تاثير اضافة فيتامين B12 الى مخفف Tris ومدة التبريد في حيوية نطف الكباش العواسية

علي شهاب احمد

قسـم الثروة الحيوانية /كلية الزراعة /جامعة ديالى

Ali_shehab@ yahoo, com

المستخلص

اجريت هذه الدراسة لبيان تأثيراضافة فيتامين B12 الى المخفف ترس في الصفات الفيزيائية (الحركة الفردية, النطف الحية, النطف الميتة ,النطف المشوهة و سلامة الغشاء البلازمي والكيميائية (AST وALT) للسائل المنوي خلال المدد3,1 و5 ايام من الحفظ بالتبريد وبدرجة حرارة (5 م°).تم جمع السائل المنوي من 5 كباش عواسية معدل أعمارها بين3–4 سنة،قسم السائل المنوي الى اربعة مجاميع اضيف اليها فيتامين B12 بتراكيز مختلفة (0,1,2,3 ملغم) اشارت النتائج الى تفوق معنوي للتراكيز 2,3 ملغم فيتامين (B12) على التركيز 0,1 ملغم فيتامين في كل الصفات المدروسة اذ سجلت ارتفاعا معنويا ($P \leq 0.05$) في النسبة المئوية للحركة الفردية للمعاملة مقارنة بالسيطرة 24% .78 ± 3.00 مقابل81.13 ± 2.22 % . كما سجلت التجربة ارتفاعا معنويا ($P \leq 0.05$) في النسبة المئوية للنطف الحية (% 82.60± 2.77) و (% 87.49± 3.17) على التوالي مقارنة مع المعاملة السيطرة (73.55%± 6.12) عند التركيز (3,2) في اليوم الاول من التبريد، اما تأثير على الضغط الازموزي فسجل ارتفاعا معنويا ($P \leq 0.05$))(% ± 0.77 78.66%) و (81.33 ± 1.37%) مقارنة مع معاملة السيطرة (62.54 ± 0.45) في اليوم الثالث من التبريد، سجلت التجربة انخفاضا معنويا بتركيزAST وبتركيز ALT (29.11 ± 1.23) و (± 0.49 27.81) مقارنة مع المعاملة السيطرة لكل منهما عند التركيز (3,2) ملغم من فيتامين B12 في اليوم الثالث من التبريد. كما تفوقت التراكيز فيتامين B12 (3,2)ملغم معنويا على التركيز (0,1) ملغم في كل الصفات المدروسة في اليوم الخامس من التبريد.

الكلمات المفتاحية :خزن السائل المنوي/ مضادات التاكسد فيتامين B12 / الكباش العواسية

Effectof adding of vitamin b12 to tris extender and cooling period on the sperms viablilty for awassi rams

Ali Shehab Ahmed -Agriculture college_ University of Diyala
Ali_shehab@ yahoo, com

Abstract

A study was conducted to investigate the effect adding B12 to tris extender on the physical and chemical semen characteristics, the semen storage at (5°C).five Awassi rams 3-4 years of age all semen samples were tested for physical characters such as(individual motility ,live and dead sperm ,abnormal sperm%, ,Hypoosmotic test %, ALT and AST). Semen from each rams in the groups were pooled and divided

into four parts to study the effect of adding different concentrations of antioxidants B12 to the diluent of semen .The added B12, was (0,1,2,3 mg\ml) , Semen diluent were kept in refrigerator (5°C). The results showed that there were significant differences between the concentration (2,3, mg\ml) B12 comparison to(0,1mg\ml) B12 in individual motility 3.00 ± 78.42 , 2.22 ± 81.13 % and 0.19 ± 75.62 , 3.17 ±87.49 in live and dead sperm comparison to control 12 ±73.55 at first day, and Hypoosmotic 0.77 ± 78.66 ,1.37 ± 81.33 comparison to control 0.45 ± 62.54ALT and AST , 0.49 ± 27.81 ,1.19 ± 26.29 comparison to control1.34 ± 33.53 % at third day and there were significant differences between the concentration (2,3, mg\ml) B12 comparison to(0,1mg\ml) in all characters at fifth day.

Key word: the storage of semen/ antioxidants (B12)/Rams

المقدمة

قام الباحثون بعمل دؤوب لإيجاد السبل الكفيلة لرفع الكفاءة التناسلية والإنتاجية لقطاع الثروة الحيوانيةعن طريق اتباع الوسائل التقنية الحديثة كتقنيه التلقيح الاصطناعي التي تعتمد على توفير سائل منوي بمواصفات وخصائص جيدة (14) وذلك بأتباع الطرق الحديثة في تخفيف وتجميد السائل المنوي التي يمثل50% من معوقات نجاح عملية التلقيح الاصطناعي (1) . اشارت الكثير من الدراسات الى التأثيرات السلبية لعملية تجميد السائل المنوي في نوعية النطف وقد اشار (20) الى التأثيرات السلبية لعملية تبريد السائل المنوي في معدل بقاء النطف حية كما بين (2)التأثيرات السلبية لعملية التبريد في دهون الاغشية المكونة النطف وتلفها مما يؤدي الى موت الحيامن وخروج انزيمات البلازما المنوية لذلك قام الباحثون بحل مشكلة تأثير التبريد والتجميد في حيوية الحيامن من خلال استعمال بعض المركبات التي تحافظ على اغشية النطف من التبريد وبالتالي رفع نسبة حيوية السائل المنوي المبرد او المجمد كاستعمال سكر Trehalose الذي رفع نسبة النطف الحية بعد عملية التبريد و التجميد والاذابه (15). كما بين (3) بأن اضافة فيتامينات B6،B1 وB12لها دورا ساسي في الحفاظ على نوعية السائل المنوي ورفع نسبة خصوبة القطيع كما اكد (10) ان اضافةB12 الى مخفف السائل المنوي يؤدي الى تحسين نوعية النطف وقدرتها على الاخصاب بعد تبريد او تجميد السائل المنوي في الكباش كما لاحظ (9). ان اضافة فيتامين B12 الى مخفف السائل المنوي يعمل على التقليل من تكون مركب ROS اضافه فيتامين B12الى السائل المنوي حسن من صفات النطف أي ادى الى انخفاض التاثيرات السلبية لأنواع الاوكسيجني التفاعلي في السائل المنوي كما بين (13) الى الانخفاض المعنوي في انتاج النواع الاوكسيجني التفاعلي في السائل المنوي نتيجة انخفاض تركيز انزيم AST بعد تبريد السائل المنوي كذلك بين (11) بأن هناك انخفاضا معنويا في تركيزAST للسائل المنوي المضاف اليه فيتامين B12 في الأكباش . لهذه الأسباب اجري هذه البحث لغرض دراسة تأثير اضافة فيتامين B12 الى مخفف ترس على الصفات الفيزيائية والكيميائية للسائل المنوي في الكباش العواسية

المواد وطرائق العمل

أجريت هذه الدراسة في حقل الاغنام و الماعز التابع لقسم الإنتاج الحيواني في كلية الزراعة ، جامعة ديالى.أستعمل فيها (5) كباش عواسية محلية معدل أعمارها بين 3-4 سنة ، لغرض دراسة تأثير فيتامين B12 في حيوية السائل المنوي عن طريق أضافته الى مخفف السائل المنوي Tris ومعرفة التركيز المناسب لهذه المضادات وتأثيرها في حيوية النطف خلال المدد3,1, و5 ايام من الحفظ بالتبريد وبدرجة حرارة، (5 م°) خضعت الحيوانات الى نظام غذائي موحد الجدول (1). دربت كباش التجربة على عملية جمع السائل المنوي لمدة 30 يوماً قبل بدء التجربة باستخدام المهبل الاصطناعي الخاص بالأغنام والماعز، تم جمع السائل المنوي من كباش التجربة مرة واحدة كل أسبوع طوال مدة التجربة وزعت الحيوانات عشوائيا الى اربعة مجاميع وكما يأتي:-

معاملة السيطرة :T0: خفف السائل المنوي بمخفف Tris بدون اضافة B12

المعاملة الأولى T1: أضيف B12 بواقع1 ملغرام/ 1مل مخفف Tris.

المعاملة الثانية T2: أضيف B12 بواقع2 ملغرام/2مل مخفف Tris.

المعاملة الثالثة T3: أضيفB12 بواقع 3 ملغرام / 3مل من مخفف Tris.

بعد تحضيرمخفف Tris (جدول 2) وضح في الحمام المائي بدرجة حرارة (37مْ) قبل عملية جمع السائل المنوي . فبعد جمع عينة السائل المنوي وضع السائل المنوي في الحمام المائي على درجة حرارة (37 مْ) وتم بعد ذلك جمع عينات السائل المنوي للمكررات في المعاملة الواحدة (Pooling) وقسمت على أربعة أقسام متساوية تم وعزل بلازما السائل المنوي المخففة عن النطف باستخدام جهازالطرد المركزي بسرعة (4000 دورة/ 30دقيقة) وتم الاحتفاظ بالبلازما السائل المنوي بالتجميد لغرض أجراء الفحوصات الكيمياحيوية التي شملت قياس تركيز الانزيمات الناقلة لمجموعة الامين وهي (ALT Asparat amino Transaminase (AST) Alanine amino Transaminase). اضيف الى مخفف Tris التراكيز المختلفة من فيتامينB12الداخلة في التجربة وبالتراكيز المثبتة لكل منها والتي تمت الاشارة اليها سابقا وبنسبة تخفيف 5:1 ، إذ تم اضافة المخفف الى السائل المنوي وبصورة تدريجية داخل الحمام المائي . توضع العينات في بيكر يحتوي على ماء بدرجة حرارة (30 مْ) ، وبعدها يوضع في الثلاجة وبعد استقرار درجة الحرارة عند درجة (5مْ) أخذت القراءات بعد كل يوم من الايام المثبتة ادناه وذلك بأخذ قطرة من السائل المنوي المبرد و وضعها على شريحة زجاجية نظيفة و دافئة في الحاضنة على درجة حرارة (30مْ) . اجري في نهاية كل اسبوع من التجربة جمع السائل المنوي من حيوانات المعاملات كافة التي اجريت عليها الفحوصات الآتية :-

الحركة الفردية Individual Motility قدرت حسب طريقة المعتمدة من قبل (19) اما نسبة النطف الميتة والحية بطريقة (18) وتم حساب نسبة النطف المشوهة حسبت بطريقة (4).

اختبار سلامة الغشاء البلازمي (HOST):- Hypoosmtic swelling Test

قدرت النسبة المئوية للنطف ذات الغشاء البلازمي السليم بحسب طريقة (5) حيث وضع 10.0µg من السائل المنوي في أنبوبة اختبار ويضاف اليه محلول Hypo-osmotic solution (fructose 8.72 g\L و Sodium citrate 4.74 g\L) والذي يبلغ ضغطة الازموزي 100 mOsm\L ،والاس الهيدروجيني(PH) (8.00)، و ووضع في الحمام المائي لمدة 60 دقيقة وفي درجة حرارة (37 مْ) ، ومباشرة بعد أنتهاء مدة الحضن نأخذ قطرة من السائل المنوي ونضعها على شريحة زجاجية نظيفة بدرجة حرارة (37 مْ)، و وضع غطاء الشريحة (cover slide) على العينة وتم فحصها تحت المجهر بقوة تكبير (400X) وتم عد النطف في حقول مختلفة من الشريحة بعد ذلك حسبت النسبة المئوية للنطف المنتفخة الراس و الملفوفة الذيل.

قياس تركيز الانزيمات الناقلة لمجموعة الامين وهي :-

AST(U\L) and ALT (U\L).

تم أجراء تقدير لهذه الانزيمات وذلك بحسب تعليمات شركة Biomaghrtta المجهزة للعدةKit حسب طريقة المعتمدة من قبل (12)

التحليل ألإحصائي للبيانات :

نفذت التجربة باستعمال التصميم العشوائي الكامل (CRD) وجرى تحليل بيانات حسب برنامج الاحصائي الجاهز (17) وقورنت متوسطات المعاملات لكل صفة باستعمال اختبار دانكن متعدد الحدود(7) لتحديد معنوية الفروق بين متوسطات. حسب النموذج الرياضي الاتي :

$$Yij = u + ti + eij$$

U : المتوسط الحسابي

Ti : تاثير المعاملة(إضافة فيتامين B12)

Eij : تاثير خطا التجريبي للمشاهدة j

جدول(1) المواد العلفية المستخدمة في تكوين العلائق المركزة

المركب	النسبة المئوية %
نخالة	45
شعير	45
طحين	9
كلس	0.5
ملح	0.5
**بروتين خام	11.7

جدول (2) مكونات مخفف Tris

المكونات	التركيز
Tris (hydroxymethyl amino methane) $(CH_2OH_3)CNH_2$ molecular weight 121.14	3.63g\100ml
Citric acid monohyrdate ($C_6H_8O_7.H_2O$).	1.99g\100ml
Glucose	0.50 g\ 100ml
Osmotic pressure	300 mOsm
Egg yolk (Fresh unfertilized eggs)	10ml\100ml
PH	7.0
Penicilline	100.000 IU\100ml
Streptomycin	100mg\100ml

(16)

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج التجربة اليوم اول من التبريد (جدول 3) ارتفاعامعنويا ($P \leq 0.05$) في النسبة المئوية للحركة الفرديةللنطف عند المعاملة T2(78.42 ± 3.00%) و T3 (81.13 ± 2.22%) مقارنة مع المعاملات T0وT1 كما بينت نتائج اليوم الثالث من التبريد (الجدول رقم 4) ارتفاعا معنويا ($P \leq 0.05$) في النسبة المئوية للحركة الفردية للنطف عند المعاملة T2 (75.22 ± 1.20) و T3 (77.11 ± 0.12) على التوالي مقارنة مع المعاملات الاخرى كذلك وجد نفس التاثير للفيتامين في النسبة المئوية للحركة الفردية للنطف عند المعاملة T2وT3 في اليوم الخامس من التبريد جدول (5) قد يعزى في سبب هذا التفوق إلى أن فيتامين B12 يعد أحد العوامل المضادة للأكسدة، إذ يحمي النطف من أضرار الأكسدة الناتجة من فعل الجذور الحرة ، إذ إن ارتفاع مستوى الجذور الحرة يسبب خللاً في المنطقة الوسطى للنطفة (Midpice) التي تعد المركز الرئيسي لانتاج مركب الطاقة أدنوسين ثلاثي الفوسفيت (ATP) ومن ثم فإن تأثر هذه المنطقة بارتفاع مستوى الجذور الحرة يقلل من مصدرالطاقة المجهزة للنطف وبالتالي تنخفض حيوية وحركة النطف (11) وهذه النتيجة مشابهة لما وجده (10) . كما اشارت نتائج الدراسة الى الارتفاع معنوي ($P \leq 0.05$) في النسبة المئوية للنطف الحية عند المعاملة T 2 و T3 (82.60± 2.77) و (87.49± 3.17) النسب على التوالي مقارنة مع (T0)(73.55± 6.12) في اليوم الاول من التبريد(جدول 3). وجد ارتفاعا معنويا أيضا ($P \leq 0.05$) في النسب المئوية للنطف الحية عند المعاملة T2و T3 (73.23 ± 3.83) و (78.22 ± 2.22) مقارنة مع T0وT1(جدول 4) في عند اليوم الخامس من التبريد جدول وقم(5).

وجد انخفاضا معنويا ($P \leq 0.05$) في النسبة المئوية للنطف الميتة عند المعاملة T2وT3 (6.37 ± 13.51 ± 4.18)(7.40على التوالي مقارنة مع المعاملات T0وT1 في اليوم الاول من التبريد (جدول3). كما سجلت االدراسة انخفاضا معنويا ($P \leq 0.05$) في النسبة المئوية للنطف الميتة عند المعاملة T2وT3 (27.77 ± 4.45) و (22.88 ± 2.71) على التوالي مقارنة مع T0، T1 في اليوم الثالث من التبريد (جدول 4) وسجلت الدراسة انخفاضا معنويا ($P \leq 0.05$) في النسبة المئوية للنطف الميتة عند المعاملة T2وT3 مقارنة مع T0 (28.90 ± 4.45) و (25.77 ± 2.66) النسب بالترتيب (جدول 5) ان ارتفاع النسبة المئوية للنطف الحية مع انخفاض نسبة المئوية للنطف الميتة للمجاميع مقارنة بمجموعة السيطرة خلال مدد التجربة قد تعود إلى أن فيتامين B12 يمنع إنتاج انواع ألاوكسجين التفاعلي (ROS) التي تعد أحد نواتج الأكسدة والتي تؤدي الى حصول ضرر للغشاء البلازمي الذي يحتوي على نسبة عالية من الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة Polyunsaturated fatty acid التي تؤدي إلى تلف الغشاء البلازمي للنطف ، لذا ارتباط فيتامين B12 بايلوجيا في تركيب الغشاء البلازمي مما يودي الى منع الضرر الذي تنتجه العوامل الأكسدة (10)،توافقت هذه النتيجة مع ما وجده(3) الذي وجد نفس النتيجة التي اشارت الى فيتامين B12 يمنع إنتاج انواع ألاوكسجين التفاعلي مما ادى الى عدم تاثر النطف.

بالنسبة الى تأثير B12 في النطف المشوهة لم يسجل أي تأثير يذكر للمعاملات اثناء مدد التبريد خلال الدراسة قد يعود السبب الى دور فيتامين B12في خفض نسبة التشوهات التي تحصل في الغشاء البلازمي والاكروسوم وذلك من خلال عمل فيتامين B12 على زيادة فعالية إنزيم السوبر أوكسايد ديمستيز(Superoxide (SOD dismatase ، التخلص من جذرالسوبرأوكسايد (Superoxid anions) الذي يشجع على انتاج البيروكسيدات التي تسبب تسبب تلف الغشاء البلازمي والاكروسوم عند التبريد نطف الكباش(20) .

اما تأثيرB12 على الضغط الازموزي فسجل ارتفاعا معنويا ($P \leq 0.05$) للمعاملات T1وT2وT3 (2.11 74.61 ±)(75.41 ± 1.62)(77.71 ± 2.33) مقارنة مع معاملة T0 (66.92 ± 2.61) في اليوم الاول من التبريد (جدول 3) .

كما وجد ارتفاعا معنويا ($P \leq 0.05$) للمعاملة T2 و T3(78.66 ± 0.77) و (81.33 ± 1.37) مقارنة مع المعاملة T0وT1 (62.54 ± 0.45) و (72.87 ± 1.68) (جدول 4) . كما سجل اليوم الخامس من التبريد نفس التأثير لB12 على الضغط الازموزي للمعاملة T2 و T3 مقارنة مع المعاملة T0وT1الجدول رقم (5) قد يعود السبب في الزيادة الواضحة في النسبة المئوية في تحمل الغشاء البلازمي للنطف لاختلاف الضغط الازموزي للمعاملات التي التي اضيفت لها فيتامين B12نتيجة للزيادة الحاصلة في الحركة النطف وتركيزها وأنخفاض نسبة النطف الميتة (13).

وبينت الدراسة انخفاضا معنويا ($P \leq 0.05$) للمعاملات T2وT3 لتركيز AST و ALT (1.57 ± 24.21) و (22.72 ± 0.11) مقارنة مع المعاملات T0وT1 (34.34 ± 1.00) و (0.37 ± 30.32) جدول رقم (3) . كما سجل اليوم الثالث من التبريد نفس التأثير لB12 على تركيز AST و

ALT للمعاملة T2 و T3 مقارنة مع المعاملة T0و T1الجدول رقم (4). وبينت نتائج الجدول رقم (5) انخفاضا معنويا لتركيز AST للمعاملات T2 وT3 (25.78 ± 1.65) ، (26.49 ± 2.56) مقارنة مع T0وT1 (35.38 ± 0.52) ، (30.72 ± 1.33) على التوالي كذلك انخفاضا معنويا بتركيز ALT عند T2، T3 (26.77 ± 2.57) و (26.00 ± 0.47) مقارنة مع T0وT1 (34.71 ± 1.22) ، (1.55 ± 33.72) قد يعود السبب في انخفاض انزيم لتركيزAST و ALT نتيجة انخفاض النسبة المئوية للنطف الميتة مع انخفاض في نفاذية غشاء خلية النطفة مما يؤدي الى عدم تحرر الانزيمات الى بلازما السائل المنوية مما يدل على حيوية النطف (9) وهذه النتيجة مطابقة لما وجده(2) و(6).

الاستنتاج : نستنتج ان إضافة فيتامين B12 الى السائل المنوي المبرد أدى التقليل من إضرار التبريد في حيوية نطف الاكباش العواسية المحلية .

مصادر

1- **Abd Al Kareem Abd Al Reda Hobi , 2002 , The effect of different artificial insemination techniques . on fertility of goat.**
2- **Asadpour,R.M., 2012**. The effects of adding vitaminB12 and def ciency on sperm maturation in developing in rams. Small Rumin. Res.; 11 : 11 – 21
3- **Cai,J.G.,2004.** The effects of adding vitaminB12 in sperm diluter on quality of cooling semen in rams. Small Rumin. Res.; 5 : 66 – 75
4- **Chemineau , P. ; Cogine , Y. ; Guerin , Y. ; Orgeure , P. and Valtet ,** J.C. (1991) **.** Training Manual on Artificial Insemination in sheep and goats . FAO , Animal Production and Health Paper 83
5- **Delgadillo , J.A. ; Leboeuf , B. and Chemineau , P. (1992) .** Abolition of seasonal variation in semen quality and maintenance of sperm fertilizing ability by photoperiodic cycles in goat bucks . Small Rumin. Res.; 9 : 47 – 59 .
6- **Drobnis, E Z., Crowe, L Berger, T., Anchordoguy**, 1993. Cold shock damage is due to lipid phase transitions in cell membranes: a demonstration using sperm as a model. J Exp . Zool. 265, 432 - 437.
7- **Duncan , D.B. (1985) . Multiple range and Multiple Biometrics. 11: 1- 42**
8- **El Darawany, A A. 1999**. Improving semen quality of heat stressed rams in Egypt. Indian J. Anim. Sci 9, 1020 - 1023
9- **Foote, P. ; DAIIL , G. ; DEEM , M. and POOL. (2002)** . Recent Advances in the Control of Goat Reproduction . CIHEAM – Option Mediterraneennes : 29 – 37 .
10- **Halliwell, B. and Gutterridge, J. 1984**. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy. Lancet 1, 1396 - 1398
11- **Hu, J.H., Tian, W.Q., Zhao, X. L., Zan, L.S., Xin, Y.P. and Li, Q.W. 2011**. The cryoprotective effects of vitamin B12 supplementation on bovine semen quality. Reprod. Domest. Anim. 46, 66 - 73.

12- **Kind,P.R.N and , king E, J, 1954.**Estimation of plasma phosphate by determination of hydrolyzed phenol with amino_antipyrine .J.Clin. Path 7:322 – 326

13- **Neild D.M. ; Bart , M.G. ; Mara , G.C. ; Marcelo , H.M. ; Ben , C. and Alicia , A. (2003) .** Membrane changes during different stages of a freeze – thawed protocol for equine semen cryopreservation. Theriogenology.; 59 : 1693 – 1705 .

14- **Ritar , A.J. and Salamon , S. (1993) .** Fertility of fresh and frozen – thawed semen of the Angora goat . Aust . J. Biol. Sci. ; 36 : 49 – 59 .

15- **Rober , S.J. (2005) .** Artificial Insemination .In: Veterinary Obstetrics and Genital Diseases . 2nd Ed. Ithaca, New York Theriogenology.; 31 : 1577 – 1683 .

16- **Salamon, S .and Maxwell, W.M.C.2000.** Storage of ram semen . Anim Reprod Sci, 62: 77-111

17- **SAS. (2010) . SAS / STAT Users Guide for personal computers. Releas 6.12.SAS Inst. Inc. NC. USA**

18- **Swanson, E.W. and Beardon, H.J.1951.**An eosin nigrosin stain differentiating live and dead bovine spermatozoa. J. Anim .Sci. 10: 981-987.

19- **Walton, A.1933**.Technique of artificial insemination .Mp. Bur. Anim . Genet, 56, Iiius – Edinburgh

20- **Watanabe, T., Ohkawa, K., K sai, S., Ebara, S., Nakano, Y.** and 2003. The effects of dietary vitaminB12 - def ciency on sperm maturation in developing and growing male rats. Congenit. Anom. (Kyoto). 43, 57 - 64**.**

21- **White, W.M. and Joe , P. (1993) .** Fertility of fresh and frozen – thawed semen of the goat . Aust . J. Biol. Sci. ; 22 : 30 – 41 .

جدول (3) تاثير اضافة فيتامين B12 في صفات النطف بعد يوم من التبريد (المتوسط± الخطأ القياسي).

المعاملات	نسبةالحركة الفردية%	نسبة النطف الحية%	نسبة النطف الميتة%	نسبة النطف المشوهة%	الضغط الازموزي%	تركيز ال AST U/L	تركيز ال ALT U/L
T0	4.72 ± 68.52 [b]	6.12 ± 73.55 [b]	5.22 ± 27.45 [a]	4.12 ± 16.23 [a]	2.61 ± 66.92 [b]	1.00 ± 34.34 [a]	0.26 ± 31.29 [a]
T 1	3.32 ± 70.43 [b]	0.19 ± 75.62 [b]	3.11 ± 24.38 [a]	2.12 ± 15.23 [a]	2.11 ± 74.61 [a]	0.37 ± 30.32 [a]	0.21 ± 29.43 [a]
T 2	3.00 ± 78.24 [a]	2.77 ± 82.60 [a]	6.37 ± 17.40 [b]	3.77 ± 15.44 [a]	1.62 ± 75.41 [a]	1.57 ± 24.214 [b]	0.37 ± 25.39 [b]
T 3	2.22 ± 81.13 [a]	3.17 ± 87.49 [a]	4.18 ± 13.51 [b]	1.21 ± 15.26 [a]	2.33 ± 77.71 [a]	0.11 ± 22.72 [b]	0.54 ± 25.50 [b]

المتوسطات التي تحمل أحرفا مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينهما. ($P \leq 0.05$).

معاملة السيطرة :T0: خفف السائل المنوي بدون اضافة B12 . لمعاملة الأولى T1: أضيف B12 بواقع1 ملغرام/ 1مل مخفف ترس.
المعاملة الثانية T2: أضيف B12 بواقع2 ملغرام/2مل مخفف ترس . المعاملة الثالثة T3: أضيفB12 بواقع 3 ملغرام / 3مل من مخفف ترس

جدول (4) تاثير اضافة فيتامين B12 في صفات النطف بعد 3 أيام من التبريد (المتوسط± الخطأ القياسي) .

المعاملات	نسبةالحركة الفردية%	نسبة النطف الحية%	نسبة النطف الميتة%	نسبة النطف المشوهة%	الضغط الازموزي%	تركيز ال AST U/L	تركيز ال ALT U/L
T0	2.22 ± 64.33 [b]	6.12 ± 63.24 [b]	3.53 ± 37.76 [a]	2.63 ± 15.53 [a]	0.45 ± 62.54 [c]	0.63 ± 36.51 [a]	1.34 ± 33.53 [a]
T 1	2.57 ± 68.27 [b]	2.64 ± 67.72 [b]	2.66 ± 33.28 [a]	1.11 ± 15.42 [a]	1.68 ± 72.87 [b]	0.27 ± 33.27 [a]	0.76 ± 32.17 [a]
T 2	1.20 ± 75.22 [a]	3.83 ± 73.23 [a]	4.45 ± 27.77 [b]	2.32 ± 15.21 [a]	0.77 ± 78.66 [a]	1.23 ± 29.11 [b]	0.49 ± 27.81 [b]
T 3	0.12 ± 77.11 [a]	2.22 ± 78.22 [a]	2.71 ± 22.88 [b]	0.64 ± 14.33 [a]	1.37 ± 81.33 [a]	1.03 ± 26.73 [b]	1.19 ± 26.29 [b]

المتوسطات التي تحمل أحرفا مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينهما. ($P \leq 0.05$).

معاملة السيطرة :T0: خفف السائل المنوي بدون اضافة B12 . لمعاملة الأولى T1: أضيف B12 بواقع1 ملغرام/ 1مل مخفف ترس.

المعاملة الثانية T2: أضيف B12 بواقع2 ملغرام/2مل مخفف ترس . المعاملة الثالثة T3: أضيفB12 بواقع 3 ملغرام / 3مل من مخفف ترس

جدول (5) تاثير اضافة فيتامين B12 في صفات النطف بعد 5 أيام من التبريد (المتوسط± الخطأ القياسي) .

المعاملات	نسبةالحركة الفردية%	نسبة النطف الحية%	نسبة النطف الميتة%	نسبة النطف المشوهة%	الضغط الازموزي%	تركيز ال AST U/L	تركيز ال ALT U/L
T0	3.51 ± 60.54 b	3.12 ± 60.73 b	2.56 ± 39.23 a	2.63 ± 15.53 b	0.34 ± 60.78 b	0.52 ± 35.38 a	1.22 ± 34.71 a
T 1	1.17 ± 63.00 b	3.11 ± 62.45 b	3.56 ± 37.55 a	1.11 ± 15.42 b	1.68 ± 64.87 b	1.33 ± 30.72 a	1.55 ± 33.72 a
T 2	1.00 ± 74.32 a	3.23 ± 71.10 a	4.45 ± 28.90 b	2.32 ± 15.21 a	1.44 ± 74.37 a	1.65 ± 25.78 b	2.57 ± 26.77 b
T 3	1.11 ± 75.22 a	1.12 ± 74.33 a	3.22 ± 25.77 b	0.64 ± 14.33 a	0.44 ± 78.17 a	2.56 ± 26.49 b	0.47 ± 26.00 b

المتوسطات التي تحمل أحرفا مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينهما. ($P \leq 0.05$).

معاملة السيطرة :T0: خفف السائل المنوي بدون اضافة B12 . لمعاملة الأولى T1: أضيف B12 بواقع1 ملغرام/ 1مل مخفف ترس.

المعاملة الثانية T2: أضيف B12 بواقع2 ملغرام/2مل مخفف ترس . المعاملة الثالثة T3: أضيفB12 بواقع 3 ملغرام / 3مل من مخفف ترس.