

5 ZUSAMMENFASSUNG

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wurden unter Verwendung des von WESTENDORF et al. (1975) entwickelten Einfrierverfahrens die Konfektionierungsformen Makrotüb, Flachbehältnis und die im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Hohlzylinder bezüglich ihrer Eignung als Tiefgefrierbehältnisse für Ebersperma unter besonderer Berücksichtigung ihrer kryophysikalischen Eigenschaften verglichen. In 9 Versuchsdurchgängen wurden jeweils 3 Ejakulate nach Zugabe des Tiefgefrierverdünners gepoolt, in Makrotübs, Flachbehältnissen und den Hohlzylindertypen konfektioniert und unter standardisierten Einfrierbedingungen tiefgefroren. Zwei verschiedene Auftautemperaturen (+39°C und +60°C) wurden hinsichtlich ihres Einflusses auf die Auftauergebnisse bei Flachbehältnis und Ringbehältnissen geprüft. Motilität und Kopfkappenintegrität der Samenzellen nach dem Auftauen dienten als Parameter zur Beurteilung der geprüften Einfrierbehältnisse.

Im zweiten Versuchsteil sollte mit unter Routinebedingungen produziertem Tiefgefriersperma, das im split-sample Verfahren in Flachbehältnissen und Makrotübs konfektioniert wurde, überprüft werden, ob durch den Einsatz von Flachbehältnissen die Befruchtungsfähigkeit von Tiefgefriersperma gesteigert werden kann. Dafür standen 191 Jungsauen zur Verfügung, von denen 163 ausgewertet werden konnten. Zur Beurteilung der Fertilität des tiefgefrorenen Samens wurden die initiale Befruchtungsrate am Tag 3 nach der künstlichen Besamung sowie die Anzahl der akzessorischen Spermien in der Zona pellucida herangezogen. Dazu wurden nach der Schlachtung der Tiere die Eizellen und Embryonen aus dem isolierten Genitaltrakt gewonnen und der Anteil der morphologisch normal entwickelten Embryonen ermittelt sowie die Anzahl der akzessorischen Spermien an der Zona pellucida festgestellt.

Es wurden folgende Ergebnisse erzielt:

1. Versuchsteil: Die Konfektionierungsform Flachbehältnis erbrachte eine signifikant bessere Auftaumotilität als die restlichen Behältnistypen. Die Prozentsätze der Samenzellen mit normalem apikalen Rand der Akrosomen wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen den untersuchten Behältnistypen auf. Die Erhöhung der Auftautemperatur von $+39^{\circ}\text{C}$ auf $+60^{\circ}\text{C}$ erbrachte keine Verbesserung der Ergebnisse.

2. Versuchsteil: Das für den Besamungsversuch tiefgefrorene Ebersperma wies in der Konfektionierungsform Flachbehältnis signifikant höhere Werte für die Auftaumotilität und Kopfkappenintegrität auf als in der Konfektionierungsform Makrotüb. Die initiale Befruchtungsrate war in der mit Flachbehältnissen besamten Gruppe signifikant höher als in der mit Makrotübs besamten Gruppe. Es wurden signifikant mehr Zonae pellucidae mit akzessorischen Spermien in der mit Flachbehältnissen besamten Gruppe gefunden als unter Verwendung von Makrotübs. Die Anzahl der akzessorischen Spermien in der Zona pellucida war bei Verwendung von in Flachbehältnissen tiefgefrorenen Samen signifikant höher als bei Verwendung von Makrotübs.

Schlußfolgerungen:

Die im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Hohlzylindertypen erbrachten keine Verbesserung der Auftauergebnisse von tiefgefrorenem Ebersperma. Flachbehältnisse sind kältephysikalisch geeignete Konfektionierungsbehältnisse, da sie die Auftauqualität des tiefgefrierkonservierten Eberspermas signifikant verbessern, infolgedessen die Anzahl akzessorischer Spermien als Maß für die befruchtungskompetente Spermienpopulation gesteigert und das Befruchtungsgeschehen signifikant verbessert werden.

Christian Simmet

Cryophysical Aspects of Boar Semen Freezing and Their Influence on Semen Quality and Fertilization Rate

6 Summary

In the first part of the present study three different types of straws, a round straw, a flat straw and two types of a hollow cylinder were compared regarding their suitability as freezing containers for boar semen with special emphasis on their cryophysical properties. The semen was processed according to a modified Westendorf procedure. Each time semen was frozen, three ejaculates were processed separately until the deep freezing extender was added, then the ejaculates were pooled and the mixed semen was filled into the round straws, the flat straws and the hollow cylinders and frozen under standardized conditions. The influence of two different thawing temperatures on the post-thaw results was tested with the flat straw and the hollow cylinders. Motility and acrosome integrity were used as parameters to assess post-thaw quality of the semen frozen in the different types of straws.

In the second part of the study, a fertility trial was realized with the objective of testing the possibility of improving the fertility of frozen-thawed boar semen by packaging the semen in flat straws. For this purpose boar semen was processed under routine conditions and packaged on a split-sample basis in round and flat straws. 163 gilts out of a total of 191 gilts were evaluated for the fertility trial. Embryos and oocytes were recovered from the isolated genital tracts of the slaughtered animals. The fertility of the frozen-thawed semen was assessed by determination of the fertilization rate on the basis of morphologically normal developed embryos and the number of accessory spermatozoa attached to the zona pellucida 72 hours after artificial insemination.

The following results were obtained:

1) Part one: Freezing boar semen in flat straws resulted in a significantly better post-thaw motility than freezing in the other types of straws tested. The percentage of spermatozoa with an intact apical ridge of the acrosome did not differ significantly among the straws. Raising the water bath temperature from +39°C to +60°C did not improve the post-thaw quality of the semen packaged in flat straws or hollow cylinders.

2) Part two: The boar semen used in the fertility trial showed significantly better post-thaw motility and acrosome integrity when frozen in the flat straw than in the round straw. The fertilization rate was significantly better in the group of gilts inseminated with semen frozen in the flat straws than in the group inseminated with semen frozen in the round straws. Significantly more zona pellucida with accessory spermatozoa were found in the group inseminated with semen frozen in the flat straws than in the group inseminated with semen frozen in the round straws. The number of accessory spermatozoa attached to the zona pellucida was significantly higher in the group inseminated with semen frozen in the flat straws than in the group inseminated with semen frozen in the round straws.

Conclusions:

The hollow cylinders developed in the course of this study did not improve the post-thaw quality of the frozen-thawed boar semen. The flat straws tested in this study did improve significantly the post-thaw quality of the cryopreserved boar semen and consequently produced a significant increase in the number of accessory spermatozoa which supposedly is correlated to the capacity of fertilization of the sperm population present in the oviduct, and improved significantly the fertility of the cryopreserved boar semen.

Christian Simmet

Aspectos criofísicos de la congelación de semen porcino y sus efectos sobre la calidad y la capacidad de fertilización del semen

7 RESUMEN

En la primera parte del presente trabajo se compararon diferentes envases para la congelación de semen porcino poniéndose especial énfasis en su aptitud criofísica. Los envases comparados fueron un tubo redondo, un tubo aplanado y dos tipos de cilindros huecos desarrollados durante este estudio. El semen fué procesado según el procedimiento de WESTENDORF et al. (1975). Cada vez que se congeló semen, 3 eyaculados fueron procesados separadamente hasta la adición del diluyente de congelación, a continuación se mezclaron los 3 eyaculados, se envasaron en los tubos anteriormente descritos y se congelaron bajo condiciones estandarizadas. Dos temperaturas de descongelación (+39°C y +60°C) fueron probadas con respecto a su influencia sobre los parámetros espermáticos en el caso del tubo aplanado y de los cilindros huecos. La motilidad y la integridad del acrosoma de los espermatozoides sirvieron como parámetros para evaluar la calidad seminal después de la descongelación.

En la segunda parte del trabajo se realizó un ensayo de fertilidad para probar si la fertilidad de semen porcino se mejora con la utilización de los tubos aplanados. Para ello se congeló bajo condiciones de rutina semen porcino en partes iguales en tubos redondos y tubos aplanados. Para los ensayos se dispuso de 191 cerdas de las cuales se evaluaron 163. Para la evaluación de la fertilidad del semen, se utilizaron la tasa de fecundación al día 3 después de la inseminación y el número de espermatozoides accesorios en la zona pelúcida.

Los resultados fueron los siguientes:

Primera parte: Con el tubo aplanado se observó una motilidad a la descongelación significativamente mejor que con los otros envases. No hubo una diferencia significativa entre los envases con respecto al porcentaje de espermatozoides con un borde apical normal del acrososma. El incremento de la temperatura de descongelación de +39°C a +60°C no mejoró la calidad seminal a la descongelación.

Segunda parte: El semen porcino congelado para el ensayo de fertilidad mostró significativamente mejores valores de motilidad e integridad acrosómica a la descongelación cuando fué envasado en tubos aplanados. La tasa de fecundación inicial fué significativamente mayor en el grupo de cerdas inseminadas con semen envasado en tubos aplanados. El número de espermatozoides accesorios en la zona pelúcida fué significativamente mayor en el grupo de cerdas inseminadas con semen envasado en tubos aplanados.

Conclusiones:

Los cilindros huecos desarrollados en el presente trabajo no dieron mejores resultados a la descongelación que los otros tubos probados. Los tubos aplanados mejoraron significativamente la calidad seminal a la descongelación. Por ende aumentó significativamente la tasa de fertilización y el número de espermatozoides accesorios en la zona pelúcida, lo cual sirve como indicador para la capacidad de fecundación de la población espermática presente en el oviducto.