مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الهندسية المجلد (١٠) العدد (٣) ٢٠٢٦

Tartous University Journal for Research and Scientific Studies - engineering Sciences Series Vol. (10) No. (3) 2026

التأثير التآزري للميلاتونين والسيلينوم النانوي في مؤشرات الحركة والسرعة لنطاف كباش العواس أثناء الحفظ بالتبريد عند درجة حرارة +4 باستخدام نظام تحليل النطاف CASA

أ. د علي نيصافي*

د. زهير جبور**

د. بشرى العيسى***

م. جعفر معن عبد الحميد****

(تاريخ الإيداع ٢٠٢٦/١/١٨ . قُبِل للنشر في ٢٠٢٦/٢/١٧)

□ ملخّص □

أجريت هذه الدراسة بهدف اختبار أثر الإضافة التآزرية للميلاتونين والسيلينوم النانوي كمضاد أكسدة إلى وسط تمديد السائل المنوي لكباش العواس. جُمع السائل المنوي من خمسة كباش بطريقة القذف الكهربائي. تم نقل العينات مباشرةً إلى المخبر، وأضيف وسط التمديد Tris المكمل بالخليط التآزري وحفظ في المبرد على درجة حرارة +4 مئوية لمدة 72 ساعة، وفقاً للتراكيز [MS1=0.1 mM +0.5µg/ml، MS2= 0.2 mM +0.75µg/ml، MS3= 0.3 mM +1µg/ml]. تم قراءة مؤشرات الحركة والسرعة باستخدام جهاز CASA بعد (24، 48، 72) ساعة. بينت النتائج تفوق جميع المعاملات على الشاهد (MS0) في مؤشر الحركة التقدمية، والسريعة، والكلية، والبطيئة. فقد بلغ متوسط النسبة المئوية للحركة التقدمية للنطاف لكل من المعاملات MS1، MS2، MS3، MS0 (74.78، 59.57، 59.88، 46.04%) على التوالي. تفوقت المعاملة MS1 معنوياً (P<0.001) على الشاهد وبقية المعاملات في أغلب مؤشرات حركة وسرعة النطاف كالسرعة المنحنية VCL، والسرعة الخطية VSL، ومتوسط سرعة المسار VAP. فقد بلغ متوسط سرعة النطاف للسرعة المنحنية للمعاملات MS1، MS2، MS3، وMS0 (103.11، 81.24، 80.95، 71.15 ميكرون/ثانية) على التوالي. يتبين أن إضافة الخليط التآزري من الميلاتونين والسيلينوم النانوي يعمل كمضاد أكسدة في وسط تمديد السائل المنوي للكباش وأسهم في الحفاظ على جودة النطاف أثناء الحفظ بالتبريد على درجة حرارة +4، ونظراً لتفوق التركيز MS1 (0.5µg/ml + 0.1 mM) على جميع المعاملات في أغلب المؤشرات نوصي بإضافته.

الكلمات المفتاحية: الميلاتونين، السيلينوم النانوي، مضاد أكسدة، CASA، النطاف.

* أستاذ، قسم الإنتاج الحيواني – كلية الهندسة الزراعية – جامعة اللاذقية – اللاذقية – سورية.

** أستاذ مساعد، قسم الإنتاج الحيواني – كلية الهندسة الزراعية – جامعة اللاذقية – اللاذقية – سورية.

*** أستاذ مساعد، قسم الإنتاج الحيواني – كلية الهندسة الزراعية – جامعة اللاذقية – اللاذقية – سورية .

**** طالب ماجستير، قسم الإنتاج الحيواني – كلية الهندسة الزراعية – جامعة اللاذقية – اللاذقية – سورية.

مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الهندسية المجلد (١٠) العدد (٣) ٢٠٢٦

Tartous University Journal for Research and Scientific Studies - engineering Sciences Series Vol. (10) No. (3) 2026

The synergistic effect of melatonin and nano-selenium on kinetic parameters of Awassi ram sperm during cooling at +4°C using the sperm analysis system (CASA)

Prof. Ali Nisafi*
Dr. Zouher Jabbour**
Dr. Bushra Alissa***
Eng. Jaafar Maen Abd Alhamid****

(Received 18/1/2026 . Accepted 17/2/2026)

□ ABSTRACT □

This study was conducted to test the synergistic effect of the addition of melatonin and nano-selenium as antioxidants to the extender medium of ram semen. Semen was collected from five rams using electroejaculation method. The samples were transferred directly to the laboratory, where a Tris-based extender supplemented with the synergistic mixture was added and stored in a refrigerator at +4°C for 72 hours, according to the concentrations [MS1=0.1 mM + 0.5µg/ml, MS2=0.2 mM + 0.75µg/ml, MS3=0.3 mM + 1µg/ml]. Motility and velocity parameters were assessed using a CASA system after 24, 48, and 72 hours. The results showed that all treatments significantly outperformed the control (MS0) in progressive, rapid, total, and slow motility indices. The average percentage of progressive motility for sperm in treatments MS1, MS2, MS3, and MS0 were (74.78, 59.57, 59.88, 46.04%) respectively. Treatment MS1 significantly ($P<0.001$) outperformed the control and other treatments in most sperm motility and velocity indicators, such as Velocity curved line (VCL), Velocity straight line (VSL), and Velocity Average path (VAP). The average sperm curvilinear velocity for treatments MS1, MS2, MS3, and MS0 were (103.11, 81.24, 80.95, 71.15 microns/second) respectively. It is evident that the addition of the synergistic mixture of melatonin and nano-selenium acts as an antioxidant in the extender medium for ram semen and contributes to the preservation of sperm quality during refrigeration at +4°C. Given the superior performance of the concentration MS1 (0.1 mM + 0.5µg/ml) in most indicators, we recommend its addition.

Keywords: Melatonin, Nano-selenium, antioxidant, CASA, sperm.

(*) Professor, Department of Animal Production, Faculty of Agricultural Engineering, University of Latakia, Latakia, Syria.
(**) Assistant Professor, Department of Animal Production, Faculty of Agricultural Engineering, University of Latakia, Latakia, Syria.
(***) Assistant Professor, Department of Animal Production, Faculty of Agricultural Engineering, University of Latakia, Latakia, Syria.
(****) Master's student, Department of Animal Production, Faculty of Agricultural Engineering, University of Latakia, Latakia, Syria.

المقدمة:

يعد التلقيح الاصطناعي تقانة حيوية قادرة على التغلب على العقبات المرتبطة بانخفاض الإمكانات الإنتاجية والأصول الوراثية وخاصةً في قطاع تربية الحيوان في البلدان النامية. استخدم التلقيح الاصطناعي (AI) Artificial insemination، لزيادة معدل التحسين الوراثي في الأغنام، ويفضل استخدام السائل المنوي للكباش بعد الجمع مباشرةً لإجراء التلقيح الاصطناعي بدلاً من استخدام السائل المنوي المجمد، والذي يظهر نوعية أقل جودة ناتجة عن عمليات التجميد والإذابة. يؤدي حفظ السائل المنوي بالتبريد إلى أثر ضار على كل من حركية النطاف ومواصفاتها الشكلية، وبالتالي القدرة الإخصابية للنطاف خلال وقت الحفظ بالتبريد (Alam *et al.*, 2005)، ويعود هذا الأثر الضار إلى حدوث إجهاد تأكسدي بسبب بيروكسيدية الدهون للأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة التي تشكل غشاء الخلية للنطاف، وكذلك تراكم الجذور الحرة طوال فترة الحفظ. تهاجم الجذور الحرة الأوكسجينية reactive oxygen species(ROS) الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة في أغشية خلايا النطاف، مما يُطلق تفاعلاً متسلسلاً يُعرف باسم بيروكسيدية الدهون. تؤدي هذه العملية إلى إنتاج بيروكسيدات الدهون وتعطيل سلامة الغشاء. نتيجةً لذلك، تتأثر وظائف النطاف وقابليتها للحياة، مما يؤدي إلى ضعف حركتها وانخفاض قدرتها الإخصابية (Aitken and Drevet, 2020)، ويمكن للجذور ROS أكسدة البروتينات في النطاف، مما يؤدي إلى تغييرات هيكلية واختلالات وظيفية. يمكن أن يؤثر هذا الضرر التأكسدي للبروتينات على جوانب مختلفة من فيزيولوجيا النطاف، بما في ذلك حركتها، والحمض النووي، وقدرتها على الإخصاب (Nowicka-Bauer and Nixon, 2020). تم اكتشاف الميلاتونين من قبل آرون ليرنر في عام 1958 م في الغدة الصنوبرية البقرية bovine pineal gland. يفرز الميلاتونين (N-acetyl-5-methoxytryptamine) أو مايسمى بهرمون الظلام بشكل رئيس من الغدة الصنوبرية، ولكن تم التعرف عليه لتخليقه في العديد من المواقع الأخرى (Omar *et al.*, 2020). وهو يتألف أساساً من الحمض الأميني التربتوفان، ومستقبلاته الموجودة في عدد من أنسجة وأعضاء الجسم. يتحكم أو ينظم الإيقاع اليومي والموسمي للأنشطة البيولوجية في الجسم ويزيد من حساسية خلايا ليديغ leydig لهرمون الحاثة اللوتئينية (LH). كما أنه يتحكم في العديد من العمليات الفزيولوجية المهمة، بما في ذلك التمثيل الغذائي والنوم وإيقاعات الساعة البيولوجية واستقرار درجة حرارة الجسم، إضافةً إلى ذلك، فإنه يعمل كمادة مضادة للأكسدة، ومضادة للموت الجنيني المبرمج، من خلال قدرته على إزالة أنواع مختلفة من الجذور الحرة مثل ROS وH_2O_2 و^{-}OH، وتنشيط إنتاج وتحفيز مضادات الأكسدة الإنزيمية مثل: Superoxide dismutase (SOD)، Glutathion peroxidase (GPx)، Catalase (CAT) (Wang *et al.*, 2014). كما تلعب الفيتامينات والمعادن دوراً حيوياً في نمو الحيوانات وصحتها التناسلية، ويعد السيلينوم (Se) عنصر غذائي ضروري للنمو والتطور، وارتبط نقص عنصر السيلينوم بمضاعفات تناسلية وانخفاض جودة النطاف للجرذان والفئران والدجاج والخنازير والأغنام والماشية (Baiomy *et al.*, 2009). وقد وجد أن إضافة السيلينوم إلى النظام الغذائي يحسن الأداء التناسلي للفئران والأغنام والماشية (Tang *et al.*, 1991). تعد تقانة النانو مجالاً ناشئاً للتقانات الحيوية التي لها تطبيقات طبية حيوية تم تأكيدها في السنوات الأخيرة (Isaak *et al.*, 2017). وقد ساهمت خصائص المواد على نطاق النانو مثل زيادة الامتصاص الخلوي ومساحة السطح والتفاعل وخصائص الربط وشحنة السطح بالإضافة إلى الخصائص المضادة للأكسدة مؤخراً في تحسين بروتوكولات التجميد والتبريد (Khalil *et al.*, 2018). تسمح هذه الخصائص

باستخدام كمية أقل من المواد مقارنة بالمواد التقليدية والتفاعلات الفيزيائية والكيميائية الأكثر فعالية (Nel *et al.*, 2006). لذلك، يمكن أن يكون استخدام تقنية النانو فعالاً لتحقيق الخصائص النشطة بيولوجياً للعناصر المختلفة بما في ذلك نانو سيلينوم في التناسل، والتجميد، والنمو، والهضم، والتطبيقات المضادة للميكروبات (Pelyhe and Mezes, 2013). من خلال دمج تأثيرات مضادات الأكسدة الإنزيمية وغير الإنزيمية، يُنشئ الجسم نظاماً دفاعياً قوياً ضد الإجهاد التأكسدي، ومن خلال تأثير تآزري تعمل هذه المضادات بتناغم على التخلص من الجذور الحرة، ومنع أكسدة الدهون، وحماية خلايا النطاف من الضرر التأكسدي. تساعد مضادات الأكسدة على تثبيط أكسدة الدهون، التي تُلحق الضرر بأغشية خلايا النطاف، ومن خلال منع أكسدة الدهون، تحافظ مضادات الأكسدة على السلامة الهيكلية لخلايا النطاف، مما يضمن حركية جيدة، وقابلية للحياة، وقدرة إخصابيه عالية (Kowalczyk, 2021). كشفت دراسة أجراها Kumar وآخرون (2022) أن إضافة الميلاتونين بتراكيز (0.5، 1، 2) ميلي مولار في وسط التمديد يمكن أن يحافظ على حركية النطاف حتى 72 ساعة، وأظهرت التأثير الأكثر عمقاً عند مستوى تركيز 1 mM ($p<0.05$). أظهرت دراسة Salimi وآخرون (2024) بأن إضافة جزيئات السيلينوم النانوي بتراكيز (1، 5، 25، 125) مكروغرام/مل إلى وسط تمديد السائل المنوي، أظهر أعلى معدل حركة وسلامة للغشاء البلازمي عند إضافة 1 ميكروغرام/مل من جسيمات السيلينيوم النانوية إلى ممدد السائل المنوي للكباش بعد الإذابة. كما أظهرت دراسة Safa وآخرون (2016) أن الإضافة التآزرية من السيلينوم النانوي وفيتامين E حسنت من حركية النطاف عند الديوك عند تركيز (5 مكروغرام/ميلي E + 1% نانو سيلينوم) متفوقة بذلك على باقي التراكيز (10 مكروغرام/ميلي E + 1% نانو سيلينوم)، (10 مكروغرام/ميلي E + 2% نانو سيلينوم)، وزادت من قيم مؤشرات Velocity Average path (VAP)، Velocity (VSL) straight line، ولم تؤثر معنوياً على باقي المؤشرات الحركية Linearity (LIN)، Straightness (STR)، Amplitude lateral head (ALH)، Beat frequency (BCF). في دراسة أجراها Li وآخرون (2023) بإضافة نانو سيلينوم بتراكيز (4-2-1) مكروغرام/ميلي، لوسط تمديد السائل المنوي للثيران أثناء حفظه بالتجميد، أظهرت النتائج تفوق التركيز 2 مكروغرام/ميلي على باقي التراكيز في أثره الإيجابي على الحركية والحيوية للنطاف، كما أظهرت النتائج كفاءة حفظ السائل المنوي بالإضافة المشتركة للنانو سيلينوم والجلوتاثيون بتراكيز (4 ميلي مولار جلوتاثيون+ 2مكروغرام/ميلي نانو سيلينوم).

أهمية وأهداف البحث:

تعد نطاف الكباش حساسة جداً لتغير درجات الحرارة أثناء الحفظ بالتجميد (196- C°)، بسبب محتواها المرتفع من الأحماض الدهنية غير المشبعة، وانخفاض الكوليسترول في غشاء خلايا النطاف، مما يعرضها للتلف، ويخفض قدرتها الإخصابية، ومن هنا تنبع أهمية البحث في أن استراتيجية حفظ السائل المنوي عند 4 درجة مئوية تعد بديلاً اقتصادياً ويحافظ على جودة النطاف لتحقيق معدلات إخصاب وحمل أعلى، مقارنة بالحفظ بالتجميد. كما تأتي الأهمية من اختبار أثر إضافة هرمون الميلاتونين والسيلينوم النانوي كمضادات للأكسدة، وقلة الأبحاث التي تناولت الأثر التآزري لتلك الإضافة، مما يسهم في نقل تقانة التلقيح الاصطناعي بين مراكز التحسين الوراثي وقطعان المربين لنقل الصفات الوراثية للكباش العالية القيمة الإنتاجية والوراثية بطريقة عملية أفضل وأسهل، وتلخصت أهداف البحث في دراسة عملية حفظ السائل المنوي لكباش العواس بالتبريد عند درجة حرارة

+٤ من خلال تقييم فاعلية التأثير التآزري المشترك للميلاتونين والسيلينوم النانوي بتراكيز مختلفة في بعض المؤشرات الحركية لنطاف كباش العواس بوساطة جهاز الـ CASA.

مواد وطرائق البحث:

مكان وزمان البحث: تم إجراء البحث في محطة بحوث دير الحجر التابعة للهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية في مخبر نقل الأجنة خلال شهر تشرين أول عام 2024.

جمع السائل المنوي وتمديده:

- تم جمع السائل المنوي باستخدام القاذف الكهربائي (Minitub electro ejaculator e320، Minitub، Tiefenbach، Germany) من خمسة كباش عواس بأعمار (2–4 سنوات) مرباة في حظيرة مفتوحة ملحقة بمسرح تابعة لوحدة بحوث الأغنام والمراعي– الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، طُبقت فيها التدابير الصحية المناسبة من وقاية ومعالجة من الطفيليات الداخلية والخارجية، وتخضع الكباش لنظام تغذية متوازن من خلطة علفية مكونة من الشعير والصويا والنخالة بمعدل 1500 غ للرأس الواحد يومياً، النسب لكل كيلو غرام (0.65 كغ شعير+ 0.15 كغ صويا+ 0.2 كغ نخالة)، بالإضافة إلى 0.75 كغ تبن و1% أملاح و1% فيتامينات، وتخرج إلى المرعى مدة ساعتين صباحاً وساعتين مساءً ويقدم الماء لها بشكل حر. نقلت العينات إلى المخبر مباشرةً بعد الجمع تفادياً لحدوث صدمة حرارية أو تلوث للعينة، تم قياس حجم القذفة باستخدام أنبوبة جمع زجاجية مخروطية الشكل ومدرجة لأقرب 0.1، وأخذت قراءة أحجام كل قذفة، وقبول الحجم بين (0.6–2) ml، وبلون طبيعي (أبيض حليبي) خالي من الدم والشوائب. فُحصت كل عينة مباشرةً باستخدام المجهر الضوئي لفحص الحركة الكلية الموجية للنطاف، والقذف المقبول تم جمعه في عينة واحدة لتفادي الاختلاف الفردي بين الكباش. تم تمديد كل عينة للسائل المنوي بنسبة 10:1 مع وسط التمديد المنوي Tris– Fructose– egg– yolk في حمام مائي على درجة حرارة 37 درجة مئوية. تم تحضير الوسط وفقاً للنسب التالية لكل 100ml: Tris(3.63g)، Fructose (0.50g)، Citric acid (1.99g)، Egg yolk (10ml)، Penicilin (100.000IU). قُسم وسط التمديد إلى اثني عشر عينة بمعدل أربع عينات لكل مكرر، وبواقع ثلاث مكررات. حجم العينة الواحدة 2ml. تم الحصول على هرمون الميلاتونين من شركة HUANGGANG SAIKANG PHARMACEUTICAL CO، LTD، CHINA، والسيلينوم النانوي من شركة Guangdong Xingtengke Biotechnology Co، Ltd، CHINA. أضيف الميلاتونين (0.1، 0.2، 0.3 ميلي مولار mM) والسيلينوم النانوي (0.5، 0.75، 1 µg/ml) تآزرياً وفقاً للجدول (1)، وقد تمت الإضافة في وسط حمام مائي على درجة حرارة 37 درجة مئوية مع تحريك مستمر لضمان انحلال مضاد الأكسدة الميلاتونين في وسط التمديد. بعد الانتهاء من التمديد، تم تخفيض درجة الحرارة من 37 درجة مئوية إلى درجة حرارة الغرفة، ومن ثم وضعها في البراد، وحفظها على درجة حرارة 4 مئوية، وفحصت مؤشرات الحركة والسرعة باستخدام جهاز CASA بعد (T1= 24، T2= 48، T3= 72) ساعة من الحفظ.

الجدول (1): التراكيز المضافة من الميلاتونين والسيلينوم النانوي

الخليط التآزري	شاهد = MS0 MS1=0.1 mM +0.5µg/ml MS2= 0.2 mM +0.75µg/ml MS3= 0.3 mM +1µg/ml	$T_{1(24)}$ $T_{2(48)}$ $T_{3(72)}$

المؤشرات المدروسة:

- **حركة وسرعة النطاف: يبين الجدول مؤشرات الحركة والسرعة المدروسة بوساطة جهاز (CASA):**

الجدول (٢): المؤشرات المدروسة بواسطة جهاز (CASA).

المؤشرات المدروسة	المصطلح الانكليزي	وحدة القياس
الحركة الكلية	Motile (MOT)	%
الحركة التقدمية	Progressive (PR)	%
الحركة الساكنة	Immotile (IM)	%
الحركة السريعة	Rapid speed (RS)	%
الحركة البطيئة	Slow speed (SS)	%
الحركة السريعة التقدمية	Rapid progressive (RP)	%
السرعة المنحنية VCL	Velocity curved line	ميكرون/الثانية
السرعة الخطية VSL	Velocity straight line	ميكرون/الثانية
معدل سرعة المسار VAP	Velocity Average path	ميكرون/الثانية
خطية المسار LIN	Linearity (VSL/ VCL)	%
مؤشر الاستقامة STR	Straightness index (VSL/VAP)	%
مؤشر التموج WOB	Oscillation index (VAP/VCL)	%
المدى الجانبي لضربات الرأس ALH	Amplitude lateral head	ميكرون
تردد عبور المسار BCF	Beat frequency	HZ

تحليل المؤشرات الحركية للسائل المنوي بمساعدة الحاسب CASA

استخدم نظام تحليل السائل المنوي بمساعدة الحاسب (CASA) لاختبار عينات من السائل المنوي المبرد من كل تركيز ولجميع مراحل البحث بمساعدة هذا النظام المتطور لتقييم السائل المنوي Sperm Class Analyzer– SCA v.5.1 –(CASA system) Barcelona (Spain)– 2011. تم تسخين الماصات الميكروية والأدوات المستخدمة قبل مداولة السائل المنوي باستخدام صفيحة تسخين على درجة حرارة 37 درجة مئوية، يتم وضع العينة المراد تقييمها ضمن حمام مائي 37 درجة مئوية ولمدة 30 ثانية، ثم تؤخذ كمية 2.5 مكروليتر من عينة السائل المنوي، وتوضع في الحفرة الخاصة بها على الشريحة المدفأة بدرجة حرارة 37 مئوية.

التحليل الإحصائي: تم تحليل النتائج إحصائياً باستخدام البرنامج الإحصائي (GENSTAT-12)، وذلك باستخدام اختبار (ANOVA)، وتم حساب الفرق المعنوي باختبار Duncan عند مستوى معنوية 5%.

النتائج والمناقشة:

يتبين من الجدول (٣): نتائج تحليل حركية نطاف الكباش بعد الجمع مباشرةً:

الجدول (3): نتائج تحليل مؤشرات حركة وسرعة نطاف الكباش بعد الجمع مباشرةً

الحركة الكلية %	التقدمية %	الساكنة %	السريعة %	البطيئة %	السريعة التقدمية %	ALH ميكرون
99.65	97.15	0.35	96.75	0.17	8.56	5.25
VCL (ميكرون/ثانية)	VSL (ميكرون/ثانية)	VAP (ميكرون/ثانية)	LIN %	STR %	WOB %	BCF HZ
126.45	31.45	63.48	24.88	49.54	50.20	5.86

١- تأثير الميلاتونين في مؤشرات حركية وسرعة نطاف كباش العواس أثناء الحفظ لمدة 72 ساعة

يتبين من الجدول (4 و5): متوسط النسبة % للحركة الكلية تفوق المعاملات الثلاثة MS1، MS2، MS3 (99.57، 99.42، 99.30%) على التوالي، تفوقاً معنوياً (P<0.001) على الشاهد MS0 (97.37%)، ولم يلاحظ وجود فروق معنوية (P>0.05) بين المعاملات، فيما انخفض متوسط النسبة % للحركة الكلية بتقدم الزمن، حيث تفوق الزمن $T_{1(24)}$ (99.42%) على الزمنين $T_{2(48)}$ و$T_{3(72)}$ (98.50، 98.83%) على التوالي، ولم يسجل وجود فروق معنوية بين الزمنين $T_{2(48)}$ و$T_{3(72)}$. كما يشير متوسط النسبة % للحركة التقدمية إلى تفوق معنوي (p<0.001) للمعاملة MS1 (74.78%) على المعاملتين MS3 وMS2 (59.88، 59.57%) على التوالي، كما قد تفوقت جميع المعاملات على معاملة الشاهد MS0 (46.04%)، وأظهرت النتائج انخفاض معنوي (P<0.001) لمتوسط % للحركة التقدمية مع تقدم زمن الحفظ فقد سجلت أعلى متوسط للحركة التقدمية عند الزمن $T_{1(24)}$ (67.29%)، متفوقاً معنوياً على الزمنين $T_{2(48)}$ و$T_{3(72)}$ (59.34، 53.58%) على التوالي، وهذا ما يؤكد أهمية إضافة مضادات الأكسدة إلى وسط التمديد بهدف خفض الإجهاد التأكسدي، إضافةً إلى الأثر الإيجابي للإضافة التآزرية في التقليل من كميات مضادات الأكسدة مع الحفاظ على جودة النطاف لاستخدامها لاحقاً في برامج التحسين الوراثي والتلقيح الاصطناعي أدت إلى زيادة في حركية النطاف، من خلال المحافظة على نشاط الميتوكوندريا وسلامة الغشاء البلازمي والأكروسوم(Safa *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2023). كما أظهرت النتائج لمتوسط % للحركة السريعة للنطاف تفوق معنوي (p<0.001) للمعاملة MS1 (70.44%) على المعاملتين MS3 وMS2 (56.26، 54.84%)، والشاهد MS0 (41.30%)، انخفضت الحركة السريعة للنطاف بتقدم الزمن فقد كانت عند الزمن $T_{1(24)}$ (64.41%) متفوقة معنوياً (P<0.001) على الزمن $T_{2(48)}$ (54.37%)، وتفوق $T_{2(48)}$ على $T_{3(72)}$ (48.34%)، وأظهرت النتائج الإحصائية لمؤشر الحركة السريعة التقدمية تفوق معنوي للمعاملة MS1 (9.456%) على بقية المعاملات MS2، MS3، MS0 (7.532، 7.490، 5.866%) على التوالي، وتفوق الزمن $T_{1(24)}$ معنوياً (p<0.01) (8.042%) على $T_{2(48)}$ و$T_{3(72)}$ (7.966، 6.750%) على التوالي. أظهرت النتائج تفوق معنوي (p<0.001) للمعاملة MS1 على المعاملتين MS3 وMS2 والشاهد (8.33، 12.70، 15.02، 25.75%)

على التوالي، كما تفوقت المعاملتان MS3 وMS2 على الشاهد، وMS3 تفوقت معنوياً على MS2. يعتبر الإجهاد التأكسدي هو المسؤول الأول عن خفض حركية النطاف وازدياد الحركة البطيئة كنتيجة طبيعية للضرر الحاصل في الميتوكوندريا وازدياد مستويات MDA وأكسدة الدهون مما يؤثر على سلامة الغشاء البلازمي والأكروسوم، ما يفسر انخفاض الحركة البطيئة في معاملات الخليط التآزري للدور الذي يؤديه الميلاتونين والسيلينوم النانوي في الحد من الإجهاد والضرر التأكسدي، وبالتالي حماية النطفة ومكوناتها الداخلية مما يحافظ على حركيتها ويخفض من حركتها البطيئة كنتيجة لازدياد الحركة السريعة والمتوسطة السرعة للنطاف. ازدادت الحركة البطيئة كلما تقدم زمن الحفظ فقد كان المتوسط في الزمن $T_{3(72)}$ (18.75%) وتفوق الزمن $T_{1(24)}$ (11.76%) معنوياً ($P<0.001$) على $T_{3(72)}$ و$T_{2(48)}$ (15.84%). هذا ما يؤكد بأن إضافة كمية منخفضة من هرمون الميلاتونين والسيلينوم النانوي له أثر مفيد على الحركية والحركية التقدمية مما يسهم في الحفاظ على جودة النطاف لفترة أطول، ويسهم في رفع احتمال نجاح عملية الإخصاب والتحسين الوراثي (Fang *et al.*, 2020; Kumar *et al.*, 2022; Safa *et al.*, 2016).

الجدول (4): تأثير التراكيز المختلفة من الخليط التآزري في متوسط النسب المئوية لحركية النطاف

الصفة	الحركة الكلية	الحركة التقدمية	الحركة السريعة	الحركة البطيئة	الحركة السريعة التقدمية
MS0	97.37b	46.04c	41.30c	25.75d	5.866c
MS1	99.57a	74.78a	70.44a	8.33a	9.456a
MS2	99.42a	59.57b	54.84b	15.02c	7.532b
MS3	99.30a	59.88b	56.26b	12.70b	7.490b
LSD%	***0.40	1.45^{***}	1.49^{***}	1.14***	0.86^{***}
CV%	%0.4	%2.5	%2.7	%7.5	%11.6

تشير الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد إلى وجود فرق معنوي. *معنوي على مستوى معنوية 0.05، **معنوي على مستوى معنوية 0.01، ***معنوي على مستوى معنوية 0.001، ^{ns}غير معنوي

الجدول (5): تأثير طول مدة حفظ السائل المنوي في متوسط النسب المئوية لحركية النطاف

الصفة	الحركة الكلية	الحركة التقدمية	الحركة السريعة	الحركة البطيئة	الحركة السريعة التقدمية
T1	99.42a	67.29a	64.41a	11.76a	8.042a
T2	98.50b	59.34b	54.37b	15.84b	7.966a
T3	98.83b	53.58c	48.34c	18.75c	6.750b
LSD%	0.35^{***}	1.26^{***}	1.29^{***}	0.98^{***}	0.74^{**}
CV%	%0.4	%2.5	%2.7	%7.5	%11.6

تشير الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد إلى وجود فرق معنوي. *معنوي على مستوى معنوية 0.05، **معنوي على مستوى معنوية 0.01، ***معنوي على مستوى معنوية 0.001، ^{ns}غير معنوي

يتبين من الجدول (6، ٧): المؤشرات الحركية الأكثر تحديداً ثلاثة مؤشرات لسرعة حركة النطاف: السرعة المنحنية (VCL)، والسرعة الخطية (VSL)، ومعدل سرعة المسار (VAP)، وثلاثة مؤشرات لنسبة السرعة: الخطية (LIN)، والاستقامة (STR)، والتموج (WOB)، ومؤشرات تعكس خصائص تموج النطاف: المدى الجانبي لضربات الرأس (ALH)، تردد عبور المسار (BCF).

في مؤشر السرعة المنحنية VCL أظهرت نتائج التحليل الإحصائي تفوقاً معنوياً للمعاملة (p<0.001) MS1 (103.11 ميكرون/ثا) على بقية المعاملات MS2 وMS3 (81.24، 80.95 ميكرون/ثا) والشاهد MS0 (71.15 ميكرون/ثا)، ولم يلاحظ وجود فروق معنوية (P>0.05) بين المعاملتين MS2 وMS3، رغم تفوقهما على الشاهد. انخفضت السرعة بشكل ملحوظ مع تقدم زمن الحفظ، فقد تفوق متوسط السرعة المنحنية في الزمن $T_{1(24)}$ (91.01 ميكرون/ثا) معنوياً (P<0.001) على الزمنين $T_{2(48)}$ و$T_{3(72)}$ (85.47، 75.85 ميكرون/ثا) على التوالي، وتفوقت قيمة متوسط السرعة VCL في الزمن $T_{2(48)}$ معنوياً (P<0.001) على الزمن $T_{3(72)}$. كما أظهرت النتائج تفوق معنوي (p<0.001) للمعاملة MS1 على بقية المعاملات MS2 وMS3 وMS0 (27.84، 24.74، 23.13، 21.72 ميكرون/ثا) على التوالي في مؤشر السرعة الخطية، كما أظهرت تفوق معنوي (P<0.001) للمعاملة MS2 على المعاملة MS3، لم يلاحظ وجود فروق معنوية (P>0.05) بين قيم المتوسطات للسرعة الخطية في الزمنين $T_{1(24)}$ و$T_{2(48)}$ (25.32، 24.69 ميكرون/ثا)، في حين تفوقا معنوياً (p<0.001) على قيم متوسط السرعة عند الزمن $T_{3(72)}$ (23.06 ميكرون/ثا). في متوسط سرعة المسار VAP أظهرت النتائج تفوق معنوي (p<0.001) للمعاملة MS1 على المعاملتين MS3 وMS2 والشاهد فقد بلغ متوسط قيم السرعة الخطية (53.69، 46.06، 45.58، 38.15 ميكرون/ثا) على التوالي، في حين لم يكن هناك فرق معنوي (p>0.05) بين المعاملتين MS2 وMS3، وسجلت تلك المعاملتين تفوقاً معنوياً (p<0.001) على الشاهد، لوحظ تفوق معنوي (p<0.001) لمتوسط قيم متوسط سرعة المسار عند الزمن $T_{1(24)}$ (49.84 ميكرون/ثا) على متوسط القيم عند الزمن $T_{2(48)}$ (45.93 ميكرون/ثا)، والزمن $T_{3(72)}$ (41.84 ميكرون/ثا)، في دراسة Safa وآخرون (2016) للسائل المنوي للديوك أثناء استخدام السيلينوم النانوي كمضاد أكسدة في وسط التمديد، ودراسة Nateq وآخرون (2020) على السائل المنوي للكباش بأن استخدام السيلينوم النانوي يعود بأثر إيجابي على المؤشرات VCL، VSL، VAP. كما في دراسة Widyastuti وآخرون (2024) على ذكور ماعز حيث أظهرت حماية لجودة النطاف من خلال تعزيز إنزيم الجلوتاثيون وإنزيم SOD. تأتي أهمية هذه المؤشرات وأهمية الحفاظ على أعلى السرعات لأطول فترة ممكنة من خلال إضافة الميلاتونين والسيلينوم النانوي من قدرتها في إنجاح عمليات الإخصاب في المختبر والحقل (Hirano *et al.*, 2001)، كذلك وجد Robayo (2008) أن VCL وVAP مرتبطان بشكل إيجابي بقدرة النطاف على اختراق المادة المخاطية لعنق الرحم للنعاج، حيث أن انخفاض حركية النطاف سيخفض معه سرعة المؤشرات (VCL، VSL، VAP). في مؤشر متوسط % لخطية المسار LIN أظهرت النتائج تفوق معنوي (P<0.001) للمعاملتين MS0 (30.65%) وMS2 (30.50%) على المعاملتين MS3 (28.49%) وMS1 (27.34%). فيما تفوق متوسط % لخطية المسار عند الزمن $T_{3(72)}$ (30.36%) (P<0.01) على الزمن $T_{1(24)}$ (28.00%)، وهذا ما يؤكد بأن المؤشرات LIN وSTR وWOB مرتبطة إيجاباً مع الإجهاد التأكسدي كما في دراسة Pilane وآخرون (2021)، فقد كانت قيمة متوسط % لخطية المسار بعد الجمع مباشرةً (24.88%) وازدادت تلك القيمة بارتفاع الإجهاد التأكسدي وطول فترة الحفظ، وهذا ما يفسر تفوق معاملة الشاهد ومعاملة MS2 على بقية العوامل. أظهرت النتائج تفوق معنوي للشاهد MS0 (57.12%) على بقية المعاملات MS2 وMS1 وMS3 (54.37، 52.20، 50.29%) على التوالي في مؤشر الاستقامة STR، فيما تفوقت المعاملة MS2 معنوياً (54.37%) (p<0.001) على MS3 (50.29%)، كما تفوقت قيمة متوسط % لاستقامة المسار عند الزمن $T_{3(72)}$ (55.26%) معنوياً (P<0.01)

على المتوسط عند الزمن $T_{1(24)}$ (50.91%)، وقد كان المتوسط لاستقامة المسار بعد الجمع مباشرةً (49.54%) وارتفعت تلك القيمة بازدياد فترة الحفظ وارتفاع الإجهاد التأكسدي تأكيداً لارتباطه الإيجابي مع الإجهاد التأكسدي وفترة الحفظ (Pilane *et al.*, 2016). في متوسط % لتموج النطاف WOB تبين تفوق المعاملة MS3 (56.88%) وMS2 (56.11%) معنوياً (P<0.001) على معاملة الشاهد (53.69%) وMS1 (52.26%)، في حين لم يكن هناك فرق معنوي (P>0.05) بين فترات الحفظ الثلاثة $T_{1(24)}$، $T_{2(48)}$، $T_{3(72)}$ (55.06، 54.02، 55.13%) على التوالي، وفي متوسط المدى الجانبي لضربات الرأس ALH تبين تفوق معنوي (P<0.001) للمعاملة MS1 (4.627 ميكرون)، على المعاملة MS3 (4.261 ميكرون)، وعلى بقية المعاملات MS0 وMS2 (3.988، 3.848ميكرون)، تفوق متوسط قيمة ALH عند الزمن $T_{1(24)}$ (4.572 ميكرون) معنوياً (P<0.001) على $T_{2(48)}$ (4.105 ميكرون)، وتفوق المتوسط عند الزمن $T_{2(48)}$ على المتوسط عند $T_{3(72)}$ (3.865 ميكرون)، كما أظهرت النتائج تفوق المعاملتين MS3 وMS2 (7.126، 7.102 هرتز) على التوالي، معنوياً (p<0.001) على المعاملتين MS1 وMS0 (6.916، 6.546 هرتز) على التوالي في مؤشر BCF، فيما تفوقت جميع المعاملات على معاملة الشاهد، لم تتأثر قيمة متوسط تردد عبور المسار المتوسط بتقدم الزمن والحفظ فقد كانت في الزمن $T_{2(48)}$ (7.037 هرتز) متفوقة معنوياً (P<0.01) على $T_{3(72)}$ و $T_{1(24)}$ (6.883، 6.846 هرتز)، فيما ويمكن تفسير ذلك بأن مؤشر تردد عبور المسار المتوسط يرتفع بارتفاع الإجهاد التأكسدي وزمن الحفظ، والاختلاف يكمن بين التراكيز المضافة وأثرها على متوسط القيم، فقد كان المتوسط بعد الجمع مباشرةً 5.86 هرتز وارتفع بازدياد زمن الحفظ.

الجدول (6): تأثير التراكيز المختلفة من الخليط التآزري في متوسط سرعة نطاف الكباش

الصفة	VCL	VSL	VAP	LIN	STR	WOB	ALH	BCF
MS0	71.15c	21.72d	38.15c	30.65a	57.12a	53.69b	3.988c	6.546c
MS1	103.11a	27.84a	53.69a	27.34b	52.20bc	52.26b	4.627a	6.916b
MS2	81.24b	24.74b	45.58b	30.50a	54.37b	56.11a	3.848c	7.102a
MS3	80.95b	23.13c	46.06b	28.49b	50.29c	56.88a	4.261b	7.126a
LSD%	2.37***	1.16***	1.17***	1.66***	2.52***	1.64***	0.20***	0.14***
CV%	%2.9	%4.9	%2.6	%5.8	%4.8	%3.1	%5	%2.1

تشير الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد إلى وجود فرق معنوي. *معنوي على مستوى معنوية 0.05، **معنوي على مستوى معنوية 0.01، ***معنوي على مستوى معنوية 0.001، ^{ns}غير معنوي

الجدول (7): تأثير طول مدة حفظ السائل المنوي في متوسط سرعة النطاف

الصفة	VCL	VSL	VAP	LIN	STR	WOB	ALH	BCF
T1	91.01 a	25.32a	49.84a	28.00b	50.91b	55.06a	4.572a	6.846b
T2	85.47 b	24.69a	45.93b	29.37ab	54.31a	54.02a	4.105b	7.037a
T3	75.85 c	23.06b	41.84c	30.36a	55.26a	55.13a	3.865c	6.883b
LSD%	2.05***	1.01***	1.01***	1.44**	2.18**	1.42^{ns}	0.18***	**0.12
CV%	%2.9	%4.9	%2.6	%5.8	%4.8	%3.1	%5	%2.1

تشير الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد إلى وجود فرق معنوي. *معنوي على مستوى معنوية 0.05، **معنوي على مستوى معنوية 0.01، ***معنوي على مستوى معنوية 0.001، ^{ns}غير معنوي

الاستنتاجات والتوصيات:

- التأثير الإيجابي المعنوي للإضافة المشتركة للميلاتونين والسيلينوم النانوي في المؤشرات الحركية للنطاف.
- الدور الإيجابي لإضافة الخليط التآزري في المؤشرات (WOB، BCF) المرتبطة إيجاباً مع الإجهاد التأكسدي وازدياد فترة الحفظ.
- تفوق معنوي للمعاملة التآزرية (0.1 ميلي مولار + 0.5 مكروغرام/ميلي) في الحفاظ على حركية وسرعة عالية للنطاف وصولاً إلى الزمن 72 ساعة.

التوصيات: –

- البناء على التراكيز التآزرية الحالية في اختبار تراكيز أخرى ودراسة أثرها في جودة السائل المنوي.
- دراسة أثر الإضافة الفردية والتآزرية لهرمون الميلاتونين والسيلينوم النانوي في الحفاظ على جودة السائل المنوي في زيادة نسبة الإخصاب.

المراجع:

1-ALAM, M. G. S; YEADHMIN, S; BARI, F.Y. and MISHRA, B. 2005. *The effect of duration of preservation of the quality of chilled bull semen*. The Bangladesh Vete. 22(1): 16-22

2-AITKEN, R. J. and DREVET, J. R. 2020. *The importance of oxidative stress in determining the functionality of mammalian spermatozoa: a two-edged sword*. Antioxidants (Basel)., 9(2): 111. Doi:10.3390/antiox9020111.

3-NOWICKA-BAUER, K. and NIXON, B. 2020. *Molecular changes induced by oxidative stress that impair human sperm motility*. Antioxidants (Basel)., 9(2):134. Doi:10.3390/antiox9020134.

4-OMAR, S.M. and MOHAMMED, B.M. 2020. *ANTIGENOTOXIC EFFECTS OF MELATONIN AGAINST CHROMOSOME DAMAGE INDUCED BY 7, 12-DYMETHYLBENZ (a) ANTHRACENE*. The Iraqi Journal of Agricultural Science. 51(3): 916-923.

5-WANG, F; TIAN, X; ZHOU, Y; TAN, D; ZHU, S; DAI, Y. and LIU, G. 2014. *Melatonin improves the quality of in vitro produced (IVP) bovine embryos: implications for blastocyst development, cryotolerance, and modifications of relevant gene expression*. PloS one. 2;9(4): e93641.

6-BAIOMY, A. A; MOHAMED, A. E. A. and MOTTELIB, A. A. 2009. *Effect of dietary selenium and vitamin E supplementation on productive and reproductive performance in rams*. Bs Vet Med J. 19: 39-43.

7-TANG, C. C; CHEN, H. N. and RUI, H. F. 1991. *The effects of selenium on gestation, fertility, and offspring in mice.* Biol Trace Elem Res. 30: 227-231.

8-ISAAC, A. V; KUMARI, S; NAIR, R; URS, D. R; SALIAN, S. R; KALTHUR, G; ADIGA, S. K; MANIKKATH, J; MUTALIK, S; SACHDEV, D. and PASRICHA, R. 2017. *Supplementing zinc oxide nanoparticles to cryopreservation medium minimizes the freeze-thaw-induced damage to spermatozoa*. Biochem Biophys Res Commun. 494(3-4): 656-662.

9-KHALIL, W.A; El-HARAIRY, M. A; ZEIDAN, A. E. B; HASSAN, M. A. E. and MOHEY-ElSAEED, O. 2018. *Evaluation of bull spermatozoa during and after cryopreservation: Structural and ultra-structural insights*. Int J Vet Sci Med. 6: S49-S56.

10-NEL, A; XIA, T; MADLER, L and LI, N. 2006. *Toxic potential of materials at the nano level*. Science. 311: 622-627.

11-PELYHE, C. and MEZES, M. 2013. *Myths and facts about the effects of nano selenium in farm animals: mini review*. Eur Chem Bull. 2: 1049-1052.

12-KUMAR, T; KUMAR, P; SAINI, N; BHALOTIA, S. K; PRAKASH, C; MAHLA, A. S. and KUMAR, A. 2022. *Shielding Effect of Melatonin Improves Seminal Quality and Oxidative Stress Indices During Chilled Storage of Ram Semen*. Trop Anim Health Prod. 54(3): 197.

13-SALIMI, T; HAJARIAN, H; KARAMISHABANKAREH, H; SOLTANI, L. 2024. *Effects of sodium selenite, cysteamine, bacterially synthesized Se-NPs, and cysteamine loaded on Se-NPs on ram sperm cryopreservation*. Sci Rep. 14(1): 852.

14-KOWALCZYK, A. 2021. *The role of the natural antioxidant mechanism in sperm cells*. Reprod Sci. 29(5):1387-1394

15-SAFA, S; MOGHADDAM, G; JOZANI, R. J; Kia, H. D; JANMOHAMMADI, H. 2016. *Effect of vitamin E and selenium nanoparticles on post-thaw variables and oxidative status of rooster semen*. Anim Reprod Sci. 174: 100-106.

16-LI, S; REN, J; ZHANG, W; WANG, B; MA, Y; SU, L; DAI, Y. and LIU, G. 2023. *Glutathione and selenium nanoparticles have a synergistic protective effect during cryopreservation of bull semen*. Front Vet Sci. 10: 1093274.

17-FANG, Y; ZHAO, C; XIANG, H; ZHAO, X. and ZHONG, R. 2019. *Melatonin inhibits formation of mitochondrial permeability transition pores and improves oxidative phosphorylation of frozen-thawed ram sperm*. Front Endocrinol. 10: 516-520.

18-NATEQ, S; MOGHADDAM, G; ALIJANI, S. and BEHNAM, M. 2020. *The effects of different levels of Nano selenium on the quality of frozen-thawed sperm in ram.* Journal of Applied Animal Research. Vol. 48(1): 434–439.

19-WIDYASTUTI, R; PRASTOWO, S; JASWANDI, J; LUBIS, A; SETIAWAN, R; RIDLO, M. R. and BOEDIONO, A. 2024. *Effect of melatonin supplementation on sperm quality parameters and expression of antioxidant genes during cold storage of buck semen extenders*. Vet World. 17(4): 863-870.

20-HIRANO, Y; SHIBAHARA, H; OBARA, H; SUZUKI, T; TAKAMIZAWA, S; YAMAGUCHI, C; TSUNODA, H. and SATO, I. 2001. *Relationships between sperm motility characteristics assessed by the computer-aided sperm analysis (CASA) and fertilization rates in vitro.* J Assist Reprod Genet. 18(4): 213-8.

21-ROBAYO, I; MONTENEGRO, V; VALDES, C. and COX, J. F. 2008. *CASA assessment of kinematic parameters of ram spermatozoa and their relationship to migration efficiency in ruminant cervical mucus*. Reprod. Domest. Anim. 43(4): 393–399.

22-PILANE, C. M; MAPEKA, M. H. 2021. *The Response of Cockerel Semen Kinematic Parameters LIN, STR, WOB, ALH and BCF to Induced Oxidative Stress*. Open Journal of Animal Sciences. 11(02): 292-303.

23-PILANE, C. M; BOPAPE, M. A; MAPEKA, M. H. and NETSHIROVHA, T. R. 2016. *Assessment of the Susceptibility of Boar Semen to Oxidative Stress*. Open Journal of Ani mal Sciences. 6: 123-130.