

## 6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden sechs bis neun geteilte Ejakulate von neun Hengsten des Landgestütes Celle verwendet. Die eine Hälfte wurde nach Verdünnung mit Magermilchverdünner zentrifugiert und in demgleichen Verdünner resuspendiert, die andere Hälfte wurde durch eine Glaswoll-Sephadex-Säule filtriert. Weiterhin wurden von dreien dieser Hengste täglich Ejakulate gewonnen, die alternierend gefiltert oder zentrifugiert wurden. Sowohl vor als auch nach Aufbereitung durch die verschiedenen Verfahren wurden mittels Phasenkontrastmikroskop die Vorwärts- und Gesamtmotilität beurteilt.

Unmittelbar nach der Aufbereitung sowie nach 24 und 48 Stunden erfolgte eine erneute Beurteilung der Motilität. Außerdem wurde zu diesen Zeitpunkten eine Bewertung der Morphologie durch Auszählung eines mittels Dual-Stain gefärbten Ausstriches vorgenommen.

In einem Besamungsversuch wurde der filtrierte und zentrifugierte Samen von drei Hengsten eingesetzt. In der Versuchsgruppe wurden 103 Stuten mit 200 Millionen filtrierter vorwärtsbeweglicher Spermien pro Dosis besamt. Die 73 Stuten der Kontrollgruppe erhielten zentrifugierten Samen in gleicher Dosierung.

Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

- Die Anwendung des Glaswoll-Sephadex-Filters ist praktikabel und nicht zeitaufwendiger als die Zentrifugation.
- Durch die Filtration konnte der Anteil der vorwärtsbeweglichen und der gesamtbeweglichen Spermien signifikant gegenüber der Ausgangspopulation gesteigert werden (um 12% bzw. 8%)
- Die Zeitverlaufskurven für die Motilitätswerte von 0 bis 48 Stunden zeigen einen nahezu parallelen Verlauf für den zentrifugierten bzw. den filtrierten Samen, daß heißt, daß nach 48 h noch immer ein Vorsprung von 8 bis 16% für die filtrierte Probe besteht.
- Die Rückgewinnungsraten für die Anzahl aller Spermien sind nach der Zentrifugation höher, die Rate an rückgewonnenen vorwärtsmotilen Spermien ist beim filtrierten Samen in Versuch 1 geringgradig höher, in Versuch 2 geringgradig niedriger als bei der zentrifugierten Vergleichsprobe. Bei der Gesamtmotilität sind die Zahlen fast gleich bei einer geringem Überlegenheit des zentrifugierten Samens.
- Bei Betrachtung der mittels Dual-Stain-Färbung bewerteten Morphologie konnte durch die Glaswoll-Sephadex-Filtration ein signifikant höherer Anteil

an lebenden Spermien mit intaktem Akrosom gewonnen werden, während die Anzahl an Spermien mit Kopfkappendefekten gegenüber der zentrifugierten Population signifikant geringer war.

Im Besamungsversuch zeigte sich nach der ersten Rosse eine zahlenmäßige Überlegenheit der Trächtigkeitsraten in der Versuchsgruppe, wenn auch keine signifikante Differenz zu errechnen war.

Die Filtration durch eine Glaswoll-Sephadex-Säule ist der Zentrifugation in Bezug auf Motilität und Morphologie sowie der Lagerungseignung überlegen. Ob die erkennbare Tendenz einer verbesserten Fruchtbarkeit Bestand hat, erfordert eine Überprüfung in einem noch größer angelegten Feldversuch.

Heike Rauterberg

The filtration of stallion semen through glasswool and sephadex and its application to the artificial insemination with fresh semen.

## 7. Summary

In the following study six to nine splitted samples of ejaculates taken from nine stallions of the State Stud Center Lower Saxony Celle were used.

After dilution with skim milk extender, half of the sample was centrifugated and rediluted in this extender. The other half was filtrated through a column containing glasswool and sephadex. In addition, ejaculates from three of those stallions were obtained daily and filtrated or centrifugated alternately.

Before and after dilution and after 24 h and 48 h of storage an evaluation of the motility was performed. At the same time, the morphology was graded using semen slides dyed by the Dual-Stain-method.

The filtrated and centrifugated semen of three stallions was used in an insemination trial. In the trial group, 103 mares were inseminated with filtrated semen at a dose of 200 million progressive spermatozoa. In the control group, 73 mares were inseminated using centrifugated semen in the same dose.

Following results were obtained:

- The use of the glasswool-sephadex-filtration-column is a practical method which does not take any more time than centrifugation.
- Via centrifugation the number of forward motile and total motile sperm was significantly raised in comparison to the native ejaculate.
- The curve describing the developement of motility during 48 hours showed a parallel course for the centrifugated and the filtrated semen, which means, that after 48 hours the filtrated sample was still ahead ranging 8 to 16%.
- The reconstitution rate for the total sperm number is higher following centrifugation than after filtration. The rate of the reconstituted progressively motile spermatozoa was slightly higher in trial 1, in trial 2, this rate was slightly lower in comparison to the centrifugated semen.

As far as the number of total motile sperm is concerned, the results are nearly the same with a slight superiority of the centrifugated semen.

- The morphology graded by the Dual-Stain dye showed a significantly higher percentage of living spermatozoa with stained acrosome after glasswool-sephadex-filtration, while the amount of cells with head deviations was significantly lower in comparison to the centrifugated population.
- During the insemination trial the first cycle pregnancy rate was higher in the trial group, though no significance could be obtained.
- As far as motility, morphology and storage is concerned, the filtration through a glasswool-sephadex-column is superior to centrifugation. The tendency of an improved fertility after glasswool-sephadex-filtration needs to be proved in a more extensive fertility trial.