تحضير السائل المنوي وحفظه
Semen preparation for preservation

المحاضرة السابعة

الجزء العملي

د. اسامة انور سعيد

قسم الانتاج الحيواني - جامعة الانبار

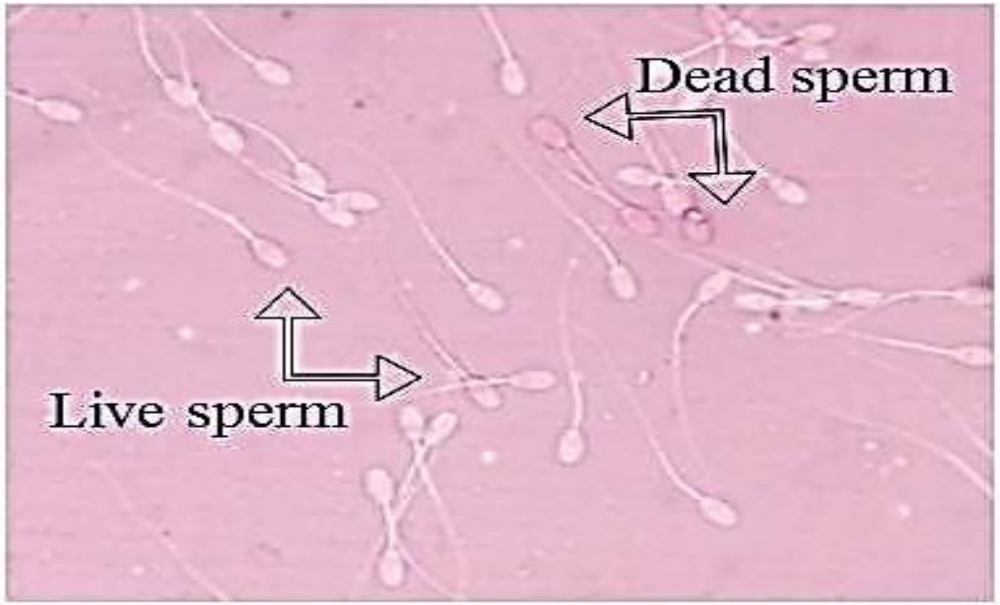
اهداف المحاضرة:

في نهاية المحاضرة سوف يتعلم الطلبة:

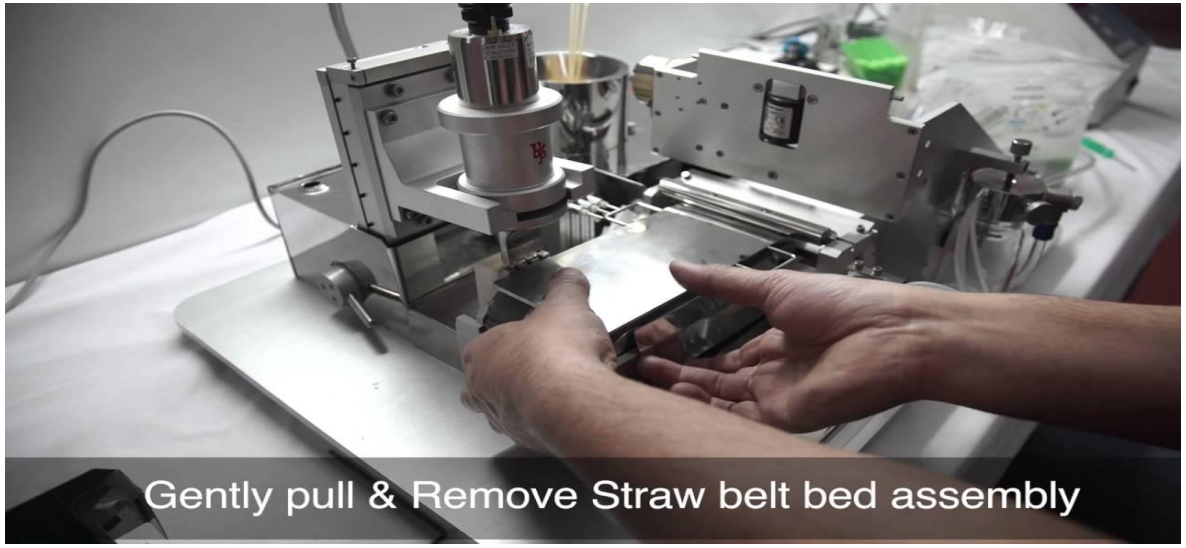
- كيفية تحضير السائل المنوي للحفظ.
- معرفة طرق فحص السائل المنوي المجمد.
- تقييم السائل المنوي المجمد.

- ❖ يتم وضع عينة السائل المنوي بعد جمعها في حمام مائي على درجة حرارة ٣٠-٣٤ مئوية وبعد نقلها الى المختبر يتم فحصها مجهريًا تحت مستوى طاقة منخفضة المتمثلة بالحركة الكلية للحيامن.
- ❖ تستخدم صبغة Eosin Nigrosin لتصبيغ الحيامن وبالتالي يسهل دراستها مورفولوجيا morphological examination.
- ❖ يستخدم جهاز مطياف الضوء الالكتروني (IMV electronic photometer) في قياس تركيز الحيامن.
- ❖ عند درجة ٣٠ م، يخفف السائل المنوي إلى ٥٠٪ من الحجم النهائي باستخدام ٣٪ من مخفف الكلسرين.
- ❖ يتم نقل السائل المنوي إلى الثلاجة عند درجة حرارة ٥ مئوية ويسمح لها بالتبريد والاستقرار لمدة ٣٠ دقيقة تقريبًا.
- ❖ السائل المنوي المخفف يمكنه الثبات لمدة ساعتين وعدم تغيره بالمؤثرات الخارجية عند درجة حرارة ٥ مئوي.

IMV electronic photometer



EOSIN NIGROSIN for sperm morphological examination



Automatic filling machine

- ❖ يتم سحب السائل المنوي لداخل القشة straw بواسطة آلة تعبئة أوتوماتيكية ويتم وبعدها وضع مانع للتسرب.
- ❖ يتم فحص السائل المنوي للحركة الفردية بينما يتم الاحتفاظ بالقشة عند درجة حرارة ٥ مئوية لساعتين أخرى.
- ❖بعد ٤ ساعات على الأقل ، تكون القشة جاهزة للتجميد
- ❖إحدى الطريقتين:

١. الطريقة الأفقية Horizontal method

١. الطريقة العمودية Vertical method

١. الطريقة الأفقية : -

- ❖ يتم وضع القشة أفقياً من ثم يتم تجميدها في فوق سائل النيتروجين (٤ سم فوق مستوى سائل النايتروجين) عند -١٢٠ الى - ١٣٠ درجة مئوية لمدة ٩ دقائق.
- ❖ تنقل القشة إلى حاوية النيتروجين السائل (-١٩٦ درجة مئوية) بعد تقييم الحركة و معدل الاسترداد.

٢. الطريقة العمودية: -

- ❖ توضع القشة عموديا فوق مستوى بخار النيتروجين السائل (٠,٥ سم) عند -١٢٠ إلى ١٣٠ درجة مئوية لمدة ١٨ دقيقة.
- ❖ تنقل القشة إلى وعاء يحتوي على نيتروجين سائل عند -١٩٦ درجة مئوية وبعد ذلك يتم فحص حركة التجميد وتقييم معدل الاسترداد.

تعبئة السائل المنوي بثلاث طرق (Packaging)

١. أمبولات زجاجية من ٠,٥ إلى ١ مل من السائل المنوي.
٢. قشة Glyvinyl chloride من ٠,٢٥ إلى ٠,٥ مل من السائل المنوي.
٣. Pelleted semen حوالي ٠,١ مل.

التجميد (Freezing)

يجميد السائل المنوي المعبأ بالطرق التالية:

١. التجميد الميكانيكي Mechanical freezing
٢. الثلج الجاف Dry ice
٣. الهواء السائل Liquid air
٤. الأوكسجين السائل Liquid oxygen
٥. النايتروجين السائل Liquid nitrogen

التخزين (Storage)

يخزن السائل المنوي المجمد عند درجة حرارة -١٩٦ درجة مئوية في النايتروجين السائل ليسهل نقله من مكان الى اخر.

تقييم خصوبة السائل المنوي بعد الذوبان

❖ وجد ان الاختلافات في عدد التلقيحات اللازمة للوصول الى الاخصاب في مختلف مراحل انتاج الحليب يعود الى نوعية السائل المنوي المجمد.

طرق فحص نوعية السائل المنوي المخفف أو المجمد: -

- طريقة المختبر: -

١) الحركة Motility

٢) الشكل المظهري للحيامن Sperm morphology

٣) اختبار Sephadex filter

٤) استخدام Glutamic oxaloacetic transminase (GOT) لقياس مقدار الضرر في الغشاء المنوية أثناء الحفظ.

٥) القدرة على المعيشة عند ٣٧ درجة مئوي

- الحقل - الاخصاب هو المحدد الدقيق الوحيد لجودة السائل المنوي المجمد.

الفوائد

- ❖ يمكن تخفيف السائل المنوي الذي يتم جمعه وتمديده لإنتاج مئات الجرعات من القذفة الواحد.
- ❖ يمكن تخزين السائل المنوي لفترات طويلة ، وهذا يعني أن الذكور يمكن أن ينتجوا ابناء بعد نهاية حياتهم التناسلية.
- ❖ تسمح عملية الجمع بفحص عوامل المرض.
- ❖ فحص السائل المنوي الذي يتم جمعه بشكل روتيني للتأكد من جودته ، مما قد يساعد في تجنب المشاكل المرتبطة بالعقم في الذكور.
- ❖ سهولة النقل للبلازما الجرثومية الجيدة في شكل سائل منوي مجمد.

تحضير وخزن السائل لمنوي المجمد

Milk yolk glycerol (MYG)	Milk	75 ml
	Egg yolk	20 ml
	Glycerol	5 ml
	Penicillin G	1000 I.U. / ml
	Streptomycin	1 mg / ml
Lactose yolk glycerol (LYG)	11% lactose solution	75 ml
	Egg yolk	20 ml
	Glycerol	5 ml
	Penicillin G	1000 I.U. / ml
	Streptomycin	1 mg / ml
Lactose fructose yolk glycerol (LFGY)	11% lactose solution	56.25 ml
	6 % fructose solution	18.75 ml
	Glycerol	5 ml
	Penicillin G	1000 I.U. / ml
	Streptomycin	1mg / ml
	Egg yolk	20 ml
Glucose yolk citrate glycerol (GYCG)	Distil water	100 ml
	Glucose	58 mg
	Sodium citrate	5 g
	Egg yolk	20 ml
	Glycerol	5 ml
	Penicillin G	1000 I.U. / ml
	Streptomycin	1 mg / ml

Tris citrate fructose	Tris	3.028 gm
	Citric acid	1.675 gm
	fructose	1.250 gm
	Egg yolk	20 ml
	Glycerol	7 ml
	Penicillin G sodium	1 lac unit
	Dihydrostreptomycintreptomycin	10 mg
	Distill water	80 ml

- عدد طرق خزن السائل المنوي المجمد؟
- ماهي الفحوصات المختبرية للسائل المنوي؟
- اذكر الفوائد الخاصة بتخفيف وحفظ السائل المنوي؟

المصادر

- Sejrsen, K., Hvelplund, T., & Nielsen, M. O. (Eds.). (2006). *Ruminant physiology: digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress*. Wageningen Academic Publishers.
- Salisbury, G. W., VanDemark, N. L., & Lodge, J. R. (1978). *Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle* (No. Ed. 2). WH Freeman and Company..
- Tomar, N. S. (1970). Artificial insemination and reproduction of cattle and buffaloes. *Artificial insemination and reproduction of cattle and buffaloes.*
- كوجان، عبدالحميد؛ خزندار، نصوح. (٢٠١٢). علم التناسل عند الذكور والتلقيح الاصطناعي.
- المبروك، حسن سعد؛ بالرحال، امحمد الشامس. (١٩٨٩).فسيولوجيا التناسل والتلقيح الاصطناعي. الطبعة الاولى. الدار الجماهيرية للنشر والتوزيع والاعلان.
- موسى، محمد؛ ابراهيم، احمد. (٢٠١٥). فيزيولوجيا التناسل والتلقيح الصنعي. المعهد التقاني للطب البيطري. جامعة حماه.

Thank You