

**Inhaltsverzeichnis**

<b>1</b>	<b>Einleitung und Fragestellung .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Literatur.....</b>	<b>3</b>
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 Verdünner.....	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 Verdüner .....	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 Spermas (Aufbereitung mit den verschiedenen Verdünnern) .....	90
3.4.1 Herstellung der Verdünner .....	90
3.4.2 Aliquotierung und Verdünnung des Spermas .....	91
3.5 Untersuchung des verdünnten Spermas .....	93

3.6	Untersuchung der Halteproben .....	94
3.7	Statistische Methoden .....	96
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>99</b>
4.1	Untersuchungsergebnisse der Nativejakulate .....	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
5	<b>Diskussion</b> .....	156
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 Spermatologie .....	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 Spermatologie .....	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	Spermparameter .....	215
5.4	Schlussbetrachtung und Fazit für die Praxis .....	217
5.5	Offene Fragestellungen .....	219
6	<b>Zusammenfassung</b> .....	221
7	<b>Summary</b> .....	224

<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	227
<b>9</b>	<b>Anhang</b>	250
9.1	Geräte	250
9.2	Analyseeeinstellungen des SpermVision™-Systems	251
9.3	Verbrauchsmaterialien	252
9.4	Chemikalien	253
9.5	Rezepte der verwendeten Medien	254
9.5.1	Rezepte der Verdüner	254
9.5.1.1	TRIS-Fruktose-Eigelb-Verdüner	254
9.5.1.2	Uppsala-Verdüner (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	Verdüner zur Flüssigkonservierung von caninem Sperma	261
9.7.1	Milchverdünner	261
9.7.2	TRIS-gepufferte Eigelb-Verdüner	261
9.7.3	Sonstige Verdüner	264
9.7.4	Kommerzielle Verdüner	265
9.8	Ergebnistabellen	267
9.9	Abbildungsverzeichnis	284
9.10	Tabellenverzeichnis	286
<b>10</b>	<b>Danksagung</b>	291