية DNA.

أحداث أضرار بالجسيمات الحالة اذ لها دورا مهما في هدم أغشية الجسيمات وتحرير الأنزيمات الهاضمة او تحللها الى داخل الخلايا وهذا يؤدي المركبات الخلوية الى هضمها وتحطيمها.

الجذور الحرة لها القدرة على إلحاق الضرر بالجزيئات الحيوية وتحطيمها في الخلايا مثل البروتينات والدهون والكربوهيدرات والأحماض النووية، وإن هذا الضرر الناتج من الجذور الحرة له أهمية كبيرة في زيادة تكون هذه الجذور باستمرار وبسلسلة من التفاعلات تؤدي في النهاية إلى تحطيم الجزيئات الحيوية في الخلية (kabel واخرون ،2014 وMartin- Hidalgo واخرون ،2019).

6-2 دور مضادات الأكسدة في حفظ السائل المنوي

مضادات الأكسدة هي مواد تساهم في حماية الجسم من الأضرار الناتجة عن الجذور الحرة، وهي جزيئات غير مستقرة يمكن أن تتسبب في تدمير خلايا الجسم والأنسجة. تتشكل الجذور الحرة نتيجة للعمليات الطبيعية في الجسم، مثل التمثيل الغذائي، أو نتيجة التعرض لعوامل بيئية مثل التلوث، وأشعة الشمس، تعمل مضادات الأكسدة على أبطال مفعول هذه الجذور الحرة، ما يساعد في تقليل خطر الإصابة بأمراض مزمنة مثل السرطان، أمراض القلب، والشيخوخة المبكرة، ومن الأمثلة الشائعة لمضادات الأكسدة فيتامين C، فيتامين E والبيتا كاروتين، والسيلينيوم تتواجد هذه المواد بشكل طبيعي في الخضروات (Kregl واخرون، 2012).

مضادات الأكسدة توجد في السايتوبلازم والبلازما المنوية وهناك توازن بين انتاج أنواع الاوكسجين التفاعلي (ROS) ونظام الحماية أو الدفاعات (مضادات الأكسدة) (Antioxidants) (Sharma، 2014). وعند زيادة في أنتاج أنواع الاوكسجين التفاعلي (ROS) يحصل الضرر للنطفة نتيجة اختلال هذا التوازن (Sadiq،2023). ان اهم دور تقوم به مضادات الأكسدة هو إضافة كم هائل من الالكترونات إلى الأوعية الدموية وبالتالي يحقق توازنا في ذرات الأوكسجين الحرة أي يعيد الخلية المنزوع منها الإلكترون لتوازنها الطبيعي وتكون مره أخرى قادرة على أدام وظيفتها (Lecewicz واخرون ، 2018). يعتبر العمل الرئيسي الذي تقوم به مضادات الأكسدة (Antioxidants) هو كسر سلسلة تفاعل الجذور الحرة المتكونة من الأكسدة بوساطة عملها كواهب لذرة الهيدروجين إلى الجذر الحر وهذ يودي الى تحويلها إلى جذور أكثر استقراراً (Valko واخرون، 2007).

أما تأثير مضادات الأكسدة على الحيوانات المنوية أن الحيوانات المنوية محميه بمضادات الأكسدة المختلفة والانزيمات المضادة للأكسدة في بلازما السائل المنوي او تكون في الحيوانات المنوية نفسها وذلك لمنع الضرر التأكسدي، ومن ثم يؤدي دوراً مضاداً للأكسدة بتقليل من ألاجهاد التأكسدي وتحسين حركة الحيوانات المنوية مما يقلل العقم عند الذكور (Anghel واخرون، 2010).

أظهرت الدراسات الحديثة أن مكملات مخففات التجميد أو التبريد بمضادات الأكسدة توفر تأثيرا وقائيا من التجميد على جودة الحيوانات المنوية للبشر والثيران والكباش والماعز والخنازير والكلاب ر، وبالتالي تحسن من معايير السائل المنوي (.Flora واخرون، 2007 و Castroواخرون ، 2016).

6-2 -1 تصنيف مضادات الأكسدة Antioxidant Classification

تصنف المضادات الأكسدة وفقا الى (kefer، 2009).

اولاً - مضادات الأكسدة الانزيمية (Enzymatic antioxidant)

وهي مضادات وقائية حيوية تعمل على إزالة السموم ومنها: -

1- الكلوتاثيون بيروكسيديز Glutathion Peroxidase (GSH-PX)

هو أحد مضادات الأكسدة الانزيمية حيث يبلغ وزنه الجزيئي 44000 دالتون، يوجد في السايتوبلازم والمايتوكوندريا للخلايا الحية، يقوم بالتخلص من البيروكسيد H2O2 من خلال نقل الالكترون من المادة الاساس الى البيروكسيد ثم يختزل الى الماء بالإضافة إلى الهيدروجين العضوي (Sisein 2014 و Ozougwu 2016) .اذ يعمل على حماية أغشية كريات الدم الحمراء من التحطم والتلف نتيجة زيادة تكوين البيروكسيد ونواتجه وبوجود السيلينيوم الذي يكون تأثيره على السيلينيوم المختزل وبالتالي ينتج كلوتاثيون مؤكسد وماء (Oriana واخرون، 2015).

2-الكاتاليز -**Catalase (CAT)**

هو أنزيم من مضادات الأكسدة رباعي الهيم (Tetra haem enzyme) ويتكون من أربع وحدات ثانوية مرتبطة بشكل رباعي السطوح (Oroian، 2015)، هو أحد انواع الانزيمات المعروفة ب Hydroperoxidase ويعتبر من مضادات الأكسدة الانزيمية الموجودة في مختلف خلايا الكائن الحي وعمله هو تحطيم البيروكسيد H2O2 وتحويله الى جزيئة ماء وأوكسجين جزيئي (vaya، 2001، Pisoschi، 2015). وما فعالية الكاتاليز تختلف في الثدييات من نسيج الى آخر فتكون واطئة في الانسجة الرابطة وعالية في الكبد والكلية، يوجد انزيم الكاتاليز في كريات الدم الحمراء وأهم وظيفة لة حماية الهيموغلوبين والبروتينات، وكلما قل مستوى الكاتاليز في كريات الدم الحمراء تزداد فعالية العوامل المؤكسدة وخاصة البيروكسيد (packer،2007 ،Melo واخرون، 2019).

3-**سوبر اوكسايد ديسموتيز Superoxid Dismutase (SOD)**

أهم ما يميز هذا الأنزيم هو عامل علاجي جيد ضد الأمراض التي تسببها أنواع الأوكسجين التفاعلية مثل السرطان، والأمراض الالتهابية، والشيخوخة، والسكري، لهذا الأنزيم محددات معينة في التطبيقات السريرية العلاجية (Barros، 2020). يعتبر هذا الأنزيم من البروتينات المعدنية وهو احد الدفاعات الخلوية الاساسية ضد أيون السوبر أوكسايد - 02 وتحويله الى H2O2 وبالتالي يعتبر أهم الانزيمات

المضادة للأكسدة بالجسم، ويتواجد في خلايا الانسجة ذات معدلات الأيض العالي ،يوجد منه ثلاثة انواع في اللبائن، أنزيم Cu,Zn-SOD إذ يتواجد داخل الخلايا (السايتوبلازم) ،أنزيم Mn-SOD يوجد داخل الخلايا وفي المايتوكوندريا أيضا ، أنزيم Ec-SOD يتواجد خارج الخلية وبالتالي يفرز ثم يرتبط مع كبريتات الهيبارين Heparine Sulfate على سطح الخلية وأهم وظيفته الرئيسية في الشرايين (kabel،2001 وAgarwal واخرون، 2007).

ثانيا-مضادات الأكسدة الغير الأنزيمية

1- المركبات الفينولية Phenolic Compounds

تمثل هذا المركبات مجموعة واسعة من المواد الكيميائية ذات التركيب الكيميائي المتنوع والنشاط البيولوجي المختلف، يشمل أكثر من 8000 مركب مختلف وهو جزء مهم في النظام الغذائي البشري والحيواني (Sen واخرون، 2011). المركبات الفينولية تمتاز بالقدرة على منح الهيدروجين للجذور الحرة او تلف ايونات المعادن أهمها النحاس والحديد عن طريق تثبيط اكسدة الدهون البروتينية التي تكون واطئة الكثافة وأهم ما تميز به هذآ المركبات الفينولية هو انخفاض مخاطر أمراض الأعصاب والقلب، الأوعية الدموية. توجد الفينولات في نبات البردقوش، وكذلك تمتلك القدرة في حماية الجسم من ضرر الاجهاد التأكسدي المحفز للجذور الحرة (Jaydeokar، 2012). وأشارت الدراسات إلى دور المركبات الفينولية مثل التانينات والفلافونويدات وأيضا الاحماض الأمينية ومنها الكلوتامين Glutamine وكلايسين Claysine والسيستين (Cysteine) داخله في تركيب الكلوتاثيون في تقليل تسمم الكليتان Cisplatin الحاصل عن الجهاد التأكسدي (Adikay واخرون، 2016). واخرون، 2011). أي مضاد للأكسدة يكون ذا فعالية عالية عندما يمتلك عدد أكبر من مجاميع الهيدروكسيلية ، وتقل فعاليته كلما تقل او يفقد مجموعة واحدة من الهيدروكسيل(Sellappan واخرون، 2002). كما تعتبر الفينولات فعالية مضادة للأكسدة خارج جسم الكائن الحي إذا قورنت مع فيتامينات(Shah، 2019).

2-المركبات الكاروتينية: - Carotenoids Compounds

الكاروتينات متوفرة في جميع الكائنات الحية تقريباً، ويوجد فيها أكثر من 700 نوع من الكاروتينات، هذا المركبات تقوم بمنح الصبغة في النظام البيولوجي فضلاً عن وظيفتها كمضاد للأكسدة (Young واخرون، 2018). وقدرة هذه المركبات على تثبيط الجذور الحرة ، أي أن الاختلاف في السلسلة المتعددة الغير مشبعة من مركب الى آخر مع وجود مجاميع الهيدروكسيل هما المسؤولان الاساسيان عن

تعديل تفاعل الكاروتينات فضلاً عن تأثيرات الظروف البيئية الخارجية ،وتستهلك أصباغ الكاروتينويد وخاصة بيتا كاروتين والليكوبين في الأطعمة البشرية وتلعب دورًا حيويًا في الحفاظ على الصحة, ومن المعروف أن بيتا كاروتين تطفئ الأوكسجين الأحادي ويمكن أن يكون لها نشاط مضاد للأكسدة قوي وتبين أن بيتا كاروتين قد يقلل من خطر الإصابة بالسرطان(Black واخرون، 2020).

3-فيتامين c(Ascorbic acid)

وهو أهم الفيتامينات التي لها القابلية على الذوبان في الماء وضروري لبناء الكولاجين والكرياتين والناقلات العصبية ،إذ تبني معظم النباتات والحيوانات هذا الفيتامين ماعدا البشر والقرود وخنازير غينيا والخفافيش أيضا بسبب نقص إنزيم Gulonolactone Oxidase ومع هذآ يجب تناوله من خلال الفواكه والخضروات والاقراص الحاوية على هذا الفيتامين ، اما الكميات البديلة لهذا الفيتامين الموصى بأخذها من حامض الاسكوربيك تتراوح تقريبا بين (100-120) مليغرام يوميا للبالغين (Hacısevkiواخرون، 2009).كما يعد حامض الأسكوربيك والحديد من العناصر الغذائية الأساسية المهمة للنمو والتطور الطبيعي للإنسان، وذلك يؤدي نقصهما إلى أمراض خطيرة ، يستخدم ملايين الأشخاص المستحضرات الصيدلانية والمغذيات لهذين المغذيين بما في ذلك أسكوربات الحديدوز لعلاج فقر الدم الناجم عن نقص الحديد تتمثل أهم وظيفة لفيتامين C واستخدامه في نشاطه المضاد للأكسدة ضد أنواع الأوكسجين التفاعلية (Timoshnikov واخرون، 2020)، كما اهم عمل له مضاد للتصلب العصبي ومانع للبرد ومضاد أيضا للسرطان ، إذ تم الكشف عن مشتقات حامض الاسكوريك استرات) حامض الاسكوربك Ascorbic acid esters لتثبيط تكاثر الخلايا السرطانية البشرية (Naidu واخرون، 2016).

4-فيتامين (Vitamin E)

يعد فيتامين E من المركبات الذائبة في الدهن (Fat-soluble vitamins) وله أربعة أشكال مختلفة الفعالية. ويعد tocopherol- أهم هذه الأشكال وأكثرها فعالية داخل جسم اللبائن لاحتوائه على ثلاث مجموعات مثيل (CH)، وإن الصيغة الكيميائية له (C2H500)، ويعمل فيتامين E كمانع أكسدة للأحماض الدهنية غير المشبعة، من خلال مقدرته على تثبيط الجذور الحرة وتشترك في عملية أكسدة الدهون، بما يعد فيتامين E من أكثر مانعات التأكسد غير الأنزيمية الفعالة التي تعمل على حماية الكولسترول والأحماض الدهنية (Thakur واخرون، 2010). أن اهم جزء المسؤول عن التنظيم الداخلي لفيتامين Eهو الكبد، حيث يحتفظ بالفا-توكوفيرول اختيارياً وتحليل بقية الاشكال الأخرى ثم يفرز الكبد الفاء توكوفيرول ويصل للبروتينات الدهنية من خلال فعالية البروتين الناقل للتوكوفيرول Tocophereol Protein Transfer وبعدها يسلم الى انسجة الهدف، يقوم الفاتوكوفيرول بحماية

الخلايا لقدرته على عرقلة الجذور الحرة اذ يعمل كمضاد تأكسدي ذائب في الدهون (Qian واخرون، 2005).

2-7- الأنواع الأوكسجين التفاعلي (Types reactive oxygen species ROS)

هي عبارة عن جزئيات وأيونات الاوكسجين التي تحتوي على الكترون غير مزدوج ما يجعل لها ألفة عالية للتفاعل وهنالك عدد من التراكيب الخلوية تكون عرضة لخطر أنواع الاوكسجين التفاعلي أذ تسبب أضراراً خلوية مثل الاصابة بأمراض القلب والدماغ والسرطان وقلة الخصوبة والعقم (Storz، 2011).

تتكون أنواع الأوكسجين التفاعلي من نوعين ، يشمل النوع الأول الجذور الحرة السوبر اوكسيد Hydroperoxyl (والهيدروبيروكسيل)Hydroxy(والهيدروكسيل)(Carbonate) (والكاربونيت)Alkoxyl (RO(والالكوكسيل)p) والبيروكسيل وثنائي اوكسيد الكاربون ، يشمل النوع الثاني من أنواع الأوكسجين التفاعلي (ROS) مركبات أو ايونات غير جذرية (Nonradicals) والتي بدورها تتكون من نوعين ، يسمى النوع الأول أنواع الأوكسجين التفاعلي الأيوني (Ionic) مثل بيروكسي Peroxynitrose acid) و حامض بيروكسي نايتروز)Peroxynitrite, ONOO(نايتريت ONOOH) والنوع الثاني يسمى انواع الاوكسجين التفاعلي المتعادلة لكنها تفاعلية مثل بيروكسيد الهيدروجين(Zhang واخرون، 2024).

2-7-2 مصادر أنواع الاوكسجين التفاعلي في السائل المنوي (Semen sources of ROS)

هنالك مصدران لتكوين انواع الأوكسجين التفاعلي هما :-

١ - مصادر داخلية لأنواع لاوكسجين التفاعلي (Endogenous sources of ROS)

السائل المنوي يحتوي على أنواع مختلفة من الخلايا مثل نطف ناضجة وغير ناضجة وخلايا مستديرة من مراحل عملية تكوين النطف، و السائل المنوي يحتوي على خلايا بيضاء (Leukocytes) مثل خلايا الدم البيضاء المتعادلة (Neutrophils) والخلايا الالتهامية (Macrophages)، أما في الثيران تعد النطف الميتة مصدراً لتكوين أنواع الاوكسجين التفاعلي (Agarwal، 2020).

وتعد النطف غير الناضجة immature spermatozoa) والخلايا الدموية البيضاء مصدران رئيسين لأنتاج أنواع الاوكسجين التفاعلي بالإضافة الى أنواع أخرى من الخلايا موجودة بالجهاز التناسلي الذكري

تنتج جذور حرة أو انواع الاوكسجين التفاعلي بكميات قليلة مثل الخلايا البانية للألياف (Fibroblast) والخلايا الطلائية المبطنة للأوعية الدموية (Endothelia cells)، إذ تعد خلايا سرتولي مصدر آخر لإنتاج أنواع الاوكسجين التفاعلي، ويوجد مصدر آخر يعرف القطيرات السايتوبلازمية التي توجد في القطيعة الوسطية للنطف(Abu-Khudir، 2023 و Gaur واخرون ،2021).

2-مصادر خارجية لأنواع الاوكسجين التفاعلي (Exogenous sources of ROS)

ولقد تبين أن هنالك العديد من مصادر خارجية تعمل على توليد انواع الأوكسجين التفاعلي في السائل المنوي مثل الاجهاد الحراري والتلوث والادوية والاشعاع والحفظ بالتبريد والتجميد (Signorini، 2024).

3-7-2 تأثيرات انواع الاوكسجين التفاعلي في النطف (Type effects of ROS on sperm)

1- التأثير الايجابي لأنواع الاوكسجين التفاعلي(Positive effect of ROS)

تعد التراكيز الواطئة من انواع الاوكسجين التفاعلي ضرورية للوظائف الفسلجية، اي تؤدي دوراً مهماً من خلال حثها لكثير من المعقدات الكيموحيوية، كما لها دوراً مهماً في إنضاج النطف (Maturation) وتكيفها (Capacitation) وتنشيطها والتفاعل الاكرسوم (Acrosome reaction) للنطف لها دور في اندماج النطف مع البويضة (Caballero، 2007).

2-التأثير السلبي لأنواع الاوكسجين التفاعلي (Nagitive effect of ROS)

عندما تتعرض النطف للظروف الهوائية تنتج أنواع الأوكسجين التفاعلي (ROS) أما في الحالات الطبيعية فتكون تحت الظروف السمية أو الضارة لهذه الأنواع وذلك لاحتواء النطف أو السائل المنوي على جزئيات واقية ضد هذه السمية وهي مضادات الأكسدة (Antioxidant) ، أما خلايا الجسم المختلفة ومنها النطف فتسيطر على الآثار الضارة لأنواع الأوكسجين التفاعلي من خلال مضادات الأكسدة ، كما أن أي اضطراب في توازن مضادات الأكسدة وأنواع الأوكسجين التفاعلي أو الجذور الحرة سيولد جهداً يعرف بجهد الأكسدة (Oxidative stress)، جهد الأكسدة يعرف بأنه الانتاج الغير المسيطر عليه من انواع الاوكسجين التفاعلي أو الجذور الحرة المختلفة والذي تتجاوز فيه قدرة مضادات الأكسدة الموجودة في النطف أو البلازما المنوية أو انسجة الجسم المختلفة مؤدياً الى أحداث ضرر بالنطف مع انخفاض حيويتها وتركيزها وحركتها وضرر الانسجة (Mancini واخرون، 2023).

إن نطف اللبائن تكون غنية بالأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة وهي حساسة جداً لأنواع الاوكسجين التفاعلي (ROS) أي أن ارتفاع مستوياتها يغير من سيولة الغشاء البلازمي للنطف وهذا يؤدي الى فقدان الحركة الفردية وضعف عملية التفاعل الاكروسومي واندماج النطف، إذ تعمل على احداث أضرار في المايتوكندريا وDNA النواة، وبتالي تودي إلى تجزئة DNA واحداث ضرر في خصائص النطف وفاعليتها(Laoung واخرون، 2022).

8-2 النباتات الطبية

تعد النباتات الطبية كمعالجات تقليدية للأمراض التي تصيب البشر منذ ألاف السنين لأجزاء مختلفة في انحاء العالم، اما في العالم العربي استخدمت كأعشاب طبية للسيطرة على الامراض والوقاية منها وذلك لان عناصر بارزه في الطب النبوي (Singh وآخرون، 2015 ; Olade،2016 وAat i واخرون) .

وتعرف الاعشاب الطبية Herbalism بالطب التقليدي أو الطب الشعبي الذي يتم من خلاله استخدام النباتات او المستخلصات النباتية، ويعرف أيضاً علم الأعشاب، وبتالي تستخدم العديد من النباتات المزروعة والبرية للوقاية من الأمراض المختلفة وخاصة أمراض الكلى والكبد وأمراض الجهاز المناعي والأوعية الدموية والقلب، وزيادة كولسترول الدم (Schmelzer،2008 ; Ijaz، 2016) .

قد أكدت منظمة الصحة العالمية World Health Orginization (WHO) أن أكثر من 70% من سكان العالم يعتمدون في علاجهم على الطب البديل، وإن استعمال الأعشاب على نطاق واسع في علاج الامراض المختلفة أدى الى زيادة شعبيتها، إذ دفعت الخصائص العلاجية المميزة لتلك النباتات العلماء إلى البحث فيها و عن أنشطتها الحيوية مثل مضادات الفطريات والبكتريا والالتهابات والانشطة المضادة للأكسدة والمسكنات (Gurib-Fakim وآخرون، 2006،Petrovska واخرون، 2012). كما تعد النباتات الطبية من أهم وأغنى المصادر الطبيعية بمضادات الأكسدة كالمركبات الفينولية والفلافونويدات والتي اظهرت تفوقا بشكل كبير على كل من فيتامين C,E والكاروتينات (Noorhosseini واخرون، 2011 وAlqetham واخرون، 2021).إذ تعتبر مضادات الأكسدة الطبيعية الموجودة في النباتات أكثر اهتمام مقارنة مع مضادات الأكسدة الصناعية ذات التأثير السلبي على الناحية الصحية، الا انها تعاب باحتوائها على مركبات متطايرة غير ثابتة بدرجات الحرارة العالية (Shosan ، 2014 و Andrad،2016)

ومن خصائص النباتات الطبية في مكافحة الامراض المعدية والغير معديه اذ تتمتع بوفرة كبيرة من المواد الكيميائية النباتية واعتبارها كمنجم ذهبي بايلوجي للنشاط العلاجي اذ ركز في المقام الأول على

النشاط المضاد للبكتيريا والمضادات الأكسدة والمضاد الفطريات والمضاد للالتهابات (suryen واخرون،2023 وseaman والاخرون ،2024).

اما بالنسبة الى التناسل ودور النباتات الطبية فيه فتوفر العديد من هذا النباتات الخصائص المضادة ومعززه للخصوبة، وذلك لان الحيوانات المنوية تتحسس الى اجهاد التأكسدي الذي يرجع الى زيادة انواع الاوكسجين التفاعلية دون انخفاض مضادات الأكسدة، لهذا زاد الاهتمام بالنباتات الطبيعية التي تؤثر على الانتاج الحيوانات المنوية والتستوسيتيرون (Boroujeni، 2022) . كما يمكن اعتبار هذه النباتات مركبات جديده تتحكم في تنظيم الخصوبة ولها الفعالية في منع العقم لدى الذكور. (Bhatia واخرون،2010).

2-8-1 نبات البردقوش Origanum majorana

نبات البردقوش نبات عشبي معمر، ينمو في سواحل البحر الأبيض المتوسط الذي يعتبر موطنه الأصلي وشبة الجزيرة العربية، ويعتبر عشب عطري تكون شجرة فرعية معمره من جنس *Origanum* الذي يعرف باسم المردقدش الحلو من 200 جنس ضمن عائلة الشفوية ويكون 3500 نوعاً منتشراً في جميع انحاء العالم في أجزاء مختلفة (Bouyahya واخرون، 2021). توجد هذه النبات في ظروف طبيعية في اوربا، واسيا الوسطى وفي امريكا الشمالية ويعد من النباتات البرية. (Nurzyńska-Wierdak واخرون، 2009).

الجزء المستعمل من النبات هي الأوراق المجففة ويوجد في أوربا وأفريقيا أما بنسبه إلى الجزء الأرضي لنبات يكون جذري ليفي، وجذعه يكون بني أرجواني، أما أوراقه تكون ناعمه بيضوية أو مستطيلة، وتكون ازهاره صغيرة ذات اللون الزهري يصل ارتفاعه في نهاية الموسم النمو إلى 40 سنتيمتر. (Pimple واخرون، 2012). مما يميز نبات البردقوش بتحمل الجفاف لذلك يحتاج إلى أشعة الشمس كاملة أو شبة الظل، كذلك يمكن زراعته في تربة طينية، ويتكاثر البردقوش بالبذور وهو يعد من ضمن النباتات البذرية. (Vasudeva واخرون، 2015).

2_8_2 التصنيف العلمي لنبات البردقوش

المملكة	**النباتية**
الشعبة	**مغطاة البذور**
تحت الشعبة	**البذريات**
الصف	**ثنائية الفلقة**
الرتبة	**الشفويات**
العائلة	**الشفوية**
الجنس	**البردقوش**
النوع	**الكبير**

المصدر(Bouyahya واخرون، 2021)

الشكل (رقم1) نبات البردقوش

3-8-2 أهمية نبات البردقوش

أهم ما يتميز به نبات البردقوش احتواءه على الزيوت الطيارة (Prerna واخرون، 2014). كما ان المكونات السائدة في نبات البردقوش هي السابينين(Sabinene)، وجيرماكرين(germacrene)، كما يحتوي على المركبات الفينولية الثيمول (thyymol)، وكارفاكرول (carvacrol)، تعتبر مواد شديدة الفعالية في قتل البكتيريا والفطريات. (Nurzynska-Wierdak واخرون، 2009).

أما محتويات النبات الكيميائية فتمثل الدهون والرطوبة والكاربوهدرات والبروتين ويحتوي هذا النبات على العناصر المعدنية (Co,Ba,fe)، واذ يتميز بقيمته الغذائية العالية إضافة الى دوره الكبير في معالجة الحالات المرضية ومنها الربو(مريم عبد الباري واخرون، 2017).

ومن أهم المواد الفعالة للبردقوش تشمل الزيوت الطيارة والسكريات القابلة لذوبان في الماء، ويحتوي في تركيب الكيميائي على الفلافونويدات Flavonoids,واحماض الكافانين Caffeic acid,7 والهيدروكوينونات، وحامض الروزمارينيكRosemarinic acid ، استخدمت في التوابل بسبب نشاطها البيولوجي العالي إضافة إلى نشاطها المضاد للأكسدة (Raina واخرون، 2012).

اما خصائص الطبية لنبات البردقوش تستخدم في نطاق واسع منها يستخدم لعلاج نزلات البرد، وتوجد له استخدامات اخرى منها مضادات التهابات ومضادات الفيروسات ومضادات للميكروبات، ومضاد للاكتئاب، ولراحته العطرية تم استخدامه في مستحضرات التجميل، وصناعة العطور وصناعة الصابون، (jokar واخرون، 2011). وأكد (Bhardwaj واخرون، 2020) للبردقوش دوراً كبيراً لتقليل من الإصابة بتصلب الشرايين وذلك من خلال تقوية لجهاز المناعي وخفض الكولسترول. أشار (عبد الرحمن والصعيدي، (2024) أن تغذية الفئران على تركيزات مختلفة من نبات البردقوش المجفف يعمل على زيادة مستوى الاستروجين مع تحسين الجهاز التناسلي الانثوي وسلامة المبيضين.

كما يعمل نبات البردقوش على تحسين صفات البايو كيميائية لطيور السمان وذلك لأنه نبات مضاد للفطريات والبكتريا (محمد واخرون، 2022). أهم ما يتميز به نبات البردقوش اعتباره من المواد المضادة للأكسدة لذلك يستخدم في حفظ الأغذية ودورة في إطالة عمر الخزن وهذا يرجع إلى تأثيره المضاد للميكروبات وتعود فعالية في المضاد للميكروبات لاحتواء مستخلصات نبات البردقوش مركبين الكارفاكرول والثيمول اللذين لهما دورا كبير في تثبيط الكائنات الحية الدقيقة التي تسبب الامراض. (Topcu 2010وGovaris ،2024) .

4-8-2 التركيب الكيميائي لنبات البردقوش ومحتواه من العناصر المعدنية

الجدول (رقم 1) التركيب الكيميائي لعشبة البردقوش

المكونات	النسبة %
البروتينات	6.6
الكربوهيدرات	66.3
الدهون	8.4
الرطوبة	5.7
الرماد	18.7
البوتاسيوم k	0.49
الكوبلتCo	0.039
الحديدFe	5.1
الصوديومNa	0.01

المصدر(مريم عبد الباري، 2017).

2-8-5 المركبات الفعالة في نبات البردقوش

2-8-5-1 المركبات الفينولية Phenolic compound

وهي مركبات كيميائية عضوية اوزانها الجزيئية منخفضة تصنع من مسارات الأيض الخلوي للنبات(Randnir، 2004).ويعد الفينولات عبارة عن حلقة الروماتية ترتبط بمجموعة كاربوكسيل واحده أو أكثر وتوجد الفينولات مرتبطة مع السكريات الحادية والسكريات المتعددة ويكون ارتباطها مع مجموعة فينول واحده او لمجاميع عده وبالتالي تكون عباره عن مشتقات فعالة مثل الاستر ومثيل الاستر، تتميز بخصائص الحيوية والطبية اذ تعمل على خفض نسبة الدهون والكوليسترول في الدم اضافة الى زيادة من افراز غدة الصفراء، كما تعتبر المركبات الفينولية مضادات للأكسدة والالتهابات فضلا عن امتلاكها الخصائص المضادة للأكسدة وتكون اكثر الفينونات ذائبة بالماء وتكون اما مرتبطة مع سكريات احادية او متعددة على هيئة كلايكوسيدات ،وتؤدي الفينولات دوراً لحماية النباتات من الحشرات ومسببات مرضية (Alrikabi واخرون، 2019).

2-8-5-2 الفلافونيدات Flavonoids

وهي مواد فينولية موجودة على نطاق واسع في الفواكه والخضروات وتعد مضادة للأكسدة متعددة الاستخدام معروفة بقدرتها على الحماية من اصابة الأنسجة لسمية الأدوية، وايضا تلعب دور كبير في حماية الجسم من الامراض اهمها الامراض السرطانية والقلبية و لها دور وقائي للجسم من تأثير الاجهاد التأكسدي (David واخرون، 2016).

وتعد هذا المركبات قادرة على احداث الأنشطة البيولوجية والدوائية المختلفة في خلايا الحيوانية، اذ تنتمي الفلافونويدات الى فئة المركبات المتعددة الفينول ويكون انتاجها في النبات (Alrawaiq، 2014).

كما أدرك ان العديد من الأدوية الشعبية المستخدمة تحتوي على الفلافونويد وذلك زاد الاهتمام لهذه الفئة في المركبات، اذ يعمل الكيرستين بوصفة معامل اختزال قوي يعمل مع عوامل اختزال غذائية أخرى مثل فيتامين(C)، وفيتامين (E)، لحماية، أنسجة الجسم من الإجهاد التأكسدي (Jan واخرون، 2010).

واهم محتوياتها مركبات الكيورستين quercetin والكامبفيرول kaempferol والإيزورهامنتين isorhamnetin والأبيجينينapigenin، وأيضا تصنف الفلافونيدات الى خمسة مجموعات رئيسية هي الفلافونات Flavones، والفلافونولات Flavonols والفلافانونات Flavononesوالفلافانولات Flavanols، والانثوسيانينات Anthocyanins, وتمتلك هذا المركبات نشاطا مضادا للأكسدة بسبب وجود مجموعات الهيدروكسيل في هياكلها (Matshedison واخرون، 2015).

4-5-8-2 التانينات Tannins

وهي مركبات ذات وزن جزيئي عالي وتعد أهم مجموعة ضمن الفينولات، والتانينات تقسم إلى قسمين أهمها التانينات الحرة لها القابلية على الذوبان في الماء أما التانينات الغير حره غير قابلة لذوبان في الماء، توجد في مختلف النباتات اهما العنب والفواكه والجوز والشاي (Balasundram واخرون، 2006). اهم الخصائص التانينات مضادة للبكتيريا والفايروسات وله خصائص طبية استخدمت في معالجة الإسهال ومعالجة امراض المعدة والاثنا عشري وقاطع لنزف، إضافة إلى عدها مضادات للالتهاب ومعقم ومضاد للأكسدة (Buzzini واخرون، 2008).

4-5-8-2 القلويداتAlkaloids

وهي عبارة عن مركبات نيتروجينية عضوية طبيعية معقدة التركيب تصنع هذه المركبات في العديد من الكائنات الحية والنباتات والحيوانات والبكتيريا والفطريات وتعد مركبات نباتية إذ تم عزلها من بدايات القرن التاسع عشر لتعرف عليها كنتروجين حاوية على قاعدة، معظمها لها القابلية على الذوبان في الماء والكحول ويكون طعمها مر وبعضها يستخدم كمخدر موضعي (إيناس واخرون، 2023، وبيان وعلي، 2017).

وتتميز القلويدات بالخصائص الطبية اهمها خفض ضغط الدم والكولسترول في الدم اضافة الى امتلاكها خصائص مضادة للسرطان وعملها مضادات للالتهابات ومنشطات مناعية ومضادات للأورام ومضادات الميكروبات كذلك لها دور في تنظيم ضربات القلب (Qasim واخرون،2023).

2-9 تأثير استعمال مستخلص أوراق نبات البردقوش في حفظ السائل المنوي

في الآونة الأخيرة استعملت المستخلصات النباتية كمصدر رخيص وطبيعي للإضافات المستعملة في حفظ السائل المنوي وزيادة حيوية الحيوانات المنوية وتحسين من عملية الحفظ لسائل المنوي كما يستعمل نبات البردقوش كمنشط جنسي ولتعزيز الخصوبة (Abdelnour واخرون، 2023 ،Moretti واخرون، 2023).

اشار (Pintus واخرون، (2021 خلال دراسته أن هذا النبات يحوي على مواد كيميائية نباتية مضادة للأكسدة معروفة على نطاق واسع منها الكاروتينات، الفلافونويد، البوليفينول إن هذه العناصر تقلل من مستويات الجذور الحرة وموت الخلايا. وبدا الاهتمام المتزايد بالمستخلصات النباتية لتكون مكمله للمخففات السائل المنوي وذلك لحفاظ على حيوية الحيوانات المنوية تحت ظروف الحفظ بالتبريد (Shakya واخرون، 2016). اهم هذه المستخلصات هو مستخلص نبات البردقوش الذي يعتبر

مستخلص نباتي كمضاد للأكسدة لتحسين السائل المنوي المحفوظ وبالتالي تعمل على تعزيز القدرة الانجابية من خلال دورها في تقليل من الجذور الحرة لدى الحيوانات المنوية (2016 Daghighو Shiri،2020).

وأثبتت الدراسات ان تناول مستخلص نبات البردقوش لدى ذكور الفئران يودي إلى انخفاض تراكم الدهون في الخصية والى ارتفاع الاندروجينات، وعدد الحيوانات المنوية إضافة إلى تحسين نسبة الخصوبة (EL-wakf واخرون، 2015 ،Albiaty ،2016). اما في إناث الفئران فوضح (عبد الرحمن والصعيدي، 2024) أن تغذية الفئران على تركيزات مختلفة من نبات البردقوش المجفف يعمل على زيادة مستوى الاستروجين مع تحسين الجهاز التناسلي الانثوي وسلامة المبيضين.

فيؤدي زيت البردقوش إلى تعزيز جودة الحيوانات المنوية البشرية ، ويمكن عده بديلاً لحل مشاكل الحركة للحيوانات المنوية وعلاجها لدى المصابين بضعف الحيوانات المنوية. (Zarhouti واخرون،2023 وKchikich واخرون،2024).

كما وضح Galovia واخرون، (2019) خلال دراسته في المختبر لتأثير مستخلص نبات العشبي البردقوش على النطف وتبين أن له دوراً كبيراً على حيوية الحيوانات المنوية وزيادة نشاطها وساهم بشكل فعال على تحسين خصائص الحيوان المنوي وإطالة عمره أثناء الحفظ عند استخدم زيت نبات البردقوش على السائل المنوي لكباش سلالة العواسي المحفوظة.

الفصل الثالث

3- المواد وطرائق العمل Materials and Methods

3-1 موقع التجربة

أجريت الدراسة الحالية في مختبرات الدراسات العليا التابع إلى قسم الأنتاج الحيواني في كلية الزراعة جامعة المثنى للمدة المحددة من (15/9/2024لغاية 21/2/2025). إذ تم استعمال 57 عينة (خصية كاملة) لدراسة تقييم النطف البربخية للثيران تحت ظروف الحفظ بالتبريد عند درجة 5م لمدد مختلفة24,0, 96,72,48 ساعة. تضمنت تحضير المستخلصات النباتية وحفظها وبعدها جمع الحيامن من خصى الثيران المذبوحة في المجزرة التابعة لمحافظة المثنى ونقلها بعد الذبح مباشرة الى المختبر للقيام بالإجراءات اللازمة عليها وحفظها بالتبريد بعد استعمال المستخلصات النباتية وإضافتها إلى الوسط المحضر ومن أهم المستخلصات هي مستخلص المائي لنبات البردقوش ومستخلص الزيتي لنبات البردقوش بإضافة تركيزين مختلفين لكل مستخلص.

3-2- جمع النبات Plant collection

تم الحصول على النبات البردقوش (بحالتها المجففة والخالية من الأتربة من محلات العطارة المتواجدة في محافظة المثنى ومن بعدها عزل أوراقها ومن ثم طحنها وذلك لتهيئتها لعمل المستخلص النباتي التالي:

3-3.تحضير مستخلصات النباتية

1-تحضير المستخلص المائي لنبات البردقوش

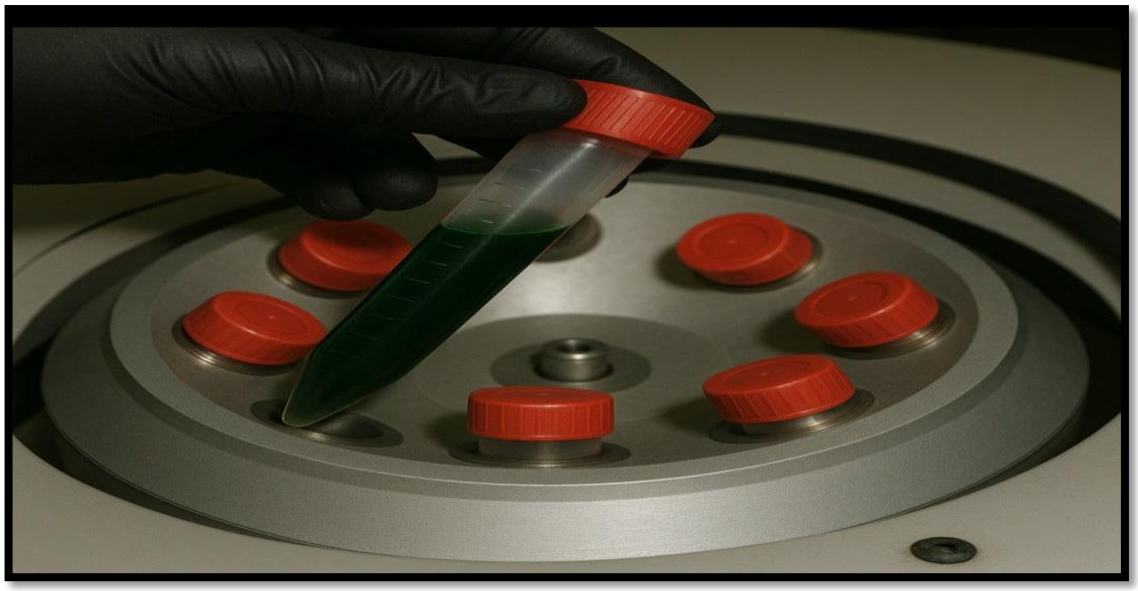
أجريت عملية الاستخلاص المائي لنبات البردقوش في المختبرات المركزية لقسم الانتاج الحيواني/كلية الزراعة-جامعة المثنى استنادا لما اورده (AL-Dhaheri، 2012) أذ حفظت أعشاب نبات البردقوش لحين الاستعمال، وتم تحضير المستخلص المائي لنبات البردقوش باخذ 50غرام من النبات وإضافة له 300مل من الماء المقطر ثم وضعت في علب محكمة الاغلاق مع التقليب والرج ثم وضعها في حمام مائي على درجة الحرارة 60 لمدة ساعة وتركها لمدة 24 ساعة وبعدها يتم ترشيحها على مرحلتين الأولى بواسطة طبقات من الشاش الطبي، والثانية بواسطة ورق الترشيح وبعدها وضعت على أنابيب في جهاز الطرد المركزي لتصفيها من الشوائب و تبخير الماء والحصول على مستخلص مائي مركز من أجل الاستخدام.

2-تحضير المستخلص الزيتي لنبات البردقوش

أجريت عملية الاستخلاص الزيتي في المختبرات المركزية لقسم الانتاج الحيواني/كلية الزراعة-جامعة المثنى استنادا لما اورده(Quan، 2004) اذ حفظت أعشاب نبات البردقوش لحين الاستعمال، تم أخذ 20 جرامًا من مسحوق أوراق البردقوش الجافة والمطحونة ناعما. لتجهيز للاستخلاص وضع هذا المسحوق في كشتبان استخلاص (وهو عبارة عن أنبوب ورقي أو قطني خاص يسمح بمرور المذيب لكنه يحتجز المادة الصلبة) تم إدخال الكشتبان داخل جهاز استخلاص الزيوت العطرية (Soxhlet extractor) وهو جهاز مخصص لاستخلاص المواد الفعالة من النباتات بطريقة التقطير المتكرر أضيف 150 مل من الهكسان المطلق وهو مذيب عضوي غير قطبي لاستخلاص الزيوت. تم تسخين المذيب في قارورة موصلة بجهاز سوكسليت، فيتقطر البخار إلى المكثف، استمرت هذه الدورة لمدة 16 ساعة متواصلة، ما سمح باستخلاص أكبر كمية من الزيت. بعد انتهاء الاستخلاص، يحتوي المذيب على الزيت المستخلص.لتبخير المذيب والحصول على الزيت فقط، تم استخدام فرن حراري عند درجة حرارة 35C°، وهي حرارة منخفضة نسبيًا لحماية المركبات الطيارة والحساسة في الزيت من التلف. والحصول على مستخلص زيتي مركز ثم تقسيم المستخلص وتوزيعه على أنابيب من أجل الاستخدام.

الشكل رقم (2) عملية الاستخلاص نبات البردقوش

الشكل رقم (3) عملية ترشيح المستخلص المائي والزيتي لأوراق نبات البردقوش



الشكل رقم (4) طريقة عزل المستخلص المائي والزيتي عن الشوائب بواسطة جهاز الطرد المركزي

4-3 جمع الخصى ونقلها

تم جمع الخصى بعد ذبح الثيران مباشرة في أول ساعة من وتم قطعها مع كيس الصفن بعد ذلك نقلت إلى المختبر بواسطة حافظة تحتوي على مكعبات الثلج لوصولها إلى المختبر بعد ساعة من الذبح والمحافظة على درجة حرارتها. ويتم التخلص من كيس الصفن وبعدها يتم تشريح الخصية وجمع الحيامن من ذيل البربخ (Moraes وآخرون، 2010).

5-3 جمع الحيامن

وضعت العينات (الخصى) المتوفرة في المختبر بدرجة حرارة الغرفة ليتم بعدها فصل البربخ عن جسم الخصية بالمقص تم تقطيع ذيل البربخ إلى قطع صغيرة ووضعها في انابيب خاصة (10 مل) تحوي محلول (مخفف ترس مع صفار البيض الى المعاملة الأولى ويضاف له مستخلص البردقوش المائي في الثانية ومستخلص الزيتي للبردقوش في الثالثة) محضر مسبقا لتخفيف تركيز الحيوانات المنوية العالي وحفظ الحيوانات المنوية بعدها يمزج المخفف بشكل جيد ويستخلص المحلول الحاوي على الحيوانات المنوية بواسطة المايكروبايبت وضعها على شريحة زجاجية لأجراء الفحص الأولي للعينة تحت المجهر الضوئي بقوه تكبير 40x.

6.3 تحضير المخففات لتبريد الحيامن

خفف السائل المنوي بواسطة مخفف Tris والذي تم تحضيره من المواد الآتية..

مكونات مخفف Tris 100ماء مقطر المستعمل في التجربة.

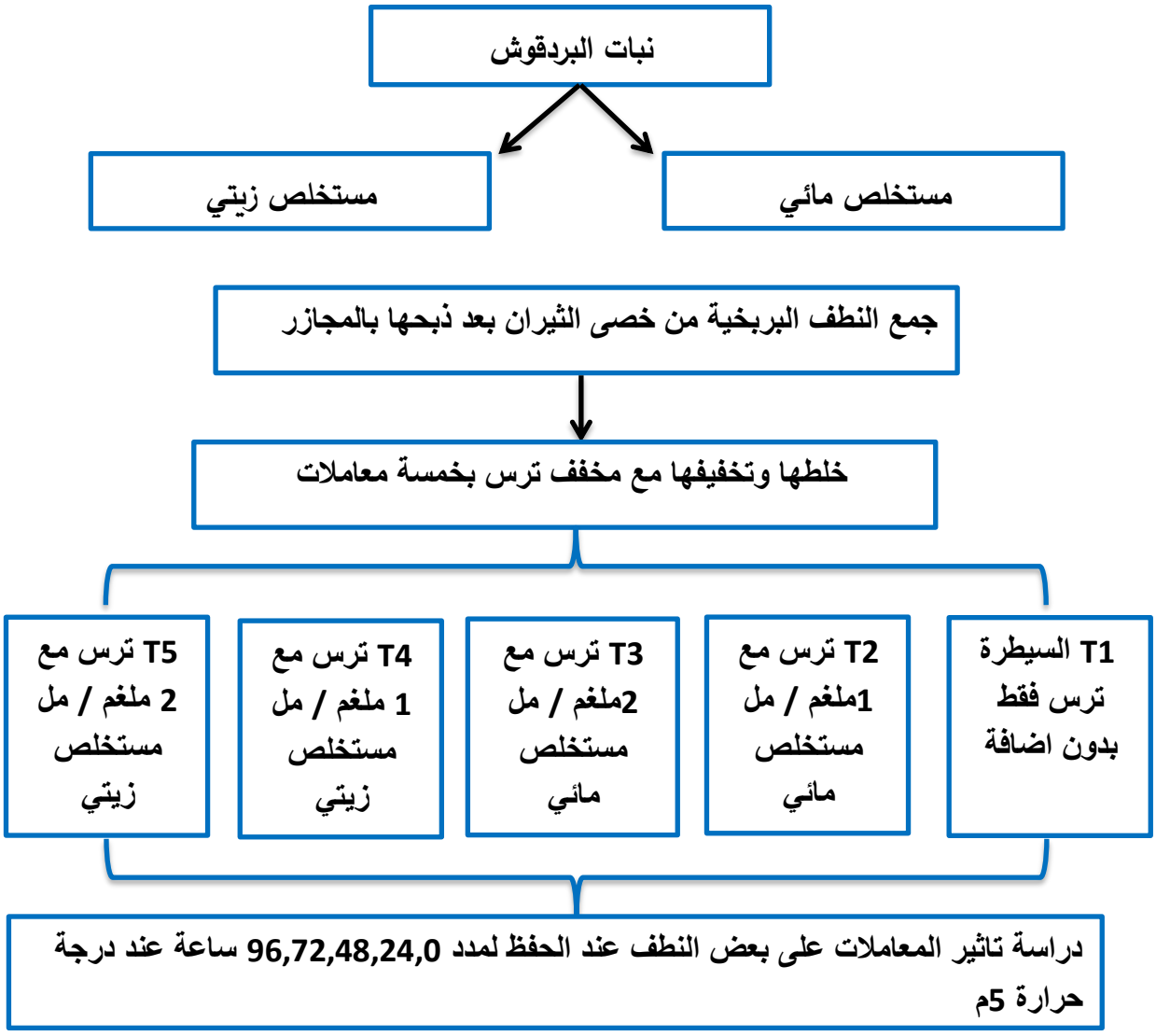
المكونات	التركيز 100ml
Tris	2.42g
Citric	1.34g
Fructorse	1g
Distill Water	73.6ml
Glycerol	6.4ml
Egg Yolk	19.2ml
Gentamicin	0.4ml
Tylocin	0.08ml
Lincomysin	0.1ml

المصدر (Salamon، 2000)

3-7- تحضير المخفف بإضافة المستخلصات المائية والزيتية لنبات البردقوش

بعد تحضير المخفف Tris بالمكونات التي ذكرت أعلاه تم إضافة تركيزين من مستخلص المائي والزيتي لنبات البردقوش1%و2% لكل منهما وإضافة صفار البيض 20% إلى مخفف Tris، وتم قياس الوسط ل pH وبعدها ترك المخفف في الحاضنة للمحافظة على درجة الحرارة المناسبة له وبعدها أضيفت له الحيامن ليتم فحصها.

المخطط (1) يوضح تصميم التجربة



الصفات المدروسة

1-النسبة المؤوية للحركة الفردية

2-نسبة النطف الحية والميتة

3-نسبة النطف المتشوهة (تشوهات الرأس والقطعة الوسطية والذيل)

4- سلامة الغشاء البلازمي (HOST)

5-تشوهات الأكرسوم(مخلوع كليا اومتضرر جزئياً ومنتفخ)

6- الاس الهيدروجيني (PH)

3-8اجراء الفحوصات للمعاملات

3-8-1 تقييم السائل المنوي Semen Evaluation .

نسبة الحركة الفردية Individual Motility

تم تقدير الحركة الفردية للنطف على وفق ما جاء به (Manafı، 2011) وذلك من خلال وضع قطرة من السائل المنوي المخفف بواسطة المايكروبايبت على شريحة زجاجية في درجة حرارة 37م، ووضع غطاء الشريحة على العينة، وتم فحصها تحت المجهر لقوة تكبير 40x وتم حساب الحركة الفردية على أساس النسبة المئوية للنطف المتميزة بالحركة التقدمية الأمامية (Progressive motility) وقوة حركتها وسرعتها وبعدها عد النطف ذات الحركة الغير طبيعية ثم تقدير الحركة وتحويلها إلى نسب مئوية للقيام بتحاليل الإحصائية وإظهار النتائج.

جدول (رقم 2) الحركة الفردية للنطف ونسبتها.

ت	النسبة المئوية للحركة الفردية السريعة	المعايير
1	جميع النطف غير متحركة الحركة التقدمية	0.00
2	اكثر النطف غير متحركة الحركة التقدمية	20-10
3	بعض النطف متحركة الحركة التقدمية	40-20
4	نصف النطف متحركة الحركة التقدمية	60-40
5	اكثر النطف متحركة الحركة التقدمية	80-60
6	بشكل عام جميع النطف متحركة الحركة التقدمية	100-80

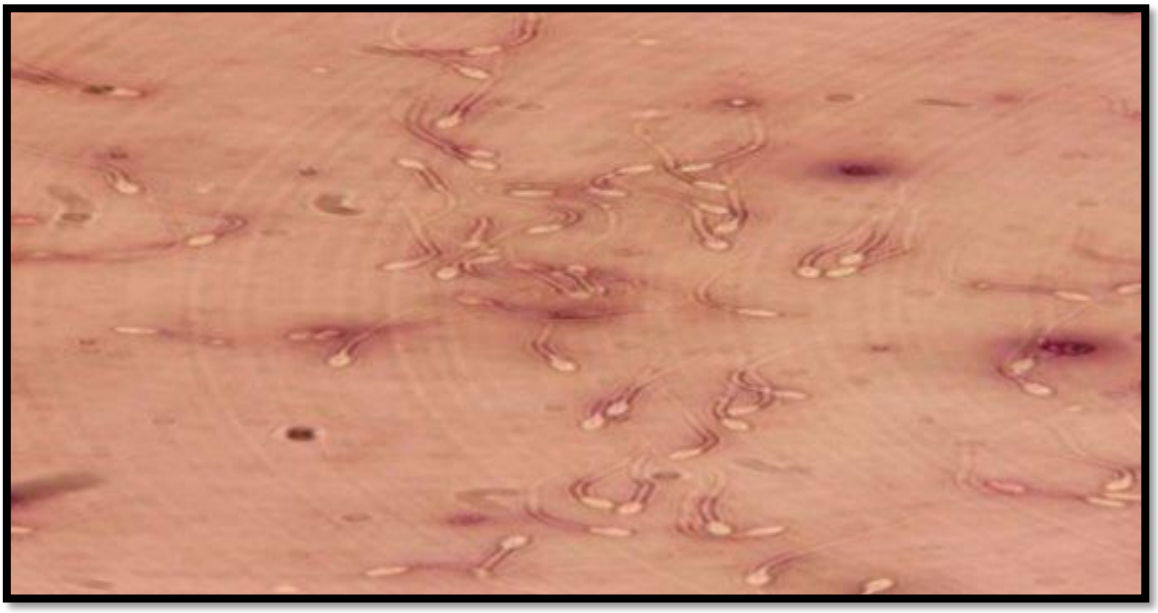
المصدر (Chemineau واخرون ، 1991)

3-8-2 نسبة الحيوانات المنوية الحية Sperm Viability

تم حساب النسبة المئوية للحيوانات المنوية الحية استنادا لما جاء به (AL-Sarray، 2012) وهذا من خلال أخذ قطرة من السائل المنوي المخفف ، وتم وضعها على شريحة زجاجية Slide تحت درجة حرارة 37 م ثم أضيفت لها قطرة واحدة من مزيج من صبغة التي تم تحضيرها من الأيوسين (1.67)و النكروسين (5غم)ومن سترات الصوديوم(2.9غم)بعدها تم مزج القطرتان جيداً بواسطة شريحة زجاجية اي Sliedاخر و عملت مسحة على شريحة زجاجية أخرى تكون بزاوية 45 درجة ، وبعد ذلك فحصها

تحت المجهر الضوئي بقوة تكبير (40 x) ,وظهرت الحيوانات المنوية الحية ذات اللون الشفاف لعدم تقبلها الصبغة بينما تظهر الميتة بلون وردي ، ثم حساب 200 نطفة لجهات مختلفة من الشريحة التي تكون تحت المجهر بعدها تم تقدير النسبة المئوية للنطف الحية في القذفة. وهذا حسب المعادلة الاتية

$$\text{النسبة المئوية للنطف الحية} = \frac{\text{عدد النطف الحية غيرالملونة}}{\text{عدد الكلي للنطف}} X\ 100$$



الشكل (6) النطف الحية والميتة

3-8-3 النسبة المئوية للنطف المشوهة (Abnormal sperms percentage)

تم حساب النسبة المئوية للنطف المشوهة استنادا لطريقة (Moskovtsev، 2013) باستخدام الشريحة نفسها المستعملة في حساب نسبة النطف الحية والميتة. استخدمت أيضا صبغة كل من الايوسين والنكروسين واتم فحصها ل 200 نطفة في حقول مجهرية مختلفة. وتبينت التشوهات وفقا الى(Rndahl، 2004) إلى التشوهات في راس النطفة والذي يكون بالشكل الكمثري والقزم والضيق والمتضخم إضافة الى المزدوج والمنفصل أما تشوهات القطعة الوسطية لدى النطف فقد تكون بالشكل المنتفخ والمزدوج والقطيرة البروتوبلازمية وهناك تشوهات اخرى للنطف تشوهات القطعة الرئيسية والنهائية لذيل النطفة وتكون بصورة الملتف والمزدوج والمنكسر، وقد حسبت النسبة المئوية للنطف المشوهة لكل جزء من النطف المشوهة الكلية وفق المعادلة الآتية: -

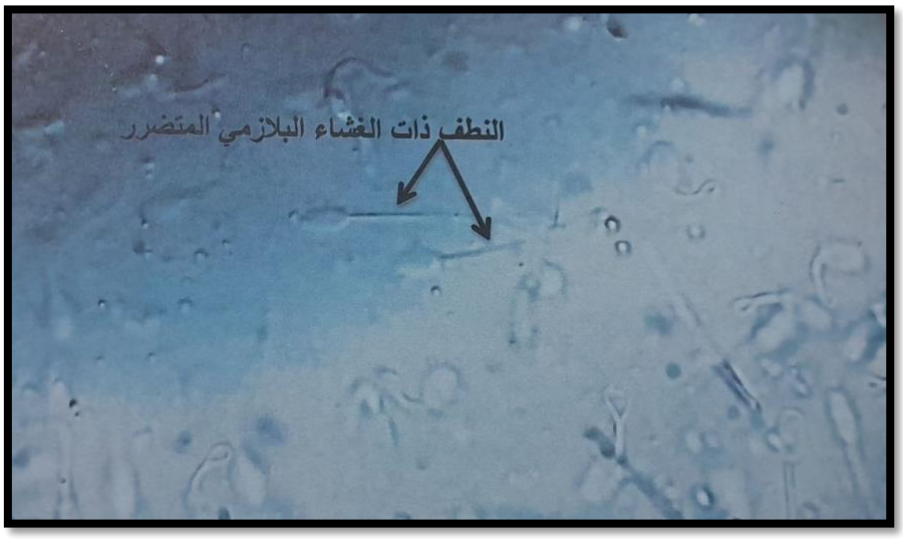
$$\text{النسبة المئوية للنطف المشوهة} = \frac{\text{عدد النطف المشوهة}}{\text{العدد الكلي للنطف}} \; 100X$$

الشكل رقم (7) النطف المشوهة

4-8-3 اختبار سلامة الغشاء البلازمي Plazma membrane integrity

تم حساب النسبة المئوية للنطف التي لها غشاء بلازمي سليم بواسطة اختبار المسمى (Hypoosmtic swelling Test -: HOST) وهذا حسب طريقة (Daghigh، 2016) اذ تم أضافة قطرتان من عينة السائل المنوي المراد فحصها إلى الأنبوبة اختبار التي وضعت في حمام مائي بدرجة 37م حاوية على محلول(HOST) المحضر من الفركتوز بنسبة 8.72 غم/ لتر وسترات الصوديوم بنسبة 4.74غم/ لتر وماء مقطر بمقدار 100مل]تحت ضغط الاوزموزي 100 ملي مول / لتر، و8.00 PH. وتركت العينات في الحمام المائي لمدة 60 دقيقة وبعدها اخذ قطرة منها ووضعها على شريحة زجاجية نظيفة وتم حساب النطف المنتفخة والملتفة الذيل كونها سليمة الغشاء البلازمي بالمجهر وبقوة تكبير 40 x وحساب 200 نطف لحقول مختلفة من الشريحة وبتالي حساب النسبة المئوية للنطف السليمة الغشاء البلازمي حسب المعادلة الآتية:

$$\text{النطف السليمة الغشاء البلازمي} = \frac{\text{عدد النطف المنتفخة الرأس والملتفة الذيل}}{\text{عدد الكلي للنطف}} \; X \; 100$$



الشكل رقم (8) فحص سلامة الغشاء البلازمي

3-8-5- فحص سلامة الجسيم الطرفي (الأكروسوم) :

تم حساب النطف ذات الجسيم الطرفي السليم باستخدام صبغة الجنشن البنفسجي (Gentian Violet) وهذا حسب(Björndahl، 2003) إذ تم تحضير المحلول المتكون من صبغة الأيوسين 1.67 غم في 100مل من الماء المقطر ، الاس الهايدروجيني PH يساوي 7.1 ، للمحلول المحضر إضافة إلى صبغة الجنشن البنفسجي المتكون من 0.75 غم و 2 غم من (Methylene (blue) صبغة المثيل الازرق و 5 مل الكليسرين في 100 مل من الماء المقطر ,بعده ربع ساعة من التحضير تم التصبيغ بأخذ مسحة من العينة السائل المنوي وذلك بوضع قطرة صغيرة من السائل المنوي على طرف احدى الشرائح الزجاجية (saled)، وبعدها عمل مسحة للعينة باستخدام شريحة زجاجية أخرى ، وترك الشريحة تجف ويتم تمريرها في ثلاثة أوعية ذات محاليل مختلفة وكما يلي:

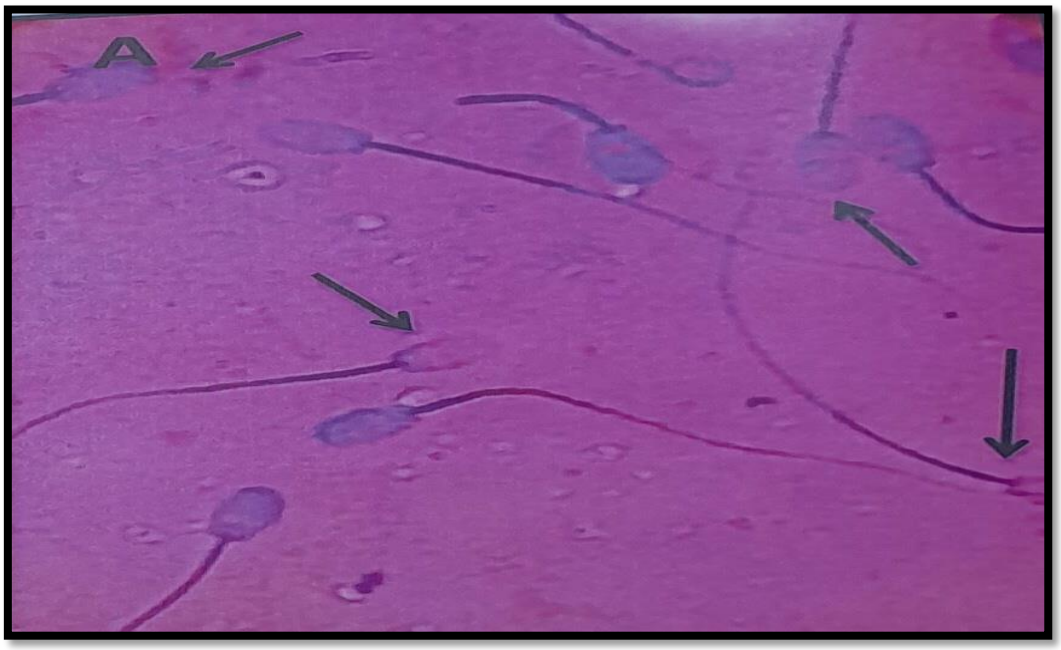
1 وعاء الكحول المحضر، تم وضع الشرائح فيه لمدة 5 دقائق لكي يتم تثبيت المسحة وبعدها تركت لتجف بالحاضنة بدرجة 37م"

2 وعاء من محلول صبغة الأيوسين، تم وضع الشرائح الزجاجية فيه لمدة دقيقتين وبعدها أخرجت وشطفت بماء حنفية خفيف وتركت لتجف بالحاضنة بدرجة37م".

3 وعاء محلول صبغة الجنشن البنفسجي وضعت فيه الشرائح الزجاجية بعد جفافها لمدة ٤دقائق الجاري الخفيف وتركها لتجف وفحصت تحت المجهر.

وسجلت اعداد التشوهات في الاجزاء المختلفة للنطفة وتم تشخيص حالة الجسيم الطرفي بهذه الصبغة من خلال اكتساب اللون البنفسجي للجسيم الطرفي والذي يتميز عن باقي اجزاء النطف من خلال اللون الغامق له مقارنة مع اللون الأقل تركيز لباقي اجزاء النطفة والذي حدث بسبب التداخل ما بين صبغة الجنشن البنفسجي ومحلول الايوسين الاحمر الذي يكسب رأس النطفة اللون الاحمر أو الوردي مقارنة مع الجسيم الطرفي الذي يكتسب اللون البنفسجي وحضرت جميع الصبغات المستخدمة قبل الاستعمال مباشرة للحصول على أفضل النتائج وقد تم ترشيح هذه الصبغات قبل الاستعمال ، وتم التشخيص بالصبغات الكيميائية لثلاث ، النطف ذات الجسيم الطرفي السليم ملونة باللون البنفسجي والنطف ذات الجسيم الطرفي المتضرر بيضاء اللون والمتضررة جزئيا التصبغ قليل وحسبت نسبة النطف السليمة الجسيم الطرفي من خلال عد 200 نطفة بمناطق مختلفة من الشريحة وحسبت النسبة المئوية حسب المعادلة :

$$\text{نسبة النطف السليمة للجسم الطرفي} = \frac{\text{عدد النطف السليمة للجسم الطرفي}}{\text{العدد الكلي للنطف} \times 200} \times 100$$



الشكل رقم (9) (A النطف ذات الجسم الطرفي السليم تحت المجهر والنطف المؤشرة بالسهم هي النطف المتضررة)

جدول (3-1) الأدوات والأجهزة المستعملة في الدراسة وتفاصيلها

ت	الجهاز	البلد المصنع	Equipment and instruments
1	حاضنة Co2	Germany	Co2 incubator
2	جهاز الطرد المركزي	Germany	Centrifuge
3	الميزان الحساس	England	Sensitive Balance
4	الثلاجة	France	Refrigerator
5	مقياس ph	China	pH-meter
6	المجهر الضوئي	Japan	Light microscope
7	ورق ترشيح	China	Filter paper
8	تيوب لحفظ الحيامن	Denmark	Microscopically slides andcover slides
9	مايكرو بايبيت	China	Automatic micropipettes
10	ميزان رقمي	Japan	Digital Weight
11	حمام مائي	Germany	Water bath

التحليل الاحصائي

يستعمل التصميم العشوائي الكامل (CRD) لدراسة تأثير المعاملات المختلفة في الصفات المدروسة ويتم مقارنة الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار(Duncan، 1955) متعدد الحدود. وباستعمال البرنامج الاحصائي الجاهز SPSS (2001) في التحليل الاحصائي وفق الانموذج الرياضي الاتي:

$$Yij=\mu +Ti+eij$$

حيث ان:

Yij= قيمة المشاهدة j العائدة للمعاملة i

μ = قيمة المتوسط العام.

Ti= تأثير المخفف,الوقت (المعاملة).

Eij= قيمة الخطأ التجريبي العشوائي الذي يتوزع طبيعيا بمتوسط عام يساوي صفرا وتباين يساوي مجموع مربع الخطأ التجريبي.

الأنموذج الرياضي الثاني: لدراسة التداخل بين المعاملة الوقت:

$$Yij=\mu +Ti+Bj+TBij +eij$$

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة Result and Desiccation

1-4 تأثير المستخلصات على الحركة الفردية، نسبة الحيامن الحية والميتة المشوهة، سلامة الغشاء البلازمي وسلامة الجسم الطرفي.

يتضح من الجدول (4-1) تأثير المستخلصات على الحركة الفردية، نسبة الحيامن الحية والميتة المشوهة، سلامة الغشاء البلازمي وسلامة الجسم الطرفي). أظهرت النتائج الحالية أن المستخلصات النباتية سببت فروق معنوي ($P<0.05$) في صفة الحركة الفردية لصالح معاملة مستخلص الزيتي T4,حيث تفوقت معنويا على جميع المعاملات الاخرى T1,T2,T3 وكانت قراءتها (61.64±2.37, 63.12±2.27, 66.5±2.07, 75.13 ± 1.15) على التوالي. كما لم تسجل فروق معنوية بين المعاملات T3,T2,T1 وبين T4,T5 للحركة الفردية , اما بالنسبة الحيامن الحية فلم تظهر النتائج فروق معنوية بين كل من معاملة T1,T2,T3, بينما سجلت T4 فروقا معنوية ($P<0.05$) عند مقارنتها بكل من معاملة T1,T3 وكانت قراءتها (57.43±2.60, 59.38±4.69, 76.45±0.78) على التوالي , وفيما يخص نسبة الحيامن الميتة, قد تبين من النتائج حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) للمعاملة T3,T4 عند مقارنتها بمعاملة السيطرة وكانت قراءتها(27.49±2.76, 18.53±1.94) على التوالي ,كما لا توجد فروق معنوية بين معاملة السيطرة وكل من معاملة T2,T1,T5 في نسبة الحيامن الميتة ,

أظهرت نتائج الدراسة عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات T1,T2, T3, T5 في النسبة للحيامن المشوهة, كذلك حصل انخفاض معنوي($P<0.05$) لمعاملة T4مقارنة بجميع المعاملات, وكانت قراءتها(55.88±2.45, 65.67±2.09, 63.44±2.03, 76.09±1.73, 72.02±1.28) على التوالي, أما فيما يخص سلامة الغشاء البلازمي فلم نلاحظ فروق معنوية بين كل من معاملة T2,T3 وبين معاملة T4, T5, كما حصل تفوق معنوي ($P<0.05$) لصالح كل من المعاملاتT5,T4 على معاملة T2,T3ومعاملة السيطرة وكانت قراءتها(55.88±2.45, 65.67±2.09, 63.44±2.03, 76.09±1.73, 72.02±1.29) على التوالي , أشارت نتائج التجربة حصول تفوق معنوي ($P<0.05$) لدى معاملات المستخلصات الزيتية T4, T5على المعاملات المستخلصات المائيةT2,T3ومعاملة السيطرة وكانت قراءتها(54.84±2.44, 63.24±1.92, 64.14±1.87, 74.32±0.86, 65.24±1.30) على التوالي , كما تبين وجود انخفاض معنوي($P<0.05$) في معاملة السيطرة مقارنة بالمعاملات T2,T3, T4, T5 فيما يخص سلامة الجسم الطرفي عند الحفظ بالتبريد .

لوحظ انخفاض المستوى معنوي في نسبة الحيامن الميتة في معاملة T4 مقارنة بمعاملتي T3 والسيطرة وقد يعزى السبب الى أضافة مستخلص البردقوش الذي يحتوي على الفلافونويدات والتربينات ومضادات الأكسدة، التي تساهم في اصلاح وترميم خلايا الخصية للحيوانات المنوية وحماية الحيوانات المنوية من تأثير العوامل المؤكسدة (Rababah واخرون، 2020). كما أشار (Al-Najar واخرون، 2022) الى ان البردقوش غني بمضادات الأكسدة التي تقلل من الاجهاد التأكسدي الذي يؤثر على الخصوبة لدى الأغنام.

أظهرت الدراسات الحديثة ان الحيوانات المنوية تتعرض بشكل مستمر للأجهاد التأكسدي، وذلك بسبب انخفاض مستويات مضادات الأكسدة في السيتوبلازم واحتواء غشاء الحيوانات المنوية على نسبة عالية من الأحماض الدهنية غير المشبعة، وهذا يجعلها عرضة لهجوم الجذور الحرة، مما يؤدي تلف هذا الأحماض والتغير النظام الأنزيمي داخل الخلية، وبتالي تأثير سلبياً على جودة الحيوانات المنوية وقدرتها على الإخصاب (Naji واخرون، 2023).

ويعزى انخفاض في نسبة الحيامن المشوهة في معاملة مستخلص البردقوش الى احتواء النبات على مضادات الأكسدة الأنزيمية، والتي ساهمت في رفع مستوياتها في بلازما السائل المنوي، تعمل هذه المضادات على كسر سلسلة أكسدة الدهون وتقليل افراز مركبات الألدهيدات السامة التي تعيق من حركة الحيوانات المنوية وتسبب تشوهات في رأس ونواة الاكروسوم (Tair واخرون، 2014). من جهة اخرى، فأن الارتفاع في مركبات الأوكسجين التفاعلية في السائل المنوي قد يؤدي الى تغيرات في حركة الحيوانات المنوية، مما يعيق من كفاءتها في عملية الأخصاب (Takalani واخرون، 2023).

الجدول (4-1) تأثير المستخلصات على الحركة الفردية، نسبة الحيامن الحية والميتة، المشوهة، سلامة الغشاء البلازمي وسلامة الجسم الطرفي (المتوسط ±الخطأ القياسي).

المعاملات	الصفات المدروسة					
	نسبةالحركةالفردية	نسبة الحيامن الحية	نسبة الحيامن الميتة	نسبة الحيامن المشوهة	نسبة سلامة الغشاء البلازمي	نسبة سلامة الجسم الطرفي
T1	2.29±61.64 c	2.60±57.43 c	2.76±27.49 a	2.79±31.33 a	2.45±55.88 c	2.44±54.84 c
T2	2.37±63.12 c	2.19±64.16 bc	2.01±24.76 ab	2.22±27.31 a b	2.09±65.67 b	1.92±63.24 b
T3	2.07±66.05 bc	4.69±59.38 c	2.05±27.25 a	2.22±27.29 ab	2.03±63.44 b	1.87±64.14 b
T4	1.15±75.13 a	0.78±76.45 a	1.94±18.53 b	2.07±21.29 c	1.73±76.09 a	0.86±74.32 a
T5	1.18±71.27 b	1.67±69.75 b	1.80±22.00 c	1.85±24.73 ab	1.29±72.02 a	1.30± 69.66 a
مستوى المعنوية	*	*	*	*	*	*

الحروف الصغيرة المختلفة تشير إلى وجود فروق معنوية *(P<0.05)*بين متوسطات المعاملات NS تشير الى عدم وجود فروق معنوية بين ،المعاملات*(P<0.05)*

T1:معاملة السيطرة مخفف Tris ، T2 :معاملة استخدام المستخلص المائي لنبات البردقوش بتركيز 0.1%مع مخفف Tris

T3:معاملة استخدام المستخلص المائي لنبات البردقوش بتركيز 0.2%مع مخفف Tris ، T4:معاملة استخدام المستخلص الزيتي لنبات البردقوش بتركيز 0.1%مع مخفف Tris

T5: معاملة استخدام المستخلص الزيتي لنبات البردقوش بتركيز 0.2%مع مخفف Tris

4_2 تأثير مدد الخزن على الحركة الفردية، نسبة الحيامن الحية والميتة المشوهة، سلامة الغشاء البلازمي وسلامة الجسم الطرفي.

أظهرت نتائج الجدول (4-2) تأثير مدد الخزن على الحركة الفردية ونسبة الحيامن الحية والميتة والمشوهة وسلامة الغشاء البلازمي وسلامة الجسم الطرفي وجود فروق معنوية($P<0.05$) بين مدد الخزن المختلفة فيما يخص الحركة الفردية للنطف، أذ تفوقت مدة الخزن معنوياً($P<0.05$) عند الساعة الأولى بمتوسط (75.02) تليها المدة 24 (72.02) مقارنة بمدد الخزن 48, 72,96,والتي كانت متوسطاتها (66.24, 64.48, 59.45) على التوالي. فيما لم تحصل فروق معنوية بين مدد الخزن 72،96 ساعة وبين 48،72 ساعة من حيث الحركة الفردية، اما بنسبة لنسبة الحيامن الحية، فقد لوحظ انخفاض معنوي($P<0.05$) بعد 96ساعة من الخزن مقارنة بمدد الخزن القصيرة (0,24 الساعة) وكانت قراءتها (73.27±1.44, 68.59±3.49, 58.23±3.29) على التوالي، بينما لم تحصل فروق معنوية بين مدد الخزن 48،72ساعة ولا بين مدد الخزن 0,24 ساعة. وفيما يتعلق بنسبة الحيامن الميتة فقد تفوقت المدة 96 ساعة معنوياً ($P<0.05$) مقارنة مع مدد الخزن0,24 و48,72 ساعة وكانت قراءتها (13.30±1.26, 18.94±0.95, 23.89±1.18, 29.49±1.35, 34.41±1.18)على التوالي ، اما بنسبة للحيامن المشوهة فقد ازدادت معنوياً($P<0.05$) في مدة الخزن 96 ساعة (37.92) مقارنة بساعة الاولى (15.59) مع تسجيل حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مدد الخزن 48،24،0 ، كما بينت النتائج وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين جميع مدد الخزن 96،0،24،72،48ساعة من حيث نسبة التشوهات، فيما يخص سلامة الغشاء البلازمي للنطف وجدت فروق معنوية ($P<0.05$) بين مدة الخزن 96ساعة والساعة الاولى من مدة الخزن ونلاحظ عدم وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المدد 48،24،0ساعة وبين مدد الخزن96،72،48 ساعة، كما لم تلاحظ فروق معنوية ($P<0.05$) بين مدد الخزن 72,96ساعة وكذلك بين مدد الخزن 24،0،ساعة، *كما اتضح من النتائج حصول تفوق معنوي* ($P<0.05$) لمدد 24،0ساعة مقارنة بمدد الخزن 96،72 ساعة لسلامة الجسم الطرفي وكانت قراءتها(70.92±1.62، 69.64±1.55, 61.00±2.52, 59.24±2.38)على التوالي.

وقد يرجع السبب في حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) في مدة الخزن 96ساعة مقارنة بساعة الأولى الى تأثير الحفظ بالتبريد يسبب تدهورا في تركيب ووظيفة غشاء المايتوكندريا للنطف اذ يعد الغشاء الميتوكوندري مؤشراً حيوياً لحالة النطف حيث اي خلل فيه ينعكس سلبا على قدرة المايتوكندريا على أنتاج الطاقة على شكل ATP التي تعتبر ضرورية للحركة والفعالية الأيضية للحيوانات المنوية (Waterhouse واخرون، 2006). فضلا عن ذلك أكد (El-Wakf واخرون، 2015) ان عملية الحفظ بالتبريد تعرض الحيوانات المنوية الى صدمة الباردة نتيجة التغير المفاجئ لدرجات الحرارة بالأضافة

الى التأثير نوع المخفف الغير مناسب يؤدي الى أنتاج اضرار تأكسدية على انواع الحيوانات المنوية، عبر أنتاج لأنواع الأوكسجين التفاعلية (ROS) خاصة عند انخفاض مستويات الأنزيمات المضادة للأكسدة مما ينعكس سلبا على جودة السائل المنوي ووظائف النطف.

يعزى السبب في انخفاض نسبة الحيوانات المنوية المشوهة في مدد الحزن 24,48ساعة لاستخدام مستخلصات البردقوش لاحتوائها على الكربوهيدرات الموجودة في جدار الخلية، اضافة الى السكريات الموجودة في النسيج الداخلي للأوراق (Raina, واخرون، 2012). ويعزى السبب في عدم وجود فروق معنوية ($P<0.05$) في مدد الخزن 72،96 ساعة لسلامة الجسم الطرفي (الأكرسوم) الى احتواء اوراق البردقوش على مضادات الاكسدة منها فتامين E,اي ان لجزيئة الواحدة من فتامين E قادرة على حماية 1000جزيئة من الاحماض الدهنية الغير مشبعة التي تتواجد بكميات كبيرة في الغشاء البلازمي والجسم الطرفي (الاكروسومي) للنطف(Wathe، 2007). كذلك له دور في حماية النطف من الاضرار الناتجة عن الأكسدة خلال ارتفاع مستويات الجذور الحرة، اذ يعمل فتامين E دور مهما لمنع التشوهات في ذيل النطف (Esmaeili واخرون، 2015).

الجدول (4-2) تأثير مدد الحفظ على الحركة الفردية، نسبة الحيامن الحية والميتة المشوهة، سلامة الغشاء البلازمي وسلامة الجسم الطرفي (المتوسط ±الخطأ القياسي)

مدة الحفظ (ساعة)	الصفات المدروسة					
	نسبةالحركةالفردية	نسبة الحيامن الحية	نسبة الحيامن الميتة	نسبة الحيامن المشوهة	نسبة سلامة الغشاء البلازمي	نسبة سلامة الجسم الطرفي
0	1.32±75.02 a	1.44±73.27 a	1.26±13.30 e	0.66± 13.43 a	1.75±71.76 a	1.61±70.92 a
24	1.29±72.02 a	3.49±68.59 a b	0.95±18.94 d	1.01±12.47 a	1.57±70.33 a	1.55±69.64 a
48	1.94±66.24 b	3.14±64.00 bc	1.18±23.89 c	0.51± 12.11 c	2.52±66.96 ab	2.53±65.40 ab
72	1.89±64.48 bc	3.16±63.07 bc	1.35±29.49 b	0.44± 7.44 b	2.69±62.24 b	2.52±61.00 b
96	2.31±59.45 c	3.29±58.23 c	1.18±34.41 a	0.38± 7.36 b	3.41±61.80 b	2.38±59.24 b
مستوى المعنوية	*	*	*	*	*	*

الحروف الصغيرة المختلفة تشير إلى وجود فروق معنوية بين متوسطات المعاملات *(P<0.05) * NS تشير الى عدم وجود فروق معنوية بين، المعاملات*(P<0.05) *

T1:معاملة السيطرة مخفف Tris ، T2 :معاملة استخدام المستخلص المائي لنبات البردقوش بتركيز 1%مع مخفف Tris

T3:معاملة استخدام المستخلص المائي لنبات البردقوش بتركيز 2%مع مخفف Tris ، T4:معاملة استخدام المستخلص الزيتي لنبات البردقوش بتركيز 1%مع مخفف Tris

T5: معاملة استخدام المستخلص الزيتي لنبات البردقوش بتركيز 2%مع مخفف Tris

3-4 تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في نسبة المئوية للحركة الفردية للحيامن.

أوضحت نتائج الجدول(4-3) تأثير المستخلصات و فترات الحفظ على نسبة المئوية للحركة الفردية للحيامن الى عدم وجود فروق معنوية (P<0.05) بين المعاملة T1,T2, خلال الساعة الاولى للحركة الفردية للحيامن، في حين بينت النتائج حصول تفوق معنوي (P<0.05) للمعاملة T4على معاملة T1,T2خلال مدة الحفظ نفسها وكانت قراءتها (73.90±3.43, 73.83±1.60 , 67.67±1.52, 81.73±1.15)على التوالي، كما لم تلاحظ فروق معنوية (P<0.05) في المعاملة T1خلال المدد 96,48ساعة،ألا أن النتائج كشفت عن وجود فروق معنوية (P<0.05) بين المعاملات T1,T3,T5خلال المدد 96،72،48،24،0 ساعة، ومن جهة أخرى تسجل فروق معنوية بين T4,T5 ,خلال مدد الحفظ 0،24 ساعة عند المقارنة بينهما ,اما خلال فترات الحفظ 0،24 ساعة فقد أظهرت النتائج تفوقاً معنوياً (P<0.05) للمعاملة T4مقارنة بمعاملتين T1, T2خلال مدة الحفظ 24ساعة وكانت المتوسطات(66.13, 70.83, 77.96) على التوالي كما لم تسجل فروق معنوية (P<0.05) بين المعاملة T2,T3 خلال مدة الحفظ نفسها، اما بنسبة للمعاملة T3 لا توجد فروق معنوية بينها خلال فترات الحفظ 0,72 ساعة، كذلك لا توجد فروق معنوية بين المعاملة T5خلال مدد الحفظ 72,48ساعة، كما تبين وجود انخفاض معنوي (P<0.05)للمعاملة T2مقارنة بمعاملة السيطرة ومعاملة T4 خلال مدد الخزن 96ساعة وكانت قراءتها(53,96±5.96, 50.00±1.00, 69.90±1.00), فيما أوضحت النتائج عدم حصول فروق معنوية بين المعاملة T2و معاملة السيطرة لمدة 72ساعة ،اما على مستوى المعاملات اشارت نتائج الدراسة وجود فروق معنوية بين جميع المدد خلال جميع المعاملات T3,T4,T5 .

بشكل عام تفوقت نتائج الدراسة المستحصل عليها من معاملة استخدام المستخلص الزيتي لأوراق البردقوش على معاملة السيطرة وقد يعزى السبب في ذلك إلى محتوى أوراق البردقوش على المركبات النشطة بيلوجيا منها الثيمول والكارفاكرول إذ تعمل هذا المركبات على الزيادة حركة الحيوانات المنوية (Govaris واخرون، 2010). وقد بين (Zarhouti, واخرون، 2023) خلال دراسة أجراها ان البردقوش يحتوي على الفلافونويدات والفينولات التي تزيد من حركة الحيوانات المنوية وقدرتها على البقاء، كما تعمل على خفض مستوى العلامات التأكسدية وبالتالي تحسن من عملية تكوين الحيوانات المنوية وإمكانية الخصوبة.

وقد يعزى السبب في ظهور هذه النتائج الى ان السائل المنوي يؤدي الى انخفاض تدريجي في جودته خلال طريقة الحفظ بالتبريد نتيجة تعرضه لأضرار تأكسدية تسببها أنواع الأوكسجين التفاعلية(Ros) على السائل المنوي مما تؤدي الى التغير في حركة الحيوانات المنوية (Agarwal، 2014). فضلا عن

ذلك أكدت الدراسات الأخرى أن متوسط مستويات أنواع الأوكسجين التفاعلية أعلى بكثير في الحيوانات المنوية لدى اللبائن ذوي المعايير الغير طبيعية، لذلك فإن التوازن بين أنواع الاوكسجين التفاعلية ومضادات الأكسدة ضروري لنشاط الحيوانات المنوية والتخصيب بكفاءة عالية (Barati واخرون، 2020). **كذلك يحتوي البردقوش على العديد من المركبات الفعالة مثل حمض الأسكوربيك ،والفلافونيد، الكاروتين، والبوليفينولات إذا تسهم هذا المركبات في تقليل مستويات الجذور الحرة وتقليل خطر موت الخلايا(Matshedison, واخرون, 2015).** ويعزى السبب إلى عدم وجود فروق معنوية للمعاملة T2و السيطرة في نسبة الحركة الفردية للحيوانات المنوية بعد 72ساعة من الحفظ بالتبريد الى هذا المواد الموجودة في أوراق البردقوش، خاصة مركبات السابونين والفلافونويد(Wang, واخرون, 2017).

الجدول (4-3) تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في نسبة المئوية للحركة الفردية للحيامن (المتوسط± الانحراف القياسي).

المعاملات	مدد الحفظ (ساعة)					المعدل	مستوى المعنوية
	0	24	48	72	96		
T1	3.43±73.90 Ac	3.33±66.13 Bd	8.93±58.70 De	1.56±55.50 Cd	5.96±53.96 Dd	8.87±61.64 d	*
T2	1.60±73.83 Ac	0.76±70.83 Bc	4.07±62.20 Cd	4.65±58.76 Dd	1.00±50.00 Ee	9.19±63.12 cd	*
T3	7.65±71.90 Cd	1.52±67.67 Ac	5.92±70.16 Bb	6.68±63.30 Cc	10.19±57.23 Dc	8.04±66.05 c	*
T4	1.15±81.73 Aa	2.30±77.13 Ba	2.11±74.67 CDa	1.40±72.23 Da	1.00±69.90 Ea	4.46±75.13 a	*
T5	1.05±77.96 Ab	0.66±74.16 Bb	1.38±69.40 Cc	1.52±68.67 Cb	2.46±66.16 Db	4.57±71.27 b	*
المعدل	5.13±75.02 A	5.01±72.03 A	7.53±66.24 B	7.34±64.48 B	8.96±59.45 C		*
مستوى المعنوية	*	*	*	*	*	*	

الحروف الكبيرة تشير إلى وجود فروق معنوية بين متوسطات مدد الحفظ كما تشير الحروف الصغيرة الى وجود فروق معنوية *(P<0.05) *بين متوسطات المعاملات NS تشير الى عدم وجود فروق معنوية بين، المعاملات*(P<0.05)*

T1:معاملة السيطرة مخفف Tris ، T2 :معاملة استخدام المستخلص المائي لنبات البردقوش بتركيز 1%مع مخفف Tris

T3:معاملة استخدام المستخلص المائي لنبات البردقوش بتركيز 2%مع مخفف Tris ، T4:معاملة استخدام المستخلص الزيتي لنبات البردقوش بتركيز 1%مع مخفف Tris

T5: معاملة استخدام المستخلص الزيتي لنبات البردقوش بتركيز 2%مع مخفف Tris

4-4 تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في نسبة المئوية للحيامن الحية.

أوضحت النتائج في الجدول(4-4)وجود فروقات معنوية بين المعاملات عند الوقت(0)حيث تفوقت المعاملة T4 وT5وحققت أعلى نسبة للحيامن الحية بلغت متوسطتها 79.26 و77.73 على التوالي مقارنة ببقية المعاملات وتليها معاملة T2في حين لم يلاحظ وجود فروق معنوية($P<0.05$) بين المعاملتين T1وT3التي سجلت اقل نسبة. وبعد 24ساعة من الخزن المبرد، استمرت معاملتين T4,T5بالتوفق على جميع المعاملات وتليها معاملة T2ولم يلاحظ وجود فرق معنوي بين T1وT3. تفوقت استعمال المعاملة T4(استعمال المستخلص الزيتي لنبات البردقوش)على جميع المعاملات الأخرى معنويا ($P<0.05$) بعد 48 ساعة من الخزن المبرد وبلغت قراءتها(74.53±1.04) وتليها معاملة T5 بمقدار 69.13±1.22 في حين سجلت معاملة السيطرة (T1) أقل نسبة نطف حية بمقدار 53.67. استمر تفوق معاملة T4 بتحقيق أعلى نسبة نطف حية بعد 72ساعة من الحفظ المبرد وبلغت(75.83±0.90) وتليها T5.ولم يلاحظ وجود فرق معنوي بين T1,T2,T3بنفس المدة. بعد 96ساعة من الحفظ المبرد اتضح من الجدول(4-4)تفوق معاملة T4 على باقي المعاملات معنويًا ($P<0.05$) بقراءة بلغت (47.96±1.98) عند نفس المدة .، كما أظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية لمعاملة T2خلال مدد الحفظ 0,24ساعة وبين 48,72,96,ساعة، ومن جهة اخرى لم تسجل فروق معنوية بين T3,T5,خلال مدتي الحفظ 72,96ساعة من النسبة الحيوية للحيامن. كما أشارت نتائج الدراسة وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين جميع المعاملات خلال مدة الخزن 48 ساعة وكانت المتوسطات (53.67±2.19, 63.16±1.18 ,59.53±4.97, 74.53±1.06, 69.13±1.10) على التوالي.

يعزى السبب لتفوق المعاملة T4 على معاملة السيطرة على مستخلص الزيتي لأوراق البردقوش، لكون النبات غني بالمركبات الفينولية إذ تعمل على منع تأثير الضار للجذور الحرة على الحيوانات المنوية (Ahlam واخرون، 2024). كذلك يحتوي النبات على المركبات ذات الأنشطة المضادة للأكسدة منها الكيتونات وبعض مشتقات الفينول تعلب دور رئيسي لمنع تأثير صدمة البرودة (,Mossa واخرون، 2011). فضلا عن ذلك أكد(Alenezy واخرون ، 2019) أن لأوراق البردقوش تأثيراً ايجابياً على معايير جودة الحيوانات المنوية من خلال تحسين حركة الحيامن وسلامة أغشيتها والقدرة على البقاء وسلامة الأكرسوم في السائل المنوي للثيران. قد يعزى السبب في تفوق تأثير استخدام المستخلص المائي لأوراق البردقوش في بعض المدد الى غناها بمركبات مضادة للأكسدة، مثل الفلافونيدات، الفينولات، الكاروتينات، السيلينيوم، وهي مركبات طبيعية تسهم بشكل فعال في تقليل الإجهاد التأكسدي(Balasundram واخرون، (2006). كما أشار بعض الباحثين إلى قدرة مستخلص البردقوش

على تنظيم مسار الميتوكوندريا، وتقليل بعض المؤشرات الحيوية للإجهاد التأكسدي مثل الفينول الحر، دون التأثير على مضادات الأكسدة الأخرى، بل أظهر تأثيرا تدريجيا على سلسلة من الإنزيمات الواقية (Carrera،واخرون،2023). ومن المعروف أن التعامل مع السائل المنوي، خاصة خلال الحفظ بالتبريد، يؤدي غالبًا إلى تراجع تدريجي في جودته وقدرته على الأخصاب، وذلك نتيجة لتعرض الحيوانات المنوية للصدمة البرودة والتغيرات المفاجئة في درجة الحرارة. وقد ينتج عن ذلك إطلاق أنواع الأوكسجين التفاعلية(Ros)التي تسبب في أضرار تأكسدية تؤثر سلباً على سلامة الحيوانات المنوية (Galoviaova،واخرون،2019).

الجدول (4-4) تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في نسبة المئوية للحيامن الحية (المتوسط ± الخطأ القياسي).

المعاملات	مدد الحفظ (ساعة)					المعدل	مستوى المعنوية
	0	24	48	72	96		
T1	2.48±68.50 Ac	2.62±61.96 Ac	2.19±53.67 Ae	2.83±55.06 Ac	3.58±47.96 Ad	10.03±57.43 C	*
T2	1.51±73.50 Ab	0.97±69.70 Ab	1.18±63.16 Ac	3.11±58.86 Ac	3.53±55.56 Ac	8.49±64.16 Bc	*
T3	1.33±67.36 Ac	5.72±60.83 Ac	4.97±59.53 Ad	18.84±55.06 Ac	3.96±54.10 Ac	18.20±59.38 C	*
T4	0.92±79.26 Aa	1.73±75.90 Aa	1.04±74.53 Aa	0.90±75.83 Aa	1.98±73.73 Aa	3.04±76.45 A	*
T5	1.98±77.73 Aa	0.95±74.56 Aa	1.10±69.13 Ab	0.96±67.53 Ab	1.44±59.80 Ab	6.49±69.75 Ab	*
المعدل	2.36±73.27 A	3.67±68.59 AB	3.48±64.00 BC	3.50±63.07 BC	1.05±58.23 C		*
مستوى المعنوية	*	*	*	*	*	*	

الحروف الكبيرة عمودياً تشير إلى وجود فروق معنوية بين متوسطات مدد الحفظ كما تشير الحروف الصغيرة افقياً الى وجود فروق معنوية *(P<0.05) *بين متوسطات المعاملات NS تشير الى عدم وجود فروق معنوية بين، المعاملات*(P<0.05)*

T1:معاملة السيطرة مخفف Tris ، T2 :معاملة استخدام المستخلص المائي لنبات البردقوش بتركيز 1%مع مخفف Tris

T3:معاملة استخدام المستخلص المائي لنبات البردقوش بتركيز 2%مع مخفف Tris ، T4:معاملة استخدام المستخلص الزيتي لنبات البردقوش بتركيز 1%مع مخفف Tris

T5: معاملة استخدام المستخلص الزيتي لنبات البردقوش بتركيز 2%مع مخفف Tris

4-5 تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في النسبة المئوية للحيامن الميتة.

الجدول(4-5) يبين تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في النسبة المئوية للحيامن الميتة تحت ظروف الحفظ بالتبريد 5م،أشارت نتائج الدراسة إلى حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) للمعاملة T4مقارنة بمعاملةT2و معاملة السيطرة عند المدد 0,24 ساعة وكانت المتوسطات(13.16, 14.56, 28.23), كما اظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية في معاملة السيطرة خلال المدد 0,24,72,96ساعة، كذلك لا توجد فروق معنوية بين المعاملات T1,T2خلال المدد 0,24 ساعة, تبين من النتائج الجدول(4-5) وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المعاملات T1,T3,T4 خلال الساعة الاولى من الحفظ كما تبين أيضا وجود فروق معنوية الى نفس المعاملات خلال 48,96ساعة، فيما يتضح من النتائج عدم وجود فروق معنوية للمعاملة T5خلال المدد 0,24ساعة وبين المدد 72,96ساعة، أما بنسبة لمدة 96ساعة تبين ان هناك انخفاض معنوي ($P<0.05$) كل من مستخلص البردقوش الزيتي على المستخلصات المائية والسيطرة، أما المدة 72ساعة نلاحظ وجود تفوق معنوي ($P<0.05$) للمعاملة السيطرة على كل من T4,T5وكانت قراءتها للمتوسطات(35.13±1.94, 21.67±1.25, 27.67±1.18)على التوالي. اما في المدة 48ساعة فنلاحظ من النتائج حصول انخفاض معنوي ($P<0.05$) للمعاملة T4مقارنة بمعاملة T2و معاملة السيطرة، فيما اظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المعاملة T2,T3 خلال مدة 48ساعة، كذلك لا توجد فروق معنوية بين المعاملة T4, T5 خلال المدة 96ساعة، وبين المعاملة T2,T3 خلال مدة الحفظ نفسها في نسبة المئوية للحيامن الميتة. قد يُعزى الانخفاض في نسبة الحيامن الميتة لدى معاملة استخدام المستخلص الزيتي لأوراق البردقوش (المعاملة T4) في بعض مدد الحفظ إلى احتواء هذه الأوراق على العديد من المركبات النباتية الفعالة التي تمتلك خصائص قوية مضادة للأكسدة، مثل التربينويدات، الثيانينات، والفلافونيدات تلعب هذه المركبات دورًا مهمًا في تقليل الإجهاد التأكسدي الواقع على الحيوانات المنوية أثناء الحفظ (Kelli-Megrane وآخرون، 2020). وبالمثل، فإن تفوق معاملة استخدام المستخلص المائي لأوراق البردقوش (المعاملة T2) قد يُعزى إلى المحتوى الغذائي الغني لهذه الأوراق، حيث تحتوي على نسب عالية من الكاروتينات، البروتين، الفيتامينات (C، E)، بالإضافة إلى الرايبوفلافين، حمض الفوليك، حمض النيكوتينيك، البيروكسيدين، المعادن، الأحماض الأمينية، وعدد من المركبات الفعالة المضادة للأكسدة، ومن المعروف أن فيتامين C، البوليفينولات، الكاروتينات، السيلينيوم، والزنك تملك خصائص عالية الكفاءة كمضادات أكسدة. من ناحية أخرى، فإن المستويات العالية وغير المنظمة من مركبات الأوكسجين التفاعلية (ROS) التي تنتجها الحيامن نفسها يمكن أن تُسبب أكسدة الدهون في الغشاء البلازمي، مما يؤدي إلى حدوث الإجهاد التأكسدي، وقد بيّن أن

ارتفاع مستويات ROS في السائل المنوي يؤدي إلى إحداث تغيّرات سلبية في حركة الحيامن وتشكلها ما يقلل من كفاءتها الإخصابية (Eskandari وآخرون، 2012).

أشار (Savage وآخرون، 2016) إلى أن تفاعل جذرين حرّين يمكن أن يؤدي إلى إبطال فعالية كليهما، في حين أن تفاعل جذر حر مع مركب غير مستقر قد يُنتج جذرًا حرًا أقوى وأكثر ضررًا، وهو ما يفسر كيف يمكن لإلكترون حر واحد أن يتسبب في تدمير الخلية، وذكر أيضا أن إنزيم سوبر أوكسيد ديسميوتاز (SOD) يُعد من الإنزيمات الرئيسية في نظام الدفاع المضاد للأكسدة في الخلية، حيث يعمل على تحفيز تفاعلات أكسدة-اختزال مخصصة للتخلص من الجذور الحرة، لاسيما تلك الناتجة عن الميتوكوندريا، ما يساهم بشكل فعال في حماية الخلايا المنوية من التلف التأكسدي .

جدول (4-5) تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في النسبة المئوية للحيامن الميتة (المتوسط± الخطأ القياسي).

المعاملات	مدد الحفظ (ساعة)					المعدل	مستوى المعنوية
	0	24	48	72	96		
T1	0.24±13.16 Aa	1.43±20.13 Aa	2.01±28.23 Aa	1.94±35.13 Aa	1.14±40.80 Aa	3.27±27.49 A	N.S
T2	0.51±14.56 Aa	1.90±20.40 Aa	1.68±24.73 Ab	1.01±30.36 Ab	1.76±33.76 Ab	2.72±24.76 B	*
T3	1.31±17.90 Ac	2.08±22.16 Aa	2.16±26.73 Aab	1.89±32.63 Aab	1.92±36.83 Ab	2.82±27.25 A	*
T4	0.16±8.23 Ab	1.64±14.76 Ab	1.08±18.30 Ac	1.25±21.67 Ad	0.51±29.70 Ac	2.74±18.53 D	*
T5	1.32±12.67 Aab	1.06±17.23 Aab	0.82±21.46 Abc	1.18±27.67 Ac	0.72±30.96 Ac	2.64±22.00 C	*
المعدل	0.84±13.30 E	1.92±18.94 D	2.14±23.89 C	2.29±29.49 B	2.14±34.41 A		*
مستوى المعنوية	*	*	*	*	*	*	

الحروف الكبيرة عمودياً تشير إلى وجود فروق معنوية بين متوسطات مدد الحفظ كما تشير الحروف الصغيرة افقياً الى وجود فروق معنوية *(P<0.05) *بين متوسطات المعاملات NS تشير الى عدم وجود فروق معنوية بين، المعاملات*(P<0.05)*

T1:معاملة السيطرة مخفف Tris ، T2 :معاملة استخدام المستخلص المائي لنبات البردقوش بتركيز 1%مع مخفف Tris

T3:معاملة استخدام المستخلص المائي لنبات البردقوش بتركيز 2%مع مخفف Tris ، T4:معاملة استخدام المستخلص الزيتي لنبات البردقوش بتركيز 1%مع مخفف Tris

T5:استخدام المستخلص الزيتي لنبات البردقوش بتركيز 2%مع مخفف Tris

4-6 تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في نسبة المئوية للحيامن المشوهة.

بينت نتائج الدراسة الجدول(4-6)وجود تأثير معنوي (P<0.05) لتداخل بين المستخلصات المائية والزيتية ومخفف Tris لنسبة المئوية للحيامن المشوهة، إذ اظهرت الساعة الاولى انخفاض معنوي (P<0.05) باستخدام المخفف الزيتي للبردقوش (T4)مقارنة ببقية المعاملات ، كما تشير النتائج المستحصل عليها عدم وجود فروق معنوية (P<0.05) بين مخفف البردقوش المائي ومخفف Tris في نسبة المئوية للحيامن المشوهة خلال الساعة الاولى من الحفظ بالتبريد 5م، كذلك نلاحظ وجود تفوق معنوي (P<0.05) للمعاملة T4على معاملة السيطرة خلال مدد 72,96,48ساعة وكانت قراءتها (7.16±0.15,0.23±4.51, 0.11±3.57) على التوالي، اما المدة 24ساعة فنلاحظ عدم وجود فروق معنوية (P<0.05) بين المعاملة T2,T3 وبين المعاملة T3ومعاملة السيطرة، اما بنسبة للحيامن المشوهة خلال مدد24,48,96ساعة تبين وجود فروق معنوية (P<0.05) بين المعاملة T1, T2, T4 تحت ظروف الحفظ بالتبريد إذ كانت المتوسطات(24.53,20.73, 14.96, 31.03, 26.86, 21.36, 46.36, 38.33, 31.10)،على التوالي. كما أشارت النتائج جدول(6) وجود فروق معنوية (P<0.05) بين المعاملة T4,T5خلال المدد 0,96ساعة وكانت قراءتة متوسطاتها (10.90, 15.06, 0.51, 33.46)على التوالي، فيما أوضحت نتائج الدراسة عدم حصول فروق معنوية (P<0.05) للمعاملة T4 خلال مدد 48,72,96,24ساعة، كذلك نلاحظ عدم وجود فروق معنوية بين المعاملة T1خلال جميع المدد 0,24,48,72,96 ساعة ،وعدم وجود فروق معنوية لدى المعاملة T2خلال المدد 24,48,96ساعة في نسبة التشوهات للحيوانات المنوية، اما المدة 72,48ساعة فنلاحظ وجود انخفاض معنوي (P<0.05) للمعاملة T4مقارنة بمعاملة السيطرة تحت ظروف الحفظ بالتبريد 5م وكانت المتوسطات(36.30, , 1.93, 31.10±)على التوالي. يعزى السبب في الانخفاض المعنوي (P<0.05) في النسبة المئوية للحيوانات المنوية المشوهة خلال الساعة الأولى من الحفظ بالتبريد في معاملة المستخلص الزيتي للبردقوش (T4) مقارنةً بمعاملة السيطرة (T1) إلى احتواء أوراق البردقوش على مركبات الفلافونويدات، بالإضافة إلى احتوائها على مركبات طبيعية فعالة تقلل من الإجهاد التأكسدي، مما يساهم في خفض مستويات الجذور الحرة وتقليل خطر موت الخلايا (Biswas واخرون، 2020).

و يعود السبب في التفوق المعنوي لمعاملة السيطرة مقارنةً بمعاملة المستخلص الزيتي للبردقوش من خلال مدد الحفظ 48 و72 و96 ساعة إلى أن الحيوانات المنوية المستخدمة في معاملة السيطرة قد جُمعت من البربخ، وهي طريقة يُعتقد أنها أفضل من طرق الجمع الأخرى مثل التحفيز الكهربائي، وذلك من حيث تقليل نسبة التشوهات، بغض النظر عن نوع المخفف المستخدم. وتُعد هذه الحيوانات المنوية حديثة

نسبياً، إذ أُخذت مباشرةً من مكان الخزن دون اختلاط بإفرازات الغدد الجنسية اللاحقة، ما يقلل من فرص حدوث التشوهات أثناء الجمع أو المعالجة (Cooper واخرون، 2010).

الجدول (4-6) تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في نسبة الحيامن المشوهة (المتوسط± الخطأ القياسي).

المعاملات	مدد الخزن (ساعة)					المعدل	مستوى المعنوية
	0	24	48	72	96		
T1	1.57±18.34 Aa	2.16±17.90 Aa	1.19±18.10 Aa	0.86±9.80 Ab	0.88±11.23 Aa	1.13±15.07 a	*
T2	1.05±11.93 Ab	0.81±9.90 Ab	1.72±12.10 Ab	1.27±10.76 Aab	0.69±10.66 Aab	0.72±11.07 b	*
T3	1.84±14.73 Aab	1.26±17.00 Aa	1.06±13.73 Ab	1.28±12.30 Aa	0.08±9.06 Ab	1.08±13.36 ab	*
T4	1.43±12.50 Ab	0.53±9.33 Ab	0.23±7.16 Ac	0.15±4.51 Ac	0.11±3.57 Ac	0.32±7.41 c	*
T5	1.64±9.60 Ac	0.66±8.20 Ab	1.05±9.40 Ac	0.19±4.80 Ac	0.05±9.23 Ab	0.19±8.24 c	*
المعدل	1.93±13.42 A	1.17±12.46 A	0.72±12.10 A	0.48±8.43 B	0.06±8.75 B		*
مستوى المعنوية	*	*	*	*	*	*	

الحروف الكبيرة تشير إلى وجود فروق معنوية بين متوسطات مدد الحفظ كما تشير الحروف الصغيرة الى وجود فروق معنوية *(P<0.05) *بين متوسطات المعاملاتNS تشير الى عدم وجود فروق معنوية بين، المعاملات*(P<0.05)*

T1: معاملة السيطرة مخفف Tris ، T2: معاملة استخدام المستخلص المائي لنبات البردقوش بتركيز 1%مع مخفف Tris

T3: معاملة استخدام المستخلص المائي لنبات البردقوش بتركيز 2%مع مخفف Tris ،T4: معاملة استخدام المستخلص الزيتي لنبات البردقوش بتركيز 1%مع مخفف Tris

T5: استخدام المستخلص الزيتي لنبات البردقوش بتركيز 2%مع مخفف Tris

4-7 تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في نسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي.

أشارت نتائج الدراسة الحالية في الجدول (4-7) إلى تأثير كل من المعاملة بالمستخلص المائي والزيت لأوراق نبات البردقوش، بالإضافة إلى مخفف Tris ومدد الحفظ بالتبريد عند درجة حرارة 5°م، في النسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي لنطف الثيران. لوحظ وجود فروق معنوية بين المدد في المعاملة الخامسة، حيث تفوقت مدة الحفظ لمدة ساعة واحدة معنوياً ($P < 0.05$) على مدة 24 ساعة، كما تفوقت مدة 24 ساعة معنوياً ($P < 0.05$) على مدة 48 ساعة، والتي بدورها تفوقت معنوياً ($P < 0.05$) على بقية المدد (72 و96 ساعة). كما ظهرت فروق معنوية ($P < 0.05$) بين المعاملتين T2 وT5 ومعاملة السيطرة خلال مدد الحفظ 0 و24 ساعة، حيث كانت المتوسطات كالتالي (72.60، 67.90، و76.67 و75.36). وعند مقارنة مستويات المعاملات، تبين أن المعاملات الرابعة والخامسة تفوقت معنوياً ($P < 0.05$) على معاملة الثانية والسيطرة عند مدة 48 ساعة، ولم تظهر فروق معنوية ($P < 0.05$) بين المعاملتين T5 وT4لمده نفسها، أما عند مدة 72 و96 ساعة، فقد تفوقت معاملة المستخلص الزيتي (T4) معنوياً ($P < 0.05$) على مستويات المستخلصات المائية، كما تفوقت المعاملتان T4 وT5 معنوياً ($P < 0.05$) على معاملة السيطرة عند مدة 48 ساعة وكانت قراءتها (52.53±2.13, 73.20±1.16, 72.43±1.19) على التوالي، وفيما يتعلق بمستويات معاملات المستخلص الزيتي لأوراق نبات البردقوش خلال مدد الخزن 0 و48 ساعة، لم تسجل فروق معنوية ($P< 0.05$). فيما أظهرت المعاملتان الرابعة والخامسة تفوقاً معنوياً ($P < 0.05$) على المعاملة الثانية والسيطرة، بينما لم تُسجل فروق معنوية ($P < 0.05$) بين المعاملتين الرابعة والخامسة خلال مدد الحفظ 24 48, ساعة. من جهة أخرى، لا توجد فروق معنوية بين المعاملتين T3 وT4 عند المدد 72 و96 ساعة، وكذلك بين المعاملتين T2 وT3 عند المدد 48، 72، و96 ساعة. قد يُعزى تفوق معاملة المستخلص الزيتي (T4) على المستخلص المائي (T2) إلى احتواء الزيوت على مركبات نشطة بتركيز أعلى مقارنة بالمستخلصات المائية، التي غالباً ما تحتوي على مركبات أقل فعالية أو بتركيز أقل (Shah، 2019). كما تتميز الزيوت الطيارة المستخلصة من البردقوش بخصائص مضادة للبكتيريا والفطريات، مما يسهم في تعزيز استقرار الأغشية الخلوية، وينعكس إيجاباً على سلامة الغشاء البلازمي (Rasul، 2018). من جهة أخرى، يُعزى الانخفاض المعنوي في سلامة الغشاء البلازمي مع اختلاف مدد الحفظ بالتبريد إلى حدوث تمزق في الغشاء وتلف في محتويات الخلية، نتيجة تكوّن فجوات في الطبقة الدهنية للغشاء، مما يؤدي إلى تسرب مكونات الخلية وموتها (Laoung واخرون، 2022). كما أشار(Buyukleblebici واخرون، 2016) إلى أن نطف بعض الحيوانات أقل مقاومة للإجهاد التأكسدي، ما يؤدي إلى أكسدة أغشيتها وتلفها. أما في نطف الثيران، فرغم امتلاكها بعض الدفاعات ضد الإجهاد التأكسدي، إلا أن هذه الدفاعات لا تكون كافية أثناء الحفظ

بالتبريد، مما يؤثر على سلامة الغشاء البلازمي. ولذلك، يُستخدم مخفف الحفظ المدعَّم بمضادات الأكسدة لتقليل الأضرار الناتجة عن الأكسدة، ما يساعد في الحفاظ على نسبة النطف الحية وسلامة أغشيتها. أوضح Mancini واخرون, (2023)أن هناك انخفاضاً معنويا في سلامة الغشاء البلازمي للحيوانات المنوية مع مرور الوقت أثناء عملية الحفظ بالتبريد. وقد يعزى هذا الانخفاض إلى العوامل الفنية خلال العمل او إلى تراكم البروتينات نتيجة التخزين لفترة طويلة على جدار الخلية المنوية، مما يؤدي إلى تقليل كفاءة الغشاء البلازمي الغذائية، ويسبب دخول وخروج السوائل عبره. كما يعد الغشاء البلازمي للحيوانات المنوية الهدف الأساسي لتأثير صدمة البرودة. فيما تعد المخففات وسائط أساسية توفر العناصر الغذائية والطاقة الضرورية لضمان بقاء الحيوانات المنوية خلال فترات الحفظ المختلفة، إذ تساهم في الحفاظ على توازن غشاء البلازما وحماية التوازن الأيوني داخل الخلايا وداخل الغشاء وهذا يقلل من الأضرار الناتجة عن الصدمة البرودة(Zhang,واخرون, 2009).

جدول (4-7) تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في نسبة سلامة الغشاء البلازمي (المتوسط± الخطأ القياسي).

المعاملات	مدد الحفظ (ساعة)					المعدل	مستوى المعنوية
	0	24	48	72	96		
T1	2.23±67.23 Ac	1.12±61.83 Ad	2.13±52.53 Ad	2.06±46.67 Ad	3.15±51.13 Ad	3.02±55.88 c	N.S
T2	1.12±72.60 Ab	1.19±67.90 Ac	3.24±66.86 Ac	2.59±62.76 Ac	3.11±58.20 Ac	2.95±65.67 b	N.S
T3	2.64±64.20 Ac	2.31±71.13 Ab	2.06±67.06 Ac	2.56±60.23 Ac	1.18±54.60 Acd	2.69±63.44 b	*
T4	1.71±78.13 Aa	0.86±78.36 Aa	1.19±72.06 Ab	1.16±73.20 Aa	4.62±78.70 Aa	2.37±76.09 a	*
T5	1.93±76.67 Aa	1.28±72.43 Ab	1.68±76.26 Aa	1.15±68.33 Ab	1.74±66.40 Ab	2.50±72.02 a	*
المعدل	2.57±71.76 A	2.02±70.33 A	2.43±66.96 A	3.28±62.24 B	3.54±61.80 B		*
مستوى المعنوية	*	*	*	*	*	*	

الحروف الكبيرة عمودياً تشير إلى وجود فروق معنوية بين متوسطات مدد الحفظ كما تشير الحروف الصغيرة افقياً الى وجود فروق معنوية *(P<0.05) *بين متوسطات المعاملاتN.S تشير الى عدم وجود فروق معنوية بين، المعاملات*(P<0.05)*

T1: معاملة السيطرة مخفف Tris ، T2: معاملة استخدام المستخلص المائي لنبات البردقوش بتركيز 1%مع مخفف Tris

T3: معاملة استخدام المستخلص المائي لنبات البردقوش بتركيز 2%مع مخفف Tris ، T4: معاملة استخدام المستخلص الزيتي لنبات البردقوش بتركيز 1%مع مخفف Tris

T5: استخدام المستخلص الزيتي لنبات البردقوش بتركيز 2%مع مخفف Tris

4-8 تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في نسبة المئوية لسلامة الجسم الطرفي.

الجدول(4-8) يبين تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في النسبة المئوية لاختبار سلامة الجسم الطرفي (الأكرسوم) للحيوانات المنوية تحت ظروف الحفظ بالتبريد 5م ،بينت نتائج التجربة المستحصل عليها عدم وجود فروق معنوية (P<0.05) بين معاملة السيطرة في النسبة المئوية لسلامة الأكرسوم خلال الساعة الاولى من الحفظ بالتبريد، فيما اظهرت النتائج وجود فروق معنوية (P<0.05) بين المعاملة T2,T1,T5خلال المدد 0,24 ساعة وكانت المتوسطات(66.16, 59.96, 71.16, 68.33, 76.47 , 69.64) على التوالي, اما خلال المدد 0,48 ساعة كما لوحظ وجود تفوق معنوي (P<0.05) للمعاملة T4,T5 مقارنة بمعاملة T2و معاملة السيطرة، كذلك تبين من النتائج ان معاملةT4 تفوقت معنويا مقارنة بمعاملة T2 والسيطرة خلال مدد 72,96ساعة، ولم تحصل فروق معنوية بين المعاملة T2,T3 خلال مدد 72,96ساعة في النسبة المئوية لسلامة الجسم الطرفي، وبين المعاملة T2خلال المدد 24,48,72,96ساعة وبين المعاملة T5خلال المدد 24,48,72,96,ساعة . اما على مستوى المعاملات تبين النتائج المستحصل عليها حصول فروق معنوية بين المعاملات T1,T2,T4خلال الساعة الاولى من الحفظ وكانت قراءتها(76.00±, 71.40±, 66.16±)على التوالي، بالنسبة لمدة 24 ساعة فبينت النتائج وجود فروق معنوية (P<0.05) بين المعاملة T1,T2, T4 وكانت قراءة متوسطاتها (68.33, 76.36,59.96)على التوالي، فيما اتضح من النتائج حصول انخفاض معنوي(P<0.05) لمعاملة السيطرة عند مقارنتها بمعاملة T4,T5 خلال المدة 48 ساعة، اما المدتان 72,96ساعة فلاحظ النتائج وجود تفوق معنوي (P<0.05) للمعاملة الربعة عند مقارنتها بمعاملة السيطرة. ويعزى السبب في تأثير استعمال المستخلص المائي والزيتي لأوراق البردقوش في بعض المدد الى احتواء البردقوش على الكيرستين هو أحد الفلافونويدات المعروفة بخصائصها المضادة للأكسدة ومضادة للالتهاب (Kanter, واخرون، 2012).كما اشار (Al-Najar واخرون، 2022) خلال دراسته الى ان البردقوش يحتوي على حمض الروزمارنيك الذي يحمي النطف من الاجهاد التأكسدي وهذا يحسن من سلامة الجسم الطرفي ووظائف السائل المنوي.

وتعد سلامة الجسم الطرفي من المؤشرات المهمة على كفاءة السائل المنوي، نظرًا لدوره الحاسم في عملية اختراق البويضة أثناء التلقيح. لذلك، فإن الحفاظ على سلامة الأكرسوم يُعد مؤشرًا إيجابيًا على جودة الحيوانات المنوية. وقد يعزى السبب الى تفوق المعاملة T4 على معاملة السيطرة والمعاملات الأخرى إلى استخدام أوراق نبات البردقوش كمصدر محتمل لمضادات الأكسدة الطبيعية ضد أكسدة الدهون الفوسفورية وتكوين الجذور الحرة لغشاء الخلية(Trout, واخرون, 2012). كما ان تفوق معاملة مستخلص الزيتي بتركيز 1% على معاملة المستخلص الزيتي بتركيز 2%,قد يكون هذا بسبب التركيز العالي لمضادات الأكسدة مما يؤدي إلى اختلال في التوازن وبتالي التأثير على النظام الأنزيمي للطاقة الحيوانات المنوية في غشاء خلية الحيوانات المنوية، كما ان التركيزات العالية من مضادات الأكسدة قد يكون لها نشاط سام للخلايا(Adikay, واخرون, 2016).

جدول (4-8) تأثير المستخلصات ومدد الحفظ في سلامة الجسم الطرفي (المتوسط± الخطأ القياسي)

المعاملات	مدد الحفظ (ساعة)					المعدل	مستوى المعنوية
	0	24	48	72	96		
T1	2.54±66.16 Ac	2.01±59.96 Ad	2.68±50.66 Ad	2.64±47.80 Ad	3.11±49.60 Ad	2.53±54.84 D	N.S
T2	2.14±71.16 Ab	1.13±68.33 Ac	0.53±60.67 Ac	2.86±60.03 Ac	2.99±56.00 Ac	2.73±63.24 Bc	N.S
T3	2.53±64.80 Ac	61.0±70.96 Abc	08.1±69.10 Ab	3.01±59.60 Ac	1.32±56.26 Ac	2.69±64.14 C	*
T4	1.83±76.00 Aa	1.59±76.36 Aa	1.37±77.20 Ab	0.69±71.40 Aa	1.02±70.66 Aa	1.83±74.32 A	*
T5	1.23±76.47 Aa	1.12±72.56 Ab	1.59±69.36 Ab	0.94±66.20 Ab	2.03±63.70 Ab	2.25±69.66 B	*
المعدل	2.49±70.92 A	2.45±69.64 A	3.13±65.40 B	3.12±61.00 C	3.03±59.24 C		*
مستوى المعنوية	*	*	*	*	*	*	

الحروف الكبيرة عمودياً تشير إلى وجود فروق معنوية بين متوسطات مدد الحفظ كما تشير الحروف الصغيرة افقياً الى وجود فروق معنوية *(P<0.05) *بين متوسطات المعاملاتNS تشير الى عدم وجود فروق معنوية بين، المعاملات*(P<0.05)* T1 : معاملة السيطرة مخفف Tris ، T2: معاملة استخدام المستخلص المائي لنبات البردقوش بتركيز 1%مع مخفف Tris

T3: معاملة استخدام المستخلص المائي لنبات البردقوش بتركيز 2%مع مخفف Tris ، T4: معاملة استخدام المستخلص الزيتي لنبات البردقوش بتركيز 1%مع مخفف Tris

T5: استخدام المستخلص الزيتي لنبات البردقوش بتركيز 2%مع مخفف Tris

الفصل الخامس

الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendations

1.5. الاستنتاجات: -

من خلال نتائج الدراسة الحالية تم التوصل الى الاستنتاجات التالية: -

1-يمكن استخدام المستخلص الزيتي بتركيز 1%في مخففات السائل المنوي (Tris) وحفظها بالتبريد لما لها أثر واضح وإيجابي على بعض خصائص النطف عند الحفظ بالتبريد.

2-احتواء المستخلص المائي والزيتي على كمية كبيرة من المركبات الفينولية ما أعطى كفاءة كمواد مضادة للأكسدة.

3-عدم احتواء المستخلص المائي والزيتي على مواد سميه تؤثر سلبا على نشاط وحيوية النطف عندالتراكيز المستخدمة في هذا الدراسة .

2-5 التوصيات Recommendations

من خلال نتائج الدراسة نوصي بما يلي:

1_أستخدام تراكيز اخرى للمستخلص المائي والزيتي لنبات البردقوش وأثره على الصفات النوعية لنطف الثيران.

2-دراسة تأثير مستخلصات نبات البردقوش على النطف بعد التجميد.

3-اجراء دراسة على المستخلصات المائية والزيتية لنبات البردقوش على أنواع الأخرى من الحيوانات المزرعية.

4-دراسة الصفات الأخرى للنطف البربخية باستخدام مستخلصات أوراق نبات البردقوش مثل حالة المادة الوراثية(DNA) بعد الحفظ وحالة غشاء المايتوكندريا.

المصادر REFERENCES

المصادر العربية

أحمد . عبد العاطى, بسطاوي متولي، أيمن فتحي جودة, البحيري وعواض محمد عبد الله. (2023). دراسة اقتصادية للكفاءة الأنتاجية لأهم النباتات الطبية والعطرية. Journal of Agricultural Economics and Social Sciences, 14(10), 597-602Oil.

ايناس، رفع قاسم, جهان يحيى الحاتم و لبنى ياسين عباس (2023) محافظة نينوى الناميان في Euphorbia فصل وتشخيص عدد من القلويدات وبعض الفينولات من نوعين من نباتات جنس (Journal of Education .Science, 32(3

بيان حمزة مجيد و علي خلف حمود. (2017). تأثير بعض منظمات النمو النباتية في انتاج القلويدات الكلية لنبات الاشواجندا (Withania somnifera L) خارج الجسم Iraqi Journal of (Agricultural Sciences .48(3

عبد الرحمن, احمد, عبير نزيه و الصعيدى (2024). تأثير بعض أجزاء النبات البردقوش وكف مريم المحتوية على الاستروجين النباتي على المبايض في إناث فئران التجارب. مجلة الاقتصاد المنزلي . جامعة المنوفية, 34(3), 145-158

عبد القادر سفلو و جهاد مسوح (2022) تأثير برنامج الـ GPG على تحسين معدلات الحمل ضمن فترة اللاشبق عند الأبقار الحلوب في سوريا. مجلة جامعة حماة, 5(9).

محمد حمد صالح و رياض كاظم موسى و ماجد حسن عبد الرضا السعدي. (2022) تأثير اضافة مسحوق اوراق نبات البردقوش واكيل الجبل وخليطهما في بعض الصفات البايوكيميائية لطيور السمان الياباني. Journal of Modern Science and Heritage, 10(1), 103-111

محمد مجد الحلبوني و جهاد مسوح (2022). تأثير حقن الـ GnRH بعد التلقيح الاصطناعي في معدل الحمل عند الأبقار الحلوب. مجلة جامعة حماة 5 (14).

محمد محمد إبراهيم شومان وأحمد. (2022). الثروة الحيوانية في محافظة سوهاج (دراسة في الجغرافية الاقتصادية). مجلة كلية الآداب 65 (65), 517-560.

مريم عبد الباري (2017). دراسة التركيب الكيميائي والمركبات الفعالة لاوراق نبات البردقوش Origanum majorana واستخدامها كمادة حافظة للأنظمة الغذائية. Assiut Journal of Agricultural Sciences, 48(4) .

المصادر الاجنبية

Aati, H., El-Gamal, A., Shaheen, H., and Kayser, O. (2019). Traditional use of ethnomedicinal native plants in the Kingdom of Saudi Arabia. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, 15(1), 2.

Abdelnour, S. A., Sindi, R. A., Abd El-Hack, M. E., Khalifa, N. E., Khafaga, A. F., Noreldin, A. E., ... & Swelum, A. A. (2023). Quercetin: Putative effects on the function of cryopreserved sperms in domestic animals. Reproduction in domestic animals, 58(2), 191-206.

Abu-Khudir, R., Almutairi, H. H., Abd El-Rahman, S. A S., & El-Said, K. S. (2023). The palliative and antioxidant effects of hesperidin against lead-acetate-induced testicular injury in male Wistar rats. Biomedicines, 11(9), 2390.

Adikay, S. (2016). Phytoremedial effect of Lens culinaris against doxorubicin-induced nephrotoxicity in male Wistar rats. International Journal of Green Pharmacy (IJGP), 10(03).

Adikay, S. (2016). Phytoremedial effect of Lens culinaris against doxorubicin-induced nephrotoxicity in male Wistar rats. International Journal of Green Pharmacy (IJGP), 10(03).

Agarwal, A., Leisegang, K., & Sengupta, P. (2020 Oxidative stress in pathologies of male reproductive disorders. In Pathology (pp. 15-27).

Agarwal, S. K., Singh, S. K., & Rajkumar, R. (2005). Reproductive disorders and their management in cattle and buffalo: A review. The Indian Journal of Animal Sciences, 75(7).

Agarwal, A., Gupta, S., & Sharma, R. (2016) Eosin-nigrosin staining procedure. Andrological Evaluation of Male Infertility: A Laboratory Guide, 73-77.

Ahlam, Z., Souraya, S., Moudou, M. M., Uxia, Y. R., Angel, Q. A. L., Juan, J. Abdelaziz, S. (2024). The impact of Origanum Vulgare essential oil supplementation on sperm motility and subpopulation alterations in bulls, dogs, and rabbits. Research in Veterinary Science, 170, 105200.

Aitken, R. J., Bromfield, E. G., & Gibb, Z. (2022). Oxidative stress and reproductive function: The impact of oxidative stress on reproduction: A focus on gametogenesis and fertilization. Reproduction, 164(6), F79-F94

Albiaty, N. M., Alobaidi, H. J., Kareem, A. F., Al- Hakim, A. M., Alnaeb, A. Y., & Alkhazraji, A. A. H. (2016). Effect of extenders and preservation periods in some semen characteristics of Awassi rams. World Journal of Pharmaceutical Research, 5(2), 234-243.

Al-Dhaheri, S. K. M. (2012). Studying the Effect of Addition of Origanum Majorana L.(Marjoram) and their Extracts on some Quality Characteristics of Minced Beef Meat During Frozen Storage (Doctoral dissertation, M. Sc. Thesis, Collage of Agriculture, University of Baghdad.(

Alenezy, E. S., Barakat, I. A., & Al Musayeib, N. M. (2019). Effect of wild marjoram (Origanum vulgare) plant extracts on capacitation of sheep spermatozoa in vitro. Advances in Bioscience and Biotechnology, 10(04), 82.

Al-Najar, E. M., Abdullah, A. M., Al-Rubaye, T. A., & Hadi, S. M. (2022). Evaluation of Marjoram Leaves (Oregano vulgar) as Feed Supplement on

Quality of Semen in Awasian Pollination Rams. Archives of Razi Institute, 77(5), 1831-1835.

Alonso, C. N., Castañeira, C., Flores Bragulat, A. P., & Losinno, L. (2021). Effect of egg yolk-based extender and seminal plasma removal on sperm viability of cooled donkey semen.

Alqethami, A., & Aldhebiani, A. Y. (2021). Medicinal plants used in Jeddah, Saudi Arabia: phytochemical screening. Saudi Journal of Biological Sciences, 28(1), 805-812.

Alrawaiq, N. S., & Abdullah, A. (2014). A review of flavonoid quercetin: metabolism, bioactivity and antioxidant properties. International Journal of PharmTech Research, 6(3), 933-941.

Al-Sarray, M. A. R., Hassan, G. M., & Dheerib, G. S. (2022). Effect of Origanum majorana L. raw powder and oil extract as antioxidant on ram semen extender of some Iraqi Awassi ram's semen parameters preserved under 5° c and cryopreservation. Biochemical & Cellular Archives, 22(1).

AL-Sarray,M.A.R.2012. Effect of freezing Turkish awassi ram semen in sperm acrosome by used different dyes. M.sc. thesis, College of Agriculture, University of Baghdad.

Al-Snafı, A. E. (2021). Traditional uses of Iraqi medicinal plants (part 2). International Journal of Biological and Pharmaceutical Sciences Archive,2(1), 022-041

Andrade, M. A., Azevedo, C. D. S., Motta, F. N., Santos, M. L. D., Silva, C. L., Santana, J. M. D., & Bastos, I. M. (2016). Essential oils: in vitro activity against Leishmania amazonensis, cytotoxicity and chemical composition. BMC complementary and alternative medicine, 16, 1-8.

Anghel, A., ZAMFIRESCU, S., COPREAN DRAGOMIR, D. O. R. I. N. A., ELENA, S., & FLORICA, B. (2010). The effects of antioxidants on the cytological parameters of cryopreserved buck semen. Romanian Biotechnological Letters, 15(3), 27.

Arif, A. A., Maulana, T., Kaiin, E. M., Purwantara, B., & Arifiantini, R. I. (2022). The quality of frozen semen of limousin bull in various semen diluents. Tropical Animal Science Journal, 45(3), 284-290.

Ashrafı, I., Kia, H. D., & Parrish, J. (2019). Egg yolk saline soluble fraction was as efficient as ammonium sulfate insoluble yolk fraction in cryopreservation of bull semen in comparison with whole egg yolk. Rev. Med. Vet, 170(4-6), 104-109.

Atsan, T., Emsen, E., Yaprak, M., Dagdemir, V., & Gimenez Diaz, C. A. (2007). An economic assessment of differently managed sheep flocks in eastern Turkey. Italian Journal of Animal Science, 6(4), 407-414.

Aurich, C. (2005). Factors affecting the plasma membrane function of cooled-stored stallion spermatozoa. Animal Reproduction Science, 89(1- 4), 65-75.

Baghshahi, H., Riasi, A., Mahdavi, A. H., & Shirazi, A. (2014). Antioxidant effects of clove bud (Syzygium aromaticum) extract used with different extenders on ram spermatozoa during cryopreservation. Cryobiology, 69(3), 482-487.

Bailey J.L., Morrie A. and Cormier N. 2003. Semen cryopreservation: success and persistent in farm species. Canadian J. of Anim. Sci., 83, 393-401

Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food chemistry, 99(1), 191- 203

Banana, H.J.H., Alkhazreji, H.T.A. and Mahdi, Z.A. (2020). Adding different concentrations of pomegranate peels alcoholic

Barati, E., Nikzad, H., & Karimian, M. (2020). Oxidative stress and male infertility: current knowledge of pathophysiology and role of antioxidant therapy in disease management. Cellular and Molecular Life Sciences, 77, 93-113.

Barbas, J. P., & Mascarenhas, R. D. (2009). Cryopreservation of domestic animal sperm cells. Cell and tissue banking, 10, 49-62.

Barrachina, F., Battistone, M. A., Castillo, J., Mallofré, C., Jodar, M., Breton, S., & Oliva, R. (2022). Sperm acquire epididymis-derived proteins through epididymosomes. Human Reproduction,

Barros, L. (2020). Natural antioxidants and human health effects. Current Pharmaceutical Design,

Batellier, F. V. M. F., Vidament, M., Fauquant, J., Duchamp, G., Arnaud, G., Yvon, J. M., & Magistrini, M. (2001). Advances in cooled semen technology. Animal reproduction science, 68(3-4), 181-190.

Bendini, A., Toschi, T. G., & Lercker, G. (2002). Antioxidant activity of oregano (Origanum vulgare L

Bernardo, V. S., Torres, F. F., & Da Silva, D. G. H. (2023). FoxO3 and oxidative stress: a multifaceted role in cellular adaptation. Journal of Molecular Medicine, 101(1), 83-99.

Bhardwaj, K., & Dubey, W. (2020). Sweet marjoram (Origanum majorana L.) as a magical bio- protective agent against food spoilage: a review.

Bhatia, D. K., Sharma, A. K., Pathania, P. C., & Khanduri, N. C. (2010). Antifertility effects of crude different of Adiantum lunulatum Burm. on

Reproductive Organs of male albino rats. In Biological Forum-An International Journal (Vol. 2, No. 2, pp. 88-93).

Biswas, D., Nandy, S., Mukherjee, A., Pandey, D. K., & Dey, A. (2020). Moringa oleifera Lam. and derived phytochemicals as promising antiviral agents: A review. South African Journal of Botany, 129, 272-282

Björndahl, L., Söderlund, I., & Kvist, U. (2003). Evaluation of the one-step eosin-nigrosin staining technique for human sperm vitality assessment. Human reproduction, 18(4), 813-816.

Black, H. S., Boehm, F., Edge, R., & Truscott, T. G. (2020). The benefits and risks of certain dietary carotenoids that exhibit both anti-and pro- oxidative mechanisms-A comprehensive revie

Bohlooli S.; Fatin C.; Jafar P.J.; Sarain R.; and Şeyma B.; 2012. The effect of different extenders on post-thaw sperm viability, motility and membrane integrity in cryopreserved semen of Zandi ram. J. Basic.

Boitrelle, F., Albert, M., Theillac, C., Ferfouri, F., Bergere, M., Vialard, F., ... & Selva, J. (2012)

Boroujeni, S. N., Malamiri, F. A., Bossaghzadeh, F., Esmaeili, A., & Moudi, E. (2022). The most important medicinal plants affecting sperm and testosterone production: A systematic review. JBRA assisted reproduction, 26(3), 522

Bouyahya, A., Chamkhi, I., Benali, T., Guaouguaou, F.-E., Balahbib, A., El Omari, N., Taha, D., Belmehdi, O., Ghokhan, Z., & El Menyiy, N. (2021). Traditional use, phytochemistry, toxicology, and pharmacology of Origanum majorana L. Journal of Ethnopharmacology, 265, 113318.

Browne, J. A., Leir, S. H., Eggener, S. E., & Harris, A. (2018). Region-specific innate antiviral responses of the human epididymis. Molecular and cellular endocrinology, 473, 72-78.

Browne, J. A., Yang, R., Leir, S. H., Eggener, S. E., & Harris, A. (2016). Expression profiles of human epididymis epithelial cells reveal the functional diversity of caput, corpus and cauda regions. MHR: Basic science of reproductive medicine,22(2), 69-82.

Büyükleblebici, O, Büyükleblebici, S., Taşdemir U, and Tuncer PB, 2016: The Effects of Different Antioxidants on Post-thaw Microscopic and Oxidative Stress Parameters in the Cryopreservation of Brown-Swiss Bull Semen. Kafkas Univ Vet Fak Derg 22 (1): 101-107.

Buzzini, P., P. Arapitsas, M. Goretti, E. Branda, B. Turchetti, P. Pinelli, and A. Romani. 2008. Antimicrobial and antiviral activity of hydrolysable tannins. Mini reviews in medicinal chemistry, 8(12), 1179-1187.

Caballers, B. M. D. 2007, Antioxidant Nutrients. PhD Thesis, Jobs Hopkins University, USA.

Capra, E., Turri, F., Lazzari, B., Biffani, S., Lange Consiglio, A., Ajmone Marsan, P., ... & Pizzi, F. (2023). CpG DNA methylation changes during epididymal sperm maturation in bulls. Epigenetics & Chromatin, 16(1), 20

Carrera-Chávez, Edson Eduardo Jiménez-Aguilar, Theisy Patricia Acosta-Pérez, José Alberto Núñez-Gastélum, Andrés Quezada-Casasola,Angélica María Escárcega-Ávila, Mateo Fabián Itza-Ortiz & Ernesto zco-Lucero (2020). Effect of Moringa oleifera seed extract on antioxidant activity and sperm characteristics in cryopreserved ram semen, Journal of Applied Animal Research, 48:1, 114-120.

Castro, L. S., Hamilton, T. R. D. S., Mendes, C. M., Nichi, M., Barnabe, V. H., Visintin, J. A., & Assumpção, M. E. O. A. (2016). Sperm cryodamage occurs after rapid freezing phase: flow cytometry approach and antioxidant enzymes activity at different stages of cryopreservation. Journal of animal science and biotechnology, 7, 1- 9.

Chaiyakunapruk N, Kitikanna KN, Nathisuwan S, (2006). The efficacy of ginger for the prevention of postoperative nausea and vomiting; a Meta-analysis. american journal of Obstetric Gynecology;194(1):95

Chelucci, S., Pasciu, V., Succu, S., Addis, D., Leoni, G. G., Manca, M. E., ... & Berlinguer, F. (2015 Soybean lecithin-based extenderpreserves spermatozoa membrane integrity and fertilizing potential during goat semen cryopreservati MN683(6), 1064-1074)

Chemineau, P., Cagnie, Y., Guerin, Y., Orgeur, P., and Vallet, J.C., 1991: In: Training Manual on Artificial Insemination in Sheep ana Goats. FAO. Anim. Prod. Hith. Paper 82, Rome: 115-161.

Chen, H., Miao, X., Xu, J., Pu, L., Li, L., Han, Y., ... & Ma, Y. (2021). Alterations of mRNA and IncRNA profiles associated with the extracellular matrix and spermatogenesis in goats. Animal bioscience,35(4), 544

Contri, A., De Amicis, I., Veronesi, M. C., Faustini, M., Robbe, D., & Carluccio, A. (2010). Efficiency of different extenders on cooled semen collected during long and short day length seasons in Martina Franca donkey. Animal reproduction science, 120(1-4), 136-141

Cooper, T. G. (2010). The epididymis, cytoplasmic droplets and male fertility. Asian journal of andrology, 13(1), 130.

Cseh S., Faigl, V., Amiridis, G.S. (2012). Semen processing and artificial insemination in health management of small ruminants. Anim. Reprod. Sci., 130: 187-192.

Curry, M. R. (2000). Cryopreservation of semen from domestic livestock. Reviews of reproduction, 5(1), 46-52.

Daferera, D. J., Ziogas, B. N., & Polissiou, M. G. (2000). GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on Penicillium digitatum. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(6), 2576-2581.2576-2581.

Daghigh Kia, H., Farhadi, R., Ashrafi, I., & Mehdipour, M. (2016). Anti-oxidative effects of ethanol extract of Origanum vulgare on kinetics, microscopic and oxidative parameters of cryopreserved Holstein bull spermatozoa. Iranian Journal of Applied Animal Science, 6(4), 783-789.

Daigneault, B. W., Graham, J. K., Bruemmer, J. E., Denniston, D. J., & Carnevale, E. M. (2012). Cryopreservation of cooled semen and evaluation of sperm holding media for potential use in equine-assisted reproduction procedures. Journal of Equine Veterinary Science, 32(9), 569-574.

Daramola, J. O., Adekunle, E. O., Onagbesan, O. M., Oke, O. E., Ladokun, A. O., Abiona, J. A., ... & Adeleke, M. A. (2018). Protective effects of fruit-juices on sperm viability of West African Dwarf goat bucks during cryopreservation. Animal Reproduction (AR), 13(1), 7-13

David, A. V. A., Arulmoli, R., & Parasuraman, S. (2016). Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid. Pharmacognosy reviews

Dhama, K., Karthik, K., Khandia, R., Munjal, A., Tiwari, R., Rana, R., ... & Joshi, S. K. (2018).Medicinal and therapeutic potential of herbs and plant

metabolites/extracts countering viral pathogens-current knowledge and future prospects. Current drug metabolism, 19(3), 236-263.

Donoghue, A. M., & Wishart, G. J. (2000). Storage of poultry semen. Animal reproduction science, 62(1-3), 213-232.

Dorado J., Munoz-Serrano A., Hidalgo M. (2010). The effect of cryopreservation on goat semen characteristics related to sperm freezability. Anim. Reprod. Sci., 121: 115-123.

El-Wakf, A. M., Elhabibi, E. S. M., & Abd El-Ghany, E. (2015). Preventing male infertility by marjoram and sage essential oils through modulating testicular lipid accumulation and androgens biosynthesis disruption in a rat model of dietary obesity. Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences, 2(3), 167-175.

Emamverdi, M., Zhandi, M., Zare Shahneh, A., A Sharafı, M., & Akbari-Sharif, A. (2013). Optimization of Ram semen cryopreservation using a chemically defined soybean lecithin-based extender. Reproduction in Domestic Animals, 48(6), 899-904

Eskandari H. (2012). Seed quality changes in cowpea during soed development and maturation. Seed Science and Technology 40: 108-112.

Esmaeili, V., Shahverdi, A. H., Moghadasian, M. H., & Alizadeh, A. R. (2015). Dietary fatty acids affect semen quality: a review. Andrology, 3(3), 450-461.

Fahad, A. S. (2012). Cryopreservation of equine spermatozoa: Identification of good and poor freezer stallions and effect of sperm density per straw (Master's thesis, Mississippi State University).

Faigl, V., Vass, N., Jávor, A., Kulcsár, M., Solti, L., Amiridis, G., & Cseh, S. (2012). Artificial insemination of small ruminants—A review. Acta Veterinaria Hungarica, 60(1), 115-129.

Fang, S., Li, Z., Pang, S., Gan, Y., Ding, X., & Peng, H. (2023). Identification of postnatal development dependent genes and proteins in porcine epididymis. BMC genomics, 24(1), 729.

Farouk, S., & Al-Amri, S. M. (2019). Ameliorative roles of melatonin and/or zeolite on chromium- induced leaf senescence in marjoram plants by activating antioxidant defense, osmolyte accumulation, and ultrastructural modification. Industrial Crops and Products, 142, 111823.,

Flora, S. J. S. (2007). Role of free radicals and antioxidants in health and disease. Cellular and Molecular Biology, 53(1), 1-2.

Florin, V.G 2013. The Cryopreservation of semen coming from some swing tlocal breeds Doctoral thesis. University of Agricultural sciences. faculty Animal Husbandry and Biotechnologies.

Fonnegra, F.G. (2007). Plantas Medicinales Aprobadas en Colombia: University of Antioquia: Antioquia, Colombia

Galoviä ovÃ, L., SIÃ, M., & TvrdÃ, E. (2019). The in vitro effect of the Origanum vulgare extract on semen. Journal of microbiology, biotechnology and food sciences, 8(4), 1089-1092.

Gao, Y., Li, S., Lai, Z., Zhou, Z., Wu, F., Huang, Y., ... & Dang, R. (2019). Analysis of long non-coding RNA and mRNA expression profiling in immature and mature bovine (Bos taurus) testes. Frontiers in Genetics, 10, 646

Gaur, P., Prasad, S., Kumar, B., Sharma, S. K., & Vats, P. (2021). High-altitude hypoxia induced reactive oxygen species generation, signaling, and mitigation approaches. International Journal of Biometeorology, 65, 601-615.

Govaris, A., Solomakos, N., Pexara, A., & Chatzopoulou, P. S. (2010). The antimicrobial effect of oregano essential oil, nisin and their combination against Salmonella Enteritidis in minced sheep meat during refrigerated storage. International journal of food microbiology, 137(2-3), 175-180

Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants:traditions of yesterday and drugs of tomorrow.

Hacısevki, A. (2009). An overview of ascorbic acid biochemistry. Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University, 38(3), 233-255.

Harris D. C. 2003. Quantitative Chemical Analysis (Sixth ed.). New York: Freeman. ISBN 0-7167-4464-3. Harris D. C. 2003. Quantitative Chemical Analysis (Sixth ed.). New York: Freeman. ISBN 0-7167-4464-3.

Hasan S., Andrabi S.M.H., Muneer R., Anzar M. and Ahmad N. 2001 Effects of new antibiotics combination on post-thaw motion characteristic and membrane integrity of buffalo and Sahiwal bull spermatozos and on the bacteriological quality of their semen. Pakistan Vet. J., 21(1), 6-12

Hezavehei, M., Sharafı, M., Kouchesfahani, H. M., Henkel, R., Agarwal, A., Esmaeili, V., & Shahverdi, A. (2018). Sperm cryopreservation: A review on current molecular cryobiology and advanced approaches. Reproductive biomedicine online,

Ijaz, F., Iqbal, Z., Rahman, I. U., Alam, J., Khan, S. M., Shah, G. M., ... & Afzal, A. (2016). Investigation of traditional medicinal floral knowledge of

Sarban Hills, Abbottabad, KP, Pakistan. Journal of Ethnopharmacology, 179, 208-233

James, E. R., Carrell, D. T., Aston, K. I., Jenkins, T. G., Yeste, M., & Salas-Huetos, A. (2020). The role of the epididymis and the contribution of epididymosomes to mammalian reproduction. International Journal of Molecular Sciences, 21(15), 5377.

Jan, A. T., Kamli, M. R., Murtaza, I., Singh, J. B., Ali, A., & Haq, Q. M. R. (2010). Dietary flavonoid quercetin and associated health benefits-an overview. Food Reviews International, 26(3), 302- 317.

Jiménez-Rabadán, P. (2013). Advances in sperm cryopreservation of samples collected by vaginal artificial and electroejaculation from Blanca-Celtiberica goat breed.

Jokar, M. (2011). Chemical composition of the essential oil, total phenolic content and antioxidant activity in Origanum majorana L. (Lamiaceae) cultivated in Iran. Advances in Environmental Biology, 5(8), 2326-2331.

Kabel, A. M. (2014). Free radicals and antioxidants: role of enzymes and nutrition. World Journal of Nutrition and Health, 2(3), 35-38

Kaltsas, A. (2023). Oxidative stress and male infertility: the protective role of antioxidants. Medicina, 59(10), 1769.

Kasai, M. (2002). Advances in the cryopreservation of mammalian oocytes and embryos: development of ultrarapid vitrification. Reproductive Medicine and Biology, 1, 1-9.

Kchikich, A., Kirschvink, N., El Kadili, S., Raes, M., EI Otmani, S., Chebli, Y., ... & Chentouf, M. (2023). Impact des huiles essentielles d'Origanum onites

et d'Origanum vulgare sur la qualité du sperme de bouc réfrigéré. African and Mediterranean Agricultural Journal-Al Awamia, (138), 35-50.

Kchikich, A., Kirschvink, N., Raes, M., El Otmani, S., Chebli, Y., Bister, J. L., ... & Chentouf, M. (2024). Carvacrol and Thymol Enhance the Quality of Beni Arouss Buck Semen Stored at 4° C Thanks to Their Antimicrobial Properties. Veterinary Sciences, 11(9), 406.

Kefer, J. C., Agarwal, A., & Sabanegh, E. (2009). Role of antioxidants in the treatment of male infertility. International journal of Urology, 16(5), 449-457

Kregel, K. C., & Zhang, H. J. (2007). An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. American Journal of Physiology- Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 292(1), R18-R36.

Kuleshova, L. L., & Lopata, A. (2002). Vitrification can be more favorable than slow cooling. Fertility and sterility, 78(3), 449-454.

Laoung-On, J., Jaikang, C., Saenphet, K., & Sudwan, P. (2022). Effect of Nelumbo nucifera petals extract on antioxidant activity and sperm quality in Charolais cattle sperm induced by mancozeb. Plants, 11(5), 637.

Leboeuf, B.; Restall, B.; Salamon, S. 2000. Production and storage of goat semen for artificial insemination. Anim. Reprod. Sci., 62: 113-141.

Lecewicz, M., Strzeżek, R., Kordan, W., & APA Majewska, A. (2018). Effect of extender supplementation with low-molecular-weight antioxidants on selected quality parameters of cryopreserved canine spermatozoa. Journal of veterinary research, 62(2), 221-227.

Leibo, S. P., & Songsasen, N. (2002). Cryopreservation of gametes and embryos of non- domestic species. Theriogenology, 57(1), 303-326

Leir, S. H., Paranjapye, A., & Harris, A. (2024). Functional genomics of the human epididymis: further characterization of efferent ducts and model systems by single-cell RNA sequencing analysis. Andrology, 12(5), 991-1000.

Lemma, A. (2011). Effect of cryopreservation on sperm quality and fertility. Artificial insemination in farm animals, 12, 191-216

Len J.A.2008 Effects of centrifugation on equine spermatozoa Immediately and after cooling for 24 hours. Thesis master Graduate faculty, University and Agricultural and medchanical college.

León, J., Sevilla, F., Araya-Zúñiga, I., Silvestre, M. A., Barrientos, M., Molina-Montero, R., ... & Valverde, A. (2024). Evaluating the effect of semen storage and dilution rate on boar sperm quality. Acta Agriculturae Scandinavica, Section A-Animal Science,

Liu, Y., Du, M., Zhang, L., Wang, N., He, Q., Cao, J., & Dugarjaviin, M. (2024). Comparative Analysis of mRNA and IncRNA Expression Profiles in Testicular Tissue of Sexually Immature and Sexually Mature Mongolian Horses. Animals, 14(12), 1717.

Majeed, A., Al-Timimi, L. H., and AL-Saigh, M. N. (2019). Effect of season on embryo production in Iraqi local black goat. Iraqi J. of Vet. Sci, 33(1): 59-65.

Manafi, M. (Ed.). (2011). Artificial insemination in farm animals. BoD-Books on Demand.

Mancini, A., Oliva, A., Vergani, E., Festa, R., & Silvestrini, A. (2023). The dual role of oxidants in male (in) fertility: every rose has a thorn. International Journal of Molecular Sciences, 24(5), 4994

Mannucci, A., Argento, F. R., Fini, E., Coccia, M. E., Taddei, N., Becatti, M., & Fiorillo, C. (2022). The impact of oxidative stress in male infertility. Frontiers in Molecular Biosciences, 8, 799294

Martin-Hidalgo, D., Bragado, M. J., Batista, A. R., Oliveira, P. F., & Alves, M. G. (2019). Antioxidants and male fertility: from molecular studies to clinical evidence. Antioxidants, 8(4), 89

Matshediso, P. G., Cukrowska, E., & Chimuka, L. (2015). Development of pressurised hot water extraction (PHWE) for essential compounds from Moringa oleifera leaf extracts. Food Chemistry, 172, .

Medeiros C.M.O., Forell F., Oliveria A.T.D. and Rodrigues J.L. 2002. Current status of sperm cryopreservation: why isn't it better? Theriogenology, 57, 327-344.

Melo, D., Rocha, S., Coimbra, S., and Silva, A. S. (2019). Interplay between Erythrocyte Peroxidases and Membrane. In Erythrocyte. IntechOpen.

Meseguer M., Garrido X., Martinez-Conejero J. A., Simon C., Pellicer A. and Remohi J. 2004. Role of cholesterol, calcium, and mitochondrial activity in the susceptibility for cryodamage after a cycle of freezing and thawing. Fertility and Sterility, 81(3): 588-94.

Moraes, E. A., Graham, J. K., Torres, C. A. A., Meyers, M., & Spizziri, B. (2010). Delivering cholesterol or cholestanol to bull sperm membranes improves cryosurvival. Animal reproduction science, 118(2-4), 148-154.

Moretti, E., Signorini, C., Corsaro, R., Giamalidi, M., & Collodel, G. (2023). Human sperm as an in vitro model to assess the efficacy of antioxidant supplements during sperm handling: A narrativereview. Antioxidants, 12(5), 1098.

Morse-Wolfe, B., Bleach, E., & Kershaw, C. (2023). An investigation of equine sperm quality following cryopreservation at low sperm concentration and repeated freeze-thawing. Journal of Equine Veterinary Science, 120, 104167.

Moskovtsev, S. I., & Librach, C. L. (2013). Methods of sperm vitality assessment. Spermatogenesis: methods and protocols, 13-19.

Mossa, A. T. H., & Nawwar, G. A. M. (2011).Free radical scavenging and antiacetylcholinesterase activities of Origanum majorana L. essential oil. Human & experimental toxicology, 30(10), 1501-1513

Naidu, K. A. (2016). Erratum to: Extensive next-generation sequencing analysis in chronic lymphocytic leukemia at diagnosis: clinical and biological correlations (J Hematol Oncol. (2016) 9 (88) DOI:10.1186/s13045-016-0320-z). Journal of Hematology

Naji, S. A., & Qaddoori, H. T. (2023). Effects of Plant Extracts on Bacterial Isolates from Infections of the Female Genital Tract. Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences: B. Life and Environmental Sciences, 60(2), 233-242

Neha, K., Haider, M. R., Pathak, A., and Yar, M. S. (2019b). Medicinal prospects of antioxidants: A review. European Journal of Medicinal Chemistry, 178, 687-704.

Noorhosseini. N. S.A, L.D.Ashoori, M.S. Allahyari and D. Masooleh, (2011), P. Socio-economic factors for adoption of medicinalplants cultivation in Eshkevarat region, north of Iran. Journal of Medicinal Plants Research. 5: 30- 38

Nordstoga, A. B., Söderquist, L., Ådnøy, T., Farstad, W., & Paulenz, H. (2010). Vaginal deposition of frozen-thawed semen in Norwegian dairy

goats: comparison of single and double insemination with equal total number of spermatozoa. Theriogenology, 74(5), 895-900.

Ntemka, A., Tsakmakidis, L.A., Kiossis, E., Milovanovic, A., Boscos, C.M. 2018. Current status and advances in ram semen cryopreservation. J. Hell. Vet. Med.

Nunes, M. M., Morrell, J. M., Santos, F. C. C., Miragaya, M. H., Gallelli, M. F., Rodriguez, M., & Guimarães, J. D. (2024). Effect of storage and single layer centrifugation before cryopreservation on stallion sperm cryosurvival. Journal of Equine Veterinary Science, 135, 105046.

Oroian, M., and Escriche, I. (2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. Food Research International, 74. 10-36.

Packer, L., & Cadenas, E. (2007). Oxidants and antioxidants revisited. New concepts of oxidative stress. Free radical research, 41(9), 951-952

Papa FO, Felício GB, Melo-Oña CM, Alvarenga MA, De Vita B and Trinque C.. 2011.Replacing egg yolk with soybean lecithin in the cryopreservation of stallion semen. Anim. J. of Reprod. Sci.; 129 :73-7.

Pernas, S., Fernandez-Novo, A., Barrajon-Masa, C., Mozas, P., Pérez-Villalobos, N., Martín-Maldonado, B., ... & Pérez-Garnelo, S. S. (2023). Bull Semen Obtained on Beef Farms by Electroejaculation: Sperm Quality in the First Two Hours of Storing with Different Extenders and Holding Temperatures. Animals, 13(9), 1561.

Petrovska, B. B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. Pharmacognosy reviews,6(11), 1.

Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. Indian journal of clinical biochemistry, 30, 11-26.

Pimple, B. P., Patel, A. N., Kadam, P. V., & Patil, M. J. (2012). Microscopic evaluation and physicochemical analysis of Origanum majorana Linn leaves. Asian pacific journal of tropical disease, 2, S897-S903.

Pinho, R. O., Lima, D. M. A., Shiomi, H. H., Siqueira, J. B., Silva, H. T., Lopes, P. S., ... & Guimarães, J. D. (2014). Effect of different cryo-protectants on the viability of frozen/thawed semen from boars of the Piau breed. Animal reproduction science, 146(3-4), 187-192.

Pintus, E., & Ros-Santaella, J. L. (2021). Impact of oxidative stress on male reproduction in domestic and wild animals. Antioxidants, 10(7), 1154.

Pisoschi, A. M., and Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. European Journal of Medicinal Chemistry, 97, 55-74.

Prerna Singla, P. S., & Neeru Vasudeva, N. V. (2014). Pharmacognostical and quality control parameters of Origanum majorana Linn. stem and root.

Qasim, E., & Al-Hatem, J. (2023). Separation and identification of a number of alkaloids and some phenols from two species of plants of the genus Euphorbia grown in Nineveh Governorate. Journal of Education and Science, 32(3), 123-0

Qian, J., Morley, S., Wilson, K., Nava, P., Atkinson, J., and Manor, D. (2005). Intracellular trafficking of vitamin E in hepatocytes: the role of tocopherol transfer protein. Journal of Lipid Research, 46(10), 2072-2082.

Quan, L., Li, S., Tian, S. Xu, H., Lin, A., and Gu, L.2004. Determination of Organochlorine Pesticides Residue in Ginseng Root by Orthogonal Array Design Soxhlet Extraction and Gas Chromatography. Chromatographia, 59: 89-93.

Rabadan, D.P.J. 2013. Advances in sperm Cryopreservation of samplin collected by vagina artificial and electroejacultion from Blanca cltiberica goat breed. PhD thesis.

Raheja, N., Choudhary, S., Grewal, S., Sharma, N. and Kumar, N. 2018. A review on semen extenders and additives used in cattle and buffalo bull semen

Raina, A. P.; & Negi, K. S. (2012). Essential oil composition of Origanum majorana and Origanum vulgare ssp. hirtum growing in India. Chemistry of Natural Compounds, 47(6), 1015-1017.

Randhir, R., Y. T. Lin, and K. Shetty.2004. Phenolics, their antioxidant and antimicrobial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. Asia Pacific journal of clinical nutrition, 13(3).

Rasul, M. G. (2018). Conventional extraction methods use in medicinal plants, their advantages and disadvantages. Int. J. Basic Sci. Appl. Comput, 2, 10-14.

Rivera, R. M. and Hansen, P. J. 2001. Development of cultured bovine embryos after

Rndahl, L. B., DERLUND, I. S., Johansson, S., Mohammadieh, M., Pourian, M. R., & Kvist, U. (2004). Why the WHO recommendations for eosin-nigrosin staining techniques for human sperm vitality assessment must change. Journal of andrology, 25(5).

Sadiq, I. Z. (2023). Free radicals and oxidative stress: Signaling mechanisms, redox basis for human diseases, and cell cycle regulation. Current Molecular Medicine, 23(1), 13-35

Saha, A., Asaduzzaman, M., & Bari, F. Y. (2022). Cryopreservation techniques for ram sperm. Veterinary medicine international, 2022(1), 7378379.

Saieed, A. Y., Mahdi, Z. A., Ibrahim, A. A. (2018). Effect of addition from egg yolk of different avian to tris extender on freezing semen traits of awassi rams. Iraqi Journal of Agricultural Sciences. 49(4):663-669.

Salamon S. and Maxwell W.M.C. 2000. Storage of ram semen. Anim. J. of Reprod. Sci., 62, 77-111.

Schmelzer, G. H., Gurib-Fakim, A., & Schmelzer, G. H. (Eds.). (2008). Medicinal plants (Vol. 11). Prota.

Seaman, J. L., Kok, A. M., & Lall, N. (2024). Salvia aurea L. In Medicinal Plants from Sub-Saharan Africa: Undiscovered Therapeutic Potential (pp. 239-250). Cham: Springer International Publishing

Sellappan, S., Akoh, C. C., & Krewer, G. (2002). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. Journal of agricultural and food chemistry, 50(8), 2432-2438.

Sen, S., & Chakraborty, R. (2011). The role of antioxidants in human health. In Oxidative stress: diagnostics, prevention, and therapy (pp. 1-37).

Shah, Z., & Shafi, S. (2019). Pathological role of free radicals and need of herbal antioxidants for the treatment of oxidative stress diseases. World Journal of Pharmaceutical Research, 8(7), 2094- 2102.

Shakya, A. K. (2016). Medicinal plants: Future source of new drugs. International journal of herbal medicine, 4(4), 59-64.

Sharayu, R., & Asmita, M. (2017). Beneficial effect of Moringa oleifera on lead

Sharma, N. (2014). Free radicals, antioxidants and disease. Biology and Medicine, 6(3), 1.

Shiri, E., Abolhassani, F., Khosravizadeh, Z., Najafı, A., Khanezad, M., Vazirian, Hedayatpour, A. (2020). Aqueous Origanum vulgare extract improves the quality of cryopreserved human spermatozoa through its antioxidant effects. Biopreservation and Biobanking, 18(4), 329-336

Shosan, L. O., Fawibe, O. O., Ajiboye, A. A., Abeegunrin, T. A., & Agboola, D. A. (2014).Ethnobotanical survey of medicinal plants used in curing some diseases in infants in Abeokuta South Local Government Area of Ogun State, Nigeria. American Journal of Plant Sciences, 5(213258),

Signorini, C., Saso, L., Ghareghomi, S., Telkoparan- Akillilar, P., Collodel, G., & Moretti, E. (2024). Redox homeostasis and nrf2-regulated mechanisms are relevant to male infertility. Antioxidants, 13(2), 193.

Singh, R. (2015). Medicinal plants: A review.Journal of plant sciences8(1)50-55

Sisein, E. A. (2014). Biochemistry of free radicals and antioxidants. Scholars Academic Journal of Biosciences, 2(2), 110-118.

Ştefănuţ, M. N., Căta, A., Pop, R., Moşoarcă, C., & Zamfir, A. D. (2011). Anthocyanins HPLC-DAD and MS characterization, total phenolics, and antioxidant activity of some berries extracts.

Stéphane, F. F. Y., Jules, B. K. J., Batiha, G. E. S., Ali, I., & Bruno, L. N. (2021). Extraction of bioactive compounds from medicinal plants and herbs. Natural medicinal plants, 1-39

Storz, P. (2011). Forkhead homeobox type O transcription factors in the responses to oxidative stress. Antioxidants & redox signaling, 14(4), 593-605.

Sudhakaran, G., Kesavan, D., Kandaswamy, K., Guru, A., & Arockiaraj, J. (2024). Unravelling the epigenetic impact: Oxidative stress and its role in male infertility-associated sperm dysfunction. Reproductive Toxicology, 108531.

Suquet, M., Dreanno, C., Fauvel, C., Cosson, J., &Billard, R. (2000). Cryopreservation of sperm in marine fish. Aquaculture Research: Original Articles, 31(3), 231-243.

suriyeni, D. (2023). Inventarisasi tumbuhan obat dan pemanfaatannya secara tradisional oleh masyarakat Desa Morang Kecamatan Kare Kabupaten Madiun (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).

Takalani, N. B., Monageng, E. M., Mohlala, K., Monsees, T. K., Henkel, R., & Opuwari, C. S. (2023).Role of oxidative stress in male infertility.Reproduction and Fertility, 4(3).

Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Serrano, C., Matos, O., Neng, N. R., ... & Nunes, M. L. (2013). Chemical composition and bioactivity of different oregano (Origanum vulgare) extracts and essential oil. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93(11), 2707-2714.

Thakur, V., Morley, S., & Manor, D. (2010). Hepatic a-tocopherol transfer protein: ligand-induced protection from proteasomal degradation. Biochemistry, 49(43), 9339-9344.

Timoshnikov, V. A., Kobzeva, T. V., Polyakov, N. E., & Kontoghiorghes, G. J. (2020). Redox interactions of vitamin C and iron: Inhibition of the pro-

oxidant activity by deferiprone. International journal of molecular sciences, 21(11), 3967.

Topcu, K. C., & Gamze, U. G. U. R. (2024). Effect of Berberis vulgaris L. Extract on Beef Patties Quality Parameters.

Tremellon, K. 2008. Odrives and male infertility fiel perspective Hum Reprod. Update, 14 243-254

Trentalance, G. M., & Beorlegui, N. B. (2002). Sperm evaluation in cryopreserved bovine semen recovered by two selection methods. Andrologia, 34(6), 397-403

Trout S.W 2012. Evaluation of Different concentrations of Egg yolk in canın frozen

Ugur, M. R., Saber Abdelrahman, A., Evans, H. C., Gilmore, A. A., Hitit, M., Arifiantini, R. I., ... & Memili, E. (2019). Advances in cryopreservation of bull sperm. Frontiers in veterinary science, 6, 268.

Vajta, G., & Kuwayama, M. (2006). Improving cryopreservation systems. Theriogenology, 65(1), 236-244

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The international journal of biochemistry & cell biology, 39(1), 44-84.

Vasudeva, N. (2015). Origanum majorana L.- Phyto-pharmacological review. Indian Journal of Natural Products and Resources (IJNPR) [Formerly Natural Product Radiance (NPR)], 6(4), 261-267.

Vaya, J., & Aviram, M. (2001). Nutritional antioxidants mechanisms of action, analyses of activities and medical applications. Current Medicinal Chemistry-Immunology, Endocrine & Metabolic Agents, 1(1), 99-117.

Walke, G., Gaurkar, S. S., Prasad, R., Lohakare, T., & Wanjari, M. (2023). The impact of oxidative stress on male reproductive function: Exploring the role

Wang, Z., Qi, Y., Xiao, N., She, L., Zhang, Y., Lu, J., ... & Luo, C. (2024). Identification of crucial LncRNAS associated with testicular development and LOC108635509 as a potential regulator in black goat spermatogenesis. BMC genomics, 25, 1195

Waterhouse, K. E., Hofmo, P. O., Tverdal, A., & Miller, R. R. (2006). Within and between breed differences in freezing tolerance and plasma membrane fatty acid composition of boar sperm.Reproduction, 131(5), 887-894

Wiebke, M., Hensel, B., Nitsche-Melkus, E., Jung, APA M., & Schulze, M. (2022). Cooled storage of semen from livestock animals (part 1): Boar, bull, and stallion. Animal Reproduction Science, 246, 106822.

Wongtawan, T., Saravia, F., Wallgren, M., Caballero, I., & Rodríguez-Martínez, H. (2006). Fertility after deep intra-uterine artificial insemination of concentrated low-volume boar semen doses. Theriogenology, 65(4), 773-787

Yánez-Ortiz, I., Catalán, J., Rodríguez-Gil, J. E., Miró, J., & Yeste, M. (2022). Advances in sperm cryopreservation in farm animals: Cattle, horse, pig and sheep. Animal Reproduction Science, 246, 106904

Yang, S., Zwiefelhofer, E., Rajapaksha, K., Adams, G., & Anzar, M. (2022). 58 Fertility potential of bull semen cryopreserved without equilibration time. Reproduction, Fertility and Development, 35(2), 155-

Yotov, S., Atanasov, A., Fasulkov, I., Karadaev, M., Antonov, A., Georgiev, P., & Kistanova, E. (2020).

Young, A. J., & Lowe, G. L. (2018). Carotenoids- antioxidant properties. Antioxidants, 7(2), 28.

Zadak, R.; A.Hyspler; M. Ticha; P. Hronek; J.Fikrova; D. Rathouska and R. Hrhelarikva 2019.Antioxidants and Vitamins in Clinical Conditions. Physiol. Res. 58(1):13-17.

Zare, H. (2019). Effects of salvia officinalis extract on the breast cancer cell line. SciMedicine Journal, 1(1), 25-29.

Zarhouti, A., Mbaye, M. M., Addoum, B., Louanjli, N., El Khalfi, B., & Soukri, A. (2023). The Impact of Origanum vulgare Supplementation on Human Asthenozoospermic Sperm Parameter Quality. The Scientific World Journal, 2023(1), 8093795.

Zhang, J., Liu, G., Wu, G., Wang, R., Zhang, A J. (2024). High altitude hypoxia and oxidative stress: The new hope brought by free radical scavengers. Life Sciences, 336, 122319

Zhang S.S., Hu J.H., Li Q.W., Jiang Z.L. and Zhang X.Y., 2009. The cryoprotective effects of soybean lecithin on boar spermatozoa quality. Afr. J. Biotechnol. 8, 6476-6480.

Abstract

The current research was performed in the postgraduate laboratory of the Department of Animal Production at Al-Muthanna University's College of Agriculture, from September 15, 2024, until February 21, 2025. Fifty-seven samples were utilized to investigate the impact of incorporating aqueous and oily extracts of marjoram at concentrations of 2% and 1% on certain epididymal sperm parameters of local bulls under cryopreservation settings at 5°C for varying durations of 0, 24, 48, 72, and 96 hours. The oily and aqueous extracts of marjoram were produced and stored in the refrigerator until needed. Testes were procured from male bulls at the local slaughterhouse in Al-Muthanna Governorate immediately post-slaughter and transported to the laboratory within one hour to extract mature sperm from the epididymal tail, subsequently diluted with a pre-prepared Tris buffer. The samples were categorized into five treatments: the control treatment utilized solely Tris diluent; the second treatment incorporated a 1% concentration of marjoram aqueous extract into Tris diluent; the third treatment included a2% concentration of marjoram aqueous extract; the fourth treatment added a 1% concentration of marjoram oil extract to Tris diluent; and the fifth treatment comprised a 2% concentration of marjoram oil extract in Tris diluent. The samples were maintained under cryopreservation conditions in a refrigerator at 5°C throughout the study periods. Sperm parameters were assessed, encompassing individual motility, proportions of dead and viable sperm, plasma membrane integrity (HOST), and acrosome integrity, at intervals of 24, 48, 72, and 96 hours of cryopreservation. The results indicated that the percentage of individual sperm motility in the interaction between diluents and preservation periods demonstrated a significant ($P<0.05$) superiority of treatment T4 over treatment T2 and the control during the initial hour of preservation, with values of (73.90±3.43, 73.83±1.52, 81.73±1.15) respectively, while no significant differences were observed between T1 and T2 during the same interval. There was a notable increase ($P<0.05$) in the percentage of viable sperm in treatments T4 and T5 at 0.24-hour storage intervals compared to the control treatment for the same duration. Conversely, there was a significant decrease ($P<0.05$) in the percentage of non-viable sperm in treatments T4 and T5 after 96 hours of refrigeration compared to the control treatment, with respective values of (40.80±1.30, 29.70±0.43, 34.41±4.58). The analysis of the impact of extracts and storage durations on the proportion of malformed sperm revealed no significant changes ($P<0.05$) in treatment T1 during the initial hour of refrigerated storage. A significant

reduction (P<0.05) in the percentage of deformed sperm was observed in the T4 and T5 oil dilutes at concentrations of 1% and 2%, compared to the T2 treatment and the control treatment, during the 48 and 72-hour periods. The readings were (21.36±0.11, 28.13±1.93) for the T4 treatment and (24.93±3.26, 30.40±0.20) for the T5 treatment, respectively. Furthermore, the augmentation of marjoram oil extracts resulted in a statistically significant enhancement (P<0.05) in plasma membrane integrity percentages when refrigerated for 72 and 96 hours, in comparison to the control treatment over the same durations; however, no significant differences were observed between the T2 and T3 treatments for the identical storage periods. The impact of the interaction between the diluents and storage durations on the acrosome integrity percentage was The findings indicated a notable superiority (P<0.05) for the marjoram oil extract treatment T4 during the 0, 24, 72, and 96-hour refrigerated storage intervals, whereas no significant differences (P<0.05) were observed between treatments T1 and T2 for the same durations regarding the percentage of peripheral body integrity.

Republic of Iraq

Ministry of Higher Education and Scientific Research

Al-Muthanna University / College of Agriculture

Department of Animal Production

Evaluation of effect of adding different Levels of aqueous and oil extracts of marjoram and storage periods on the qualitative characteristics of epididymal spermatozoa in crossbred bulls

A thesis submitted by

Maryam Jabbar Majbas Al-Badri

to the College of Agriculture Council at Al-Muthanna University, as part of the requirements for a Master's degree in Agricultural Sciences / Animal Production.

Supervised by

Asst. Prof. Dr. Ghassan Samir Dahrib

1447A.H **2025 A.C**