



Gerhard Mönch-Tegeder (Autor)

**Einfluss verschiedener Ejakulatbehandlungen auf die  
Lebensfähigkeit und das Befruchtungspotential  
geschlechtsspezifisch differenzierter Bullenspermien**

Gerhard Mönch-Tegeder

---

**Einfluss verschiedener Ejakulatbehandlungen  
auf die Lebensfähigkeit und das  
Befruchtungspotential geschlechts-  
spezifisch differenzierter Bullenspermien**

---



Cuvillier Verlag Göttingen  
Internationaler wissenschaftlicher Fachverlag

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/6147>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,  
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: [info@cuvillier.de](mailto:info@cuvillier.de), Website: <https://cuvillier.de>



## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Literatur</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1</b>	<b>Grundprinzip der durchflusszytometrischen Spermisortierung und dessen Effekte auf die Integrität und Befruchtungsfähigkeit der Spermien</b> .....	<b>3</b>
2.2	Fruchtbarkeitsbeeinflussende Effekte der Spermisortierung im Durchflusszytometer .....	4
2.2.1	Einflüsse des Hoechst 33342-Fluoreszenzfarbstoffs und des Lasers .....	4
2.2.2	Mechanische Einflüsse .....	6
2.2.3	Elektrische Aufladung und elektrostatische Ablenkung .....	7
2.2.4	Auswirkungen hoher Ejakulatverdünnungen auf die Fruchtbarkeit .....	8
2.2.5	Auswirkungen von oxidativem Stress auf geschlechtsspezifisch differenzierte Spermien .....	9
2.2.6	Einsatz von Natriumfluorid (NaF) zur Verbesserung der Qualität geschlechtsspezifisch differenzierter Spermien .....	12
2.2.7	Auswirkungen geringer Spermienzahlen auf die Fruchtbarkeit .....	13
2.3	Effekte des Einfrierens und des Auftauens auf die Spermaqualität .....	16
2.4	Sortierte Spermien im weiblichen Genitaltrakt .....	18
2.4.1	Aufstieg und Aufenthalt im weiblichen Genitaltrakt .....	18
2.4.2	Kapazitation und Akrosomenreaktion .....	21
2.4.3	Embryonalentwicklung nach dem Einsatz von geschlechtsspezifisch differenziertem Sperma .....	23
2.5	Aussagefähigkeit der prognostischen spermatologischen Untersuchung über den potentiellen Befruchtungserfolg .....	24
2.5.1	Motilität .....	25
2.5.2	Morphologische Spermabeurteilung .....	25
2.5.3	Durchflusszytometrische Spermabeurteilung .....	25
2.5.4	Einsatzmöglichkeiten der spermatologischen Qualitätsbeurteilung .....	26
2.5.5	Einfluss hoch verdünnter Ejakulate auf die Vorhersagbarkeit der potentiellen Fruchtbarkeit .....	28
2.6	Sexcess <sup>®</sup> .....	28
<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>29</b>
3.1	Wiederkehrende Arbeitsschritte .....	30
3.1.1	Analyse der Motilität .....	31
3.1.2	Durchflusszytometrische Untersuchungen .....	32
3.1.2.1	FITC-PNA/Propidiumjodid (PI)-Färbung .....	33
3.1.2.2	SYBR14/PI-Färbung .....	34
3.1.2.3	Spermienchromatinstrukturanalyse (SCSA <sup>TM</sup> ) .....	35
3.1.3	Morphologische Untersuchungen .....	36
3.1.4	Samengewinnung .....	38
3.1.5	Eingangsuntersuchung .....	39
3.1.6	Sortieren der Spermien .....	40
3.1.7	Einfrieren der Spermien .....	42
3.1.8	Abfüllen der nach Sexcess <sup>®</sup> sortierten Besamungsportionen .....	42
3.1.9	Thermoresistenztest .....	42
3.2	Versuch 1: Spermatologische Beurteilung geschlechtsspezifisch differenzierter tiefgefrorener Spermien .....	44



## Inhaltsverzeichnis

3.2.1	Samengewinnung .....	44
3.2.2	Samenaufbereitung .....	44
3.2.3	Spermatologische Qualitätsbestimmung .....	48
3.3	Versuch 2: Bewertung unterschiedlicher Auftauverfahren .....	49
3.3.1	Samengewinnung .....	49
3.3.2	Samenaufbereitung .....	49
3.3.3	Auftauen der Spermien .....	50
3.4	Versuch 3: Optimierung der Lagerungsbedingungen geschlechtsspezifisch differenzierten Frischspermas .....	51
3.4.1	Samengewinnung .....	51
3.4.2	Samenaufbereitung .....	51
3.4.3	Spermatologische Qualitätsbestimmung .....	52
3.5	Versuch 4: Auswirkungen verschiedener Natriumfluorid (NaF) - Expositionszeiten auf geschlechtsspezifisch differenziertes Frischsperma .....	53
3.5.1	Samengewinnung .....	53
3.5.2	Samenaufbereitung .....	54
3.5.3	Spermatologische Qualitätsanalyse .....	54
3.6	Versuch 5: Besamungsversuch mit geschlechtsspezifisch differenziertem Tiefgefriersperma .....	56
3.6.1	Erstellung der Besamungsportionen für den Feldversuch .....	56
3.6.2	Untersuchung der Sortiergenauigkeit .....	56
3.6.3	Ausgabe der Besamungsportionen an die beteiligten Milchviehbetriebe .....	56
3.6.4	Besamung .....	57
3.6.5	Trächtigkeitsuntersuchung .....	58
3.6.6	Geburt der Kälber .....	59
3.7	Statistische Auswertung .....	60
3.7.1	Statistische Auswertung Versuch 1 .....	60
3.7.2	Statistische Auswertung Versuch 2 .....	62
3.7.3	Statistische Auswertung Versuch 3 .....	62
3.7.4	Statistische Auswertung Versuch 4 .....	63
3.7.5	Statistische Auswertung Versuch 5 .....	63
<b>4</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>65</b>
4.1	Versuch 1: Spermatologischer Vergleich unterschiedlich tiefgefrorener und aufgetauter Spermien .....	65
4.1.1	Auswertung der spermatologischen Qualitätsparameter aller Bullen .....	65
4.1.1.1	Motilität .....	65
4.1.1.2	Membranintegrität .....	66
4.1.1.3	Morphologie .....	67
4.1.1.4	Spermienchromatinstrukturanalyse .....	69
4.1.2	Auswertung der spermatologischen Qualitätsparameter der Bullen A und B .....	69
4.1.2.1	Motilität .....	69
4.1.2.2	Membranintegrität .....	71
4.1.2.3	Morphologie .....	72
4.1.2.4	Spermienchromatinstrukturanalyse .....	74
4.2	Versuch 2: Bewertung unterschiedlicher Auftauverfahren .....	76
4.2.1	Spermatologischer Vergleich der Spermaaufbereitungen .....	76
4.2.1.1	Motilität .....	76
4.2.1.2	Membranintegrität .....	76



## Inhaltsverzeichnis

4.2.1.3	Morphologie .....	77
4.2.2	Vergleich der Auftauverfahren.....	79
4.3	Versuch 3: Optimierung der Lagerungsbedingungen für sortiertes Frischsperma.....	81
4.3.1	Auswirkungen verschiedener Lagerungstemperaturen auf die Lebensfähigkeit sortierten Frischspermas .....	81
4.3.1.1	Motilität.....	81
4.3.1.2	Membranintegrität.....	81
4.3.1.3	Morphologie .....	84
4.3.2	Auswirkungen verschiedener Spermaaufbereitungen auf die Lebensfähigkeit sortierten Frischspermas .....	86
4.3.2.1	Motilität.....	86
4.3.2.2	Membranintegrität.....	88
4.3.2.3	Morphologie .....	90
4.4	Versuch 4: Auswirkungen der NaF-Expositionszeiten auf die Lebensfähigkeit sortierten Frischspermas .....	93
4.4.1	Motilität.....	93
4.4.2	Membranintegrität.....	96
4.4.3	Morphologie .....	98
4.5	Versuch 5: Einsatz geschlechtsspezifisch differenzierter Besamungsportionen unter Feldbedingungen.....	101
4.5.1	Trächtigkeitsuntersuchungen .....	101
4.5.2	Sortierreinheit.....	104
4.5.3	Trächtigkeitsdauer.....	105
4.5.4	Zeitintervall zwischen erster und zweiter Besamung.....	105
4.5.5	Totgeburten .....	106
4.5.6	Korrelationen zwischen den spermatologischen Daten und den Ergebnissen der Trächtigkeitsuntersuchungen.....	107
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>110</b>
5.1	Versuch 1: Spermatologischer Vergleich unterschiedlich tiefgefrorener und aufgetauter Spermien .....	111
5.1.1	Einfluss der Antioxidantien.....	112
5.1.2	Einfluss von NaF.....	113
5.1.3	Einfluss der Äquilibrierungsphase vor dem Einfrieren.....	116
5.2	Versuch 2: Effekte des Auftauverfahrens auf die Qualität geschlechtsspezifisch differenzierter Spermien.....	118
5.3	Versuch 3: Optimierung der Lagertemperatur geschlechtsspezifisch differenzierter Frischspermien.....	120
5.4	Versuch 4: Optimierung der Einwirkzeit von NaF .....	122
5.5	Versuch 5: Felduntersuchungen mit sortiertem TG-Sperma.....	123
5.5.1	Unterschiede zwischen den eingesetzten Bullen.....	124
5.5.2	Unterschiede zwischen den Spermaaufbereitungen.....	125
5.5.3	Vergleich der Trächtigkeitsergebnisse auf Betriebsebene .....	129
5.5.4	Geschlechtsverhältnis.....	129
5.5.5	Totgeburten .....	130
5.6	Abschließende Beurteilung .....	132
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>134</b>
<b>7</b>	<b>Summary .....</b>	<b>138</b>



## Inhaltsverzeichnis

<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>141</b>
<b>9</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>182</b>
9.1	Materialien .....	182
9.2	Zusammensetzung der Verdüner.....	182
9.3	Parametereinstellungen CASA (Version 12 IVOS, Hamilton Thorne Biosciences, Beverly, USA) .....	183
9.4	Parametereinstellungen Durchflusszytometer (FACScan©, Becton Dickinson Bioscience, Heidelberg, Deutschland).....	185
9.5	Tabellen .....	187
9.6	Tabellenverzeichnis.....	194
9.7	Abbildungsverzeichnis .....	199
	<b>Lebenslauf.....</b>	<b>200</b>