

6 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der im Rahmen der Frischkonservierung von Hengstsperma eingesetzte Magermilchverdünner nach KENNEY et al.(1975) durch Zusatz der Substanzen Phenylmethansulfonylfluorid (PMSF) und Lecithin modifiziert. Weiterhin kam ein Merck-EDTA-Verdünner mit Lecithin-Zusatz zur Anwendung.

Um die den Stoffen nachgesagten membranprotektiven Eigenschaften zu überprüfen, wurden 6 Ejakulate von jeweils 6 Hengsten des Niedersächsischen Landgestütes Celle im split-sample Verfahren vor dem Zentrifugationsprozeß mit dem reinen Magermilchverdünner und mit drei weiteren Verdünnervarianten aufbereitet.

Deren Einfluß auf Motilität und insbesondere Akrosomintegrität wurde nach Verdünnerzugabe, Zentrifugation und während einer anschließenden Lagerungszeit von insgesamt 48 Stunden auf einer Rollbank bei Kühlschranktemperatur (+5°C), beurteilt und verglichen.

Die morphologische Bewertung der Kopfkappenveränderungen erfolgte mittels der SPERMAC^R- und einer modifizierten DUAL-STAIN-Methode nach Didion et al. (1989).

Die Ergebnisse können wie folgt zusammengefaßt werden:

1. Motilität

Bei allen Samenzellproben konnte durch die Zentrifugation ein statistisch nachweisbar positiver Effekt bezüglich der Motilität festgestellt werden, der sich besonders in einer Steigerung der Gesamtmotilität äußerte.

Bezüglich der Gesamt- und Vorwärtsmotilität zeigten die mit Magermilch/PMSF zentrifugierten Samenproben die signifikant überlegenen Werte gegenüber den mit Magermilch/Lecithin und Merck/Lecithin aufbereiteten Spermienpopulationen.

Ein geringer Vorteil gegenüber dem reinen Magermilchverdünner konnte statistisch nicht abgesichert werden.

2. Morphologie

Die Zentrifugation wirkte sich trotz vorangehender Verdünnung bei allen Samenzellpopulationen signifikant negativ auf die Morphologie aus.

Für den Zusatz von PMSF zu dem Magermilchverdünner konnte ein günstiger Einfluß auf die Kopfkappenintegrität des zentrifugierten Samens festgestellt werden. Die so aufbereiteten Spermatozoenproben wiesen gegenüber sämtlichen mit den Vergleichsverdünnern aufbereiteten Samenproben die statistisch nachweisbar geringsten morphologischen Veränderungen auf.

Das dem Magermilch- und Merck-Verdüner zugesetzte Ei-Lecithin erzielte keinen positiven Effekt hinsichtlich der Kopfkappenmorphologie.

3. Lagerung

Eine vermutlich zu hohe, anfängliche Abkühlrate der verschiedenen verdünnten Samenzellproben führte bei gleichen Lagerungsbedingungen und bei allen Spermatozoenpopulationen zu einem vorzeitigen Abfall der Motilitätsrate, verbunden mit einem Anstieg der morphologisch abweichenden Samenzellformen. Während der 48-stündigen Lagerung konnte ein positiver Effekt des PMSF auf die Motilitäts- und Morphologieerhaltung der Samenzellen festgestellt werden. Diese Proben wiesen gegenüber sämtlichen mit den Vergleichsverdünnern zentrifugierten Spermienpopulationen signifikant und statistisch auffällig überlegene Werte auf.

Das dem Magermilch- und Merck-Verdüner zugesetzte Ei-Lecithin führte während der Lagerungszeit zu keinem positiven Einfluß bezüglich der Akrosomintegrität und Motilitätserhaltung. Bei den so aufbereiteten Proben nahm die Beweglichkeit der Samenzellen und die Anzahl der morphologisch intakten Formen statistisch nachweisbar ab.

Heffe, Gunda

Research of fresh semen conservation of stallion semen; Evaluation of the influence of different centrifugal extenders on the durability of fresh semen.

7 Summary

In the present work the skim milk extender after KENNEY et al. (1975) which is used within the scope of liquid conservation of stallion semen was modified by addition of phenylmethansulfonylfluorid (PMSF) and lecithin. Furthermore a Merck-EDTA-extender with addition of lecithin was used.

To test the membraneprotective influence of these substances 6 ejaculates each of 6 stallions of the Niedersächsischen Landgestüt Celle were prepared in the split-sample method with pure skim milk extender and three other extenders before centrifugation.

The influence on motility and particularly acrosome integrity was judged and compared after addition of extender, centrifugation and during a subsequent storing time of altogether 48 hours on a rotation storage at +5°C.

Morphologic evaluation of acrosome alteration was done with SPERMAC^R- and modified DUAL-STAIN-method after DIDION et al.(1989).

The results can be summarized as follows:

1. Motility

Centrifugation caused in all semen samples a statistically demonstrable positive effect with regard to motility that manifested itself especially in increase of total motility.

The samples centrifugated with skim milk extender showed significantly superior results concerning total- and forward-motility compared to the semen populations prepared with skim milk/lecithin or Merck/lecithin. A small advantage from the skim milk/PMSF extender in comparison to the pure skim milk extender could not be confirmed statistically.

2. Morphology

In spite of preceding dilution the centrifugation had a significantly negative effect on the morphology of all semen populations. The addition of

PMSF to skim milk extender had a positive influence on acrosomal integrity of the centrifugated semen.

Sperm samples prepared in that way showed the least morphological alterations compared to all the samples, that were diluted with other extenders.

The addition of egg-lecithin to skim milk extender achieved no positive effect with regard to the morphology of sperm acrosomes.

3. Storage

A presumably too fast initial cooling rate of the differently diluted samples led under the same storing condition and in all spermatozoa populations to a premature decrease of motility rate together with an increase of morphologic abnormal spermatozoa forms.

A positive effect of PMSF on the preservation of motility and morphology of the semen could be observed during the 48 hour storage. The samples showed significantly and statistically striking superior results in comparison to all with other extenders centrifugated semen populations.

The addition of egg-lecithin to skim milk- and Merck-extender had no positive effect concerning acrosome integrity and preservation of motility during storing time. In these samples the motility of semen cells and the number of morphologic intact forms decreased statistically.