

Künstliche Besamung

Samenaufbereitung und Versand

1. Samenuntersuchung

Im Samenlabor konstante Temperatur von 20-22°C.
Untersuchungsprotokoll ausfüllen .

Mindestanforderungen an Hengstejakulat :

- Volumen : 40 ml
- Farbe : milchig-weiß bis bläul.-grau
- Konsistenz : molke –milchähnlich
- Vorwärtsbewegliche : 50 %
- Morpholog. Intakte Samenzellen : 70 %
- keine Fremd Beimengungen (Blut , Eiter ...)!
- Konzentration : $10 \text{ hoch } 6 \text{ Sp./ml}$
- Gesamtspermienzahl : $3 * 10 \text{ hoch } 9$
- pH –Wert : 6,8 – 7,2

V.a. zur Beurteilung des Hengstes ; für die Besamung eher uninteressant .

Deckstelle ist v.a. an der Spermiedichte und den daraus zu gewinnenden Portionen interessiert .

- a) sofortige Kennzeichnung des frisch gewonnenen Samens :
Name des Hengstes , Datum , Ejakulatnummer , evtl. Zeit
sowie Angaben über das Deckverhalten

b) Makroskopische Untersuchung

Schleimphase abfiltrern , restl. Samen in Standzylinder füllen , Volumen von Schleim und Samen bestimmen.

Aussehen des Samens bestimmen : - Liquidität (wässrig , molkeähnlich , milchig, rahmig)
- Farbe (grau , weiß , gelb)

PH – Wert bestimmen

c) Mikroskopische Untersuchung

auf vorgewärmten Objektträgern

Bestimmung der Bewegungsaktivität der Spermien in % : Vorwärtsbewegliche , Ortsbewegliche , Unbewegliche . (wird in Celle mit Videomikrografik ermittelt)

Lebend- / Totfärbung mit Eosin (FAT = Farbstoffabsorptionstest)

Usg.der Morphologie (FAS) Mißbildungen wie z.B. Krümmlinge , Schwanzlose...

d) Bestimmung der Samendichte

Anzahl der vorwärtsbeweglichen Samenzellen / ml

- mikroskopische Zählkammer (häufigste Methode)
(0,1 ml Samen + 10 ml Fixationslsg. Aufbringen und auszählen , Formel anwenden)
- Photometer (für den groben Überblick , ungenauer als Zählkammer)
- Elektr. Zählapparate

e) Bestimmung der Gesamtspermienzahl

Samendichte * Gesamtmenge schleimfreier Samen in ml.

2. Samenverdünnung

Samenverdünner sollte gleiche Temperatur wie der Samen haben (ca.38°C) und müssen frisch sein .

Es gibt verschiedene Verdünner :

- Magermilch – Glucose –Verdünner wird v.a. zur Frischsamenkons. verwendet .
- Glycinhaltige Verdünner werden v.a. für TG – Sperma verwendet .
- Milch – Eidotter – Verdünner
- Milch –Gelatine – Verdünner etc.

Die wichtigsten Bestandteile der Verdünner sind : versch .Antibiotika , versch. Puffer ,sowie dest. Wasser , Mineralien .

Es gibt verschiedenste Zusammensetzungen von Verdünnern . Jede Besamungsstation nimmt den für ihre Hengste am besten geeigneten Verdünner , da jeder Hengst unterschiedlich auf die Verdünner reagiert .(Viele Deckstationen haben ihre eigenen Verdünnungsrezepte .)

Samenzelldosis normal mit mind. 500 Mio.(bei flüssigkons. Sperma) bzw. mit 600 Mio. (bei TG) Vorwärtsbeweglichen .

Volumendosis normal 10 ml (evtl auch 20 ml).

- a) Berechnung wieviel Samenportionen aus dem Ejakulat hergestellt werden können .
Formel : Gesamtspermienzahl * % Vorwärtsbew. / 100 * Dosis Samenzellen
- b) Ermittlung des Endvolumens auf das der Samen mit Verdünner aufgefüllt werden muß.
Formel : Anzahl Portionen * Dosis Volumen = Endvolumen nach Verdünnung
- c) Nach der Verdünnung auf das Endvolumen nochmalige Usg. der Bewegungsaktivität der Spermien .

Verfahren der Verdünnung (vereinfacht) :

Samen wird verdünnt zentrifugiert , Seminalplasma entfernen (wirkt sich an der Luft negativ auf den Samen aus) , nochmaliges zentrifugieren , Überstand verwerfen , wiederum Verdünnung , Samen auszählen und entsprechend der Dichte endgültig auf Endvolumen verdünnen , weiterverarbeiten .

Es gibt für jede Konservierungsmethode spezielle Verdünnungsverfahren .

3. Portionierung und Aufbewahrung

- a) Unverdünnter Samen muß innerhalb der nächsten halben Std. auf die Stute übertragen werden .
- b) Aufbewahrung im Verdünnungsgefäß , hier ist die Aufbewahrungstemp. Verdünner-abhängig . Verdünner für Frischsamen konservieren bis zu 48 h .
Samenabkühlung am besten etwa 0,3 °C / min. (ansonsten Kälteschock mögl.)

4. Versand

In dafür vorgesehenen Versandcontainern für Frischsperma :

- a) Equitainer (v.a. für mit Magermilchverdünner behandelten Samen)
- b) Sarstedt- Container
- c) Celletainer
- d) Styroporboxen mit Kühlakkus

5. TG – Sperma

Nur etwa 40% der Hengste liefern Sperma , das tiefgefrierfähig ist .

Samenuntersuchung wie bei der Flüssigkonservierung ; Aufbereitung mit TG-Verdünnern (Glycerin = „Frostschutz“) . Zentrifugation mit Vorverdünner zum Entfernen des Seminalplasmas bzw. Erhöhung der Samenzelldichte , Kühlschrank , Verdünnung auf Endvolumen mit Endverdünner , nochmalige Motilitätsausg. , Abfüllung in Kunststoffpailletten , Abkühlverfahren elektron.gesteuert (-25°C / min.) mit flüssigem Stickstoff auf -196°C .

Es muß ein Samentiefgefrierprotokoll ausgefüllt werden .

Verarbeitungsmethoden :

a) Abfüllung in Kunststoffpailletten : - Minitüb 0,5 ml mit 100 Mio. Spermien / Rörhchen
(eine Portion umfaßt 8 Rörhchen)

Auftauen bei 37°C in 30 Sek .

- Makrotüb 4,0 ml

Auftauen bei 50°C in 40 Sek.

Pailletten müssen mit Hengstname , Leb.-Nr. , Datum der Herstellung und Herkunft (Deckstelle) gekennzeichnet sein .

c) Pelletmethode (seltener) : Samen verdünnen und tiefgefrieren

Auftauen in best. Medien : Sterilmilch oder EDTA - Auftaumedien

Versand von TG-Sperma in Stickstoffcontainern .

6. Formalitäten

a) Deckschein : Stutenbesitzer muß den Deckschein an die Deckstelle senden .

4 Seiten : S.1 = Deck/ Besamungsschein mit Angaben über die Stute und Eintragung der Deckdaten

S.2/3 = Quittungen über Decktaxe (für Besitzer)

S.4 = Besamungsvertrag mit den allgem. Deckbedingungen

S.1+4 bleiben bei der Deckstelle

Wird eine Stute nicht trächtig erhält der Besitzer bei Vorlage der Quittungen im nächsten Jahr eine Ermäßigung auf die Decktaxe.

b) Samenversand – und Verwendungsnachweis : mit lfd. Nr. , besteht aus 5 Teilen

Weiß : Besamungsnachweis für Deckstelle , zum Deckregister

Gelb : Kopie für Züchter / Besitzer (wird an Zuchtverband weitergeleitet)

Grün : Kopie für Besamungstierarzt bei Hofbesamung

Rosa : Mit Kühlcontainer zurück an Versender

Blau : Bleibt beim Versender / Deckstelle

Versand von Samen entweder an den Besitzer , den Tierarzt oder andere Deckstationen .

Besamungstierarzt muß überprüfen ob der richtige Samen geliefert wurde und ob die richtige Stute besamt wird .

Die Trächtigkeitskontrolle sollte a) durch regelmäßige Prüfung des Verhaltens der Stute am Hengst (wenn mögl.)

b) durch Ultraschallusg. Am 18.Tag post ovulationem c) klin.-palpatorisch

d) evtl. durch hormonelle Methoden (Nachweis von Progesteron >1ng/ml Serum am 15.-21.Tag bzw. PMSG zw.45.-90.Tag im Serum,Plasma od.Milch)

erfolgen .

Frischsperma**Flüssigkons.Sperma****TG-Sperma**

Einsatz in der nächsten Std.	Einsatz bis max.48 Std. nach Herstellung .	Unbegrenzt haltbar
Stuten müssen stationär aufgenommen werden	Hofbesamung gut möglich	Stuten sollten stationär aufgenommen werden , da mind. 2 mal tägl. Follikelkontrolle nötig
Ohne Verdünner	V.a. Magermilch – Glucose - Verdünner	Glycinhaltige Verdünner
Trächtigkeitsraten mind.90%	Über 85%	Ca. 65%
Nachteil : mehr Samenvol. Nötig ,deshalb weniger Portionen (für gefragte Hengste nicht mögl.) Vorteil : Stuten , die auf Verdünner reagieren nehmen mit FS besser auf .	Vorteil : aus einem Ejakulat können mehr Portionen gewonnen werden .	< dito

