DOI: https://doi.org/10.54172/mjsc.v2i1.447

تأثير طبيعة البطانة الداخلية للمهبل الاصطناعي على حيوية نطاف الثيران

سليمان سلهب [1] س. ب. ميرلن [2]

الملخـــص

تمّ دراسة تأثير طبيعة قمع وبطانة (قطعة واحدة) المهبل الاصطناعي على حيوية نطاف الثيران وذلك خلال مراحل متتالية من مداولة وتصنيع السائل المنوي . جمعت /40/ قذفة من ثيران الهولشتاين باستخدام اقماع وبطانات مهابل اصطناعية بطول (69) سم (قطعة واحدة) ذات طبيعة بولي ايثيلينية (بلاستيكـية) وأخرى مطاطية (الشاهد : Control) ، الشائعة عالميا . مددّ السائل المنوي لكل قذفة بمحلول واقي من سترات الصوديوم الحاوي على 15% صفار البيض ، واضيف اليه محلول الغليسرول على اربع مراحل بحيث كان التركيز النهائي للغليسرول 8% . تركت عينات السائل المنوي الممدد الحاوي على الغليسرول لمدة ساعتين من أجل التوازن على درجة حرارة 5 °م . ثم ملئت العينات بقشات فرنسية (0.5 مل) وجمدت فوق بخار السائل الآزوتي وخزنت في السائل الآزوتي لمدة 24 ساعة . وفي اليوم الثاني تم إذابتها وذلك بحمام مائي حرارته 41 °م لمدة 15 ثانية .

أشارت نتائج التحليل الاحصائي الخاصة بالحركة التقدمية للنطاف والأخرى الخاصة بنسبة النطاف غير الملونة (الحية) بأن هناك فروقاً معنوية عالية وعلى مستوى ثقة 0.1% ($P<0.001$) مرتبطة بطبيعة بطانة الجمع . حيث كانت حيوية النطاف التي جمعت بالبطانة البلاستيكية بعد الإذابة 53.01% في حين تلك التي جمعت بالبطـانة المطاطيـة لم

1- استاذ مساعد في قسم الانتاج الحيواني ، كلية الزراعة جامعة دمشق – معار إلى جامعة عمر المختار – ليبيا .

2- استاذ في قسم الانتاج الحيواني كلية الزراعة ، جامعة ميزوري – الولايات المتحدة الامريكية .

© للمؤلف (المؤلفون)، يخضع هذا المقال لسياسة الوصول المفتوح ويتم توزيعه بموجب شروط ترخيص إسناد المشاع الإبداعي CC BY-NC 4.0

تتجاوز أكثر من 29.8% مما يشير إلى افضلية استخدام البطانة البلاستيكية على المطاطية اضافة إلى أن تكاليف تصنيعها تكون رخيصة جدا ، وتستخدم لمرة واحدة فقط ، مما يجنبنا مشاكل التلوثات التناسلية ، كما يمكن أن تصنع بأحجام تتناسب وحجم الثيران المستخدمة .

المقـــدمـــة

هناك اتفاق شبه عام بين العلماء يؤكد بأن المـواد المطاطيـة سامة للنطاف (Berg & Merilan , 1982 ; Beseth , 1962 ; Bontert , 1953) ولأجنة الأبقار (Bondioli & Holl , 1986) . على الرغم من ذلك ، مازال المطاط يستعمل وبشكل كامل كمادة رئيسية في صناعة أقماع وبطانات المهابل الاصطناعية المستخدمة لجمع السائل المنوى من الحيوانات الزراعية .

إن التغير في مواصفات السائل المنوى للثيران ، وعدد النطاف عزى إلى عدة عوامل مثل خشونة سطح بطانات الجمع (Foote & Heath , 1963 ; Morshall & Hafs , 1972) وإلى الاثارة الجنسية للحيوان (Collns et al., 1951) وإلى عوامل أخرى يقصد بها محاكاة ظروف المهبل الطبيعى نفسه ، مثل درجة حرارة مهبل الجمع ، والضغط في داخله وطبيعة وكمية المواد المزلقة (Hafez , 1980) .

جرت محاولات عديدة لحل المشاكل المتعلقة بجمع السائل المنوى ، تضمنت استخدام انابيب بلاستيكية واقماع جمع منفصلة لتجنب التلوثات التناسلية الممكن انتقالها أثناء الاستخدام المتكرر للبطانات المطاطية (Kordts,1956) ، وتقصير طول المهبل الاصطناعى (Saacke,1978) وتغطية بطانة الجمع بالسليكون (Foote & Heath, 1963) أو التيفلون (Berg & Merilan ,1982) . وتمّ تصنيع القمع والبطانة الداخلية للمهبل كقطعة واحدة من اجل زيادة فعالية عملية الجمع (Flick & Merilan , 1984) .

والهدف من هذا البحث هو دراسة تأثير طبيعة بطانة الجمع (بلاستيكية مقارنة

مع المطاطية) على حيوية نطاف الثيران خلال كل مرحلة من مراحل مداولة وتصنيع السائل المنوى .

المواد وطرائق البحث

جمعت /40/ قذفة منوية من ثورين هولشتاين بالغين - يتبعان لمزرعة فورموست بجامعة ميزورى بالولايات المتحدة الامريكية - وسمح لكل ثور بقذفة كاذبة قبل الجمع بهدف إثارته جنسياً ، ثم جمعت القذفه الاولى والثانية مرتين في الاسبوع من كل ثور مستخدمين البطانة البولى ايثيلينية (البلاستيكية) والمطاطية بصورة متبادلة ومتتالية ولم تستخدم مواد مزلقة أثناء الجمع .

غلف المهبل الاصطناعى وبطانات الجمع مع الاقماع بجاكيت يزيد طولها 15 سم عن طول المهبل الاصطناعى . صنعت البطانات البولي ايثيلينية مع اقماع الجمع (كقطعة واحدة) من بلاستيك سمكه 0.15 مم باستخدام طريقة اللحم الكهربائى بحيث كان طولها وشكلها مماثل لطول وشكل البطانات المطاطية الشائعة الاستعمال عالميا . كانت كافة الأدوات المستخدمة في التجربة تغسل بمواد صابونية غير فوسفاتية وتشطف خمس مرات بالماء المقطر ثم تجفف هوائياً .

اعتبرت الحركة التقدمية للنطاف ونسبة النطاف غير الملونة (الحية) - وفقا لطريقة التلوين المتمايز (Saacke , 1978) المقاييس الحيوية لتقويم حيوية السائل المنوى عند كل مداولة وتصنيع للعينات . أن القذفة الحاوية على حركة تقدمية 2 أو أكثر على مقياس تدريجى يتراوح من صفر إلى 5 اعتبرت صالحة في هذه التجربة .

ومدد السائل المنوى بعد نصف ساعة بمحلول سترات الصوديوم 2.94% الذى يحتوى على 15% صفار البيض بنسبة 1 سائل منوى : 4 محلول ممدد عند درجات 37°م وعدلت درجة حموضة المحلول الممدد بواسطة HCl لتكون 6.8 ، كما عدل ضغطه الحلولى Osmotic pressure بماء مقطر ليتراوح ما بين 310- 325 ميلليوء زمول ثم تركت العينات

على درجة حرارة الغرفة لمدة نصف ساعة ونقلت مباشرة إلى الثلاجة لتبقى هناك لمدة ساعتين بهدف وصول درجة حرارتها إلى 5°م . واضيف اليها محلول الغليسرول الحاوى على 16% غليسرول وذلك على أربع مراحل وبفاصل زمنى قدره 15 دقيقة بحيث كان التركيز النهائى للغليسرول في العينات الممددة والمبردة 8% اذ كانت تحسب كمية الغليسرول الواجب اضافتها في كل مرحلة تجنباً لاحداث أى اجهاد حلولى Osmotic Stress . وتركت العينات من أجل التوازن في الثلاجة لمدة ساعتين ، ثم ملئت بقشات فرنسية (0.5 مل) وجمدت فوق بخار السائل الآزوتى وخزنت في السائل الآزوتى لمدة 24 ساعة . وفي اليوم الثانى أذيبت كافة العينات في حمام مائى درجة حرارتة 41°م لمدة 15 ثانية .

وقدرت نسبة الحركة التقدمية للنطاف على شاشة التلفزيون وعند درجة حرارة 35°م . انجزت عملية التلوين المتمايز باستخدام صبغة الايوسين والخضراء السريعة FCF (Herman & Modden , 1987) وحللت النتائج احصائياً باستخدام الموديل الاحصائى (SAS) المبرمج على الحاسوب IBM (SAS , 1982) .

النتائج

ان متوسطات نتائج الحركة التقدمية للنطاف والتى جمعت بالبطانات البلاستيكية والمطاطية وخلال مراحل متتالية من مداولة السائل المنوى موضحة في الجدول 1 ، والذى يبين وجود فروق معنوية عالية مرتبطة بطبيعة القميص الداخلى للمهبل الاصطناعى . تشير هذه النتائج بأنه على الرغم من أن الحركة التقدمية للنطاف والتى جمعت بالبطانة البلاستيكية كانت تقل بصورة غير معنويه وقت الجمع لكن قدرتها على البقاء حية وبالتالى قدرتها على اظهار حركة تقدمية أصبحت أكبر وبصورة أفضل تجاه كل عملية مداولة تقدمية . وأصبحت هذه الفروق في الحركة التقدمية واضحة وبشكل كبير ، وذات فرق معنوى عالى ($P<0.001$) ابان اضافة الغليسرول وقبل عملية التجميد وبعد الاذابة وذلك

جدول 1 . تأثير تركيب قميص الجمع على حركة نطاف الثيران خلال المراحل المتتالية من مداولة السائل المنوى .

مراحل المداولة	نسبة الحركة التقدمية (المتوسط ± الانحراف القياسى)		LSD[a]0.001
	نوع القمصان		
	مطاطى	بلاستيكى	
الجمع Collection	69.0 ± 15.8	68.3 ± 14.6	6.3
التمديد Dilution	60.8 ± 15.8	63.8 ± 14.8	6.3
اضافة الغليسرول Glycerolization	44.0 ± 14.8	54.3 ± 13.8	6.02
ماقبل التجميد Prefreezing	35.8 ± 14.8	48.9 ± 14.4	6.08
مابعد الاذابة Post thawing	16.6 ± 10.6	34.6 ± 7.2	4.79

a : أقل فرق معنوى على مستوى ثقه 0.1% .

عند مقارنتها بالتى جمعت بالبطانة المطاطية .

إن نسبة النطاف المحتفظة بقدرتها على الحركة موضحة في الجدول 2 وفيه نلاحظ بأن 93.41% من النطاف التى جمعت بالقمصان البلاستيكية أظهرت قدرة على البقاء وحركة تقدمية بعد عملية التمديد ، في حين 88.12% فقط من النطاف التى جمعت بالقميص المطاطى ظلت قادرة على الحركة بعد التمديد ، هذا الفرق في نسبة الانتعاش بين النطاف التى جمعت بالبطانات البلاستيكية والمطاطية بدأ يصبح واضحاً وبصورة أكبر مع تقدم عمليات المداولة والتصنيع . فنرى أن أكثر من 50% من النطاف التى جمعت بالبطانات البلاستيكية ظلت محتفظة بنشاطها وحيويتها بعد الاذابة في حين 25.1% فقط من النطاف التى جمعت بالبطانات المطاطية ظلت مظهرة حركة تقدمية .

جدول 2 : تأثير تركيب قميص الجمع على التغير النسبى في حركة نطاف الثيران خلال المراحل المتتالية من مداولة السائل المنوى .

مراحل المداولة	قدرة النطاف على الاحتفاظ بحركتها التقدمية * نوع القمصان	
	مطاطى	بلاستيكى
	%	%
التمديد Dilution	88.12	93.11
إضافة الغليسرول Glycerolization	72.37	85.11
ما قبل التجميد Prefreezing	81.36	90.10
ما بعد الاذابة Post Thawing	46.36	70.75
الانتعاش	25.10	50.66

* قدرة النطاف على الاحتفاظ بحركتها التقدمية = $\frac{\text{الحركة التقدمية خلال المرحلة اللاحقة}}{\text{الحركة التقدمية خلال المرحلة السابقة}} \times 100$

يوضح الجدولان 3 و 4 ، تأثير تركيب قميص الجمع على متوسط نسبة النطاف غير الملونه (الحية) وعلى التغير النسبى لها على التوالى خلال المراحل المتتالية من مداولة السائل المنوى . ومن الواضح هنا وجود فروق معنوية عالية مرتبطة أيضاً بطبيعة قمصان الجمع ، وأظهرت هذه النتائج سلوكا مماثلاً لتلك الخاصة بنسبة الحركة التقدمية للنطاف ودعمت الاستنتاج النهائى والمفيد بان نطاف السائل المنوى الذى جمع بالأقماع والقمصان

جدول 3 : تأثير تركيب قميص الجمع على متوسط نسبة النطاف غير الملونة (الحية) خلال المراحل المتتالية من مداولة السائل المنوى .

مراحل المداولة	متوسط نسبة النطاف الحية نوع القمصان		LSD 0.001
	مطاطى b	بلاستيكى a	
الجمع	75.1 ± 14.9	76.4 ± 15.3	6.2
التمديد	68.5 ± 15.3	70.4 ± 14.1	6.2
إضافة الغليسرول	48.2 ± 18.8	60.9 ± 14.5	6.6
ما قبل التجميد	43.6 ± 14.3	54.7 ± 14.8	6.02
ما بعد الاذابة	22.4 ± 10.1	40.5 ± 12.4	5.4

a : متوسط عدد النطاف ± الانحراف المعيارى عندما جمعت بالقمصان البلاستيكية

b : متوسط عدد النطاف الحية ± الانحراف المعيارى عندما جمعت بالقمصان المطاطية .

البلاستيكية كانت لديها القدرة على البقاء وأظهرت حيوية عالية مقارنة مع تلك التى جمعت بالبطانات المطاطية .

المناقشـــــة

بالاعتماد على النتائج الممثلة بالجدول 1 نرى بأن كلا من الحركة التقدمية للنطاف ونسبة الخلايا الحية التى جمعت من الثيران بواسطة قمصان جمع بلاستيكية كانت أفضل ($P<0.001$) من تلك التى جمعت من الثيران بواسطة قمصان مطاطية . فالتـفوق النسبى

جدول 4 : تاثير تركيب قميص الجمع على التغير النسبى في عدد النطاف الحية خلال المراحل المتتالية من مداولة السائل المنوى .

مراحل المداولة	نسبة النطاف المحتفظة بقدرتها على البقاء سليمه * نوع القمصان	
	مطاطى	بلاستيكى
	%	%
التمديد	91.21	92.15
إضافة الغليسرول	70.36	86.50
ما قبل التجميد	90.45	89.82
ما بعد الاذابة	51.38	74.04
الانتعاش	29.83	53.01

* النطاف الحية المحتفظة بقدرتها على البقاء سليمة = $\frac{\text{النطاف المتبقية سليمة في المرحلة اللاحقة}}{\text{النطاف المتبقية سليمة في المرحلة السابقة}} \times 100$

لحركة النطاف التى جمعت بالقمصان البلاستيكية كانت واضحة ومتزايدة بعد كل مرحلة من مراحل تصنيع السائل المنوى المتتاليـة ، وهـذا بالطبـع يمكـن ملاحظتـه بسهولة عن طريق ايجاد علاقة بين حركة النطاف التى جمعت بالقمصـان المطاطيـة مع تلك التى جمعت بالقمصان البلاستيكية ، فمثلاً بعد عملية التمديد كانت هذه النسـبة 0.953 (60.8 / 63.8) وبعد إضافة الغليسرول تناقصت هذه العلاقة لتصبح 0.81 وبعد ذلك إلى 0.73 خلال مرحلة ماقبل التجميد وفي النهاية تناقصت إلى 0.48 بعد عملية الاذابة ، بمعنى آخر ، كانت نسبة النطاف التى جمعت بالقمصان البلاستيكية والمحتفظة بقدرتها

على البقاء واظهرت حركة تقدمية أكثر من ضعف تلك التى جمعت بالقمصان المطاطية . وهذا واضح من الجدول 2 حيث أن 50.6% من النطـاف التى جمعـت بالقمصـان البلاستيكية مازالت حيوية وقادرة على الحركة التقدمية في حين 25.1% فقط من النطاف التى جمعت بالقمصان المطاطية أظهرت حركة تقدمية عند انتهاء عمليات الاذابة .

وظهرت نفس النزعة والسلوكية عندما اعتمد على نسبة الخلايا غير الملونة (الحية) كمقياس حيوى لتقدير حيوية ودرجة انتعاش النطاف خلال مراحـل التصنيـع المتتـالية ، (الجدولان 3 و 4) لهذا فمن الواضح بان ظروف البيئة الداخلية (الصغرى) التى تعرضت لها النطاف خلال عمليات الجمع قد استمرت في تأثيرها أثناء مراحل التصنيع اللاحقة . تتوافق هذه النتائج مع ما ذكره Kordts (1956) والمتضمن قدرة النطاف التى جمعت بالقمصان البلاستيكية على مقاومة ظروف التخزين بدون تجميد أكثر من تلك التى جمعت بالقمصان المطاطية . وهذا التفوق يمكن نسبه إلى عوامل أخرى ليس لها علاقة مع خشونة سطح بطانات الجمع الداخلية كما وردت في عدة تقارير (Berg & Merilan , 1982 ; Foote & Heath , 1963 ; Marshal & Hafs , 1972) مثل عامل السمية المرفق مع المواد المطاطية والمؤثر على حيوية النطاف (Beeth , 1962) وعلى اجنة الابقار (Bondioli & Holl , 1986) . إن عامل السمية هذا غير معروف حتى الآن ، مما يفتح باب البحث لتحديده ومعرفته ، ويمكن القول بأن استخدام البطانات البلاستيكيـة تسمح لنا بتجنـب عامل السمية (Bontert , 1953 ; Gotze et al., 1953 ; Paluck et al., 1980) كما أنه من وجهة نظر اقتصادية يكون رخيص جداً ، ويستخدم لمرة واحدة لهذا يمكن أن يجنبنا مشاكل التلوثات التناسلية ، ويمكن صناعته بحجم يتناسب وحجم الثور المستخدم ، هذا بالإضافة إلى توفير الوقت والجهد اللازمين لعملية غسيل وتجفيف البطانات المطاطية عند استخدامها المتكرر .

وبناء على هذه النتائج فإن عديداً من الخصائص الفسيولوجية الخاصة بنطاف الثيران التى جمعت بالقمصان المطاطية التى ذكرت في المراجع العلمية يجب اعادة النظر فيها وتقويمها من جديد .

The Effect of Liner Composition of Artificial Vagina on The Survival of Bovine Spermatozoa

S. A Salhab & C. P. Merilan

Abstract

The Effect of liner- collection cone (One Piece) composition upon survival of bovine spermatozoa was studied in this paper. 40 ejaculates of semen were collected from mature Holstein - bulls using polyethylene or rubber liners collection cones (One- Piese , 69 cm) .

Each ejaculate was extended in sodium citrate buffer extender containing 15% egg - Yolk . Glycerol solution was added in four steps to give a final glyceral concentration of 8% . The extended semen samples were then equilibrated at $5^{o}C$ for 2 h, packaged in 0.5 ml French straws and frozen by suspending the straws 5 cm above liquid nitrogen. Frozen samples were stored for 24 hs in liquid nitrogen and thawed at 41^{o} C . for 15 seconds.

Analysis of variance findings for progressive motility and unstained bovine spermatozoa show highly significant differences ($P<0.001$) associated with the composition of linercollection cones used. The post thaw survival rate of sperms was 53.01% in polyethylene liner-collection cones; whereas, not more than 29.8% of the sperms survived when they had been collected in rubber liner-collection cones.

This superiority encourages us to use polyethylene linercollection cones rather than the rubber ones , especially if we know that the manufacturing of plastic liners is very cheap and they can be made in sizes suit different sizes of bulls used

المـراجـــع

Berg, B. W. and Merilan, C. P. Spermatozoa losses with modified artifical vagina liners. J. Anim. Sci. 55 (Suppl.1) : 100 abstr. (1982) .

Beseth, L. Biological testing of the toxicity of rubber used in artificial vaginas with boar semen. Nord. Vet. Med. 14 : 689 - 701 (1962) .

Bondioli , K. R. and Holl. K, G. The effect of exposing media to syringes on the viability of bovine embryos. Theriogenology 25 : 142

abstr . (1986) .
Bontert, A. Untersuchungen Uber dier Eignung verschiedener Verschlusse von Samentransortgllaschen . Dtsch. Tierarztl. Wschi . CO (Beilage Fortpfl. Besam. Haustiere) : 11 - 12 (1953) .
Collins , W. J; Bratton, R. W. and Hendrson, C. R. The relationship of semen production to sexual excitement of dairybulls. J. Dairy Sci. 34 : 224 - 227 (1951) .
Flick D. L. and Merilan, C. P. Toxicity evaluation with bovine spermatozoa. J.Anim. Sci. 59 (Suppl , 1) : 310 abstr. (1984) .
Foote, R. H. and Heath, A. Effect of sperm losses on semen collection equipment on estimated sperm output by bulls. J. Dairy Sci. 46 : 242 - 244 (1963) .
Gotze ;R., Aehnelt, E. and Rath , G. Anweisungen zur Gewinnung , Verdunnung, Aufbewahrung und zum Transport des Bullenspermas. Dtsch. Tierarztl. Wschr. 60 (Beilage Fortpfl. Besam. Haustiere) : 33 - 78 (1953) .
Hafez, E. S. E. Reproduction in Farm Animals. Lea and febiger , Philadelphia , pp 525 - 527 (1980) .
Herman , H. A. and Modden . F. W. The Artificial Insemination and Embryo Transfer of Dairy and Beef Cattle . Interstate Printers and Pub. Danville, IL, pp. 65 - 67 (1987) .
Kordts, E. New model of artificial vagina made of plastic . III Int. Conger. Anim . Reprod., Cambridge , pp 91 - 92 (1956) .
Marshall, C. E. and Hafs, H. D. Sperm Losses on artificial vagina liners . Proc. 4th Tech. Conf. on A. I. and Reprod . Chicago , pp. 19 - 21 (1972) .
Paluch, D., Borjemska- Szymonowicz, M. and Olsezewska- Blach, Z. In Vitro screening studies of the toxicological testing of synthetic biomaterials. Polymers In Medicine 10 : 193 - 202 (1980) .
Saacke, R. G. Factors affecting spermatozoa viability from collection to use . Proc. 7th tech. Art. Insem. and Reprod. Nat. Assoc. Anim. Breeders, pp 3 - 9 (1978) .
SAS User's Guide Statistics : Statistical Analysis System Institute , Inc., Cary, NC , 1982 .