

Hauptziel der vorliegenden Dissertation war es, unter kontrollierten Bedingungen auf split sample-Basis die Einflüsse der Spermienalterung von flüssigkonserviertem Ebersperma auf Befruchtungsrates und Spermientransport zu untersuchen. Um eine Beeinträchtigung des Befruchtungserfolgs durch variierende Zeitintervalle zwischen Besamung und Ovulation zu vermeiden, wurden die Jungsauen postovulatorisch inseminiert (0-4 Std. p. ov.). Zur Ermittlung möglicher Unterschiede zwischen Verdünnermedien wurden innerhalb des Versuchsansatzes die praxisüblichen Verdünner Androhep und BTS verglichen.

Die Besamungsversuche fanden im Zeitraum von Mai bis Oktober 1991 statt. 102 Jungsauen wurden in der zweiten spontanen Rausche nach der Aufstallung besamt. Die Ovulationskontrollen wurden im vierstündigen Abstand mittels transkutaner Sonographie (5 MHz Sektorscanner) vorgenommen. Bei Feststellung des Ovulationseintritts erfolgte eine einmalige Insemination mit einer Besamungsdosis von 2 Mrd. Spermien.

Es kamen 6 Mischejakulate von 3 Ebern zum Einsatz. Entsprechend der Lagerungsdauer des eingesetzten Spermas ergaben sich 5 Gruppen: Samenalter 0-24 Std. (n=19), 25-48 Std. (n=18), 49-72 Std. (n=21), 73-96 Std. (n=18) und 97-120 Std. (n=26).

Die Embryo- und Eizellgewinnung aus dem isolierten Genitaltrakt erfolgte 2-5 Tage nach Insemination unmittelbar nach Schlachtung der Tiere. Der Befruchtungserfolg wurde anhand des Anteils morphologisch normal entwickelter Embryonen ermittelt. Die Anzahl der akzessorischen Spermien in der Zona pellucida diente als Maß für die befruchtungskompetente Spermienpopulation im Eileiter.

Es wurden folgende Ergebnisse erzielt:

1. Mit zunehmendem Spermaalter ist unabhängig vom Verdünner ein signifikanter Abfall der Befruchtungsrates zu erkennen. Am Tag 2 (25-48 Std.) nach der Verdünnung fällt die Befruchtungsrates signifikant von 83,8% auf 73,2%, am Tag 5 (97-120 Std.) auf 40,5% ab. Hinsichtlich der im Vergleich zu GLEUMES (1992) um ca. 10% erniedrigten Befruchtungsrates (83,8%) und des raschen Abfalls im Verlauf der 5tägigen Lagerung sind jahreszeitliche Einflüsse (Versuchszeitraum im Sommer) nicht auszuschließen.

2. Die abfallenden Befruchtungsraten werden von einem signifikanten Abfall der Trächtigkeitsrate (% tragender Sauen) von 89,5% am Tag 1 auf 50,0% am Tag 5 begleitet. Gleichzeitig sinkt die Zahl der Embryonen pro Sau von durchschnittlich 10,4 am Tag 1 auf 5,2 am Tag 5 der Samenlagerung ab.

3. Die durchschnittliche Zahl der akzessorischen Spermien in der Zona pellucida zeigt einen spermaaltersabhängigen Abfall von 155,4 am Tag 1 auf 30,5 am Tag 5. Die signifikant verminderte akzessorische Spermienzahl ist ein Hinweis auf einen verminderten Spermientransport bei den durch Lagerung gealterten Spermien.

4. Die mit BTS besamten Sauen zeigen einen signifikanten Abfall der Befruchtungsrate ab Tag 2, die mit Androhep inseminierten Sauen ab Tag 3 der Spermalagerung. Zwischen den Verdünnern ergibt sich bis Einsatztag 5 kein signifikanter Unterschied, der auch hinsichtlich der akzessorischen Spermien nicht vorliegt. Motilität und Akrosomenintegrität der Spermaproben lassen im Verlauf der Lagerung keine signifikanten Unterschiede zwischen den Verdünnern erkennen.

In einer zweiten Versuchsreihe wurde der Einfluß einer postovulatorischen Besamung (0-4 Std. und 5-8 Std. p. ov.) im Vergleich zur präovulatorischen Besamung (32 Std. nach Brunstbeginn) auf die Frühentwicklung der Keimlinge überprüft.

24 Jungsaunen wurden in der zweiten Rausche nach der Aufstallung mit Mischsperma von 3 Ebern und einer Besamungsdosis von 2 Mrd. Spermien inseminiert. Die Ovulationskontrolle erfolgte mittels transkutaner Sonographie. Entsprechend dem Besamungszeitpunkt wurden 3 Gruppen gebildet: 1) präovulatorische Besamung 32 Std. nach Brunstbeginn (16-1 Std. ante ov.; n=9), 2) Besamung 0-4 Std. p. ov. (n=10), 3) Besamung 5-8 Std. p. ov. (n=5). 28 Tage nach Insemination wurden die Tiere geschlachtet und Zahl und Entwicklungsstand der implantierten Keimlinge beurteilt.

Bei etwa identischer Corpora lutea-Zahl sinkt die Zahl der Keimlinge signifikant von 10,1 nach präovulatorischer Insemination auf 7,7 nach postovulatorischer Besamung ab. Die postovulatorischen Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant. Es wird angenommen, daß die in vivo-Alterung der Oozyten zu einer Störung der Embryonalentwicklung führt, resultierend in einer erhöhten embryonalen Mortalität bis zum 28. Tag der Trächtigkeit.

The Influence of Semen Age on the Fertilization Rate and Sperm Transport in the Post Ovulatory Insemination of Gilts with Fresh Semen

7 SUMMARY

The main objective of this study was to investigate under controlled conditions the influence of semen age of liquid stored boar semen on the fertilization rate and sperm transport. The gilts were inseminated postovulatory (0-4 h p. ov.) in order to avoid an impairment of the fertilization rate due to varying time intervals between insemination and ovulation. To determine possible differences between diluting media, the commercial extenders Androhep and BTS were compared in the experiment.

The insemination experiments took place in the time period of May through October 1991. After having been placed in the pens the 102 gilts were inseminated in their second estrus period. The time of ovulation was checked in four hour intervals using transcutaneous sonography (5 MHz sector scanner). Following the determination of the onset of ovulation a single insemination was performed, using an insemination dose of 2×10^9 spermatozoa.

A total of 6 mixed ejaculates of 3 boars were used. Corresponding to the length of storage of the semen used, 5 groups were formed: semen age 0-24 h (n=19), 25-48 h (n=18), 49-72 h (n=21), 73-96 h (n=18), and 97-120 h (n=26).

2-5 days after insemination, embryos and oocytes were obtained from the isolated genital tract directly after slaughtering the animals. The fertilization rate was determined on the basis of morphologically normal developed embryos. The number of accessory sperms in the zona pellucida served as a measure for the fertilization-competent sperm population in the oviduct.

The following results were obtained:

1. A significant decrease of the fertilization rate can be seen with increasing sperm age, irrespective of the extender used. On day 2 (25-48 h) after the dilution the fertilization rate

drops significantly from 83.8% to 73.2%, on day 5 (97-120 h) to 40,5%. In view of the 10% lower fertilization rate compared to GLEUMES (1992) and the rapid decrease in the course of the 5 day storage, seasonal influences (experiments during the summer) cannot be excluded.

2. The dropping fertilization rates are accompanied by a significant decrease in the fertility rate (% pregnant gilts) from 89.5% on day 1 to 50.0% on day 5. Simultaneously, the number of embryos per sow drops from an average of 10.4 on day 1 to 5.2 on day 5 of the semen storage.

3. The average number of accessory sperms in the zona pellucida shows a sperm age-dependant decrease from 155.4 on day 1 to 30.5 on day 5. The significantly lowered number of accessory sperms is an indication of the decreased sperm transport due to aging spermatozoa following storage.

4. The gilts inseminated with BTS show a significant decrease of the fertilization rate on and after day 2, the sows inseminated with Androhep on and after day 3 of sperm storage. Up to day 5 there is no significant difference between the extenders, which holds true also for the number of accessory sperms. Motility and acrosome integrity of the sperm samples show no significant differences between the extenders in the course of the sperm storage.

A second experiment was carried out to investigate the influence of a postovulatory insemination (0-4h and 5-8h p. ov.) in comparison to a preovulatory insemination (32 h after onset of estrus) on the early fetal development.

24 gilts were inseminated in their second estrus after housing the animals using mixed semen of 3 boars and an insemination dose of 2×10^9 sperms. The ovulation was checked using transcutaneous sonography. 3 groups were formed corresponding to the time of insemination:

- 1) preovulatory insemination 32 h after onset of estrus (16-1 h ante ov.; n=9)
- 2) insemination 0-4 h p. ov. (n=10)
- 3) insemination 5-8 h p. ov. (n=5).

The animals were slaughtered 28 days after insemination and the number and stage of development of the implantated fetuses was assessed.

With nearly identical numbers of corpora lutea in all groups, the number of fetuses decreases significantly from 10.1 following preovulatory insemination to 7.7 after postovu-

latory insemination. There is no significant difference between the postovulatory groups. It is assumed, that the in vivo-aging of the oocytes leads to disturbances of the embryonic development, resulting in an increased embryonic mortality up to the 28. day of pregnancy.