

5 Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand in einer weiteren Eingrenzung der Eberseminalplasmakomponenten mit ovulationsvorverlegender Wirkung, sowie in der Überprüfung des ovulationsvorverlegenden Effektes des Seminalplasmas zu unterschiedlichen Applikationszeiten in der Brunst. Die Versuche wurden an 28 Jungsauen in insgesamt 67 Zyklen durchgeführt. Die Sauen wurden nach dem "modifizierten Mariensee-Modell" vorbereitet. Dabei wird durch eine chirurgische Maßnahme ein Uterushorn vom Corpus uteri abgetrennt, so daß innerhalb eines Tieres das ipsilaterale Ovar als Versuchsovar und das contralaterale Ovar als Kontrollovar betrachtet werden kann. Die Brunstkontrolle erfolgte alle 8 Stunden mit einem Sucheber, die sonographische Ovarkontrolle der brünstigen Sauen alle 4 Stunden bis zur Ovulation. Die transzervikale Applikation von unbehandeltem Seminalplasma erfolgte zum Zeitpunkt der ersten Feststellung der Eberduldung und vergleichend dazu jeweils zu den Zeitpunkten 16 und 24 Stunden nach Feststellung der Eberduldung. Zur transzervikalen Infusion zum Zeitpunkt der Brunstfeststellung wurden außerdem unterschiedlich aufbereitete Seminalplasmafraktionen eingesetzt. Das Volumen betrug jeweils 100 ml. Aktivkohlebehandeltes und dadurch steroidfreies Seminalplasma wurde über Ionenaustauschersäulen aufgetrennt und eingesetzt. Steroidfreies Eberseminalplasma wurde durch Ultrafiltration in Fraktionen mit einer Molekülgröße von 1 - 10 kDa und kleiner als 1 kDa aufgetrennt. Die Fraktion mit einer Molekülgröße von 1 - 10 kDa wurde mit Pronase verdaut bzw. mit Acetonitril behandelt und lyophilisiert. Als Substitute mit hypothetischer ovulationsinduzierender Wirkung wurden Lösungen von porcinem Relaxin und eines GnRH-Analogons (Buserelin) eingesetzt.

Durch sonographische Untersuchungen der Ovulationszeitpunkte in vierstündigen Intervallen wurde die zeitliche Differenz des Intervalls von Brunstbeginn bis Ovulation zwischen ipsi- und contralateralem Ovar ermittelt. Dadurch ließen sich folgende Ergebnisse erzielen:

Eine Behandlung mit unbehandeltem Seminalplasma zum Zeitpunkt der Feststellung der Eberduldung bewirkte eine Ovulationsvorverlegung von

8,7 ± 2,0 Stunden und die Behandlung 16 Stunden nach Feststellung der Eberduldung bewirkte eine Ovulationsvorverlegung von 4,6 ± 3,8 Stunden. Bei einer Behandlung 24 Stunden nach Feststellung der Eberduldung konnte kein Einfluß auf die Ovulation festgestellt werden. Der ovulationsvorverlegende Effekt des Seminalplasmas tritt um so ausgeprägter auf, je länger das Intervall zwischen Applikation des Seminalplasmas und Ovulation des Kontroll ovaris ist. Hierbei wurde bei einem Intervall ≤ 20 Stunden bei keiner Behandlung und bei einem Intervall ≥ 28 Stunden bei jeder Behandlung ein ovulationsvorverlegender Effekt gesehen.

Die ovulationsvorverlegende Wirkung des steroidfreien Seminalplasmas wird von einer oder mehreren Substanzen mit einer Molekülmasse von 1 bis 10 kDa bewirkt. Die Ovulation ließ sich damit um 8,0 ± 2,8 Stunden vorverlegen.

Die ovulationsvorverlegende Wirkung des verwendeten steroidfreien Seminalplasmas wurde durch die Behandlung mit Pronase aufgehoben.

Durch Lyophilisierung des steroidfreien Seminalplasmas und Behandlung mit Acetonitril wurde die ovulationsvorverlegende Wirkung auf 3,0 ± 2,0 Stunden eingeschränkt.

Transzervikale Infusionen von PBS-Lösungen mit 2 ng/ml bzw. 20 ng/ml Relaxin hatten keinen Einfluß auf die Ovulation.

Die Applikation einer PBS-Lösung mit 0,04 µg/ml Buserelin bewirkte keine zeitliche Verschiebung des Ovulationszeitpunktes.

Zusammenfassend läßt sich der ovulationsvorverlegende Effekt des steroidfreien Seminalplasmas einer pronasesensitiven Substanz mit einer Molekülmasse zwischen 1 und 10 kDa zuordnen. Eine ovulationsvorverlegende Wirkung ist nur zu erwarten, wenn die Seminalplasmaapplikation mindestens 20 Stunden vor der spontanen Ovulation erfolgt. Eine Applikation 24 Stunden nach Feststellung der Eberduldung, dem üblichen Zeitpunkt für die erste Insemination, ist zu spät für eine ovulationsvorverlegende Wirkung. Die Ergebnisse bestätigen das Zugrundeliegen eines lokalen, zwischen Uterushorn und Ovar der zugehörigen Seite gerichteten Einflusses des Seminalplasmas auf die Ovulation.

Thorsten Michael Peter Hahn

Influence of native and modified seminal plasma on the time of ovulation in gilts at different times of application in oestrus.

6 Summary

The aim of the present study was to characterize the components of boar seminal plasma with ovulation influencing effects. 28 gilts in 67 cycles were used. The gilts were prepared according to the "modified Mariensee" animal model. Preparative surgery included the detachment of one uterine horn from the corpus uteri, so that transcervical infusions enter only the opposite intact uterine horn. Thus every animal has an ipsilaterale treated-ovary on the side of the intact uterine horn and a contralaterale control ovary on the site of the detached uterine horn. Oestrus controls were performed 8 hours with a teaser boar, sonographic control of ovaries was done every 4 hours until ovulation occurred. The transcervical application of untreated boar seminal plasma was carried out at 0 h, 16 h and 24 h after the first tolerance of mounting. Several modified seminal plasma media were used for transcervical infusion at the time of oestrus detection. The used volume was 100 ml. Seminal plasma was treated with activated charcoal to obtain a steroid free fraction. Furthermore, steroid free seminal plasma was separated with ion exchange columns, or was treated by ultrafiltration to divide it into fractions of 1-10 kDa and less than 1 kDa. The fraction of 1-10 kDa was digested with pronase or treated with acetonitrile and lyophilised. As substitutes with a hypothetical ovulation inducing effect, solutions of porcine relaxin and the GnRH-analogue Buserelin were used.

The time of ovulation was detected sonographically in 4-intervals. The ovulation inducing effect of medium was calculated by the time difference between the intervals onset of oestrus and ovulation between left and right ovaries. The following results could be achieved:

Treatment with untreated seminal plasma at the detection of oestrus (0 h) showed an ovulation advancing effect of 8.7 ± 2.0 hours. At 16 hours after the detection of oestrus the ovulation advancing effect was 4.6 ± 3.8 hours. The transcervical application of untreated boar seminal plasma 24 h after the detection of oestrus did not show any influence on the time of ovulation. The

ovulation inducing effect of seminal plasma is more pronounced, the longer the interval between application and ovulation of the control ovary is. Intervals ≤ 20 hours did not advance ovulation and intervals ≥ 28 hours led all gilts to an advancement of ovulation.

The ovulation influencing effect of steroid-free seminal plasma is caused by a component with a molecular weight between 1 and 10 kDa. Ovulation could be advanced 8.0 ± 2.8 hours with this fraction.

Lyophilisation and treatment with Acetonitrile reduced the ovulating advancing effect to 3.0 ± 2.0 hours.

Transcervical infusion of PBS-solutions with 2 ng/ml or 20 ng/ml Relaxin did not influence the time of ovulation.

The time of ovulation was not influenced by the application of PBS- Solutions with Buserelin.

In summary the ovulation influencing effect of steroid free seminal plasma could be attributed to a pronase sensitive substance with a molecular mass between 1 and 10 kDa. An ovulation inducing effect can only be expected if seminal plasma is applied at least 20 hours before spontaneous ovulation. Application 24 h after detection of oestrus, which is the usual time for first artificial insemination, is too late to cause advancement of ovulation. The results confirm that the influence of seminal plasma on the time of ovulation is based on a local mechanism between uterine horn and ovary.