

Spermasexing bei Ziegen

Ein Ansatz für die Zukunft?

Beate Berger¹, Leopold Podstatsky-Liechtenstein¹, Sven Budik², Markus Gallnböck¹, Josef Stöckl³

¹HBLFA Raumberg-Gumpenstein, Institut für Biologische Landwirtschaft und Biodiversität der Nutztiere, Austr. 10, 4601 Thalheim, Österreich

²Veterinärmedizinische Universität Wien, Veterinärplatz 1, 1210 Wien, Österreich

³Landesverband für Ziegenzucht und -haltung Oberösterreich, Brucknerstraße 39, 4910 Ried im Innkreis, Österreich

Zusammenfassung

Männliche Kitze werden in der Zucht von Milchrassen vielfach zum Problem. Die Verwertungsmöglichkeiten für die stoffumsatzbetonten Kitze sind nicht rentabel, bzw. ethisch bedenklich. Die Verwendung von gesextem Sperma kann einen Ausweg aus dieser Situation bieten. Die in der Rinderzucht erfolgreich verwendete Durchflusszytometrie ist für Ziegensperma zu langsam. Daher wird in dem Versuch die Dichtegradientenzentrifugation als Methode zur Trennung von männlich und weiblich determinierten Spermien überprüft. Bisher wurden 70 Portionen gesextes Sperma von 2 Böcken produziert. Die Erfolgskontrolle wird mit einem an der Veterinärmedizinischen Universität Wien entwickelten PCR-Test durchgeführt. Besamungsversuche in der Ziegenherde der HBLFA Raumberg-Gumpenstein und in an dem Projekt teilnehmenden Betrieben sollen Aussagen über die Befruchtungsfähigkeit und natürlich das Geschlechtsverhältnis der geborenen Kitze liefern.

Summary

Male kids are an unwanted by-product of dairy-goat breeding. The possibilities to use kids from high-turnover breeds are not profitable and/or ethical. The use of sexed semen could offer a solution. In commercial cattle breeding flow-cytometry is used successfully, but the method is too slow and therefore not suitable for buck semen. In this trial density gradient centrifugation is used to sort male and female determined sperm cells. Until now 70 doses of sexed semen from 2 bucks were produced. For quality control a PCR-test for male and female sperm is developed at the vetmeduni Vienna. Fertility and the male:female ratio of kids is tested in the goat herd of the AREC Raumberg-Gumpenstein and farms joining the project.

Einleitung

Männliche Kitze werden in der Zucht von Milchrassen vielfach zum Problem. Die Tötung zur Verwertung als Tierfutter in den ersten Lebensstagen ist eine Nische, die von den Konsument:innen abgelehnt wird. Die Aufzucht zur Fleischproduktion ist bei Stoffumsatztypen, wie es hoch leistende Milchziegen oder –rinder sind, nicht rentabel. Die Gebrauchskreuzung mit Fleischrassen, beim Rind vielfach angewendet, bringt eine bessere Bemuskelung der Schlachtkörper. Leider ist Kitzfleisch, anders als Kalb- und Rindfleisch, außerhalb der Osterzeit in Österreich schwierig zu vermarkten.

Einen Ausweg kann die Verwendung von gesextem Sperma bieten. Bei Säugetieren bestimmt der männliche Partner das Geschlecht der Nachkommen. Spermien enthalten je einen halben Chromosomensatz, daher ist entweder ein X- oder ein Y-Chromosom in der Samenzelle vorhanden. Man spricht von weiblich oder männlich determinierten Spermien (X-Spermien und Y-Spermien). Sexing ist die Trennung von X-Spermien und Y-Spermien. X-Spermien enthalten etwas mehr Erbsubstanz (DNA), als Y-Spermien, sie sind daher auch etwas schwerer.

Die Trennmethode der Wahl ist beim Rind die Durchflusszytometrie (DFZ), bei der die DNA der Samenzellen mit einem speziellen fluoreszierenden Farbstoff markiert wird. Anschließend werden sie einzeln an einem Laserstrahl vorbeigeleitet und in einem elektrostatischen Feld nach der Stärke des reflektierten Lichtes sortiert. In der Rinderzucht ist diese Methode seit mehr als 10 Jahren kommerziell etabliert. In mehr als 90% der Fälle wird ein Kalb mit dem gewünschten, meist weiblichen Geschlecht geboren (.

Leider ist die beim Rind angewandte Sortiermethode für Ziegensperma derzeit zu langsam. Für eine Besamungsportion wird bei der Ziege rund die zehnfache Menge an Spermien benötigt, wie beim Rind.

Eine ältere Methode zum Trennen von unterschiedlich schweren Objekten ist die Dichtegradientenzentrifugation (Amann, 1989). In einer Säule werden Medien mit von oben nach unten zunehmender Dichte übereinander geschichtet. Bei Zentrifugation reichern sich Objekte unterschiedlicher Dichte in den entsprechenden Schichten an, daher sinken die schwereren X-Spermien tiefer ab als Y-Spermien. Die Trennung ist weniger effektiv als bei der DFZ, es wird in der Literatur von bis zu 70% Nachkommen mit dem gewünschten Geschlecht berichtet (Freese, 2009). Diese Verschiebung des Geschlechterverhältnisses zugunsten weiblicher Nachkommen könnte das Problem männlicher Kitze in der Milchziegenzucht verringern.

Material und Methode

In dem Versuch soll die Eignung eines kommerziell erhältlichen cytochromischen Filters (Chromatyc Sex, Fa. Genetica, Spanien) zum Sexing von Ziegensperma erprobt werden.

Dichtegradientenzentrifugation

Der vorgefertigte cytochromische Filter für das Sexing wird nach Werksangabe in 15ml Zentrifugenröhrchen übereinander geschichtet. Nach Einpipettieren von je 1,5ml vorverdünntem Frischsperma pro Röhrchen und Zentrifugation wird die unterste Fraktion mit den weiblich determinierten Spermien entnommen. Die Spermiedichte wird in einer Makler-Zählkammer bestimmt und die Konzentration auf 200 Mio/ml eingestellt (Verdüner Andromed, Fa. Minitüb, Deutschland). Nach einer Anpassungszeit von mindestens 120 Minuten bei +4°C erfolgt die Konfektionierung und Tiefgefrierkonservierung.

Samenspende

Bisher wurden 6 Ejakulate von 2 Besamungsböcken (1 Saanenziege und 1 Gämsfarbigen Gebirgsziege) mit erprobter Tiefgefrierfähigkeit des Spermas gesext. Qualitätskontrolle

Qualitätskontrolle

Die Überprüfung der Motilität des Tiefgefrierpermas erfolgt im Rahmen des Routinebetriebs der Besamungsstation durch Schätzung des Prozentsatzes vorwärtsbeweglicher Spermien an einer aufgetauten Probe.

An der Veterinärmedizinischen Universität Wien wird ein PCR-Test, der speziell auf X- und Y-Spermien reagiert, entwickelt.

Besamungsversuche zur Überprüfung der Fertilität des Spermas und des Geschlechterverhältnisses der geborenen Kitze werden in der Ziegenherde der HBLFA Raumberg-Gumpenstein und auf Zuchtbetrieben im Feld nach hormoneller Synchronisation der Ziegen durchgeführt.

Vorläufige Ergebnisse

Bisher wurden 70 Besamungsportionen mit X-Spermien konserviert (Tab. 1) und 5 Ziegen mit weiblich gesextem Sperma besamt. 1 Ejakulat (Nummer 1) wurde wegen zu geringer Motilität nach dem Auftauen verworfen.

Ejakulat	Spender	Menge ml	Dichte 10 ⁹ /ml	Beweglichkeit %	Pailletten weibl	Mot weibl %
1	Bock 1	1	3500	70	5	10
2	Bock 1	0,9	3700	75	16	40
3	Bock 2	2	5900	70	14	30
4	Bock 2	3	4000	70	20	50
5	Bock 1	0,5	3800	75	8	50
6	Bock 2	3	3200	70	7	50

Tabelle 1: Spender, Menge, Dichte und Beweglichkeit des Frischspermas, sowie Zahl der konservierten weiblich determinierten Pailletten und Auftaumotilität per Ejakulat.

Schlussfolgerungen

Sexing von Ziegensperma mit DGZ hat bisher nur mäßigen Motilitätsverlust des Auftauspermas zur Folge. Nur eines von 6 Ejakulaten musste wegen zu geringer Motilität verworfen werden. Allerdings wird in der Literatur von Fertilitätsminderung nach Sexing berichtet, insbesondere die DFZ scheint die Membranen der Spermien zu belasten (Freese, 2009, Rahman et al. 2008).

Weitere Tests zur Erfolgskontrolle der in unserem Versuch angewendeten Methode sind noch ausständig. Endgültige Klarheit kann natürlich nur die Geburt von lebenden Kitzen mit dem gewünschten Geschlecht bringen.

Literatur

Amann, R. P. (1989). Treatment of sperm to predetermine sex. *Theriogenology* 31, 49-60

Freese, D. (2009). Sperma Sexing in der praktischen Anwendung. *Züchtungskunde*, 81(1), 7-13

Rahman, A. N. M. A., Ramli, A., & Wan Embong, W. K. (2008). A review of reproductive biotechnologies and their application in goat. *Biotechnology*, 7(2), 371-384