

**Inhaltsverzeichnis**

<b>1 Einleitung und Fragestellung .....</b>	1
<b>2 Literatur.....</b>	3
2.1 Bedeutung der künstlichen Besamung für die Hundezucht.....	3
2.1.1 Vor- und Nachteile.....	3
2.1.2 Technik der Samenübertragung.....	6
2.1.3 Besamungsdosis .....	9
2.1.4 Erfolgsraten .....	9
2.2 Gewinnung des Ejakulates.....	12
2.2.1 Indikationen für die Spermagewinnung.....	12
2.2.2 Voraussetzungen und Methoden .....	12
2.3 Spermauntersuchung .....	15
2.3.1 Konventionelle Spermauntersuchung .....	16
2.3.1.1 Makroskopische Untersuchung .....	16
2.3.1.2 Chemisch-physikalische Untersuchung .....	18
2.3.1.3 Mikroskopische Untersuchung .....	18
2.3.2 Hypoosmotischer Schwelltest (HOS-Test).....	23
2.3.3 Computer-assisted sperm analysis (CASA).....	25
2.3.3.1 Konzentrationsbestimmung .....	28
2.3.3.2 Motilitätsanalyse .....	29
2.3.3.3 Viabilitätsanalyse .....	32
2.4 Spermakonservierung .....	33
2.4.1 Flüssigkonservierung.....	35
2.4.1.1 Herstellung von flüssigkonserviertem Sperma.....	36
2.4.1.2 Lagerung bzw. Versand.....	37
2.4.1.3 Überlebensdauer .....	39
2.4.2 Kryokonservierung.....	42
2.4.3 Vergleich von Flüssig- und Kryokonservierung.....	44
2.5 Verdünner zur Flüssigkonservierung von caninem Sperma .....	46
2.5.1 Anforderungen an einen Verdünnner .....	46
2.5.2 Inhaltsstoffe .....	48
2.5.2.1 Zuckerkomponenten .....	48
2.5.2.2 Puffer .....	50
2.5.2.3 Membranprotektiva .....	51

2.5.2.3.1 Eigelb.....	53
2.5.2.3.2 Milch .....	56
2.5.2.4 Kryoprotektiva .....	56
2.5.2.5 Antibiotika .....	58
2.5.2.6 Sonstige Inhaltsstoffe .....	58
2.5.2.6.1 Antioxidantien .....	58
2.5.2.6.2 Natriumdodecyl(lauryl)sulfat (sodiumdodecyl(lauryl)sulfate, SDS) .....	60
2.5.3 Einzelne Verdünner .....	62
2.5.3.1 Milchverdünner .....	63
2.5.3.2 TRIS-gepufferte Eigelb-Verdünner.....	64
2.5.3.3 Sonstige Verdünner.....	65
2.5.3.4 Kommerzielle Verdünner .....	65
2.5.3.5 Vergleichende Untersuchungen .....	65
<b>3 Material und Methoden.....</b>	<b>75</b>
3.1 Probanden.....	75
3.2 Spermagewinnung .....	76
3.3 Spermabeurteilung.....	77
3.3.1 Klassische Spermatologie .....	78
3.3.1.1 Makroskopische Untersuchung .....	78
3.3.1.2 Chemisch-physikalische Untersuchung .....	78
3.3.1.3 Mikroskopische Untersuchung .....	78
3.3.2 Spermac®-Färbung .....	82
3.3.3 HOS-Test.....	82
3.3.4 Computer-assisted sperm analysis (CASA).....	83
3.3.4.1 Aufbau und Funktionsweise des SpermVision™-Systems	83
3.3.4.2 Probenvorbereitung und Befüllung der Messkammer.....	85
3.3.4.3 Motilitätsanalyse .....	86
3.3.4.4 Viabilitätsanalyse .....	88
3.4 Weiterverarbeitung des Spermazells (Aufbereitung mit den verschiedenen Verdünnern) .....	90
3.4.1 Herstellung der Verdünner .....	90
3.4.2 Aliquotierung und Verdünnung des Spermazells .....	91
3.5 Untersuchung des verdünnten Spermazells .....	93

3.6 Untersuchung der Halteproben .....	94
3.7 Statistische Methoden .....	96
<b>4 Ergebnisse .....</b>	<b>99</b>
4.1 Untersuchungsergebnisse der Nativeejakulate .....	99
4.1.1 Makroskopische Untersuchung .....	99
4.1.2 Chemisch-physikalische Untersuchung .....	99
4.1.3 Mikroskopische Untersuchung .....	99
4.1.4 Spermac®-Färbung .....	100
4.1.5 HOS-Test .....	100
4.1.6 Computer-assisted sperm analysis (CASA) .....	100
4.1.6.1 Motilitätsanalyse .....	100
4.1.6.2 Viabilitätsanalyse .....	101
4.2 Ergebnisse der weiterverarbeiteten Ejakulate unmittelbar nach dem Verdünnen an Tag 0 .....	101
4.2.1 Dichten der verdünnten Ejakulate .....	102
4.2.1.1 Neubauer-Zählkammer .....	102
4.2.1.2 CASA .....	102
4.2.2 Einfluss der Verdünner auf die Motilität an Tag 0 .....	102
4.2.2.1 Subjektiv geschätzte Vorwärtsbeweglichkeit .....	103
4.2.2.2 Mittels CASA gemessene Gesamtmotilität .....	104
4.2.2.3 Mittels CASA gemessene Vorwärtsbeweglichkeit .....	105
4.2.2.4 Weitere mittels CASA bestimmte Motilitätsparameter .....	106
4.2.3 Einfluss der Verdünner auf die Viabilität an Tag 0 .....	113
4.2.3.1 Anteil lebender Samenzellen im Eosinausstrich .....	113
4.2.3.2 Mittels CASA gemessene Viabilität .....	114
4.2.4 Einfluss der Verdünner auf den Anteil an morphologisch veränderten Samenzellen an Tag 0 .....	116
4.2.5 Einfluss der Verdünner auf den Anteil an akrosomalen Veränderungen bzw. auf den Anteil an abgelösten Akrosomen an Tag 0 .....	118
4.2.6 Einfluss der Verdünner auf den Anteil an membrandefekten Samenzellen im HOS-Test an Tag 0 .....	120
4.3 Ergebnisse der Halteproben im Zeitverlauf .....	122
4.3.1 Einfluss der Verdünner auf die Motilität im Zeitverlauf .....	122

4.3.1.1 Subjektiv geschätzte Vorwärtsbeweglichkeit.....	123
4.3.1.2 Mittels CASA gemessene Gesamtmotilität.....	125
4.3.1.3 Mittels CASA gemessene Vorwärtsbeweglichkeit.....	127
4.3.1.4 Weitere mittels CASA bestimmte Motilitätsparameter .....	129
4.3.2 Einfluss der Verdünner auf die Viabilität im Zeitverlauf .....	136
4.3.2.1 Anteil lebender Samenzellen im Eosinausstrich .....	136
4.3.2.2 Mittels CASA gemessene Viabilität .....	138
4.3.3 Einfluss der Verdünner auf den Anteil an morphologisch veränderten Samenzellen im Zeitverlauf.....	140
4.3.4 Einfluss der Verdünner auf den Anteil an akrosomalen Veränderungen im Zeitverlauf .....	144
4.4 Korrelationen der untersuchten Parameter.....	147
4.4.1 Zusammenhang zwischen den mittels Neubauer-Zählkammer bestimmten und den durch CASA gemessenen Dichten.....	147
4.4.1.1 Korrelationen nach Verdünnern getrennt .....	147
4.4.1.2 Korrelation ohne Trennung nach Verdünnern.....	148
4.4.2 Zusammenhang zwischen der subjektiv geschätzten und der mittels CASA gemessenen Vorwärtsbeweglichkeit.....	149
4.4.2.1 Korrelationen nach Verdünnern getrennt .....	149
4.4.2.2 Korrelationen ohne Trennung nach Verdünnern.....	150
4.4.3 Zusammenhang zwischen dem im Eosinausstrich bestimmten Anteil an lebenden Spermien und der durch CASA ermittelten Viabilität .....	150
4.4.3.1 Korrelationen nach Verdünnern getrennt .....	151
4.4.3.2 Korrelationen ohne Trennung nach Verdünnern.....	151
4.4.4 Zusammenhänge zwischen verschiedenen Spermaparametern..	152
4.4.4.1 Korrelationen nach Verdünnern getrennt .....	152
4.4.4.2 Korrelationen ohne Trennung nach Verdünnern .....	154
<b>5 Diskussion .....</b>	<b>156</b>
5.1 Diskussion der Fragestellung.....	156
5.2 Diskussion der Methodik .....	158
5.2.1 Auswahl der Probanden .....	158
5.2.2 Spermagewinnung.....	160
5.2.3 Verwendete spermatologische Untersuchungsmethoden .....	161

5.2.3.1 Klassische Spermatozoologie .....	161
5.2.3.2 Computer-assisted sperm analysis (CASA).....	163
5.2.3.2.1 Konzentrationsbestimmung.....	168
5.2.3.2.2 Motilitätsanalyse .....	168
5.2.3.2.3 Viabilitätsanalyse.....	169
5.2.4 Verdünner .....	170
5.2.4.1 Inhaltsstoffe .....	171
5.2.4.2 Unterschiede bezüglich der Aufarbeitung .....	174
5.3 Diskussion der Ergebnisse.....	176
5.3.1 Nativejakulate .....	176
5.3.1.1 Klassische Spermatozoologie .....	176
5.3.1.2 CASA .....	176
5.3.2 Ergebnisse der weiterverarbeiteten Ejakulate unmittelbar nach dem Verdünnen an Tag 0.....	179
5.3.2.1 Dichten.....	179
5.3.2.2 Motilität.....	180
5.3.2.3 Viabilität .....	186
5.3.2.4 Pathomorphologie.....	187
5.3.2.5 Akrosomale Veränderungen.....	189
5.3.2.6 Funktionelle Integrität der Plasmamembran.....	192
5.3.3 Ergebnisse der Halteproben im Zeitverlauf.....	193
5.3.3.1 Motilität.....	194
5.3.3.2 Viabilität .....	202
5.3.3.3 Pathomorphologie.....	204
5.3.3.4 Akrosomale Veränderungen.....	208
5.3.4 Korrelationen der untersuchten Parameter .....	211
5.3.4.1 Dichten.....	211
5.3.4.2 Motilität.....	213
5.3.4.3 Viabilität .....	214
5.3.4.4 Spermaparameter.....	215
5.4 Schlussbetrachtung und Fazit für die Praxis.....	217
5.5 Offene Fragestellungen.....	219
<b>6 Zusammenfassung .....</b>	<b>221</b>
<b>7 Summary .....</b>	<b>224</b>

<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	227
<b>9</b>	<b>Anhang.....</b>	250
9.1	Geräte.....	250
9.2	Analyseeinstellungen des SpermVision™-Systems .....	251
9.3	Verbrauchsmaterialien .....	252
9.4	Chemikalien.....	253
9.5	Rezepte der verwendeten Medien .....	254
9.5.1	Rezepte der Verdünner .....	254
9.5.1.1	TRIS-Fruktose-Eigelb-Verdünner.....	254
9.5.1.2	Uppsala-Verdünner (Uppsala Equex-2 System) .....	254
9.5.2	Zusammensetzung des Verdünners CaniPRO™ Chili 10 .....	255
9.5.3	Rezepte diverser Gebrauchslösungen.....	255
9.5.3.1	Eosin-Färbelösung.....	255
9.5.3.2	Hypoosmotische Lösung .....	255
9.5.3.3	Färbelösung für die Viabilitätsanalyse.....	256
9.6	Herstellerangaben .....	256
9.7	Verdünner zur Flüssigkonservierung von caninem Sperma .....	261
9.7.1	Milchverdünner .....	261
9.7.2	TRIS-gepufferte Eigelb-Verdünner.....	261
9.7.3	Sonstige Verdünner .....	264
9.7.4	Kommerzielle Verdünner .....	265
9.8	Ergebnistabellen.....	267
9.9	Abbildungsverzeichnis.....	284
9.10	Tabellenverzeichnis.....	286
<b>10</b>	<b>Danksagung .....</b>	291