فسلجة التناسل والتلقيح الاصطناعي

(عملي)

المرحلة الثالثة – قسم الانتاج الحيواني

الدرس العملي الرابع : تقييم السائل المنوي من حيث الشكل

درس الكثير من الباحثين البنية التشريحية الدقيقة للنطفة ، ولكن التفاصيل الدقيقة لتركيب الحيوان المنوي وابعاده ، لم تعرف الا بعد اكتشاف المجهر الالكتروني . تتصف النطفة عند الحيوانات الزراعية بانها ذات شكل خيطي وطول يتراوح ما بين (50-70 ميكرونا) . وتتالف من رأس ، وذيل يتمفصلان بعنق صغير . وتختلف نطاف الانواع الحيوانية عن بعضها من حيث المظهر بشكل الراس وطول الذيل .

الهدف :

1- التعرف الى الشكل الطبيعي ، والاشكال غير الطبيعية النطف .

2- التدرب على تحضير الشرائح الملونة ، وتمييز النطف الحية من الميتة

3- تحديد مدى جودة السائل المنوي .

يعد **الرأس** ، الجزء الهام والأساسي في النطفة اذ انه يحمل المادة الوراثية التي ينقلها الذكر الى نسله . يكون شكل هذا الراس بيضوي وابعاده تقريبا (8×4×1) ميكرونا في ذكور المجترات . يغطى الجزء الامامي بقبعة اكروزومية مزدوجة الجدران ينصهر جدارها الخارجي مع الغشاء السيتوبلازمي ، فتتكشف انزيمات عديدة تساعد النطفة على اختراق جدار البويضة في بداية الاخصاب . ولهذا فان أي خلل أو عيب في قبعة هذا الغطاء الاكروزومي سيقود حتما الى فشل الاخصاب .

اما **العنق** ، فهو عبارة عن صفيحة قاعدية تتصل بصورة متمفصلة مع قاعدة الرأس ، وتمتد نحو الخلف على هيئة محور ؛ يتالف من 9 ازواج ليفية ، تمتد بدورها على طول الذيل ، ويتراوح طوله ما بين(0.64-0.85) ميكرونا .

الذيل : هو عضو الحركة عند النطفة ، وينقسم الى ثلاث مناطق : الامامية ، وتسمى القطعة الوسطى ، طولها (8-10) ميكرونا عند الثور ، وتسمى احيانا مصنع الطاقة نظرا لغناها باجسام ميتوكندرية ، تنتظم على هيئة ضفيرة حلزونية تقع تحت الغلاف البلازمي .

ان ما تقدم هو وصف للشكل وللتركيب الطبيعي للنطف ، ويمكن ان تحدث تغيرات أو تشوهات في أي جزء من اجزاء النطفة . وقد تحدث مثل هذه التشوهات أثناء تكون النطف في الخصية ، أو في أثناء القذف أو بعد القذف خلال عمليات مداولة السائل المنوي . وقد حدد نوعان من التشوهات حسب موقع نشوئها . فالتشوهات التي تحدث في أثناء تكون النطف داخل الخصية يطلق عليها **تشوهات أولية** أو **رئيسة** ، وسببها عادة يكون عوامل وراثية ، أو عوامل مرضية ، أو نتيجة لسوء التغذية . اما النوع الثاني من التشوهات ، فتحدث خارج الخصية أو بعد قذف السائل المنوي تسمى **بالتشوهات الثانوية** .على اية حال ان التشوهات سواء اكانت أولية أو ثانوية ، فانها تؤثر في القدرة الاخصابية .وبناء على ذلك يصنف السائل المنوي على انه عالي الجودة اذا لم تتجاوز نسبة النطف المشوهة فيه(5-15%) ومتوسط الجودة اذا كانت نسبة النطف المشوهه (10-20 %). ورديء الجودة عندما تكون نسبة النطف غير الطبيعية(30 %) أو اكثر . وبالرغم من اهمية تمييز هذين النوعين من التشوهات ، وبالتالي معرفة سبب حدوثها ، ومن ثم محاولة تلافيه الا انه من الصعب في كثير من الاحيان التمييز بين هذه التشوهات . لكن ما يجب التنويه اليه ، والاهتمام به هو عدم تعريض النطف لصدمات حرارية أو حلولية (Cold or Osmotic Shocks) في أثناء مداولة السائل المنوي ، وتحضير محاليل التمديد لان اهمال مثل هذه العوامل سيكثر من تشوهات انحناء ، أو التواء الذيل ، أو التفافه . (الشكل رقم 37).

كما ان سوء تحضير الشرائح الملونة قد يؤدي الى انفصال الراس عن الذيل . واخيرا يجب ان نشير الى ان من اهم المؤشرات الدالة على ان النطفة لم تكتسب قدرتها على الاخصاب هو استمرار وجود الحبيبة السيتوبلازمية Cytoplasmic Droplet ملاصقة لذيل النطفة حيث من المفروض ان تسقط نهائيا في منطقة ذيل البربخ أو عند القذف . وعادة تكثر مشاهد هذه الحالة عندما يتم اجهاد الحيوان تناسليا بسبب تكرار عمليات الجمع . كما يجب ان نعلم ان نسبة النطف المشوهة تكون عالية عند الذكور التي لم يجمع السائل المنوي منها لفترة طويلة .

المواد والادوات اللازمة :

1- سائل منوي طازج أو ممدد .
2- ماء مقطر .
3- محلول فيزيولوجي (سترات الصوديوم ذو ضغط حلولي ، ودرجة حموضة مساوية للسائل المنوي) .
4- صبغة لها القدرة على النفاذ عبر الجدار الخلوي للنطفة ، ومن هذه الصبغات ما يعرف بمشتقات الفلوروسين Fluoresin مثل الايوسين Eosin – B والارثيروسين Erythrosin والروز بنكل (الشاي الهندي) Rose-Bengal .
5- حمام مائي .
6- سخانة حرارية .
7- شرائح زجاجية نظيفة .
8- قضبان زجاجية .
9- مجهر ضوئي .
10 - جهاز عد الخلايا .

<u>طريقة تحضير صبغة روز بنكل</u> :

اضف (3 غم) من بودرة روز بنكل الى(99) ميليليتر ماء مقطر ، ثم اضف للمحلول الناتج (1 مل) فورمالين (40 %).

خطوات العمل :

1- ضع(2 الى 3) نقاط من المحلول الفسلجي درجة حرارته (37 مْ) على الشريحة الزجاجية النظيفة .

2- اضف نقطة واحدة من السائل المنوي الممدد (37مْ) بين نقاط المحلول ، وامزج الجميع .

3- انشر ، وبكل تؤدة (دون ضغط) بواسطة شريحة اخرى المزيج السابق على طول الشريحة الأولى .

4- جفف الشريحة الأولى .

5- لون الشريحة بصبغة التلوين (روز بنكل) ، حرارتها (37 مْ) ، وذلك باضافة بضع نقاط من الصبغة على الشريحة ، ثم حاول امالتها بشكل تغطي كل الشريحة .

6- اترك الشريحة وعليها الصبغة لمدة من(5-6) دقائق من اجل ان تجف .

7- ازل الصبغة الزائدة بتغطيس الشريحة في ماء مقطر .

8- جفف الشريحة تماما . ثم ضعها تحت المجهر ، وحاول ان تعد النطف المشوهة ، والسليمة تحت المجهر مستعينا بجهاز العد الخلوي ، على ان لا يقل عدد النطف الكلية المعدودة عن(300) خلية .

9- احسب نسبة النطف المشوهة وفق مايلي :

نسبة النطف غير الطبيعية = عدد النطف المشوهة × 100 / 300

10- تسجل نتائج الطلاب جميعا ثم يحسب المتوسط الحسابي ويعد الرقم الاخير هو النهائي لتقويم السائل المنوي المستخدم .

11- قدر امكانية استخدام السائل المنوي أو عدمه بمقارنة النتيجة النهائية مع المعلومات التي وردت في المناقشة .