

Untersuchung zur Standardisierung der Spermaverarbeitung beim Bullen unter besonderer Berücksichtigung der Volumenbestimmung und der Konfektionierung

Detterer J.*, Zander F., Meinecke B.

Besamungs- und ET-Station Georgsheil des Vereins Ostfriesischer Stammviehzüchter, D-26624 Südbrookmerland*, Institut für Reproduktionsmedizin, Tierärztliche Hochschule Hannover, D-30559 Hannover

Die Standardisierung der Ejakulatverarbeitung erlangt zunehmende Bedeutung, da von immer weniger Spitzenbullen eine immer größer werdende Anzahl an Ejakulatportionen produziert wird. Die hohen Verdünnungen, die in diesem Zusammenhang notwendig werden, erfordern eine präzise und reproduzierbare Ejakulatverarbeitung. Diese Problematik ist für den Embryotransfer von besonderer Bedeutung, da hier für die Besamung der Spendertiere überwiegend Spitzenbullen Verwendung finden.

In der vorliegenden Studie wurde deshalb untersucht, ob die bei der Ejakulatverarbeitung ablaufenden Prozesse so optimiert werden können, dass die Arbeitsabläufe den Forderungen einer DIN ISO-Norm gerecht werden, um einen höheren Produktstandard zu erreichen. Hierfür wurden die messbaren Auswirkungen einer Modifikation des Ejakulatverarbeitungsverfahrens ermittelt, welche die Feststellung des Ejakulatvolumens mittels Wägung, die Verdünnerzugabe mit einer computergesteuerten Pumpe und das Abfüllen mit dem Golden-Ball-System beinhaltete.

Untersucht wurden die Dichte von Sperma, Verdünnerlösung und verdünntem Sperma sowie die Gesamtspermienzahl pro Paillette und das nutzbare Paillettenvolumen. Die Dichtebestimmung erfolgte mit einem Pyknometer (21 Ejakulate) bzw. einer Verdrängungspipette (22 Ejakulate). Zur Messung der Spermienkonzentration wurde eine Thomakammer eingesetzt. Um den Einfluss des Verarbeitungsverfahrens zu ermitteln, wurden 96 nach dem herkömmlichen Verfahren produzierte Pailletten (n = 12 Bullen) und 50 nach dem modifizierten Verfahren produzierte Pailletten (n = 10 Bullen) untersucht.

Alle für die Analyse genutzten Ejakulate bzw. Spermienportionen stammten von Bullen (Test- und Einsatzbullen der Rasse Schwarzbunte) des Vereins Ostfriesischer Stammviehzüchter (VOST) in Georgsheil.

Die statistischen Auswertungen (*t*-Test und Wilcoxon-Test) erfolgten am Institut für Biometrie und Epidemiologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover unter Verwendung des Statistikprogrammes SAS[®] (Statistical Analysis Systems). Irrtumswahrscheinlichkeiten von unter 5% bzw. unter 1% wurden als statistisch signifikant ($P < 0,05$) bzw. hoch signifikant ($P < 0,01$) eingestuft.

Folgende Ergebnissen wurden erzielt:

- 1) Die durchschnittliche Dichte von Ejakulaten beträgt $1,039 \pm 0,007$ g/ml bei Messung mit einem Pyknometer bzw. $1,035 \pm 0,003$ g/ml bei Messung mit einer Verdrängungspipette. Zwischen den Parametern Dichte und Spermienkonzentration besteht keine Korrelation ($r = 0,02$ bzw. $0,30$); die Spermienkonzentrationen lagen zwischen $0,3$ und $2,3 \times 10^6$ pro μl .

- 2) Die durchschnittliche Dichte der Trisverdünnerlösung liegt bei $1,035 \pm 0,001$ g/ml ($n = 25$ Messungen). Dieser Wert wurde mit dem Pyknometer ermittelt.
- 3) Die durchschnittliche Dichte des auf 20×10^6 Spermien pro Paillette verdünnten Ejakulates (11 Ejakulate untersucht) von $1,036 \pm 0,001$ g/ml wurde ebenfalls mit dem Pyknometer festgestellt.
- 4) Die Methode der Ejakulatvolumenbestimmung (Ablese- bzw. Wägemethode) war ohne Einfluss auf die in der Paillette enthaltene Gesamtspermienzahl (GSZ).
- 5) Die Methode der Verdünnervolumenbestimmung (Ablese- bzw. Wiegemethode) ließ dagegen einen hoch signifikanten Einfluss auf die GSZ deutlich werden ($P < 0,01$); es wurden 45 Proben untersucht. Das Abmessen des Verdünnervolumens mittels einer computergesteuerten Pumpe stellt eine Verbesserung gegenüber der Ablesemethode dar.
- 6) Feine Pailletten (0,25 ml lt. Herstellerangabe, Wattestopfen) die verdünntes Ejakulat enthalten, das nach dem herkömmlichen Verfahren verarbeitet worden ist, weisen eine GSZ von $15,26 \pm 2,1 \times 10^6$ Spermien / 0,25 ml auf. Wurde das Ejakulat mit dem modifizierten Verfahren verarbeitet, enthalten die Pailletten eine GSZ von $17,93 \pm 1,2 \times 10^6$ Spermien / 0,25 ml. Die beiden Verfahren unterscheiden sich signifikant ($P < 0,05$). Bei beiden Verfahren war das Ejakulat zuvor auf 20×10^6 Spermien / 0,25 ml verdünnt worden.
- 7) Das Gesamtvolumen feiner Pailletten, die mit einem Wattestopfen verschlossen sind, beträgt $0,2247 \pm 0,004$ ml. Das nutzbare Volumen dieser Pailletten umfasst $0,2013 \pm 0,004$ ml. Das Restvolumen von $0,0234 \pm 0,003$ ml entspricht 10,4 % des Gesamtvolumens der Paillette. Feine Pailletten, die mit dem Golden-Ball-System verschlossen sind, enthalten ein Gesamtvolumen von $0,2134 \pm 0,004$ ml. Das nutzbare Volumen beträgt bei diesen Pailletten $0,2028 \pm 0,003$ ml. Daraus errechnet sich ein Restvolumen von $0,01 \pm 0,003$ ml, das 4,7 % des Gesamtvolumens entspricht. Diese Unterschiede erwiesen sich als signifikant ($P < 0,01$).

Die Gesamtspermienzahl/Besamungsportion ist ein wichtiger Parameter für das Erzielen von guten Befruchtungsergebnissen bei der künstlichen Besamung und nach Superovulationsbehandlungen. Da die Ejakulate von Spitzenbulln oft sehr hoch verdünnt werden, ist hier eine besondere Präzision erforderlich. Dies wird besonders bei der Bestimmung des Verdünnervolumens deutlich. Mit der vorliegenden Arbeit werden Möglichkeiten verdeutlicht, durch deren konsequenten Einsatz ein höherer Produktstandard im Rahmen der KB erreicht werden kann.

Bei den Untersuchungen wurde auch der finanzielle Aspekt einer modifizierten Ejakulatverarbeitung für die Besamungsstation berücksichtigt: Für den Laborumbau wird eine Summe von 142.244 DM berechnet. Dem steht, je nach Produktionszahl und Portionspreis, ein finanzieller Gewinn gegenüber, der durch die bessere Ausnutzung des abzufüllenden Ejakulates bedingt ist (Steigerungsrate von 5,7 %).