

Spermalsexing bei Milchrindern

Schriftenreihe, Heft 23/2011



Vergleichende Maßnahmen zum Einsatz von sortiertem und unsortiertem Sperma bei Milchkühen in Bezug auf das Fruchtbarkeitsgeschehen

Die Felduntersuchung mit sortiertem Bullensperma ist ein Gemeinschaftsprojekt vom Institut für Nutztiergenetik Mariensee, der Masterrind GmbH, der Georg-August-Universität Göttingen und dem Freistaat Sachsen:

Projektmitarbeiter:

Gerhard Mönch-Tegeder, Institut für Nutztiergenetik Mariensee/Georg-August Universität Göttingen

Christina Struckmann, Institut für Nutztiergenetik Mariensee/Masterrind GmbH

Birgit Sieg, Institut für Nutztiergenetik Mariensee/Masterrind GmbH

Antje Frenzel, Institut für Nutztiergenetik Mariensee/Masterrind GmbH

Betreuer:

Prof. Dr. Detlef Rath, Institut für Nutztiergenetik, Friedrich Loeffler-Institut

Dr. Dettmar Frese, Masterrind GmbH

Cord Hoeltje, Masterrind GmbH

Dr. Ralf Fischer, Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie

Prof. Dr. Christoph Knorr, Georg-August-Universität Göttingen

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	5
2	Versuchsdurchführung	6
2.1	Erzeugung der Besamungsportionen.....	6
2.2	Besamung und Trächtigkeitsuntersuchung	7
3	Ergebnisse	8
3.1	Spermatologische Qualitätsbeurteilung	8
3.2	Ergebnisse aus dem Feldversuch.....	9
3.2.1	Trächtigkeitsergebnisse	9
3.2.2	Abkalbeergebnisse	11
4	Schlussfolgerungen	11
5	Literaturverzeichnis	12

Tabellenverzeichnis:

Tabelle 1: Anteil motiler Spermien (LSM±SEM %) im Vergleich der Spermaaufbereitungen aus dem Besamungsversuch unmittelbar nach dem Auftauen sowie nach drei- und sechsständiger Inkubation bei 37 °C	8
Tabelle 2: Anteil motiler Spermien (LSM±SEM %) im Vergleich der Spermaaufbereitungen aus dem Auftauversuch unmittelbar nach dem Auftauen sowie nach drei- und sechsständiger Inkubation bei 37 °C.....	9
Tabelle 3: Anteil motiler Spermien (LSM±SEM %) im Vergleich der Auftauverfahren unmittelbar nach dem Auftauen sowie nach drei- und sechsständiger Inkubation bei 37 °C	9
Tabelle 4: Ergebnis der Trächtigkeitsuntersuchung der Bullen A, B und C in % tragende Tiere (Anzahl tragend/ Besamungen gesamt)	10
Tabelle 5: Ergebnis der Trächtigkeitsuntersuchung des Bullen D in % tragende Tiere (Anzahl tragend/Besamungen gesamt)	10
Tabelle 6: Geschlechterverteilung der Kälber in den Versuchsgruppen.....	11

1 Einleitung

Das Geschlecht der Nachkommen bereits bei der Befruchtung der Eizelle vorherzubestimmen, bietet für Milchviehhalter viele Vorteile. Diese liegen im höheren Preis für weibliche Kälber verglichen mit denen männlicher Kälber, im erhöhten Wert von Kreuzungstieren, die nicht für die Milchproduktion bestimmt sind, im optimierten Herden-Turn-over, in verminderten Abkalbungen mit gestörtem Geburtsverlauf und in einer gesteigerten biologischen Sicherheit durch die hygienische Schließung bisher offener Betriebe (DEVRIES et al. 2008). Weil durch die genomische Selektion vermehrt junge Bullen mit einem relativ sicheren Zuchtwert zur Verfügung stehen, ist davon auszugehen, dass vermehrt genomisch hochwertige Bullen für das Sortieren eingesetzt werden und somit ein besonders hoher Zuchtfortschritt erreicht wird.

Die derzeit einzige Technik zur geschlechtsspezifischen Differenzierung von Spermien ist die Beltsville Sperm Sexing Technology (JOHNSON et al. 1999; RATH & JOHNSON 2008). Dabei handelt es sich um einen technisch aufwändigen und zeitintensiven Prozess. Die Spermien müssen für den Sortiervorgang vereinzelt werden und es ist für jede Zelle eine individuelle Entscheidung zu treffen, ob es sich um ein X- oder Y-chromosomales Spermium handelt. So können nur etwa drei bis vier Portionen X-chromosomales Bullensperma pro Stunde sortiert werden, wenn eine Reinheit von mindestens 90 % erreicht werden soll. Eine auf diesem Weg produzierte Besamungsportion kann daher lediglich $2,0 \times 10^6$ bis $3,5 \times 10^6$ Spermien enthalten. In einer herkömmlichen Besamungsportion sind hingegen 15×10^6 bis 20×10^6 Spermien verfügbar. Zudem kann geschlechtsspezifisch differenziertes Sperma durch den aufwendigen Verarbeitungsprozess nur zu einem deutlich höheren Preis als unsortierte Besamungsportionen an die Rinderhalter abgegeben werden (RATH & JOHNSON 2008).

Neben der reduzierten Spermienzahl, die bullenindividuell auch bei unsortiertem Sperma als solches schon zu einer verringerten Trächtigkeitsrate führen kann (DEN DAAS et al. 1998; DEJARNETTE et al. 2008), wirkt sich der Sortiervorgang negativ auf die Vitalität und Integrität der Spermien aus und führt zu verringerten Trächtigkeitsraten (SEIDEL & GARNER 2002; MAXWELL et al. 2003; FRIJTERS et al. 2009). In der Holsteinpopulation der USA wurde nach Auswertungen des USDA in den Jahren 2006 bis 2008 ein Erstbesamungserfolg bei Färsen von 41 % erzielt, wenn sortiertes Sperma eingesetzt wurde, jedoch von 59 %, wenn konventionelles Sperma zum Einsatz kam (NORMAN et al. 2010). Einflussfaktoren, die sich aus dem Sortierprozess ergeben, sind die zur Farbstoffintegration nötige Inkubation der Spermien vor dem Sortieren, der Farbstoff in Verbindung mit der Bestrahlung durch den UV-Laser, der Arbeitsdruck sowie die elektrische Aufladung und elektrostatische Ablenkung zur Trennung der Spermipopulationen (KLINC 2005). Nicht veröffentlichte Untersuchungen aus dem „Sort-Netz“ Mariensee zeigen, dass die elektrische Aufladung und elektrostatische Ablenkung der Spermien, wobei kurzzeitig 3.000 V auf die Zellen einwirken, den größten Anteil an den Schädigungen ausmachen, indem sie die ATP-Synthese im Spermischwanzmittelstück stören. Des Weiteren werden die Spermien während des Sortierens fast vollständig vom Seminalplasma getrennt, welches durch seine spezifischen aktivierenden und hemmenden Substanzen eine wichtige Rolle für die Motilität und Vitalität der Spermien spielt (ACOTT & HOSKINS 1978; IWAMOTOTO et al. 1992; MAXWELL & JOHNSON 1999).

Die verminderten Trächtigkeitsraten führen, verbunden mit dem hohen Preis, zu einer geringeren Akzeptanz von sortiertem Bullensperma bei den europäischen Rinderhaltern. Voraussetzung für den flächendeckenden Einsatz von geschlechtsspezifisch differenziertem Sperma ist es also, akzeptable Fruchtbarkeitsergebnisse zu erzielen (KLINC 2005). Voraussetzung für eine gute Fruchtbarkeit ist eine hohe Lebensfähigkeit des Spermas. Bei Sexcess[®] handelt es sich um ein adaptiertes Verfahren zum Sortieren und Einfrieren von Spermien, mit dessen Hilfe eine verbesserte Spermaqualität nach dem Sortieren und der Verarbeitung realisiert werden kann. Alle Verfahrensstufen vom Anfärben der Spermien über das eigentliche Sortieren bis hin zur Kryokonservierung wurden bei Sexcess[®] im Hinblick auf die Verdünner sowie die zeitlichen Abläufe optimiert (RATH et al. 2009). Unter anderem enthalten die Sexcess[®]-Verdünner, mit denen die Spermien vor dem Sortieren in Berührung kommen, und die Tiefgefriererdünner spezifische Antioxidantien (AO). Die AO schützen die Spermien vor Lipidoxidation, indem sie die schädigenden Auswirkungen von reaktiven Sauerstoffgruppen (ROS) reduzieren. Dieses ist im Besonderen bei geschlechtsspezifisch differenziertem Sperma vorteilhaft, weil durch den Sortierprozess vermehrt ROS gebildet werden (KLINC & RATH 2007).

Eine zweite Variante von Sexcess® enthält zusätzlich einen Motilitätsinhibitor. Diese wird als Sexcess®FX bezeichnet. Der Motilitätsinhibitor sorgt für eine reversible, chemische Immobilisierung der Spermien während des Sortierens. SCHOFF & LARDY (1987) zeigten, dass dadurch der ATP-Verbrauch deutlich reduziert wird; die ATP-Synthese wird hingegen aufrechterhalten. Dadurch stehen den Spermien nach dem Auftauen zusätzliche Energiereserven zur Verfügung.

Untersuchungen von KLINC & RATH (2007) sowie von RATH et al. (2009) zeigten einen positiven Effekt von Sexcess® und Sexcess®FX auf die Lebensfähigkeit und Befruchtungskompetenz geschlechtsspezifisch differenzierter Spermien.

In diesem Projekt sollte untersucht werden, ob die in Bezug auf die Vitalität und Spermienintegrität festgestellten Verbesserungen der Qualität geschlechtsspezifisch differenzierter Spermien durch Sexcess® auch unter Feldbedingungen zu verbesserten Fruchtbarkeitsergebnissen führt.

2 Versuchsdurchführung

2.1 Erzeugung der Besamungsportionen

Für den Einsatz im Feldversuch wurden Besamungsportionen von fünf nachkommegeprüften Holstein Friesian-Bullen der Masterrind GmbH in fünf verschiedenen Formulierungen produziert und als Tiefgefriersperma an die teilnehmenden Betriebe ausgeliefert. Es wurde jedoch nicht von jedem Bullen jede Besamungsgruppe erstellt. Neben einer unsortierten Versuchsgruppe, die mit einem standardmäßig verwendeten TRIS-Eigelb-Verdüner auf 15×10^6 Spermien/Besamungsportion eingestellt wurde (Kontrolle „Steinbach“), stand eine unsortierte Kontrollgruppe zur Verfügung, die mit dem Tiefgefrierer verdünnter Sexcess® verarbeitet wurde und $3,5 \times 10^6$ Spermien/Besamungsportion enthielt (Kontrolle Sexcess®). Das geschlechtsspezifisch differenzierte Sperma wurde in Anlehnung an die Beltsville Sperm Sexing Technology (JOHNSON et al. 1999) erstellt. So wurde sortiertes und tiefgefrorenes Sperma der Gruppen Sexcess® und Sexcess®FX produziert. Zudem wurde von drei der fünf Bullen sortiertes Zukauf sperma, welches nicht mit dem Sortier- und Einfrierprotokoll Sexcess® verarbeitet wurde, in den Versuch einbezogen.

Weil beim Einsatz der Spermien nicht bekannt sein sollte, welche Besamungsgruppe eingesetzt wird, mussten einheitliche Voraussetzungen im Feldversuch gewährleistet werden. Die konventionell arbeitenden Sortiereinrichtungen geben jedoch Empfehlungen zum Auftauen der Spermien, die sich von den Auftauverfahren, die üblicherweise auf den Betrieben eingesetzt werden, unterscheiden. Daher musste überprüft werden, wie sich verschiedene Auftauverfahren auf die Lebensfähigkeit der Spermien auswirken. Es wurde von drei Bullen nicht sortiertes Sperma der Kontrolle Sexcess®, sortiertes Sperma der Gruppe Sexcess® sowie sortiertes Zukauf sperma eingesetzt. Die Besamungsportionen wurden entweder 40 Sekunden bei 35 °C (35 °C, 40 Sek.), 20 Sekunden bei 38 °C (38 °C, 20 Sek.) oder 5 Sekunden bei 70 °C (70 °C, 5 Sek.) aufgetaut.

Für beide Versuchsteile wurde jedes Ejakulat und jede daraus erstellte Versuchsgruppe umfangreichen spermatologischen Untersuchungen unterzogen. Neben einer routinemäßigen Eingangskontrolle wurde für jede Charge nach der Tiefgefrierung und dem Auftauen ein Thermoresistenztest durchgeführt. Die für den Auftauversuch produzierten Portionen wurden nach den drei genannten Verfahren aufgetaut. Bei den Portionen, die für den Besamungsversuch vorgesehen waren, wurde hingegen nur eines der drei Verfahren angewendet und die Spermien 20 Sekunden bei 38 °C aufgetaut. Im Thermoresistenztest wurden die Besamungsportionen dann für sechs Stunden bei 37 °C gelagert. Direkt nach dem Auftauen sowie nach drei- und sechsständiger Lagerung bei 37 °C wurde die Motilität mittels eines computerunterstützten Spermaanalyseverfahrens (CASA) gemessen und die Membranintegrität anhand einer SYBR®14/Propidiumjodid-Messung durchflusszytometrisch bestimmt. Zusätzlich wurde direkt nach dem Auftauen eine morphologische Untersuchung der Spermien im Phasenkontrastmikroskop durchgeführt.

2.2 Besamung und Trächtigkeitsuntersuchung

Insgesamt nahmen 20 Betriebe an dem Versuch teil. Die Herdengröße lag zwischen 600 und 2.000 Milchkühen. Wenn möglich, wurde jeder Bulle und jede Versuchsgruppe auf jedem Betrieb eingesetzt. Die Anzahl der ausgegebenen Besamungsportionen richtete sich dabei nach der Herdengröße. Die insgesamt 2.331 Besamungsportionen wurden nach Absprache mit den Fachberatern der Masterrind GmbH bei regelmäßigen Betriebsbesuchen ausgeliefert. Die Besamungen erstreckten sich von April 2009 bis zum Juni 2010 und erfolgten in Eigenverantwortung der Besamungstechniker. Weil das sortierte Sperma den Bedingungen für unsortiertes Sperma in der Praxis standhalten sollte, wurden die Besamungen ohne eine Vorauswahl der Färsen durchgeführt. Um eine gewisse Vergleichbarkeit zu gewährleisten, wurde mit den zuständigen Besamungstechnikern jedoch ein einheitliches Besamungsprotokoll abgesprochen. Das Sperma wurde ausschließlich zur Erstbesamung bei Färsen verwendet. Die Besamungstechniker waren angewiesen, das Sperma aller Versuchsgruppen 20 Sekunden bei 38 °C aufzutauen. Die Besamung sollte dann möglichst unmittelbar erfolgen und das Sperma wie bei einer normalen Besamung tief in den Gebärmutterkörper abgelegt werden.

Des Weiteren wurde zu jeder Besamung ein Stallzettel ausgefüllt. Dieser enthielt folgende Informationen:

- Name des Betriebes
- Name des Besamungstechnikers
- Ohrmarke der Färse
- Datum der Erstbesamung
- Name oder Herdbuchnummer des Bullen
- Kodierung des Straws
- Datum einer eventuellen Zweitbesamung
- Name oder Herdbuchnummer des Bullen der Zweitbesamung
- Datum der Trächtigkeitsuntersuchung (Erst- und evtl. Zweitbesamung)
- Ergebnis der Trächtigkeitsuntersuchung (Erst- und evtl. Zweitbesamung)

Auf die Stallzettel wurden zusätzlich Dokumententaschen geklebt, in die die zur Besamung verwendete Paillette eingetütet wurde. Die Paillette enthielt alle Informationen über die Besamungsportion (Bulle, Gruppe, Chargennummer). Die Gruppe war dabei in kodierter Form angegeben. Somit war den Betrieben zwar der eingesetzte Bulle bekannt, die verwendete Besamungsgruppe jedoch nicht. Durch die Kodierung der Pailletten wurden Sonderbehandlungen bestimmter Versuchsgruppen vermieden. Dieses System hat sich im praktischen Einsatz bewährt, um mit geringem Aufwand für die Betriebe eine eindeutige Zuordnung der Besamungsportionen sicherzustellen.

Die Trächtigkeitsuntersuchungen fanden im Routineablauf der Betriebe statt. Die Ergebnisse der Trächtigkeitsuntersuchung wurden von den Besamungstechnikern ebenfalls auf dem Stallzettel eingetragen.

Um nach der Geburt der Kälber zu ermitteln, wie hoch der Anteil der weiblichen Tiere ist, wurde auf die Geburtsmeldungen der Betriebe bei der Vereinigten Informationssysteme Tierhaltung (VIT) Verden zurückgegriffen.

3 Ergebnisse

3.1 Spermatologische Qualitätsbeurteilung

Die Ergebnisse der Motilität zeigen, dass durch Sexcess® die Qualität sortierter sowie nicht sortierter Spermien deutlich verbessert werden kann. Nach Sexcess® sortiertes Sperma weist sogar eine deutlich bessere Qualität auf als das nicht sortierte Sperma, welches mit dem TRIS-Eigelbverdünner (Gruppe „Steinbach“) verarbeitet wurde. Das Sortieren der Spermien in Anwesenheit des Motilitätsinhibitors führte zu einer zusätzlich Steigerung der Motilität, wenn der Inhibitor unmittelbar nach der Farbstoffinkubation zu den Proben gegeben wird. Nachdem die Spermien den Sortierprozess durchlaufen hatten, wurden die Proben zentrifugiert. Dabei wurde der Motilitätsinhibitor aus den Proben gewaschen. Im Anschluss wurden die Spermien mit Medien resuspendiert, die den Motilitätsinhibitor nicht enthielten und erlangten ihre Beweglichkeit zurück.

In Tabelle 1 ist die Motilität der Proben aufgeführt, die für den Besamungsversuch vorgesehen waren. In diese Auswertung wurden vier der fünf eingesetzten Bullen einbezogen. Ein Bulle musste aus der Auswertung genommen werden, weil er in allen Versuchsgruppen unterdurchschnittliche Besamungsergebnisse aufwies, die durch nicht versuchsbedingte Umstände hervorgerufen wurden. Im Besamungsversuch waren somit nur Proben von zwei Bullen der Gruppe Zukauf sperma auswertbar. Im Auftauversuch wurde hingegen das Sperma dieser Gruppe von allen Bullen untersucht, die in diesem Versuchsteil eingesetzt wurden. Die Motilitätsparameter des sortierten Zukauf spermas sind daher nur in Tabelle 2 aufgeführt, die sich auf die Ergebnisse im Auftauversuch bezieht. Daraus geht hervor, dass die die Qualität sortierter Spermien durch den Einsatz von Sexcess® deutlich gesteigert wurde. Insbesondere nach sechstündiger Inkubation ergeben sich erhebliche Unterschiede in der Motilität. Die Ergebnisse wurden durch die bullenindividuelle Auswertung aus dem Besamungsversuch (Daten werden nicht gezeigt) bestätigt. Auch im Bezug auf den Anteil membranintakter Spermien zeigte Sexcess® einen positiven Einfluss. Der Anteil morphologisch intakter Spermien wurde durch den Einsatz von Sexcess® jedoch nicht verbessert (Daten werden nicht gezeigt).

Tabelle 1: Anteil motiler Spermien (LSM±SEM %) im Vergleich der Spermaaufbereitungen aus dem Besamungsversuch unmittelbar nach dem Auftauen sowie nach drei- und sechsständiger Inkubation bei 37 °C

Gruppe	0 Std. (%)		3 Std. (%)		6 Std. (%)	
	LSM	± SEM	LSM	± SEM	LSM	± SEM
Kontrolle Steinbach unsortiert (n=46)	45,8	± 1,3 ^c	40,8	± 2,2 ^c	9,0	± 2,1 ^d
Kontrolle Sexcess® unsortiert (n=59)	73,1	± 1,1 ^a	64,3	± 2,0 ^a	59,2	± 1,8 ^a
Sexcess® sortiert (n=34)	60,6	± 1,6 ^b	47,0	± 2,3 ^{b,c}	38,2	± 2,0 ^c
Sexcess® FX sortiert (n=32)	63,2	± 1,9 ^b	53,7	± 2,7 ^b	46,9	± 2,5 ^b

^{a, b, c, d}: Werte mit unterschiedlichen Indizes unterscheiden sich innerhalb eines Untersuchungszeitpunktes signifikant (p≤0,05)

Tabelle 2: Anteil motiler Spermien (LSM±SEM %) im Vergleich der Spermaaufbereitungen aus dem Auftauversuch unmittelbar nach dem Auftauen sowie nach drei- und sechsständiger Inkubation bei 37 °C

Spermabehandlung	0 Std. (%)		3 Std. (%)		6 Std. (%)	
	LSM ±	SEM	LSM ±	SEM	LSM ±	SEM
Kontrolle Sexcess® unsortiert (n=18)	68,8 ±	1,9 ^a	55,7 ±	2,1 ^a	38,8 ±	2,0 ^a
Sexcess® sortiert (n=18)	56,7 ±	1,9 ^b	38,7 ±	2,1 ^b	21,9 ±	2,0 ^b
Zukauf sperma (n=8)	55,2 ±	2,8 ^b	8,4 ±	3,1 ^c	0,4 ±	3,0 ^c

^{a, b, c}: Werte mit unterschiedlichen Indizes unterscheiden sich innerhalb eines Untersuchungszeitpunktes signifikant ($p \leq 0,05$)

Zwischen den drei eingesetzten Auftauverfahren konnten bei keiner der ausgewerteten Parameter Unterschiede festgestellt werden. Exemplarisch sind in Tabelle 3 die Ergebnisse der Motilitätsanalyse dargestellt. Somit konnte für den Feldversuch die Vorgabe gemacht werden, alle Besamungsportionen für 20 Sekunden bei 38 °C aufzutauen.

Tabelle 3: Anteil motiler Spermien (LSM±SEM %) im Vergleich der Auftauverfahren unmittelbar nach dem Auftauen sowie nach drei- und sechsständiger Inkubation bei 37 °C

(n=18)	0 Std. (%)		3 Std. (%)		6 Std. (%)	
Auftauverfahren	LSM ±	SEM	LSM ±	SEM	LSM ±	SEM
35 °C, 40 Sek.	60,4 ±	2,2 ^a	34,1 ±	2,4 ^a	19,0 ±	2,4 ^a
38 °C, 20 Sek.	59,8 ±	2,2 ^a	34,7 ±	2,4 ^a	21,7 ±	2,4 ^a
70 °C, 5 Sek.	60,5 ±	2,2 ^a	34,0 ±	2,4 ^a	20,4 ±	2,4 ^a

^a: Die Werte unterscheiden sich zwischen den Untersuchungsgruppen zu keinem Zeitpunkt signifikant

3.2 Ergebnisse aus dem Feldversuch

3.2.1 Trächtigkeitsergebnisse

Insgesamt wurden 2.331 Besamungsportionen ausgegeben. Davon wurden die Ergebnisse von 2.212 Besamungsportionen zurückgemeldet. Von diesen Portionen musste ein Teil aus der Auswertung genommen werden, weil die Besamungspailletten defekt waren. Dieses Problem ergab sich insbesondere bei Bulle A. Durch den Wechsel auf einen anderen Paillettenhersteller konnte der Anteil beschädigter Besamungsportionen im weiteren Versuchsverlauf deutlich reduziert werden. Weitere Portionen mussten aus der Auswertung genommen werden, weil die Portion nicht eindeutig dem besamten Tier oder dem geborenen Kalb zugeordnet werden konnte. Außerdem wurden Tiere aus der Auswertung genommen, die sich nachträglich als zuchtuntauglich herausstellten. Ein Betrieb, der vorzeitig aus dem Versuch ausstieg, wurde ebenfalls nicht berücksichtigt. Insgesamt standen somit 1.668 Trächtigkeitsergebnisse zur Verfügung. Trotz des relativ groß angelegten Versuchs kamen für die Detailanalyse pro Bulle, Gruppe und Betrieb nur wenige Portionen zum Einsatz, wodurch sich auf Bullenebene ein ca. 1%iger Einfluss je Besamung ergab.

Tabelle 4: Ergebnis der Trächtigkeitsuntersuchung der Bullen A, B und C in % tragende Tiere (Anzahl tragend/ Besamungen gesamt)

Bulle	Kontrolle Steinbach unsortiert 15 Mio. Spermien	Kontrolle Sexcess® unsortiert 3,5 Mio. Spermien	Sexcess® sortiert	Sexcess®FX sortiert	Zukauf sperma sortiert
A	-	70,5 (62/88)	67,0 (63/94)	-	64,5 (49/76)
B	83,0 (73/88)	72,7 (96/132)	53,7 (72/134)	51,7 (46/89)	65,1 (56/86)
C	78,1 (82/105)	83,5 (86/103)	62,2 (61/98)	42,6 (40/94)	-
Gesamt	80,3 ^a (155/195)	75,5 ^a (244/323)	60,1 ^b (196/326)	47,0 ^c (86/183)	64,8 ^b (105/162)

^{a, b, c}: Werte mit unterschiedlichen Indizes in der Gesamtauswertung unterscheiden sich signifikant ($p \leq 0,05$)

Bulle D hatte während der Versuchsperiode zeitweilig gesundheitliche Probleme. Ob dieses die Besamungsergebnisse beeinflusste, kann nicht ausgeschlossen werden. Daher wurde dieser Bulle in der folgenden Tabelle gesondert aufgeführt.

Tabelle 5: Ergebnis der Trächtigkeitsuntersuchung des Bullen D in % tragende Tiere (Anzahl tragend/Besamungen gesamt)

Bulle	Kontrolle Steinbach unsortiert 15 Mio. Spermien	Kontrolle Sexcess® unsortiert 3,5 Mio. Spermien	Sexcess® sortiert	Sexcess®FX sortiert	Zukauf sperma sortiert
D	73,5 (111/151)	80,0 (108/135)	53,4 (63/118)	37,7 (29/77)	-

Positiv fällt auf, dass mit der Kontrolle Sexcess® trotz deutlich geringerer Spermienzahlen pro Portion vergleichbare Ergebnisse zu der Kontrolle Steinbach mit normaler Spermien dosierung erreicht wurden. Dies bestätigt die sehr guten, im Labor erhobenen Qualitätsparameter.

Beim Vergleich der Gruppen mit sortiertem Sperma zeigte die Gruppe Sexcess® vergleichbare Trächtigkeitsergebnisse mit dem sortierten Zukauf sperma. Allerdings fällt die Gruppe Sexcess®FX im Vergleich zu diesen beiden Gruppen ab. Dies verwundert umso mehr, weil diese Versuchsgruppe überdurchschnittlich stabile Werte in der Spermabeurteilung im Labor aufwies. Die funktionellen Hintergründe sind hierfür noch nicht bekannt, bedürfen aber einer sorgfältigen Analyse von der Probenherstellung bis zur Besamung, weil sie möglicherweise ein grundsätzliches Problem für Bewertung und Besamung beinhalten könnten. Nachuntersuchungen mit unterschiedlichen Expositionszeiten in dem Fixiermedium weisen nicht auf einen Herstellungsfehler hin. Frühere Untersuchungen von KLINC & RATH (2007), die denselben Fixator nutzten, zeigten im Gegenteil sogar einen Vorteil der temporären Fixierung auf den Besamungserfolg.

Vergleicht man die Bullen untereinander, fällt auf, dass sich für sortiertes Sperma bullenspezifische Abweichungen zwischen sortiertem und gleich verdünntem, unsortiertem Sperma ergeben. Die Bullen B und C zeigten deutliche Unterschiede zwischen der Gruppe Kontrolle Sexcess® und dem nach Sexcess® Protokoll sortierten Sperma, wogegen Bulle A nahezu gleiche Ergebnisse im Vergleich dieser beiden Gruppen aufweist. Aufgrund der geringen Besamungszahlen pro Gruppe und Bulle lassen sich die bullenindividuellen Unterschiede beim Besamungserfolg nicht statistisch belegen. Ergebnisse aus der Literatur zeigen jedoch ebenfalls, dass bullenindividuelle Unterschiede in der Sortierbarkeit bestehen (DEJARNETTE et al. 2009).

Die Vielzahl der Betriebe verhinderte zwar einen zu starken betrieblichen Effekt bei der Auswertung, verschärft aber die geringe Anzahl der Besamungsportionen für die einzelnen Auswertungsklassen. Daher wird an dieser Stelle auf die Darstellung der Ergebnisse auf Betriebsebene verzichtet. Es sei jedoch gesagt, dass auch in diesem Versuch Tendenzen zu erkennen waren, die Ergebnisse aus der Literatur bestätigen, nach denen Betriebe mit einem insgesamt niedrigerem Fruchtbarkeitsniveau vermehrt Probleme beim Einsatz von sortiertem Sperma zeigen (SCHENK & SEIDEL 2007).

Insgesamt lässt sich sagen, dass die im Labor erhobenen Qualitätsparameter, auch wenn sie über das Standardverfahren hinausgehen, scheinbar nur eine begrenzte Vorhersage des Befruchtungserfolges für sortiertes Sperma geben können. Dies ist insbesondere der Fall, wenn Gruppen mit unterschiedlicher Verarbeitung und differierenden Verdünnerkomponenten verglichen werden sollen. Entsprechend ist die Entwicklung eines prognostischen Untersuchungsverfahrens, das auch die biologische Interaktion zwischen Spermium und weiblichem Genitaltrakt einbezieht, vorrangig zu behandeln und durch entsprechende Felduntersuchungen zu begleiten.

3.2.2 Abkalbeergebnisse

Das sortierte Versuchssperma wurde im Labor vor der Ausgabe an die Betriebe einer Reinheitsanalyse (Resort) unterzogen, um die Reinheit der X-Chromosom tragenden Population zu bestimmen. Es wurden nur Chargen mit einer Sortierreinheit von mindestens 90 % X-Chromosomalen Spermien ausgegeben. Tabelle 6 zeigt die Geschlechterverteilung der geborenen Kälber. Wie erwartet, konnte in allen drei Versuchsgruppen mit sortiertem Sperma der Anteil an weiblichen Kälbern im Vergleich zu den nicht sortierten Kontrollen deutlich gesteigert werden.

Tabelle 6: Geschlechterverteilung der Kälber in den Versuchsgruppen

Gruppe	Anzahl weiblich	Anzahl männlich	% weiblich
Kontrolle Steinbach Unsortiert	113	132	46,1
Kontrolle Sexcess® Unsortiert	165	162	50,5
Sexcess® Sortiert	213	26	89,1
Sexcess®FX Sortiert	85	14	85,9
Zukaufesperma Sortiert	90	13	87,4

4 Schlussfolgerungen

Durch das adaptierte Sortier- und Einfrierprotokoll Sexcess® wurde die Vitalität und Integrität von sortiertem Bullensperma deutlich verbessert. In einem Feldversuch auf 19 sächsischen Betrieben, bei dem darauf geachtet wurde, dass die Rahmenbedingungen der routinemäßigen Besamung entsprechen, stellte sich heraus, dass sich Sexcess® dazu eignet, geschlechtsspezifisch differenziertes Tiefgefriersperma guter Qualität herzustellen, welches in der Lage ist, Trächtigkeitsraten über 60 % zu erreichen.

Bei der Gruppe Sexcess®FX besteht weiterhin Optimierungsbedarf, um die positiven Auswirkungen auf die Lebensfähigkeit der Spermien unter Laborbedingungen auch in verbesserte Fruchtbarkeitsergebnisse zu übertragen.

Für unsortiertes Sperma konnte gezeigt werden, dass sich mit dem Tiefgefriererdünnern des Sexcess®-Protokolls gute Besamungsergebnisse auch mit deutlich verringerten Spermakonzentrationen erzielen lassen.

5 Literaturverzeichnis

- ACOTT, T. S. & D. D. HOSKINS (1978): Bovine sperm forward motility protein. Partial purification and characterization. *J. Biol. Chem.* 253, 6744-6750
- DEJARNETTE, J. M., NEBEL, R. L. & C. E. MARSHALL (2009): Evaluating the success of sex-sorted semen in U.S. dairy herds from on farm records. *Theriogenology* 71, 49-58
- DEJARNETTE, J. M., NEBEL, R. L., MARSHALL, C. E., MORENO, J. F., MCCLEARY, C. M. & R. W. LENZ (2008): Effect of sex-sorted sperm dosage on conception rates in Holstein heifers and lactating cows. *J. Dairy Sci.* 91, 1778-1785
- DEN DAAS, J. H., DE JONG, G., LANSBERGEN, L. M. & A. M. VAN WAGTENDONK-DE LEEUW (1998): The relationship between the number of spermatozoa inseminated and the reproductive efficiency of individual dairy bulls. *J. Dairy Sci.* 81, 1714-1723
- DE VRIES, A., OVERTON, M., FETROW, J., LESLIE, K., EICKER, S. & G. ROGERS (2008): Exploring the impact of sexed semen on the structure of the dairy industry. *J. Dairy Sci.* 91, 847-856
- FRIJTERS, A. C. J., MULLAART, E., ROELOFS, R. M. G., VAN HOORNE, R. P., MORENO, J. F., MORENO, O. & J. S. MERTON (2009): What effects fertility of sexed bull semen more, low sperm dosage or the sorting process? *Theriogenology* 71, 64-67
- IWAMOTOTO, T., TSANG, A., LUTERMAN, M., DICKSON, J., DE LAMIRANDE, E., OKUNO, M., MOHRI, H. & C. GAGNON (1992): Purification and characterization of a sperm motility-dynein ATPase inhibitor from boar seminal plasma. *Mol. Reprod. Dev.* 31, 55-62
- JOHNSON, L. A., WELCH, G. R., & W. RENS (1999): The Beltsville sperm sexing technology: high-speed sperm sorting gives improved sperm output for in vitro fertilization and AI. *J. Anim. Sci.* 77 Suppl 2, 213-220
- KLINC, P. (2005): Improved fertility of flowcytometrically sex selected bull spermatozoa. Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover, Deutschland
- KLINC, P. & D. RATH (2007): Reduction of oxidative stress in bovine spermatozoa during flow cytometric sorting. *Reprod. Domest. Anim.* 42, 63-67
- MAXWELL, W. M., HOLLINSHEAD, F. K., RATH, D., O'BRIAN, J. K. & G. EVANS (2003): Effect of dose of sperm processed for sex-sorting and cryopreservation on fertility in ewes. *Theriogenology* 59, 511 (Abstract)
- MAXWELL, W. M. & L. A. JOHNSON (1999): Physiology of spermatozoa at high dilution rates: the influence of seminal plasma. *Theriogenology* 52, 1353-1362
- NORMAN, H. D., HUTCHISON, J. L. & R. H. MILLER (2010): Use of sexed semen and its effect on conception rate, calf sex, dystotica, and stillbirth of Holstein in the United States. *J. Dairy Sci.* 93, 3880-3890
- RATH, D. & L. A. JOHNSON (2008): Application and commercialization of flow cytometrically sex-sorted semen. *Reprod. Domest. Anim.* 43, 338-346
- RATH, D., MOENCH-TEGEDER, G., TAYLOR, U. & L. A. JOHNSON (2009): Improved quality of sex-sorted sperm: A prerequisite for wider commercial application. *Theriogenology* 71, 22-29
- SCHENK, J. L. & G. E. SEIDEL JR. (2007): Pregnancy rates in cattle with cryopreserved sexed spermatozoa: effects of laser intensity, staining conditions and catalase. *Soc. Reprod. Fertil* 64, 165-177
- SCHOFF, P. K. & H. A. LARDY (1987): Effects of fluoride and caffeine on the metabolism and motility of ejaculated bovine spermatozoa. *Biol. Reprod.* 37, 1037-1046
- SEIDEL, G. E. JR. & D. L. GARNER (2002): Current status of sexing mammalian spermatozoa. *Reproduction.* 124, 733-743

Herausgeber:

Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie
Pillnitzer Platz 3, 01326 Dresden
Telefon: + 49 351 2612-0
Telefax: + 49 351 2612-1099
E-Mail: lfulg@smul.sachsen.de
www.smul.sachsen.de/lfulg

Autoren:

siehe Seite 2

Redaktion:

Abteilung Tierische Erzeugung/Referat Tierzucht, Tierhygiene
Dr. Ralf Fischer
Telefon: + 49 34222 46-2102
Telefax: + 49 34222 46-2199
E-Mail: ralf.fischer@smul.sachsen.de

Redaktionsschluss:

30.04.2011

ISSN:

1867-2868

Hinweis:

Die Broschüre steht nicht als Printmedium zur Verfügung, kann aber als PDF unter <http://www.smul.sachsen.de/lfulg/6447.htm> heruntergeladen werden.

Verteilerhinweis

Diese Informationsschrift wird von der Sächsischen Staatsregierung im Rahmen ihrer verfassungsmäßigen Verpflichtung zur Information der Öffentlichkeit herausgegeben. Sie darf weder von Parteien noch von deren Kandidaten oder Helfern im Zeitraum von sechs Monaten vor einer Wahl zum Zwecke der Wahlwerbung verwendet werden. Dies gilt für alle Wahlen.

Missbräuchlich ist insbesondere die Verteilung auf Wahlveranstaltungen, an Informationsständen der Parteien sowie das Einlegen, Aufdrucken oder Aufkleben parteipolitischer Informationen oder Werbemittel. Untersagt ist auch die Weitergabe an Dritte zur Verwendung bei der Wahlwerbung. Auch ohne zeitlichen Bezug zu einer bevorstehenden Wahl darf die vorliegende Druckschrift nicht so verwendet werden, dass dies als Parteinahme des Herausgebers zugunsten einzelner politischer Gruppen verstanden werden könnte.

Diese Beschränkungen gelten unabhängig vom Vertriebsweg, also unabhängig davon, auf welchem Wege und in welcher Anzahl diese Informationsschrift dem Empfänger zugegangen ist. Erlaubt ist jedoch den Parteien, diese Informationsschrift zur Unterrichtung ihrer Mitglieder zu verwenden.