



lfz  
raumberg  
gumpenstein

Lehr- und Forschungszentrum  
Landwirtschaft  
[www.raumberg-gumpenstein.at](http://www.raumberg-gumpenstein.at)

# Abschlussbericht TG-Schwein

Wissenschaftliche Tätigkeit Nr. 3626

## Untersuchungen zur Anlage einer genetischen Reserve österreichischer Besamungseber

Preliminary study of the possibilities for a genetic  
reserve of Austrian boars used in artificial  
insemination

**Projektleitung:**

Dipl.Tzt. Beate Berger, LFZ Raumberg-Gumpenstein

**Projektmitarbeiter:**

Ing. Markus Gallnböck, LFZ Raumberg-Gumpenstein

**Projektpartner:**

Dr. Peter Knapp, Schweinezuchtverband Oberösterreich

**Projektlaufzeit:**

2014 – 2015



[www.raumberg-gumpenstein.at](http://www.raumberg-gumpenstein.at)

## Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis.....</b>	<b>3</b>
<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>4</b>
<b>Summary.....</b>	<b>4</b>
<b>Publikationsliste .....</b>	<b>6</b>

## Zusammenfassung

Nach dem Ausbruch des Porcinen Reproduktiven und Respiratorischen Syndroms in der Eberstation des Schweinezuchtverbandes Oberösterreich im Jahr 2012 mit anschließender vollständiger Räumung des Eberbestandes entstand der Bedarf einer zukünftigen Absicherung der Spitzengenetik in der oberösterreichischen Schweinezucht im Seuchenfall.

In dieser Untersuchung wurde die Möglichkeit geprüft eine genetische Sicherung durch die Anlage von tiefgefrorenen Spermareserven durchzuführen. Eines der Ziele der Untersuchung war eine effiziente Screeningmethode, die in den Routinebetrieb einer kommerziellen Eberstation und einer Genbank integrierbar ist, zu entwickeln.

Ebersperma ist generell wesentlich empfindlicher gegen Temperaturschwankungen als Sperma von Wiederkäuern, etwa 25 bis 30% der Eberpopulation sind nicht zur Tiefgefrierkonservierung (TG-Konservierung) geeignet. Die Phospholipid-Membranen der Samenzellen sind genetisch bedingt individuell zusammengesetzt. Daraus resultiert eine unterschiedliche Stabilität gegen Temperaturschocks.

Mit einer in einem vorangegangenen Projekt entwickelten Einfriermethode (Projekt 100307) wurden 28 Top-Genetik Eber der Schweinebesamungsstation Steinhaus b. Wels auf Eignung zur TG-Konservierung geprüft. In die Untersuchung wurden alle 5 an der Station gehaltenen Schweinerassen einbezogen.

Die Motilität wurde vor und nach dem Auftauen mit dem Sperm Vision<sup>®</sup> (Fa. Minitüb, Deutschland) der Eberstation Steinhaus gemessen. Die Akrosomintegrität wurde am Ausstrichpräparat mit der Färbung nach KOVACS et al. (1992) ermittelt. Als Mindestanforderungen für die Spermaqualität nach dem Auftauen wurden 30% progressiv motile Samenzellen und 30% intakte Akrosomen festgelegt. Erfüllte ein Ejakulat die Bedingungen nicht, wurde von diesem Eber mindestens ein zweites Ejakulat geprüft.

Pro Eber standen 1 bis max. 5 Ejakulate zur Verfügung, insgesamt wurden 62 Ejakulate tiefgefroren. 20 ml der spermienreichen Ejakulatphase wurden sofort nach der Gewinnung 1:1 mit handelsüblichem BTS-Verdünner verdünnt und nach der Motilitätsmessung für die weitere Konservierung in das Spermalabor des Institutes für Biologische Landwirtschaft und Biodiversität der Nutztiere verbracht.

Bei dem stark vorselektierten Tiermaterial lag die Frischspermaqualität mit durchschnittlich  $85,1 \pm 3,8\%$  progressiv motilen Spermien und  $73,7 \pm 6,9\%$  intakten Akrosomen sehr hoch. Nach der TG-Konservierung sanken die Werte auf durchschnittlich  $49,4 \pm 18,5\%$  progressiv motile Spermien und  $35,4 \pm 6,8\%$  intakte Akrosomen ab.

Mit 30,6% zur TG-Konservierung ungeeigneten Ejakulaten lagen die Ergebnisse im erwarteten Bereich. 13 Eber lieferten mindestens 1 ungeeignetes Ejakulat. Nach Ausschluss von die Spermaqualität vermindernenden Faktoren (sexuelle Überlastung) konnte von 25 Ebern erfolgreich Sperma konserviert werden. Als nicht zur TG-Konservierung geeignet mussten letztlich nur 3 Eber (10,7%) bewertet werden.

Von den zur TG-Konservierung geeigneten Ebern wurde anschließend mindestens 1 vollständiges Ejakulat nach derselben Methode tiefgefroren. Sämtliche Ejakulate entsprachen sowohl frisch aus auch aufgetaut den Qualitätsrichtlinien. Je nach Leistungsfähigkeit und vorhergehender Rastzeit des Ebers wurden 5 bis 9 Doppelportionen pro Ejakulat konserviert.

Die Qualitätsparameter für Frischsperma (Motilität, Akrosomintegrität) lassen bei den stark auf Spermienqualität vorselektierten Besamungssebern keine Voraussage bezüglich der Spermaqualität nach dem Auftauen zu.

Für unsere in dieser Untersuchung entwickelte Screeningmethode werden lediglich 20ml Nativsperma (spermienreiche Phase) benötigt. Der Rest des Ejakulates steht für den Frischspermaverkauf zur Verfügung. Diese Vorgangsweise steigert die Akzeptanz der Maßnahme bei den Herdebuchzüchtern, weil wegen der TG-Konservierung in der Besamungsroutine nicht auf die Top-Genetik verzichtet werden muss.

Sexuelle Überlastung durch weniger als 5 Tage Rastzeit zwischen den Absamungen hat sich als äußerst negativer Einfluss auf die Eignung des Spermas zur TG-Konservierung erwiesen.

Zur Anlage einer genetischen Reserve von mindestens 5 Doppelportionen genügt in der Regel ein vollständiges Ejakulat pro Eber. Damit ist im Seuchenfall zumindest der kontinuierliche Zuchtfortschritt in der Herdebuchzucht gesichert.

Diese genetische Reserve soll in einem vom oberösterreichischen Schweinezuchtverband angekauften Container gegen Ersatz der Betreuungskosten mindestens 5 Jahre in der Arbeitssammlung der Nutztiergenbank gelagert werden. Sollte nach Ablauf dieser Zeit das Spermadepot nicht gebraucht werden, werden 2 Doppelportionen zu Dokumentationszwecken in das Langzeitlager überstellt, der Rest wird vernichtet.

Verrechenbare Aufträge zur TG-Konservierung von Top-Genetik Sperma für Exportzwecke sind bereits mit dem oberösterreichischen Schweinezuchtverband geplant.

## Summary

Following an outbreak of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome at the AI-centre of the Upper Austrian Pig breeding association in 2012 and complete loss of the boar population in the centre the need arose for protecting top genetics breeding material against future losses caused by epidemics.

This trial examines the possibilities of securing genetic backup by cryo-conserved boar semen. One of the goals of the trial was to develop an efficient screening method which could be integrated easily into the routine work of the AI centre.

Boar semen is more damageable by temperature changes than semen from ruminants. According to literature in about 25 to 30% of the boar population the semen is not suitable for deep freezing. Composition of the phospholipid membranes is determined genetically resulting in varied resistance against temperature shock.

Using a deep freezing method developed in a previous project (project number 100307) 28 Top-Genetics boars of the pig AI centre Steinhaus b. Wels were tested on suitability for deep freezing of semen. All 5 breeds kept at the AI centre were included into the trial.

Motility of semen after collection and after thawing was measured by Sperm Vision<sup>®</sup> (Fa. minitube, Germany) at the boar station. Acrosome integrity was determined by smears stained according to KOVACS et al. (1992). Minimal quality parameters were set at 30% progressive motility and 30% intact acrosomes after thawing. If one ejaculate did not meet the standards at least one more ejaculate was tested.

One to five ejaculates per boar were tested. In total 62 ejaculates were frozen. 20ml of the sperm rich fraction were diluted 1:1 with commercial BTS medium (Fa. minitube, Germany) immediately after collection, motility was measured and the semen was brought to the sperm laboratory of the Institute of Organic Farming and Biodiversity of Farm Animals for further conservation.

The boars were pre-selected for quality of fresh semen. The semen quality after collection was high averaging  $85,1 \pm 3,8\%$  progressive motility and  $73,7 \pm 6,9\%$  intact acrosomes. After thawing the parameters were down to  $49,4 \pm 18,5\%$  progressive motile sperm cells und  $35,4 \pm 6,8\%$  intact acrosomes in average.

With 30,6% of the ejaculates not suitable for deep freezing results for thawed semen quality were in normal range. 13 boars had at least one discarded ejaculate. After exclusion of factors lowering semen quality (too frequent collection) 25 boars could be conserved successfully of. At the end only 3 boars (10,7%) had to be excluded as not suitable for cryo-conservation.

In the second part of the trial at least one complete ejaculate was frozen following the same routine as previously. All ejaculates met the quality standards before freezing and after thawing. 5 to 9 double insemination doses per ejaculate could be obtained depending on individual productivity of the boar and sexual resting time.

The boars being heavily pre-selected the quality parameters of the fresh semen (progressive motility, acrosome integrity) allowed no prediction of the thawing quality.

The screening method developed in the trial needs only 20ml of the sperm rich phase. The other part of the ejaculate can be sold as fresh semen. This enhances the acceptance of the procedure among the pedigree breeders as the Top Genetics boars are available despite the cryo screening.

A sexual resting time of less than 5 days between collections proved to have a negative influence on freezability.

Normally 1 complete ejaculate is sufficient to conserve a genetic reserve of at least 5 double insemination doses ensuring in case of an epidemic the continuous breeding progress in pedigree breeding.

The genetic reserve will be stored as a backup collection at the Austrian Genebank for Farm Animals in a separate container provided by the pig breeding organisation for at least 5 years after conservation. If the reserve is not used during that time 2 double doses are transferred into the core collection for documentary reasons, the rest is destroyed.

Clearable deep freezing conservation of Top Genetics semen for export orders to the Upper Austrian Pig Breeding Association are planned.

## Publikationsliste

- BERGER, B., GALLNBÖCK, M., KNAPP, P., Untersuchungen zur Anlage einer genetischen Reserve österreichischer Besamungseber. Internes Projekthearing, 06.02.2014; 8952 Gumpenstein, Österreich
- BERGER, B., GALLNBÖCK, M., KNAPP, P., 2014: Backup nicht nur am Computer! VÖS Magazin 4/2014, 22.
- BERGER, B., KNAPP, P., GALLNBÖCK, M., Die Genbank als genetische Sicherung der oberösterreichischen Schweinezucht. Rieder Messe, 09.09.2015;
- BERGER, B., KNAPP, P., GALLNBÖCK, M., Cryoconservation of boar semen – a genetic backup of Austrian pig breeding. 27<sup>th</sup> DAGENE Meeting 23.04.2016, Agrobiogen GmbH, Larezhhausen, Deutschland (*eingereicht*).
- STEINWIDDER, A., STARZ, W., HEIN, W., HAGMÜLLER, W., PODSTATZKY, L., BERGER, B., HUSS, H., AXMANN, P., 2015: 10 Jahre Bio-Institut. HBLFA Raumberg-Gumpenstein

,