دراسة حيوية السائل المنوي المجمد للثيران بإذابته ببعض الإضافات

خالد محمد كرم – كلية الطب البيطري – جامعة القادسية

الخلاصة

تمثلت الدراسة بأخذ ١٢٠ قصبة دقيقة سعة (٠,٢٥)سم٣ حاوية على المني المجمد المنتج في مركز التلقيح الاصطناعي /أبو غريب العائد إلى الهيأة العامة لخدمات الثروة الحيوانية /وزارة الزراعة والمخفف بال TRISوالكليسرول ١٥:١ .تم اذابة القصبات بدرجة صفر مئوي و ٢٠ مئوي و٣٧ مئوي بعد إضافة المخففات التالية ٦:١ والخزن لغاية ٦ ساعات (شملت الاضافات ١.٥ سم ٣ من المحاليل التالية).

١-مجموعة سيطرة دون إضافة أي مخفف.

٢-محلول سترات الصوديوم ٢.٨% .

٣-محلول كلوريد الصوديوم ٠.٩% .

٤-محلول اللاكتوز ١١%.

تم فحص العينات كل ثلاث ساعات ابتداء من صفر ساعة وقد تم تقدير نسبة الحركة الفردية وحساب نسبة النطف الحية.

وقد أظهرت النتائج بان إضافة محلول سترات الصوديوم ٢.٨% ومحلول سكر اللاكتوز ١١% أعطى نتائج أفضل من مجموعة السيطرة وإضافة محلول كلوريد الصوديوم ٠.٩% في كل من الحركة الفردية والنسب المئوية للنطف الحية.

وان الإذابة بدرجة ٣٧ مئوي أفضل من كل من درجة الصفر المئوي و٢٠ مئوي ،وكلما زادت مدة الخزن كلما اختزلت فعالية النطف.

المقدمة

يمثل الإنتاج الحيواني بشقيه أنتاج اللحوم على اختلاف أنواعها و إنتاج الحليب ومشتقاته لمختلف الأصناف الحيوانية مثل الجاموس والأبقار والأغنام والماعز إحدى الركائز الأساسية للاقتصاد الوطني لغالبية البلدان الزراعية . ولغرض تحسين وزيادة الكفاءة الإنتاجية لهذه الحيوانات فمن الضروري رفع الكفاءة التناسلية لكل من الذكور والإناث على حد سواء عبر ممارسة التلقيح الاصطناعي.

ولما كان التلقيح الاصطناعي يمثل الجزء الأكبر من هذه العملية خصوصا وان ممارسته ليست وليدة اليوم بل يعود تاريخها إلى القرن الرابع عشر حيث كان عرب الجزيرة رواد هذه الفكرة والتي تمثلت بنقل السائل المنوي الخام من فرس إلى فرس (١). وقد تبعهم الايطاليون في القرن السابع عشر والأسبان في القرن الثامن عشر لممارسة التلقيح الاصطناعي في حيوانات المزرعة على شكل تجارب تمثلت بتخفيف السائل المنوي.

في بداية القرن التاسع عشر باشر العالم الروسي Ivanoff بتطبيق عملية التلقيح الاصطناعي على إعداد هائلة من حيوانات المزرعة المختلفة المتمثلة بتخفيف وتبريد السائل المنوي بدرجة ٤ مئوي مما أدى إلى انتشار تطبيقه في غالبية بلدان العالم (٢).

إما بخصوص تجميد السائل المنوي كواسطة للخزن إلى فترات طويلة جدا فقد استطاع (٣,٤) من تجميد السائل المنوي للثيران بنجاح كبير بعد إضافة الكلسرول إلى مخفف السائل المنوي وذلك لمنع تبلور الماء داخل خلية النطفة إثناء التجميد والحفظ بدرجة -١٩٦ْم (النتروجين السائل).

وفي أوائل السبعينيات تم استخدام المني المجمد في العراق ابتداء من عام ١٩٧٥ في بغداد وعام ١٩٧٨ في بقية المحافظات (٥).وقد لوحظ من إن نسبة الأبقار الملقحة سنويا باستخدام السائل المنوي المبرد بازدياد طردي بينما لوحظ العكس مع استخدام المني المجمد (٦) لأسباب أدارية والتي قد تكون عديدة وبما أن الهدف الرئيسي من تجميد المني هو أنتاج مصرف لخلايا منوية لكي يتم تلقيحها اصطناعيا والتي تعتبر الوسيلة المثلى في نشر الصفات المنتخبة للذكور ولكن محتويات خلايا النطف التشريحية والكيميوحيوية تتأثر خلال التجميد والإذابة (٨,٧)وأحدى مشاكل التلقيح الاصطناعي قد يعود إلى عدم كفاءة وسائل إذابة السائل المنوي المجمد المتمثلة بدرجات الحرارة المستخدمة للإذابة أو ضرورة تنشيط النطف بعد الإذابة كإضافة بعض المخففات الخاصة بذلك وعليه فالدراسة الحالية تهدف:

١-دراسة كفاءة بعض المخففات لإدامة السائل المنوي المجمد لتنشيط النطف قبل استعماله للتلقيح الاصطناعي.

٢-دراسة أفضل درجة حرارة لإذابة السائل المنوي المجمد قبل الاستخدام.

المواد وطرق العمل

أولا :السائل المنوي:

مصدر السائل المنوي:

تم الحصول على السائل المنوي المجمد للثيران من مركز التلقيح الاصطناعي – أبو غريب العائد إلى الهيئة العامة لخدمات الثروة الحيوانية /وزارة الزراعة،وقد تمثل بالسائل المنوي المجمد بالقصبات الدقيقة سعة ٠.٢٥ مل والبالغ عددها ١٢٠ قصبة من الثور المرقم ١٥٠٥ نوع فريزيان والبالغ من العمر ٧ سنوات . ثم تم تخفيف السائل المنوي المأخوذ باستخدام التريس و الكليسرول ٧% وبنسبة تخفيف ١:١٥.

حفظ السائل المنوي:

تم حفظ القصبات الدقيقة الحاوية على السائل المنوي المجمد إثناء إجراء التجارب في قناني معدنية سعة ٥٠ لتر مملوء بالنتروجين السائل (بدرجة تجميد -١٩٦ م).

ثانيا: إذابة السائل المنوي المجمد:

تمت إذابة السائل المنوي المجمد بعد قطع نهايتي كل قصبه(٠.٢٥ سم٣) بالمقص للسماح بانسياب السائل المنوي في أنابيب اختبار مرقمة سعة ١٠ مل والمغمورة في حمامات مائية مثبتة بدرجة صفر مئوي و ٢٠ ْم و ٣٧ ْم وإضافة المخففات (ألإضافات) التالية بنسبة ٦:١ بواقع (١.٥ سم٣) وخزنها لغاية ٦ ساعات.

١-محلول سترات الصوديوم بتركيز ٢.٨% وقد تم تحضيره بإذابة ٢.٨ غم من سترات الصوديوم إلى ١٠٠ مل ماء مقطر ثم الغلي والترشيح والتبريد لغاية ٢٠ ْم (حرارة المختبر).

٢-محلول كلوريد الصوديوم بتركيز ٠.٩% (محلول الملح الفسيولوجي) وقد تم تحضيره بإذابة ٠.٩ غم كلوريد الصوديوم الى ١٠٠ مل ماء مقطر ثم الغلي والترشيح والتبريد لغاية ٢٠ ْم (حرارة المختبر).

٣-محلول سكر اللاكتوز ١١% وقد تم تحضيره بإذابة ١١ غم سكر اللاكتوز إلى ١٠٠ مل ماء مقطر ثم الغلي والترشيح والتبريد لغاية ٢٠ ْم (حرارة المختبر).

تم ترتيب أنابيب الاختبار كل حسب نوع الإضافة ودرجة حرارة الإذابة فكانت كما يلي:

الإذابة بدرجة صفر مئوية :

فقد تم وضع أربع أنابيب اختبار تحتوي كل منها على إحدى الإضافات كما يلي:

أ- أنبوبة اختبار تحمل رقم C-0 تحوي سائل منوي مذاب فقط دون أي إضافة (مجموعة سيطرة).

ب- أنبوبة اختبار تحمل رقم 1-0 تحوي سائل منوي مذاب مضاف له محلول سترات الصوديوم ٢.٨% .

ج- أنبوبة اختبار تحمل رقم 2-0 تحوي سائل منوي مذاب مضاف له محلول كلوريد الصوديوم ٠.٩%.

د- أنبوبة اختبار تحمل رقم 3-0 تحوي سائل منوي مذاب مضاف له محلول سكر اللاكتوز ١١%.

الإذابة بدرجة ٢٠ ْم :

فقد تم وضع أربع أنابيب اختبار تحتوي كل منها على إحدى الإضافات كما يلي:

أ- أنبوبة اختبار تحمل رقم C-20 تحوي سائل منوي مذاب فقط دون أي إضافة (مجموعة سيطرة).

ب- أنبوبة اختبار تحمل رقم 1-20 تحوي سائل منوي مذاب مضاف له محلول سترات الصوديوم ٢.٨% .

ج- أنبوبة اختبار تحمل رقم 2-20 تحوي سائل منوي مذاب مضاف له محلول كلوريد الصوديوم ٠.٩%.

د- أنبوبة اختبار تحمل رقم 3-20 تحوي سائل منوي مذاب مضاف له محلول سكر اللاكتوز ١١%.

الإذابة بدرجة ٣٧ْم :

فقد تم وضع أربع أنابيب اختبار تحتوي كل منها على إحدى الإضافات كما يلي:

أ- أنبوبة اختبار تحمل رقم C-37 تحوي سائل منوي مذاب فقط دون أي إضافة (مجموعة سيطرة).

ب- أنبوبة اختبار تحمل رقم 1-37 تحوي سائل منوي مذاب مضاف له محلول سترات الصوديوم ٢.٨% .

ج- أنبوبة اختبار تحمل رقم 2-37 تحوي سائل منوي مذاب مضاف له محلول كلوريد الصوديوم ٠.٩%.

د- أنبوبة اختبار تحمل رقم 3-37 تحوي سائل منوي مذاب مضاف له محلول سكر اللاكتوز ١١%.

ثالثا :تقييم السائل المنوي:

تم تقييم السائل المنوي على مدى عشرة محاولات وبمعدل ٣٦ عينة لكل محاولة كل ثلاث ساعات خلال الخزن على مدى صفر،٣، ٦ ساعات و الإذابة بدرجة(صفر ،٢٠ ،٣٧) مئوي لإغراض تقدير النسبة المئوية لحركة النطف الفردية وحساب النسبة المئوية للنطف الحية وعلى نحو التالي تحت المجهر.

تقييم النسبة المئوية لحركة النطف الفردية:

تم وضع قطرة من السائل المنوي المذاب على شريحة زجاجية ثم تغطيتها بشريحة زجاجية رقيقة ووضعها على المسرح الدافئ الخاص بالمجهر بدرجة ٣٧ْم وتم الفحص بتكبير ١٥× ٤٠ ثم إتباع التقديرات التالية حسب ما أوضحه(٧). :

النسبة المئوية	حركة النطف التقدمية الأمامية
صفر – ٥	عموما كافة النطف غير متحركة
١٠ – ٢٠	بعض النطف متحركة
٣٠ - ٤٠	غالبية النطف غير متحركة
٥٠ – ٦٠	نصف النطف متحركة
٧٠ – ٨٠	غالبية النطف متحركة
٩٠ – ١٠٠	عموما كافة النطف متحركة

حساب النسبة المئوية للنطف الحية:

لغرض حساب النطف الحية فقد تم استخدام صبغة الايوسين والنكروسين المحضرة طبقا إلى (٨) وكما يلي:

رابعا :التحليل الإحصائي :

أجريت العمليات الإحصائية للنتائج المتمثلة بالنسبة المئوية لكل من الحركة الفردية للنطف والنطف الحية. وقد تم إجراء التحليل الإحصائي للمتغيرات Analysis of variance حسب طريقة (٩) وقد ثبتت النتائج على شكل معدلات ±الخطأ القياسي كما موضحة في الجداول (١–٦) .

النتائج

لقد تبين إن الإذابة بدرجة صفر مئوي و ٢٠ ْم وخلال الخزن (صفر) ساعة لا توجد فروق معنوية ما بين كل من مجموعة السيطرة وإضافة سترات الصوديوم من جهة وإضافة كلوريد الصوديوم وسكر اللاكتوز من جهة أخرى ولكن إضافة سترات الصوديوم بدرجة صفر مئوي أعطت نتائج أفضل من إضافة كلوريد الصوديوم وبفارق معنوي (P <٠.٠٥).

بينما الإذابة بدرجة ٣٧ ْم فان حركة النطف قد تباينت حيث أفضلها بعد إضافة سترات الصوديوم ثم مجموعة السيطرة وإضافة سكر اللاكتوز ،وإضافة كلوريد الصوديوم كما موضح (جدول رقم ١)،وإحصائيا فان إضافة سترات الصوديوم ومجموعة السيطرة كانت أفضل من بقية الإضافات وبفارق معنوي(P <٠.٠٥).

إما بعد الخزن لفترة ٦,٣ ساعات فالنتائج كانت متباينة جدا حيث حركة النطف كان أفضلها عند إضافة سترات الصوديوم وإضافة سكر اللاكتوز مقارنة مع مجموعة السيطرة و كلوريد الصوديوم بعد الخزن ثلاث ساعات ،وإحصائيا لا يوجد أي فرق معنوي بين الإضافات سواء بدرجة صفر مئوي او ٢٠ ْم او ٣٧ ْم (جدول رقم ١).

إما بعد الخزن لفترة ٦ ساعات فلوحظ تفوق سترات الصوديوم وسكر اللاكتوز عن باقي الإضافات عند الإذابة بدرجة صفر مئوي وبفارق معنوي كما موضح في(الجدول رقم ١) .

إما إحصائيا فيوجد فارق معنوي بين الإضافات بدرجة صفر مئوي حيث سترات الصوديوم وسكر اللاكتوز أفضل من بقية الإضافات وبفارق معنوي (P <٠.٠٥).

الإذابة بدرجة ٣٧ ْم حيث الفارق المعنوي لوحظ ما بين إضافة سترات الصوديوم عن باقي الإضافات وبفارق معنوي (P <٠.٠٥) (جدول رقم١).

من جهة أخرى فان حركة النطف تختزل كلما طالت فترة الخزن لكافة المعاملات بغض النظر عن درجة حرارة الإذابة ومع ذلك فان أفضل حركة للنطف إثناء الخزن لفترة صفر ساعة كانت متقاربة ولكن ألأفضل كان بعد إضافة سترات الصوديوم ويليها مجموعة السيطرة ثم إضافة سكر اللاكتوز وإضافة كلوريد الصوديوم حيث لا يوجد أي فارق معنوي(جدول رقم ٢).

إما بعد الخزن لفترة ٣ ساعات لم يلاحظ أي فرق معنوي ،بينما بعد خزن ٦ ساعات لوحظ تفوق إضافة سترات الصوديوم عن باقي الإضافات بفارق معنوي (P <٠.٠٥) (جدول رقم ٢).

إما حركة النطف بعد الإذابة بدرجة صفر مئوي و ٢٠ ْم و٣٧ ْم بغض النظر عن فترة الخزن فهي الأخرى متشابهة كحالة فترات الخزن بغض النظر لدرجات الإذابة، فلوحظ عند الإذابة بدرجة صفر مئوي تفوق إضافة سترات الصوديوم وبفارق معنوي (P <٠.٠٥) (جدول رقم ٣). إما عند الإذابة بدرجة ٢٠ ْم لم يلاحظ أي فارق معنوي .بينما الإذابة بدرجة ٣٧ ْم وجد فارق معنوي بين إضافة سترات الصوديوم عن باقي الإضافات (جدول رقم ٣).

إما بخصوص نسبة النطف الحية فقد أظهرت النتائج عن وجود تباين جزئي ما بين كل من إضافة سترات الصوديوم والسيطرة وإضافة كلوريد الصوديوم وسكر اللاكتوز بعد الاذابه مباشرة،حيث عند الإذابة في صفر مئوي وجد إضافة سترات الصوديوم كانت أفضل عن بقية الإضافات بفارق معنوي (P <٠.٠٥).

وعند الإذابة بدرجة ٢٠ ْم حيث كانت إضافة سترات الصوديوم ومجموعة السيطرة أفضل من بقية الإضافات وبفارق معنوي (P <٠.٠٥).

إما الإذابة بدرجة ٣٧ ْم حيث كانت إضافة سترات الصوديوم أفضل من بقية الإضافات وبفارق معنوي (P <٠.٠٥) (جدول رقم ٤).

إما بعد خزن لفترة ٦,٣ ساعات فالتباين أكثر وضوحا والنسب المئوية لكل منها كانت أفضلها عند إضافة سترات الصوديوم وإضافة سكر اللاكتوز مقارنة مع مجموعة السيطرة وإضافة سكر اللاكتوز بعد الخزن لفترة ٣ ساعات عند الإذابة بدرجة صفر مئوي حيث إضافة سترات الصوديوم هي الأفضل عن بقية الإضافات وبفرق معنوي (P <٠.٠٥).

إما عند الإذابة بدرجة ٢٠ ْم حيث إن إضافة سترات الصوديوم عي الأفضل عن بقية الإضافات وبفارق معنوي(P <٠.٠٥).

وكذلك عند الإذابة بدرجة ٣٧ ْم حيث إضافة سترات الصوديوم هي الأفضل عن بقية الإضافات وبفارق معنوي (P <٠.٠٥) (جدول رقم٤).

إما بعد الخزن لفترة ٦ ساعات وعند الإذابة بدرجة صفر مئوي كانت إضافة سترات الصوديوم هي أفضل الإضافات وبفارق معنوي (P <٠.٠٥).وعند الإذابة بدرجة ٢٠ ْم حيث كانت إضافة سترات الصوديوم هي

أفضل الإضافات وبفارق معنوي (P <٠.٠٥).وعند الإذابة بدرجة ٣٧ ْم حيث كانت إضافة سترات الصوديوم هي أفضل الإضافات وبفارق معنوي(P <٠.٠٥) (جدول رقم ٤).

من جهة أخرى فان النسب المئوية للنطف الحية تختزل كلما طالت فترة الخزن بغض النظر على درجة حرارة الإذابة وعلى أي حال فان النطف الحية إثناء الخزن بدرجة صفر مئوي هي الأخرى متباينة قليلا ما بين إضافة سترات الصوديوم والسيطرة مع إضافة كلوريد الصوديوم وإضافة سكر اللاكتوز حيث كانت إضافة سترات الصوديوم ومجموعة السيطرة أفضل من بقية الإضافات وبفارق معنوي (P <٠.٠٥).

في حين التباين جلي بعد الخزن لفترة ٦,٣ ساعات فان أفضلها كانت بعد إضافة سترات الصوديوم ويليها إضافة سكر اللاكتوز ثم مجموعة السيطرة و كلوريد الصوديوم حيث بعد الخزن لفترة ٣ ساعات كانت إضافة سترات الصوديوم أفضل الإضافات بفارق معنوي(P <٠.٠٥).

وبعد الخزن ٦ ساعات كانت إضافة سترات الصوديوم أفضل الإضافات وبفارق معنوي (P <٠.٠٥)(جدول رقم ٥).

إما النطف الحية بعد الإذابة بدرجة صفر مئوي و ٢٠ ْم و٣٧ ْم بغض النظر عن فترة الخزن فان أفضلها بعد إضافة سترات الصوديوم ويليها كل من مجموعة السيطرة وإضافة سكر اللاكتوز ومن ثم إضافة كلوريد الصوديوم حيث عند الإذابة بدرجة صفر وجد إن إضافة سترات الصوديوم أفضل من بقية الإضافات بفارق معنوي (P <٠.٠٥) .

وعند الإذابة بدرجة ٢٠ ْم وكانت إضافة سترات الصوديوم أفضل الإضافات بفارق معنوي (P <٠.٠٥) (جدول رقم ٦).

تشير نتائج الدراسة الحالية لنسبة الحركة الفردية للنطف ونسبة النطف الحية على إن إضافة سترات الصوديوم والإذابة بدرجة ٣٧ ْم هي المفضلة خصوصا وإنها تختلف معنويا عن اغلب المقارنات (الجداول المرقمة ١-٦).

المناقشة

تقييم السائل المنوي اعتمادا على حساب النسبة المئوية للنطف الحية كونها تقنية شائعة استعمال إضافة إلى دقتها في مجال التناسل الاصطناعي (١١,٨). إضافة إلى تقدير النسبة المئوية لحركة النطف التي تعتبر إحدى الوسائل التشخيصية المهمة لتقييم الذكر (١٤,١٣,١٢).

ولقد أوضحت النتائج الحالية بان إذابة السائل المنوي المجمد بعد إضافة سترات الصوديوم أعطت نتائج أفضل عن باقي الإضافات والسبب يعود إلى إمكانية على معادلة الحموضة وهذا يتفق مع ما ذكره(٢٠,١٩,١٨,١٧,١٦,١٥)والذي بدوره يدل على إن النطف المجمدة المذابة تحتاج إلى تعديل حموضة المحيط أو البيئة أكثر مما تحتاج إلى مصدر طاقة وهذا يتفق مع ما سجله (٢١,١٩,١٧,١٦).

في حين إن إذابة السائل المنوي المجمد بعد إضافة سكر اللاكتوز قد أعطت نتائج أفضل مما عليه من مجموعة السيطرة والسبب قد يعود إلى إمكانية سكر اللاكتوز بتزويد النطف بالطاقة الإضافية وهذا يتفق مع نتائج(٢٣,٢٢,٧).

بينما إذابة السائل المنوي المجمد بعد إضافة كلوريد الصوديوم لن تجدي نفعا مقارنة مع بقية الإضافات بما فيه مجموعة السيطرة والسبب يعود إلى إن كلوريد الصوديوم لن يبدي أي فعالية سواء تزويد طاقة أو معادلة حموضة النطف وهذا يتفق مع ما ذكره (١٥) بل قد يؤدي إلى صدمة التخفيف أي زيادة نسبة التخفيف فقط وبالتالي إضعاف نشاط النطف.

تدل نتائج الدراسة الحالية على إن النطف المجمدة قد تحتاج إلى تعديل حموضة المحيط أو البيئة أكثر مما تحتاج إلى مصدر طاقة إضافية.وان تجميد النطف بعد إضافة الكليسرول إلى مخففها والذي بدوره يساعد على انخفاض الأس الهيدروجيني(pH)(حامضي).(٢٤,٤)

عليه فان إضافة سترات الصوديوم تساعد على تذليل مثل هذه المعوقات والمحافظة على إل(pH) وإعادة نشاط النطف كما دلت على ذلك كافة النتائج الموضحة في الجداول(٦-١).

إما بخصوص الدرجات الحرارية المستخدمة لإذابة السائل المنوي المجمد فقد أوضحت النتائج إن الإذابة بدرجة ٣٧ْم هي الأفضل عن بقية الدرجات وان الإذابة بدرجة صفر مئوي و ٢٠ ْم لن تختلف كثيرا فيما بينها وهذا يتفق مع ما سجله (٢٦,٢٥) والسبب يعود إلى أنها درجات حرارية يسهل خزن النطف فيها وكونها اوطا من حرارة الجسم بينما الإذابة بدرجة صفر مئوي و ٢٠ ْم والسبب يعود إلى إعادة حرارة النطف إلى حرارة الجسم بدون التغير فيما بعد وهذا يتفق مع ما توصل إليه كل من (٣٣,٣٢,٣١,٣٠,٢٩,٢٨,٢٧,٢٢).

References

1-Nishikawa,Y. (1964):History and development of artificial insemination in the world .Proc.5th.Int.Cong.Anim.Reprod.and Artificial insemination ,Torento.7:162-259 .

2-Ivanoff,E.I.(1928):On the use of artificial insemination for zoo-technical purpose in Russia .J.Agr.Sci.12:244.

3-Polge,C.;smith,A.U. and Parkes,A.S.(1949):survival of spermatozoa after verification and dehydration. at low temperature .Nature193:548-550.

4-Smith,A.U. and Polge,C. (1950): Storage of bull spermatozoa at low tempreture.Vet.Rec.62:115-116.

٥-السعدي،حسين عبد الكريم،(١٩٨٩).التناسل الصناعي،الطبعة الثانية المنقحة،كلية الطب البيطري،جامعة بغداد،العراق.

٦-اللامي ،عزيز هادي،(١٩٨٦).التلقيح الاصطناعي بين الواقع والطموح،مجلة الطبيب البيطري ١٣.السنة الثانية،ص ٢٣-٢٥.

7-Al-saadi,H.A.K.(1977):Studies on the spermatozoa of Ram with special reference to the effect of deep freezing .PhD Thesis ,Edinburgh University.

8- Foote ,R.H. Kaproth,M.T.(2004): Large Batch Freezing of Bull Semen: Effect of time of Freezing and Fructose on Fertility. J. Dairy Sci. 85:453–456.

9-Swanson,E.W. and Bearden,H.J.(1951): An eosin-nigrosin stain for differentiation live and dead bovine spermatozoa .J.Anim.Sci..16:981-987.

10-Steel,R.G. and Torrie,J.H.(1980):Principles and procedures of statistics .McGraw–Hill Book Co.Inc.NewYork.

11-Al-Janaby,F.S.(1992):Male Infertility Factors :The effect of female serum on sperm activation in vitro and intrauterine insemination .M.Sc. Thesis,University of Al-Mustansiryah.

12-Mehadeven,M.M. and Trounson,A.O.(1984):The influence of seminal characteristics on the success rate of human In vitro fertilization .fertil.steril.92.400-405.

13-Lui ,D.Y.;Clarke,G. and Baker,H.(1991):Relationship between sperm motility assessed with the Hamilton thorn motility and lyzer and fertilization rates In vitro.J.Andral.,12:231-239.

14-Kornoviski,B.;Mcloshen,J.;Krendenters,J. and Turley,E.(1994):The regulation of sperm motility by a noval- hyaluronon- receptor.Fertil.Steril. .,61:935-940.

15-Mann,T.(1964):Indulgence of Ion concentration,dilution,tempreture and other extraneous factorson semen In vitro.In:Biochemistry of semen and of the male reproductive tract.(T.Mann,Ed.)339-364.

16-Islam ,T.S.(1986):Study on the use of coconut milk extender for the storage of bull semen at room temperature under the climate conditions of Bangladesh. Bangladesh Veterinary Journal 20 .(3-4)27-34.

17-Garcia,M.A. and Graham,E.F. (1987):Effect of low –molecular weight fractions(LMWF) from milk ,egg yolk and seminal plasma on freezability of bovine spermatozoa .cryobiology 24(5) 429-436[En,22 ref.]Dep.Animal.Sci.Univ.Minnosota,St.Paul,MN,USA.

18-Karunanthi,K.;Krishnamurthy,U.S.;Krishnan,A.R.;Edwin,M.J.;Thiagrajan,V and Nainar,A.M. (1987): Studies on the preservability and freezability of buffloes semen in different extenders .Cheiron(1987)16(2)76-80 [En.6 ref.].

19-Stoynov,T. and Zagorski,D.(1987): Experience with a new thawing medium for frozen bull semen .Veterinarno-meditisinski Nauki(1987).24(8)91-95 [Bg,Ru,En,15 ref.] Regional Vet.Res.Inst.Plovidiv,Bulgaria.

20-Zorn ,M.(1987):Cold shock sensitivity of boar spermatozoa after use of different diluents and addition of solcoseryl ,egg yolk and orvus espaste .Thesis ,Tieraztliche Hochschule Hannover, German Federal Republic.133[De,En,96 ref.].

21-Lardy,H.A. and Phillips,P.H.(1939): Preservation of spermatozoa .Proc.Am.Soc.Anim.Prod.32nd,Ann.Meet.219-221.

22-Ali,C.S.;Ahmed,I.;Najib Ur-Rehman and Alam,M.(1988):Factors affecting the conception rate of buffloes .Pakistan animal reproduction ,Univ.Agriculture ,Faisalabad,Pakistan.

23-Deryazhentsev,V.I.(1986):Synthetic media for freezing bull semen in straws .In.Biol.vasprozved.tekhnol.osemeneniya.sel-khoz.zhivotnykh.Moscow,USSR.31-37.[Ru] from Referativnyi Zhurnal(1987).

24-Mann,T. and White,I.G.(1957) :Glycerol metabolism by spermatozoa.Biochem.J.65:634-639.

25-Malinovskaya,V.A.(1987):The effect of diluent component and freezing regime on crystallization and physiological indices of bull semen, In.Biol.vasprozved.tekhnol.osemeneniya.sel-khoz.zhivotnykh.Moscow,USSR.37-45.[Ru] from Referativnyi Zhurnal(1987).

26-Liminowicz,J. (1986):The viability and formation of fructolytic activity in bull semen stored liquid or frozen .Acta academiae Agricultureurae Techincae Olsteniesis No.289(zootechinika 29),13-19[Pl,En,Ru,12 ref.]Akad.Roniczo-Techniczna,Olsztyn.Poland.

27-Jones ,R.C. and Martin,I.C.A. (1965): Deep freezing ram spermatozoa .The effect of milk,yolk citrate and synthetic diluents containing sugar. J.Reprod.Fertil.10:413-423.

28-Sainsbury,R.W.(1968): Freezing of ram semen in cassou straws .Proc.6th Int.Cong.Anim.Reprod.and Artificial Insemination ,Paris,2:1151-1152.

29-Salmon,S. and Lightfoot,R.J. (1969):Freezing ram spermatozoa by pellet method .The effect of diluent composition on survival of spermatozoa .Aust.J.Biol.Sci.22. :1527-1547.

30-Salmon ,S. and Brandon ,M.R.(1971):Effect of composition of the thawing solution on survival of ram spermatozoa frozen by the pellet methods.Aust.J.Biol.Sci.24:355-364.

31-Entwistle,K.W.(1972):Congo Red-Fast Green.F.C.F. as supravital stain for ram and bull spermatozoa .Aust.Vet.J.48:515-519.

32-Vinha,N.A. and Coubrough ,R.I. (1972):Deep freezing of ram semen .J.S.Afric.Vet.Ass. 43(1):43-45.

33-El-Danasouri,I.(1988): Effect of thawing temperature on the loss of acrosin and hyalurindase enzymes from bovine spermatozoa .Theriogenology 29(6) 1343-1346 [en,15 ref.]. Ambulatorische und Geburtschilflishe.veterinarkink Justus- Liebia Univ.,6300 Giessen,German Fedral Republic.

Study the activity of the bull's frozen semen thawed in certain diluents

Khalid M.Karam-College of Veterinary Medicine-University of Al-Qadisyah

Abstract

This study was represented by taking 120 micro straws (0.25 ml) filled of frozen semen produced in the Artificial insemination center /main center –Abu Ghraib ,which belongs to the General Public Establishment for the Animal Resources service ,Ministry of Agriculture ,Iraq ,which is diluted primarily by Tris and Glycerol 1:15. These specimens had been thawed at 0 ºC ,20 ºC , 37 ºC after redilution the following diluents at ratio 1: 6 and storing till 6 hours.

1-control group (without diluents).
2-Soduim citrate solution 2.8% .
3-Soduim chloride solution 0.9% .
4-Lactose solution 11% .

The specimen were examined every 3 hours starting from zero time by evaluation of spermatozoal motility percentage and the spermatozoal live and dead account percentage.

The results showed that rediluting with sodium citrate 2.8% solution and lactose 11% solution gave best results then control group and redilution with sodium chloride 0.9% solution in both spermatozoal motility percentage and spermatozoal live and dead percentage ,and thawing at 37 ºC gave best results compared with other thawing temperatures (0 ºC ,20 ºC) and this study showed that when ever storage time is increases will reduce spermatozoal activity.