Author:	Ezz El-Dien Ibrahem Khalifa
Title:	Effects of some processes of cryopreservation on post-thaw characteristics and fertilizing ability of goat spermatozoa
Faculty:	Agriculture – Suez Canal University
Department:	Animal Production
Location:	Ismailia – Egypt
Degree:	Doctor Philosophy in Agriculture Science
Date:	30 / 7 / 2005
Language:	English

Abstract

The experimental work was carried out in El-Serw experimental farm and Suez Canal university farm during the period from August 2001 till April 2004. The present study included three experiments. The first experiment to study sperm producing capacity by partial depletion test.. The second experiment included four trials and incubation period at 37°C for 3 hours was carried out with each trials:- trial 1- To study two extender kinds Tris-yolk-fructose (TYF) and Sodium-yolk-fructose (SYF) with glycerol 1,2,3 and 6 ml / 100ml extender. Trial 2- To comparison between monohydric alcohols (ethanol and methanol), dihydric alcohols (ethylene glycol) and polyhydric alcohols (glycerol). Trial 3-To estimate the effect of non-penetrating (sucrose 62.5mM) and penetrating cryoprotectant (glycerol 3%) on sperm cryopreservation. Trial 4- Studying sperm freezability using combination between non-penetrating cryoprotectant (sucrose) and penetrating cryoprotectant (glycerol, ethanol and methanol). The third experiment was carried out by using conception rate of females to evaluate the freezability of goat bucks spermatozoa protected by glycerol 3% and ethanol 1%. The results of present work could be summarized as follows:-1-The best results of semen characteristics showed with adult bucks. 2- The highest results of sperm freezability were obtained with TYF, 3% glycerol level, 1% ethanol, sucrose 62.5mM and combination between sucrose (62.5mM) and glycerol (0.5%). 3- The first hours of incubation time more active than other incubation periods. 4-Conception rate of nanny goats inseminated with TYFG 3% was 60.00% and 40.00% with TYFE 1% after two services in trial A but, it was 60.86% for TYFG 3% and 43.47% for TYFE 1% after one service in trial B using straws 0.5 ml.

***Key words**: Goat semen, cryoprotectants, freezing processing.*

الاسم :	عزالدين ابراهيم خليفة
عنوان الرسالة:	تأثيرات بعض عمليات الحفظ على صفات ا لحيوانات المنوية بعد التجميد والاساله وقدرتها الاخصابية في ذكور الماعز
الكلية:	الزراعة- جامعة قناة السويس
القسم :	الإنتاج الحيواني
موقع الكلية:	الإسماعيلية- جمهورية مصر العربية
الدرجة العلمية:	دكتوراه الفلسفة في العلوم الزراعة
التاريخ:	٢٠٠٥ /٧/٣٠
اللغة :	الإنجليزية

الملخص

أجريت هذه الدراسة في محطة تربية الحيوان بالسرو و مزرعة البحوث والتجارب الحيوانية كلية الزراعة-جامعة قناة السويس الإسماعيلية خلال الفترة من أغسطس ٢٠٠١حتى مارس٢٠٠٤ والدراسة شملت ثلاثة تجارب عملية:- التجربة الأولى:- لدراسة تأثير التفريغ الجزئي للبربخ على صفات السائل المنوي لذكور الماعز الزرايبى التجربة الثانية اشتملت هذه التجربة على أربع اختبارات واجريت تجارب التحضين على درجة ٣٧م٥ لمدة ٣ ساعات مع كل اختبار:- الاختبار الأول:- لدراسة تأثير نوعين من المخففات الترس فراكتوز وسترات الصوديوم فراكتوز مع مستويات مختلفة من الجليسرول١ ,٢،٣،٦% على حماية الحيوان المنوي من أثر التجميد. الاختبار الثاني:- لدراسة تأثير حفظ السائل المنوي بالتجميد بواسطة الكحولات الأحادية(الإيثانول و الميثانول) و الكحولات ا لثنائية(الاثيلين جليكول) والكحولات العديدة(الجليسرول) الاختبار الثالث :- دراسة تأثير السكروز كمادة حامية لا تخترق الحيوان المنوي والجليسرول كمادة حامية تخترق الحيوان المنوي. - الأختبار الرابع :- دراسة تأثير الدمج بين المواد الحامية للحيوان المنوي (التى تخترق الحيوان المنوي (الجليسرول, الميثانول, الإيثانول) والمواد الحامية للحيوان المنوي والتي لا تخترق الحيوان المنوي (السكروز) علي حركة الحيوان المنوي قبل التجميد وبعد التجميد .التجربة الثالثة:- أجريت هذه التجربة لتقيم خصوبة السائل المنوي السا ئل المخفف المحمي بواسطة الجلسيرول ٣% والإيثانول ١% .وتتلخص النتائج كما يلي :- ١ – افضل النتائج كانت مع الذكور البالغة و مخفف الترس- فركتوز و مستوي الجليسرول ٣% و ٦% لم يعطي فروق معنويةو الإيثانول مع المستوي ١% و السكروز بمستوي ٦٢,٥ ملي مول والدمج بين السكروز ٦٢,٥ ملي مول كمادة حامية لا تخترق الحيوان المنوي والجليسرول ٠,٥ والأيثانول ١ % أفضل من دمج باقي المواد الحامية الأخر ٣- الساعة الأولي أكثر نشاطا من الساعات الأخرى بتقدم زمن التحضين علي درجة حرارة علي ٣٧ م٥ لمدة ٣ ساعات.٤- كان معدل الحمل للأناث ٦٠% مع الجليسرول(٣%) ,٤٠% مع الآيثانول(١ %) للأناث التي لقحت في المرة الأولى والمرة الثانية فى المحاولة الأولى وكان . ٦٠,٨٦ % مع الجليسرول(٣%)٤٣,٤٧% مع الآيثانول(١ %) للأناث التي لقحت في المرة الأولى فى المحاولة الثانية .

الكلمات المرشدة :- السائل المنوى , المواد الحامية , عملية التجميد.

Contents

Page

Introduction..... 1

Review of the Literature.....4

1. Some factors affect sexual desire and semen characteristics of goat bucks 4

1.1. Effect of goat bucks age on semen characteristics.....5

1.2. Effect of ejaculation per weeks collection on semen characteristics for goat bucks.....5

1.3. Effect of partial depletion test on semen characteristics of goat bucks.....5

2. Semen extenders for preserving and freezing goat bucks spermatozoa.....7

2.1. Egg yolk in goat bucks extender 7

2.2 Tris-yolk extender.....8

2.3. Sodium citrate-yolk fructose 9

3. Semen cryoprotectants for freezing 9

3.1. Penetrating cryoprotectants 11

3.1.1. Glycerol 11

3.1.2. Methanol.....14

3.1.3. Ethylene glycol.....14

3.2. Non-penetrating cryoprotectants.....16

3.2.1. Sucrose.....17

4. Conception rate of deep-frozen goat bucks semen with the use of artificial insemination 18

MATERIALS AND METHODS 21

1. The first Experiment.....22

1.1. Experimental animals.....22

1.2. Feeding and management.....23
1.3. Experimental procedures.....23
1.3.1. Semen collection.....23
1.3.2. Reaction time 23
1.3.3. Ejaculate volume.....23
1.3.4. Progressive motility.....23
1.3.5. Sperm cell concentration.....23
1.4. The statistical analysis.....24
2. The Second experiment.....24
2.1. Experimental animals.....24
2.2. Feeding and management.....25
2.3. Chemical used and preparation of extenders.....25
2.3.1. Chemicals.....25
2.3.2. Preparation of extenders.....25
2.4. Semen collection.....26
2.5. Selection of semen samples for pooling.....27
2.6. Semen extension.....27
2.7. Filling of straws.....28
2.8. Equilibration period.....28
2.8.1. Gradual cooling equilibration period.....28
2.8.2. Refrigerator equilibration period.....28
2.9. Freezing technique.....28
2.10. Thawing technique.....29
2.11. Post –thawing semen evaluation.....29
2.12. Experimental design.....29
2.12.1. Trial number 1.....29
2.12.2. Trial number 2.....30
2.12.3. Trial number 3.....32
2.12.4. Trial number4.....32

2.13. Statistical analysis.....34
3. Third experiment conception rate.....35
3.1. Experimental animals.....36
3.2. Feed and management 36
3.3. Semen collection, sperm investigation, Preparation of extenders and semen extension.....36
3.4. Filling of straws, Equilibration period, freezing, thawing techniques and semen evaluation..... 36
3.5. Detection and induction of estrous cycle.....36
3.6. Insemination technique.....37
RESULTS AND DISCUSSION.....38
1. The first experiment (Partial depletion) 38
1.1. Reaction time (Libido) in second.....39
1.2. Ejaculate volume per ml.....42
1.3. Sperm progressive motility %.....46
1.4. Sperm cells concentration x 10^9. 50
1.5. Total number of sperm cell / ejaculation.....54
1.6. Total motile sperm per ejaculate.....56
2. The Second experiment.....59
2.1. The effect of extender types and incubation time on goat bucks spermatozoa.....59
2.2. Effect of different levels of monohydric alcohols (methanol and ethanol), dihydric alcohols (ethylene glycol) and polyhydric alcohols (glycerol) on sperm motility of bucks semen. 67
2.3. Effects of non-penetrating and penetrating cryoprotectants on motility parameters before and after freezing processing for goat bucks spermatozoa.....72
2.4. Effects of combination between non-penetrating and penetrating cryoprotectants on the parameter motility of goat

bucks spermatozoa.....77
3. The third experiment:-.....81
3.1. Conception rate of nanny goats artificially inseminated with frozen goat spermatozoa in straws 0.5ml extended with TYF.....81
SUMMARY AND CONCLUSION.....84
REFERENCES.....91
ARABIC SUMMARY