

## 'N VOORLOPIGE MEDEDELING OOR DIE BEVRIESING VAN BOERBOKSEMEN

A.F. Rossouw

Ontvangs van MS 21.6.74

Navorsingsinstituut vir Vee- en Suiwelkunde, Privaatsak 2, Irene

In hierdie eksperiment is gepoog om 'n metode en tegniek te vind waarvolgens Boerboksemen suksesvol bevries kan word. 'n Verdere dryfkrag vir dié studie was dat bevrore Boerboksemen na Frankryk gestuur moet word vir vleisstudies aldaar.

Semen is tweemaal per week van vyf veredelde Boerbokramme met behulp van 'n elektro-ekulator gekollekteer. Direk na kolleksie is die semen mikroskopies vir beweeglikheid ondersoek waarna dit by 32°C in een stap in die verhouding 1:4 verdun is en toe na 5°C afgekoel is. Drie verskillende verdunningsmedia nl., 'n Tris-, raffinose- en laktose-middel, is uitgetoets. Die onderskeie samestellings van die media is as volg:

**Tris-verdunner**                      **Laktose/Raffinose**

Basiese oplossing:

Tris 2,8 gm %	)	Isoto-	Laktose 11 gm	)	100 ml
Fruktose 1,4 gm%	)	nies pH	of	)	oplossing
Sitroensuur 1,35 gm %	)	7,0	Raffinose 18,5 gm	)	
	)	320 mM		)	

Werkende oplossing vir aldie verdunners:

Basiese oplossing	66,5%
Eiergeel	22 %
Sorrenson's-PO <sub>4</sub> buffer	8,5%
Gliserol	3 %

Uit voorlopige resultate wat behaal is, is die Tris-verdunner gekies vir 'n reeks eksperimente oor gliserolpeile, afkoelingstye, ekwilibrasieperiodes en ontdooiingstemperature. Vier verskillende gliserolpeile, nl. 0; 3; 8 en 15%, is met Tris-verdunner uitgetoets. Dit is waargeneem dat daar statisties geen verskil is of die semen by 5°C of vooraf bygevoeg word nie. Daarom is om praktiese oorwegings die gliserol in een stap saam met die verdunningsmiddel voor afkoeling by die semen gevoeg. Die semen is teen twee verskillende tempo's na 5°C afgekoel, nl. 'n vinnige afkoeling in 60 minute en 'n stadige afkoeling in 200 minute. Die ekwilibrasieduur (geneem vanaf verdunning) is ook teen 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> uur, 10 uur en 20 uur gevarieer. Die semen is bevries deur die verdunde semen by 5°C in strooitjies (0,5 ml) op suig, te seël en in 'n horisontale posisie in die damp van vloeibare stikstof te vries. Die semen is by drie verskillende temperature ontdooi, nl., by 40°C, 90°C en kamertemperatuur (± 23°C). Elke behandeling is minstens tienmaal herhaal.

In Tabel 1 word die oorlewing van Boerbokspeme, na bevriesing in verskillende media aangedui. Die beste resultate is met die Tris-verdunner behaal. Dit is in ooreenstemming met die resultate van Salamon & Visser (1972) met skaapram semen.

Tabel 1

Oorlewing van boerboksemen na kolleksie en bevriesing na verdunning met verskillende media (2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> h ekw; 1:4 verdunning)

% Lewendig			
Na kolleksie	Na vries		
	Tris	Raffinose	Laktose
68 ± 15,0	40 ± 15,4	19,0 ± 11,6	8 ± 7,4

Tris > Raffinose en Laktose by P = 0,01

Tabel 2

Die effek van verskillende gliserolpeile op spermoorlewing (Tris; 1:4; 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> ekw)

% Lewendig				
Na kolleksie	Na vries			
	0% gliserol	3% gliserol	8% gliserol	15% gliserol
67 ± 12,0	0	35 ± 8,1	27 ± 4,7	13 ± 6,5

3% Peil > 15% Peil by P = 0,01

In Tabel 2 word die effek van verskillende gliserolpeile op spermoorlewing aangetoon. Die 3% gliserol het die beste resultate gegee. Dit is duidelik dat hoë peile van gliserol asook geen gliserol spermoorlewing tydens bevriesing nadelig beïnvloed het. Volgens die gegewens beskikbaar was dit duidelik dat 'n vinnige afkoeling na 5°C in 60 minute betekenisvol beter resultate gelewer het (P < 0,01) as 'n stadige afkoeling in 200 minute. Dit is in ooreenstemming met die bevindinge van Barker (1968) en Fraser (1968).

**Tabel 3**

*Die effek van ekwibrasieperiode op spermoorlewing  
(Tris; 1:4)*

% Lewendig				
Na kolleksie	Na vries			
	2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ekw	5h ekw	10h ekw	20h ekw
69 + 13,5	37 + 16,7	29,0 + 14,3	12 + 8,1	0

2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> uur ekw > 10 uur ekw en 20 uur ekw by P = 0,01

Die effek van ekwibrasieperiode op spermoorlewing word in Tabel 3 aangetoon en dit blyk dat 'n kort ekwibrasieperiode van 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> uur gewens is. 'n Groot persentasie van die sperme sterf dus klaarblyklik reeds voor bevrising of as gevolg van die ongunstige temperatuur en/of media.

Die effek van ontdooiingstemperatuur op spermoorlewing word in Tabel 4 aangetoon en dit blyk dat Boerboksemen suksesvol by 'n temperatuur hoër as 40°C ontdooi kan word. Die beste resultate ten opsigte van spermoorlewing is dus behaal na verdunning met die tris-verdunner met drie persent gliserol asook 'n vinnige afkoeling na 5°C in 60 minute en 'n kort ekwibrasieperiode van 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> uur.

Ten slotte kan daar gesê word dat die eerste stap 'n studie van die aard is om eers die mees bevredigende metode van bevrising te vind wat die hoogste motiliteitsherwinning teweegbring. Hierdie studie tot dusver het getoon dat Boerboksemen suksesvol bevrise kan word. Nou kan voortgegaan word met die praktiese implementering van hierdie kennis, soos inseminasies in veldstudies.

**Tabel 4**

*Die effek van ontdooiingstemperatuur op spermoorlewing  
(Tris; 1:4; 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> ekw)*

% Lewendig			
Na kolleksie	Na vries		
	A	B	C
73 ± 11,7	48 ± 12,1	49 ± 8,0	38 ± 12,1

- A : Ontdooiing 40° op warmplaat
- B : Ontdooiing 90° vir 10 sek.
- C : Ontdooiing kamertemperatuur (23°C)

**Verwysings**

AAMDAL, J. & ANDERSEN, K., 1968. Freezing of ram semen in straws. *6th int. Congr. Anim. Reprod. Paris*, 2, 977.  
 BARKER, C.A.V., 1968. Preparation of Dairy Goat semen for freezing. *6th int. Congr. Anim. Reprod. Paris*, 2, 1611.  
 FRASER, A.F., 1968. Progress in the artificial insemination of sheep with frozen semen. *6th int. Congr. Anim. Reprod. Paris*, 2, 1033.  
 POLGE, C., SALAMON, S. & WILMUT, I., 1970. Fertilizing capacity of frozen boar semen following surgical insemination. *Vet. Rec.* 87, 424.  
 SALAMON, S., 1971. Fertility of ram spermatozoa following pellet freezing on dry ice at -70° and -140°C. *Aust. J. Biol. Sci.* 24, 183.  
 SALAMON, S. & VISSER, D., 1972. Effect of composition of Tris-based diluent and of thawing solution on survival of ram spermatozoa frozen by the pellet method. *Aust. J. Biol. Sci.* 25, 605.  
 SALAMON, P.F. & MARTIN, I.C.A., 1973. The response of ram spermatozoa to preparations of egg yolk in semen diluents during storage at 5° or -196°C. *Aust. J. Biol. Sci.* 26, 927.