

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit sollte das volumetrische Reaktionsvermögen von Bullenspermien unter hypotoner Belastung untersucht und die Frage geprüft werden, ob Beziehungen zwischen den Meßergebnissen und quantitativen und qualitativen Ejakulatparametern (Motilität im Nativ- und Tiefgefriersperma sowie Spermienmorphologie) bestehen. Die Untersuchungen erfolgten an Ejakulaten von insgesamt 209 Bullen einer Besamungsstation, die sich unter Berücksichtigung von Alter und aktueller Nutzung in vier Gruppen untergliederten: a) erbwertgeprüfte Altbullen ($n = 30$, Alter $7,2 \pm 1,4$ Jahre), b) Wartebullen ($n = 67$, Alter $4,9 \pm 0,8$ Jahre), c) Jungbullen im Testeinsatz ($n = 45$, Alter $1,2 \pm 0,2$ Jahre), d) Jungbullen nach dem Testeinsatz ($n = 67$, Alter $1,80 \pm 0,3$ Jahre).

Von den Bullen wurden im Abstand von drei Monaten (April/Mai sowie Juli/August) je zwei Ejakulate für die Ermittlung des Spermiovolumens unter isotonen (300 mosmol) und hypotonen (150 mosmol) Bedingungen eingesetzt. Daneben wurden die Parameter Ejakulatvolumen, Massenbewegung, Vorwärtsbewegung im Nativsperma und Prozentsatz morphologischer Veränderungen ermittelt. An Tiefgefriersperma erfolgte mittels computergestützter Videomikrographie die Bestimmung der prozentualen Anteile motiler und linear-motiler Spermien und der Geschwindigkeit längs der korrekten Bewegungslinie (VCL) für motile und linear-motile Spermien.

Für die zellvolumetrischen Messungen stand ein computergestütztes Zellanalysegerät zur Verfügung, das nach dem Widerstandsmeßprinzip in Verbindung mit einer Pulsflächenanalyse für die Signalauswertung arbeitet. Für die zellvolumetrischen Messungen wurden 1 : 50.000 verdünnte Spermaproben für 5 Minuten im Wasserbad (27°C) inkubiert und Doppelmessungen mit jeweils 200 μl der verdünnten Probe für die zellvolumetrischen Messungen eingesetzt, so daß pro Doppelmessung 4.000 - 10.000 Spermien ausgewertet wurden. Aufgrund von Eichmessungen mit Latexpartikeln wurden die

Volumina der Spermien im hypoosmotischen Belastungstest mit dem Korrekturfaktor 1,32 transformiert.

Die Auswertung der zellvolumetrischen Meßdaten mittels einfaktorierter Varianzanalyse zeigte keine Unterschiede zwischen den vier Bullengruppen auf. Für die Gesamtzahl der eingesetzten Ejakulate betrug das mittlere Spermienvolumen unter isotonen Bedingungen $36,52 \pm 4,40$ (Untersuchung 1) bzw. $32,18 \pm 5,28 \times 10^{-15} \text{ l}$ (Untersuchung 2). Unter hypotoner Belastung stieg das Volumen um das 1,7 bzw. 1,9fache auf $62,21 \pm 4,50$ bzw. $61,35 \pm 5,94 \times 10^{-15} \text{ l}$. Die Differenzen zwischen den beiden Versuchsdurchführungen sind auf methodische Einflüsse zurückzuführen.

Zwischen dem Spermienvolumenquotienten (Volumen hypoton/Volumen isoton) und den Motilitätsparametern Vorwärtsbewegung in unverdünntem Ejakulat und in Tiefgefriersperma sowie dem Prozentsatz linear motiler Spermien bestanden schwache bis deutliche Korrelationen (1. Untersuchung: $r = 0,29, 0,49$ bzw. $0,29$, 2. Untersuchung: $r = 0,39, 0,49$ bzw. $0,09$). Eine negative Korrelation ($r = -0,32$) bzw. ($r = -0,48$) war zwischen dem Spermienvolumenquotienten und dem Prozentsatz morphologischer Abweichungen zu verzeichnen.

Für die von einem Teil der Bullen vorliegenden Non return-Raten ergaben sich keine Korrelationen zu den überprüften qualitativen Parametern. Insbesondere konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang zu den Spermienvolumenquotienten nachgewiesen werden.

Aus den Untersuchungsergebnissen insgesamt ist abzuleiten, daß der hypoosmotische Belastungstest keine über die Aussagekraft der qualitativen Ejakulatmerkmale hinausgehenden, zusätzlichen für die Fertilitätsprognose relevanten Informationen ergab. Die Gründe hierfür liegen sehr wahrscheinlich darin, daß es sich bei den in den Versuchen eingesetzten Bullen um ein hinsichtlich gesundheitlicher und spermatologischer Anforderungen hochselektiertes Tiermaterial handelte.

6 Summary

Hauke Bøge: Investigations on the reactivity of bull spermatozoa during hypotonic burden

The aim of the study was to investigate the reactivity of bull spermatozoa during hypotonic burden and to analyze the interrelationships of the dates to quantitative and qualitative ejaculate parameters.

209 bulls of an insemination station were divided into four groups according to age and topical use: a) heredity proved bulls ($n = 30, 7,2 \pm 1,4$ ys.), b) waiting bulls ($n = 67, 4,9 \pm 0,8$ ys.), c) young bulls during testing ($n = 45, 1,2 \pm 0,2$ ys.), d) young bulls after testing ($n = 67, 1,80 \pm 0,3$ ys.). The sperm volume was measured under isotonic (300 mosmol) and hypotonic (150 mosmol) conditions in two ejaculates of each bull in two different trials (April/May; July/August). In each trial two ejaculates of each bull were used. In each ejaculate, the volume, sperm number, wave motion, forward motility and percentage of abnormal spermatozoa were determined. The percentage of motile and linear motile sperms and the curvilinear velocity (VCL) of motile and linear motile spermatozoa were examined in frozen/thawed semen by computer-assisted videomicrography.

The cell volumetric measurements were carried out with a computerized cell analyzer. Each specimen was diluted 1:50.000 in an electrolyte solution and incubated for 5 min at 27°C. Double measurements of 200 μ l of each sample were analysed, corresponding to 4 000-10 000 spermatozoa per cell volumetric measurement. According to calibration with latex particles the sperm volume in hypoosmotic swelling tests was transformed by the correcting factor 1,32.

The analysis of the results by one-factorial ANOVA revealed no differences between the four groups of bulls. The mean sperm volume under isotonic conditions was $36,52 \pm 4,40$ (trial 1) and $32,18 \pm 5,28 \times 10^{-15}$ l (trial 2). During

hypotonic burden the volume increased 1,7 to 1,9 times up to $62,21 \pm 4,50$ (trial 1) and $61,35 \pm 5,94 \times 10^{-15}$ l (trial 2), respectively. The differences between the two trials are probably due to methodical influences.

The sperm volume quotient ($\text{volume}_{\text{hypotonic}} / \text{volume}_{\text{isotonic}}$) was significantly correlated with motility (forward motility in native and frozen/thawed semen, percentage of linear motile sperm) and negatively correlated with the percentage of morphological abnormal spermatozoa.

The non-return-rate, which was available for a part of the bulls, was not significantly correlated with the parameters of qualitative semen analysis. In particular there was no significant relation to sperm volume quotient.

The results show that the hypoosmotic swelling test revealed no additional informations for the prediction of bull fertility which exceed the qualitative sperm parameters. This is probably due to the use of bulls which were highly selected with regard to health and semen quality.