جامعة الموصل

كلية الطب البيطري

تأثير إضافة مختلف الأحماض الأمينية على كفاءة الحيوانات المنوية البربخية والإخصاب خارج الرحم في الأغنام

(دراسة مقارنة)

بسام إدريس محمود النعيمي

رسالة ماجستير

الطب البيطري / التوليد البيطري

بإشراف

الأستاذ المساعد

عدي طلعت نعمان

١٤٤٥هـ ٢٠٢٣م

الخلاصة

هدفت الدراسة لتحديد تأثير الأحماض الأمينية الألنين، الأرجنين والمثيونين عند إضافتها للحيوانات المنوية المستحصلة من بربخ الكباش العواسية بعد الذبح وحفظها بالتبريد بدرجة ٤م°. فضلا عن دراسة تأثير هذه الأحماض الأمينية على عملية إنضاج البويضات والإخصاب خارج الرحم.

جمعت العينات (الخصى والمبايض) من مجزرة السعدون النموذجية في محافظة نينوى ونقلت في صندوق مبرد بعد غسلها بمحلول ملحي (Normal saline) ومضادات حيوية (بنسلين-ستريبتوميسين) في غضون ساعتين بعد الذبح حتى الوصول إلى المختبر.

في التجربة الأولى تم إضافة ثلاثة أحماض أمينية هي الألنين، الأرجنين والمثيونين إلى الحيوانات المنوية المستحصلة من بربخ الأغنام بعد الذبح ومقارنة الأفضل منها. جمعت (٢٥ خصية) ووضعت في طبق بتري معقم وتم عزل ذيل البربخ بوساطة مقص معقم ووضعه في طبق منفرد ثم جمع السائل المنوي البربخي بوساطة طريقة التقطيع الكامل للبربخ. قسمت العينات إلى أربعة مجاميع، المجموعة الأولى أضيف اليها الميثونين (0.2 mM). المجموعة الثانية أضيف لها الأرجنين (0.4 mM). المجموعة الثالثة أضيف لها الألنين (15 mM)، وتركت المجموعة الاخيرة كمجموعة سيطرة. حفظت بعدها عينات كل مجموعة في أنبوبة اختبار ووضعت في الثلاجة وتم تقييم الحركة الفردية، ونسبة الحيوانات المنوية الحية ونسبة الحيوانات المنوية المشوهة عند ٢٤-٧٢ ساعة من الحفظ.

أظهرت النتائج بعد ٢٤-٧٢ ساعة من التخزين، أن هناك تحسن في نتائج مجموعة الميثيونين بشكل ملحوظ $p < 0.05$ في نسبة الحركة الفردية للحيوانات المنوية والتي كانت (72.6±2.9، 57.5±3.2) على التوالي، وكانت النسبة المئوية الحية للحيوانات المنوية الحية هي (73.6±2.3، 53.2±2.8) على التوالي، الحيوانات المنوية المشوهة (3.0±0.1، 7.2±0.1) على التوالي دون تسجيل فروقات معنوية بينهما.

كانت البيانات المسجلة لخصائص الحيوانات المنوية بعد إضافة المثيونين بارزة على قيم الحيوانات المنوية التي تم تسجيلها بعد إضافة الأرجنين والألنين. كان للميثيونين تأثير متفوق على خصائص الحيوانات المنوية البربخية بعد التخزين عند ٤ درجة مئوية لمدة ٧٢ ساعة. تحسنت صفات الحيوانات المنوية البربخية في المجاميع المضاف لها الأرجنين والألنين عند مقارنتها ببيانات بمجموعة السيطرة.

في التجربة الثانية تم دراسة تأثيراضافة الأحماض الأمينية الألنين، الأرجنين والمثيونين على عملية انتاج الأجنة داخل المختبر، استخدم في هذه التجربة ١٠٠ مبيض ناضج لأغنام عواسية. جمعت بعد ذلك ٨٠ بويضة وقسمت إلى أربع مجموعات ٢٠ بويضة لكل مجموعة ثم أضيف الحامض الأميني المحدد لكل مجموعة بواقع ثلاث مجموعات (لكل مجموعة حامض اميني) وتركت المجموعة الرابعة كمجموعة سيطرة بدون اضافة. تمت عمليات الإنضاج والتلقيح في مختبر (أطفال الأنابيب) التابع لمستشفى (سوران) في محافظة اربيل للفترة من ٢٠٢٢/٩/١ ولغاية ٢٠٢٣/٥/١.

أظهرت نتائج هذه التجربة تسجيل مجموعة الحامض الأميني الأرجنين أعلى نسبة اخصاب متحصلة (87.5%). اعتمادا على تقييم الأجنة عند الحفظ في حاضنة ثاني أوكسيد الكاربون بعد ١٢٠ ساعة من الإخصاب. يليه الحامض الأميني الميثونين واخيرا مجموعة السيطرة حيث كانت نتائجها (85.7%، 66.6%) على التوالي. ولم تسجل فروق معنوية بين المجاميع باستثناء المجموعة المضاف لها الحامض الأميني الألنين التي لم تحدث فيها عملية الإخصاب بسب تنكس البويضات عند عملية الإنضاج والذي سجلت نتائجه أقل المعطيات مقارنة بالمجاميع الثلاثة البقية.

يستنتج من الدراسة الحالية أن الميثونين كان أفضل الأحماض الأمينية الثلاثة في تحسين قابلية النطف على الحفظ، وان الأرجنين كان أفضل الأحماض الأمينية الثلاثة في تحسين إنضاج البويضات وانتاج الأجنة في المختبر عند ١٢٠ ساعة من الحضن.

University of Mosul
College of veterinary medicine

Effect of supplementation of various amino acids on epididymal sperm efficiency and in vitro fertilization in sheep

(A comparative study)

Bassam Edrees Mahmood

M.Sc. / Thesis
Veterinary Medicine / Veterinary Obstetric

Supervised by
Assistant Professor
Uday Talat Naoman

2023 A.D. **1445 A.H.**

Abstract

The study aimed to determine the effect of the amino acids alanine, arginine and methionine when they were added to the sperms obtained from the epididymis of Awassi rams after slaughter and cryopreservation at 4 °C. As well as studying the effect of these amino acids on the process of egg maturation and In vitro fertilization.

Samples (testes and ovaries) were collected from the typical Saadoun abattoir in Nineveh province and transported in a refrigerated box after washing with normal saline and antibiotics (Penicillin-Streptomycin) within two hours after slaughter until reaching the laboratory.

In the first experiment, three amino acids, alanine, arginine, and methionine, were added to the semen obtained from the epididymis of sheep after slaughter, and the best ones were compared. (n=25) were collected and placed in a sterile Petri dish. The tail of the epididymis was isolated using sterile scissors and placed in a separate dish. Then, the epididymal semen was collected by the method of complete cutting of the epididymis. The samples were divided into four groups, to which methionine (0.2 mM) was added to the first group. The second group added arginine (0.4 mM). The third group was added to alanine (15 mM), and the last group was left as a control group. After that, the samples of each group were kept in a test tube and placed in the refrigerator, and the individual motility, the percentage of live sperm, and the percentage of deformed sperm were evaluated at 24-72 hours of preservation.

The results showed that after 24-72 hours of storage, there was a significant improvement in the results of the methionine group ($p < 0.05$) in the percentage of individual sperm motility, which were (72.6 ± 2.9, 57.5 ± 3.2), respectively, and the percentage of live sperms was

(72.6 ± 2.9), respectively. (73.6 ± 2.3, 53.2 ± 2.8), respectively, and deformed sperm (3.0 ± 0.1, 7.2 ± 0.1), respectively, without significant differences between them.

The data recorded for the characteristics of the sperms after adding methionine was prominent over the values of the sperms recorded after adding arginine and alanine. Methionine had a superior effect on epididymal sperm properties after storage at 4 °C for 72 hours. Epididymal sperm characteristics improved in groups supplemented with arginine and alanine when compared with data in the control group.

In the second experiment, the effect of adding the amino acids alanine, arginine and methionine on the process of producing embryos in the laboratory was studied. In this experiment, 100 mature ovaries of Awassi sheep were used. After that, 80 eggs were collected and divided into four groups, 20 eggs per group, then the specific amino acid was added to each group by three groups (for each group of amino acids), and the fourth group was left as a control group without addition. The ripening and insemination processes took place in the IVF laboratory of (Soran) Hospital in Erbil Governorate, from 1/9/2022 to 1/5/2023.

The results of this experiment showed that the amino acid group, arginine, had the highest fertilization rate (87.5%). Depending on the evaluation of embryos when kept in a carbon dioxide incubator after 120 hours of fertilization. It was followed by the amino acid methionine, and finally the control group, where the results were (85.7%, 66.6%), respectively. No significant differences were recorded between the groups, with the exception of the group that added the amino acid alanine, in which the fertilization process did not occur due to the degeneration of the eggs during the ripening process, and whose results recorded the least

data compared to the remaining three group. It is concluded from the current study that methionine was the best of the three amino acids in improving the ability of sperm to preserve, and that arginine was the best of the three amino acids in improving the maturation of eggs and the production of embryos in the laboratory after 120 h. of incubation.