Zeitschrift: Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

Herausgeber: Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

Band: 121 (1979)

Artikel: Tiefgefrieren von Ebersperma : ein Vergleich zweier Methoden

Autor: Schuler, D. / Küpfer, U. / Zimmermann, F.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-590584

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 13.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Schweiz. Arch. Tierheilk. *121*, 173–178, 1979

Aus der Klinik für Nutztiere und Pferde der Universität Bern (Direktor: Prof. Dr. H. Gerber)

Tiefgefrieren von Ebersperma: Ein Vergleich zweier Methoden

von *D. Schuler, U. Küpfer* und *F. Zimmermann*[1]

1. Einleitung

In den letzten Jahren wurden mehrere Methoden zum Tiefgefrieren (TG) von Ebersperma beschrieben (*Pursel* und *Johnson,* 1975; *Westendorf* et al., 1975; *Larsson* et al., 1977; *Paquignon* und *Courot,* 1975). Unterschiedliche Versuchsbedingungen verunmöglichen aber einen direkten Vergleich der Resultate. Aus diesem Grund wurde in einem Split-sample-Versuch die Methode von *Pursel* und *Johnson* (1975) mit einer leicht modifizierten Hülsenberger Pailletten-Methode (*Westendorf* et al., 1975) anhand von Labor- und Besamungsresultaten verglichen.

2. Material und Methoden

2.1. *Tiermaterial*

Von 4 Ebern des Basiszuchtbetriebes der Firma Optigal SA in Chesalles wurde in den Monaten Dezember 1977 bis Juni 1978 Sperma tiefgefroren und zur Besamung von 214 pluriparen Sauen desselben Betriebes verwendet. Diese Zuchttiere der Rasse Edelschwein werden einheitlich gehalten und gehören zu einer der Basisherden für ein Kreuzungsprogramm. Bedingt durch die einseitige Selektion auf hohe Mast- und Schlachtleistung sind die Fruchtbarkeitsergebnisse unterdurchschnittlich. Nach den bisherigen Erfahrungen in dem Zuchtbetrieb hat die künstliche Besamung mit Frischsperma im Vergleich mit der natürlichen Paarung keinen negativen Einfluss auf die Fruchtbarkeit.

2.2. *Spermaverarbeitung*

Von den 4 Ebern wurden je 11 Ejakulate mit der Handdruckmethode am Phantom gewonnen, sofort halbiert und nach den folgenden zwei Methoden tiefgefroren:

Methode A: nach *Pursel* und *Johnson* (1975) verarbeitet und in Form von Pellets tiefgefroren.

Methode B: Hülsenberger Pailletten-Verfahren nach *Westendorf* et al. (1975), modifiziert: das Sperma wurde sofort mit «Kiew»-Hauptverdünner (*Haeger* und *Mäckle,* 1971) im Verhältnis 2:3 verdünnt und innert 6 Stunden auf 15 °C abgekühlt. Nach Zentrifugation (8 Minuten bei 800 g) und Entfernen des Überstandes wurde das Sperma mit TG-Verdünner «Co» (*Westendorf* et al., 1975) im Verhältnis 1:1 resuspendiert. Das Sperma wurde innert 2 Stunden auf 5 °C abgekühlt, je nach Dichte noch mit TG-Vorverdünner «Co» (5 °C) ergänzt und dann im Verhältnis 2:1 mit TG-Nachverdünner «C+» (*Westendorf* et al., 1975) verdünnt. Sofort erfolgte das Abfüllen des Spermas (6 ml pro Dosis, enthaltend insgesamt 6 Mia Spermien) in Polyamid-Pailletten (Aussendurchmesser 7 mm, Innendurchmesser 6 mm, Länge 30 cm), welche beidseitig mit einer Edelstahlkugel geschlossen wurden. Die Pailletten wurden in einer Styrofoamkiste 5 cm über dem flüssigen Stickstoff in horizontaler Lage tiefgefroren und nach 20 Minuten in den flüssigen Stickstoff umgelagert.

---

[1] Korrespondenzadresse: Postfach 2735, CH-3001 Bern.

2.3. Auftauen und Besamungen

Methode A: nach *Pursel* und *Johnson* (1975).

Methode B: die Pailletten wurden während 52 Sekunden in 52 °C warmem Wasser aufgetaut und zum Besamen direkt auf das Besamungsinstrument gesteckt. Als Nachspülflüssigkeit wurden 80 ml 25 °C warme OLEP-Auftaulösung (*Larsson* und *Einarsson*, 1976a) verwendet.

Die Besamung erfolgte bei beiden Methoden sofort nach dem Auftauen durch einen Melrose-Katheter. Die Sauen wurden alle in der ersten Brunst nach dem Absetzen der Ferkel besamt, und zwar je zur Hälfte mit Sperma, das nach Methode A bzw. Methode B tiefgefroren und aufgetaut worden war. Es wurden Doppelbesamungen im Abstand von 20 Stunden durchgeführt.

Die Beurteilung der Besamungsergebnisse erfolgte anhand der Anzahl trächtig gewordener Sauen und der Wurfgrösse. Für alle vier Eber standen Vergleichszahlen über Besamungen mit Frischsperma zur Verfügung.

2.4. Beurteilung der Spermaqualität

Die Beurteilung der Spermaqualität erfolgte nach den üblichen Kriterien. Folgende Parameter wurden für die vorliegende Arbeit berücksichtigt: Motilität des Frischspermas, Motilität und Akrosommorphologie (nach *Pursel* und *Johnson,* 1974) des aufgetauten Spermas. Da die Motilität der Spermien 15 Minuten nach dem Auftauen aussagekräftiger ist als unmittelbar danach (*Luder,* 1979), wurde sie zu diesem Zeitpunkt sowie nach 3- und 5stündiger Aufbewahrungszeit bei 37 °C (Thermoresistenztest) beurteilt.

3. Resultate

3.1. Laborresultate (Tabelle 1)

Die nach Methode A tiefgefrorenen Spermien wiesen ausser bei Eber 3 signifikant häufiger einen normalen apikalen Rand (NAR) auf als die nach Methode B verarbeiteten Spermien. Die Motilität 15 Minuten nach dem Auftauen war mit Methode A bei allen Ebern signifikant bzw. hochsignifikant besser. Nach 3 Stunden wurden geringere Unterschiede gefunden. Nach 5 Stunden jedoch erwies sich die Motilität der nach Methode B tiefgefrorenen Spermien der Eber 3 und 4 als signifikant besser.

Die Proben der Eber 1 und 2 wiesen sowohl unmittelbar nach der Gewinnung als auch nach dem Auftauen und im Thermoresistenztest bei beiden Methoden meist bessere Motilitäten auf als das Sperma der Eber 3 und 4. Bezüglich Akrosommorphologie waren indessen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Ebern feststellbar.

3.2. Trächtigkeitsresultate (Tabelle 2)

Eber 1 erzielte unabhängig von der TG-Technik eine hohe Konzeptionsrate und grosse Würfe. Auch bei Eber 3 schien die Methode des Tiefgefrierens die Resultate nicht stark zu beeinflussen. Allerdings lag bei diesem Eber der Anteil trächtiger Sauen bei Methode B deutlich ($p < 0{,}05$) unter dem Gesamtdurchschnitt. Bei Besamungen mit nach Methode B tiefgefrorenem Sperma des Ebers 2 wurde eine signifikant höhere Konzeptionsrate erzielt als mit Methode A. Das Sperma des Ebers 4 eignete sich offensichtlich nicht zum Tiefgefrieren nach der Methode A; die Konzeptionsrate fiel signifikant geringer ($p < 0{,}05$) aus als diejenigen der anderen Eber. Mit Methode B jedoch konnten für diesen Eber durchschnittliche Resultate erzielt werden.

Tabelle 1 Vergleich zweier Tiefgefriermethoden für Ebersperma. Laborresultate

Eber-Nr.	Anzahl Ejakulate	Methode	Frischsperma Motilität % $\bar{x}$ ± s	Aufgetautes Sperma Morphologie %NAR[1] unmittelbar nach Auftauen $\bar{x}$ ± s	Motilität % Zeit nach dem Auftauen ¼ Std. $\bar{x}$ ± s	3 Std. $\bar{x}$ ± s	5 Std. $\bar{x}$ ± s
1	11	A	80,5 ± 3,3	30,1 ± 5,2	54,1 ± 6,0	28,6 ± 9,3	12,5 ± 6,8
		B		23,6 ± 8,1*	36,4 ± 10,7***	22,0 ± 9,9	17,2 ± 6,9
2	11	A	81,8 ± 3,2	26,1 ± 5,2	49,6 ± 6,2	32,7 ± 4,9	16,3 ± 6,5
		B		20,3 ± 5,4*	40,5 ± 8,4**	20,2 ± 5,5***	15,2 ± 4,5
3	11	A	77,3 ± 3,9	21,6 ± 7,3	37,3 ± 7,2	13,1 ± 6,0	3,7 ± 2,9
		B		17,3 ± 7,2	23,4 ± 7,7***	13,7 ± 7,2	10,7 ± 5,2
4	11	A	76,4 ± 4,3	25,6 ± 6,1	42,7 ± 6,5	19,0 ± 7,7	6,0 ± 3,5
		B		16,1 ± 5,7**	29,1 ± 6,0***	14,7 ± 3,7	11,9 ± 3,4***
Alle Eber	44	A	79,0 ± 4,3	27,4 ± 5,2	45,9 ± 9,1	23,4 ± 10,6	9,6 ± 7,2
		B		19,3 ± 7,3***	32,1 ± 10,6***	17,5 ± 7,8**	13,8 ± 5,8**

t-Test: * $p < 0,05$
** $p < 0,01$
*** $p < 0,001$

[1] Prozentualer Anteil der Spermien mit normalem apikalem Rand

A = Methode nach *Pursel* und *Johnson* (1975)
B = modifizierte Methode nach *Westendorf* et al. (1975)

Tabelle 2 Vergleich zweier Tiefgefriermethoden für Ebersperma. Trächtigkeitsresultate nach Doppelbesamung

Eber-Nr.	Methode	Besamte Sauen n	davon trächtig n	davon trächtig %[1]	Wurfgrösse $\bar{x}$ ± s
1	A	28	22	79	8,82 ± 2,77
	B	27	22	81	9,27 ± 2,11
2	A	29	18	62	7,94 ± 2,63
	B	30	26*	87	8,04 ± 2,78
3	A	24	14	58	6,71 ± 2,37
	B	28	15	54	6,80 ± 2,10
4	A	26	8	31	6,25 ± 3,03
	B	22	15**	68	7,67 ± 3,30
Alle Eber	A	107	62	58	7,76 + 2,86
	B	107	78*	73	8,08 + 2,74

χ^2-Test: * $p < 0{,}05$
** $p < 0{,}01$

A = Methode nach *Pursel* und *Johnson* (1975)
B = modifizierte Methode nach *Westendorf* et al. (1975)

[1] Bei der Wertung der Prozentzahlen ist der Bestand (n) zu berücksichtigen

Gesamthaft war die mit Methode B erreichte Abferkelrate von 73% signifikant besser als diejenige mit Methode A von 58%. Bezüglich der Wurfgrössen liessen sich zwischen den Methoden A und B keine signifikanten Unterschiede errechnen. Je höher die Konzeptionsrate war, desto mehr Ferkel pro Wurf wurden erzielt (Korrelationskoeffizient $r = +0{,}84$, $p < 0{,}01$). Im selben Betrieb betrug während der gleichen Zeit die Konzeptionsrate bei Doppelbesamungen mit Frischsperma 81,5%. Die durchschnittlichen Wurfgrössen der Eber bei Verwendung von Frischsperma betrugen für Eber 1 9,1 (166 Würfe); für Eber 2 8,8 (105); für Eber 3 8,3 (84) und für Eber 4 7,6 (44). Die kleinen Würfe sind für diesen Betrieb als normal anzusehen.

4. Diskussion

Die einheitlichen Haltungsbedingungen der Tiere sowie die Versuchsanordnung erlauben einen direkten Vergleich der zwei TG-Verfahren.

Methode A erzielte im Labor gesamthaft bessere Werte; die Motilität 15 Minuten und 3 Stunden sowie der Anteil Spermien mit normalem apikalem Rand (NAR) nach dem Auftauen waren signifikant besser. Dies steht in gewissem Widerspruch zu den Untersuchungen von *Schrader* et al. (1977). Diese Autoren stellten, im Vergleich mit der Methode A, im Originalverfahren nach *Westendorf* et al. (1975) eine deutlich bessere Motilität nach dem Auftauen fest. Die Motilität 5 Stunden nach dem Auftauen war als einziger im Labor untersuchter Parameter bei

Methode A signifikant schlechter. Da mit Methode A geringere Konzeptionsraten und durchschnittlich kleinere Würfe erzielt wurden, scheint es somit, dass beim Vergleich von TG-Methoden die Überlebensfähigkeit der Spermien im Thermoresistenztest am ehesten Hinweise auf das Befruchtungsvermögen gibt. Ähnliches beobachteten *Larsson* und *Einarsson* (1976b) und *Richter* et al. (1975) beim Vergleich einzelner Eber. In unserem Material jedoch hat dies für die einzelnen Vatertiere nur beschränkt Gültigkeit.

Hervorzuheben ist, dass die guten Eber 1 und 2 für alle im Labor untersuchten Parameter bei beiden Methoden im allgemeinen bessere Werte zeigen als die Eber 3 und 4. Die Besamungsresultate der erstgenannten Eber waren ebenfalls besser.

Die Gefriertauglichkeit und Befruchtungsfähigkeit des Spermas der verschiedenen Eber unterscheiden sich deutlich. Die Beeinträchtigung der Spermaqualität hängt nicht nur von der verwendeten TG-Methode, sondern auch vom Eber selbst ab. So zeigten Eber 1 und 3 bei beiden Methoden ungefähr gleiche Konzeptionsraten und Wurfgrössen. Bei Methode A erwiesen sich bei Eber 2 die Konzeptionsrate, bei Eber 4 Konzeptionsrate und Wurfgrösse als geringer.

Wie schon *Larsson* und *Einarsson* (1976b) und *Schuler* (1979) beobachteten, gibt es Eber, die bei Verwendung von Frischsperma gute Konzeptionsraten aufweisen, beim Einsatz von tiefgefrorenem Sperma jedoch auffällig schlechte Resultate erzielen. Dies bestätigt die Konzeptionsrate des Ebers 4, der mit nach Methode A tiefgefrorenem Sperma nur bei 8 von 26 besamten Sauen Trächtigkeit erzielte. Auch Eber 3 wies bei Verwendung von tiefgefrorenem Sperma bei beiden Methoden deutlich schlechtere Resultate auf als mit Frischsperma.

Aus unserer Arbeit geht hervor, dass die im Labor gemessenen Parameter nur eine sehr beschränkt gültige Aussage über das Befruchtungsvermögen von tiefgefrorenem Ebersperma zulassen. Besonders der Vergleich verschiedener TG-Methoden sollte nicht nur anhand des Labors geschehen; Besamungsversuche mit Sperma mehrerer Eber sind dazu unbedingt erforderlich. Andererseits zeigt der Versuch, dass mit geeigneten Ebern nahezu gleiche Resultate wie mit Frischsperma zu erreichen sind.

Zusammenfassung

Die Pellet-Methode nach *Pursel* und *Johnson* (1975) (= Methode A) wurde anhand von Labor- und Besamungsresultaten in einem Split-sample-Versuch mit einer modifizierten Pailletten-Methode nach *Westendorf* et al. (1975) (= Methode B) verglichen. Währenddem sich Methode A bezüglich der im Labor untersuchten Parameter gegenüber Methode B als überlegen erwies, wurden mit Methode B signifikant bessere Besamungsresultate erzielt:

Methode A: Konzeptionsrate 58% (n = 107), durchschnittliche Wurfgrösse 7,76 Ferkel

Methode B: Konzeptionsrate 73% (n = 107), durchschnittliche Wurfgrösse 8,08 Ferkel

Als aussagekräftigster Parameter stellte sich die Motilität im Thermoresistenztest bei 37 °C 5 Stunden nach dem Auftauen heraus. Zwischen den 4 eingesetzten Ebern wurden grosse Unterschiede beobachtet.

Résumé

La méthode des pellets selon *Pursel* et *Johnson* (1975) (= méthode A) a été comparée à la méthode modifiée des paillettes selon *Westendorf* et al. (1975) (= méthode B) en tenant compte des résultats de laboratoire et des inséminations. Concernant les paramètres examinés en laboratoire, la

méthode A s'est avérée supérieure à la méthode B, en revanche les résultats de l'insémination par la méthode B étaient bien meilleurs.

Méthode A: Taux de conception 58% (n = 107), nombre moyen de porcelets par portée: 7,76.
Méthode B: Taux de conception 73% (n = 107), nombre moyen de porcelets par portée: 8,08.

La motilité dans le test de thermorésistance à 37 °C 5 heures après la décongélation est le paramètre le plus fiable. On a observé de fortes variations entre les quatre verrats utilisés.

Riassunto

Sulla base dei risultati del laboratorio e della fecondazione il metodo dei pellet di *Pursel* e *Johnson* (1975) (= metodo A) viene confrontato in una ricerca con split-sampling con un metodo modificato delle paillettes di *Westendorf* et al. (1975) (= metodo B). Mentre il metodo A appare superiore al metodo B si sono ottenuti risultati significativamente migliori nella fecondazione:

Metodo A: percentuale di concepimento 58% (n = 107), consistenza media della figliata: 7,76 suinetti.

Metodo B: percentuale di concepimento 73% (n = 107), consistenza media della figliata: 8,08 suinetti.

Il più significativo parametro risultava essere la motilità nel test di termoresistenza a 37 °C 5 ore dopo lo scongelamento. Sono state rilevate notevoli differenze tra i 4 verri utilizzati.

Summary

Split samples of boar semen were processed by the pellet-freezing method of *Pursel* and *Johnson* (1975) (= method A) and by a modified straw-(paillet-)freezing method of *Westendorf* et al. (1975) (= method B). Method A was superior regarding laboratory findings whereas the insemination results were significantly better for method B:

Method A: conception rate (107 sows) = 58%, average litter size = 7.76

Method B: conception rate (107 sows) = 73%, average litter size = 8.08

The motility 5 hours post thawing and incubation at 37 °C seemed to be the most valuable parameter. Large differences were observed between the 4 boars.

Verdankung

Wir danken der Firma Optigal SA für die Ermöglichung dieser Arbeit in ihrem Betrieb. Unser besonderer Dank gilt Herrn W. Egli, Chesalles, für die technische Mitarbeit.

Literatur

Haeger O. und *Mäckle N.:* Ein Zweiphasen-Verdünner in der Praxis der Schweinebesamung. Dtsch. tierärztl. Wschr. *78,* 395–397 (1971). – *Larsson K.* and *Einarsson S.:* Fertility of deep frozen boar spermatozoa. Acta vet. scand. *17,* 43–62 (1976a). – *Larsson K.* and *Einarsson S.:* Influence of boars on the relationship between fertility and post thawing sperm quality of deep frozen boar spermatozoa. Acta vet. scand. *17,* 74–82 (1976b). – *Larsson K., Einarsson S.* and *Swensson T.:* The development of a practicable method for deepfreezing of boar spermatozoa. Nord. Vet.-Med. *29,* 113–118 (1977). – *Luder S.:* Untersuchungen zur Tiefgefrierung von Ebersperma mit der Beltsville-Methode. Diss. med. vet., Bern 1979. – *Paquignon M.* et *Courot M.:* Fertilité et prolificité de truies inséminées avec du sperme congelé. Ann. Zootech. *24,* 645–650 (1975). – *Pursel V. G.* and *Johnson L. A.:* Glutaraldehyde fixation of boar spermatozoa for acrosome evaluation. Theriogenology *1,* 63–68 (1974). – *Pursel V. G.* and *Johnson L. A.:* Freezing of boar spermatozoa: Fertilizing capacity with concentrated semen and a new thawing procedure. J. Anim. Sci. *40,* 99–102 (1975). – *Richter L., Romeny E., Weitze K. F.* und *Zimmermann F.:* VII. Mitteilung: Weitere Labor- und Besamungsversuche mit dem Verdünner Hülsenberg VIII. Dtsch. tierärztl. Wschr. *82,* 155–162 (1975). – *Schrader R., Treu H.* und *Hahn R.:* Zur Tiefgefrierkonservierung von Ebersamen in Kunststoffrohren. Dtsch. tierärztl. Wschr. *84,* 9–12 (1977). – *Schuler D.:* Tiefgefrieren von Ebersperma: Labor- und Besamungsversuche mit der Beltsville-Methode. Diss. med. vet., Bern (in Vorbereitung). – *Westendorf P., Richter L.* und *Treu H.:* Zur Tiefgefrierung von Ebersperma: Labor- und Besamungsergebnisse mit dem Hülsenberger Pailletten-Verfahren. Dtsch. tierärztl. Wschr. *82,* 261–267 (1975).