مجلة زراعة الرافدين، المجلد (47)، عدد إضافي (1)،2019 وقائع المؤتمر الزراعي الدولي الثالث، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل وكلية علوم الهندسة الزراعية جامعة دهوك 2-3 تشرين الأول 2019
Mesopotamia Journal of Agriculture Vol. (47), Supplement I, 2019Proceedings of the 3rd International Agri. Conference, College of Agri. and Forestry, Univ. of Mosul and College of Agri. Engineering Sciences, Univ. of Duhok 2-3 October 2019

# تأثير إضافة مستخلص جذور نبات شرش الزلوع *Ferula hermonis* و بعض مضادات الأكسدة إلى مخفف Tris في العدد الكلي للنطف المتحركة والطبيعة والمتعرضة لصدمة الضغط الاوزموزي لدى ثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتبريد والتجميد

*طلال أنور عبد الكريم, **رائد إبراهيم خليل ،**أيسر حامد سلمان ***فارس فيصل إبراهيم
*عمر حسين الزيدي ***وفاء يدام لطيف
*قسم الإنتاج الحيواني/ كلية علوم الهندسة الزراعية – جامعة بغداد
**قسم الإنتاج الحيواني/ كلية الزراعة – جامعة ديالى
*** قسم التلقيح الاصطناعي – دائرة الثروة الحيوانية / وزارة الزراعة
Email: a07723080555@gmail.com

**الخلاصة**

أُجريت هذه الدراسة بهدف بيان تأثير إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع ( *Ferula hermonis*) و بعض مضادات الأكسدة إلى مخفف Tris في العدد الكلي للنطف المتحركة والطبيعة والمتعرضة لصدمة الضغط الاوزموزي لثيران الهولشتاين بعد الحفظ لمدد مختلفة من التبريد عند درجة حرارة 5˚م , 2، 30 ,60 يوم من الحفظ بالتجميد). نُفِذَت هذه التجربة في قسم التلقيح الاصطناعي التابع لدائرة الثروة الحيوانية / وزارة الزراعة في منطقة أبي غريب (25 كم غرب بغداد) للمدة من 24 تشرين الأول/ 2016 ولغاية 29 آذار/ 2017. أستخدم في هذه الدراسة ثمانية ثيران هولشتاين بأعمار تتراوح بين2.5 – 3 سنة. جُمِعَ السائل المنوي بوساطة المهبل الاصطناعي بواقع قذفة واحدة/ ثور/ أسبوع ولمدة 7 أسابيع. تمَّ تجميع السائل المنوي للثيران جميعها (Pooled semen) وتقسيمه بالتساوي على المعاملات الثمانية المختلفة. أضيف إلى المجموعة الأولى (T1) مخفف Trisفقط وعَدت بمثابة مجموعة السيطرة, في الوقت الذي أضيف فيه مع مخفف Tris المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع (0.03 مل / 50 مل مخفف) في المجموعة الثانية (T2)، L-Carnitine (0.06 غم / 50 مل مخفف) في المجموعة الثالثة (T3)، Reduced glutathione (0.03 غم / 50 مل مخفف) في المجموعة الرابعة (T4)، فيتامين C (0.2 غم / 50 مل مخفف) في المجموعة الخامسة (T5)،L-Carnitine (0.06 غم / 50 مل مخفف) والمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع (0.03 مل / 50 مل مخفف) في المجموعة السادسة (T6)،Reduced glutathione (0.03 غم / 50 مل مخفف) والمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع (0.03 مل / 50 مل مخفف) في المجموعة السابعة (T7) وفيتامين C (0.2 غم / 50 مل مخفف) والمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع (0.03 مل / 50 مل مخفف) في المجموعة الثامنة (T8). أوضحت النتائج إن النسبة المئوية للمردودية الإنتاجية لمستخلص جذور نبات شرش الزلوع الكحولي بلغت 10 % من وزن المادة الجافة وان تركيز المركبات الفينولية الكلية للمستخلص بلغت 124.38±5.05 ملغم مكافئ حامض الكاليك / غم مستخلص النبات وان المستخلص بتركيز 0.01 و0.03 % لم يؤدي إلى تحلل كريات الدم الحمر وليس له تأثير سمي بالنسبة لخلايا الدم. تفوقت المجموعتان T2 وT3 معنويا ( P< 0.05) في العدد الكلي للنطف المتحركة ضمن مدة الحفظ بالتبريد. أما بعد مرور30 و60 يوم من الحفظ بالتجميد تفوقت فقط المجموعة T2 مقارنة مع مجموعة السيطرة (T1). من جانب آخر، سجلت المجموعة T2 أعلى (P< 0.05) عدد كلي للنطف الطبيعية ضمن مدتي الحفظ بالتبريد والتجميد لمدة 30 يوم مقارنةً بالمجاميع الأخرى. كما سجلت المجموعة T2 اقل (P< 0.05) عدد كلي للنطف المتعرضة لصدمة الضغط الاوزموزي ضمن مدد الحفظ بالتبريد والتجميد 2 ،30 و60 يوم مقارنةً مع المجاميع الأخرى. يمكن الاستنتاج بأن إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع بتركيز 0.03 مل / 50 مل مخفف و L-Carnitine بتركيز 0.06 غم / 50 مل مخفف إلى مخفف Tris كان لهما تأثيرا واضحاً في تحسين العدد الكلي للنطف المتحركة والطبيعية وتقليل المتعرضة لصدمة الضغط الأوزموزي لثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتبريد والتجميد مقارنةً بمجموعة السيطرة (T1). إن ذلك يمكن أن ينعكس ايجابياً في تحسين نسب الإخصاب والحمل للأبقار الملقحة وبالتالي زيادة العائد الاقتصادي للمربين.

الكلمات المفتاحية: مستخلص نبات شرش الزلوع، السائل المنوي، الحفظ بالتبريد والتجميد، ثيران الهولشتاين.

تاريخ تسليم البحث:2019/6/5، تاريخ القبول:2019/9/29

**المقدمة**

يعتبر التلقيح الاصطناعي من التقانات واسعة الانتشار عالميا والذي بواسطته تنشر العوامل الوراثية المميزة لحيوانات المزرعة على نطاق واسع (1). وقد أجريت العديد من الدراسات حول مخففات السائل المنوي والإضافات المتعلقة بهذه المخففات بما يضمن نسبة إخصاب جيدة عند إجراء عملية التلقيح الاصطناعي (2). تُعد عملية حفظ النطف بالتجميد (Sperms cryopreservation) من العمليات المعقدة التي تؤدي في اغلب الأحيان الى إحداث ضرر في خلايا النطف لذكور الثدييات ومنها الثيران (3) ، نتيجة ارتباطها بإنتاج أنواع الأوكسجين التفاعلي( Reaction oxygen species; ROS) الذي له دور في أكسدة الدهون (Lipid peroxidation; LPO) لأغشية النطفة كونها تحتوي على كميات كبيرة من الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة ويرافق ذلك انخفاض فعالية مضادات الأكسدة المنوية عند التحرر المستمر لأنواع الأوكسجين التفاعلي نتيجة الاضطراب في ميزان مضادات الأكسدة (4 ، 5). كما إن عملية تجميد السائل المنوي تتم بعد تخفيفه وهذا يعني انخفاض مضادات الأكسدة الطبيعية الموجودة في البلازما المنوية مثل Superoxide dismutase و Glutathione reductase و غيرها (5). وعليه تم التوجه من قبل الكثير من الدراسات إلى إضافة مضادات الأكسدة إلى مخففات السائل مثل فيتامين C والكارنتين و الكلوتاثيون (3 ، 6) للتقليل أو الحد من اثر الإجهاد ألتأكسدي الناتج من الجذور الحرة.

يعد فيتامين C من مضادات الأكسدة غير الأنزيمية (Non-enzymatic antioxidants) الفعالة التي تعمل على إزالة الجذور الحرة (Free radicals scavenger), إذ لوحظ عند إضافة فيتامين C إلى مخففات السائل المنوي قد حسن من نوعية نطف الثيران (7). كما وجد (8) إن إضافة 5مليمول/ مل من فيتامين C إلى مخفف Tris للسائل المنوي لثيران الجاموس أدى إلى تحسن معنوي ($P\leq0.05$) في النسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. من جانب آخر، يقوم الكارنتين (Carnitine) بنقل الأحماض الدهنية إلى المايتوكوندريا حيث يؤدي دورا في توليد طاقة التمثيل الغذائي (9), وبالتالي تحصل على الطاقة خلايا البربخ والنطف بمساعدة الكارنتين المتواجد في السائل البربخي (10) من خلال عمل كل منهم في منطقة القطعة الوسطية للنطفة موفراً بذلك حماية لغشاء النطفة والأكروسوم (11). وقد وجد ان سبب التحسن في صفات نطف الذكور المعاملة بالكارنتين إلى فعالية هذا الحامض بوصفه مضاداً فاعلاً للأكسدة (Powerful antioxidant) ومانع لتكون الجذور الحرة في السائل المنوي (12). كما وجد أن إضافة الكارنتين إلى مخففات السائل المنوي لذكور الماعز وفر حماية ملحوظة في اكروسوم النطفة (13)، كما أدت إضافة الكارنتين في مخفف Tris إلى تحسين نوعية السائل المنوي بعد الحفظ بالتجميد لدى ثيران الهولشتاين (14، 15). من جانب آخر، يعد الكلوتاثيون من مضادات الأكسدة الموجودة في السائل المنوي للثيران والذي يؤدي دوراً مهماً في إزالة أنواع الأوكسجين التفاعلي والجذور الحرة (16), إذ يسبب اختزال بيروكسيد الهيدروجين ($H_2O_2$) إلى كحول وماء (17). وقد وجد أن إضافة الكلوتاثيون إلى مخفف Tris يعمل على تحسين نوعية السائل المنوي لثيران الهولشتاين (2، 18، 19) من خلال دوره كمضاد أكسدة، كونه يوفر وسيلة دفاع خلوية للنطفة ضد الإجهاد ألتأكسدي خلال عمليات تجميد وإسالة النطف (20). كما لاحظ (21) إن إضافة الكلوتاثيون إلى مخفف Tris أدى إلى تحسين سلامة الغشاء البلازمي والأكروسوم في السائل المنوي لثيران الجاموس.

لقد زاد الاهتمام في الآونة الأخيرة باستخدام مضادات الأكسدة الطبيعية من المستخلصات النباتية لاحتوائها على كميات كبيرة من المركبات الفلافونيدية لأضافتها الى مخففات السائل المنوي ودورها في تحسين نوعية النطف بعد التجميد لدى الثيران (22، 23). و يعد نبات شرش الزلوع ( Ferula hermonis) أو ما يعرف بالفياجرا اللبنانية من أكثر النباتات الطبية احتواء على المركبات الفينولية مقارنة ببقية مضادات الأكسدة الطبيعية و تعمل على حماية الخلايا من الإصابة بالأمراض السرطانية (24،25 ،26). وقد لاحظ (27، 28، 29) ان إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع الى مخفف Tris أدى الى تحسن بعض صفات السائل المنوي لدى ثيران الهولشتاين. واستكمالاً لهذا الاتجاه، فقد أجريت الدراسة الحالية لبيان تأثير إضافة المستخلص الكحولي لنبات شرش الزلوع في العدد الكلي للنطف المتحركة والطبيعية والمتعرضة للضغط الأوزموزي في القصبة الواحدة لدى ثيران الهولشتاين بعدد مدد مختلفة من الحفظ بالتجميد.

**المواد وطرائق العمل**

الاستخلاص الكحولي لنبات شرش الزلوع

أجريت عملية الاستخلاص الكحولي في المختبرات المركزية لقسم علوم الأغذية / كلية الزراعة – جامعة بغداد استناداً لما أورده (30) وتم تحضير المستخلص الكحولي لنبات شرش الزلوع بأخذ 100 غرام من جذور النبات وإضافته إلى 500 مل من كحول اثيلي تركيزه 80% وتركه المزيج لمدة 24 ساعة مع المزج المستمر باستخدام المازج المغناطيسي المزود بقاعدة حرارية ( Hot plate with magnetic stirrer) ، ثم رشح الخليط بوساطة قمع بوخنر وركز بالمبخر الدوار(Rotary evaporator) عند درجة 60°م، بعدها تم أخذ ما تبقى من الراشح وتوزيعه في أطباق بتري (Petri dishes) ووضعها في أفران التجفيف بدرجة حرارة 40°م ولمدة 24 ساعة.

تقدير المردودية الإنتاجية للمستخلص الكحولي

تم تقدير المردودية الإنتاجية للمستخلص الكحولي من خلال النسبة بين الوزن الجاف للمادة المستخلصة والتي تم الحصول عليها ووزن المادة النباتية الجافة المستخدمة من خلال ما أورده (31).

تقدير تركيز المركبات الفينولية الكلية للمستخلص الكحولي لنبات شرش الزلوع

تم تقدير تركيز المركبات الفينولية الكلية للمستخلص الكحولي لنبات شرش الزلوع استنادا لما جاء به (32) مع بعض التحويرات التي أجراها (33).

تقدير السمية الخلوية للمستخلص الكحولي لنبات شرش الزلوع

تم أجراء فحص السمية الخلوية (Cellular toxicity) للمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع استنادا لما جاء به (34)، وذلك بخلط 1 مل من دم الثيران مع 20 مل من المحلول الملحي الفسيولوجي (Normal Saline) ثم استخدمت تراكيز مختلفة لعينة المستخلص الكحولي لنبات شرش الزلوع والمراد فحصه (100، 300 و600 جزء بالمليون)، بعدها أخذ 100مايكروليتر من المستخلص الكحولي المعد مسبقاً وخلطه مع 2 مل من عالق الدم، وحضنه بالفرن بدرجة حرارة 37°م ، في حين ترك الوسط الغذائي بدون اضافة للمقارنة، ثم وضعت الأوساط في أطباق بتري معقمة قطرها 9.5 سم وملاحظة نتائج تخثر الدم لمدد زمنية مختلفة (10 ، 30 و 60 دقيقة).

حيوانات وتصميم التجربة

نُفِذَت هذه التجربة في قسم التلقيح الاصطناعي التابع لدائرة الثروة الحيوانية / وزارة الزراعة في منطقة أبي غريب (25 كم غرب بغداد) للمدة من 24/ تشرين الأول/ 2016 ولغاية 29 آذار/ 2017. أستخدم فيها 8 ثيران هولشتاين تم جمع السائل المنوي فيها عن طريق المهبل الاصطناعي هذه الدراسة ثمانية ثيران هولشتاين بأعمار تتراوح بين 2.5 – 3 سنة تم جُمِعَ السائل المنوي بوساطة المهبل الاصطناعي بواقع قذفة واحدة/ ثور/ أسبوع ولمدة 7 أسابيع. تمَّ تجميع السائل المنوي للثيران جميعها (Pooled semen) وتقسيمه بالتساوي على المعاملات الثمانية المختلفة. أضيف إلى المجموعة الأولى (T1) مخفف Tris فقط، اذ عَدت بمثابة مجموعة سيطرة في الوقت الذي أضيف فيه مع مخفف Tris0.03 مل من المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع/50 مل من المخفف للمجموعة الثانية (T2)،0.06 غم / 50 مل من L-Carnitine للمجموعة الثالثة (T3)، 0.03 غم / 50 مل منReduced glutathione للمجموعة الرابعة (T4)، 0.2 غم من فيتامين C / 50 مل للمجموعة الخامسة (T5)،0.06 غم / 50 مل من L-Carnitine + 0.03 مل من المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع للمجموعة السادسة (T6)،0.03 غم / 50 مل من Reduced glutathione + 0.03 مل من المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع للمجموعة السابعة (T7) و 0.2 غم / 50 مل من فيتامين C + 0.03 مل من المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع للمجموعة الثامنة (T8).

تقدير العدد الكلي لصفات النطف المختلفة في القصبة الواحدة

تم حساب الصفات الآتية اعتماداً على تركيز النطف في القصبة (15 مليون نطفة / قصبة) لإعطاء الصورة الحقيقة لعدد النطف القادرة على الإخصاب استناداً لطريقة (2، 35) باستخدام برنامج خاص (Software).

1- العدد الكلي للنطف المتحركة (Total motile sperms, TMS)

2- العدد الكلي للنطف الطبيعية (Total normal morphology, TMP)

3-العدد الكلي لنطف المتعرضة لضغط الاوزموزي(Total osmotic shock, TOS)

التحليل الإحصائي

استعمل البرنامج الإحصائي (36) في التحليل البيانات وفق التصميم العشوائي الكامل (CRD) لدراسة تأثير المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع والإضافات المختلفة الأخرى، في الصفات المدروسة وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستعمال اختبار دنكن المتعدد الحدود(37).

. الأنموذج الرياضي الأول: للتحري عن تأثيرات المعاملات المدروسة في الصفات المختلفة ولكل وقت.

$$Yij= \mu+ \quad \tau i \quad + \varepsilon i$$

إذ إن:

Y ij: قيمة المشاهدة j العائدة للمعاملة.

$\mu$: المتوسط العام للصفة.

$i\tau$ : تأثير المعاملة i = (السيطرةT1 والمجاميع ، T2، T3، T4، T5، T6، T7، T8، للتجربة

$ij\varepsilon$: الخطأ العشوائي الذي يتوزع توزيعاً طبيعياً بمتوسط يساوي صفر وتباين قدره $2\sigma\varepsilon$.

الأنموذج الرياضي الثاني: للتحري عن تأثير مدد الحفظ المدروسة في الصفات المختلفة لكل معاملة

$$Yij = \mu + Pi + \varepsilon ij$$

إذ إن:

Y ij: قيمة المشاهدة j العائدة للمعاملة.

$\mu$: المتوسط العام للصفة.

Pi: تأثير مدد الحفظ (التبريد ، يومين ،30 و60 يوم بعد الحفظ بالتجميد)

$ij\varepsilon$: الخطأ العشوائي الذي يتوزع توزيعاً طبيعياً بمتوسط يساوي صفر وتباين قدره $2\sigma\varepsilon$.

وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستعمال اختبار دنكن المتعدد المديات (37)

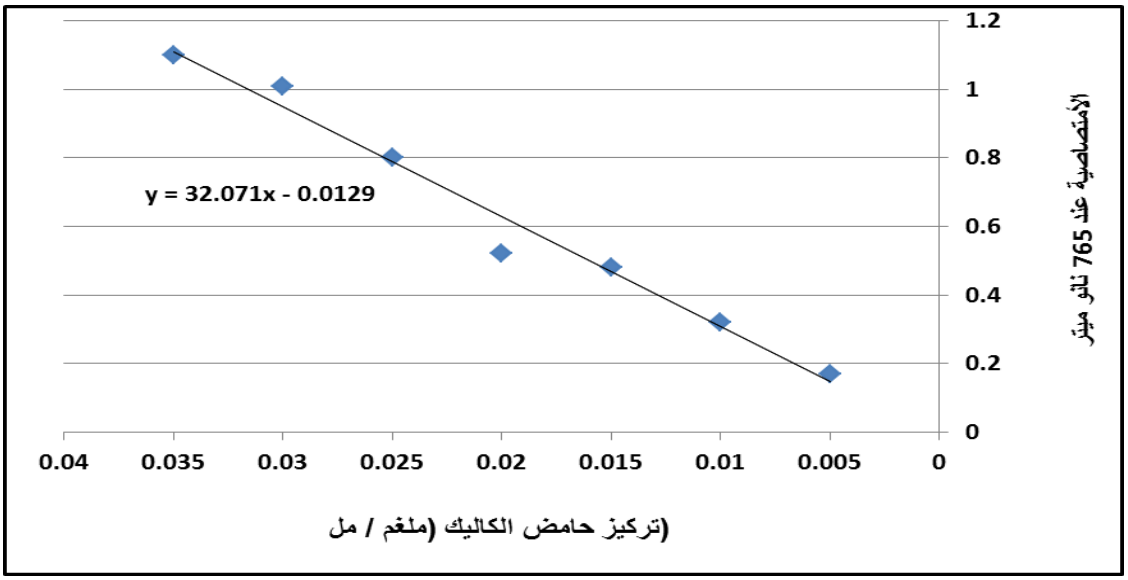
النتائج والمناقشة

المردودية الإنتاجية للمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع

يتضح من خلال حساب النسبة المئوية للمردودية الإنتاجية لمستخلص جذور نبات شرش الزلوع الكحولي ان المردودية بلغت 10 % ، اذ تم الحصول على 10 غم من المستخلص الكحولي عنده استخدام 100 غم من وزن النبات الجاف.

تركيز المركبات الفينولية الكلية للمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع

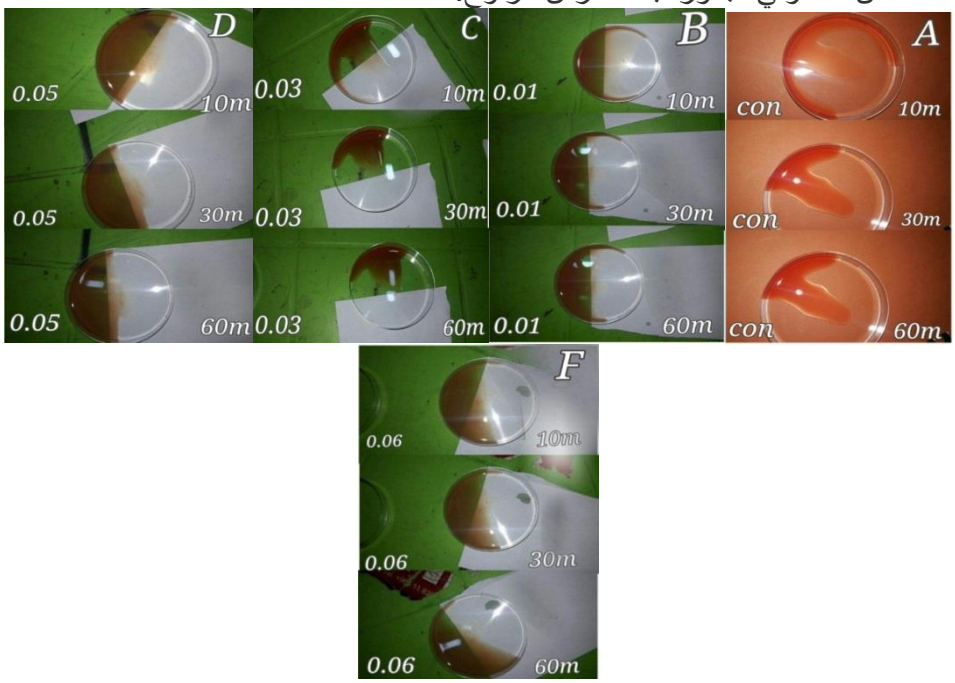
يتبين من خلال المنحنى القياسي لحامض الكاليك (شكل 1) للمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع ان متوسط تركيز المركبات الفينولية الكلية للمستخلص ومن خلال فحص ثلاث عينات بلغ 124.38 ± 0.505 ملغم من مكافئ حامض الكاليك / غم من المستخلص.




الشكل (1):.المنحنى القياسي لحامض الكاليك لتقدير المركبات الفينولية الكلية للمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع .

السمية الخلوية للمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع

يتبين من الصورة (1) نتائج اختبار فحص السمية الخلوية لتراكيز مختلفة من المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع مع نموذج مجموعة السيطرة , إذ وجد عدم ظهور لتحلل كريات الدم الحمراء وعدم وجود ترسبات في المحلول الملحي للمستوبين0.01 و 0.03 مل في الوقت الذي ظهرت فيه ترسبات وتحليل كريات الدم الحمراء في المستويات 0.05 و 0.06 مل من المستخلص الكحولي، مما يدل على عدم امتلاكها لخواص سمية وتعد بذلك آمنة عند استخدامها في مخففات السائل المنوي عند المستويين الآمنين المذكورين. واستناداً لذلك فقد تم استخدام المستوى 0.03 مل بناءً على أجراء تجربة تمهيدية تم فيها اختيار أفضل مستوى للمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع.




صورة 1. نتائج فحص السمية الخلوية للمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع.
A=Control, B=0.01, C=0.03, D=0.05, F=0.06

العدد الكلي للنطف المتحركة

يتضح من نتائج التحليل الإحصائي (الجدول 1) تفوق المجموعتين T2 و T3 معنويا ($P\leq0.05$) ضمن مدة الحفظ بالتبريد, اذ سجلتا 7.36 ± 0.63 و 7.50 ± 0.42 × 106 على التوالي مقارنه مع المجموعة T1 (6.00 ± 0.67 × 106) واختلفت المجموعة T2 معنويا فقط عن المجموعتين T5و T8 دون المجاميع الأخرى. من ناحية أخرى, تفوقت المجموعتين T2 وT3 معنويا ($P\leq0.05$) بعد مرور 2 يوم من الحفظ بالتجميد, اذ سجلتا 6.61 ± 0.65 و6.75 ±0.53× 106 على التوالي مقارنةً بالمجموعة T8 فقط (4.50 ± 0.58 × 106) دون المجاميع الأخرى. أما بعد مرور 30 و60 يوم من الحفظ بالتجميد فقد تفوقت المجموعة T2 معنويا ($P\leq0.05$) مسجلةً 6.61 ±0.71 و 6.50 ± 0.44 × 106 على التوالي مقارنه بالمجموعة T1 (4.93 ± 0.52 و 4.93 ± 0.50 × 106 على التوالي ) والتي لم تختلف بدورها معنويا عن المجموعتين T5 و T8 (جدول 1).

وانعدمت التأثيرات المعنوية عند المقارنة بين مدد الحفظ المختلفة ضمن المجموعة الواحدة، اذ يتضح من جدول (1) ان المجاميع T2, T3, T4وT5 لم تختلف معنويا بين مدد الحفظ المختلفة. كما تفوقت المجموعة T1 معنويا ($P\leq0.05$ ) ضمن مدة الحفظ بالتبريد (6.00 ± 0.67 × 106) مقارنه بمدد الحفظ الأخرى. وضمن المجاميعT6, T7 وT8 تفوقت مدة الحفظ بالتبريد معنويا ($P\leq0.05$) مقارنه بمدد الحفظ الأخرى (جدول 1).

ان التفوق المعنوي والحسابي الواضح للعد الكلي للنطف المتحركة لدى المجموعة T2 مقارنة بالمجاميع الأخرى ربما يعود الى توفر كميات كبيره من المركبات الفينولية ضمن المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع التي أدت الى زيادة عدد النطف الكلية المتحركة لدى هذه المجموعة ,اذ تعمل هذه المركبات

كمضادات للأكسدة. ومن جانب آخر, ان التحسن الواضح في العدد الكلي للنطف المتحركة لنطف ثيران الهولشتاين للمجموعتين T2 وT3 عند إضافة المستخلص الكحولي لجذور شرش الزلوع والكارنتين الى مخففات السائل المنوي قد يعود السبب الى ان مضادات الأكسدة الطبيعية والصناعية من خلال دورها كمضاد أكسدة مما ينعكس ايجابيا العدد الكلي للنطف المتحركة وبالتالي زيادة نسبة الإخصاب والحمل لدى الأبقار الملقحة بهذا السائل المنوي (24 و38). وتتفق هذه النتيجة مع ما اوردة (39) من ان إضافة الحامض الاميني الكارنتين إلى مخفف Tris قد يكون وسيلة جيدة لتحسين نوعية السائل المنوي لثيران الهولشتاين بعد مرور مدد مختلفة من الحفظ بالتبريد والتجميد مقارنةً بمجموعة السيطرة (T1). إنَّ ذلك قد يسهم إيجابياً في زيادة نسبتي الإخصاب والحمل لدى الأبقار الملقحة به ومن ثم زيادة العائد الاقتصادي للمربين. وكذلك اتفقت هذه النتيجة الحالية مع ما جاء به (8 و13 و14) الذين وجدوا تحسناً معنوياً في عدد النطف الطبيعية الكلية عند إضافة الكارنتين بصورة مفردة إلى مخفف Tris في دراساتهم التي أجريت على ثيران الهولشتاين وثيران الجاموس.

الجدول (1): تأثير إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع وبعض مضادات الأكسدة إلى مخفف Tris في العدد الكلي للنطف المتحركة (× 106 نطفه) لنطف ثيران الهولشتاين(المتوسط ±الخطأ القياسي).

| المجاميع | معاملة الحفظ | | | | مستوى المعنوية |
|---|---|---|---|---|---|
| | بعد التبريد 5˚م | تجميد لمدة 2 يوم | تجميد لمدة 30يوم | تجميد لمدة 60 يوم | |
| T1 | 0.67±6.00 Abcd | 0.73±5.36 Bab | 0.52±4.93 Cb | 0.50±4.93 Cbc | * |
| T2 | 0.63±7.36 ab | 0.65±6.61 a | 0.71±6.61 a | 0.44±6.50 a | N.S. |
| T3 | 0.42±7.50 a | 0.53±6.75 a | 0.51±6.54 a | 0.44±6.43 ab | N.S. |
| T4 | 0.72±6.86 abc | 0.66±6.21 ab | 0.52±5.79 ab | 0.39±5.68 abc | N.S. |
| T5 | 0.83±5.68 cd | 0.50±5.00 ab | 0.48±4.82 b | 0.36±4.71 c | N.S. |
| T6 | 0.47±6.86 Aabc | 0.39±6.11 ABab | 0.21±5.67 Bab | 0.38±5.57 Babc | * |
| T7 | 0.45±6.21 Aabcd | 0.42±5.46 Bab | 0.25±5.36 Bab | 0.32±5.14 Babc | * |
| T8 | 0.30±5.36 Ad | 0.58±4.50 Bb | 0.57±4.50 Bb | 0.98±4.50 Bc | * |
| مستوى المعنوية | * | * | * | * | |

T1(السيطرة) = مخفف Tris فقط T2 = مخفف.Tris+ المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع
T3= مخفف Tris +الكارنتينT4 = مخفف Tris+ الكلوتاثيون.
T5= مخفف Tris + فيتامين CT6 = مخفف Tris + المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع +الكارنتين
T7 = مخفف Tris+ المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع + الكلوتاثيون
T8 = مخففTris + المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع + فيتامين C.
* تشير الى وجود تأثيرات معنوية عند مستوى 0.05 في جدول تحليل التباين.
N.Sتشير الى عدم وجود تأثيرات معنوية في جدول تحليل التباين.
الحروف الصغيرة المختلفة تشير الى الفروق المعنوية بين متوسطات المجاميع ضمن العمود الواحد في مده الحفظ الواحدة ,في حين تشير الحروف الكبيرة المختلفة الى الفروق المعنوية بين متوسطات مدد الحفظ المختلفة ضمن الصف الواحد للمجموعة الواحده.

العدد الكلي للنطف الطبيعية

يتبين من نتائج التحليل الإحصائي (الجدول 2) تفوق المجموعة T2 معنويا ضمن مدة الحفظ بالتبريد ($P\leq0.05$) اذ سجلت أعلى قيمة ($12.90 \pm 0.24 \times 106$) مقارنه بالمجموعة T8 ($12.38\pm 0.10 \times 106$) دون المجاميع الأخرى. لم تختلف جميع المجاميع معنويا بعد مرور 2 يوم من الحفظ بالتجميد. كما تفوقت المجموعة T2 معنويا ($P\leq0.05$) بعد مرور 30 يوم من الحفظ بالتجميد ( $13.04\pm 0.15 \times 106$) مقارنة مع بالمجاميع T1 ، T5 و T7 دون المجاميع الأخرى ( جدول 2). وضمن الإطار ذاته، أظهرت المجموعة T2 ( $12.98 \pm0.06\times 106$) مقارنة ببقية المجاميع قيد الدراسة بعد مرور 60 يوم من الحفظ بالتجميد (جدول2). كما انعدمت التأثيرات المعنوية لكافة المجاميع عند المقارنة بين مدد الحفظ المختلفة ضمن المجموعة الواحدة (جدول 2) باستثناء المجموعة T6 اذ تفوقت معنويا ($P\leq0.05$) مدة الحفظ بالتجميد 30 يوم ($12.79 \pm 0.02\times 106$) مقارنة بمدد الحفظ بالتجميد ليومين دون المجاميع الأخرى (جدول 2).

من خلال سير النتائج في الجدول (2) وجد ان الأفضلية كانت للمجموعة T2 ,وهذا دليل جيد على أهمية إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع الى مخفف Tris, كما يعد العدد الكلي للنطف الطبيعية من المؤشرات المهمة في إعطاء صورة أولية للحصول على نسبة إخصاب جيدة فيما إذا تم استعمال هذه القصبات في التلقيح الاصطناعي للأبقار. ومن جانب آخر , أن استخدام مضادات الأكسدة الطبيعية قبل عملية الحفظ بالتجميد تعمل على تسهيل تعزيز تقنية حفظ النطف بالتجميد ، وهذا ما تؤيده نتائجنا السابقة من أهمية إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع الى مخفف Tris لثيران الهولشتاين في تقليل نسبة تشوهات النطف مقارنة بمجموعة السيطرة (28) وزيادة العدد الكلي للنطف الطبيعية وزيادة النسبة المئوية للحركة الفردية (27). وقد يعود سبب تباين هذه الدراسة الحالية مع النسب المئوية للصفات المذكورة أعلاه للدراسات الأخرى الى تأثير العمر وتأثير السلالة ودرجات الحرارة وفصول السنة (40). ان عدم وجود فروق معنوية بين مدد الحفظ بالتجميد مقارنه بالتبريد قد يعود الى خلط المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع مع الكارنتين ودورهما في المحافظة على أغشية النطف ضمن مدة الحفظ بالتجميد ,اذ تعمل مضادات الأكسدة الطبيعية والصناعية على خفض أكسدة الأغشية الدهنية للنطف وبالتالي حمايتها من ضرر جهد الأكسدة. وتتفق هذه النتائج مع ما وجده 14و15 من ان خلط الكارنتين مع حوامض امينية أخرى كان له الدور في حماية النطف من الأثر الضار للتجميد.

يتضح من النتائج (الجدول 3) ان اقل عدد كلي للنطف المتعرضة للضغط الاوزموزي كان لدى المجموعة T2 ($P\leq0.05$) ضمن مدة الحفظ بالتبريد ( $0.45 \pm 0.06 \times 106$) مقارنة مع المجموعة T8( $0.71 \pm 0.05 \times 106$) في الوقت الذي لم تختلف معنويا مع المجاميع الأخرى. كما سجلت المجموعة T2 اقل ($P\leq0.05$) عدد ضمن مدة الحفظ بالتجميد 2 يوم ($0.45 \pm 0.04\times 106$) مقارنة بالمجاميع T1، T3 وT8 وعد اختلافها معنويا عن المجاميع الأخرى (جدول 3). كما سجلت المجموعة T2 اقل ($P\leq0.05$) عدد ضمن مدة الحفظ بالتجميد 30 يوم مسجلةً $0.43 \pm 0.06 \times 106$مقارنة بالمجاميع T4، T5 وT8وعدم اختلافها عن المجاميع الأخرى . وقد سجلت المجموعة T2 اقل ($P\leq0.01$) عدد ( $0.49 \pm 0.02\times$ 106)مقارنة بالمجاميع T5,T4,T1وT8 دون المجاميع الأخرى ( جدول 3). وعند المقارنة بين مدد الحفظ المختلفة ضمن المجموعة الواحدة، تشير كافة المجاميع الى انعدام التأثيرات المعنوية باستثناء المجموعة T5 التي اختلف فيها العدد الكلي للنطف متعرضة لصدمة الضغط الاوزموزي معنوياً($P\leq0.05$) ضمن مدة الحفظ بالتبريد مقارنةً بمدة الحفظ بالتجميد لمدة 60 يوم(جدول 3). ان ذلك يعزى الى فعالية المستخلص الكحولي لجذر نبات شرش الزلوع في المحافظة على الغشاء البلازمي للنطف وحمايتها من الاجتهاد التأكسدي. ومن ناحية أخرى، فان مضادات الأكسدة في نبات شرش الزلوع تتركز بشكل طبيعي وبصورة أساسية في الجذور (41 و42). واتفقت هذه النتائج مع ما أورده 43 و44 من تحسين الأداء التناسلي لدى الفئران عند تجريعها بالمستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع. كما اتفقت النتائج الحالية مع ما وجده 27، 28 و29 من تحسن واضح لكل من النسب المئوية لحركة النطف الفردية والحية وسلامة الغشاء البلازمي وسلامة الأكروسوم وانخفاض في النسبة المئوية لتشوهات النطف لدى ثيران الهولشتاين بعد الحفظ بالتجميد عند إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع.

الجدول (2) تأثير إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع وبعض مضادات الأكسدة إلى مخفف Tris في العدد الكلي للنطف الطبيعية (× 106 نطفه) لنطف ثيران الهولشتاين (المتوسط ±الخطأ القياسي).

| المجاميع | مدة الحفظ | | | | مستوى المعنوية |
|---|---|---|---|---|---|
| | بعد التبريد 5˚م | تجميد لمدة 2 يوم | تجميد لمدة 30 يوم | تجميد لمدة 60 يوم | |
| T1 | 0.09±12.61 ab | 0.13±12.31 | 0.10±12.57 b | 0.06±12.52 bc | N.S. |
| T2 | 0.24±12.90 a | 0.19±12.74 | 0.15±13.04 a | 0.06±12.98 a | N.S. |
| T3 | 0.09±12.76 ab | 0.26±12.42 | 0.13±12.83 ab | 0.04±12.69 b | N.S. |
| T4 | 0.18±12.72 ab | 0.17±12.59 | 0.09±12.72 ab | 0.08±12.52 bc | N.S. |
| T5 | 0.18±12.69 ab | 0.10±12.49 | 0.08±12.52 b | 0.04±12.46 c | N.S. |
| T6 | 0.12±12.66 ABab | 0.14±12.43 B | 0.02±12.79 Aab | 0.04±12.66 ABb | * |
| T7 | 0.17±12.54 ab | 0.11±12.67 | 0.06±12.68 b | 0.05±12.64 bc | N.S. |
| T8 | 0.10±12.38 b | 0.17±12.45 | 0.13±12.61 b | 0.07±12.56 bc | N.S. |
| مستوى المعنوية | * | N.S. | * | ** | |

T1(السيطرة) = مخفف Tris فقط T2 = مخفف.Tris+ المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع
T3= مخفف Tris +الكارنتينT4 = مخفف Tris+ الكلوتاثيون.
T5= مخفف Tris + فيتامين CT6 = مخفف Tris + المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع +الكارنتين
T7 = مخفف Tris+ المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع + الكلوتاثيون
T8 = مخففTris + المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع + فيتامين C.
* تشير الى وجود تأثيرات معنوية عند مستوى 0.05 في جدول تحليل التباين.
**تشير الى وجود تأثيرات معنوية عند مستوى 0.01 في جدول تحليل التباين.
N.Sتشير الى عدم وجود تأثيرات معنوية في جدول تحليل التباين.
الحروف الصغيرة المختلفة تشير الى الفروق المعنوية بين متوسطات المجاميع ضمن العمود الواحد في مده الحفظ الواحدة ,في حين تشير الحروف الكبيرة المختلفة الى الفروق المعنوية بين متوسطات مدد الحفظ المختلفة ضمن الصف الواحد للمجموعة الواحده.

العدد الكلي للنطف المتعرضة لصدمة الضغط الأوزموزي

(Total osmotic shock, TOS)

الجدول (3): تأثير إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع وبعض مضادات الأكسدة إلى مخفف Tris في العدد الكلي للنطف المتعرضة للضغط الاوزموزي(× 106 نطفه) لنطف ثيران الهولشتاين (المتوسط ±الخطأ القياسي).

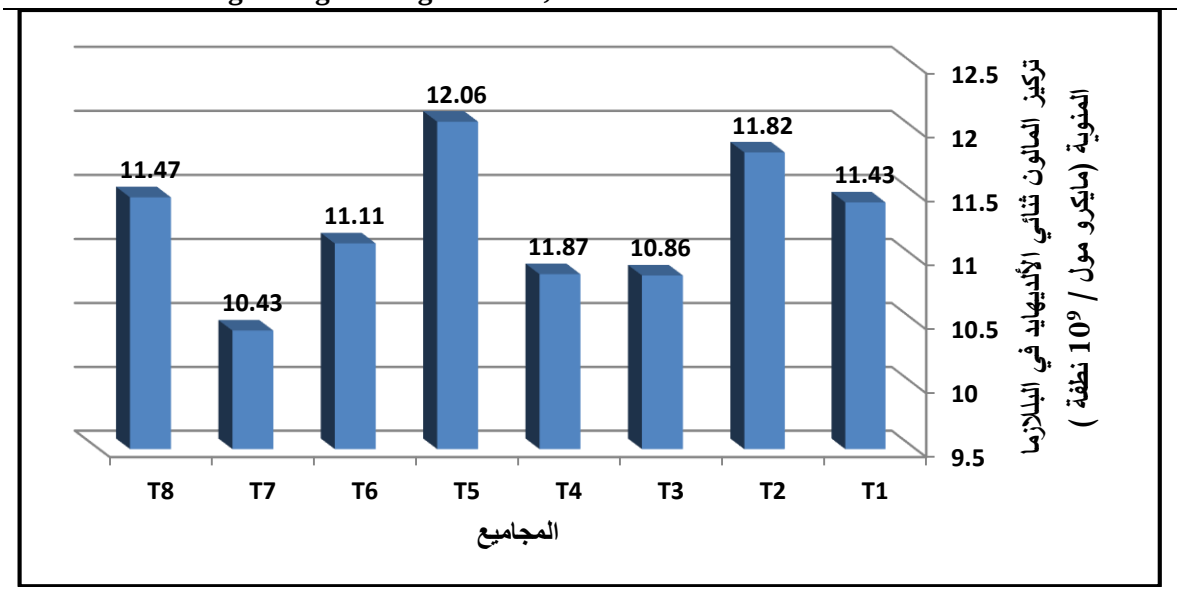
| المجاميع | مدة الحفظ | | | | مستوى المعنوية |
|---|---|---|---|---|---|
| | بعد التبريد 5˚م | تجميد لمدة 2 يوم | تجميد لمدة 30 يوم | تجميد لمدة 60 يوم | |
| T1 | 0.07±0.54 ab | 0.14±0.75 b | 0.06±0.58 ab | 0.06±0.77 a | N.S. |
| T2 | 0.06±0.45 b | 0.04±0.45 c | 0.06±0.43 b | 0.02±0.49 b | N.S. |
| T3 | 0.10±0.62 ab | 0.77±1.39 a | 0.07±0.56 ab | 0.04±0.64 ab | N.S. |
| T4 | 0.08±0.56 ab | 0.07±0.54 c | 0.05±0.69 a | 0.05±0.69 a | N.S. |
| T5 | 0.08±0.47 Bab | 0.05±0.55 Bc | 0.07±0.66 Ba | 0.05±0.77 Aa | * |
| T6 | 0.04±0.49 ab | 0.07±0.58 bc | 0.06±0.58 ab | 0.07±0.64 ab | N.S. |
| T7 | 0.07±0.64 ab | 0.05±0.62 bc | 0.08±0.62 ab | 0.05±0.49 b | N.S. |
| T8 | 0.05±0.71 a | 0.14±0.85 b | 0.08±0.75 a | 0.05±0.68 a | N.S. |
| مستوى المعنوية | * | * | * | ** | |

T1(السيطرة) = مخفف Tris فقط T2 = مخفف.Tris+ المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع
T3= مخفف Tris +الكارنتينT4 = مخفف Tris+ الكلوتاثيون.
T5= مخفف Tris + فيتامين CT6 = مخفف Tris + المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع +الكارنتين
T7 = مخفف Tris+ المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع + الكلوتاثيون
T8 = مخففTris + المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع + فيتامين C.
* تشير الى وجود تأثيرات معنوية عند مستوى 0.05 في جدول تحليل التباين.
**تشير الى وجود تأثيرات معنوية عند مستوى 0.01 في جدول تحليل التباين.
N.S تشير الى عدم وجود تأثيرات معنوية في جدول تحليل التباين .
الحروف الصغيرة المختلفة تشير الى الفروق المعنوية بين متوسطات المجاميع ضمن العمود الواحد في مده الحفظ الواحدة ,في حين تشير الحروف الكبيرة المختلفة الى الفروق المعنوية بين متوسطات مدد الحفظ المختلفة ضمن الصف الواحد للمجموعة الواحدة.

تركيز المالون ثنائي الألديهايد في البلازما المنوية

(Malondialdehyde " MDA" concentrations in seminal plasma)

يتضح من الشكل (1) انعدام الفروق المعنوية بين المجاميع المختلفة في تركيز المالون ثنائي الألديهايد في البلازما المنويةعلى الرغم من وجود زيادة حسابية في تركيزه لدى المجاميع T2, T5 وT8 مقارنه ببقية المجاميع المدروسة. من جانب آخر, سجلت المجاميع T6, T4,T3 وT7 انخفاضا حسابيا في تركيز المالون ثنائي الألديهايد في البلازما المنوية قياسا بالمجاميع الأخرى (شكل 1). ان ذلك ربما يعود الى عمل مضادات الأكسدة الطبيعية (المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع ) والصناعية (الكارنتين و الكلوتاثيون) في خفض جهد الأكسدة لديها مما ينعكس في خفض أكسدة أغشية النطف الدهنية لثيران الهولشتاين (45).



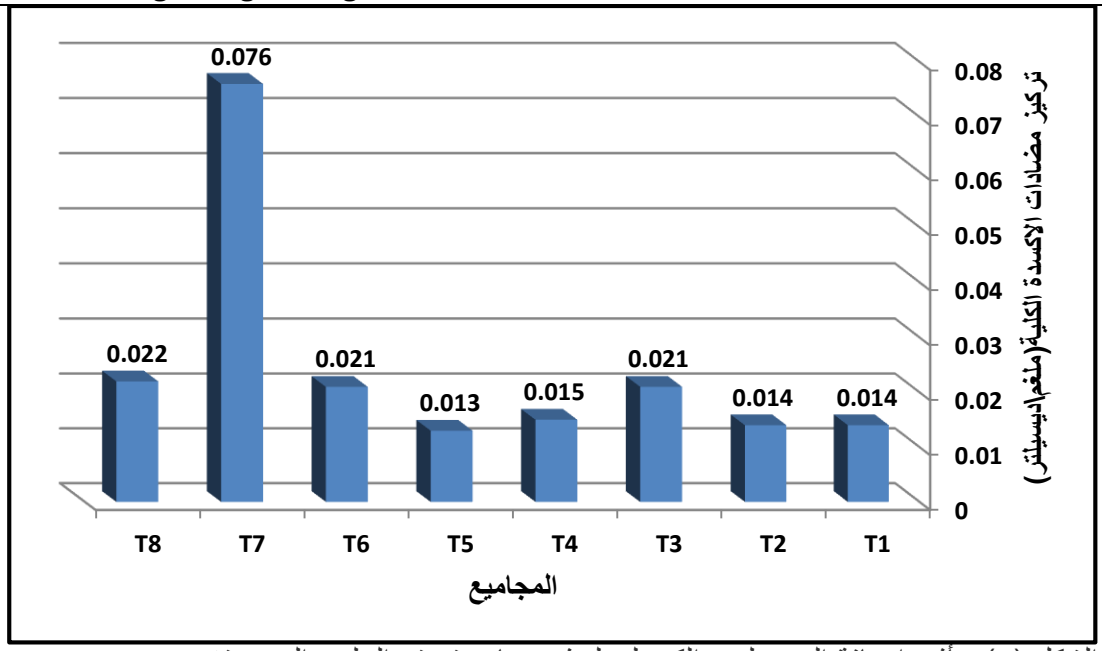

الشكل (1): تأثير إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع الى مخفف Tris وبعض مضادات الأكسدة في تركيز المالون ثنائي الألديهايد في البلازما المنوية لنطف ثيران الهولشتاين

T1(السيطرة) = مخفف Tris فقط T2 = مخفف Tris+ المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع
T3= مخفف Tris +الكارنتين T4 = مخفف Tris+ الكلوتاثيون.
T5= مخفف Tris + فيتامين T6 = مخفف Tris +مستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع +الكارنتين
T7 = مخفف Tris+ مستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع + الكلوتاثيون.
T8 = مخففTris + المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع + فيتامين C.

فعالية مضادات الأكسدة الكلية في البلازما المنوية

(Total antioxidant capacity in seminal plasma)

يتبين من الشكل (2) عدم وجود فروق معنوية في فعالية مضادات الأكسدة الكلية بين المجاميع المختلفة على الرغم من وجود زيادة حسابية مقدارها 42.85 , 7.14 , 42.85 , 44.28 ,57.14 % للمجاميع T1, T4, T6 , T7, T8 على التوالي قياساً بمجموعة السيطرة (T1). وهذا بالتأكيد سوف ينعكس في زيادة نسب الإخصاب لدى الأبقار بسبب توفر مركبات كبيره من مضادات الأكسدة التي سوف تكون متوفرة للنطف اثناء إجراء عمليات التلقيح الاصطناعي للأبقار(40).




الشكل (2): تأثير إضافة المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع الى مخفف Tris وبعض مضادات الاكسدة في تركيز مضادات الأكسدة الكلية في البلازما المنوية لثيران الهولشتاين.

T1(السيطرة) = مخفف Tris فقط T2 = مخفف Tris.+ المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع
T3= مخفف Tris +الكارنتين T4 = مخفف Tris+ الكلوتاثيون.
T5= مخفف Tris + فيتامين T6 = مخفف Tris +مستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع +الكارنتين.
T7 = مخفف Tris+ مستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع + الكلوتاثيون.
T8 = مخففTris + المستخلص الكحولي لجذور نبات شرش الزلوع + فيتامين C.

# EFFECT OF ADDING *FERULA HERMONIS* ROOTS AND SOME ANTIOXIDANTS TO TRIS EXTENDER ON POST-CRYOPRESERVED TOTAL NUMBER OF MOTILE SPERMS, NORMAL MORPHOLOGY SPERM AND HYPOOSMOTIC SPERMS OF HOLSTEIN BULLS DURING DIFFERENT COOLING AND CRYOPRESERVATION PERIODS

Talal A. Abdulkareem* Raed I. Khalil** Aysar H. Salman** Faris F. Ibrahim***
Omar H. Al-Zaidi* Wafaa E. Lateef***
* Department of Animal Production, College of Agricultural Engineering Science / University of Baghdad.
** Department of Animal Production, College of Agriculture / University of Diyala.
***Department of Artificial Insemination, Directorate of Animal Resource/ Ministry of Agriculture.
Email: a07723080555@gmail.com

## ABSTRACT

This study was undertaken to explain the adding effect of alcoholic extract of Ferula hermonis roots and some antioxidants to Tris extender on post-cryopreserved total number of motile sperms (TMS), normal morphology sperm (TNMS) and hypoosmotic sperms (THOS) of Holstein bulls for different

preservation periods (cooling at 5°C, 2, 30 and 60 days post cryopreservation, PC). Eight Holstein bulls of 2.5-3 years of age were used in this study. Semen was collected via artificial vagina in one ejaculate per bull per week for the 7-week experimental period. Pooled semen was equally divided into eight treatments using Tris extender. The alcoholic extract of Ferula hermonis roots (0.03 ml / 50 ml extender; T2), L-Carnitine (0.06g / 50 ml extender; T3), reduced glutathione (0.03 g / 50 ml extender; T4), vitamin C (0.2 g / 50 ml extender; T5), L-Carnitine; 0.06g / 50 ml extender + alcoholic extract of Ferula hermonis roots; 0.03 ml / 50 ml extender (T6), reduced glutathione; 0.03 g / 50 ml extender + alcoholic extract of Ferula hermonis roots; 0.03 ml / 50 ml extender (T7) and vitamin C; 0.2 g / 50 ml extender + alcoholic extract of Ferula hermonis roots; 0.03 ml / 50 ml extender (T8) were added to Tris extender and comparisons in response were made with the control group (Tris extender, T1).The total phenolic compound of the extract was 124.38 ± 5.05 mg GAE / g extract and the extract with 0.01 and 0.03 % did not hemolyze the red blood cells and had not poisoning effect on blood cells. The T2 and T3 groups exhibited greater ($P\leq 0.05$) TMS as compared with the T1 group at cooling period. The T2 group was only superior ($P\leq 0.05$) at 30 and 60 days PC as compared with T1 group in similar character. On the other hand, T2 group had significantly ($P\leq 0.05$) greater TNMS in comparison with the other groups at cooling and 30 days PC periods. Lesser ($P\leq 0.05$) THOS was recorded in T2 group as compared with the others at all preservation periods. In conclusion, the adding of alcoholic extract of Ferula hermonis roots (0.03 ml / 50 ml extender) and L-Carnitine (0.06g / 50 ml extender) to Tris extender had an obvious influence in increasing TMS and TNMS as well as decreasing THOS of Holstein bulls at different preservation periods as compared with the control (T1) group. This may contribute to a positive enhancement in conception and pregnancy rates of the inseminated cows, and consequently increase the owner's economic income.

Keywords: L-Carnitine, Ferula hermonis, semen quality, Holstein bulls.

Received :5/6/2019, Accepted:29/9/2019

## REFERENCES

عبد الكريم، طلال أنور والزيدي، عمر حسين عباس. 2018. تأثير إضافة المستخلص المائي لأوراق نبات حشيشة النحل (Melissa officinalis) و بعض مضادات الأكسدة الأخرى وخليطهم إلى مخفف الحليب في النسبة المئوية لحركة النطف الفردية و الحية لثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتبريد والتجميد. *مجلة الأنبار للعلوم البيطرية، 11 (1): 37-53.*

عبد الكريم، طلال أنور والزيدي، عمر حسين عباس. 2018. تأثير إضافة المستخلص المائي لأوراق نبات حشيشة النحل (Melissa officinalis) و بعض مضادات الأكسدة الأخرى وخليطهم إلى مخفف Tris في النسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي واكروسوم نطف ثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتبريد والتجميد. *مجلة الأنبار للعلوم البيطرية، 11 (1): 54-69.*

عبد الكريم، طلال أنور، خليل، رائد إبراهيم وسلمان، أيسر حامد. 2018. تأثير إضافة مستخلص نبات شرش الزلوع Ferula hermonis وبعض مضادات الأكسدة الى مخفف Tris في النسبة المئوية لحركة النطف الفردية والحية لدى ثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتجميد. *مجلة الأنبار للعلوم البيطرية، 11(1): 26-36.*

عبد الكريم، طلال أنور، خليل، رائد إبراهيم وسلمان، أيسر حامد. 2018. تأثير إضافة مستخلص نبات شرش الزلوع Ferula hermonis وبعض مضادات الأكسدة الى مخفف Tris في النسبة المئوية

لتشوهات النطف لدى ثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتجميد. *مجلة الأنبار للعلوم البيطرية، 11(1): 70-81.*

عبد الكريم، طلال أنور، خليل، رائد إبراهيم وسلمان، أيسر حامد، إبراهيم، فارس فيصل، لطيف، وفاء يدام، ناصر، حياة حمود ورشيد، أمل محمد. 2018. تأثير إضافة مستخلص نبات شرش الزلوع Ferula hermonis وبعض مضادات الأكسدة الى مخفف Tris في النسبة المئوية لسلامة الغشاء البلازمي وسلامة الأكروسوم لدى ثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتجميد. *مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية، 18: 618-628.*

عبد الكريم، طلال أنور، عمر عادل محمد ، عبد الله محمد حسن شبر ، فارس فيصل إبراهيم و وفاء يدام ولطيف. 2016. تأثير إضافة الكارنتين والاينوستول إلى مخفف Tris في نوعية السائل المنوي بعد التجميد لثيران الهولشتاين. *مجلة الأنبار للعلوم البيطرية، 9: 8-18.*

عبد الكريم، طلال أنور، نون، محمود سعدي، سلطان، خالد حساني. 2017. التأثير ألتآزري لبعض مضادات الأكسدة المضافة إلى مخفف Tris في النسبة المئوية لحركة النطف الفردية لدى ثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتبريد والتجميد. *مجلة الانبار للعلوم البيطرية، 10 (1)10:-20.*

عيدان، ساجدة مهدي، الزيدي، عمر حسين عباس، إبراهيم، فارس فيصل، التميمي، باسمة عبد رجب ولطيف، وفاء يدام. 2015. تأثير إضافة بعض مضادات الأكسدة الإنزيمية وغير الإنزيمية إلى مخفف Tris في قابلية التجميد لثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتجميد. *المجلة الطبية البيطرية العراقية، 39 (2): 19-24.*

المقطري، خالد محمد علي. 1994. دراسة تأثير المواسم وطرق الجمع على صفات السائل المنوي ونشاط الخصية في الأكباس العواسية. رسالة ماجستير ، كلية الزراعة والغابات - جامعة الموصل.

الناصري، عمر عادل محمد.2013 . إضافة بعض الأحماض الأمينة وتوليفاتها إلى مخفف Trisوأثرها في تحسين بعض صفات السائل المنوي المجمد لثيران الهولشتاين في العراق. رسالة ماجستير. كلية الزراعة - جامعة بغداد.

نون، محمود سعدي، طلال أنور عبد الكريم و خالد حساني سلطان. 2017. التأثير التآزري لبعض مضادات الأكسدة المضافة إلى مخفف Tris في النسبة المئوية لتشوهات النطف الكلية لثيران الهولشتاين بعد مدد مختلفة من الحفظ بالتبريد والتجميد. *مجلة الأنبار للعلوم الزراعية، 15: 455-466.*

OIivera, L.Z.; F.M.M. Ontirode; R.P. Arrudy, and E.C.C.Celeghini,.2013. The importance of semen quality in Al programs and advance in laboratory analyses for semen characteristics Lnsemiatio Quality of Semen and Diagnostics Employed. pp. 1-16.

Eidan, S. M. 2016. Effect on post-cryopreserved semen characteristics of Holstein bulls of adding combinations of vitamin C and either catalase or reduced glutathione to Tris extender. Anim. Reprod. Sci., 167: 1-7.

Amirat-Briand, L.; D. Bencharif, O. Vera-Munoz, H. BelHadj Ali, S. Destrumelle, S. Desherces, E. Schmidt, M. Anton, and D. Tainturier 2009. Effect of glutamine on post-thaw motility of bull spermatozoa after association with LDL (low density lipoproteins) extender: Preliminary results. Theriogenology 71 : 1209–1214.

Sikka, S.C. (1996). Oxidative stress and role of antioxidant in normal and abnormal sperm function. Frontiers in Bioscience, 1:78-86.

Sikka, S. C. (2004).Role of oxidative stress and antioxidants in andrology and assisted reproductive technology. *J. Androl., 25: 5-18.*

Hu, J.H., Tlan, W.Q., Zhao, X.L., Zan, L.S., Wang , H., Li, Q.W. and Xin, Y.P. (2010). The cryoprotective effects of ascorbic acid supplementation on bovine semen quality. *Anim. Reprod. Sci., 121: 72-77.*

Andrabi,S. M.; H. Anzar, M. S. N. Ullahand andM. Afzal . 2008.Effect of non-enzymatic antioxidants in extender on post-thaw quality of buffalo (*Bubalusbubalis*) bull spermatozoa. *Pak. Vet. J. 28: 159-162.*

Bucak, M. N.; P. B.uncer, S. Sarıozkan, N.Bas, M. Tas, K. Coyan, A. Bilgili, , P. P. Akalın, S.Buyukleblebici, S. Aydos, S. Ilgaz, A. Sungurog and D. Oztuna. 2010 a. Effects of antioxidants on post-thawed bovine sperm and oxidative stress parameters: Antioxidants protect DNA integrity against cryodamage. Cryobiology 61 : 248–253.

Lewin,A. and H. Lavon. 1997. The effect of coenzyme Q10 on sperm motility and function. Mol. Biotech., 18:213−219.

Aitken, R. J.; D. Buckingham, and D. Harkiss. 1993 .Use of a xanthine oxidase free radical generating system to investigate the cytotoxic effects of reactive oxygen species on human spermatozoa, *J. Reprod. Fertil. 97 : 441–450.*

Agarwal, A. and T. M. Said. 2004. Carnitines and male infertility. Reprod. Biomed. Online. 8: 376 – 384.

Bucak, M. N.; P. B.uncer, S. Sarıozkan, N.Bas, M. Tas, K. Coyan, A. Bilgili, , P. P. Akalın, S.Buyukleblebici, S. Aydos, S. Ilgaz, A. Sungurog and D. Oztuna. 2010 b. Effects of antioxidants on post-thawed bovine sperm and oxidative stress parameters: Antioxidants protect DNA integrity against cryodamage. Cryobiology 61: 248–253.

Anderson, M. E. and A. Meister.1983. Glutathione. Ann. Rev. Biochem. 52:711-760.

Bansal, A. K. and G. S. Bilaspuri. 2011.Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions: A review. Vet. Med. Int. 2011:1-7.

Munsi,M. N.; M. U. Bhuiyanm, S. Majumder and G. S. ALAmm. 2007.Effects of exogenous glutathione on the quality of chilled bull semen . Reprod. Domest. Anim. 42: 358–362.

Kim, S.; J.Kim, Y. Ko, E. Koo, H. Chung and C. Lee- Kim. 2003.Changes in lipid peroxidation and ontioxidant trace elements in serum of women with cervical intraepithelial neoplasia and invasive cancer. Nutr.Cancer, 47: 126-130.

Ansari, M. S.; N. Rakha S. M. H. AndrabiIqbal,S. Khalidand S. Akhter. 2010.Effect of exogenous glutathione in extender on the freezability of Nili-Ravi buffalo (*Bubalus bubalis*) bull spermatozoa. Animal Science Papers and Reports. 28: 235-244.

Kakhmonkulov, U.;. 1999.IzvestiyaAkademiiNaukRespubliki Tadzhikistan OtdelenieBiologicheskikh I MedittesinskikhNauk. 140 :10 –14.

Thaher, T. S.; K.Z. Matalka, H.A .Taha and A.A. Badwan. 2001. Ferula harmonis'' zallouh'' and enhancing erectile function in rats: efficacy and toxicity study. *Int J Impot Res.13:247– 251.*

Hilan ,Christo, RabiaSfeir, Rima El Hage, DalalJawich, Michel E. Frem, Katia Jawhar. 2007. Evaluation of the antibacterial activities of *Ferula hermonis*. Agricultural Research Institute of Lebanon, Fanar, Lebanon.

Gow-Chin Y.; and D. Pin –Der.1997.Antioxidative activity of three herbal water extracts food chemistry,60(4).639-645.

Boukri,N .H., 2014 - Contribution à l'étudephytochimique des extraitsbruts des épicescontenusdans le mélange Ras-el-hanout. Thème Master Academique. Université Kasdi Merbah Ouargla. pp.99.

Singleton, V.L.; J.A. Rossi 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. Am. *J. Enol.Viticult. 16: 144-158.*

Chavan, Y.; R.S. Singhal., .2013. Ultrasound-assisted extraction (UAE) of bioactives from arecanut (*Areca catechu L*.) and optimization study using response surface methodology. Innovative Food Science and Emerging Technologies 17: 106–113.

Doualdson, K.; V. Stone, CL. Tran; W. Kreyling and P.A. Borm. 2004.Nonotoxicology. Occup. Environ. Med., 61: 727-728.

Correa, J. R. and P. M. Zavos. 1994. The hypoosmotic swelling test: its employment as an assay to evaluate the functional integrity of the frozen-thawed bovine sperm membrane. Theriogenology, 42:351-360.

SAS. 2012. Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.

Duncan, D. B. (1955). Multiple Rang and Multiple F-test. Biometrics.11:1-24.

Hedaya, A.M.; and K.A. Salem. 2007. Evaluation of the clinical effect of zallouh extract (*Ferula hermonis*) on diabetic patients with erectile dysfunction. 18 (1):17-26

Ikeda, K.; Y. Arao and H .Otsuka. 2002. Terpenoids found in the Umbelliferae family act as agonists/antagonists for ERa and ERb: differential transcription activity between ferutinine liganded ER alpha; and ER beta. Biochem. Biophys. Res. Commun. 291: 354–360.

Lhuillier, A. N.; E.Fabre, F. Cheble, S. Oueida , , A. Maurel, I. Valentin, Fourasté and C. Moulis. 2005. Daucane sesquiterpenes from *Ferula hermonis*. *J. Nat. Prod., 68: 468-471.*

Zanoli, P.; M. Zavtti, M. Rivasi, F. Vezzalinif, M. Barald and F.Brusini. 2005. Activity of single components of *Ferula hermonis* on male rat sexual behavior University of Modena Science45:5-15.

Said O, K. Khalil , S. Fulder and H. Azaizeh ,.2002. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region. *J. Ethnopharmacol. 83: 251–265.*

Agarwal, A. and L. H. Sekhon. 2010.The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility. Hum. Fertil. 13: 217 – 255.

.