

**Aus der Abteilung für Reproduktionsbiologie des
Deutschen Primatenzentrums Göttingen**

**Vergleichende Analysen
der Spermienmotilität, -morphologie und
-morphometrie bei Primaten mit unterschiedlichen
Paarungssystemen**



INAUGURAL-DISSERTATION

**Zur Erlangung des
Grades einer Doktorin
der Veterinärmedizin
durch die
Tierärztliche Hochschule Hannover**

**Vorgelegt von
Annette Schrod
aus Kassel**

Hannover 2002

Wissenschaftliche Betreuung: Prof. Dr. J. Keith Hodges
Prof. Dr. Almuth Einspanier

1. Gutachterin: Prof. Dr. Almuth Einspanier
2. Gutachterin: Prof. Dr. Anne- Rose Günzel- Apel

Tag der mündlichen Prüfung: 27.11.2002

Diese Dissertation wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft im Rahmen des Projektes HO 1391/4-1 gefördert.

I went in the woods,
because I wanted to live deliberately.....
I wanted to live deep and suck out all the marrow of life!

To put to rout all that was not life.....
And not when I came to die discover
that I had not lived.....

(Henry D. Thoreau)

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1	Einleitung	1
2	Literatur	
2.1	Anatomie des männlichen Reproduktionstraktes und physiologische Grundlagen der Spermatogenese und der Ejakulation	3
2.2	Ejakulat- und Nebenhoden- bzw. Samenleiterpunktatgewinnung	5
2.2.1	Elektroejakulation	6
2.2.2	Penile Vibrostimulation	9
2.2.3	Masturbation	10
2.2.4	Punktion von Nebenhoden und Samenleitern	11
2.3	Ejakulatparameter	
2.3.1	Makroskopische und physikalische Parameter	13
2.3.2	Spermienmorphologie	15
2.3.3	Spermienmorphometrie	18
2.3.4	Spermienmotilität	19
2.4	Paarungssysteme	24
2.5	Spermienkonkurrenz	28
3	Eigene Untersuchungen	
3.1	Tiere, Material und Methoden	
3.1.1	Tiere	31
3.1.2	Spermagewinnung	33
3.1.2.1	Elektroejakulation mittels Rektalsonde	34
3.1.2.2	Penile Vibrostimulation	38
3.1.2.3	Masturbation	39
3.1.2.4	Punktion des Ductus deferens	39
3.1.3	Spermabeurteilung	
3.1.3.1	Spermienmotilität	40
3.1.3.2	Klassische Methoden	43

	Seite
3.1.3.3 Spermienmorphologie und -morphometrie	
3.1.3.3.1 Spermienmorphologie	45
3.1.3.3.2 Spermienmorphometrie	46
3.1.4 Statistische Auswertung	47
3.2 Ergebnisse	
3.2.1 Ejakulat- und Samenleiterpunktatgewinnung, makroskopische und physikalische Ejakulatparameter	48
3.2.2 Spermienmorphologie	54
3.2.3 Spermienmotilität	59
3.2.4 Spermienmorphometrie	65
3.2.5 Zusammenfassende Ergebnisse	71
4 Diskussion	
4.1 Einfluß der Ejakulatgewinnungsmethoden auf Ejakulat- und Spermienparameter	77
4.2 Eignung des Spermienanalysesystems	82
4.3 Zusammenhang zwischen Spermienmorphologie und Paarungssystem	84
4.4 Zusammenhang zwischen Spermienmotilität und Spermienmorphologie bzw. -morphometrie	88
4.5 Abhängigkeit einzelner Ejakulatparameter, Spermienmotilität und – morphometrie von Paarungssystem und Spermienkonkurrenz	89
5 Zusammenfassung	93
6 Summary	94
7 Literaturverzeichnis	95
8 Anhang	113
Danksagung	115
Lebenslauf	117

1 Einleitung

Durch die ständig anwachsende Weltbevölkerung und den von ihr benötigten Lebensraum werden die Habitate der nichtmenschlichen Primaten eingeschränkt oder auseinandergerissen. Auch fallen viele Tiere politischen und ethnischen Konflikten, der Trophäenjagd und in hohem Ausmaß dem Verzehr von „Bushmeat“ zum Opfer, daher sind momentan etwa 30 Prozent der 300 nichtmenschlichen Primatenspezies mittelfristig vom Aussterben bedroht (IUCN 2000). Die Reproduktionsressourcen der Wildbahn sind somit limitiert und auch die in menschlicher Obhut gehaltenen Primaten repräsentieren aufgrund ihres begrenzten Genpools nur ein eingeschränktes Reproduktionspotential.

Aus diesen Gründen ist es elementar wichtig, dieses vorhandene Potential optimal zu nutzen, um die Basis für eine möglichst stabile sich selbst erhaltende Population in menschlicher Obhut zu schaffen und ein Überleben in der freien Wildbahn zu ermöglichen.

Zu diesem Zweck wird der Einsatz biotechnischer Verfahren wie die künstliche Besamung für einige Primatenspezies überlebenswichtig. Grundlage für diese biotechnischen Verfahren sind sichere Möglichkeiten Ejakulate zu gewinnen und deren Qualität zu überprüfen. Auch können mit diesen Möglichkeiten Hinweise auf eventuelle Fertilitätsstörungen der zur Zucht eingesetzten männlichen Primaten gegeben werden. Somit ergibt sich die Option, die potentiell zuchtauglichen Tiere in anderen Kombinationen zusammenzuführen und Nachzuchtbemühungen effizienter zu gestalten. Bisher wurden jedoch häufig nur Teilaspekte dieser Problematik untersucht und darüber hinaus nur für einige wenige Spezies beschrieben.

Im Gegensatz dazu nutzt diese Arbeit erstmalig die Gelegenheit, sich mit einer breitgefächerten Speziesauswahl aus unterschiedlichen Primatenfamilien von den Halbaffen bis zum Menschen zu befassen und mit computergestützten Analysen die Spermien objektiv zu untersuchen. Als Grundlage wurden verschiedene Möglichkeiten der Ejakulat- und Spermengewinnung untersucht, um für jede Spezies und die jeweilige Bedingung (altes Tier, gut trainiertes Tier, Euthansie etc.) eine geeignete Methode festzulegen, die die Gewinnung motiler Spermien ermöglicht.

Auch ist es von Interesse, die Spermien der untersuchten Spezies detaillierter zu untersuchen. Hierfür sollen die morphologischen Abweichungen der Spermien erfasst und bewertet werden. Des weiteren erfolgt eine Bestimmung der kinematischen und morphometrischen Spermienparameter mit Hilfe eines computergestützten objektiven Analysesystems, welches eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse zwischen den Spezies ermöglicht.

Ein weiterer wichtiger Aspekt liegt in der Verknüpfung der einzelnen Spermienparameter und der kontrovers diskutierten Hypothese der Spermienkonkurrenz, die sich in den Abhängigkeiten der einzelnen Spermienparameter von der Struktur des jeweiligen Paarungssystems zeigen kann.

Aus all diesen interessanten Einzelaspekten resultieren zahlreiche Fragen, die im folgenden beantwortet werden sollen.

1. Wie beeinflusst die Methode der Ejakulatgewinnung die Ejakulatparameter?
2. Wie geeignet sind die computerassistierten Analysemöglichkeiten für Primatenspermien?
3. Inwiefern weisen morphologische Spermiendefekte auf die Zugehörigkeit zum Paarungssystem einer Spezies hin?
4. Sind morphometrische Spermienparameter und kinematische Spermienparameter korreliert?
5. Bestehen Korrelationen zwischen Spermienmotilitätsparametern und den Paarungssystemen und/oder zwischen Spermienmorphometrieparametern und den Paarungssystemen?

2 Literatur

2.1 Anatomie des männlichen Reproduktionstraktes und physiologische Grundlagen der Spermatogenese und der Ejakulation

Unter dem Einfluß von Testosteron wird bei Säugetieren in den Hodenkanälchen (Tubuli seminiferi) die Spermatogenese vollzogen. Über mehrere Stadien, nämlich über das Stadium der Spermatozyten und der Spermatiden entwickeln sich aus den Spermatogonien, die Spermatozoen (Spermien), die ein Flagellum besitzen (GRUDZINSKAS u. YOVICH 1995). Die Spermatogonien sitzen der Basalmembran auf und durch mitotische Aktivität kommt es zu einer Produktion neuer Spermatogonien. Diese können bei Säugetieren in drei weitere Typen unterteilt werden. Danach erreichen sie das Stadium der primären Spermatozyten, die noch einen diploiden Chromosomensatz besitzen. Dieser wird, ebenso wie die Zellgröße, verdoppelt, bevor es zur ersten Reifeteilung kommt. Nach Durchlaufen der meiotischen Teilungsphasen gehen zwei Spermatozyten zweiter Ordnung mit haploidem Chromosomensatz daraus hervor. Die Spermatozyten zweiter Ordnung durchlaufen eine weitere Teilung, bei der die beiden Chromatiden der Chromosomen auf die Tochterzellen, die Spermatiden, aufgeteilt werden. Die Spermatiden liegen bereits in der Nähe des Lumens der Hodenkanälchen, doch bevor sie zu hochdifferenzierten Spermien gereift sind, müssen sie noch die vierphasige Spermiogenese durchlaufen. An deren Abschluß steht die Loslösung von den Sertolizellen und die Freisetzung der Spermien in das Tubuluslumen (Spermiation) (SINOWATZ 2001). Die in das Lumen der Hodenkanälchen abgegebenen Spermien zeigen anfänglich noch keine Eigenbeweglichkeit und werden durch Kontraktionen der muskelartigen Zellen der Hodenkanälchen in das Hodennetz transportiert. Mit Hilfe starker Sekretbildung von Hodennetz (Rete testis) und Hodenkanälchen werden die Spermien in den Nebenhodenkopf (Caput epididymidis) gespült. Sie benötigen für den Transport durch den kompletten Nebenhoden, in dessen caudalem Anteil sie länger aufbewahrt werden können, einen speziesspezifischen Zeitraum, der bei nichtmenschlichen Primaten, beispielsweise beim Rhesusaffen, etwa elf Tage (AMANN et al. 1976) und beim Schimpansen um zwei Tage beträgt (SMITHWICK et al. 1996).

Der Nebenhoden erfüllt die Aufgaben der Reifung, Speicherung und des Transportes der Spermien. Während der Nebenhodenpassage erfahren die Spermien Veränderungen biochemischer (Stoffwechselumstellung, Änderungen in der Plasmamembran), physiologischer (Beweglichkeit) und morphologischer Art (Ablösung des Zytoplasmatropfens), die als sogenannte epididymale Spermienreifung zusammengefaßt werden können. Darüber hinaus wird im Nebenhoden ein Großteil der Hodensekrete wieder resorbiert. Ab dem Nebenhodenschwanz (Cauda epididymidis) weisen die Spermien bereits eine gerichtete Vorwärtsbewegung auf (TÖPFER-PETERSEN u. WABERSKI 2001). Der komplette Spermienreifungszyklus dauert beispielsweise beim Schimpanse 65 Tage (SMITHWICK et al. 1996), beim Menschen hingegen 72 Tage.

Bei Primaten, die einen Penis vom muskulokavernösen Typ besitzen, kommt es normalerweise vor einer Ejakulation zu einer Erektion des Penis. Diese wird bedingt durch parasympathische Nervenfasern, die eine Vasodilatation der penilen Arterien und eine Vasokonstriktion der penilen Venen auslösen (MARTIN 1978).

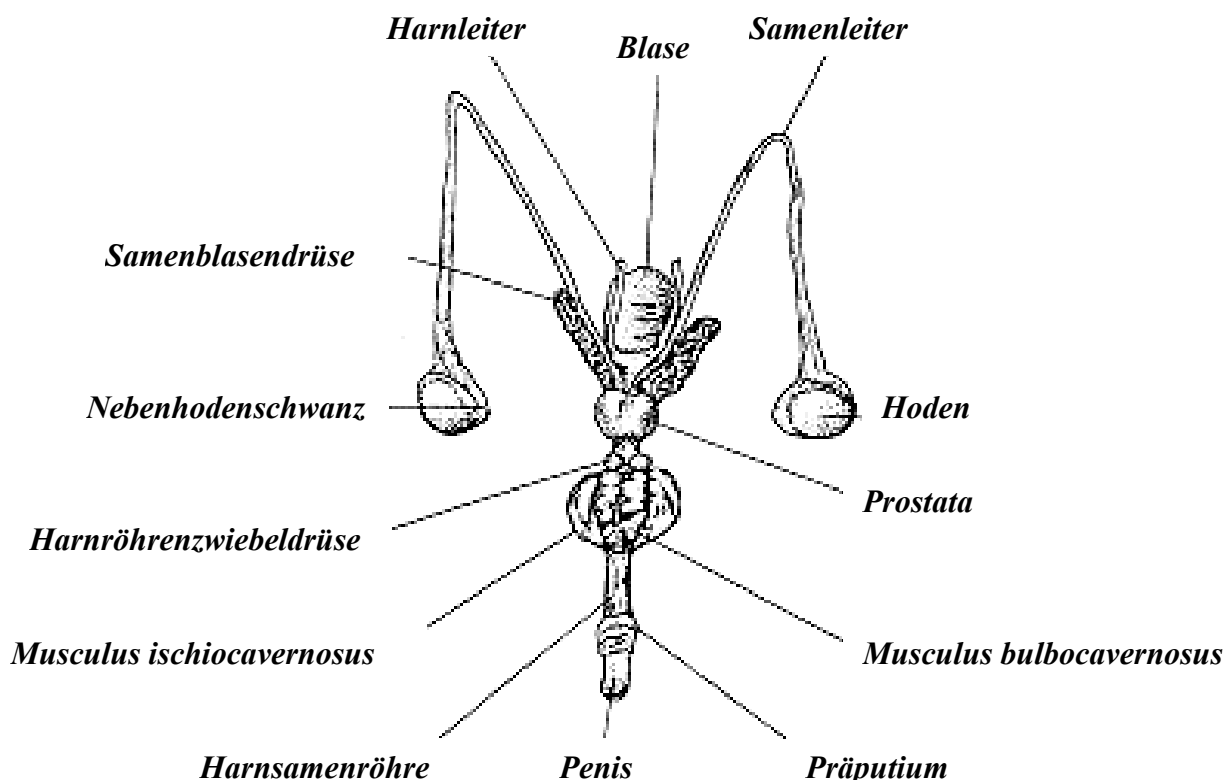


Abb. 1: Reproduktionstrakt eines männlichen Orang-Utans (aus Dixon 1998 b)

Im Rahmen der Ejakulation werden die Spermien reflektorisch durch Reizung des sympathischen Ganglion mesenteriale in die innere Urethra befördert. Zu diesem Zeitpunkt kommt es zu einem festen Schluß des Blasensphinkters. Die Dehnung der Urethra führt zu einer reflektorischen Kontraktion des Musculus bulbocavernosus und der feinen Muskelfasern der akzessorischen Geschlechtsdrüsen und somit zum Auswurf des Ejakulats (SILBERNAGEL u. DESPOPOULOS 1991).

Während der Ejakulation werden die Spermien mit dem Seminalplasma vermischt. Hierbei sind die Sekrete der Hoden, Nebenhoden und Samenleiter von untergeordneter Rolle, der Hauptanteil des Seminalplasmas wird von den akzessorischen Geschlechtsdrüsen gebildet.

Die Zusammensetzung des Seminalplasmas ist speziesspezifisch. Als Vertreter der Primaten sind die genauesten Daten über den Menschen evident. So verteilen sich die Seminalplasmaanteile beim Menschen wie folgt: 5% werden von den Hoden und Nebenhoden produziert, 46-80% stammen von der Samenblasendrüse (Glandula vesicularis), 13-33% werden von der Prostata (Glandula prostatica) und 2-5% von der Harnröhrenzwiebeldrüse (Glandula bulbourethralis) gebildet (LUNDQUIST 1949).

Die Aufgaben der einzelnen Sekrete der akzessorischen Geschlechtsdrüsen sind zum einen, die energetische Versorgung der Spermien sicherzustellen, welches zum Beispiel durch größere Anteile von Fruktose im Samenblasensekret erzielt wird, zum anderen wird durch das Prostatasekret die Motilität der Spermien beeinflusst. Dabei sezernieren Anteile des vorderen Prostatalappens Sekrete, die zusammen mit den Sekreten der Samenblasendrüse für die Koagulation der Primatenejakulate verantwortlich sind (HARRISSON u. LEWIS 1986). Im speziellen ist hier das beim Menschen entdeckte Seminogelin I zu nennen, das unter Einfluß einer Prostataprotease partiell abgebaut wird und damit eine Spermienmotilität zuläßt (ROBERT u. GAGNON 1999). Die Produkte der Harnröhrenzwiebeldrüse, die allerdings nicht bei allen Primatenspezies vorkommt, sind zur Neutralisation von Urinresten in der Urethra und des Scheidenmilieus essentiell (SINOWATZ 2001).

2.2 Ejakulat- und Nebenhoden- bzw. Samenleiterpunktatgewinnung

Die Spermengewinnung bei Primaten ist generell mit einigen Schwierigkeiten verbunden, da sie sich nicht wie Haustiere unkompliziert mit einem Phantom oder einem Animierweibchen

in Kombination mit einer künstlichen Scheide absamen lassen und schwer darauf zu trainieren sind, in Gefäße zu masturbieren. Darüber hinaus ist der Umgang mit nichtmenschlichen Primaten im allgemeinen schwieriger als mit domestizierten Haustierspezies.

1978 befaßte sich WATSON eingehend mit den Möglichkeiten der Ejakulatgewinnung. Er fordert von einer idealen Methode vier Grundvoraussetzungen. Erstens dürfen keine Risiken für die Gesundheit und das Wohlergehen des Tieres aus der Samengewinnung resultieren. Daher sollte immer eine genaue Abwägung zwischen den Risiken, die mit einer Sedation verbunden sind, und dem Behandlungsstreß für das bei Bewußtsein befindliche Tier erfolgen. Des weiteren muß die Methode so konzipiert sein, daß sie mindestens einmal pro Woche wiederholt werden kann. Als weiteren wichtigen Aspekt sieht WATSON (1978) die Erhaltung der normalen physikalischen und chemischen Zusammensetzung des Ejakulates, wobei sich hier die Problematik einer genauen Definition von „normal“ ergibt. Abschließend darf eine Ejakulatgewinnung keine Risiken für die involvierten Personen bergen.

Nach eingehender Betrachtung verschiedener Ejakulatgewinnungsmöglichkeiten kommt WATSON (1978) zu dem Schluß, daß keine der bekannten Methoden alle Kriterien vollständig erfüllen kann.

2.2.1 Elektroejakulation

Elektroejakulation ist die am häufigsten verwendete Methode der Ejakulatgewinnung bei nichtmenschlichen Primaten.

Erste allgemeine Berichte über die Anwendung dieser Methode stammen von BATELLI (1922) und MOORE und GALLAGHER (1930), die Versuche an Meerschweinchen durchführten. Sie plazierten in das Maul und in die Schädelbasis der Tiere jeweils eine Elektrode und arbeiteten mit Wechselstromimpulsen zwischen 5 V- 35 V. So konnten zwar Ejakulate gewonnen werden, allerdings war die Reaktion so indifferent, daß häufig eine Verunreinigung der Proben auftrat. Erschwerend kam hinzu, daß einige Tiere durch die Prozedur getötet wurden.

GUNN (1936) benutzte Schafböcke, bei denen mit einer in der Lumbalmuskulatur eingestochenen und einer rektal reizenden Elektrode sowohl Erektionen als auch Ejakulationen erzielt werden konnten.

Anfangs waren die Elektroejakulatoren sehr einfach konzipiert, so daß es zu Schäden bei Versuchstieren und Operateuren kam. Erst ab 1941 gab es überarbeitete Geräte (BENHAM u. ENDERS), die eine Veränderung von Impulsfrequenz, Intensität und Wellenform des Stroms ermöglichten. 1945 und 1948 entwickelten und verbesserten LAPLAUD und CASSOU verschiedene bipolare Rektalsonden, die bei Bullen, Schafböcken und Ebern erfolgreich verwendet werden konnte. So konnten sie die Tiere gezielt im Beckenbereich stimulieren und eine Einbeziehung des Hirnstamms vermeiden.

Die ersten Ergebnisse über Elektroejakulation bei nicht-menschlichen Primaten wurden von MASTROIANNI und MANSON (1963) veröffentlicht. Sie arbeiteten mit verschiedenen Makakenspezies (Rhesusaffen, Schweinsaffen, Bärenmakaken). Bei ihrer Methode wurden die Tiere unsediert zur Elektroejakulation genutzt. Sie brachten eine Elektrode am Penischaft, sowie eine andere an der Penisspitze an und arbeiteten mit Wechselstrom mit einer Stromspannung von 20 V- 40 V, wobei in 40 Versuchen 37 Ejakulate gewonnen werden konnten. Die Proben koagulierten in vielen Fällen nach wenigen Sekunden, wobei sich bis 30% der einzelnen Ejakulate wieder verflüssigten.

Nach dieser Methode arbeiteten auch VALERIO et al. (1969), um die Zuchttauglichkeit von Makakenmännchen (überwiegend Rhesusaffen) zu überprüfen. Sie verbanden die positive Elektrode mit der Penisbasis, die negative Elektrode wurde an die untere Seite der Eichel gehalten. Sie sahen ein Verlagern der Hoden in die Leistengegend als Kriterium der adäquaten Reizdosierung an. Sofern kein Ejakulat gewonnen wurde, erhöhten sie die Spannung, wechselten die Polarität der Elektroden oder steigerten die Impulslänge und -intensität.

Bei sehr hohen, lange einwirkenden Spannungen kam es sogar zu Verbrennungen des Penis. VALERIO et al. (1969) konnten bei ihren Ejakulatgewinnungsversuchen eine Erfolgsrate von 93% erzielen.

Im Gegensatz dazu arbeiteten WEISBROTH und YOUNG (1965) mit Rektalsonden, die Ringelektroden aufwiesen. Bei dem von ihnen genutzte Elektroejakulator konnte die Stromspannung in fünf Stufen bis auf 9,1 V erhöht werden. Sie begannen ihre Versuche mit unsedierten Tieren, wandten sich jedoch nach starkem Abwehrverhalten der Tiere von dieser Methode ab und sedierten danach alle Versuchstiere vorab mit Sernylan (2 mg/kg Körpergewicht). Die Sonde wurde rektal soweit eingeführt, daß eine Muskelkontraktion der Becken- und Schenkelmuskulatur bei Impulsgebung bemerkbar war. Sie begannen mit einer

niedrigen Ausgangsspannung und erhöhten diese nach einer etwa einminütigen Pause, sofern kein Ejakulat gewonnen werden konnte. Gegebenenfalls wurde die Lage der Sonde im Rektum verändert, was dazu führte, daß sie bei jedem Versuch eine Ejakulation erzielten. FUSSEL et al. (1967) konnte diese Art der Spermengewinnung bei nichtmenschlichen Primaten von Neuweltaffen bis Menschenaffen nutzen. Dieselbe Methode war anschließend ebenfalls bei Totenkopffaffen (*Saimiri sciureus*) erfolgreich (LANG 1967). Allerdings wurde eine Zunahme an koagulierten Ejakulatanteilen festgestellt, wenn die Narkose der Tiere sehr tief, die Rektalsonde weit unter Körpertemperatur oder die Luftfeuchtigkeit sehr hoch war. BENNETT (1967) arbeitete mit einer Sonde, bei der die Elektroden in der Sondenspitze saßen. Er konnte bei Totenkopffaffen (*Saimiri sciureus*) mit einer wiederholten Stimulation (in Fünftagesintervallen) eine Abnahme des Koagulum und eine Zunahme an spermienreichen flüssigen Ejakulaten verzeichnen.

KRAEMER und VERA CRUZ (1969) gewannen Ejakulate bei Pavianen mit einer Sonde, die zwölf Ringelektroden besaß, von denen je zwei nach Bedarf zusammengeschaltet werden konnten. Bei bestimmten Kombinationen führte dies zu Urinkontaminationen der Ejakulate oder bei einigen Versuchen zu bereits verfestigtem Koagulum in der Urethra.

Von der Ejakulatgewinnung beim Gorilla berichteten PLATZ et al. (1980). Sie führten die Elektroejakulation mit einer Sonde mit Longitudinalelektroden durch. Dabei benötigten sie 30 Stimulationen mit Spannungen bis 32 V und sehr hohen Stromstärken bis 720 Milliampere, um ein Ejakulat zu gewinnen. OHL (1993) wandte die rektale Elektroejakulation bei Männern an, bei denen Therapien einer ejakulatorischen Dysfunktion nicht anschlugen. Stark erhöhte Blutdrücke waren eine häufige Komplikation hierbei.

GOULD et al. (1978) gaben einen Überblick über die technischen Daten der Elektroejakulatoren und Rektalsonden und eine Tabelle der für die verschiedenen Primatenspezies notwendigen Ketaminsedationsdosen. Die geeignetste Stromform für die Elektroejakulation ist nach GOULD et al. (1978) sinuswellenförmiger Wechselstrom.

BRUN et al. (1987) verglichen die Methode der Elektroejakulation mit der Rektalmassage der Prostata bei Mayottemakis. Im Gegensatz zur Elektroejakulation wurden nach der rektalen Massage der Prostata und der Samenblasendrüse sehr dichte flüssige Ejakulate gewonnen. Diese Art der Gewinnung konnte zweimal wöchentlich erfolgreich wiederholt werden. GOULD und MANN (1988) verglichen die Ejakulatgewinnung per peniler mit der rektalen Elektrostimulation bei Rhesusaffen. Obwohl in den meisten Parametern keine signifikanten

Unterschiede (Erfolgsrate, Ejakulatmasse, Anteil lebender Spermien, Anteil motiler Spermien) ausgemacht werden konnten, war die absolute Spermienkonzentration und die Spermienzahl pro Ejakulat ($P < 0,05$) bei der penilen Stimulation höher.

Bei weiteren Untersuchungen von GOULD (1990) zeigte sich, daß die effektivste Möglichkeit der Ejakulatgewinnung mittels Rektalsonden bei großen Menschenaffen die Fingersonde mit Ringelektroden ist. SCHAFFER et al. (1991) stellten bei ihren Versuchen mit Gorillas fest, daß ein großer Anteil der spermienreichen Fraktion der Ejakulate während der Elektroejakulation retrograd in die Blase floß und daraus die schlechte Quantität und Qualität von Gorillaejakulaten resultierte. Sie konnten eine hohe Anzahl Spermien aus der Blase gewinnen, wenn diese zuvor mit einem Spülmedium mäßig gefüllt war. Darüber hinaus massierten sie von rektal aus Ejakulatanteile aus der Urethra heraus und konnten zusätzlich die Anzahl und Intensität der elektrischen Impulse verringern. YOUNG et al. (1995) verglichen Schimpansenejakulate, die mit den verschiedenen Gewinnungsmethoden, rektaler Elektroejakulation und künstlicher Scheide, gewonnen worden waren. Hierbei stellten sie fest, daß in Ejakulaten, die mit rektaler Elektroejakulation gewonnen worden waren, das Ejakulatvolumen sowie die Anzahl der Spermien niedriger, der Anteil der wieder verflüssigten Koagula aber höher war. Zudem traten erhebliche Unterschiede in den biochemischen Parametern der Ejakulate auf.

Nach WILDT (1996) kann kein negativer Einfluß der Elektroejakulation auf die Fortpflanzungsfähigkeit der Tiere festgestellt werden, da in vielen Fällen noch am selben Tag Kopulationen erfolgen. Auch gab es einige Männchen, die erst nach einer elektrischen Stimulation und Elektroejakulation normal kopulieren und lebensfähigen Nachwuchs zeugten.

2.2.2 Penile Vibrostimulation

Die Methode der penilen Vibrostimulation zur Ejakulatgewinnung ist erst in den letzten Jahren vermehrt bei nichtmenschlichen Primaten genutzt worden, wohingegen die Anwendung am Menschen bereits 1965 durch SOBERO et al. beschrieben wurde.

Mittels mechanischer Stimulation der Eichel (Glans penis) wurde eine reflektorische Ejakulation bei 80% der humanen Patienten erreicht und qualitativ gute Ejakulate gewonnen. Den Einsatz dieser Methode beim nichtmenschlichen Primaten nutzten YEOMAN et al. (1998). Sie arbeiteten hierbei mit Totenkopffaffen. In diesem Versuch wurde ein Vibrator mit

einem aufgesetzten 1,8 ml Gefäß verwendet. Das Gefäß war mit 200 µl Medium gefüllt und auf 37 °C erwärmt. Nichtanästhesierte in der Hand gehaltene Tiere wurden im Genitalbereich gereinigt und darauf folgend stimuliert. YEOMAN et al. (1998) konnten von 90% der Tiere Ejakulate gewinnen, die alle motile Spermien enthielten. Sie verglichen diese Methode mit der bisher üblichen rektalen Elektroejakulation und stellten fest, daß sie mit der erstgenannten Methode sowohl quantitativ als auch qualitativ bessere Ejakulate unter tiergerechteren (noninvasiven) Bedingungen gewinnen konnten.

KÜDERLING et al. (2000) etablierten die penile Vibrostimulation bei Weißbüschelaffen. Sie konnten mit einem Batterie betriebenen Vibrator bei Frequenzen von 75-95 Hertz und einer Amplitude von 1-2 mm in 88 Versuchen 31 Ejakulate gewinnen. Diese Ejakulate wiesen eine höhere Spermienkonzentration auf als die durch Elektroejakulation gewonnenen. Zusätzlich verglichen KÜDERLING et al. (2000) die Methode noch mit dem Vaginal Washing (KÜDERLING et al. 1996) und kamen zu dem Ergebnis, daß die penile Vibrostimulation die Methode der Wahl ist, um bei kleineren Primatenspezies Ejakulate zu gewinnen.

2.2.3 Masturbation

Einige Autoren berichten über Masturbation bei verschiedenen Primatenspezies. WATSON (1978) stellte fest, daß sie vor allem bei sexuell isolierten Tieren auftritt. Bei Primaten gehört die Masturbation jedoch zum normalen Verhaltensmuster, wobei von nichtmenschlichen Primaten das so gewonnene Ejakulat normalerweise verzehrt wird (Wolff, N. persönliche Mitteilung April 2001). GOULD (1990) kommt zu dem Ergebnis, daß die durch Masturbation gewonnenen Proben zwar nahezu normale Ejakulate repräsentieren, aber in unterschiedlichem Maße verändert sind, bevor sie dem Untersucher zur Verfügung stehen (z.B. Zeitverzögerung bis Ejakulat entdeckt wird, biochemische Veränderungen durch Speichel etc.). In verschiedenen Versuchen konnten von Schimpansen gegen Belohnung Ejakulate gewonnen werden (MARTIN 1978).

DURRANT (1990) berichtet von einem Drill und einem Bartaffen die auf die Ejakulatabgabe trainiert waren, und durch die eine große Anzahl an Ejakulaten gewonnen werden konnten. Diese wurden für genaue Untersuchungen und Kryokonservierung genutzt. Sie sieht die Masturbation gegen Belohnung als Möglichkeit an, eine hohe Anzahl an Ejakulaten zu gewinnen.

Beim Menschen ist diese Form der Ejakulatgewinnung am gebräuchlichsten und wird genutzt, um komplette Ejakulate für Untersuchungen und assistierte Reproduktionstechniken zu gewinnen.

2.2.4 Punktion von Nebenhoden und Samenleiter

Die Möglichkeit der Gewinnung von Spermien aus dem Samenleiter (Ductus deferens) und Nebenhoden (Epididymis), gegebenenfalls auch post-mortem, ist bei genetisch wertvollen Zuchttieren als praktikable Möglichkeit der effizienten Ressourcennutzung anzusehen. AMANN et al. (1976) stellten in ihrer Arbeit über Passagezeiten von Makakenspermien durch den Nebenhoden fest, daß sowohl im Nebenhodenschwanz als auch im Samenleiter ein großes extragonadales Reservoir an motilen, reifen Spermien existiert. Die exakte Lokalisation, an der die Spermien ihre Befruchtungsfähigkeit erlangen konnte jedoch nicht ausgemacht werden.

Über die post-mortem Gewinnung berichten BEEHLER et al. (1982). Sie versuchten die Spermengewinnung aus Samenleitern und den Samenblasendrüsen bei einem plötzlich verstorbenen adulten Flachlandgorilla. Die Hoden mit den Samenleitern und den akzessorischen Geschlechtsdrüsen wurden etwa zwei Stunden nach dem Tod des Tieres aus dem Tierkörper entfernt und in erwärmte physiologische Kochsalzlösung überführt. Die Samenleiter wurden danach mit einem Kryomedium durchspült und das verdünnte Sperma in Pailletten aufgezogen. Diese wurden kryokonserviert. Nach dem Auftauen wurden Motilitätsraten bis 70% beobachtet. Nach sechs Monaten lag die Spermienmotilität im kryokonservierten Sperma bei nur noch 20%. BEEHLER et al. (1982) führten dies auf Fehler in der Bearbeitung des Gewebes und der Spermengewinnung zurück.

HOLT (1994) sieht Nebenhodenspermien für verschiedene Reproduktionstechniken wie In-vitro Fertilisation als vorteilhaft an, da sie noch nicht mit dem Seminalplasma vermischt sind und somit auch keinen eventuell negativ auf sie einwirkenden Stoffwechselmetaboliten ausgesetzt sind.

WEN et al. (1993) konnten in einer Studie über Spermien aus dem proximalen Samenleiter Proben von 105 nachweislich fertilen Männern gewinnen. Dabei stellten sie fest, daß der Anteil morphologisch intakter Spermien und das Bewegungsmuster der Spermien einem normalen humanen Ejakulat glichen. Allerdings war die Konzentration der Spermien höher.

Die Möglichkeit, post-mortem gewonnene Spermien zu nutzen, wurde von MARKS et al. (1994) beim Hund gezeigt. Sie entnahmen einem euthanasierten Boxerrüden eine Stunde post-mortem die Hoden und transportierten diese gekühlt ($<7^{\circ}\text{C}$) zur Weiterbearbeitung. Die Spermien wurden aus dem caudalen Anteil der Nebenhoden und dem Ductus deferens mit isotoner Kochsalzlösung herausgespült und einer Spermienmotilitäts- und Morphologieuntersuchung unterzogen. Dabei konnte eine hohe, progressive Motilität der Spermien festgestellt werden. Die so gewonnenen Spermien wurden kryokonserviert. Nach dreieinhalb Monaten konnte mit diesen Spermien bei einer Hündin per tubaler und uteriner Insemination eine Trächtigkeit mit der Geburt eines lebensfähigen Welpen erzielt werden.

Mit Spermiencharakteristika aus post-mortem gewonnenen Proben bei Hirschen befaßten sich GARDE et al. (1998). Sie untersuchten den Einfluß verschiedener Parameter auf die Qualität der Spermien. Hierfür nutzten sie Proben von 71 Tieren, die innerhalb von zwei Stunden nach der Organentnahme weiter bearbeitet wurden. Die Spermengewinnung erfolgte aus dem Nebenhodenschwanz, indem dieser vom Samenleiter aus gespült wurde. Es wurden die Parameter Spermienmotilität, -morphologie und Akrosomstatus untersucht und nach den gängigen Methoden für Hausrinder beurteilt. Mit Hilfe dieser Studie konnte ein Zusammenhang zwischen Alter des Tieres und der Spermienqualität sowie der Zeitspanne zwischen Todeszeitpunkt und Spermengewinnung und der Spermienqualität hergestellt werden. So konnte gezeigt werden, daß die Gewinnung nicht später als zwölf Stunden nach dem Ableben des Tieres stattfinden sollte, um eine weitere Nutzung der Spermien post-mortem zu gewährleisten.

Durch den hohen Anteil nutzbarer Spermienproben erschien GARDE et al. (1998) diese Methode als geeignet, um die Erhaltung gefährdeter Arten zu unterstützen.

Einen Schritt weiter gingen KISHKAWA et al. (1999) mit ihren Untersuchungen, bei denen sie die Überlebensfähigkeit und Befruchtungsfähigkeit von Mäusespermien bei 4°C überprüften. Die getöteten Tiere wurden bis zu 20 Tagen aufbewahrt. Alle fünf Tage wurden die Nebenhoden von drei Tieren entfernt und aus dem Nebenhodenschwanz eine dichte Masse mit Pinzetten herausgequetscht. Die Spermien wurden auf die Parameter Motilität und Überlebensfähigkeit untersucht. Danach wurden per In- vitro Fertilisation und ICSI (Intrazelluläre Spermien Injektion) die Befruchtungsfähigkeit der Spermien überprüft. Motile

Spermien waren bis zum 15. Tag, lebende Spermien selbst am Tag 20 noch auffindbar. Die Befruchtungsfähigkeit erwies sich hingegen zwischen Tag 1 und 5 als stark rückläufig.

2.3 Ejakulatparameter

2.3.1 Makroskopische und physikalische Parameter

Als elementarer Bestandteil einer Ejakulatuntersuchung ist die Betrachtung der makroskopischen und physikalischen Parameter anzusehen. Dazu zählen die Ejakulatmasse (entsprechend Ejakulatvolumen bei anderen Spezies) hier vor allem bei den Primaten der Koagulumanteil und, vergleichbar mit dem Vorgehen bei anderen Spezies, die Parameter Farbe, Spermienkonzentration im Ejakulat und die Farbabsorptionsfähigkeit (Lebend- Tod-Färbung) der Spermien (WEITZE 2001).

Die gemessenen Werte differieren bei Primaten häufig selbst innerhalb einer Spezies immens, daher sind Normwerte schwer zu definieren. Ein häufiger Grund für signifikante Unterschiede in diesen Parametern sind die unterschiedlichen Gewinnungsbedingungen der Primatenejakulate. Zusätzlich können auch die Faktoren Alter, Haltung, sozialer Rang oder die Saison Einfluß auf diese Unterschiede haben (YEOMAN et al. 1998).

LEVINE (1999) konnte sogar für den Menschen einen Einfluß der Jahreszeit auf Spermienkonzentration und den Anteil morphologisch intakter Spermien im Ejakulat nachweisen.

Sehr wichtig im Zusammenhang mit der Fertilität eines Tieres sind die Spermienkonzentration im Ejakulat, der Anteil lebender Spermien und das Volumen des Ejakulates, wobei die Sekrete der akzessorischen Geschlechtsdrüsen als Basis für die Überlebensfähigkeit der Spermien im weiblichen Genital fungieren. Die Überlebensfähigkeit der Spermien im Vaginalmilieu wird durch die Pufferwirkung des Seminalplasmas heraufgesetzt (MØLLER 1991).

AMANN et al. (1976) wiesen im proximalen Samenleiter von Rhesusaffen ein Spermienreservoir nach, das eine sehr hohe Spermienkonzentration zeigte. Diese überstieg die Konzentration im Ejakulat deutlich.

WEISBROTH und YOUNG (1965) fanden bei ihren Untersuchungen an Makaken heraus, daß großvolumige Ejakulate häufig einen großen Anteil Koagulum und insgesamt wenig Spermien enthielten, wobei im Koagulum keine Spermien eingeschlossen waren. Eine durch die Saison bedingte Beeinflussung der Ejakulatmenge konnten CHEN et al. (1981) bei Totenkopffaffen feststellen. SEIER et al. (1989) beobachteten bei Grünen Meerkatzen Unterschiede zwischen in der Zucht befindlichen und einzeln gehaltenen Tieren. So wiesen Zuchtmännchen ein größeres Ejakulatvolumen, jedoch auch eine geringere Spermienkonzentration und einen geringeren Anteil lebender Spermien im Ejakulat auf.

Bei seinen Untersuchungen von Totenkopffaffen stellte BENNETT (1967) fest, daß die per Elektroejakulation gesammelten Ejakulate in zwei Fraktionen aufzuteilen waren: eine klare, spermienfreie koagulierte und eine flüssige spermienreiche. Im Versuchsverlauf nahm der flüssige Ejakulatanteil und die Spermienkonzentration zu, die Masse und der Anteil toter Spermien ab. Ein großer Einfluß auf die verschiedenen Ejakulatparameter resultiert aus der Methode, mit der das Ejakulat gewonnen wurde (HOLT 1986).

GOULD und MANN (1996) verglichen Ejakulate, die mit Elektroejakulation und künstlicher Scheide gewonnen wurden. Hierbei wiesen die per künstlicher Scheide gewonnenen Ejakulate jeweils die besseren Werte auf (größere Masse, höhere Spermienkonzentration, höherer Anteil lebender Spermien).

BRUN et al. (1987) verglichen Lemurenejakulate, die durch Elektroejakulation gewonnen wurden, mit per rektaler Prostatamassage gewonnenen. Bei der Elektroejakulation erhielten sie großvolumige Ejakulate (0,7 ml- 1,6 ml), die häufig komplett koagulierten. Im Gegensatz dazu konnten per Prostatamassage bis 0,2 ml einer sehr spermienreichen Flüssigkeit gewonnen werden. GOULD und MANN (1988) verglichen penile mit rektaler Elektroejakulation und stellten bei der penilen Stimulation ein sehr viel größeres Ejakulatvolumen und eine höhere Anzahl lebender Spermien, sowie eine höhere Gesamtspermienanzahl fest. MORRELL et al. (1996) befaßten sich mit unterschiedlichen Gewinnungsmethoden bei Weißbüschelaffen. Hierbei konnten sie nachweisen, daß bei der Elektroejakulation ein Teil der Spermien in Koagula eingeschlossen war und die absoluten Werte für Spermienkonzentration und Anteil lebendiger Spermien im Vergleich mit dem Vaginal Washing geringer waren. In einer Vergleichsstudie erhielten YEOMAN et al. (1998) bei peniler Vibrostimulation von Totenkopffaffen während der Paarungssaison sehr viel höher

Werte in der Durchschnittsmasse der Ejakulate und der absoluten Spermienanzahl, als mit der rektalen Elektroejakulation.

2.3.2 Spermienmorphologie

Das Primatenspermium kann lichtmikroskopisch grob in zwei Teile gegliedert werden: Den Spermienkopf und den Spermianschwanz. Diese Einteilung wurde erstmals von VAN LEEUWENHOEK, 1677 vorgenommen (GRUDZINSKAS u. YOVICH 1995).

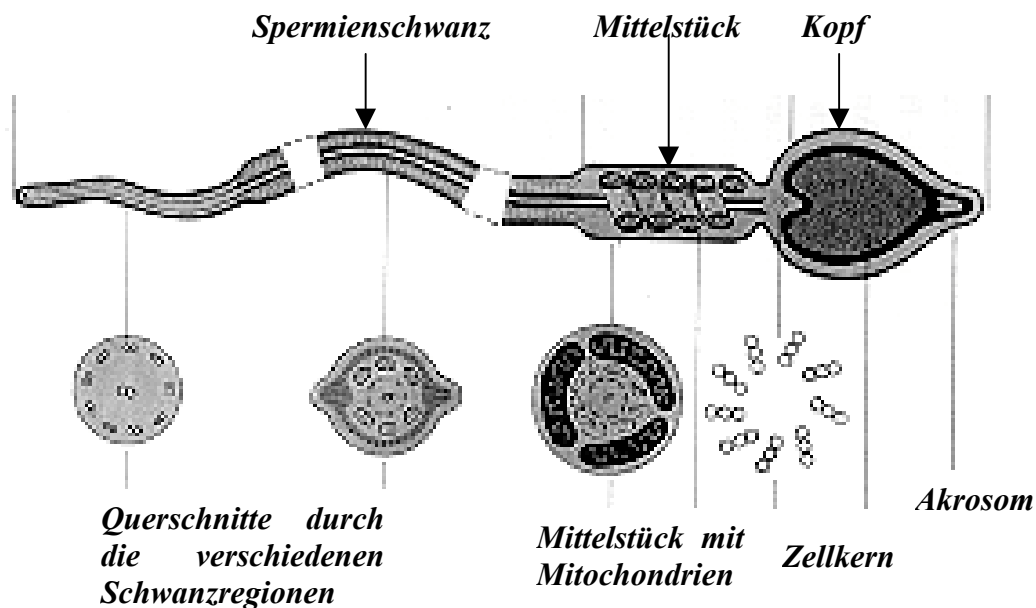


Abb. 2: Schemazeichnung eines menschlichen Spermiums (aus KNODEL u. BAYRHUBER 1983) mit Querschnitten des Spermianschwanzes

Das Spermium ist komplett von einer Plasmamembran überzogen, die funktionsabhängig unterschiedliche Glycoprotein- und Lipidzusammensetzungen aufweist. Der Spermienkopf läßt bei den meisten Haussäufern in der Aufsicht eine ovale bis birnenförmige Form erkennen. Das Grundelement des Kopfes ist der Zellkern, der einen haploiden Chromosomensatz besitzt. Häufig ist mehr als die Hälfte des Kopfes vom Akrosom (Kopfkappe) überzogen. Dieses enthält verschiedene Enzyme, die für die Reaktion mit der Eizelle verantwortlich sind. An den Kopf schließt sich der Spermianschwanz an, der über seine gesamte Länge als Hauptstruktur ein kinozilienartiges Mikrotubulussystem aufweist. Der Spermianschwanz beginnt mit einem beweglichen Gelenkstück (Hals), der den Spermienkopf mit dem eigentlichen Spermianschwanz verbindet. Es folgt ein Mittelstück, in

welchem die Mitochondrien des Spermiums liegen. Diese sind für die Energiegewinnung, die vor allem für die Beweglichkeit des Spermiums notwendig ist, erforderlich (MORTIMER 1997). Daran schließt sich das Hauptstück des Spermischwanzes, welches den längsten Teil des gesamten Spermiums ausmacht, an. Das abschließende Endstück ist relativ kurz und dünn und häufig nicht mehr lichtmikroskopisch sichtbar (BOYERS et al. 1989).

Das Primatenspermium wurde von zahlreichen Autoren genauer beschrieben. Grundsätzlich weist auch der Kopf des Primatenspermiums eine ovoide bis birnenförmige Form auf, wobei jedoch vor allem bei Halbaffen Ausnahmen auftreten. In seiner Arbeit stellte BEDFORD (1974) fest, daß die Spermien der Lorioiden und auch einiger anderer Lemuren einem anderen morphologischen Schema folgen, da der Spermienkopf eine asymmetrische Form aufweist. In einer weiteren Studie untersuchten PHILLIPS und BEDFORD (1987) Nebenhodenmaterial eines Plumploris (*Nycticebus coucang*) und konnten dabei feststellen, daß über das Akrosom miteinander verbundene Spermien in den Bereichen Nebenhodenkopf und –körper existieren. Im Bereich des Nebenhodenschwanzes traten diese Verbindungen nicht mehr auf. Allerdings zeigen die Spermien ein zusätzliches, über das Akrosom herausragendes konkav gewölbtes Segment, welches bei den meisten Lemurenspermien feststellbar ist (BEDFORD 1974).

MARTIN et al. (1975) konnten mit Hilfe elektronenmikroskopischer Bilder detaillierte Aussagen über die Spermienmorphologie und –morphometrie verschiedener Primatenspezies treffen. Die Ausstriche der von ihnen untersuchten 16 Spezies wurden hierfür ungefärbt genutzt. Bei der Untersuchung von Spermien der Kapuzineraffen (*Cebus apella*) trat als Besonderheit eine Verjüngung des hinteren Spermienkopfteils auf. MARTIN et al. (1975) stellten aufgrund ihrer umfassenden Studie die Frage zur Diskussion, ob anhand der Spermienformen phylogenetische Verbindungen erstellt werden können. Sie stellten fest, daß das menschliche Ejakulat den größten Anteil an morphologischen Abweichungen aufweist und es nicht ungewöhnlich ist, einen geringen Anteil unreifer Spermien, die an ihrem zytoplasmatischen Tropfen erkennbar sind, im humanen Ejakulat aufzufinden. Die häufigsten morphologischen Veränderungen sind am Spermienkopf sichtbar.

Ein ähnlich hoher Anteil morphologischer Abweichungen konnte nur noch bei Gorillas (*Gorilla gorilla*) festgestellt werden. Bei diesen wiesen PLATZ et al. (1980) einen Anteil von insgesamt 92,5% abnormer Spermien nach.

BUSH et al. (1975) konnten in ihrer Arbeit über Kapuzineraffen (*Cebus apella*) feststellen, daß morphologische Veränderungen vor allem in Form von zytoplasmatischen Tropfen

auftraten. Diese nahmen im Verlauf der sechsmonatigen Studie zu. Andere Veränderungen wie z.B. aufgerollte oder abgelöste Spermienschwänze waren häufiger bei toten Spermien aufzufinden. SEIER et al. (1989) beurteilten 100 bis 200 Spermien von Meerkatzen (*Chlorocebus aethiops*) morphologisch, wobei bei den Zuchtmännchen nur Spermienschwanzabnormitäten festgestellt wurden. Die anderen Meerkatzenmännchen wiesen zusätzlich verschiedene Spermienkopfabweichungen auf.

MENKVELD et al. (1990) versuchten einheitliche Kriterien und eine Definition für die Bestimmung von morphologisch normalen und abnormen Spermien von Menschen zu finden. Zu morphologisch „normalen“ Spermien zählten sie nur Spermien, die im oberen Anteil des Gebärmutterhalses im Mukus aufzufinden waren. Diese Spermienpopulationen waren weitestgehend sehr homogen. Darüber hinaus ließen sie vier Untersucher dieselben Proben auswerten und verglichen die Ergebnisse. Diese Ergebnisse waren in hohem Maße korreliert.

Verschiedene Parameter des Ejakulates von Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*) bewerteten CUI et al. (1991). Sie stellten fest, daß der Anteil der Schwanzdefekte (50%) im Vergleich zu Kopfveränderungen (4,5%) sehr hoch ausfällt.

YEUNG et al. (1997) sammelten Nebenhodenspermien von Menschen und Javaneraffen (*Macaca fascicularis*) um den Einfluß des Spermienreifungsprozesses auf die Morphologie zu untersuchen. Sie nutzten humanes Gewebe von sechs Krebspatienten, die sich im Senium befanden und Nebenhoden von zehn gesunden Javaneraffen. Bei den Humanspermien konnte eine abnehmende Zahl an Kopfanomalien im Verlauf der Nebenhodenpassage festgestellt werden, ebenso bei den Spermien der Javaneraffen. Insgesamt wiesen letztere jedoch einen sehr viel höheren Anteil morphologisch intakter Spermien auf.

Auch GAGO et al. (1999) untersuchten Spermien von Javaneraffen. Deren Ausstriche wurden gefärbt und computerunterstützt morphologisch ausgewertet. Als Resultat ihrer Untersuchungen stellten sie einen sehr hohen Anteil morphologisch intakter Spermien bei Javaneraffen fest. Eine Verknüpfung zwischen der Spermienkopfmorphologie bzw.-abnormitäten und der Spermengeschwindigkeit sehen GREEN und FISHEL (1999). Nach ihren Versuchen mit humanen Spermien kamen sie zu dem Ergebnis, daß hyperaktive Spermien (geschwindigkeitsabhängig) im Vergleich mit langsameren Spermien einen geringeren Anteil an Defekten aufweisen.

Nach WILDT (1996) sind die primären Spermienmorphologiedefekte ein sehr sensibler Indikator auf den Zustand des Keimepithels der Hoden und somit auch ein Hinweis für eventuell auftretende Fruchtbarkeitsprobleme, wobei die Interpretation der Spermien-defekte speziesspezifisch ist.

2.3.3 Spermienmorphometrie

Die Abmessungen der Primatenspermien sind relativ konstant, jedoch im Verhältnis zu den weiblichen Keimzellen sehr klein (PARKER 1993). So liegt die Spermien-gesamtlänge in einem Rahmen von durchschnittlich etwa 40 µm bei Nachtaffen (*Aotus*) bis nahezu 90 µm bei Mausmakis (*Microcebus murinus*) (SCHROD et al. 2002).

In direktem Zusammenhang mit der Spermien-größe sieht PARKER (1993) den eventuellen Wettbewerbsvorteil in der Fertilisation der Eizelle und den Einfluß auf die Überlebensfähigkeit im weiblichen Genitaltrakt. Des weiteren stellt er noch Verknüpfungen der Spermien-maße unter verschiedenen Aspekten der Spermienkonkurrenz fest.

In ihrer umfassenden Arbeit über die morphometrischen Parameter von Säugetierspermien sammelten CUMMINS und WOODALL (1985) zahlreiche Daten über Primatenspermien. Sie konnten morphometrische Daten von 23 Primatenspezies aus der Literatur zusammentragen. Diese Daten stammen von verschiedensten Wissenschaftlern, die ihre Veröffentlichungen in den Jahren 1909 bis 1983 erstellten. So ergaben sich beispielsweise für die Länge von Spermien des Menschen, für den die breiteste Datenbasis existiert, Unterschiede von 12% oder genauer 7 µm.

Nicht wenige dieser Daten beruhen auf Zeichnungen von RETZIUS (1909), die keine normierten Skalen aufweisen. Daher gestaltet sich eine Vergleichbarkeit mit neueren Daten als nicht einfach.

MARTIN et al. (1975) konnten für die Spermien verschiedener Spezies morphometrische Aussagen treffen, indem Fotos von vergrößerten Spermien unter dem Mikroskop erstellt wurden. Eine kalibrierte Meßleiste wurde mit fotografiert und anschließend wurden die Spermien vermessen. Bei ihren Untersuchungen stellten sie fest, daß die Spermien von Makakenspezies insgesamt länger waren (durchschnittlich 75,02 µm) als die aus der Familie der Menschenartigen (durchschnittlich 58,97 µm).

GAGE (1998) versuchte Korrelationen zwischen Spermienparametern nachzuweisen. Er untersuchte die Spermieelemente Kopf, Mittelstück und Spermischwanz. Seine Ergebnisse wiesen eine positive Korrelation zwischen Mittelstück- und Schwanzlänge mit einerseits der Kopflänge als auch andererseits der Fläche des Kopfes auf.

Weitere Korrelationen von Spermienmaßen, vor allem im Bezug auf das Paarungssystem (siehe 2.3.5) wiesen GOMENDIO und ROLDAN (1991) nach. Sie sahen auch bei Primaten eine Abhängigkeit der Spermienlänge von der Intensität der Spermienkonkurrenz, d.h. mit wievielen weiteren Ejakulaten das einzelne Ejakulat im weiblichen Organismus konkurrieren muß. Sie nutzten für ihre Arbeit das Datenmaterial von CUMMINS und WOODALL (1985).

2.3.4 Spermienmotilität

Die Spermieigenbewegung resultiert aus den Verschiebungen der Dyneinverbindungen zwischen den Mikrotubuli, die das Hauptstrukturmerkmal des Spermischwanzes darstellen. Die Motilität der Spermien ist in hohem Maße von dem sie umgebenden Sekret der akzessorischen Geschlechtsdrüsen abhängig, da dieses die Bewegungsfähigkeit über die spermieeigenen Energiereserven hinaus sicherstellt. Die Energie hierfür muß in Form von ATP zur Verfügung gestellt werden, welches in geringen Mengen im Spermium selbst vorliegt und aus Fruktose und Glukose aus dem Seminalplasma sowohl anaerob als auch aerob synthetisiert werden kann (MORTIMER 1997). Eine feststellbare Eigenmotilität der Säugetierspermien entfaltet sich erst nach einigen Veränderungen des Spermiums (Spermienreifung) während der Nebenhodenpassage (TÖPFER-PETERSEN und WABERSKI 2001).

Generell sieht HOLT (1986) in der Beurteilung der Spermienmotilität einen wichtigen Aspekt im Hinblick auf eine aussagekräftige Untersuchungsmöglichkeit der Fortpflanzungsfähigkeit, da bei Untersuchungen von humanen Ejakulaten ein Zusammenhang zwischen Spermengeschwindigkeit und Fertilität hergestellt werden konnte.

Im Gegensatz dazu weist DURRANT (1990) darauf hin, daß die Spermienmotilität in keiner Weise mit der Befruchtungsfähigkeit eines Spermiums korreliert ist und die klassischen Bewertungsparameter für Spermienqualität wie zum Beispiel die Spermienmotilität durch postkoitale Tests ersetzt werden sollten.

Die Spermienmotilität wird durch viele Faktoren beeinflusst, so zum Beispiel durch die Saisonalität der Spezies, die sexuelle Aktivität, die Ejakulatgewinnungsmethode und auch die Viskosität des umgebenden Mediums, welches vor allem bei Primaten durch die extrem schnelle Koagulation der gesamten Ejakulate eine Untersuchung der Motilität teilweise unmöglich macht. Bei der Beurteilung der Spermienmotilität ist es wichtig, daß möglichst einheitliche Bedingungen gegeben sind. So sollte zum Beispiel eine konstante Temperatur während der gesamten Untersuchung vorliegen (u.a. Mikroskopwärmestich).

HOLT und PALOMO (1996) testeten verschiedene Methoden der Spermienaufbereitung und verschiedene Verdünnungsmedien. Sie verglichen die Spermienwaschung mit Percoll, die Spermienwaschung mit Ficoll, die Swim-up Methode und die einfache Verdünnung. Die Art der Spermienpräparation und des Verdünnungsmediums beeinflussten in hohem Maße die Spermienmotilitätswerte. So waren die Geschwindigkeiten der Schafbockspermien die mit Percoll- ($132,7 \mu\text{m/sec}$) und Ficollzentrifugationen ($136,9 \mu\text{m/sec}$) aufbereitet wurden geringer als solcher, die mit der Swim-up Methode ($163,9 \mu\text{m/sec}$) und der Verdünnung mit Tyrodesmedium ($167,1 \mu\text{m}$) bearbeitet wurden.

Bei vielen Haustierspezies mit sehr dichten Ejakulaten wird die Spermienmotilität in Massenbewegung (schwarmähnlich) und Einzelbewegung unterschieden und beurteilt.

Bei nichthumanen Primaten wird jedoch nur die Einzelbewegung beurteilt, da die Spermienkonzentration häufig zu gering ist und gegebenenfalls durch inkomplette Ejakulate eine Verfälschung von Parametern zustande kommen würde.

Für die subjektive Unterscheidung der Spermienmotilität wurde 1947 von EMMENS erstmalig eine Skala eingeführt, anhand derer eine Beurteilung der Anteile beweglicher Spermien und ihrer Geschwindigkeit vorgenommen wurde. Es erfolgte je nach prozentualem Anteil motiler Spermien und wie sie sich im Vergleich mit anderen Spermien vorwärts bewegen eine Einstufung in Klassen von eins bis fünf. Diese Bewertungsgrundlage wurde mehrfach modifiziert und ist immer noch in Gebrauch (HOLT 1986). WEITZE (2001) unterscheidet bei Haus- und Nutztieren die Spermieeinzelbewegung subjektiv nur zwischen vorwärts-, orts- und unbeweglich.

Für eine objektive Bestimmung sowie besserer Vergleichbarkeit der Spermienmotilität, durch die Erfassung der Schwimmgeschwindigkeit, stehen zwei Methoden zur Verfügung. Die technisch einfachere Methode ist, die Messung der Zeit, in der die Spermien eine definierte

Strecke zurücklegen. Der Nachteil dieser Methode besteht darin, daß so nur wenige Spermien pro Probe untersucht werden können (MORTIMER 1997).

Um eine große Anzahl von Ejakulaten zu untersuchen bieten sich nach BOYERS et al. (1989) computerunterstützte Verfahren an. Bei einer computerassistierten Spermienmotilitätsanalyse (CASA) wird mit der Umsetzung der analogen Spermienbilder in digitale Bilder gearbeitet. Diese werden in einzelne Pixel (Bildpunkte) aufgegliedert und in elektrische Impulse umgewandelt. So wird Bild für Bild digitalisiert, was je nach Arbeitsfrequenz des Analysecomputers zu 25 bis 50 Bildanalysen pro Sekunde führt. Es wird ein Objektmittelpunkt (häufig ein Punkt am oder im Spermienkopf) in jedem Bild bestimmt und die Strecken zwischen diesen Mittelpunkten auf den unterschiedlichen Bildern festgehalten. Anhand der Strecke, die ein Spermium in einer bestimmten Zeit zurückgelegt hat, werden die entsprechenden Geschwindigkeiten und weiteren Bewegungsparameter berechnet (BOYERS et al. 1989). BOYERS et al. (1989) unterscheiden zwischen den traditionellen Parametern, Anteil motiler Spermien, kurvilineare Geschwindigkeit (*VCL*), lineare Geschwindigkeit (*VSL*) und mittlere Bahngeschwindigkeit (*VAP*) und weiterentwickelten Parametern, wie die Beat cross frequency (*BCF*).

Da die nicht- computerassistierten Methoden eventuell durch die Subjektivität der Untersucher eine Vergleichbarkeit von Daten erschweren, verglichen STEPHENS et al. (1988) ihre manuell ermittelten Geschwindigkeiten (definierte Strecke, Zeitnahme) von bovinen Nebenhodenspermien mit denen per Computer berechneten Motilitätsdaten und konnten nahezu identische Ergebnisse verzeichnen.

Die Geräte, die für eine CASA genutzt werden, müssen für jede Spezies neu validiert werden. HOLT et al. (1996) versuchten, die CASA-Bedingungen für Schweinespermien zu optimieren. Sie stellten dabei fest, daß die von ihnen genutzten Einstellungen nur speziell für ihre Arbeitsbedingungen galten.

YEUNG et al. (1992) fanden mit Hilfe der computerunterstützten Analyse von Nebenhodenspermien von Ratten heraus, daß die kurvilineare Geschwindigkeit im Nebenhodenkörper, die gradlinige und die Durchschnittsgeschwindigkeit im Nebenhodenschwanz am höchsten war. In einer ähnlichen Studie mit humanem Probenmaterial stellten WEN et al. (1993) nahezu identische Motilitätswerte für Spermien aus Nebenhodenschwanz, Samenleiter und Ejakulat fest.

Daß Spermien selbst einen gewissen Zeitraum nach dem Ableben eines Tieres noch motil und für assistierte Reproduktionstechniken nutzbar sind, wiesen MARKS et al. (1994) und KISHIKAWA et al. (1999) nach.

MARKS et al. (1994) gewannen mehrere Stunden nach der Euthanasie eines Rüden Spermien mit einer sehr hohen vorwärts gerichteten Beweglichkeit. Bei Versuchen mit post-mortem gewonnenen Mäusespermien fanden KISHIKAWA et al. (1999) heraus, daß sogar nach mehr als 15 Tagen nach dem Tod des Tieres noch motile Spermien (8,5% der Spermien) aus den Nebenhoden zu gewinnen waren.

VAN DER HORST et al. (1999) befaßten sich mit der Frage wie sich die Eigenmotilität von Meerkatzenspermien in den verschiedenen Regionen des Nebenhodens, Samenleiters und im Ejakulat entwickelt. So konnten sie zeigen, daß die Motilität während der Nebenhodenpassage zunimmt und im Samenleiter die höchsten Werte erreicht. Darüber hinaus belegte diese Studie, daß die Bewegungsmuster der Spermien von kreisförmigen zu gradlinigen, vorwärts gerichteten Bewegungen wechseln. In den Ejakulaten war die Heterogenität der Spermienbewegungsmuster am größten.

BUSH et al. (1975) beurteilten die motilen Spermien von Kapuzineraffen nach einer Skala von 0 bis 4, wobei 0 keiner und 4 der maximalen vorwärtsgerichteten Bewegung entsprach. Ungünstigerweise lagen die intra- und interindividuellen Schwankungen zwischen 1-4, so daß keine genauen speziesspezifischen Werte ermittelt werden konnten. Um die Auswahl von Zuchttieren zu vereinfachen versuchte HARRISON (1975) bei Rhesusaffen anhand der Spermienkonzentration im Ejakulat und Spermienmotilität eine Formel für die voraussichtliche Zuchteignung eines Tieres zu etablieren. Dabei wurde der prozentuale Anteil motiler Spermien geschätzt und als entscheidender Parameter für den Zuchtwert des Tieres angesehen.

CHEN et al. (1981) untersuchten den saisonalen Einfluß auf verschiedene Ejakulat- bzw. Spermienparameter bei Totenkopffaffen (*Saimiri sciureus*). Hierbei konnten sie im Gegensatz zu nahezu allen anderen Parametern keine Veränderungen der Spermienmotilität feststellen.

GOULD et al. (1993) versuchten Standardwerte der Spermiencharakteristika von Schimpansenejakulaten festzulegen, die sie zuvor von fünf nachweislich fertilen Tieren mit Hilfe einer künstlichen Scheide gewonnen hatten. Die Spermengeschwindigkeiten VSL und VCL wurden computerassiiert von mindestens 150 Spermien bestimmt. Die Autoren stellten

absolute Geschwindigkeitswerte fest ($VCL\ 50 \pm 3,2\ \mu\text{m/s}$, $VSL\ 19 \pm 1,3\ \mu\text{m/s}$), die denen menschlicher Spermien ($VCL > 20\ \mu\text{m/s}$, $VSL > 15\ \mu\text{m/s}$) ähnelten. Mit Hilfe dieser Ergebnisse wollte er Aussagen über die Fertilisierungsfähigkeit der Ejakulate treffen. Seine Schlußfolgerung war, daß jedes Tier nur einzeln betrachtet werden kann unabhängig von speziesspezifischen Mittelwerten.

Um eine größere Anzahl an Ejakulaten zu beurteilen benutzte MORRELL (1997) die computerassistierte Samenanalyse für eine Auswahl an Ejakulaten, die sie bei Weißbüschelaffen zur künstlichen Besamung nutzen wollte. Sie arbeitete mit dem Hobson Sperm Tracker (HST) und untersuchte die Geschwindigkeiten VCL, VSL und VAP bei Spermien aus Nebenhoden und aus Ejakulaten, bei denen sich höhere Geschwindigkeiten bei den Nebenhodenspermien zeigten (durchschnittlich $20\ \mu\text{m/s}$ schneller). Darüber hinaus konnte sie zeigen, daß sexuell inaktive Tiere weitaus geringere Spermienmotilitäten aufwiesen als sexuell aktive. MORRELL (1997) sieht in der computerassistierten Motilitätsanalyse ein objektiveres Mittel der Ejakulatbewertung. MORRELL et al. (1996) befaßten sich mit dem Einfluß der verschiedenen Spermengewinnungsmethoden auf die Motilität. Sie verglichen die Spermienmotilität bei Ejakulaten, die durch rektale Elektroejakulation gewonnen wurden mit Teilejakulaten, die bei postkoitaler Scheidenwaschung gewonnen werden konnten. Die per Elektroejakulation gewonnenen Ejakulate wiesen höhere Spermigeschwindigkeiten (VCL durchschnittlich $17\ \mu\text{m/s}$ und $VSL\ 23\ \mu\text{m/s}$ höher), aber einen geringeren Anteil motiler Spermien ($4,1\%$ geringer) auf.

In einer vergleichenden Arbeit über die Ejakulatgewinnung per Elektroejakulation und peniler Vibrostimulation (PVS) bei Totenkopffaffen stellten YEOMAN et al. (1998) fest, daß der Anteil an Ejakulaten mit motilen Spermien und die Anzahl beweglicher Spermien weitaus höher bei den per peniler Vibrostimulation gewonnenen Proben ausfiel. So enthielten alle Proben, die per PVS gewonnen wurden, motile Spermien, und die Gesamtanzahl motiler Spermien war mehr als 30 mal höher als bei den Elektroejakulaten. Die Ursache sahen YEOMAN et al. (1998) zum einen in einer besseren Stimulation der Nebenhoden durch die PVS und zum anderen in dem Reflux von Ejakulatanteilen in die Blase bei der Elektroejakulation.

Ein weiterer interessanter Aspekt ist die Möglichkeit der Beeinflussung der Spermienmotilität.

Zur Erhöhung der Motilität experimentierten CSEH et al. (2000) mit verschiedenen Inkubationsdosen Pentoxifyllin und deren Einfluß auf per Elektroejakulation gewonnene Pavianspermien. Zur Motilitätssteigerung der Pavianspermien war eine Dosis von 1 mg Pentoxifyllin/ml Ejakulat erforderlich. Es konnten Geschwindigkeitszunahmen um bis zu 50% erreicht werden. So erhöhte sich die VSL von 16,5 $\mu\text{m/s}$ auf 33 $\mu\text{m/s}$ und die VCL sogar von 27 $\mu\text{m/s}$ auf 61 $\mu\text{m/s}$.

2.4 Paarungssysteme

Im Vergleich zu vielen anderen Säugetierordnungen weisen Primaten eine einmalige Diversität an komplexen Sozialverbänden auf. Nur einige wenige Spezies leben solitär (Halbaffenspezies und Orang-Utans). Diese Sozialgefüge reichen von Kleinfamilien, in denen nur ein Paar mit seinen Nachkommen lebt, über Harems- und Männergruppen, bis zu verschiedensten Varianten der Vielmännchen–Vielweibchengruppen, die Tierzahlen bis 400 Individuen erreichen können (DIXSON 1998 b).

Unabhängig vom jeweiligen Sozialsystem treten bei Primaten verschiedene Paarungssysteme auf. Daraus resultiert für die adulten Tiere nicht nur ein spezifisches Paarungsverhalten sondern auch eine entsprechende Energieinvestition in die Aufzucht der Jungtiere (SHORT 1979).

Bei den nichtmenschlichen Primatenspezies herrschen nach HARVEY und HARCOURT (1984) drei verschiedene Paarungssysteme vor. Sie unterscheiden ein Ein- Männchen-Vielweibchen-, ein Vielmännchen- Vielweibchen- und ein monogames System.

HARCOURT et al. (1995) hingegen ergänzten zu dieser Einteilung das disperse Paarungssystem, welches vor allem bei verschiedenen Halbaffenspezies, aber auch bei den Orang-Utans vorkommt (Details folgen).

Im Gegensatz hierzu unterteilt DIXSON (1998 b) in fünf verschiedene Paarungssysteme, wobei sich diese vorab in zwei Gruppen unterteilen lassen. Zum einen werden Systeme beschrieben, bei denen die Weibchen während der konzeptiven Phase ihres Zyklus nur von einem Männchen gedeckt werden. Hierzu zählen das monogame und das polygyne Paarungssystem. Zum anderen gibt es die Systeme, in denen sich das Weibchen mit mehreren Männchen paart, wie dies bei dem polyandrischen, dem Vielmännchen- Vielweibchen- und dem dispersen System erfolgt.

Allgemein besteht die Problematik der strikten Zuordnung der verschiedenen Primatenspezies (siehe **Abb. 8**) zu verschiedenen Paarungsverhalten, da in den meisten Fällen nicht ein einzelnes Paarungssystem ausschließlich beobachtet werden kann. Häufig sind mindestens zwei unterschiedliche Paarungssysteme anzutreffen, deren Ausprägung von den jeweiligen demographischen Gegebenheiten abhängt.

Die **Monogamie** wird bei bestimmten Primatenspezies aller Gruppen (von Halbaffen bis Menschenaffen) beobachtet. Grundlage für diese Form der Fortpflanzungsstrategie ist ein Zusammenleben der Primaten in kleinen Familiengruppen und eine Langzeitverbindung zwischen Männchen und Weibchen.

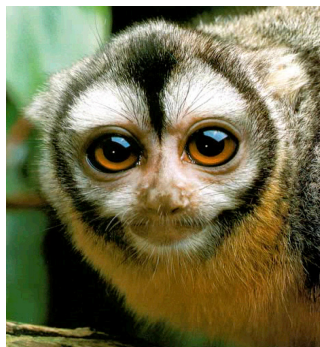


Abb. 3: Nachtaffe (Aotus), Vertreter der südamerikanischen Neuweltaffen, in einem monogamen Paarungssystem lebend (Körpergröße: 35 cm, Gewicht: 950 g, nicht saisonal, Lebensdauer: 20 Jahre) (ROWE 1996)

Die fortpflanzungsfähigen Weibchen kooperieren häufig nicht miteinander und verhindern damit die Möglichkeit, daß das Männchen mehrere Paarungspartner für sich in Anspruch nehmen kann (DIXSON 1998 b). Als Vorteil für die Aufzucht des Nachwuchses ist die Tatsache zu sehen, daß bei der Monogamie der intrasexuelle Wettkampf der Männchen um die Gunst der Weibchen sehr viel schwächer ausgeprägt ist als bei den anderen Paarungssystemen. Dies hat zur Folge, daß auch viel Energie der männlichen Tiere in die Aufzucht der Jungtiere investiert werden kann (SHORT 1979). Des weiteren ist festzustellen, daß die phänotypischen Unterschiede zwischen den Geschlechtern sehr gering ausgeprägt sind (Ausprägung sekundärer Geschlechtsmerkmale, Größen- und Gewichtsunterschiede). Bei den in dieser Arbeit untersuchten Spezies ist die Monogamie für den Nachtaffen (Aotus) (**Abb.3**), den Weißbüschelaffen und den Menschen beschrieben.

Die **Polygynie** ist gekennzeichnet durch die alleinige Möglichkeit eines Männchens, alle adulten Weibchen während der konzeptiven Phase für sich zu monopolisieren und zu decken. Dies ist häufig mit dem Begriff Haremsform gleichgesetzt worden. In diesem System leben auch weitere adulte Männchen mit in der sozialen Gruppe, allerdings bekommen sie keine Gelegenheit zu Bedeckungen geschlechtsreifer Weibchen, während sich diese in der konzeptiven Phase ihres Zyklus befinden. Der Reproduktionsvorteil liegt bei dem dominanten Männchen. Bei polygynen Paarungssystemen ist ein großer sexueller Dimorphismus festzustellen.



Abb. 4: Hanumanlanguren (*Semnopithecus entellus*), auf dem indischen Subkontinent lebend, Vertreter der Altweltaffen, größtenteils ein polygynes Paarungssystem aufweisend (Körpergröße : 65 cm (ohne Schwanz), Gewicht : 15 kg, saisonal, Lebensdauer: 20 Jahre) (ROWE 1996)

Die männlichen Individuen sind in der Körpergröße und Ausprägung sekundärer Geschlechtsmerkmale deutlich überlegen (SHORT 1979). Bei den hier untersuchten Spezies ist dieses System bei Pavianen (*Papio hamadryas*) und Hanumanlanguren (*Semnopithecus entellus*) (**Abb.4**) anzutreffen.

Im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Systemen ist die **Polyandrie** sehr selten festzustellen. Hierbei monopolisiert ein einzelnes Weibchen die Männchen einer Gruppe für sich. Da es sich gewöhnlich um das dominante Weibchen handelt, ist die Polyandrie häufig mit der Ovulationsunterdrückung der niederrangigen Weibchen vergesellschaftet. Das dominante Weibchen läßt dann Bedeckungen von mehreren Männchen während ihrer fertilen Phase zu. Dies hat zur Folge, daß jedes dieser Männchen als Erzeuger des Nachwuchses in Frage kommen kann. Damit wird eine Mithilfe aller Tiere der Gruppe in der Aufzucht der

Nachkommen initiiert. Ein Beispiel hierfür sind einige Gruppen von Lisztaffen (*Saguinus oedipus*) (**Abb. 5**).



Abb. 5: Lisztaffe (*Saguinus oedipus*), Vertreter der mittel- und südamerikanischen Neuweltaffen, polyandrisch, (Körpergröße: 23 cm, Gewicht: 420 g, saisonal, Lebensdauer: 13,5 Jahre) (ROWE 1996)

Ein weit verbreitetes System ist das **Vielmännchen–Vielweibchen** Paarungssystem (HARVEY u. HARCOURT 1984). Hierbei haben die in der Gruppe lebenden Weibchen Zugang zu allen fortpflanzungsfähigen Männchen der Gruppe. Sie paaren sich während eines Östrus mit mehreren Männchen. Längerfristige sexuelle Partnerschaften entstehen nicht. Da trotz dieser Möglichkeit gewisse Präferenzen sowohl der Männchen als auch der Weibchen bezüglich ihrer Kopulationspartner bestehen, kann dieses System nicht als promisk bezeichnet werden.

Bei Spezies, die dieser Form des Paarungssystems unterliegen, sind die weiblichen Tiere im Vergleich zu monogamen oder polygynen Spezies sexuell aktiver und weisen eine größere Anzahl an Kopulationpartnern auf (DIXSON 1998 b). Bei den hier untersuchten Spezies tritt dieses System bei Mausmakis (*Microcebus murinus*) (**Abb.6**), Weißkopfmakis (*Eulemur fulvus albifrons*), Kapuzinern (*Cebus apella*), Totenkopffaffen (*Saimiri sciureus*), Makakenspezies, Mandrills (*Mandrillus sphinx*), bei einigen Gruppen von Hanumanlanguren und bei Bonobos (*Pan paniscus*) (**Abb.7**) auf.



Abb. 6: Mausmaki (Microcebus murinus)

Vertreter der madagassischen Halbaffenspezies, Vielmännchen-Vielweibchen System (Körpergröße: 12,5 cm, Gewicht: 80 g, saisonal, Lebensdauer: 15,5 Jahre) (ROWE 1996)



Abb. 7: Bonobo (Pan paniscus)

Vertreter der Menschenartigen, auf dem afrikanischen Kontinent lebend, Vielmännchen-Vielweibchen System (Körpergröße: 75 cm, Gewicht: 35 kg, asaisonal, Lebensdauer: 40 Jahre) (ROWE 1996)

Als eine spezielle Form des Vielmännchen- Vielweibchensystems kann das **disperse Paarungssystem** bezeichnet werden. Das Charakteristikum dieses Systems liegt in einer territorialen Verteilung der Sexualpartner aufgrund der Sozialstruktur. Diese Territorialität mit Überschneidungen der Reviere führt dazu, daß Männchen Zugang zu mehreren östrischen Weibchen erhalten und andererseits auch die Weibchen die Option besitzen, sich während des Östrus von unterschiedlichen Männchen decken zu lassen. Die Sexualpartner gehen nur kurzzeitige Verbindungen ein. Dieses System kommt bei einigen Halbaffenspezies und bei Orang-Utans vor (DIXSON 1998 b).

2.5 Spermienkonkurrenz

In ihrem Konkurrieren um paarungsbereite Weibchen sind männliche Tiere einer sexuellen Selektion ausgesetzt, die sowohl prä- als auch postkopulatorisch greift.

Mit diesem Phänomen der sexuellen Selektion befasste sich erstmals DARWIN (1871). Er definierte sie darüber, daß ein Individuum einen reproduktiven Vorteil gegenüber Gleichgeschlechtlichen besitzt. Die präkopulatorische Selektion ist durch die direkte

Auseinandersetzung der männlichen Individuen miteinander oder der weiblichen Auswahl von Paarungspartnern gekennzeichnet.

Von einer postkopulatorischen Selektion spricht man nach der vorherrschenden Theorie, wenn die Spermien verschiedener männlicher Individuen um die Möglichkeit der Fertilisation der Oozyten eines Weibchens konkurrieren.

Dieses Phänomen, das auch als Spermienkonkurrenz oder Spermienkompetition bezeichnet wird, ist bei vielen Spezies in den unterschiedlichsten zoologischen Klassen (z.B. Insekten, Vögeln, Säugetieren) nachgewiesen.

Prinzipiell werden unter dem Aspekt der Spermienkompetition nur noch zwischen zwei übergeordneten Gruppen von Paarungssystemen, nämlich dem monandrischen und dem polyandrischen unterschieden, da der entscheidende Faktor ist, welchem Konkurrenzkampf die Spermien beziehungsweise die Ejakulate im weiblichen Organismus ausgesetzt sind.

Erste Hinweise dafür, dass sich monandrische und polyandrische Primatenspezies in ihren Ejakulaten unterscheiden, ergaben sich aus den enormen Unterschieden, die im relativen Hodengewicht (Gewicht der Hoden im Verhältnis zum Körpergewicht) festgestellt werden konnten. So beträgt dieses z. B. beim Schimpanse mit einem polyandrischen Paarungssystem 0,28% und beim Gorilla mit einem monandrischen Paarungssystem 0,017%. Das relative Hodengewicht ist allerdings bei vielen Spezies auch durch das saisonale Paarungsverhalten beeinflusst. Weitaus wichtiger als das relative Hodengewicht ist der Anteil und die Effizienz spermienproduzierenden Gewebes im Hoden. Beides ist bei polyandrischen Spezies höher (DIXSON 1998 b). So konnte z.B. bei den Makaken eine Anteil spermienproduzierender Gewebe von 70% des Hodens festgestellt werden, bei Gibbonspezies liegt dieser knapp über 50%. Darüber hinaus besteht eine positive Korrelation von Spermienproduktionsrate, Spermienreserven und Hodengröße (DIXSON 1998 b).

Nach MØLLER (1988) weisen Männchen, die einer hohen Spermienkompetition unterliegen, höhere Spermienproduktionsraten, mehr motile Spermien und höhere Kopulationsraten auf, um so einen Wettbewerbsvorteil zu besitzen.

PARKER (1993) postuliert einen Einfluß der Spermienkompetition auf die Spermienmenge. In seiner Arbeit wies er nach, daß eine Erhöhung der Ejakulatmasse und damit ein Vorteil im Kampf um die Oozyte nur über größere Spermien möglich ist, da eine noch unbestätigte Limitierung der Spermienanzahl existiert.

JOHNSON und BRISKIE (1999) stellten bei Küstenvögeln einen Zusammenhang zwischen Spermienlänge und Paarungssystem fest. So konnten sie bei monogamen Spezies kürzere Spermienchwänze nachweisen, als bei nichtmonogamen Spezies.

GOMENDIO und ROLDAN (1991) prüften die vorliegenden Hypothesen einer Abhängigkeit von Spermiengröße, Spermienanzahl und Spermienchwimmgeschwindigkeit und Spermienkompetition an Primaten und Nagetieren. Sie nutzten hierfür die Spermienmorphometriedaten von CUMMINS und WOODALL (1985) und fanden bei promiskuen Spezies längere Spermien als bei monandrischen. Zusätzlich stellten sie eine positive Korrelation zwischen Spermienlänge und Spermienchwimmgeschwindigkeit fest. Darüber hinaus sprachen sie längeren Spermien auch bessere Fähigkeiten zum Durchdringen der Oozytenhüllen zu. 1993 fanden GOMENDIO und ROLDAN bei Primaten eine negative Korrelation von Überlebenszeiten der Spermien im weiblichen Genital mit der Spermiengröße. Sie zeigten, daß Spezies, bei denen die Weibchen längere Perioden der Paarungsbereitschaft aufweisen und somit Kopulationen weit vor dem Ovulationszeitpunkt stattfinden können, kürzere Spermien produzieren.

Einige Spezies produzieren eine Vielzahl an morphologisch unterschiedlichen Spermienvarianten, von denen ein Teil nicht zur Fertilisation geeignet ist.

SIVINSKI (1984) sieht die Bildung von Spermien unterschiedlicher Morphologie als Vorteil für den Konkurrenzkampf der Ejakulate in verschiedenen Bereichen des weiblichen Genitals an. Eine mögliche Ursache für morphologisch und in ihrer Fertilisierungskompetenz unterschiedliche Spermien fanden COOK und WEDDELL (1999) bei Schmetterlingen. Bei Schmetterlingsweibchen verzögerte sich die erneute Paarungsbereitschaft, wenn sie ein großvolumiges Spermienpaket von den Männchen bekamen. Diese Verzögerung trat auch ein, wenn das Spermienpaket aus energetischen Vorteilen für das Männchen einen hohen Anteil infertiler Spermien enthielt. JEYENDRAN et al. (1992) stellten in ihren Untersuchungen an humanen Ejakulaten Spermienunterpopulationen mit unterschiedlichen Graden an Fertilisierungspotential fest. Auch HARCOURT (1991) befasste sich mit der Rolle von nichtfertilisierenden Spermien mit einer abweichenden Morphologie bei Säugetieren. Er widerlegte die sogenannte Kamikazespermientheorie, die morphologisch defekt scheinenden Spermien eine Rolle in der Spermienkonkurrenz zuweist, da gerade bei Spezies, die einer hohen Spermienkonkurrenz ausgesetzt sind kaum nichtfertilisierende Spermien auftreten. Er spricht daher nichtfertilisierenden Spermien eine spezielle Funktion ab.

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Tiere, Material und Methoden

3.1.1 Tiere

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden Ejakulate bzw. Samenleiterpunktate von 66 Primaten, aus 14 verschiedenen Spezies, gewonnen.

Im einzelnen verteilten sich die gewonnenen Proben wie folgt auf die verschiedenen Primatenfamilien bzw.- unterfamilien und auf die Analysemöglichkeiten:

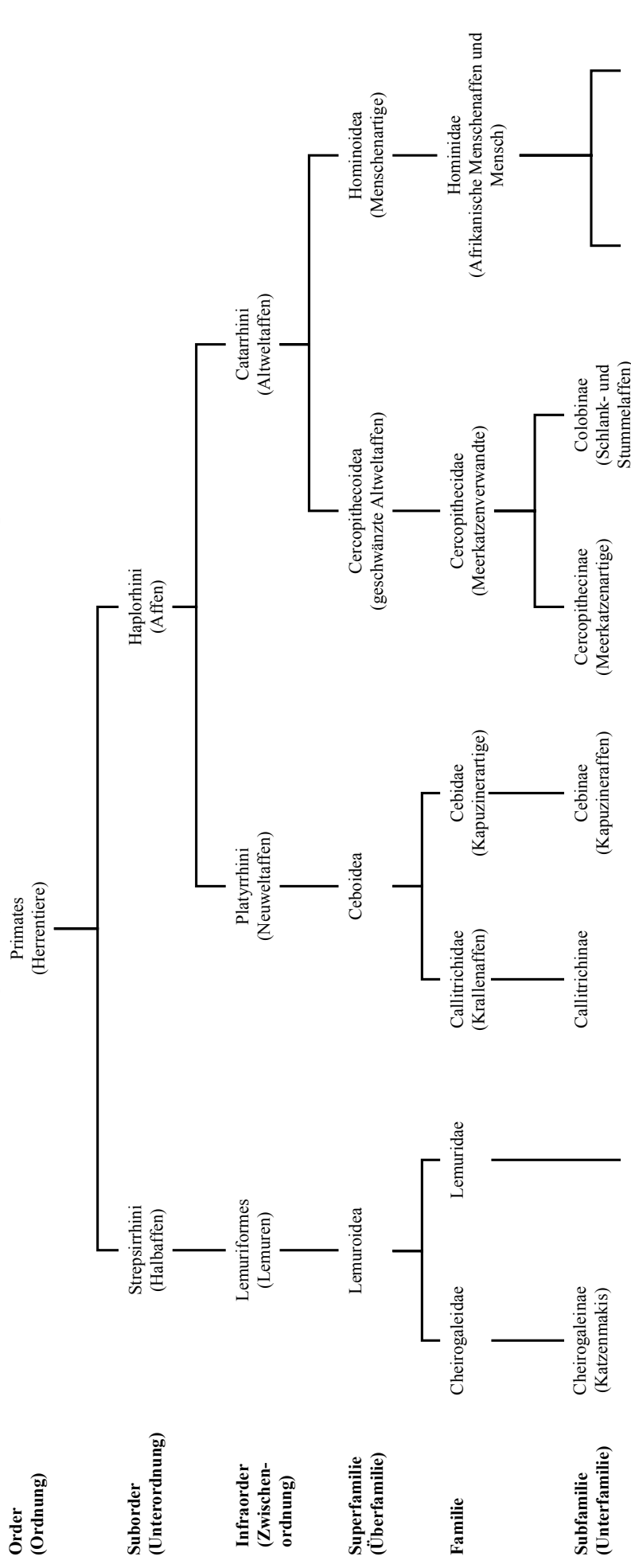
Tabelle 1: Probenherkunft und -nutzung

Familie	Art	Proben für die Analyse der	
		Morphologie	Motilität
Cheirogaleidae	Microcebus murinus	6	5
Lemuridae	Lemur fulvus albifrons	3	3
Callitrichidae	Callithrix jacchus	6	6
	Saguinus oedipus	6	5
Cebidae	Cebus apella	6	1
	Aotus	2	1
	Saimiri	3	3
Cercopithecidae	Macaca tonkeana	6	6
	Macaca fascicularis	6	6
	Papio hamadryas	6	6
	Mandrillus sphinx	6	2
	Semnopithecus entellus	2	2
Hominidae	Pan paniscus	2	1
	Homo sapiens	6	6

Für die Ejakulat- bzw. Samenleiterpunktatgewinnung waren alle Tiere, die in der Studie untersucht wurden, im fortpflanzungsfähigen Alter. Dies variierte je nach Spezies von 2 bis 21 Jahren.

Abhängig von der Einrichtung variierten die Haltungsbedingungen von der Käfigeinzeltaltung bis zur Freigehegegruppenhaltung.

Zoologische Systematik der untersuchten Primatenspezies



Species *Microcebus murinus* **Er**

Microcebus murinus
(grauer Mausmak)

**Eulemur fulvus
albifrons
(brauner Maki)**

Calithrix jacchus
(Weißbüschelaffie)

Cebus apella
(Brauner
Kapuziner)

Macaca tonkeana
(Tonkean Makak)

Sennopithecus
entellus spp
(Hanumanlanguren)

Homo sapiens
(Mensch)

Pan paniscus
(Bonobo)

Sagunus oedipus
(Lisztaffe)

Aotus spp.
(Nachtraffen)

Macaca fascicularis
(Javaneraffe)

in der Untersuchung berücksichtigte Spezies

Abb.8: Zoologische Systematik der untersuchten Spezies

Tabelle 2: Herkunft der untersuchten Tiere

Einrichtung/Herkunftsland	Tiere
DPZ/D	6 Weißbüschelaffen, 6 Lisztaffen, 6 Javaneraffen, 1 Totenkopffaffe
PEI/D	5 Kapuzineraffen
Zoo Antwerpen/B	1 Pavian, 1 Bonobo
Zoo Berlin/D	3 Paviane, 1 Weißkopfmaki, 1 Nachtaffe
Zoo Halle/D	1 Mandrill, 2 Totenkopffaffen
Zoo Wuppertal/D	1 Bonobo
Zoo Krefeld/D	1 Hanumanlangur
Zoo Münster/D	1 Mandrill
Zoo München/D	1 Pavian, 2 Mandrills
Zoo Neuwied/D	2 Weißkopfmakis
Serengetipark Hodenhagen/D	1 Hanumanlangur
La vallee des singes/F	2 Mandrills, 1 Kapuzineraffe
Safari Beekse Bergen/NL	1 Pavian
Universität Tübingen/D	1 Nachtaffe
Primatenzentrum Strasbourg/F	6 Tonkean Makaken
CNRS Brunoy/Paris/F	6 Mausmakis

3.1.2 Spermagewinnung

Die Ejakulatgewinnung bei Primatenspezies ist ein Aspekt mit elementarer Relevanz, um die Möglichkeiten der assistierten Reproduktion zu nutzen. Diese sollen für die stark gefährdeten Spezies eine Lösung zur Arterhaltung zumindest in menschlicher Obhut sein. Bisher gab es nur fragmentarische Erkenntnisse über einen Großteil der Spezies, was die geeignete Form der Ejakulatgewinnung, verschiedene Ejakulatparameter oder auch die Kryokonservierbarkeit der Ejakulate betrifft. Die Spermagewinnung bei Primaten kann mittels zahlreicher Methoden durchgeführt werden. Am gebräuchlichsten ist die Elektroejakulation mit Rektalsonde, jedoch wurden für diese Arbeit noch drei weitere Methoden genutzt.

3.1.2.1 Elektroejakulation mittels Rektalsonde

Für diese Methode wurde ein Elektroejakulator (*Modell 304 der Firma P-T Electronics, Boring, Oregon, USA*) verwendet.

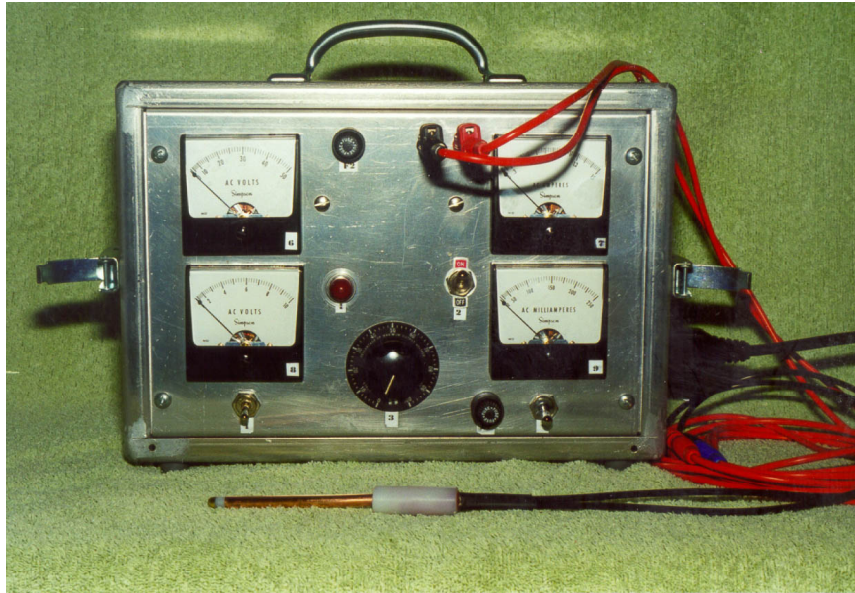


Abb. 9: Elektroejakulator mit kleiner Sonde; links zu sehen die beiden Voltmeter, rechts die Amperemeter, mittig der Drehknopf zur Reizdosierung

Dieses Gerät liefert elektrischen Wechselstrom von 50 Hz mit einer Spannung von 0-50 Volt. Mit Hilfe eines variablen Widerstandes kann die Spannung nach Bedarf reguliert werden.

Die elektrische Spannung (V) wird mit zwei Voltmetern kontrolliert. Diese weisen eine Skala von 0-10V und 0-50V auf. Für die Messung der Stromstärke stehen zwei Amperemeter mit Skalen von 0-250 mA und 0-1,5 A zur Verfügung.

Vor Beginn der Ejakulatgewinnung wurden die Tiere sediert, da ansonsten ein Handhabung der größeren Spezies nicht durchführbar war. Aufgrund verschiedener Literaturangaben (GOULD et al. 1978) und Erfahrungen, die im DPZ gesammelt werden konnten, wurde dabei immer eine Sedation auf Ketaminbasis (10 mg/kg KGW) gewählt (S. Rensing, persönliche Mitteilung Mai 2000), da dieses als assoziatives Anästhetikum eine gute sedative Wirkung aufweist, den Kreislauf der Tiere aber sehr wenig beeinträchtigt.

Allerdings war insgesamt unter Ketaminsedation ein erhöhter Muskeltonus feststellbar. Die geringfügige medikamentell bedingte arterielle Vasodilatation konnte positiv auf die Erektion des Tieres wirken.

Einige Zootierärzte setzten für die Sedation zur Ejakulatgewinnung eine Kombination mit Xylazin (3mg/kg KGW) ein, wobei durch die höhere Muskelrelaxation teilweise Urinkontaminationen auftreten konnten. Darüber hinaus war eine schwächere Erektion feststellbar. Für die Lemurenspezies, die eine erhöhte Exzitationsneigung aufweisen, wurden Kombinationen von Ketamin und Diazepam (0,025mg/Tier) verwendet. Eine Ausnahme von der Sedation auf Ketaminbasis bildeten die Lisztaffen, bei denen ein Alphadolon– Alphaxolon (Saffan®: 0,03 mg/kg KGW; 0,09 mg/kg KGW) Kombinationspräparat, ebenfalls mit Diazepam ergänzt, zum Einsatz kam. Mit dieser Kombination war eine tiefe und exzitationsarme Sedation erzielbar.

Bei sämtlichen Arbeitsschritten am Tier und an den Ejakulaten wurden aus hygienischen Gründen und um eine Kontamination der Proben zu vermeiden Einmalhandschuhe getragen. Sobald sich das Tier in einer stabilen Sedation befand, wurde es auf die Seite gelegt. Ein Helfer beobachtete den Kopfbereich des Tieres und fixierte bei starker Muskelreaktion die Vordergliedmaßen.

Ein zweiter Helfer stand an der Vorderseite des Tieres, reinigte den Penis und fixierte ihn zwischen den Fingern. Weiterhin hielt er ein auf 37 °C vorgewärmtes Tulpenglas bzw. Auffanggefäß, um die Ejakulate aufzufangen.

Koagulumstränge, die sich in der Urethra befanden, wurden mit einer Pinzette entfernt. Die mit Gleitgel eingeriebene Sonde wurde in das Rektum eingeführt. Für die Ejakulatgewinnung standen Rektalsonden (siehe **Abb. 10**) mit verschiedenen Durchmessern und Elektrodenformen zur Verfügung.

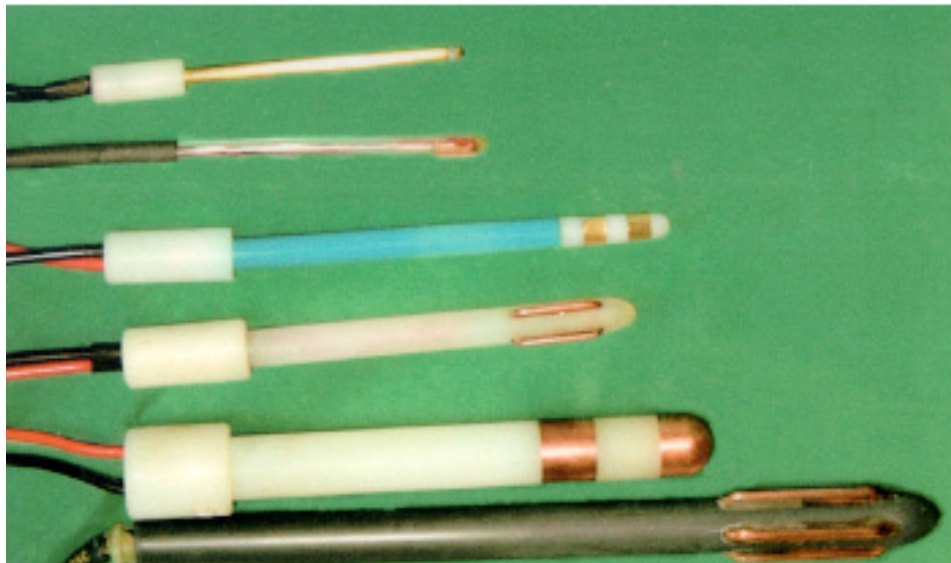


Abb. 10: Verschiedene zur Elektroejakulation bei nichtmenschlichen Primaten eingesetzte Rektalsonden mit unterschiedlichen Elektrodenformen (Längs- und Ringelektroden)

Tabelle 3: Rektalsonden und ihre Maße

Sondenart	Länge	Durchmesser	Elektrodenform
Krallenaffensonde (nach Schneiders*)	95 mm	4 mm	Ring
Mausmakisonde (nach Schneiders*)	64 mm	3 mm	Longitudinal
Kleine Münstersonde (nach Schneiders*)	153 mm	8 mm	Ring
Kapuzinersonde (nach Schneiders*)	144 mm	11 mm	Longitudinal
Münstersonde Makaken (nach Schneiders*)	167 mm	17,5 mm	Ring
Makakensonde (nach PLATZ 1980**)	240 mm	16,5 mm	Longitudinal

* im Rahmen eines Promotionsvorhabens von Schneiders gebaut

** kommerziell erhältlich bei P-T Electronics, USA

Die Sonden mit Ringelektroden wurden so tief eingeführt, daß die zweite Elektrode komplett von der Anusmuskulatur bedeckt war, damit ein geschlossener Stromkreis zustande kam. Die Sonden mit Longitudinalelektroden werden mit den Elektroden nach ventral liegend rektal eingeführt. Nach der Positionierung der Sonde wurde ein Impuls von 4V über 5 Sekunden gegeben, um anhand der folgenden muskulären und erektilen Reaktion festzustellen, wie der Reiz für jedes Tier individuell variiert werden mußte.

Danach wurde eine erste Reizstaffel von bis zu 10 Impulsen von je 5 Sekunden Länge gesetzt.

Tabelle 4: Durchschnittliche Reizstärken bei den untersuchten Spezies

Spezies	Optimale Reizintensität
Mausmaki	4-5 Volt
Weißkopfmaki	5 Volt
Lisztaffe	7 Volt
Nachtaffe	6 Volt
Kapuziner	6 Volt
Totenkopfaaffe	4 Volt
Tonkean Makake	6 Volt
Javaneraffe	6-7 Volt
Pavian	6-8 Volt
Mandrill	6 Volt
Hanumanlangur	2-4 Volt

Wenn die Ejakulation in dieser Zeit ausblieb, wurde nach einer dreiminütigen Pause die Vorgehensweise mit einer um ein Volt erhöhten Spannung wiederholt. Um eine Schädigung des Gewebes zu vermeiden, war die Stromstärke in keinem Ejakulatgewinnungsversuch größer als 30 mA. Sofern die sedierten Tiere einen stabilen Kreislauf aufwiesen und noch kein Ejakulat gewonnen werden konnte, wurde nach einer fünfminütigen Pause eine dritte Impulsgebungsreihe durchgeführt.

Nach der Ejakulatgewinnung wurde der Samenstrang manuell vom caudalen Ansatz des Septum scroti bis zur Glans penis hin vorsichtig ausmassiert, um noch evtl. vorhandene Ejakulatanteile zur Analyse nutzen zu können. Bei sehr geringem Probenvolumen und schnell koagulierenden Ejakulaten wurde das Tulpenglas vorab mit 50 µl Tyrodes- Laktat (TL) Medium (siehe Anhang) bestückt um ein Koagulieren zu verlangsamen bzw. ein Austrocknen der Probe zu verhindern und somit eine Analyse zu ermöglichen.

Weiterhin wurde das Tulpenglas, zur Verhinderung der Austrocknung, mit Parafilm verschlossen und umgehend in einen Wärmeblock verbracht. Nach Abschluß der Stimulation wurde das Probenmaterial zur Auswertung überführt.

3.1.2.2 Penile Vibrostimulation

Diese Möglichkeit der Ejakulatgewinnung wurde ausschließlich bei den Weißbüschelaffen genutzt.

Die penile Vibrostimulation (PVS) erfolgte mit Hilfe eines Vibrators (*FertiCare® personal, Multicept ApS, Rungsted, Denmark*) und von Glasröhrchen verschiedener Durchmesser (5 mm und 6 mm).



Abb. 11: Weißbüschelaffe bei der penilen Vibrostimulation, modifizierter Vibrator mit aufgesetztem Glasröhrchen

Eine Sedation der Tiere ist für diese Form der Ejakulatgewinnung nicht erforderlich. Die Tiere wurden lediglich an die Handhabung durch Menschen gewöhnt und einen Tag vor der Gewinnung von ihren Partnern separiert um zu verhindern, daß es kurz vor der geplanten Ejakulatgewinnung zum Deckakt kam.

Zur Ejakulatgewinnung wurden die Weißbüschelaffen von einer ihnen bekannten Person gefangen, um Streß und Ablenkungsmöglichkeiten zu minimieren. Danach wurden sie in einen abgedunkelten Raum gebracht und mit dem Oberkörper fixiert, so daß der Unterleib des Tieres zugänglich war (KÜDERLING et al. 2000).

Eine zweite Person reinigte den Penis sowie den gesamten Genitalbereich. Danach wurde die Stimulation mit einer Frequenz von 80 Hz und 1,0 mm horizontaler Auslenkung begonnen.

Erfolgte keine Ejakulatabgabe, wurde die Reizstärke in Form von Hertzzahl und Auslenkung langsam bis 100 Hz und 2 mm erhöht. Nach jeweils vier Stimulationen wurde eine dreiminütige Pause eingelegt (Schneiders, A., persönliche Mitteilung April 2000).

Die Reize wurden jeweils für eine Dauer von 30 Sekunden gesetzt. Die Probe wurde in dem zur Stimulation genutzten Röhrchen aufgefangen (**Abb. 11**), welches mit Parafilm verschlossen und in einem Wärmeblock für die Analyse aufbewahrt wurde.

3.1.2.3 Masturbation

Mittels Masturbation konnten die Samenproben bei Primaten aus der Familie der Hominidae gewonnen werden. Entweder wurden die Ejakulate direkt in Gefäße abgegeben oder im Fall des Bonobo vom Käfigboden bzw. der Hand des Tieres in ein Gefäß überführt. Die Gefäße wurden mit Parafilm verschlossen und das Probenmaterial umgehend der Analyse zugeführt.

3.1.2.4 Punktion des Ductus deferens

Diese Form der Spermengewinnung wurde genutzt, wenn es sich um zu kastrierende oder zu euthanasierende Tiere handelte, bei denen zuvor kein Ejakulat mit den unter 3.1.2.1, 3.1.2.2 und 3.1.2.3 beschriebenen Methoden gewonnen werden konnte.

Der Ductus deferens wurde aus dem Processus vaginalis herauspräpariert und von allen umgebenden Geweben und Gefäßen befreit. Für diesen Vorgang wurde auf eine Iridektomieschere und Fadenpinzetten zurückgegriffen. Der vorliegende Teil des Samenstranges wurde mit Hilfe einer Fadenpinzette fixiert. Mit einer zweiten Fadenpinzette wurden die Spermien herausmassiert und anschließend mit 50 µl Tyrodes- Laktat Medium verdünnt.

3.1.3 Spermabeurteilung

Die Spermabeurteilung erfolgte mit den klassischen Methoden der Spermatologie und zusätzlich computerunterstützt mit Hilfe eines Hobson Sperm Trackers (HST) (MORRELL 1997) und der Hobson Sperm Morphology Software (HSM).

Die Motilitätsanalyse wurde in einem Zeitrahmen von maximal 25 Minuten nach der Probengewinnung vorgenommen.

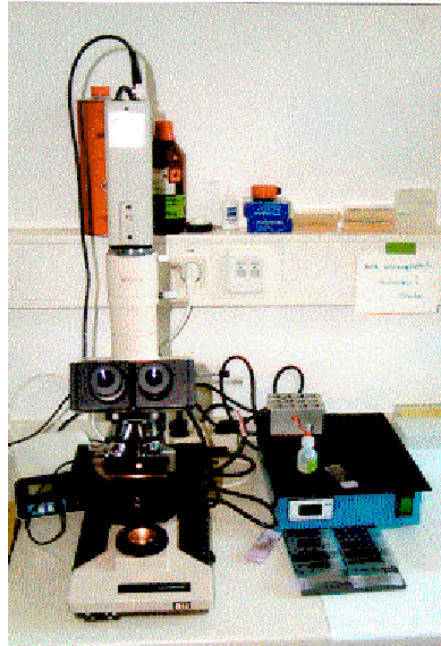


Abb. 12: Mikroskoparbeitsplatz mit Wärmeplatte und Wärmetisch, Mikroskop mit Kamera

3.1.3.1 Spermienmotilität

Sämtliche für die Motilitätsanalyse genutzten Materialien (Objektträger, Deckgläschen, Thoma-Zellzählkammern, Eppendorfgeläße (1 ml) aus Kunststoff, TL-Medium) wurden auf 37°C vorgewärmt.

Anhand einer 5 µl Teilprobe erfolgte zunächst eine subjektive Beurteilung der Spermienkonzentration und -motilität.

Dies war erforderlich, da der HST Samenproben mit einer Dichte größer 5 Mio. Spermien/ ml nicht analysieren kann. Bei solchen Spermienkonzentrationen traten Kollisionen der Spermien und somit Veränderungen der Motilität auf.

Diese Proben (exklusive Proben von Aotus) wurden mit TL- Medium verdünnt. Jeweils 10 µl einer Probe wurden für die Motilitätsanalyse in eine Zählkammer überführt. Die Zählkammer wurde auf den Wärmetisch (*Linkam CO60*) des Mikroskops (*Olympus BH-2*) gelegt. Die Motilitätsanalyse wurde mit dem HST Mit 100 facher Vergrößerung im Dunkelfeld durchgeführt.

Der HST erkennt Spermien über den Umriss des Spermienkopfes. Die vom Hersteller gelieferte Erkennung ist auf Humanspermien ausgelegt und durch die geringen Unterschiede (Kopflänge 4,3- 6,2 µm; Kopfbreite 2,8- 4,2 µm, Verhältnis Kopfbreite: Kopflänge 1,4- 1,6) auch für andere Primaten anwendbar. Vor einer Analyse kann im Automodus eine Überprüfung der Erkennung erfolgen. Eine Kontrolle der angegebenen Distanzen ist mit Hilfe einer geeichten Zählkammer möglich.

Bei der Analyse wurde das im Mikroskop sichtbare Feld über eine Kamera (*Sony CCD-Iris Hyper Had Model SPT-M108CE*) an einen Videorecorder übertragen. Die Bilddaten wurden an den HST weitergeleitet und von diesem automatisch ausgewertet.

Der HST arbeitet, indem die Spermienbilder, die in einzelne Pixel (Bildpunkte) aufgegliedert werden, in elektrische Impulse umgesetzt werden. So wird Bild für Bild digitalisiert (50 pro Sekunde). In jedem Bild wird ein Objektmittelpunkt und von Bild zu Bild die Strecken zwischen diesen Mittelpunkten bestimmt. Anhand dieser Daten konnten die entsprechenden Motilitätsparameter berechnet werden (BOYERS et al. 1989).

Auf zwei Bildschirmen war zum einen der Analysevorgang zu verfolgen, zum anderen wurde der im Mikroskop sichtbare Ausschnitt übertragen (siehe **Abb. 13**).



Abb. 13: Laborarbeitsplatz mit HST während der Motilitätsanalyse

Vorab muß eine Festlegung der Analyselimits erfolgen, d.h. ob über einen begrenzten Zeitraum oder eine bestimmte Anzahl an Spermien analysiert werden soll.

Des weiteren mußte der Erkennungsmodus für unbewegliche Spermien überprüft werden. Dieser arbeitet über die Spermienkopfform und -größe, die bei den Primatenspezies nur geringe Unterschiede aufweist. Dadurch unterscheidet der HST immotile Spermien von Debris. Auch für die Erkennungsparameter Suchradius, Meßfrequenz, Mindestverweilzeit im Analysefeld müssen die vorgegebenen Werte für menschliche Spermien ($10\mu\text{m}/50\text{ Hz}/1,1\text{ sec}$) eventuell abgeändert werden.

Zur Motilitätsanalyse wurden von jeweils 300 Spermien pro Ejakulat die Parameter kurvilineare Geschwindigkeit (*VCL*, *Curvilinear velocity* = Geschwindigkeit der gesamten zurückgelegten Strecke inklusive aller Abweichungen der Kopfbewegung) (siehe **Abb. 14**) und lineare Geschwindigkeit (*VSL*, *Straight-line velocity* = Geschwindigkeit auf einer geraden Linie zwischen dem Anfangs- und Endpunkt des vom Spermium zurückgelegten Weges), bestimmt. Als zusätzliche, die Motilität näher beschreibende, Parameter wurden weiterhin die Beat cross frequency (*BCF* = Frequenz, mit welcher sich der Spermenschwanz bewegt) und die Linearität (*LIN*) angegeben. Die Linearität des tatsächlichen Weges errechnet

sich aus dem Verhältnis von VSL zu VCL $((VSL/VCL)*100)$ und wird in Prozent angegeben (HOLT et al. 1996; BOYERS et al. 1989).

Darüber hinaus wurde mit dem HST der Prozentsatz motiler Spermien bestimmt und anhand der Ergebnisse eine Spermienklassifizierung gemäß der WHO Motilitätseinteilung für humane Spermien vorgenommen.

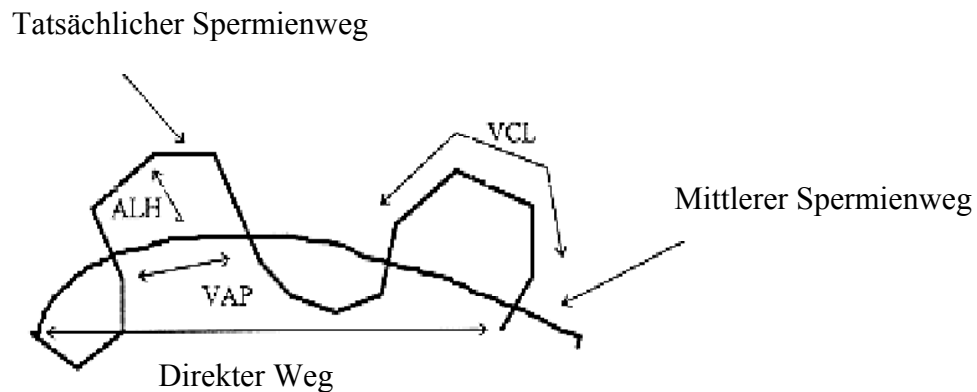


Abb. 14: Darstellung der mittels Hobson Sperm Tracker gemessenen Geschwindigkeiten; kurvilineare (VCL), geradlinige (VSL) und durchschnittliche (VAP) Geschwindigkeit (Zeichnung nach BOYERS et al. 1989)

Es erfolgte eine Unterteilung in vier Kategorien A-D, wobei A die schnell vorwärts beweglichen Spermien beinhaltete, B die langsam oder träge vorwärts beweglichen, C umfaßte die nicht vorwärts beweglichen und D die immotilen Spermien (WHO, 1992). Für die Analyse wurden 6-8 verschiedene Blickfelder der Zählkammer ausgewählt.

3.1.3.2 Klassische Methoden

Es wurden hierbei makroskopisch die Kriterien Masse der Proben, Aussehen hinsichtlich Farbe und Konsistenz bestimmt. Die Proben wurden gewogen, da bei einer ausschließlichen Volumenbestimmung das Koagulum nur unzureichend mitberücksichtigt werden konnte. Mikroskopisch erfolgte eine Spermienkonzentrations- und Farbabsorptionsbestimmung (WEITZE 2001).

Die Morphologie wurde mit der Morphometrie gemeinsam bestimmt.

Auf der Motilitätsanalyse aufbauend wurde eine Verdünnung für die Dichtebestimmung gewählt. Die Spermien wurden hierbei mit destilliertem Wasser verdünnt und somit in einen immotilen Zustand überführt.

Für die Bestimmung wurde eine Neubauer Zählkammer mit je 10 µl Probenmaterial bestückt. Nach einer 5 minütigen Sedimentationszeit wurden je nach Dichte der Probe zwischen 160 und 512 Kleinstquadrate ausgezählt und die Anzahl Spermien pro Gramm nach der Formel:

$$\frac{(\text{Anzahl Spermien in den ausgezählten Quadraten} * \text{Verdünnungsfaktor} * 4000)}{\text{Anzahl der ausgezählten Kleinstquadrate}} * 1000$$

Faktor 4000, da die Zählkammer 0,1 mm tief ist und die Kleinstquadrate eine Fläche von 0,0025 mm² haben

Faktor 1000, um von mg auf g zu kommen

berechnet. Zusätzlich konnte so auch die Gesamtspermienzahl der Samenprobe errechnet werden. Für die Bestimmung des Anteils lebender Spermien wurde eine Supravitalfärbung angefertigt bei welcher 5 µl Eosin (2 %) und 5 µl Probe auf einem Objektträger gemischt wurden. Der Tropfen wurde mit der scharfen Kante eines zweiten Objektträgers verstrichen. Die Spermien mit intakter Plasmamembran behielten eine weiße Kopffarbe, wohingegen die defekten die rote Farbe des Eosins annahmen (**Abb. 15**).

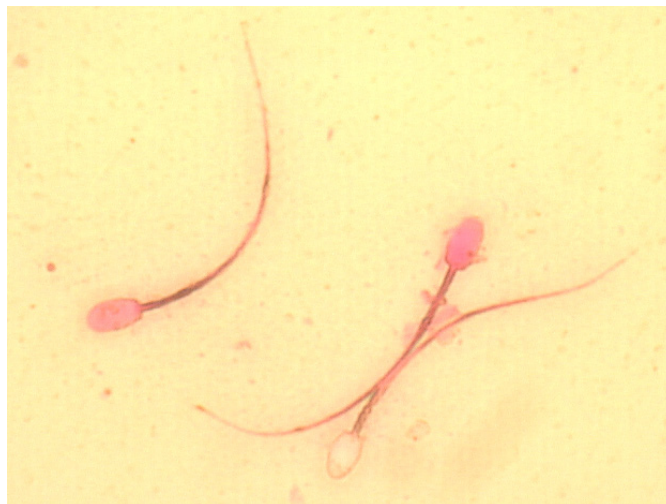


Abb. 15: Spermien eines braunen Makis (*Eulemur fulvus albifrons*); zwei Spermienköpfe zeigen die Rotfärbung durch Eosin, Vergrößerung 400 fach

3.1.3.3 Spermienmorphologie und -morphometrie

Als nächster Schritt wurden Ausstriche für die morphologische und morphometrische Auswertung angefertigt.

Diese wurden für einen Tag bis maximal drei Tage trocken aufbewahrt (dies richtete sich nach der Dauer und Örtlichkeit der Probenentnahmen) und dann mit der für Spermien modifizierten Färbung nach Papanicolaou (gem. *WHO-Handbuch, Anhang V A*; siehe *Anhang*) angefärbt. Hierfür wurden kommerziell erhältliche Färbesubstanzen (*Sigma Diagnostics*) verwendet. Die Ausstriche wurden nach der Färbung mit einem Einschlussmittel für histologische Schnitte (Depex, DPX, *Fluka Chemie AG*) eingedeckelt und morphologisch und morphometrisch ausgewertet.

3.1.3.3.1 Spermienmorphologie

Für die morphologische Analyse wurden 200 Spermien je Samenprobe nach pathologischen Veränderungen untersucht. Dafür wurde eine 600 fache Vergrößerung genutzt.

Es wurde hierbei eine Klassifizierung in normal ausgebildete und pathologisch geformte Spermien vorgenommen, wobei die normal ausgebildeten als Veränderung den Zytoplasmatropfen aufweisen konnten und die pathologisch geformten in Kopfveränderungen und Schwanzveränderungen unterteilt wurden (LEIDL et al. 1971). Es wurde des weiteren eine genauere Spezifizierung der Defekte vorgenommen. Die pathologischen Befunde waren Halsbrüche, Kopfdeformationen, Schwanzbrüche, Schwanzaufrollungen, Schwanzknickungen, Doppelmißbildungen und zytoplasmatische Tropfen.

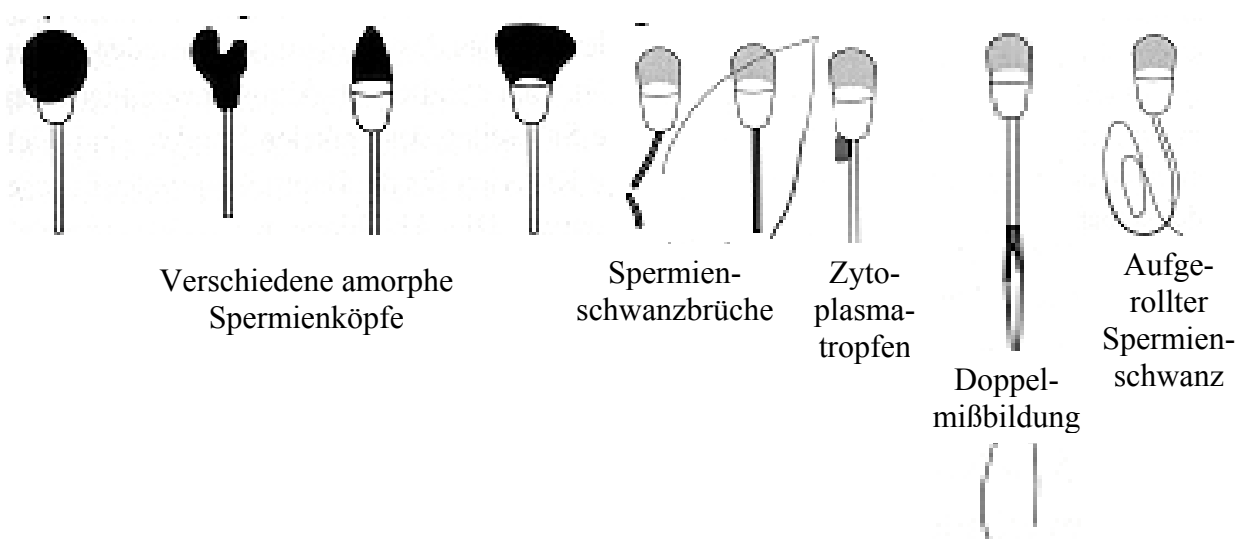


Abb.16: Schemazeichnungen morphologischer Spermienabweichungen (WEITZE 2001)

3.1.3.3.2 Spermienmorphometrie

Morphometrisch wurden jeweils 200 Spermien pro Individuum mit der Hobson Morphology Software (HMS) automatisiert vermessen. Die HMS arbeitet mit den Hell- Dunkel Kontrasten der nach Papanicolaou gefärbten Ausstriche. Die Spermienköpfe wurden anhand eines Ringes von Vermessungspunkten, der die Grenzen des Spermienkopfes markiert, und eines in den Kopf gelegten Koordinatenkreuzes nach Länge und Breite automatisch vermessen.

Darüber hinaus wurde der Umriß des Spermienkopfes mit dem der humanen Spermien verglichen. Die Spermienchwänze wurden soweit automatisch gemessen, wie ein sehr deutlicher Kontrast feststellbar war.

Mit Hilfe dieses Programmes wurden die Spermienparameter Kopfform, Kopflänge und –breite, das Verhältnis Kopflänge zu Kopfbreite, Schwanzlänge und Totallänge bestimmt, wobei die Werte Kopfbreite (Kopflänge/Verhältnis Kopflänge zu Kopfbreite) und Totallänge (Kopflänge +Schwanzlänge) errechnet wurden.

Eine Überprüfung der angegebenen Meßleiste erfolgte mit einer geeichten Zählkammer.

Eine Validierung der Hobson Morphology Software erfolgte durch eine erneute Messung von je 50 Spermien pro Spezies mit Hilfe eines Mikroskops (*Axiophot Zeiss*) und dem Open Lab System (Bildbearbeitungssystem, Improvision, Ltd.). Hierbei wurde das Bild der Spermien mit einer Farbkamera (MTI, Modell 3CCD) auf einen Computerbildschirm übertragen und konnte dort bei 400 facher Vergrößerung exakt vermessen werden. Die Messung der Parameter Kopflänge und –breite und Schwanzlänge erfolgte im Gegensatz zur HSM manuell.

Auch bei diesem Verfahren wurde die Meßleiste mit einer geeichten Zählkammer validiert. Der Spermienkopf wurde vom Ansatzpunkt des Spermienchwanzes bis zur Kopfspitze, der Spermienchwanz vom distalen Kopfende bis zum Spermienchwanzende, jeweils den Windungen folgend, vermessen.

3.1.4 Statistische Auswertung

Die in den Tabellen und im Text angegebenen Mittelwerte beziehen sich auf das arithmetische Mittel \pm der durchschnittlichen Standardabweichung der dargestellten Werte (Wertung n-1).

Die weitere statistische Auswertung der Kombinationsdaten erfolgte mit dem Softwareprogramm „Sigma Stat 2“ der Firma Jandel Scientific Software.

Hierbei erfolgte zum einen mit Hilfe des Mann-Whitney U-Tests die Überprüfung, ob zwei unabhängige Stichproben denselben Median aufweisen. Von diesen Tests wurden die Stichprobengrößen (N), die Prüfgröße (U) und das Signifikanzniveau (p) aufgeführt.

Zur statistischen Überprüfung der Abhängigkeit zweier Datenreihen voneinander wurde der Spearman Rang-Korrelationskoeffizient verwendet. Hierbei wurden der Korrelationskoeffizient (r) und das Signifikanzniveau (p) bzw. signifikant oder nicht signifikant angegeben.

3.2 Ergebnisse

Der folgende Ergebnisteil ist in fünf Abschnitte 3.2.1 bis 3.2.5 gegliedert. Der erste Abschnitt enthält die Darstellung der Ergebnisse der Ejakulat- und Punktatgewinnung und der makroskopischen und physikalischen Ejakulatparameter. Im anschließenden zweiten Teil werden die Ergebnisse der mikroskopischen Ejakulat- und Spermienuntersuchung zusammengeführt. Der dritte Teil stellt die Erhebung der kinematischen Spermienparameter dar. Im vorletzten Teil werden die Informationen von den Vermessungen der einzelnen Spermienelemente aufgeführt. Im abschließenden fünften Abschnitt werden die Einzelergebnisse kombiniert und in Bezug auf die Paarungssysteme betrachtet.

3.2.1 Ejakulat- und Samenleiterpunktatgewinnung, makroskopische und physikalische Ejakulatparameter

Die Samenproben der 66 Primaten wurden mit vier verschiedenen Methoden (Elektroejakulation, PVS, Masturbation, Samenleiterpunktion) gewonnen. So konnte der Hauptanteil der Proben ($n = 41$) mit Hilfe der rektalen Elektroejakulation gewonnen werden. Das Ansprechen der Tiere auf die elektrische Reizung war individuell sehr unterschiedlich. Die korrekte Lage der Sonde wurde anhand einer beginnenden Erektion des Penis festgemacht.

Häufig trat als unerwünschter Effekt eine sehr starke Kontraktion der Hintergliedmaßen auf, wobei eine Bewegung des Rumpfes selten auftrat. Die individuelle Reaktion auf die elektrischen Impulse und die Dauer bis zur Abgabe eines Ejakulates waren sehr unterschiedlich. Bei einigen Tieren trat die Ejakulation innerhalb des ersten Intervalls der Stimulationsphase auf. Andere Tiere zeigten nach wenigen Impulsen eine derart starke Kreislaufbeeinträchtigung (z.B. stark heraufgesetzte Atem- und Herzfrequenz), daß der Elektroejakulationsversuch beendet werden mußte.

Grundsätzlich sprachen alle Spezies besser auf den Reiz an, wenn nach dem ersten Auftreten von Ejakulatanteilen eine etwa dreiminütige Pause eingelegt wurde. Häufig war in den anschließenden drei Stimulationen ein gut auswertbares und qualitativ hochwertiges Ejakulat zu gewinnen.

Von Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*) konnten 6 Proben mittels der penilen Vibrostimulation gewonnen werden. Hierbei sprachen die unsedierten Tiere unterschiedlich auf die Stimulation an. So reagierten einige bereits innerhalb der ersten Stimulationsstufen (je 30 s Länge, mit unterschiedlichen Intensitäten), so daß ein auswertbares Ejakulat in weniger als 2 Minuten gewonnen werden konnte. Auch hier wurde nach je 4 Stimulationsstufen eine etwa dreiminütige Pause eingelegt. Andere Probanden benötigten sehr viel stärkere Stimulationen und ein Weißbüschelaffe (*Callithrix jacchus*) zeigte ein klares Abwehrverhalten, was zum Abbruch des Versuches führte.

Durch Masturbation konnten insgesamt 7 Proben gewonnen werden. Dabei handelte es sich um die menschlichen Spermienproben. Zusätzlich dazu wurde auch das Ejakulat eines Bonobos (*Pan paniscus*) durch Masturbation gewonnen.

12 weitere Samenproben wurden durch Präparation und Punktion des Samenleiters gewonnen. Vor allem bei sehr kleinen Spezies ergab sich die Problematik, alle Blutgefäße sauber von den benötigten Strukturen zu entfernen, um eine Kontamination der Spermien mit Blut und damit eine Einschränkung der Spermienmotilität zu verhindern.

Im Vergleich der verschiedenen Gewinnungsmethoden waren nicht nur Unterschiede in den Ejakulatparametern zu verzeichnen, sondern auch eine Beeinflussung anderer Faktoren, wie zum Beispiel die Erfolgsquote bei der Gewinnung auswertbarer Samenproben.

Letztere war vor allem für die Elektroejakulation zwischen den Spezies höchst variabel. Von 6 zur Elektroejakulation genutzten Nachtaffen (*Aotus*) konnte nur eine Probe komplett analysiert werden (Motilität- und Morphometrieanalyse). Bei den Pavianen (*Papio hamadryas*) hingegen waren aus 7 Ejakulatgewinnungsversuchen 6 Ejakulate vollständig nutzbar.

Bei der Ejakulatgewinnung durch die penile Vibrostimulation lagen die Erfolgsquoten bei circa 80%. Alle der durch Masturbation gewonnenen menschlichen Proben konnten einer kompletten Analyse zugeführt werden. Ebenso verhielt es sich mit dem Ejakulat des Bonobos. Bei der Präparation und Punktion der Samenleiter wurden in fast allen Fällen zumindest morphologisch und morphometrisch verwertbare Punktate gewonnen. Bei Organen, die bereits länger als etwa 2 Stunden aus den Tierkörpern entfernt waren, und bei Tieren die

bereits vor mehr als 8 Stunden verstorben waren, konnten keine Spermienmotilitätsanalysen mehr durchgeführt werden.

Tabelle 5: Masse und Spermienkonzentration der Ejakulate, Lebend- Tot Verhältnis der Spermien (bis auf Aotus spp. und Pan paniscus alles Mittelwerte) und Ejakulatgewinnungsmethode (n= 1-6)

Spezies	Masse der Proben in mg	Spermienkonzentration der Proben in Anzahl / g	Anteil lebender Spermien in %	Anteil toter Spermien in %	Ejakulatgewinnungsmethode
Microcebus murinus	64,8	6.790.000	66,17	33,83	EE
Eulemur fulvus albifrons	379,3	69.900.000	76,33	23,67	EE
Saguinus oedipus	28,9	218.000.000	77,2	22,8	EE
Callithrix jacchus	40	218.000.000	57,9	42,1	PVS
Saimiri sciureus	89,7	14.700.000	70,7	29,3	EE
Aotus spp.	27	2.900.000	37	63	EE
Macaca fascicularis	478,9	538.000.000	73,5	26,5	EE
Papio hamadryas	956,7	95.200.000	81,75	18,25	EE
Mandrillus sphinx	1189	46.300.000	79,5	20,5	EE
Semnopithecus entellus	178	51.000.000	73	27	EE
Pan paniscus	630	228.000.000	93	7	MS
Homo sapiens	2750	154.000.000	80,5	19,5	MS

(EE= Elektroejakulation, PVS= Penile Vibrostimulation, MS= Masturbation)

Die Masse der gewonnenen Ejakulate unterschied sich enorm (siehe **Tabelle 5**). In den Absolutwerten war dies bedingt durch die unterschiedliche Körpergröße der Tiere und die Gewinnungsmethode. Allerdings ist der Anteil der Ejakulatmasse im Verhältnis zum Körpergewicht (siehe **Tabelle 6**) vor allem bei den kleineren Spezies, im speziellen beim Mausmaki, höher. Um diese Ergebnisse zu veranschaulichen müsste ein Mensch mit 73 kg Körpergewicht anstatt durchschnittlich 2,75 g Ejakulat eine Ejakulatmasse von 62,5 g produzieren, um einen dem Mausmaki vergleichbaren, relativen Wert zu erreichen.

Bei der Elektroejakulation war entscheidend, ob und wie intensiv eine Reizung der Prostata und der weiteren akzessorischen Geschlechtsdrüsen erreicht wurde. Je nach Stärke der Reizung konnten unterschiedlich große Mengen an Seminalplasma gewonnen werden.

Tabelle 6: Promilleanteil der Ejakulatmasse in mg am Körpergewicht in g (bis auf Aotus spp. und Pan paniscus alles Mittelwerte) (n= 1-6)

Spezies	Masse der Proben in mg	Durchschnittliches Körpergewicht in g	Anteil des Ejakulates am Körpergewicht in Promille
Microcebus murinus	64,8	75,6	0,86
Eulemur fulvus albifrons	379,3	2200	0,17
Saguinus oedipus	28,9	580	0,05
Callithrix jacchus	40	328	0,12
Saimiri sciureus	89,7	830	0,11
Aotus spp.	27	905	0,03
Macaca fascicularis	478,9	6480	0,07
Papio hamadryas	956,7	27330	0,04
Mandrillus sphinx	1189	26250	0,05
Semnopithecus entellus	178	8730	0,02
Pan paniscus	630	32000	0,02
Homo sapiens	2750	73000	0,04

Grundsätzlich ließ sich bei der Elektroejakulation nicht sicher feststellen, ob ein komplettes Ejakulat oder nur einzelne Fraktionen davon gewonnen wurden.

Massenmäßig die kleinsten Proben wurden bei der Punktion des Samenleiters gewonnen. Die Samenleiterpunktate wurden bei den Parametern Ejakulatmasse, Ejakulatdichte und Lebend-Totfärbung in den Tabelle 5 und 6 nicht berücksichtigt, da diese hochkonzentrierten Proben in Nährmedium suspendiert werden mußten.

Die für eine vollständige Analyse (Motilität, Morphologie, Morphometrie und Lebend-Totfärbung) benötigte Mindestmenge an Ejakulat oder Punktatsuspension waren 20 µl. Dazu konnten sowohl reine Samenproben, als auch verdünnte Proben genutzt werden.

Interindividuell sehr unterschiedliche Ergebnisse konnten in den Parametern Homogenität der Ejakulate, Auftreten von Koagulum und Anteil des Koagulums am Gesamtejakulat festgestellt werden. Nur in den aus den Samenleitern gewonnenen Punktaten war kein Koagulum erkennbar. Die Spermien lagen ohne akzessorische Sekrete und nur mit Nährmedium vor, daher war eine Koagulation der Probe nicht möglich. Bei allen anderen Samenproben, die

durch Elektroejakulation, PVS oder Masturbation gewonnen wurden, waren die Ejakulate heterogen, das heißt unterschiedlich große prozentuale Anteile lagen in fester, koagulierter Form oder in flüssiger Form vor. Der koagulierte Anteil am Gesamtejakulat variierte zwischen 5-100%, wobei die Ejakulate einzelner Spezies zu einer stärkeren Koagulation neigten.

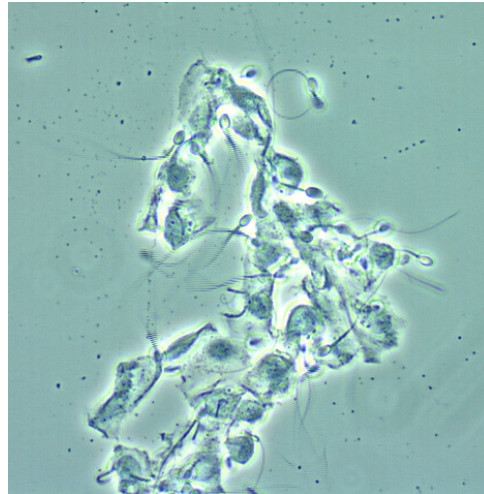


Abb.17: Mikroskopisch erkennbare Koagulumplatten mit eingeschlossenen Spermien, aus dem Ejakulat eines Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*), Vergrößerung 400 fach, nativ

Zum Beispiel wurden bei den Halbaffenspezies Ejakulate gewonnen, die zum überwiegenden Teil bis komplett koaguliert waren. Bei anderen Spezies waren teilweise nur mikroskopisch Koagulumplatten feststellbar (siehe **Abb. 17**).

Die Konsistenz makroskopischer Koagula war überwiegend solide und nicht wieder zu verflüssigen. Nur bei den Ejakulaten des Bonobo und der Menschen trat nach etwa 30-60 min eine vollständige Verflüssigung des gelatinösen Koagulums ein.

Des weiteren konnte das Auftreten von Koagulum zu verschiedenen Phasen der Ejakulation festgestellt werden. So waren teilweise bereits in der Urethra solide Koagulumstränge vorhanden (vor allem bei den Mausmakis (*Microcebus murinus*)), die mit Hilfe einer Pinzette entfernt werden mußten. Andere Ejakulate konnten vollständig flüssig gewonnen werden, verfestigten sich aber innerhalb weniger Minuten zu einem nicht mehr lösbaren Strang (bei braunen Makis (*Eulemur fulvus albifrons*)).

Die Farbe der Ejakulate variierte zwischen fast klar bis milchig. Milchig konnte als Anzeichen für eine hohe Zellzahl angesehen werden, allerdings waren es nicht immer Spermien, die diese Färbung hervorriefen, sondern teilweise auch abgeschilferte

Epithelzellen. Bei einer leichten Gelbefärbung konnte mit Hilfe einer Geruchsprobe das Vorhandensein von Urin festgestellt werden. Diese Proben waren für die Spermienmotilitätsanalyse nicht weiter nutzbar, da innerhalb weniger Minuten kein motiles Spermium mehr aufzufinden war. Die Spermienkonzentration der Proben insgesamt war sehr unterschiedlich (siehe **Tabelle 5 und Abb. 18**) und konnte häufig nur mit Hilfe mehrerer Verdünnungen festgestellt werden.

Auch bei der Überprüfung der Anteile lebender und toter Spermien in den Ejakulaten waren einige Unterschiede zu verzeichnen. So wiesen die per Masturbation gewonnenen Proben insgesamt einen höheren Anteil an lebenden Spermien auf als die durch andere Methoden gewonnenen. Bei den durch Elektroejakulation gewonnenen Ejakulaten differierten die Speziesmittelwerte von 37 % beim Nachtaffen (*Aotus*) bis 81,75 % beim Pavian (*Papio hamadryas*) (siehe **Tabelle 5**).

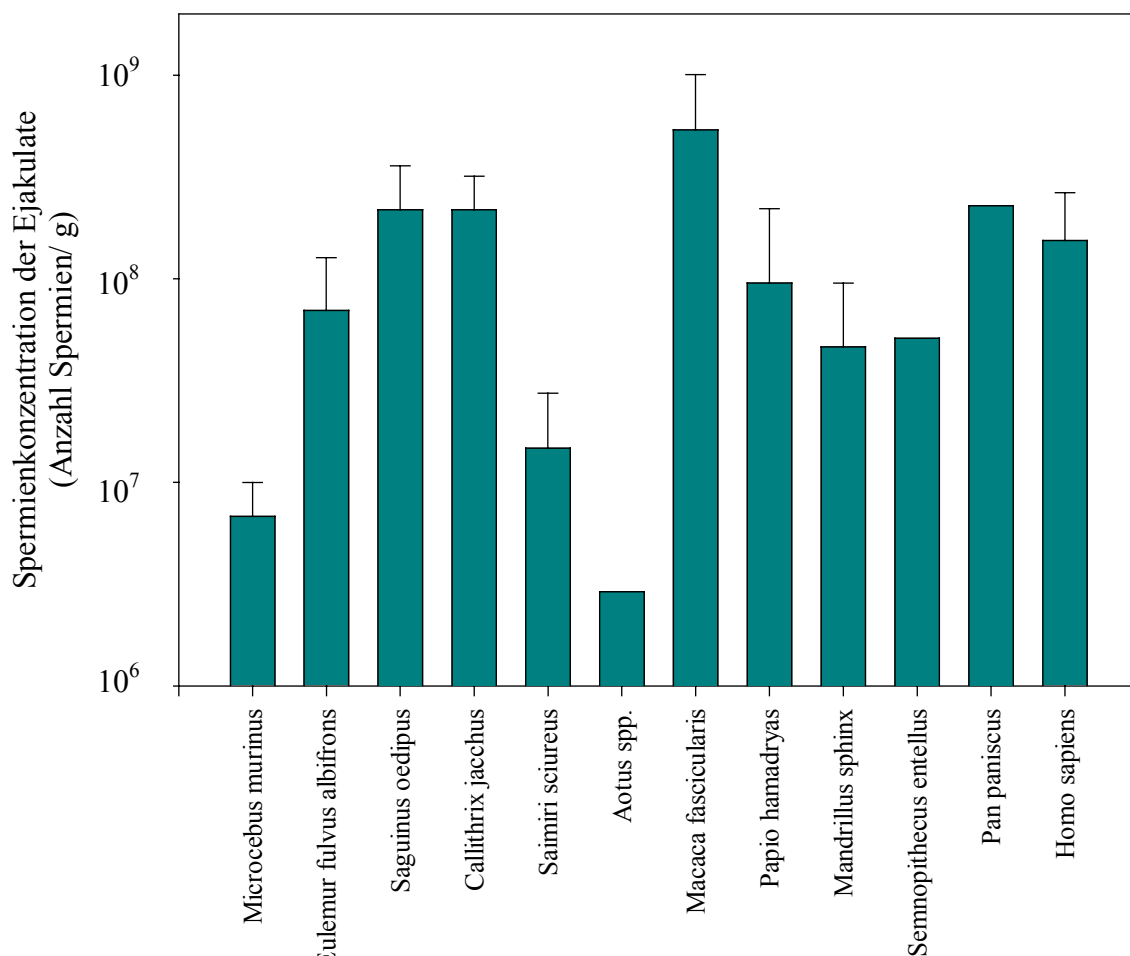


Abb. 18: Mittelwerte mit Standardabweichung der Spermienkonzentrationen der Ejakulate in Spermienanzahl pro g (n= 1-6)

3.2.2 Spermienmorphologie

Für die morphologische Analyse wurden die nach Papanicolaou gefärbten Ausstriche auf verschiedene Abweichungen hin untersucht. Pro Ejakulat respektive Samenleiterpunktat wurden 200 Spermien bei einer 600 fachen Vergrößerung beurteilt. Hierbei war es schwierig, eine Definition für ein normales Spermium zu finden. Da von jedem Tier mehrere Ausstriche angefertigt wurden, konnten nach Ansicht aller Ausstriche auch Faktoren wie z.B. Halsbrüche, die eventuell Artefakte darstellten, minimiert werden. Insgesamt ließen sich große Unterschiede in den Anteilen morphologischer Spermiendefekte zwischen den einzelnen Spezies feststellen (SCHROD et al. 2002). So zeigten die gewonnenen Proben der überwiegenden Anzahl der untersuchten Spezies einen eher geringen Anteil primärer Veränderungen der Spermienköpfe, wie zum Beispiel amorphe oder doppelte Köpfe. Nur beim Menschen und vor allem beim Nachtaffen (*Aotus*) ergaben sich hohe Prozentsätze vielfältiger morphologischer Kopf (siehe **Tabelle 7** und **Abb. 19**).

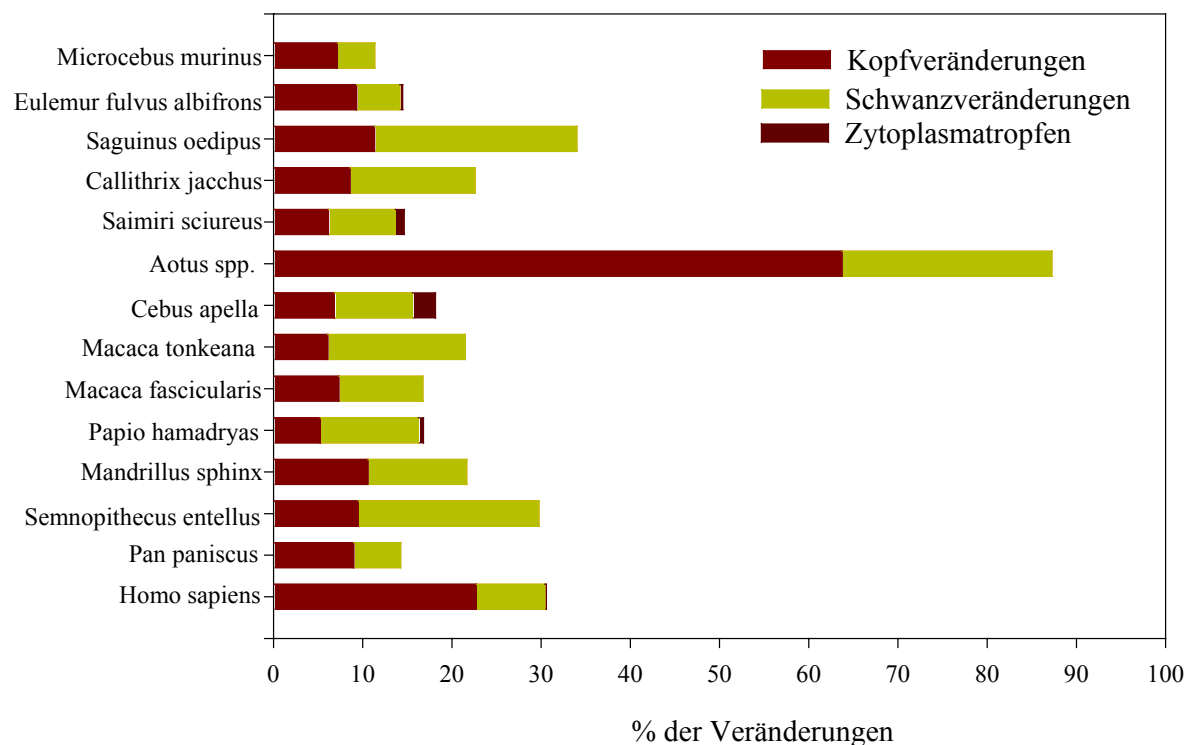


Abb. 19: Mittelwerte des Anteils morphologischer Veränderungen der Spermien bei den untersuchten Spezies, angegeben in Prozent (n=2-6)

Tabelle 7: Arithmetische Mittelwerte (n = 2-6) der morphologischen Abweichungen der Spermien der untersuchten Spezies, angegeben in Prozent

Spezies	amorpher Kopf in %	doppelter Kopf in %	Halsbruch in %	doppelter Schwanz in %	aufgerollter Schwanz in %	gebrochener Schwanz in %	Zytoplasma-tropfen in %	% unveränderte Spermien	% veränderte Spermien
Microcebus murinus			7,17		2,67	1,50		88,66	11,34
Eulemur fulvus albifrons	2,33		7,00		0,33	4,50	0,33	85,51	14,49
Saguinus oedipus	2,17	0,50	8,67		19,33	3,33		66,00	34,00
Callithrix jacchus	1,92	0,17	6,50		7,58	6,42		77,41	22,59
Saimiri sciureus	2,33		3,83		5,33	2,17	1,00	85,33	14,67
Aotus spp.	51,00		12,75		3,50	20,00		11,00	89,00
Cebus apella	2,42	0,08	4,33		7,08	1,66	2,58	81,75	18,25
Macaca tonkeana	1,75	0,08	4,25	0,17	9,00	6,25		78,50	21,50
Macaca fascicularis	0,50	0,08	6,75	0,17	5,17	4,08		83,25	16,75
Papio hamadryas	1,92		3,33		7,42	3,58	0,58	83,17	16,83
Mandrillus sphinx	2,42		8,17	0,08	8,92	2,08		78,33	21,67
Semnopithecus entellus	2,00	1,00	6,50	0,50	18,50	1,25		70,25	29,75
Pan paniscus	6,25		2,75		2,50	2,75		85,75	14,25
Homo sapiens	15,67	0,67	6,42	0,08	4,50	3,17	0,17	69,32	30,68

*n steht für Anzahl der Ejakulate

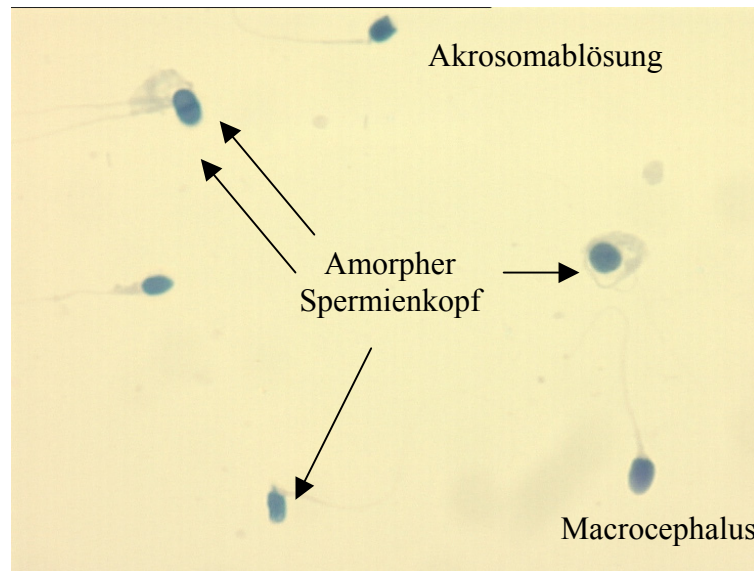


Abb. 20: Morphologische Defekte von Spermienköpfen eines Nachtaffen (Aotus). Vergrößerung 400 fach, Färbung nach Papanicolaou.

So konnten beim Nachtaffen (Aotus) über die Hälfte aller Spermienköpfe als amorph klassifiziert werden (siehe **Abb. 20**), beim Menschen lag dieser Wert bei etwa 15, 67 %. Im Gegensatz dazu zeigten alle anderen Spezies, mit Ausnahme des Bonobo (*Pan paniscus* 6,25 %), weniger als 2,5 % amorphe Köpfe. Doppelmißbildungen des Kopfes (siehe **Abb.21**) traten nur selten und auch nur bei der Hälfte der Spezies (*Saguinus oedipus*, *Callithrix jacchus*, *Aotus* spp., *Cebus apella*, *Macaca tonkeana*, *Macaca fascicularis*, *Semnopithecus entellus* *Homo sapiens*) auf. Alle Werte lagen bei maximal 1,00 %.

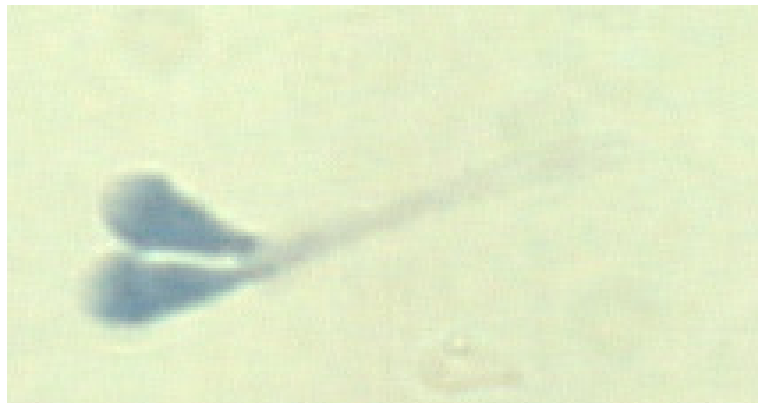


Abb. 21: Doppelmißbildung des Spermienkopfes (Nachtaffe); Vergrößerung 600 fach, Färbung nach Papanicolaou

In den Ejakulaten aller Spezies waren Halsbrüche feststellbar, bei denen allerdings nicht auszuschließen war, dass diese auch partiell durch die Probenbearbeitung bedingt waren. Die

jeweiligen Anteile lagen bei den meisten Spezies unter 10 %, exklusive dem Nachtaffen (Aotus) mit 12,75 %. Auch bezüglich der Spermischwanzveränderungen waren große Unterschiede zwischen den Spezies zu beobachten (siehe **Tabelle 7** und **Abb. 19**). Bei fünf Spezies (Macaca tonkeana, Macaca fascicularis, Mandrillus sphinx, Semnopithecus entellus, Homo sapiens) wurden vereinzelte (max. 0,5 %) Doppelmißbildungen festgestellt (siehe **Abb. 22**). Aufgerollte Spermischwänze waren mit fast 20 % vor allem bei Lisztaffen (Saguinus oedipus) und Hanumanlanguren (Semnopithecus entellus) zu finden. Alle anderen Spezies wiesen hingegen Werte bis 9 % auf.

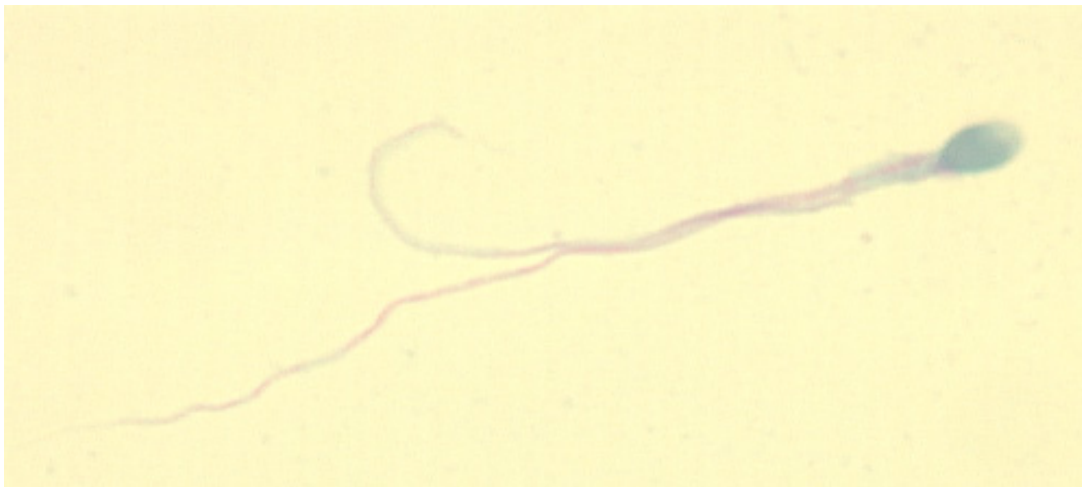


Abb. 22: Doppelmißbildung des Spermischwanzes (Mensch); Vergrößerung 400 fach, Färbung nach Papanicolaou

Gebrochene Spermischwänze lagen bei 20 % der Nachtaffenspermien vor, wohingegen bei allen anderen Spezies maximal 6,5 % ermittelt wurden. Zytoplasmatische Tropfen (siehe **Abb. 23**) waren nur bei wenigen Spezies nachweisbar (Eulemur fulvus albifrons, Saimiri sciureus, Cebus apella, Papio hamadryas, Homo sapiens) überwiegend bei den Samenproben, die aus dem Samenleiter gewonnen wurden. Hierbei wiesen die Kapuzineraffen (Cebus apella) mit 2,58 % den höchsten Wert auf

Die geringsten Anteile an morphologischen Abweichungen der Spermien wiesen insgesamt die beiden Halbaffenspezies mit 11,34 % und 14,49 % und die Bonobos (Pan paniscus) mit 14,25 % auf. Hohe Anteile an Spermiendefekten zeigten sich hingegen beim Lisztaffen

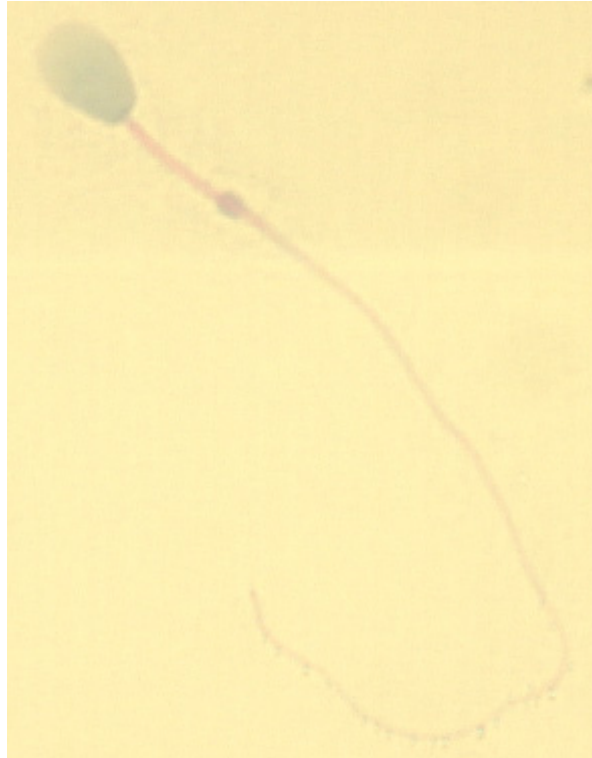


Abb. 23: Zytoplasmatischer Tropfen am Spermium eines Kapuzineraffen (*Cebus apella*). Vergrößerung 400 fach, Färbung nach Papanicolaou

(*Saguinus oedipus*) mit 34,00 %, bei den Hanumanlanguren (*Semnopithecus entellus*) mit 29,75 %, beim Menschen mit 30,68 % und vor allem beim Nachtaffen (*Aotus*) mit 87,25 % (siehe **Tabelle 7**). Zusammenfassend läßt sich sagen, daß der Nachtaffe insgesamt die mit Abstand höchsten Anteile morphologischer Spermiendefekte zeigte. Dies galt sowohl für Spermienkopfdefekte als auch für Spermienchwanzdefekte.

3.2.3 Spermienmotilität

Unter dem Begriff Spermienmotilität wurde sowohl der Prozentsatz motiler Spermien (Gesamtmotilität) betrachtet, als auch die Form der Bewegung einzelner Spermien (Geschwindigkeiten, Muster der Bewegung). Diese kinematischen Resultate wurden mit Hilfe des Hobson Sperm Trackers (HOBSON VISION Ltd.) ermittelt. Mit diesem Analysesystem konnten eine große Anzahl Ejakulate und viele einzelne Spermien pro Probe untersucht werden. Für die hier aufgeführten Ergebnisse wurden pro Individuum je 300 Spermien bei 100 facher Vergrößerung im Dunkelfeld in ihrer Bewegung analysiert. Jedem Analyselauf mussten vorausgehend verschiedene Speicher- und Druckparameter am Hobson Sperm Trackers (HST) eingestellt werden und ein bis zwei Analyseläufe im Automodus durchgeführt werden, um z.B. die richtige Ebene in der Zählkammer zu finden, den Suchradius des HST und den Erkennungsmodus für unbewegliche Spermien zu überprüfen.

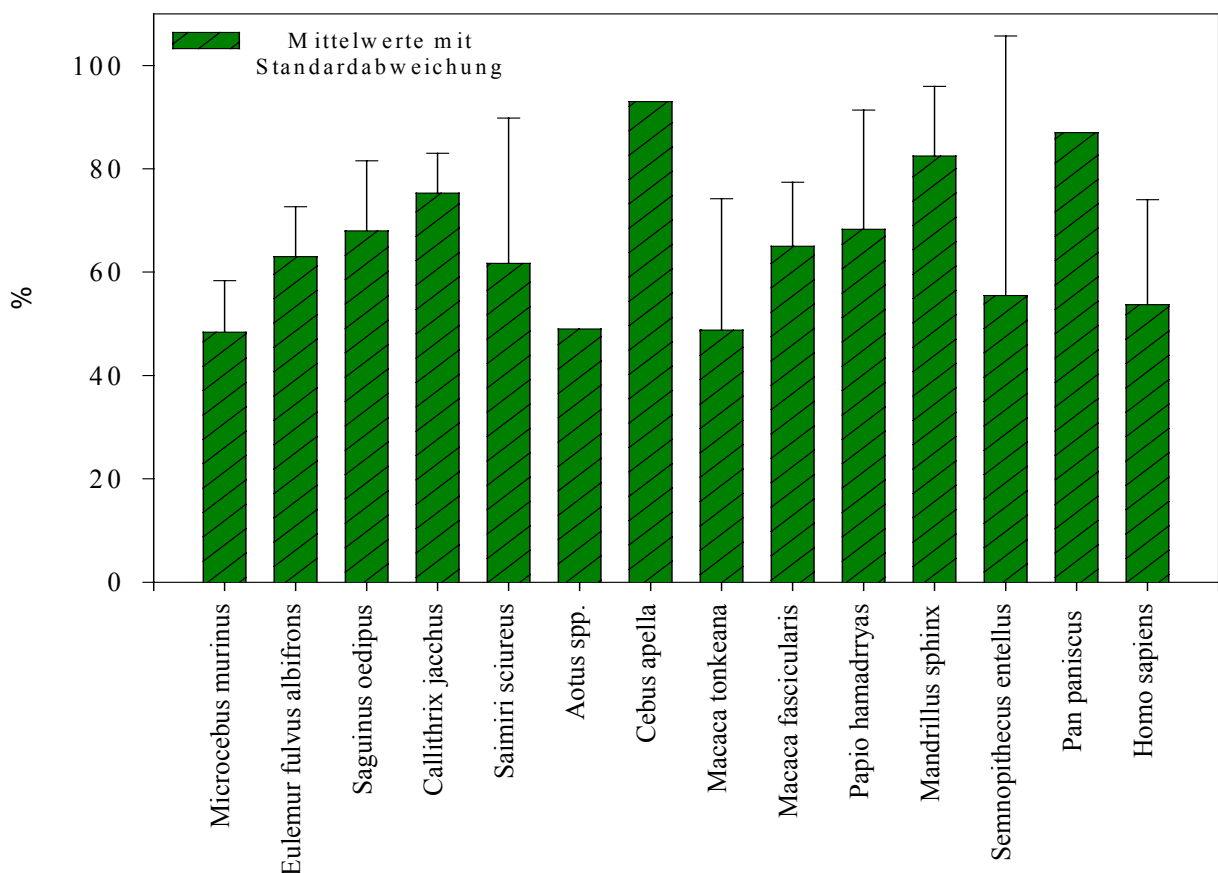


Abb. 24: Mittelwerte mit Standardabweichung (n=1- 6) der Anteile motiler Spermien in den Proben, ermittelt mit dem Hobson Sperm Tracker, gemessen in Prozent; bei Werten ohne Standardabweichung lag nur eine Stichprobe vor

n steht für die Anzahl der Ejakulate

Einige Samenproben mußten zügig verdünnt und bearbeitet werden, da wie z.B. bei den braunen Makis (*Eulemur fulvus albifrons*) eine sehr rasche Koagulation eintrat. Bei den Kapuzineraffen (*Cebus apella*) konnte nur eine von fünf aus dem Samenleiter gewonnenen Proben für die Motilitätsanalyse genutzt werden, da durch die bereits mehr als zwei Stunden vorausgegangene Euthanasie der Tiere nur noch einzelne Spermien motil waren. Insgesamt war es schwierig, bei den Präparationen und Punktionen der Samenleiter Samenproben zu erhalten, die für eine Motilitätsanalyse nutzbar waren. Der entscheidende Aspekt schien hierbei die Zeit, die zwischen der Organentnahme und der Analyse verging.

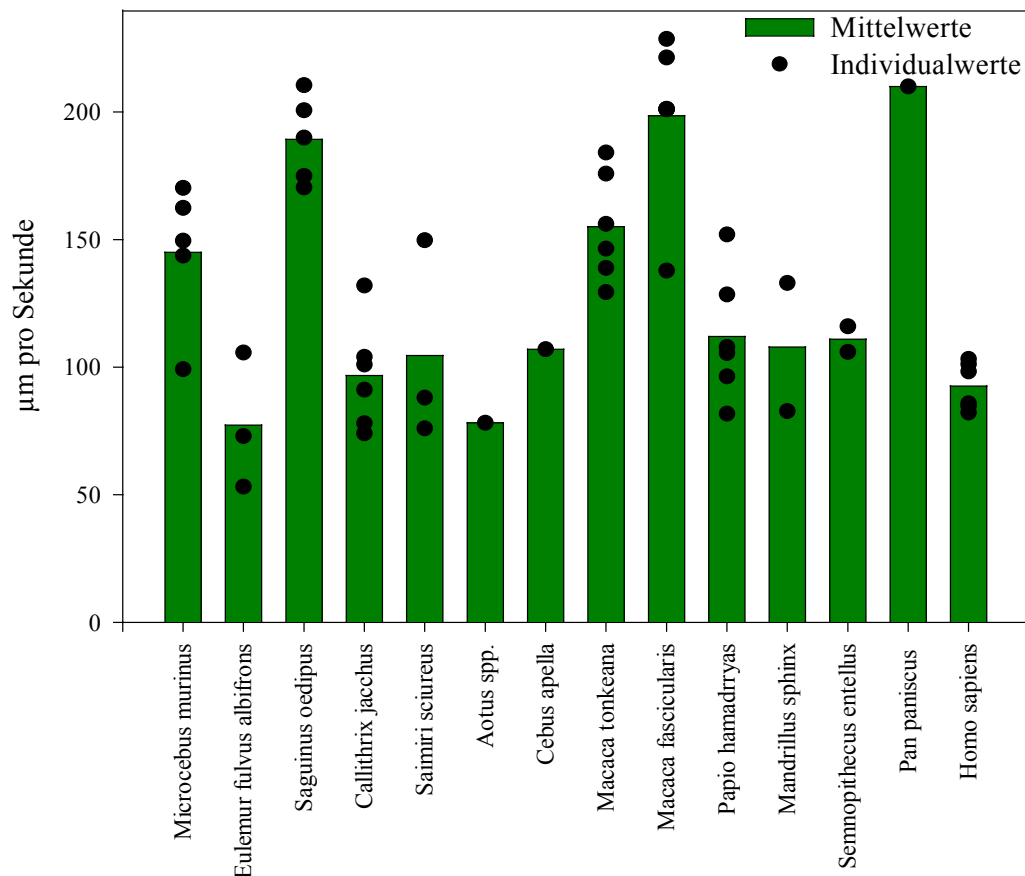


Abb. 25: Mittel- und Individualwerte (n=1- 6) der kurvilinearen Spermengeschwindigkeit (VCL), gemessen mit dem Hobson Sperm Tracker in µm/s

Die Ergebnisse stellten sich für den Anteil motiler Spermien wie folgt dar:

Sowohl zwischen den Spezies als auch zwischen den Individuen einzelner Spezies traten enorme Unterschiede auf. Der geringste Anteil motiler Spermien in den Ejakulaten wurde bei Mausmakis (*Microcebus murinus*), Tonkean Makaken (*Macaca tonkeana*) und beim Nachtaffen (*Aotus*) festgestellt. Hier lagen die Werte um 50 %.

Die höchsten Werte waren für Kapuziner (*Cebus apella*) und Bonobos (*Pan paniscus*) mit circa 90 % zu finden, allerdings lag bei diesen Spezies wie auch beim Nachtaffen (*Aotus*) jeweils nur eine einzelne Probe für eine Spermienmotilitätsanalyse vor. Annähernd 60 % motiler Spermien waren in den Ejakulaten von Mensch und Hanumanlangur festzustellen. Bei allen übrigen Spezies, exklusive dem Mandrill (*Mandrillus sphinx*) mit über 80 %, lag die Spermienmotilität zwischen 60-80 %.

Die Intraspeziesschwankungen waren beim Hanumanlanguren (*Semnopithecus entellus*) am größten (siehe **Abb. 24**), wobei nur eine Probenanzahl von 2 vorlag. Hierbei wurden Unterschiede zwischen den beiden Ejakulaten von über 50 % verzeichnet. Allerdings auch bei einer größeren Stichprobenanzahl von 6 Proben von Tonkean Makaken (*Macaca tonkeana*) traten Schwankungen vom Mittelwert von $\pm 25,43$ % auf (siehe **Abb. 24**).

Die kurvolineare Spermengeschwindigkeit (VCL) variierte von 77,3 $\mu\text{m/s}$ beim braunen Maiki (*Eulemur fulvus albifrons*) bis 210 $\mu\text{m/s}$ bei dem Bonobo (*Pan paniscus*). Sieben Spezies wiesen VCL Werte um 100 $\mu\text{m/s}$ auf. Nur der Nachtaffe (*Aotus*) lag mit 78,2 $\mu\text{m/s}$ noch weit darunter (siehe **Abb. 25**). Mausmaki (*Microcebus murinus*) und Tonkean Makake (*Macaca tonkeana*) zeigten Spermengeschwindigkeiten um 150 $\mu\text{m/s}$, Lisztaffen (*Saguinus oedipus*) und Javaneraffen (*Macaca fascicularis*) wiesen Mittelwerte von etwa 200 $\mu\text{m/s}$ auf (siehe **Abb. 25**).

Die Linearität der Bewegung (siehe auch **S. 42/43**) war mit 11,8 % bei den Mausmakis (*Microcebus murinus*) und mit 13,1 % bei den Mandrills (*Mandrillus sphinx*) am geringsten. Mit über 50 % zeigten die Spermien der Tonkean Makaken (*Macaca tonkeana*), Javaneraffen (*Macaca fascicularis*), Lisztaffen (*Saguinus oedipus*) und des Bonobo (*Pan paniscus*) die höchsten Werte. Bei fünf Spezies betrug die Linearität um 20 %, der Pavian (*Papio hamadryas*) wies 30,6 % und der Mensch 40,5 % auf (siehe **Tabelle 8**).

Tabelle 8: Klassifizierung der Spermienmotilität gemäß WHO und Linearität der VCL

Spezies	A	B	C	D	Linearität
<i>Microcebus murinus</i>	41,2	5	2,2	51,6	11,8
<i>Eulemur fulvus albifrons</i>	48,3	12,0	2,7	37,0	13,9
<i>Saguinus oedipus</i>	66,0	1,6	0,4	32,0	54,5
<i>Callithrix jacchus</i>	62,2	8,8	4,3	24,7	23,0
<i>Saimiri sciureus</i>	47,3	11,3	3,0	38,3	18,1
<i>Aotus</i> spp.	12,0	12,0	25,0	51,0	18,2
<i>Cebus apella</i>	74,0	17,0	2,0	7,0	25,0
<i>Macaca tonkeana</i>	46,2	2,3	0,3	51,2	56,5
<i>Macaca fascicularis</i>	62,2	2,0	0,8	35,0	52,4
<i>Papio hamadryas</i>	60,8	5,7	1,8	31,7	30,6
<i>Mandrillus sphinx</i>	72,0	7,5	3,0	17,0	13,1
<i>Semnopithecus entellus</i>	49,5	3,0	3,0	44,5	20,8
<i>Pan paniscus</i>	83,0	2,0	2,0	13,0	51,6
<i>Homo sapiens</i>	44,8	6,0	0,5	48,7	40,5

A= schnell vorwärts beweglich, B= langsam vorwärts beweglich, C= nicht vorwärts beweglich, D= immotil

Im Gegensatz dazu standen die Daten, die bei der geradlinigen Geschwindigkeitsmessung (VSL) ermittelt werden konnten. Insgesamt waren hier die Interspeziesschwanken größer als bei der VCL. So war die geringsten VSL mit 14,6 $\mu\text{m/s}$ für den Nachtaffen (*Aotus*), ähnliche Werte für den braunen Maki (*Eulemur fulvus albifrons*) und den Mandrill (*Mandrillus sphinx*) festzustellen. Die höchsten Werte wurden bei Javaneraffen mit einer VSL von 115,3 $\mu\text{m/s}$ gemessen. Ähnlich hohe Werte zeigten die Lisztaffen (*Saguinus oedipus*), Tonkean Makaken (*Macaca tonkeana*) und der Bonobo (*Pan paniscus*). Bei den übrigen Spezies betrug die VSL 20 bis 40 $\mu\text{m/s}$ (siehe **Abb. 26**).

Aussagen über die Häufigkeit mit welcher sich der Spermenschwanz bewegt, konnten mit Hilfe der BCF getroffen werden. Die niedrigsten Werte (2,4 Hz) wies der braune Maki (*Eulemur fulvus albifrons*) auf und ähnliche Ergebnisse zeigte der Nachtaffe. Die höchsten Frequenzen waren beim Bonobo mit über 20 Hz zu finden. Die Hälfte der übrigen Spezies zeigten BCF Werte unter und um 5 Hz (siehe **Abb. 27**). Die Werte von Mensch und Tonkean Makaken lagen bei 10 Hz, Lisztaffe (*Saguinus oedipus*) und Javaneraffe (*Macaca fascicularis*) erreichten Werte um 15 Hz.

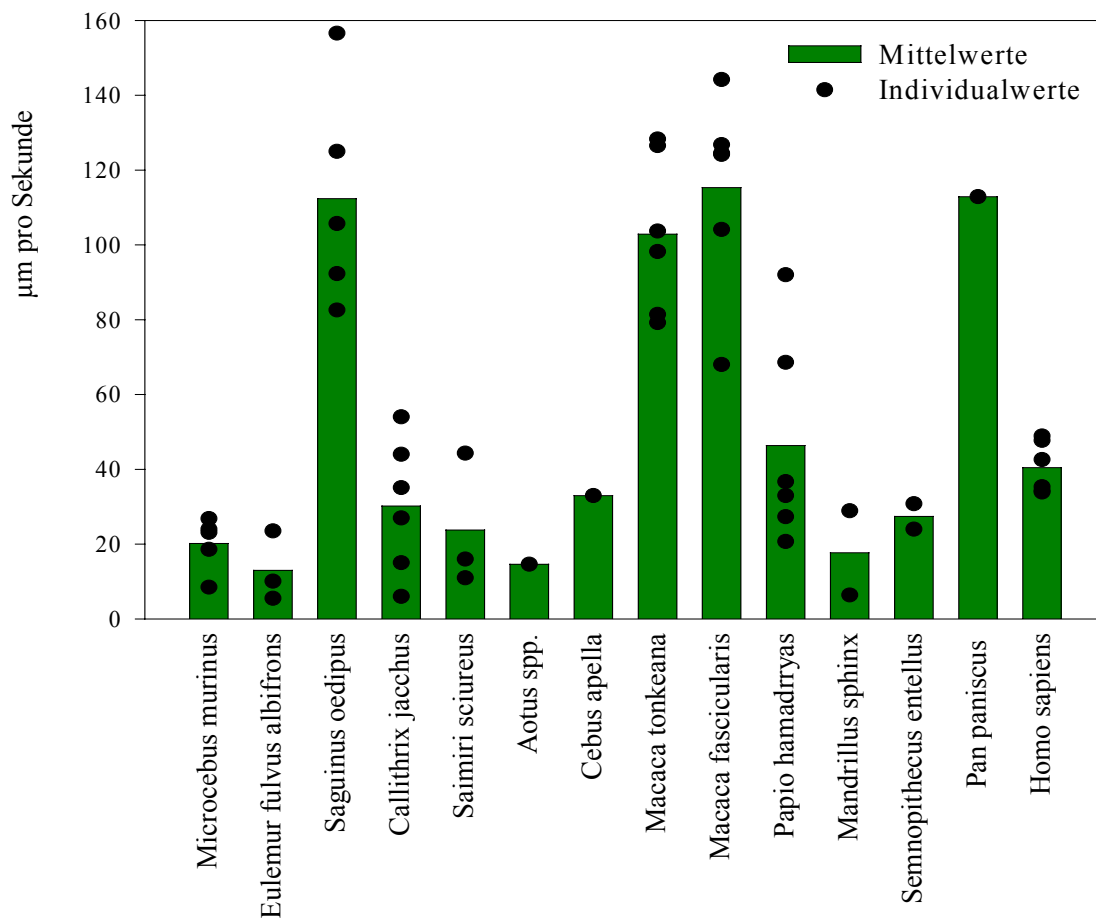


Abb. 26 : Mittel- und Individualwerte (n=1- 6) der geradlinigen Spermengeschwindigkeit (VSL) gemessen mit dem Hobson Sperm Tracker in µm/s

In der Klassifizierung nach WHO Richtlinien für die Motilität von Humanspermien (A-D, A= schnell vorwärts beweglich, B= langsam vorwärts beweglich, C= nicht vorwärts beweglich, D= immotil) zeigten fast alle Spezies höhere Werte in den Spermienklassen A und B als der Mensch (44,8/6/0,5/48,7). Nur für die Mausmakis (*Microcebus murinus*) (41,2/5/2,2/51,6) und die Nachtaffen (*Aotus*) (12/12/25/51) wurden niedrigere Werte ermittelt. Die höchsten Werte in der A Kategorie wies der Bonobo auf (83/2/2/13). Sechs Spezies zeigten in dieser Kategorie Ergebnisse von 60- 75 %, vier weitere Spezies wiesen Werte zwischen 46,2- 49,5 % auf. In der Kategorie D lagen die Werte von Kapuzinern (*Cebus apella*), Mandrill

(*Mandrillus sphinx*) und Bonobo (*Pan paniscus*) unter 20 %. Bei sechs Spezies ließen sich prozentuale Anteile immotiler Spermien zwischen 24-37 % feststellen. Hanumanlangur, Mensch, Nachtaffe (*Aotus*), Tonkean Makake (*Macaca tonkeana*) und Mausmaki (*Microcebus murinus*) wiesen Werte zwischen 44,5- 51,6 % auf (siehe **Tabelle 8**).

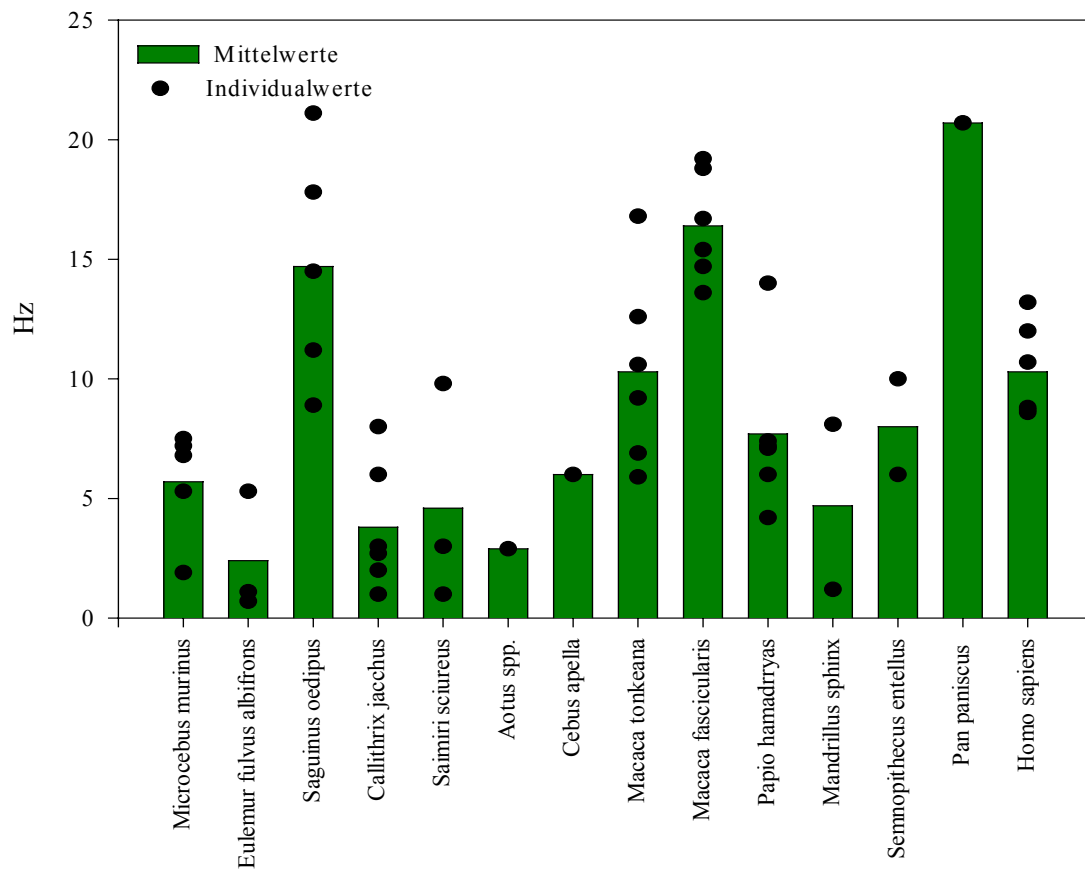


Abb. 27. : Mittel- und Individualwerte (n=1- 6) der Beat Cross Frequency (BCF) in Hz

3.2.4 Spermienmorphometrie

Bei der Erfassung der morphometrischen Daten wurden nach Papanicolaou gefärbte Ausstriche bei 600 facher Vergrößerung ausgewertet. Die Vermessung von 200 Spermien je Individuum erfolgte mit Hilfe der Hobson Sperm Morphology (HSM) Software, die eine automatische Vermessung der Spermienparameter Kopflänge, Kopfbreite, Akrosomanteil und Schwanzlänge vornahm (siehe **Abb.28**).

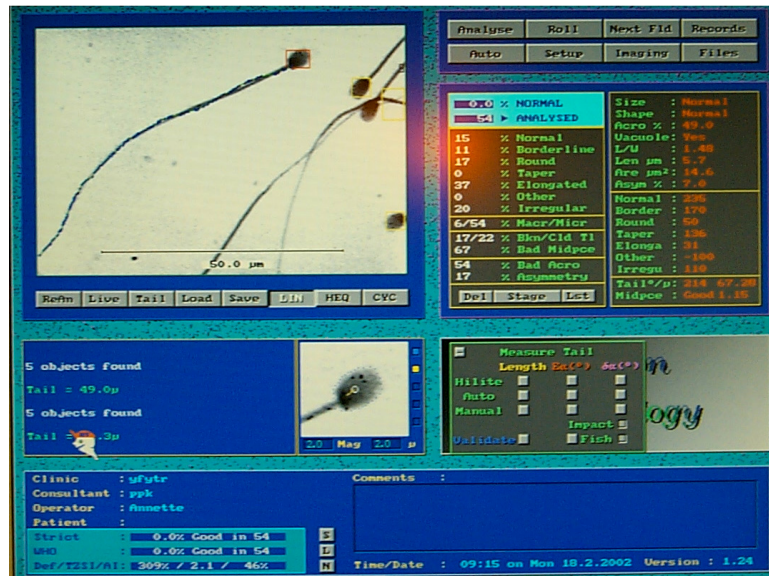


Abb. 28: Bild der Hobson Sperm Morphology mit den einzelnen Meßparametern Spermienkopflänge und –breite und Spermischwanzlänge bei Mausmakispermien

Eine Eichung der HSM war vom Hersteller vorgenommen worden. Sie wurde nochmals mit Hilfe geeichter Strecken überprüft. Unverdünnt gefärbte Proben waren schlecht bis gar nicht auswertbar, da das umgebende Sekret mitangefärbt wurde und die Kontraste zwischen Hintergrund und Spermienkopf für das Analyseprogramm zu schwach waren. Dies erforderte zum Teil eine genaue manuelle Einstellung der Kontraste und der Erkennungs- und Vermessungsfunktion zur Vermessung der Köpfe. Anhand des Verhältnisses von Spermienkopflänge und –breite konnte die Form der Spermienköpfe bestimmt werden (z.B. rund, verlängert, normal etc.).

Insgesamt traten bei den automatischen Vermessungen einige Schwierigkeiten auf. So konnte das Vermessungsprogramm im Hellfeldmodus keine brauchbaren Angaben zum Akrosomanteil geben. Die Ergebnisse eines Spermiums variierten unter denselben Bedingungen, abhängig von der Bildschirmposition, um mehr als 20 Prozentpunkte. Dieser Parameter wurde daraufhin in den folgenden Untersuchungen nicht mehr berücksichtigt. Des weiteren konnten viele Spermien nicht analysiert werden, da nahe bei den Spermienköpfen liegende Debrisanteile, die mit angefärbt waren, als Kopfanteil mitgemessen und somit die Längen- und Breitenmaße der Spermienköpfe erheblich beeinflusst wurden. Da bei der Kopfvermessung keine direkte äußere Einflussnahme auf die Positionierung des Vermessungsringes genommen werden kann, fielen diese Spermien für die Analyse aus. Zusätzlich konnten durch dieses Programm keine schwächer angefärbten, bzw. kontrastarmen Spermienköpfe erkannt werden. So war es zum Beispiel nicht möglich, die zusätzlichen akrosomalen Fortsätze (siehe **Abb. 29**) der Halbaffenspezies korrekt zu vermessen.

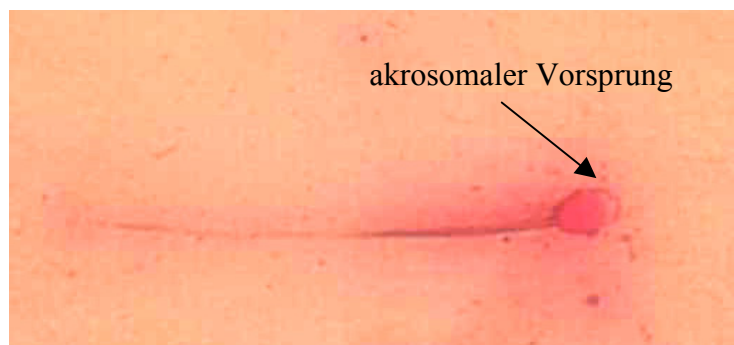


Abb. 29: Spermium eines braunen Makis (*Eulemur fulvus albifrons*), 400 fach, mit Eosin angefärbt, hier gut erkennbar der helle zusätzliche akrosomale Vorsprung

In den Mausmakiprobe wurden sie gar nicht und in den Proben der braunen Makis nur partiell (d.h. bei etwa jedem zehnten Spermium) erkannt, da der akrosomale Vorsprung mit der Papanicolaoufärbung nur schwache Kontraste aufwies. Darüber hinaus war es mit der HSM Software nicht möglich, die gefärbten Spermischwänze automatisch zu vermessen.

Tabelle 9: Kopflänge,- breite, Spermienschwanz- und Spermiengesamtlänge und das Verhältnis von Kopflänge und Kopfbreite zueinander, vergleichtend gemessen mit Hobson Sperm Morphology und Axiophot in μm (Mittelwerte) (n= 2-6)

Spezies	Verhältnis der Kopflänge/ Kopfbreite		Kopflänge		Kopfbreite		Spermienschwanzlänge		Spermiengesamtlänge	
	HSM	Axiophot	HSM	Axiophot	HSM	Axiophot	HSM	Axiophot	HSM	Axiophot
Microcebus murinus	1,53	2,08	6,09	7,07	4,00	3,39	79,18	80,85	85,27	87,92
Eulemur fulvus albifrons	1,40	1,93	5,74	6,89	4,11	3,56	51,46	50,82	57,21	57,71
Saguinus oedipus	1,54	1,76	6,08	5,32	3,95	3,02	61,85	58,19	67,93	63,51
Callithrix jacchus	1,38	1,51	5,47	4,70	3,95	3,11	52,85	48,11	58,31	52,82
Saimiri sciureus	1,39	1,52	5,81	6,26	4,18	4,11	67,85	67,10	73,66	73,35
Aotus spp.	1,57	1,70	4,36	4,63	2,78	2,73	33,38	41,21	37,73	45,84
Cebus apella	1,54	1,62	6,21	5,48	4,03	3,39	60,67	60,54	66,87	66,01
Macaca tonkeana	1,44	1,56	4,96	4,69	3,44	3,00	66,02	70,24	70,98	74,92
Macaca fascicularis	1,52	1,66	5,27	5,35	3,48	3,22	70,85	69,84	76,11	75,19
Papio hamadryas	1,55	1,71	5,29	5,28	3,42	3,09	69,99	72,04	75,28	77,32
Mandrillus sphinx	1,35	1,48	5,30	4,89	3,93	3,31	64,98	69,49	70,29	74,38
Semnopithecus entellus	1,37	1,42	4,98	4,73	3,63	3,33	59,89	61,49	64,87	66,22
Pan paniscus	1,42	1,58	4,54	4,33	3,20	2,75	53,53	51,53	58,07	55,87
Homo sapiens	1,38	1,61	4,32	4,16	3,12	2,58	45,65	47,23	49,97	51,39

Schlüssel von Kopfmaßenverhältnis und Form

- 1,40 runde Form
- 1,41 -1,60 normale Form (ovoid)
- 1,61 -1,70 Zwischenform
- 1,71 -1,80 gestreckte Form
- 1,81 - verlängerte Form

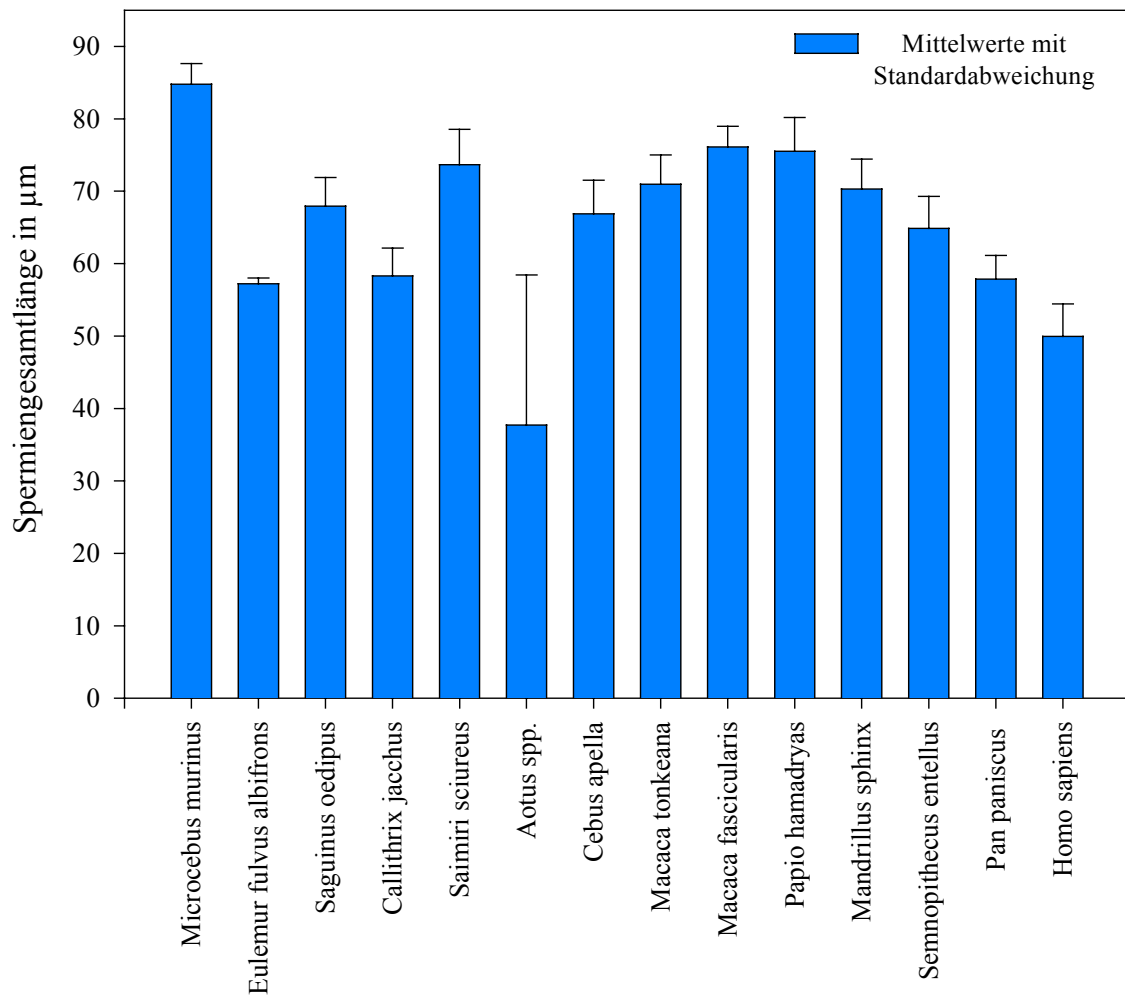


Abb. 30: Mittelwerte und Standardabweichung der Spermiengesamtlänge, gemessen mit der Hobson Sperm Morphology in µm

So führte eine automatische Spermienschwanzvermessung zur Erkennung nicht existenter Spermienschwänze oder zu ansatzweise korrekten Messungen, die allerdings nur einen Bruchteil der tatsächlichen Spermienschwanzlänge erfaßten. Daher mußte die Spermienschwanzmorphometrie mit dem Manuellvermessungsmodus durch exaktes Abfahren der Spermienschwanzkonturen mit der Computermouse vorgenommen werden (siehe **Tabelle 9**). Zwischen den Spezies bestanden enorme Unterschiede in den Spermienschwanzlängen (siehe **Abb. 30**).

Beim Nachtaffen waren Durchschnittswerte von etwa 37 μm zu verzeichnen. Im Vergleich dazu wies der Mausmaki mit etwa 84 μm (siehe **Abb. 31**) mehr als das Doppelte an Spermenschwanzlänge auf.



Abb. 31: Spermien eines Mausmakis (*Microcebus murinus*), Vergrößerung 400 fach, Färbung nach Papanicolaou mit sehr langen Spermenschwänzen (ca. 84 μm)

Zur Überprüfung der Daten, die mit Hilfe der HSM ermittelt wurden, wurden erneute Vermessungen unter Zuhilfenahme eines Axiophot Mikroskops (Zeiss) und des Open lab (Improvision, Ltd.) Systems durchgeführt. Hierfür wurden 50 Spermien je Spezies vermessen. Bei einer 400 fachen Vergrößerung wurden Spermienkopflänge und –breite und Spermenschwanzlänge manuell ermittelt. Aufgrund des größeren Bildausschnittes und der höheren Bildschirmauflösung konnten vor allem die Spermienkopfmaße genauer bestimmt werden.

Dabei traten folgende Ergebnisse auf:

Die mikroskopisch und mittels HSM erhobenen Maße der Spermienköpfe wiesen erhebliche Unterschiede auf, die bei den Halbaffen, bedingt durch die zusätzlichen akrosomalen Vorsprünge, bis 20 % der Spermienkopflänge ausmachte (**Tabelle 9**).

Die Spermienkopfbreiten variierten in noch höherem Maße, beim Lisztaffen waren dies durchschnittlich 24 %. Daraus resultierend ergab sich auch ein verändertes Verhältnis von Spermienkopflänge und Spermienkopfbreite. Diese erreichte Unterschiede von über 30 % bei den Halbaffenspezies. Die ermittelten Daten der Spermischwanzlängen unterschieden sich dagegen kaum (siehe **Abb. 32**). Nur bei den Nachtaffen waren Abweichungen von circa 20 % zu verzeichnen (siehe **Tabelle 9**).

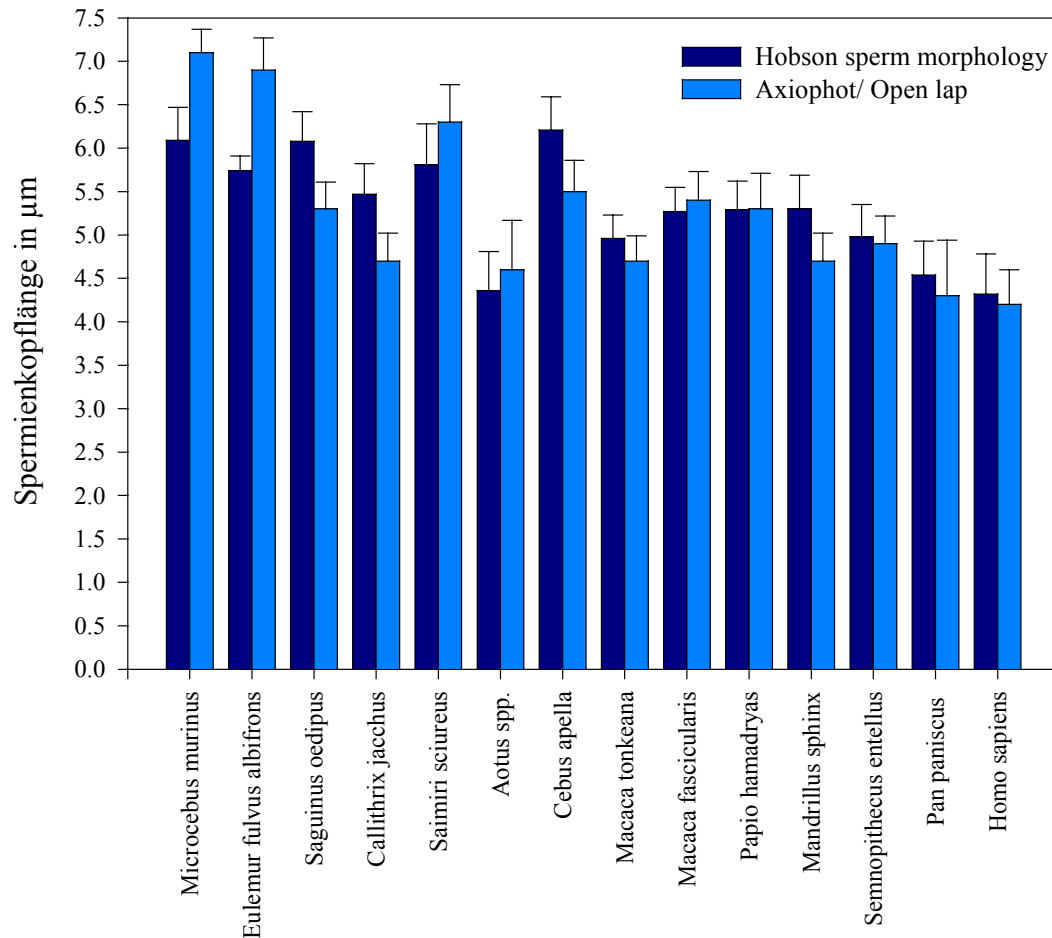


Abb. 32: Mittelwerte und Standardabweichung der Spermienkopflängen der unterschiedlichen Spezies, vergleichend gemessen mit der Hobson Sperm Morphology und Axiophot in µm (n= 2- 6)

3.2.5 Zusammenfassende Ergebnisse

In diesem abschließenden Teil werden die Daten der vier vorangegangenen Ergebnisabschnitte (allgemeine Parameter, Morphologie, Motilität und Morphometrie) zusammengeführt und in Bezug auf das Paarungssystem der einzelnen Spezies untersucht. Hierbei wird allerdings nicht nach den vier Paarungssystemen (Monogamie, Polygynie, Polyandrie und Viel-Männchen-Viel-Weibchen System) der untersuchten Spezies unterschieden, sondern nur nach dem Parameter, der für die Spermienkonkurrenztheorien entscheidend ist.

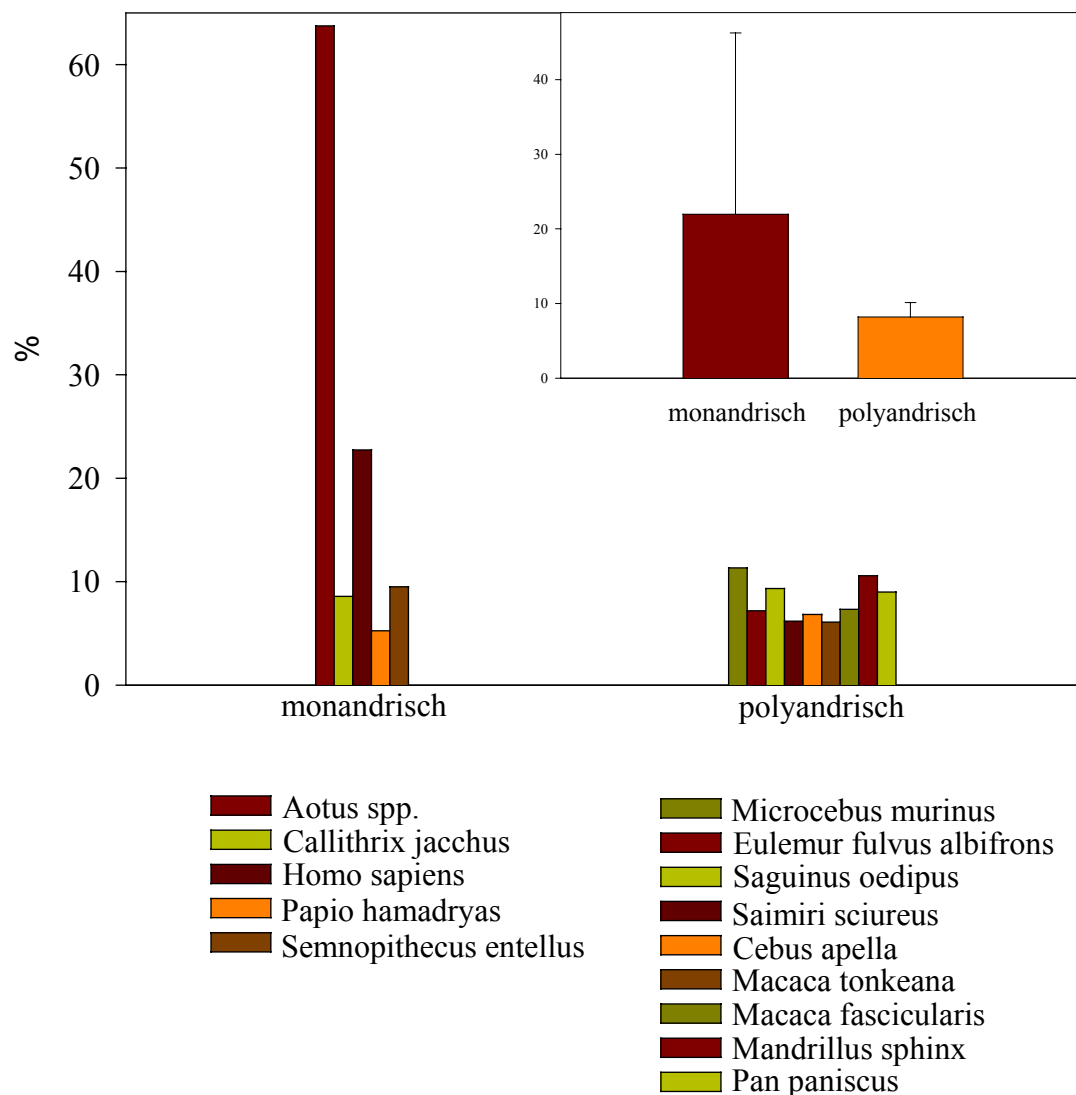


Abb. 33: Morphologische Spermienkopffdefekte (%) , in der eingeschobenen Graphik gruppiert nach monandrisch (n= 5) und polyandrisch (n= 9), kein signifikanter Unterschied der Mittelwerte

Dies ist die Anzahl der um ein Weibchen bzw. dessen Oozyten konkurrierenden männlichen Individuen. Somit werden die Daten in diesem Abschnitt nur noch nach den Kategorien monandrisch (jeweils ein Männchen deckt; monogam oder polygyn) und polyandrisch (mehrere Männchen decken, polyandrisch und Viel-Männchen-Viel-Weibchen) unterteilt. Es wurden die Ergebnisse der morphologischen Spermienkopffdefekte, die tatsächliche Spermieschwimmgeschwindigkeit (VCL) als Einzelparameter in Bezug auf die Paarungssysteme untersucht. Andere Einzelergebnisse wurden kombiniert und auf bestehende Korrelationen und Hinweise zur Spermienkonkurrenz hin überprüft. So wurden z.B. die Werte für

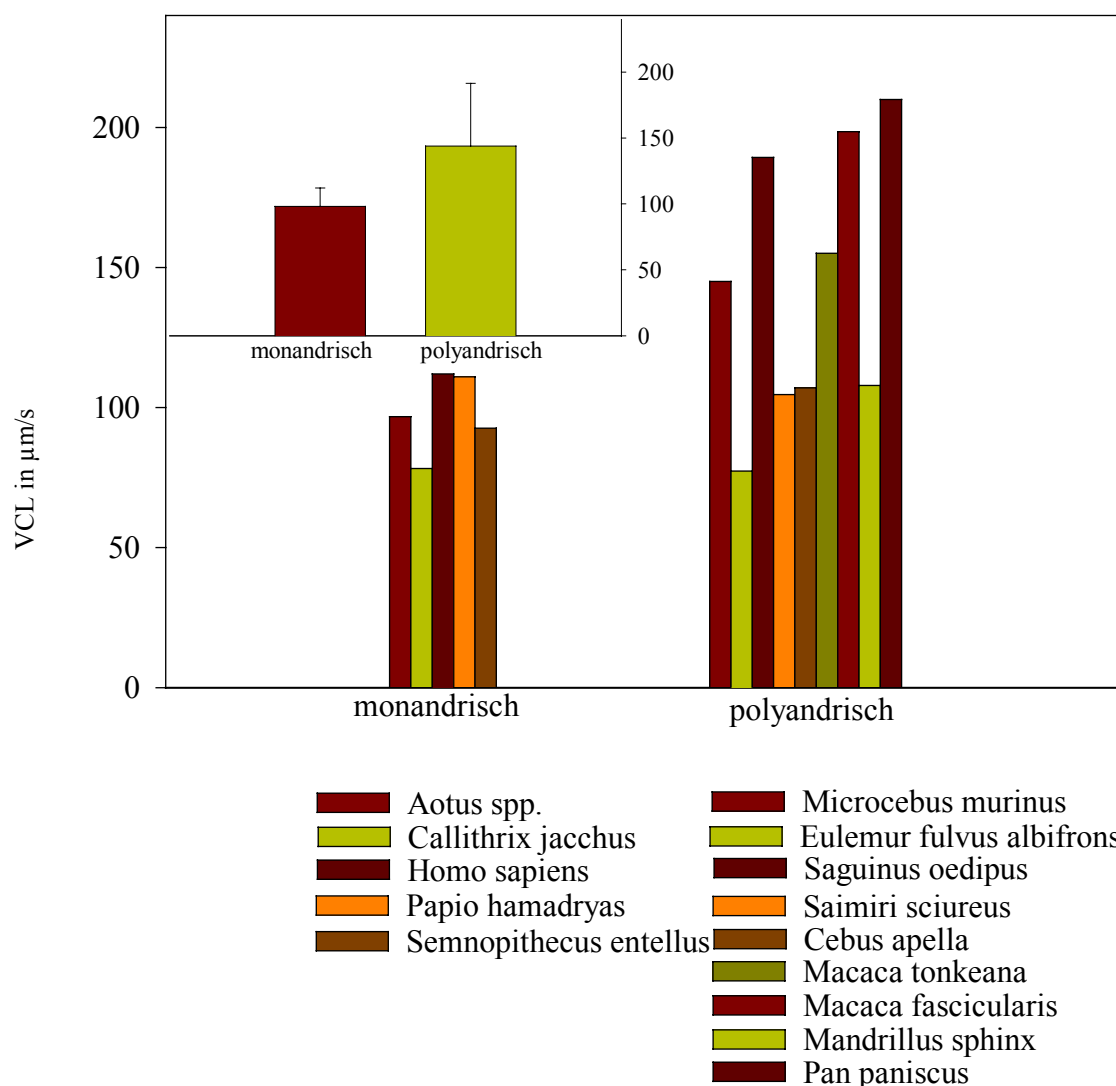


Abb. 34: Tatsächliche Spermieschwimmgeschwindigkeit (VCL) ($\mu\text{m/s}$), in der eingeschobenen Abbildung gruppiert nach monandrisch ($n=5$) und polyandrisch ($n=9$), kein signifikanter Unterschied zwischen den gruppierten Mittelwerten

VCL und der VSL sowie der VCL und die Gesamtheit morphologische Defekte miteinander korreliert.

Bei der Untersuchung des Parameters morphologische Spermienkopffdefekte stellte sich heraus, daß die beiden sehr hohen Werte, von Nachtaffe und Mensch, in der Gruppe monandrisch angesiedelt waren (siehe **Abb. 33**). Darüber hinaus waren die Werte in dieser Gruppe sehr heterogen. Sie differierten von 63,75 % (Nachtaffe (*Aotus*)) bis 5,25 % (Pavian (*Papio hamadryas*)). Die polyandrische Gruppe hingegen zeigte sich sehr viel einheitlicher in den Verteilungen der Werte, welche auf einem sehr viel niedrigerem Niveau lagen. Das Maximum betrug knapp über

10 %. Trotzdem wiesen diese Gruppen statistisch keinen signifikanten Unterschied auf (Mann-Whitney U-Test, $N_1 = 5$, $N_2 = 9$; $U = 45$; $p = 0,351$).

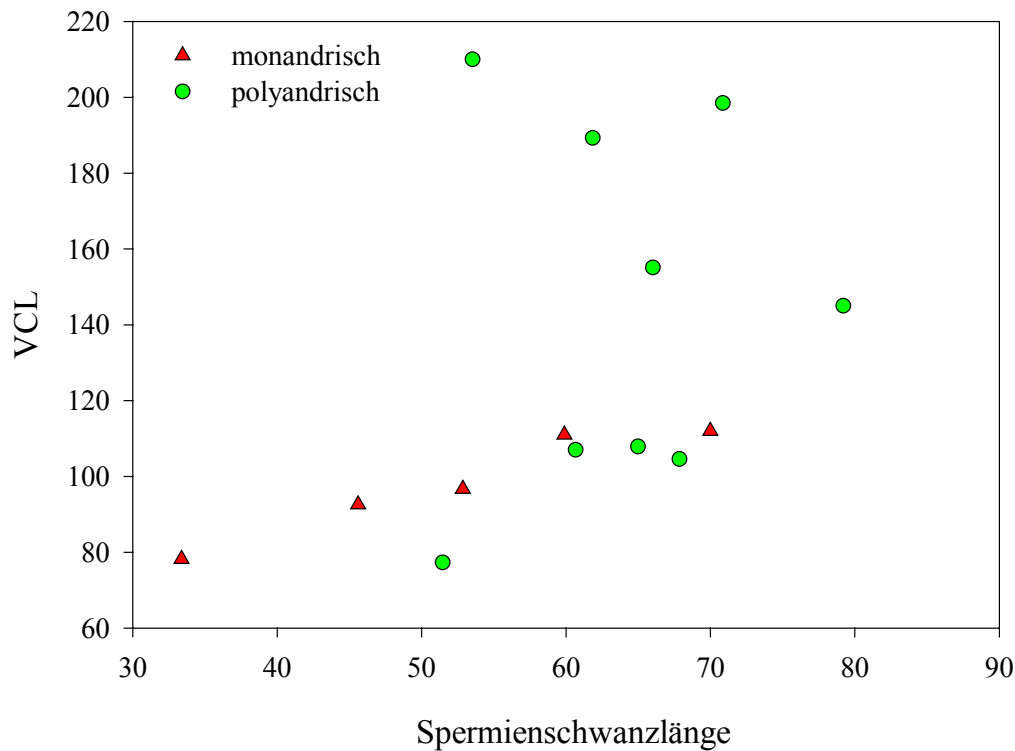


Abb. 35: Verknüpfung von Spermieschwimmgeschwindigkeit (VCL in $\mu\text{m/s}$) und der Spermieschwanzlänge (in μm), unterschieden nach monandrisch ($n = 5$) und polyandrisch ($n = 9$),

Monandrische Spezies: $r = 1,0$ $p < 0,05$

polyandrische Spezies: $p > 0,05$

Die tatsächliche Spermien schwimmgeschwindigkeit war bei den monandrischen Spezies insgesamt niedriger und in einem engen Rahmen von 78-112 $\mu\text{m/s}$. Die polyandrischen Spezies wiesen eine enorme Streuung (77-210 μm) der Werte auf, die teilweise auch weit über denen der monandrischen Spezies lagen.

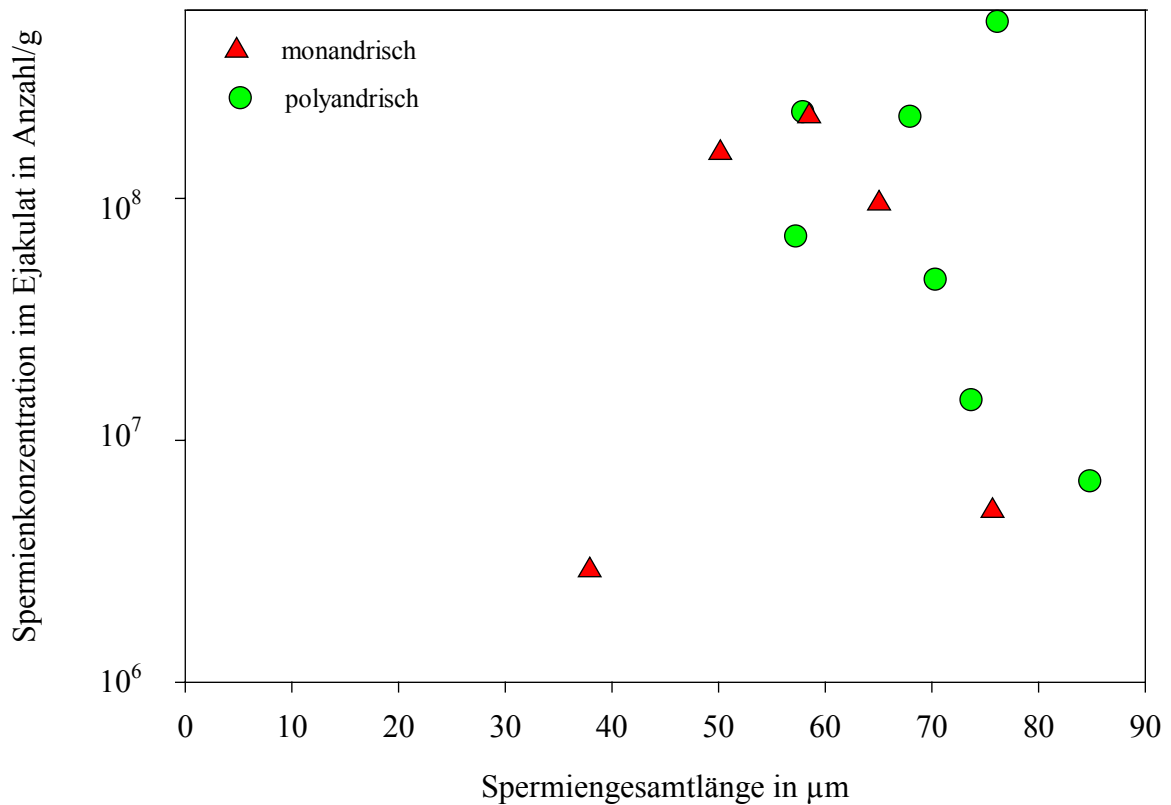


Abb. 36: Verknüpfung von Samendichte (Anzahl/g) und Spermiengesamtlänge (in μm), unterteilt in monandrisch (n= 5) und polyandrisch (n= 9),
Monandrisch: $r = 0,1$ nicht signifikant
Polyandrisch: $r = -0,357$ nicht signifikant

Auch diese Ergebnisse wiesen statistisch keinen signifikanten Unterschied auf ($N_1=5$, $N_2=9$; $U=26$; $p=0,142$) (siehe **Abb. 34**). Die weiteren Daten wurden auf spezifische Fragen der Spermienkonkurrenztheorien hin kombiniert. So wurde deutlich, daß die Parameter Spermien-schwanzlänge und VCL bei den monandrischen Spezies eine positive Korrelation ($r=1,0$) aufwiesen. Bei den polyandrischen Spezies war dies nicht der Fall (siehe **Abb. 35**).

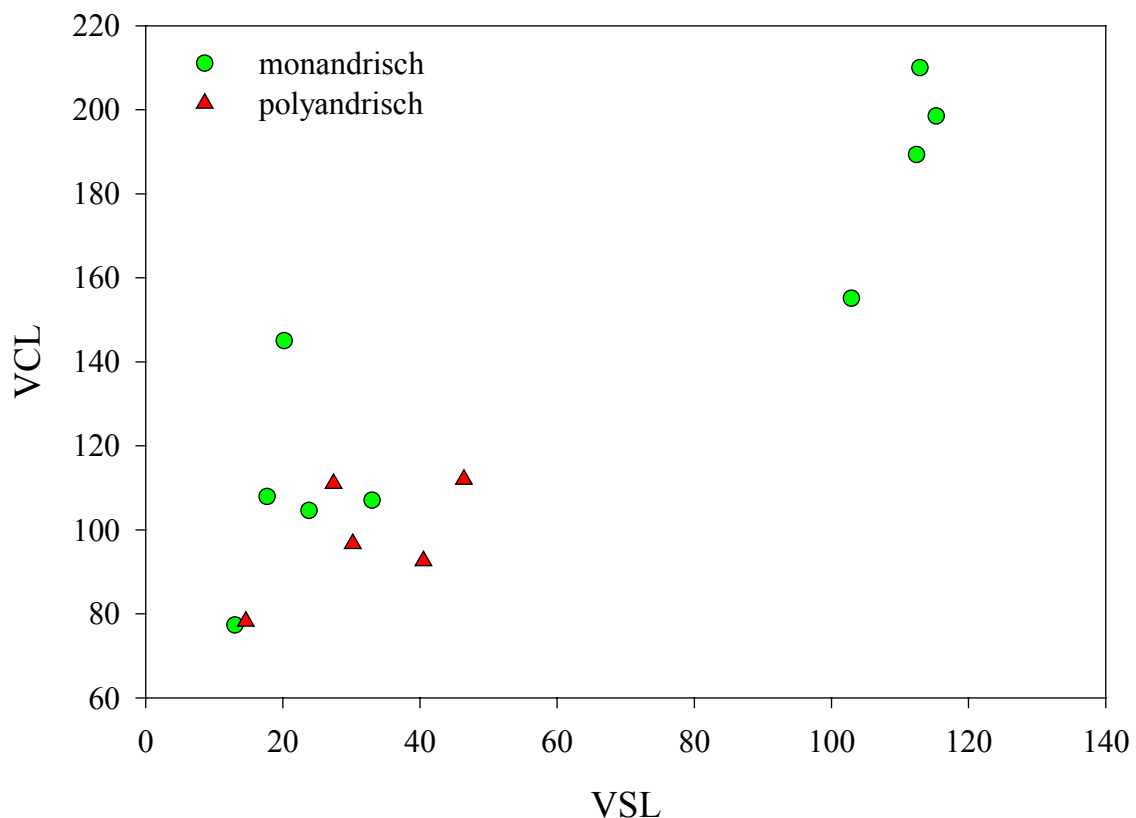


Abb. 37: Verknüpfung von kurvilinear (VCL) und geradliniger (VSL) Geschwindigkeit unterteilt nach monandrisch ($n=5$) und polyandrisch ($n=9$), ($\mu\text{m/s}$)

Monandrische Spezies: $r=0,6$ nicht signifikant

Polyandrische Spezies: $r=0,85$ $p<0,05$ signifikant

Für Spermienkonzentration und Spermiengesamtänge konnten weder bei den monandrischen ($r=0,1$) noch bei den polyandrischen ($r=-0,357$) Spezies signifikante Abhängigkeiten festgestellt werden (siehe **Abb. 36**). Die Gegenüberstellung der VCL und VSL erbrachte bei den monandrischen einen Korrelationskoeffizienten von 0,6 (nicht signifikant), bei den polyandri-

schen einen Koeffizienten von 0,85, der signifikant war (siehe **Abb. 37**). Die Gesamtheit der morphologischen Defekte und die VCL zeigten keine signifikanten Abhängigkeiten. Der Anteil der morphologischen Spermiendefekte wies bei den polyandrischen Spezies einen Koeffizienten von 0,07, bei den monandrischen Spezies einen Korrelationskoeffizienten von $-0,9$ auf (siehe **Abb. 38**).

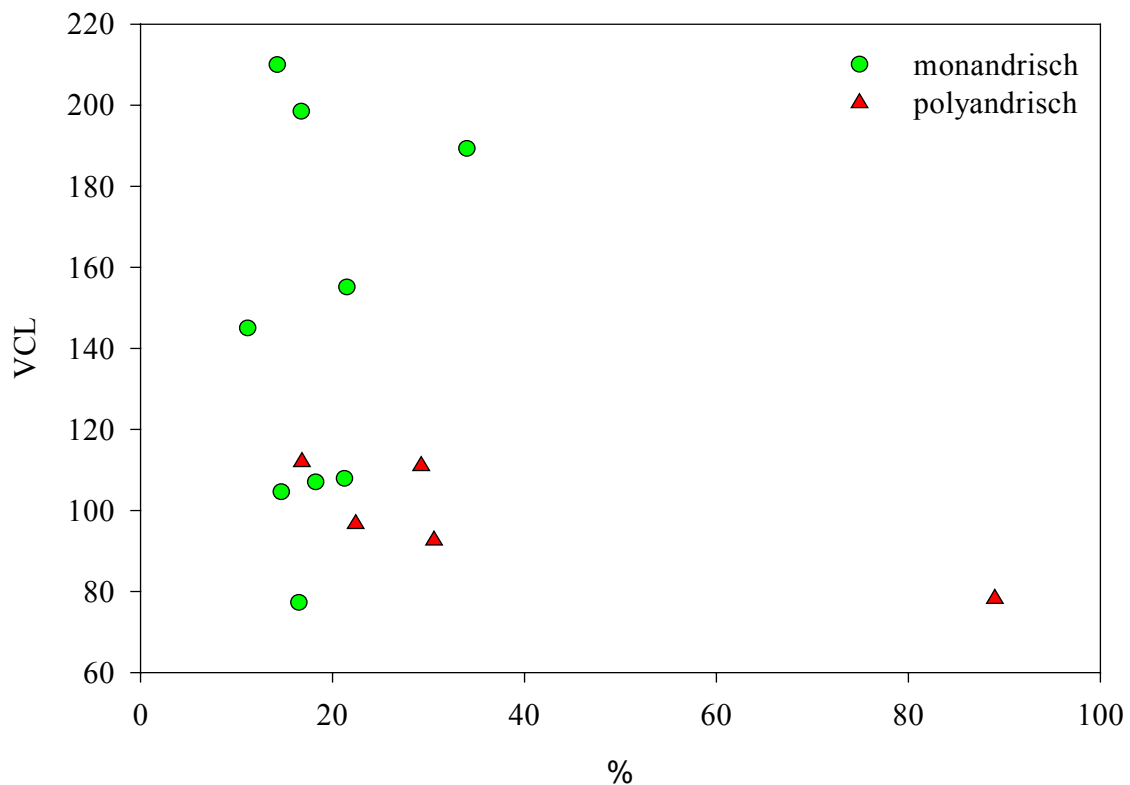


Abb. 38: Verknüpfung der Gesamtheit der Spermiendefekte (in %) und der kurvilinearen Geschwindigkeit (VCL) (in $\mu\text{m/s}$), unterteilt in monandrisch ($n=5$) und polyandrisch ($n=9$),

Monandrisch: $r = -0,9$ nicht signifikant

Polyandrisch: $r = 0,07$ nicht signifikant

4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden Ejakulate und Samenleiterpunktate von 66 Primaten aus 14 repräsentativen Spezies aller 4 Haupttaxa (Halbaffen, Neuweltaffen, Altweltaffen, Menschenartige) dieser Ordnung untersucht. Diese 14 Primatenspezies wurden 4 unterschiedlichen Paarungssystemen zugeordnet, so daß die ermittelten Daten auch unter dem kontrovers diskutierten Aspekt der Spermienkonkurrenz betrachtet werden konnten. Durch Verwendung derselben Analysemethoden für Spermienmotilität, -morphologie und morphometrie bestand die Möglichkeit die so erfaßten Daten zu vergleichen.

Die folgende Diskussion der Ergebnisse konzentriert sich primär auf die fünf der Arbeit zugrunde liegenden Hauptfragen. Einige weitere ergeben sich aus den ermittelten Ergebnissen.

Folgende Aspekte werden erörtert:

1. Einfluß der Ejakulatgewinnungsmethoden auf Ejakulat- und Spermienparameter.
2. Eignung des genutzten Computeranalysesystems für die Spermienanalysen bei Primaten.
3. Bestehen einer Abhängigkeit des Anteils morphologischer Spermiendefekte zum Paarungssystem.
4. Vorhandene Korrelation zwischen morphometrischen und kinematischen Spermienparametern.
5. Beeinflussung der Spermienparameter durch das Paarungssystem und darin impliziert die Intensität der Spermienkonkurrenz.

4.1 Einfluß der Ejakulatgewinnungsmethoden auf Ejakulat- und Spermienparameter

In der vorliegenden Studie wurden als Ejakulatgewinnungsmethoden Masturbation, penile Vibrostimulation, Elektroejakulation und Punktion des Samenleiters angewandt. Sie beeinflussten auf unterschiedliche Art und Weise einzelne oder auch mehrere Ejakulat- bzw. Spermienparameter. Es wurde ein Einfluß auf die Ejakulatmenge, die Anzahl zytoplasmatischer Tropfen, die Ejakulatviskosität und die Nutzbarkeit für Motilitätsanalysen festgestellt. Die verwendeten Methoden können in zwei Kategorien unterteilt werden: Gewinnung vollständiger Ejakulate ohne Sedation (Masturbation, PVS) und die Gewinnung

von Teilejakulaten bzw. Punktaten unter Sedation (Elektroejakulation, Punktion des Samenleiters). Dies lehnt sich an eine Einteilung von WATSON (1978) an, der zusätzlich zwischen ejakulatorischen und anejakulatorischen Gewinnungsmethoden unterscheidet. Da nur in wenigen Fällen vollständige Ejakulate gewonnen werden konnten, mußte überwiegend auf Teilejakulate zurück gegriffen werden.

Diese hierzu verwendeten Gewinnungsmethoden besitzen den Vorteil, daß sie grundsätzlich für alle Spezies einsetzbar sind (HOLT 1986).

Um die Abweichungen innerhalb einer Methode zu minimieren, wurden bei ihrer Anwendung einheitliche Protokolle eingehalten.

Die wenigen Ejakulate, die durch Masturbation oder penile Vibrostimulation gewonnen werden konnten, waren von guter Qualität und Quantität und wiesen jeweils liquide Anteile auf, die für alle Analysen genutzt werden konnten. Die darin befindlichen Spermienpopulationen waren heterogen und enthielten Spermien verschiedener Reifestadien. Darüber hinaus war die Ejakulatgewinnung für die Probanden mit nur geringem Streß verbunden. Trotz dieser Vorteile ist die generelle Anwendung dieser Verfahren auch bei anderen Spezies schwierig. Sie erfordern eine zeitintensive Vorarbeit und eine intensives Training der Tiere, welche sehr gut an den Menschen gewöhnt sein müssen, um Ablenkungsfaktoren und Streßeinflüsse zu minimieren. Bei der penilen Vibrostimulation dürfen die Tiere eine maximale Größe (vergleichbar mit einem Kaninchen) nicht überschreiten. Eine unsedierte Handhabung ist ansonsten kaum noch zu ermöglichen. Dies erklärt das Vorliegen nur weniger Berichte über diese Methode, wie z.B. von KÜDERLING et al. (2000), die sich mit Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*) und YEOMAN et al. (1998), die mit Totenkopffaffen (*Saimiri sciureus*) befaßten. Beide Arten sind Neuweltaffenspezies, die unter einem Kilogramm wiegen.

Bei der Nutzung der von KÜDERLING et al. (2000) etablierten PVS zeigte sich ein Trainigseffekt der Tiere, so daß bei den wenigen Probanden, die mehrfach zur Ejakulatgewinnung genutzt wurden, eine schnellere Reaktion erfolgte und ein niedrigerer Stimulus zur Gewinnung eines Ejakulates erforderlich war. Insgesamt galt dies sowohl für die PVS (YEOMAN et al. 1998) als auch für die Elektroejakulation (BENNETT 1967).

YEOMAN et al. (1998) verglichen bei Totenkopffaffen (*Saimiri sciureus*) Elektroejakulation mit PVS und zeigten, daß qualitativ hochwertigere Ejakulate durch native Methoden gewonnen werden können.

Masturbation wird bei vielen Primatenspezies beobachtet. Sie gehört nach WATSON (1978) in das normale Verhaltensmuster der Tiere. Die gezielte Masturbation hingegen konnte nur bei höheren nichthumanen Primaten, überwiegend bei Menschenaffen antrainiert werden. WATSON (1978) berichtet dies bei einem Schimpansen, der gegen Belohnung masturbierte. Der in der vorliegenden Studie untersuchte Bonobo konnte durch bestimmte Pfleger zur Masturbation aufgefordert werden. Dabei handelte es sich um ein von Hand aufgezogenes Tier, welches kein normales Paarungsverhalten mehr zeigte und keine „Vormacher“-funktion innerhalb der Gruppe ausübte. DURRANT (1990) berichtete von Altweltaffen, die auf die Spermienabgabe trainiert waren und durch die eine große Anzahl an Ejakulaten gewonnen werden konnte. Prinzipiell ist die Masturbation gegen Belohnung eine geeignete Möglichkeit ohne Eingriff in die Sozialstruktur von Gruppen komplette Ejakulate von einigen gefährdeten Spezies zu gewinnen und Reproduktionstechniken wie die künstliche Besamung zu etablieren.

Die Sedation der Tiere bei Nutzung der Elektroejakulation oder der Samenleiterpunktion beeinflusste die Ejakulatgewinnung insofern, als z. B. eine schlechtere Erektion oder eine Urinkontamination der Proben auftraten. Spontanejakulationen wie KRAEMER und VERA CRUZ (1969) bei einem Pavian unter Sernylan-Sedation beschrieben, konnten weder unter Ketamin noch unter Saffan beobachtet werden. Auch eine Veränderung des Ejakulates in Form, einer Zunahme der koagulierten Ejakulatanteile in tiefer Sedation, wie von LANG (1967) bei Totenkopffaffen erwähnt, trat nicht auf. Dennoch ist die Elektroejakulation für die Samengewinnung bei nichtmenschlichen Primaten als Methode der Wahl anzusehen.

Bei der Elektroejakulation wird je nach Lage der Sonde eine unterschiedlich große Masse an Seminalplasma gewonnen. Dieses liegt in unterschiedlicher Konsistenz vor (von komplett flüssig bis komplett koaguliert), abhängig von den akzessorischen Geschlechtsdrüsen, die bei der Stimulation gereizt wurden. Nach DIXSON (1998 a) tritt Koagulation bei Kombination der Sekrete von Prostata und Samenblasendrüse auf. Die praktische Anwendung hat gezeigt, daß es nicht möglich ist für die Rektalsonde eine standardisierte optimale Positionierung festzulegen.

Ebenso ist die Reizintensität individuell sehr variabel, so daß eine Angabe von Standardwerten schwierig ist und immer ein breites Spektrum überspannt.

Einige Ejakulatparameter (Masse, liquider Anteil, Anteil motiler Spermien) wurden auch durch den Gewöhnungseffekt der Tiere an diese Prozedur beeinflusst. Wie BENNETT (1967) bei Totenkopffaffen (*Saimiri sciureus*) beschrieb, konnte bei Tieren, die mehrfach zur Elektroejakulation herangezogen wurden, mit geringerer Reizdosis und bei schnellerer Reaktion quantitativ größere und qualitativ bessere Ejakulate gewonnen werden. Einen größeren Einfluß als die Samengewinnungsmethode hat das genutzte Tyrodes- Laktat-Verdünnungsmedium vor allem auf die Motilität. Dieses erwies sich in dieser Arbeit als sehr gut verwendbar. Auch HOLT (1986) konnte nachweisen, daß das Nährmedium und die Bearbeitungsmethode einen wesentlichen Einfluß auf die Spermienmotilität besaßen. Prinzipiell wiesen die Elektroejakulate eine ausreichende Qualität auf, da sie erfolgreich zur künstlichen Besamung bei Rhesusaffen (*Macaca mulatta*) genutzt werden konnten (HOLT 1996).

Die häufig weitaus schlechtere Qualität von Elektroejakulaten gegenüber Masturbations- oder PVS- Ejakulaten kann durch das von SCHAFFER et al. (1991) bei Gorillas beschriebene Phänomen des retrograden Ejakulatrückflusses in die Blase bedingt sein. Daraus resultierten je nach gewonnener Ejakulatfraktion eine geringe Ejakulatmasse und eine geringe Spermienkonzentrationen.

Für die Methode der Samenleiter- bzw. Nebenhodenpräparation lieferten GARDE et al. (1998) und KISHKAWA et al. (1999) gute Grundlagen. Sie untersuchten bei Hirschen und Mäusen die Überlebenszeiten für Spermien und Befruchtungsraten nach dem Tod der Tiere und ermittelten Anhaltswerte für die maximale Verweildauer der Organe im verstorbenen Tier, um Spermien noch nutzen zu können (Motilitätsanalysen bis 20 Tage p.m., Befruchtung bis 5 Tage p.m.).

Gerade bei einer Euthanasie von Tieren beeinflusst die Zeitspanne, die das genutzte Medikament (T 61, Narcoren) auf die Spermien einwirkt, in hohem Maße deren Motilität und Überlebensfähigkeit. Dies konnte in der vorliegenden Studie bei der Gewinnung der Samenleiterpunktate der Kapuzineraffen festgestellt werden.

AMANN et al. (1976) lokalisierten bei Rhesusaffen (*Macaca mulatta*) ein großes extragonadales Spermienreservoir im Samenleiter.

Die in der vorliegenden Arbeit durch Punktion des Samenleiters gewonnenen Proben lagen ohne umgebendes Medium vor und wiesen daher eine geringe Masse und eine hohe Spermienkonzentration auf. Aufgrund des Fehlens von Sekreten der akzessorischen Geschlechtsdrüsen und der Suspension der Spermien in einem Nährmedium koagulierte die Proben nicht.

Die Samenleiterpunktate wiesen einen höheren Anteil morphologischer Veränderungen in Form zytoplasmatischer Tropfen auf. Ähnliche Ergebnisse erhielten MARKS et al. (1994), die mit post-mortem Spermienproben aus Samenleiter und Nebenhoden eines Rüden arbeiteten. Dies zeigt, daß im Samenleiter noch viele unreife Spermien aufzufinden sind, die ein anderes Bewegungsmuster als reife Spermien aufweisen (geringere Linearität).

HOLT (1994) sieht Spermien aus Nebenhoden und Samenleiterpunktate als besonders geeignete für assistierte Reproduktionstechniken, da negative Einflüsse der akzessorischen Sekrete fehlen. Auch MORRELL (1996) fand bei Nebenhodenspermien von Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*) eine höhere Motilität und bessere Nutzbarkeit für die künstliche Besamung. Dieser Aspekt muß bei anderen Spezies noch überprüft werden.

Abschließend sind die Samengewinnungsmethoden folgendermaßen zu beurteilen: Da die Elektroejakulation bei den meisten Primatenspezies die Methode der Wahl ist und bleiben wird, sollte man diese Technik weiter etablieren und verbessern, um die Verträglichkeit für die Tiere z.B. gezieltere Impulssetzung weiter zu erhöhen.

Auch die Gewinnung von Nebenhoden- oder Samenleiterpunktaten muß weiterentwickelt und verbessert werden, um eine Nutzung der genetischen Ressourcen sterbender oder euthanasierter Tiere zu gewährleisten. Hierbei sollte ein einheitliches Protokoll genutzt werden, um eine Vergleichbarkeit der Daten zu ermöglichen. Eine Probengewinnung und -bearbeitung sollte innerhalb der ersten Stunde nach Organentnahme bzw. Tod des Tieres erfolgen, da bei längeren Zeiträumen eine umfassende Nutzung der Spermien nicht mehr möglich ist.

4.2 Eignung des Spermienanalysesystems

Der in dieser Studie genutzte Hobson Sperm Tracker (HST) bietet zwei verschiedene Analysemöglichkeiten: Die Spermienmotilitäts- und die Spermienmorphometrieanalyse.

Prinzipiell arbeitet der HST wie die Grundform der von BOYERS et al. (1989) beschriebenen computerassistenten Spermienmotilitätsanalyse (CASA). Sie sahen die CASA als geeignete Möglichkeit einer objektiven und präzisen Spermienanalyse an, die darüber hinaus in kurzer Zeit eine Vielzahl von Proben untersuchen kann. Hierbei werden sowohl verschiedene Spermengeschwindigkeiten exakt angegeben als auch die Form der Bewegung beschrieben.

Da die unterschiedlichen CASA Systeme verschieden arbeiten, ist es erforderlich eine vergleichende Studie mit demselben Analysegerät durchzuführen und nicht Daten von weiteren Studien zu nutzen, die mit anderen CASA Systemen gearbeitet haben.

Der Hobson Sperm Tracker (HST) wurde bereits von HOLT und PALOMO (1996) beschrieben und wurde von diesen für Ejakulatanalysen der Spezies Schaf etabliert. Danach muß für jede Spezies und jede Vergrößerung eine neue Feinabstimmung verschiedener Parameter (z.B. Suchradius) des Gerätes erfolgen. Diese wurde für Primaten bereits von MORRELL (1996) am Modelltier Weißbüschelaffe vorgenommen.

Mit Unterstützung dieses Spermienanalysesystems bestand in dieser Arbeit die Möglichkeit, die Motilität der Spermien durch Messung der kurvilinearen (VCL) und geradlinigen (VSL) Spermengeschwindigkeiten zu charakterisieren. Zusätzlich konnten weitere Bewegungsparameter wie die Beat cross Frequency (BCF) und die Linearität (LIN) der VCL erfaßt werden. Auch von YEUNG et al. (1992) wurde die praktische Eignung solcher Spermientracker für die Feststellung des Bewegungsmusterwechsels der Spermien während der Nebenhodenpassage hervorgehoben. Darüber hinaus stellte der HST den Anteil motiler Spermien in der Probe fest und nahm die Einteilung nach WHO Richtlinien für Humanspermien vor. Damit ist diese Methode im Vergleich zur mikroskopischen Schätzung als objektiver und genauer zu beurteilen. In der Literatur sind für den Anteil motiler Spermien und die Art der Bewegung (Progressivität) überwiegend subjektive Einteilungen zu finden, die aufgrund der schwierigen Zuordnung in eine Kategorie und deren Zuordnungsbereiche als relativ ungenau zu bewerten sind (BUSH et al. 1975, SEIER et al. 1989). In diesem

Zusammenhang beobachteten HOLT und PALOMO (1996), daß das menschliche Auge sich schnell bewegende Objekte bevorzugt und damit ihren Anteil leicht überbewertet.

Bei der automatisierten Analyse darf nicht außer acht gelassen werden, daß für die Motilitätsanalyse vom Untersucher Blickfelder ausgewählt wurden, in denen motile Spermien vorliegen. Da es sich also nicht um zufällig ausgewählte Bereiche handelte, mußte der Wert für den prozentualen Anteil motiler Spermien kritisch betrachtet und grundsätzlich auch mit dem subjektiven Eindruck des Untersuchers von der gesamten Ejakulatprobe abgeglichen und gegebenenfalls herunterkorrigiert werden (wenn z. B. ausserhalb des Analysefeldes zahlreiche immotile Spermien lagen). Bei vielen Motilitätsanalysen war dies erforderlich.

Insgesamt stellte sich vor allem die praktische Durchführung der Analysen der Spermienproben aufwendig dar, bedingt durch den recht großen Umfang des Spermienanalysesystems. Um eine zeitnahe Analyse zu gewährleisten, mußte das Laborequipment mit in die einzelnen Institutionen genommen werden. Ob diese unterschiedlichen, nicht standardisierbaren äußeren Bedingungen (Luftfeuchtigkeit, Temperatur) einen Einfluß auf die Analysen des HST hatten ist fraglich.

Vor jeder Analyse mußten der Suchradius, der Erkennungsmodus und die Verweildauer im Analysefeld des HST individuell für die Spezies eingestellt werden. Da Primatenspermien im Speziesvergleich keine großen Unterschiede der Kopfgröße aufweisen, waren für diese Einstellungen gewöhnlich nur kleine Veränderungen erforderlich.

Somit ist Motilitätsanalyse der Primatenspermien durch den HST als ein geeignetes Verfahren zur Beurteilung der kinematischen Spermienparameter zu beurteilen.

Die für die Spermienvermessung und –beurteilung verwendete Hobson Sperm Morphology (HSM) Software wurde bisher nicht von anderen Autoren beschrieben, so daß eine Diskussion im Vergleich mit Angaben aus der Literatur nicht erfolgen kann.

Bei der HSM besteht keine Möglichkeit der äußeren Einflußnahme auf eventuell falsche Messungen einzelner Spermienköpfe oder des Akrosomanteils und der Kopfform. So konnten Korrekturen z. B. durch engere Erfassung eines Spermienkopfes oder auch Ausschluß eines Schmutzpartikels nicht vorgenommen werden. Die einzige Möglichkeit, diese Fehlmessungen zu vermeiden, bestand darin, einen anderen Spermienkopf zur Vermessung auszuwählen.

Nach Überprüfung mit einem mikroskopischen Verfahren zeigten sich trotzdem korrekte Ergebnisse.

Bei Wahl der automatischen Spermischwanzmessung wurden die nach Papanicolaou gefärbten Spermischwänze nicht ausreichend erkannt und vor allem die Spermischwanzenden gar nicht registriert. Zusätzlich wurden unbegründet nicht vorhandene Spermischwänze gemessen und die Daten für diese angegeben.

Ein Grund dürfte der kleine Bildschirmausschnitt (ein Viertel der Bildschirmfläche) und die relativ grobe Auflösung sein. Insgesamt ist festzuhalten, daß die HSM zwar eine Möglichkeit der vergleichenden Untersuchung von Spermienlängen offeriert, diese jedoch vor allem bei den Spermienkopffparametern nur unzureichend genau ist. Auch ließ sich die morphometrische Spermienanalyse nicht so zügig und automatisiert wie vom Hersteller beschrieben durchführen. Es bleibt zu prüfen, ob eventuell native (ungefärbte) Spermien im Dunkelfeld besser analysiert werden können.

Aufgrund der genannten Schwierigkeiten mußten in der vorliegenden Studie sämtliche Spermischwänze manuell gemessen werden.

Die Morphometrieanalyse mit dem Axiophot/Open lab System ist hervorragend für die exakte Vermessung der Spermien geeignet. Mit Hilfe dieses Systems konnten die einzelnen Spermienmaße unabhängig voneinander bestimmt werden. Bei etwa gleichem Zeitaufwand sind die Ergebnisse der Morphometrie im Vergleich zur HSM wesentlich genauer. Auch schwächer angefärbte Spermienabschnitte konnten in die Analyse einbezogen werden, was auf die bessere Bildschirmauflösung und das größere Auswertungsfeld zurückzuführen ist. Daher lassen sich selbst bei geringerer Vergrößerung klare und exakte Bilder darstellen.

Lediglich die jeweils neu durchzuführende Kalibrierung des Meßbildschirmes ist als kleiner Nachteil anzusehen.

4.3 Zusammenhang zwischen Spermienmorphologie und Paarungssystem

Es konnten einige interessante Verknüpfungen von morphologischen Spermiendefekten und dem Paarungssystem festgestellt werden. Spermienkopfdefekte traten vermehrt bei den Spezies Mensch und Nachtaffe auf. Hierbei zeigte der Nachtaffe Defekte bei nahezu jedem zweite Spermienkopf.

Vergleichbare Ergebnisse fand DIXSON (1998 b) ebenfalls bei Nachtaffen (*Aotus*) (n=19). Nach seinen Erkenntnissen war bei dieser Spezies nicht nur die Spermienkonzentration sehr gering, sondern auch ein hoher Anteil morphologisch defekter Spermien (nicht genauer differenziert) festzustellen, so daß es nach seinem Dafürhalten verwunderlich ist, daß sich diese Spezies überhaupt noch fortpflanzen kann. Über 50% morphologischer Kopfabweichungen wurden von MARTIN et al. (1975) bei Menschen und Gorillas festgestellt. Die Werte der Spermienkopfveränderungen bei Gorillas von PLATZ et al. (1980) bestätigt. Sie stellten in den Ejakulaten über 80 % defekte Spermienköpfe fest. Allerdings bezogen sich ihre Erkenntnisse auf nur zwei Ejakulate, die von einem Tier gewonnen wurden. Die Spermienchwanzdefekte der in der vorliegenden Studie untersuchten Spezies lagen in einem prozentual niedrigen (4-23%) und interspezifisch ähnlichen Rahmen bei geringer Varianz. Interindividuell zeigten sich allerdings große Unterschiede. CUI et al. (1991) stellten dagegen bei ihren Versuchen mit Weißbüschelaffen (*Callithrix jacchus*) extrem hohe Anteile an Spermienchwanzdefekten (Mittelwert 50%) fest, die überwiegend nicht spermatogenetisch bedingt waren, sondern bearbeitungsbedingt auftraten (Halsbrüche, Schwanzknickungen, aufgerollte Spermienchwänze).

SEIER et al. (1989) wies bei Meerkatzen einen Unterschied in der Art der morphologischen Spermiendefekte zwischen einzeln sitzenden und verpaarten Männchen nach. Die Zuchttiere zeigten insgesamt mehr Defekte, die fast ausschließlich den Spermienchwanz betrafen. Bei den einzeln gehaltenen Tieren waren auch vermehrt Spermienkopfveränderungen zu beobachten. Derartige Unterschiede konnten in dieser Arbeit nicht nachgewiesen werden.

Persistierende Zytoplasmatropfen, als Kennzeichen unreifer Spermien, traten bei nur fünf der untersuchten Spezies auf. Bei den Kapuzineraffen war es in dieser Studie auf die Nutzung von Samenleiterpunktaten zurückzuführen. BUSH et al. (1975) zeigten in ihrer Studie mit einzeln sitzenden Kapuzinern (*Cebus apella*) eine Zunahme der Anzahl zytoplasmatischer Tropfen in Elektroejakulaten im Laufe der 6 monatigen Studie mit erst einmal und dann zweimal wöchentlicher Ejakulatgewinnung und dürfte somit der beschleunigten Nebenhodenpassage zuzuordnen sein.

Anhand der in diesem Projekt erhaltenen Ergebnissen ergeben sich neue Fragen. Es ist fraglich, ob nicht eine, wie von LEIDL et al. (1971) genutzte, Klassifizierung in defekte und intakte Spermien sinnvoller gewesen wäre. Sie differenzieren nach normal und pathologisch

geformten Spermien, von denen sie die pathologisch geformten weiter nach primären und sekundären Mißbildungen unterteilen. Somit könnten die bereits in der Spermatogenese entstandenen und tatsächlich relevanten Mißbildungen besser und genauer bestimmt und ihre Folgen berücksichtigt werden und Spermien die einen zytoplasmatischen Tropfen aufweisen würden aus der „morphologisch defekt“- Kategorie herausfallen. WILDT (1996) stellt die Spermienmorphologie und vor allem ihre primären Defekte als Merkmale der Funktion des Keimepithels heraus und sieht sie als rückschlußfähigen Hinweis auf Fertilitätsprobleme an.

Möglicherweise eignet sich der Parameter „morphologische Spermienkopffdefekte“ dazu, eine Spezies in das Paarungssystem monandrisch bzw. monogam einzuordnen. Vor allem Kopffdefekte waren vermehrt bei monandrischen und hier im speziellen bei monogamen Spezies anzutreffen. Zu diesen konnten der Mensch und der Nachtaffe (*Aotus*) gezählt werden. Der Weißbüschelaffe (*Callithrix jacchus*) zeigte allerdings sehr wenig defekte Spermienköpfe und wäre danach vielmehr einem polyandrischen (z.B. dem Vielmännchen-Vielweibchen System) Paarungssystem zuzuordnen.

Nur bei einem relativ streng monogamen Verhalten kann sich das männliche Individuum eine schlechtere Spermienqualität leisten, da weitere Bedeckungen und Fertilisierungschancen nur unter Voraussetzung der Monogamie, (d.h. ohne prä- und vor allem postkopulatorischen Konkurrenzkampf) möglich sind.

Dementsprechend konnten bei polyandrischen Spezies weitaus weniger morphologische Defekte festgestellt werden. Diese Ergebnisse untermauern die Daten von HARCOURT (1991), der bei polyandrischen Spezies keine höheren Anteile polymorpher Spermien feststellte und eine morphologisch relativ homogene Spermienpopulation beschrieb.

Häufiger als monandrische zeigten polyandrische Spezies jedoch Spermien mit persistierendem zytoplasmatischen Tropfen. Als ein Charakteristikum unreifer Spermien, war dies durchaus für diese Spezies, die im Gegensatz zu monandrischen Spezies eine wesentlich höhere Kopulationsfrequenz aufweisen, in Phasen hoher sexueller Aktivität (unabhängig von der Ejakulatgewinnungsmethode) erklärbar. In der vorliegenden Arbeit traten Zytoplasmotropfen, mit Ausnahme des Menschen, nur bei polyandrischen Spezies auf.

Des weiteren bleibt fraglich, ob das Bild eines „normalen“ Spermiums tatsächlich für alle Primatenspezies in der bestehenden Form aufrecht erhalten werden kann oder ob monogame

Spezies eventuell eine andere „Normalform“ aufweisen. Möglicherweise besitzen aber auch Spermien, die bisher als deformiert und defekt gelten eine noch unbekannte Funktion während der Fertilisation. SIVINSKI (1984) weist den morphologisch veränderten Spermien eine Funktion in bestimmten Bereichen des weiblichen Genitales zu, die allerdings noch nicht genauer bekannt ist. Allerdings konnte eine Funktion der morphologisch defekten Spermien als nichtfertilisierende „Kamikaze“-spermien, wie in der Literatur von BAKER und BELLIS (1988) beschrieben, für die monogamen Spezies ausgeschlossen werden, da eine solche zusätzliche Energieaufwendung nur bei einer hohen Spermienkonkurrenz sinnvoll erscheint (MØLLER 1991). Auch eine Nutzung dieser Spermien in einem sogenannten Kopulationspfropfen ist unwahrscheinlich, da dieser bisher nur von polyandrischen Spezies bekannt ist.

Dieser These widerspricht allerdings das vorher erwähnte Beispiel der Nachtaffen, die zwar einen hohen Anteil morphologischer Abweichungen und eine geringe Spermatogenese zeigen, trotzdem aber normal züchten und keine Fertilitätsprobleme zeigen. Allerdings sollten zu einer Prüfung dieser These weitere Untersuchungen an Spezies durchgeführt werden, die einen hohen prozentualen Anteil an morphologischen Spermienkopfdefekten zeigen, auch um zu zeigen ob sich diese Hypothese bei mehr als zwei Spezies aufrecht erhalten läßt. Vielleicht sind auch die als defekt eingeordneten Spermien intakt und weisen ihr komplettes Fertilisierungspotential auf. Dies müßte mit Hilfe von weitere Prüfungen biochemischer Natur geschehen. So ist eine interessante Frage, ob die Membranen der Spermien mit den normalen Spermien vergleichbar sind? Auch ist fraglich, ob die „defekten“ Spermien DNA enthalten und ob sie bei In-vitro Fertilisationen einsetzbar sind.

Die Ergebnisse dieser morphologischen Untersuchung zeigten Tendenzen auf die Intensität der bestehenden Spermienkonkurrenz, der ein Individuum unterliegt, auf. Zu klären bleibt jedoch, ob die Ejakulatqualität und damit eventuell auch der Anteil morphologisch intakter Spermien, abhängig von der Attraktivität des Kopulationspartners variiert.

4.4 Zusammenhang zwischen Spermienmotilität und Spermienmorphologie bzw. -morphometrie?

Bezüglich der morphologischen Defekte, der Spermienlänge und der unterschiedlichen Spermengeschwindigkeiten ergaben sich bei den verschiedenen Spezies erhebliche Unterschiede.

GOMENDIO und ROLDAN (1991) postulierten bei Primaten und Nagetieren eine Abhängigkeit der kurvilinearen Spermenschwimmgeschwindigkeit von der Spermienchwanzlänge. Sie nahmen höhere Geschwindigkeiten bei längeren Spermienchwänzen an und favorisierten daher lange Spermienchwänze bei Spezies mit Spermienkonkurrenz. Dagegen ordnete PARKER (1993) Spermien mit kurzen Schwänzen eine höhere Geschwindigkeit zu, da diese über ein relativ größeres Mittelstück und entsprechend mehr Mitochondrien und ein größeres Antriebspotential verfügen.

Die Aussagen konnten in dem vorliegenden Projekt nur partiell und für wenige Spezies innerhalb der untersuchten Primaten bestätigt bzw. widerlegt werden. So war bei monandrischen Spezies eine positive lineare Verknüpfung von Spermienchwanzlänge und tatsächlichen Spermengeschwindigkeit (VCL) nachweisbar. Bei den polyandrischen Spezies waren keine derartigen Zusammenhänge zu erkennen. Aus den Ergebnissen der vorliegenden Studie kann auf scheint ein Optimum an Spermienchwanzlänge polyandrischer Spezies geschlossen werden, welches ein Maximum von 70µm aufweist. Darüber hinausgehende Längen scheinen, vielleicht auch durch das ungünstigere Verhältnis von Spermienlänge und Mitochondrienanzahl bedingt, nicht so hohe Geschwindigkeiten hervorzubringen zu können.

Ähnlich zeigten sich die Ergebnisse bei dem Anteil morphologischer Abweichungen in Bezug auf die Schwimmgeschwindigkeit. Bei den monandrischen Spezies zeigte sich eine höhere Spermengeschwindigkeit bei den Proben, die eine geringere Anzahl an Spermiendefekten aufwiesen. Dies bestätigt die Ergebnisse von GREEN und FISHEL (1999). Sie beobachteten bei der Subpopulation der hyperaktiven humanen Spermien weniger morphologische Defekte. Die polyandrischen Spezies zeigten insgesamt einen sehr niedrigen Anteil an morphologischen Defekten, so daß keine Abhängigkeit zur Spermengeschwindigkeit feststellbar war.

Für folgende Forschungsvorhaben in diesem Bereich sollte unbedingt der interessante Aspekt der unterschiedlichen Form der Bewegung in Bezug auf die Spermischwanzlänge mit berücksichtigt werden.

Bezüglich der Linearität waren beim Mausmaki (*Microcebus murinus*), der die längsten Spermien aufweist, die geringsten Werte zu finden. Die höchste Linearität war bei den Spezies mit den insgesamt höchsten Spermengeschwindigkeiten zu verzeichnen. Diese Spermien wiesen die vermeintlich optimale Spermischwanzlänge polyandrischer Spezies auf. Auch eine direkte Verknüpfung mit den höchsten Werten für die Schlagfrequenz (BCF) der Spermischwänze konnte bei diesen Spezies festgestellt werden. Es konnte jedoch kein eindeutiger Zusammenhang zwischen den morphologischen bzw. den morphometrischen und kinematischen Parametern aufgezeigt werden.

Dies widerspricht vielen in der Literatur aufgestellten Theorien im Hinblick auf die Spermienmorphometrie. Sowohl von ROLDAN et al. (1992) als auch von DIXSON (1998 b) wurde für polyandrische Spezies eine positive Korrelation von Spermischwanzlänge und Spermienchwimmgeschwindigkeit postuliert.

Diesbezüglich sollten weitere Untersuchungen eingeleitet werden, wobei auch die Form der Motilität genauer zu beurteilen ist.

4.5 Abhängigkeit einzelner Ejakulatparameter, Spermienmotilität und –morphometrie von Paarungssystem und Spermienkonkurrenz

Der Bezug einzelner Ejakulatparameter und der Motilitäts- und Morphometrieparameter zum Paarungssystem der einzelnen Spezies und die Beeinflussung dieser Parameter durch die Spermienkonkurrenz wird im Schriftum kontrovers diskutiert. Wie bereits erläutert (4.3) weist der Anteil morphologischer Defekte Zusammenhänge zu verschiedenen Paarungssystemen auf, so daß dieser Parameter ein klares Indiz für Spermienkonkurrenz zu sein scheint.

Anhand anderer Ejakulatparameter, wie der Samendichte, war in dieser Studie kein Einfluß durch des Paarungssystem und damit der Spermienkonkurrenz abzulesen. Nach GOMENDIO und ROLDAN (1991) hingegen wurden dichte Ejakulate für die Spermienkompetition favorisiert. MØLLER (1991) beobachtete als zusätzlichen Vorteil in Bezug auf die Spermienkonkurrenz bei höheren Spermienkonzentrationen auch einen Anstieg des Anteils

intakter Spermien. Diese Aussagen konnten in der vorliegenden Arbeit bei Betrachtung aller 14 Spezies nicht bestätigt werden. Denn nicht nur polyandrische sondern auch monandrische und dort sogar monogame Spezies wiesen durchaus sehr dichte Ejakulate auf.

Im Hinblick auf eine Verknüpfung der Spermienkonzentration mit der Spermienlänge ließ sich nur in Einzelfällen eine Abhängigkeit feststellen. Dies widerlegte die Aussage von PARKER (1993), daß ein Individuum entweder viele kurze oder wenige lange Spermien produziert. Denn nur der Mausmaki (*Microcebus murinus*), der die längsten Spermien der untersuchten Spezies zeigte, wies für polyandrische Spezies untypisch, eine sehr niedrige Spermienkonzentration auf. Dies könnte allerdings auch durch den Zeitpunkt der Probengewinnung bedingt sein. Alle Proben dieser Spezies wurden mitten in der Paarungssaison, in der eine hohe Kopulationsfrequenz gegeben ist, gewonnen.

Da keinen weiteren Untersuchungen außerhalb der Paarungssaison stattfanden bleibt die Frage offen, ob dies die niedrigste oder die höchste Spermienkonzentration ist, die bei Mausmakis auftritt.

Bei einem braunen Maki (*Eulemur fulvus albifrons*) konnte von einem sexuell aktiven Tier (nachgewiesen fertil) mitten in der Paarungssaison per Elektroejakulation ein Ejakulat gewonnen werden, welches zwar sehr großvolumig war und makroskopisch eine sehr hohe Dichte aufwies, mikroskopisch jedoch ausschließlich andere Zelltypen, u.a. Epithelzellen enthielt. Trotzdem fand ein normales Paarungsverhalten statt und die Gelegenheit für Nebenbuhler und deren Fertilisierungsversuche wurden erschwert bzw. unterbunden. Vergleicht man dies mit den Ergebnissen von COOK und WEDDELL (1999), die dies in ihrer Untersuchung als übliche Praxis der intrasexuellen Konkurrenz bei Schmetterlingen nachwiesen, könnte dies auch bei nichthumanen Primaten die Paarungsbereitschaft des Weibchens herabsetzen oder das Ejakulat eines Nebenbuhlers verdünnen. Für andere Säugetiere beschrieb MØLLER (1991) im Falle einer hohen Spermienkonkurrenz eine erhöhte Produktion nicht fertiler Spermien.

Nach den vorliegenden Ergebnissen konnte die Aussage, daß die Spermienlänge durch die Spermienkonkurrenz bestimmt wurde, nicht aufrecht erhalten werden. Dies zeigte auch PARKER (1993). Somit konnte auch ein Zusammenhang von Paarungssystem und Spermienmaßen nicht nachgewiesen werden.

Widersprüchlich stellten sich die Aussagen von GOMENDIO und ROLDAN dar, die zuerst lange Spermien aufgrund der potentiell höheren Geschwindigkeit (1991), dann aber kurze Spermien (1993) aufgrund der vermeintlich höheren Anzahl als konkurrenzfähiger ansahen. In der vorliegenden Arbeit zeigten die Ejakulate polyandrischer Spezies ein breites Spektrum an Spermienlängen.

Insgesamt wiesen die monandrischen Spezies tendenziell kürzere Spermienchwänze auf als die polyandrischen, was auch von GOMENDIO und ROLDAN (1991) für Nagetiere und Primaten beschrieben wird. Eine hohe Spermienchwanzlänge hatte nicht zwangsläufig Auswirkungen auf die Motilität, da auch kurze Spermienchwänze mit einer hohen Spermiengeschwindigkeit verknüpft waren. Besonders interessant stellten sich die Bewegungsmuster der Spermien dar. Hier zeigte sich für die monandrischen Spezies eine sehr einheitliche geringe Geschwindigkeit (VCL), allerdings zeigten auch einige polyandrische Spezies durchaus geringe Geschwindigkeiten, die somit vielen Hypothese der Spermienkonkurrenz widersprachen. So vermutete nämlich DIXSON (1998 b) eine höhere Spermiengeschwindigkeit bei Spezies anzutreffen, die einer höheren Spermienkonkurrenz ausgesetzt waren. Darüber hinaus stellten sich auch die tatsächliche Geschwindigkeit (VCL) und das Wegbewegen von einem Punkt (VSL) sehr unterschiedlich dar. Hier konnten bei Spezies, z.B. dem Mausmaki, mit höheren VCL durchaus auch sehr niedrige VSL festgestellt werden. Damit konnten partiell Aussagen von ROLDAN et al. (1992) untermauert werden, die eine negative Korrelation zwischen der tatsächlichen Geschwindigkeit und der im weiblichen Genital zurückgelegten Strecken entdeckt hatten.

DIXSON (1998 b) sieht die Spermienchwanzlänge vielmehr in einer Abhängigkeit vom relativen Hodengewicht, welches bei polyandrischen Spezies größer war. Dies konnte in der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden. Bei den untersuchten Spezies war die Spermienchwanzlänge häufig bei sehr nahe verwandten Spezies ähnlich. Somit stellte sich die Frage, ob nicht vielmehr auch der Verwandtschaftsgrad der Spezies die Spermienmaße beeinflusst und die Bedeutung der Paarungssysteme relativiert. Diese Idee verfolgte schon MARTIN et al. (1975), aufgrund der Beobachtung, daß sich die Spermienlänge der Menschenartigen und der Meerkatzenverwandten innerhalb der Gruppen nur wenig, zwischen den Gruppen aber enorm unterscheiden. In der aktuellen Diskussion über die Primatentaxonomie ist eine zoologische Zuordnung des Nachtaffen (*Aotus*) zu den

Callitrichiden aufgeworfen worden (C. Roos, DPZ, pers. Mitteilung, Februar 2002), wofür auch die in dieser Studie ermittelte Spermienlänge sprechen würde.

Nur wenige Autoren wie z.B. PARKER (1993) betrachten den Aspekt der Spermienkonkurrenz und Einbeziehung der Weibchen. Er sieht die Spermienlänge durch die Überlebensdauer im weiblichen Genital bestimmt.

Bei der gesamten Betrachtung der Thematik der Spermienkonkurrenz wurde der Blick zu sehr auf das männliche Individuum und dessen intrasexuelle Konkurrenz gerichtet. Ein essentieller Gesichtspunkt bleibt die Einbeziehung des weiblichen Tieres, dessen Anatomie und die Interaktion mit dem Spermium. Diesen Aspekt vergleichend zu untersuchen gestaltete sich bereits für die Anatomie als problematisch. Hierbei bestand die Hauptschwierigkeit darin, vergleichbare anatomische Daten über weibliche Primaten zu finden.

Hier müßte weiterführende Forschung ansetzen und überprüfen, wie die Zusammensetzung des Seminalplasmas ist und ob nicht durch Inhaltsstoffe des Seminalplasmas (z.B. PGF) Kontraktionen des Uterus hervorgerufen werden.

Problematisch gestalten sich weitere Untersuchungen unter Einbeziehung weiblicher Tiere bzw. Gewebe. Von vielen der untersuchten Spezies existieren nur eine begrenzte Anzahl und diese auch weit verteilt. Des weiteren stoßen invasive Methoden, wie z.B. die Gewinnung von Follikeln für In-vitro Versuche, auf breite Ablehnung unter den Tierhaltern. Allerdings wären genau solche Ansätze notwendig.

Abschließend konnte festgestellt werden, daß eine Beantwortung der Fragen die im Zusammenhang mit dem Phänomen der Spermienkonkurrenz aufgeworfen wurden außerordentlich schwierig und auch immer nur partiell möglich sind.

5 Zusammenfassung

Annette Schrod

Vergleichende Analysen der Spermienmotilität, -morphologie und morphometrie bei Primaten mit unterschiedlichen Paarungssystemen

In der vorliegenden Arbeit wurden 66 Ejakulate und Samenleiterpunktate von 14 repräsentativen Primatenspezies gewonnen und vergleichend untersucht. Diese decken sowohl die Haupttaxa (Halbaffen, Neuweltaffen, Altweltaffe, Menschenartige) als auch die Hauptpaarungssysteme (monogam, polygyn, polyandrisch, Vielmännchen- Vielweibchen) der Primaten ab. Pro Spezies konnte eine Individuenzahl von zwei bis sechs berücksichtigt werden. Die Tiere wurden in verschiedenen zoologischen Gärten und wissenschaftlichen Institutionen in Mitteleuropa gehalten.

Die Ejakulatgewinnung erfolgte mit Hilfe von Elektroejakulation (n= 41), peniler Vibrostimulation (n= 6), Masturbation (n= 7) und der Punktion des Samenleiters (n= 12).

Von den so gewonnenen Ejakulaten bzw. Punktaten wurden makroskopische und physikalische Parameter und die Morphologie mittels mikroskopisch auszuwertender Ausstriche untersucht. Die Motilitäts- und Morphometrieanalysen erfolgten mit Hilfe eines computerassistierten Spermienanalysesystems, des Hobson Sperm Trackers.

Die Untersuchungen ergaben, daß viele der bisher bestehenden sehr gegensätzlichen Erkenntnisse zu den einzelnen Parametern in einem solch umfassenden Überblick nur partiell haltbar sind. Es zeigten sich bei den vorliegenden Proben große Interspeziesunterschiede bei den morphologischen Abweichungen, sowie den Motilitäts- und Morphometrieparametern. Auch konnten die technischen Grenzen des HST aufgezeigt werden.

Im Bezug auf die Verknüpfung einzelner Spermienparameter mit den Paarungssystemgruppen monandrisch und polyandrisch ließ sich ein klarer Zusammenhang zwischen morphologischen Spermienkopffekten und Paarungssystemgruppen feststellen. Auch eine klare Tendenz polyandrischer Spezies zu insgesamt längeren Spermien und unabhängig davon höheren tatsächlichen Spermengeschwindigkeiten konnte festgestellt werden.

Die morphometrischen Parameter sind nach dieser Studie unabhängig vom Paarungssystem zu sehen. Eine spezielle Rolle übernahm, trotz seiner geringen Probenzahl der Nachtaffe (*Aotus*), der mit Abstand das minderwertigste Ejakulat in praktisch allen Parametern bot.

6 Summary

Annette Schrod

**Comparative analyses of sperm motility,
-morphology and -morphometrics in primates with
different mating systems**

In the present work 66 ejaculates and punctures of the spermatic cord were taken from 14 representative primate species and were examined comparative. These species covered the main taxa (lemurs, new world monkeys, old world monkey, apes) as well as the main mating systems (monogamy, polygyny, polyandry, multemale- multifemale) of the primates. Per species an individual's number from two to six could be considered. The animals were held in different zoological gardens and scientific institutions in Central Europe.

The sperm collection took place with the help of electro ejaculation (n= 41), penile vibro stimulation (n= 6), masturbation (n= 7) and puncture of the spermatic cord (n= 12).

The so won sperm samples were examined macroscopic for physical parameters and the morphology by means of analysable smears. Analysis of sperm motility and morphometrics took place with the help of a computer assisted sperm analysis system, the Hobson Sperm Tracker (HST).

The examinations proved that many of the very contradictory knowledge existing up to now were durable to the separate parameters in its such extensive view only partially. Enormous interspecies differences appeared with the morphologic abnormalities, as well as motility and morphometrics. Also the technical limitations of the HST could be shown.

In regard to the linkage separate sperm parameters with the mating system a clear connection can be stated between morphologic sperm head defects and mating system. Also a clear tendency of polyandrous species to altogether longer sperm and no matter higher real sperm velocity could be stated. In addition, were to be seen morphometric parameters independent on mating system. A special role took over the owl monkey (*Aotus*), even with a small number of samples, which offered by far the most inferior ejaculate quality in practically all parameters.

7 Literaturverzeichnis

AMANN, R. P., L. JOHNSON, D. L. THOMSON u. B.W. PICKETT (1976):

Daily spermatozoal production, epididymal spermatozoal reserves and transit time of spermatozoa through the epididymidis of the rhesus monkey.

Biol. Reprod. 15, 586-592

BADER, H. (1983):

Electroejaculation in chimpanzees and gorillas and artificial insemination in chimpanzees.

Zoo Biol. 2, 307-314

BAKER, R. R., u. M. A. BELLIS (1988):

“Kamikaze” sperm in mammals?.

Anim. Behav. 36, 936-939

zit. nach MØLLER, A. P. (1991)

BATELLI, F. (1922):

Une méthode pour obtenir l' émission complète du liquide des vésicules séminales chez le cobaye.

C. r. Soc. Phys. hist. Nat. Genève 39, 73-74

zit. nach MARTIN, I. C. A. (1978)

BEDFORD, M. J. (1974):

Biology of Primate Spermatozoa.

in W. P. Luckett (Hrsg.): Contributions to Primatology

Reproductive biology of the primates

S. Karger Verlag, Basel, München, Bd. 3, S. 97-139

BEEHLER, B. A., A. PIPER, S. C. JACOBS u. L. J. CLOWRY (1982):

Post-mortem collection of sperm from a lowland gorilla.

Annual proceedings American Association of Zoo Veterinarians, S.56-57

BENHAM, T. A., u. R. K. ENDERS (1941):

An improved stimulator for obtaining semen from small mammals.

N. Am. Vet. 22, 300-301

zit. nach MARTIN, I. C. A. (1978)

BENNETT, J.P. (1967):

Semen collection in the squirrel monkey.

J. Reprod. Fertil. 13, 353-355

**BORNMAN, M. S., M. VAN VUUREN, D.G.A. MELTZER, C.A. VAN DER MERWE
u. S. J. V. RENSBURG (1988):**

Quality of semen obtained by electroejaculation from Chacma baboons (*Papio ursinus*).

J. Med. Primatol. 17, 57-61

BOYERS, S. P., D. O. RUSSELL u. D.F. KATZ (1989):

Automated semen analysis.

in: R.L. Barbieri (Hrsg.), Current problems in obstetrics, gynecology and fertility

Year book medical publishers, Chicago, Illinois 7, Nr. 5, 167-192

BRUN, B., C. CRANZ, A. CLAVERT u. Y. RUMPLER (1987):

A safe technique for collecting semen from *Lemur fulvus mayottensis*.

Folia Primatol. 49, 48-51

BUSH, D. E., L. H. RUSSELL JR., A. I. FLOWERS u. A. M. SORENSEN JR. (1975):

Semen evaluation in capuchin monkeys (*Cebus apella*).

Lab. Anim. Sci. 25, Nr.5, 588-593

CHEN, J. J., E. R. SMITH, D. GRAY u. J. M. DAVIDSON (1981):

Seasonal changes in plasma testosterone and ejaculatory capacity in squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*).

Primates 22, Nr. 2, 253-260

COOK, P. A., u. N. WEDDELL (1999):

Non fertile sperm delay female remating.

Nature, 397, 486

CSEH, S., P. J. CHAN, J. CORSELLI u. L. LEONARD (2000):

Electroejaculated baboon (*Papio anubis*) sperm requires a higher dosage of pentoxifylline to enhance motility.

Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 17, Nr. 8, 449-453

CUI, K.-H., S. P. FLAHERTY , C. D. NEWBLE, M. V. GUERIN, A. J. NAPIER u. C. D. MATTHEWS (1991):

Collection and analysis from the common marmoset (*Callithrix jacchus*).

J Androl 12, Nr. 3, 214-220

CUMMINS, J. M. u. P. F. WOODALL (1985):

On mammalian sperm dimensions.

J. Reprod. Fertil. 75, 153-175

DARWIN, C. (1871):

The descent of Man, and Selection in Relation to Sex.

Verlag John Murray, London

zit. nach P. H. HARVEY u. A. H. HARCOURT (1984)

DIXSON, A. F. (1997) :

Evolutionary perspectives on primate mating systems and behaviour.

Annals New York Academy of Sciences 807, 42-61

DIXSON, A. F. (1998 a) :

Sexual selection and evolution of the seminal vesicles in primates.

Folia Primatol. 69, 300-306

DIXSON, A. F. (1998 b) :

Primate Sexuality, Comparative studies of the prosimians, monkeys, apes and human beings.
Oxford University Press, Oxford, New York, Tokyo

DURRANT, B. S. (1990):

Semen collection, valuation, and cryopreservation in exotic animal species: Maximizing reproductive potential.

ILAR News 32, Nr.1, 2-10

EMMENS, C. W. (1947):

The motility and viability of rabbit spermatozoa at different hydrogen ion concentrations.

J. Physiol. 106, 471-481

FUSSEL, E. N., J. D. ROUSSEL u. C.R. AUSTIN (1967) :

Use of the rectal probe method for electrical ejaculation of apes, monkeys and a prosimian.

Lab. Anim. Care 17, Nr.5, 528-530

GAGE, M. J. G. (1998):

Mammalian sperm morphometry.

Proc. R. Soc. Lond. B 265, 97-103

GAGO, C., F. PÉREZ- SÁNCHEZ, C. H. YEUNG, L. TABLADO, T. G. COOPER u. C. SOLER (1999):

Morphological characterization of ejaculated cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) sperm.

Am. J. Primatol 47, 105-115

GAGO, C., F. PÉREZ-SÁNCHEZ, C. H. YEUNG, L. TABLADO, T. G. COOPER u. C. SOLER (1998):

Standardization of sampling and staining methods for the evaluation of sperm heads in the Cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) using computer-assisted image analysis.

Int. J. Androl. 21, 169-176

GARDE, J. J., N. ORTIZ, A. J. GARCÍA, L. GALLEGO, T. LANDETE-CASTILLEJOS u. A. LÓPEZ (1998):

Postmortem assessment of sperm characteristics of the red deer during the breeding season.

Archives of Andrology 41, 195-202

GOMENDIO, M., u. E. R. S. ROLDAN (1991):

Sperm competition influences sperm size in mammals.

Proc. R. Soc. Lond. B 243, 181-185

GOMENDIO, M., u. E. R. S. ROLDAN (1993):

Coevolution between male ejaculates and female reproductive biology in eutherian mammals.

Proc. R. Soc. Lond. B 252, 7-12

GOULD, K.G. (1990):

Techniques and significance of gamete collection and storage in great apes.

J. Med. Primatol. 19, 537-551

GOULD, K. G., u. D. E. MANN (1988):

Comparison of electrostimulation methods for semen recovery in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*).

J. Med. Primatol. 17, 95-103

GOULD, K. G., H. WARNER u. D. E. MARTIN (1978):

Rectal probe electroejaculation of primates.

J. Med. Primatol. 7, 213-222

GOULD, K. G. u. L. G. YOUNG (1996):

Functional parameters of chimpanzee (*Pan troglodytes*) sperm from ejaculates collected by rectal probe electrostimulation and by artificial vagina.

Am. J. Primatol 39, 115-122

GOULD, K. G., L. G. YOUNG, E. B. SMITHWICK u. S. R. PHYTHON (1993):

Semen characteristics of the adult male chimpanzee (*Pan troglodytes*).

Am. J. Primatol 29, 221-232

GREEN, S., u. S. FISHEL (1999):

Morphology comparison of individually selected and non- hyperactivated human spermatozoa.

Human Reprod. 14, Nr. 1, 123-130

GRUDZINSKAS, J. G., u. J. L. YOVICH (Hrsg.) (1995)

Gametes-The spermatozoon

Cambridge University Press, Cambridge

GUNN, R. M. C. (1936):

Fertility in sheep. Artificial production of seminal ejaculation and the characters of the spermatozoa contained therein.

Bull. Coun. scient. ind. Res. Meth. 94, 1-116

zit. nach MARTIN, I. C. A. (1978)

HARCOURT, A. H. (1991):

Sperm competition and the evolution of nonfertilizing sperm in mammals.

Evolution 45, Nr. 2, 314-328

HARCOURT, A. H., P. H. HARVEY, S. G. LARSON u. R. V. SHORT (1981):

Testis weight, body weight and breeding system in primates.

Nature, 293, 55-57

HARCOURT, A. H., A. PURVIS u. L. LILES (1995):

Sperm competition: mating system, non breeding season, affects testes size of primates.

Functional Ecology 9, 468-476

HARRISON, R. M. (1975):

Normal sperm parameters in *Macaca mulatta*.

Lab. Prim. Newsletter 14, Nr.1, 10-13

HARRISON, R. M., u. R. W. LEWIS (1986):

The male reproductive tract and its fluids.

in: W.R. DUKELOW u. J. ERWIN (Hrsg.):

Comparative primate biology, Verlag Alan R. Liss, New York, Bd. 3, Reproduction and Development, 101-148

HARVEY, P. H., u. A. H. HARCOURT (1984):

Sperm competition, testis size, and breeding systems in primates.

in: R. L. SMITH (Hrsg.):

Sperm competition and the evolution of animal mating systems, Academic Press, Orlando, Florida, 589-600

HOFFER, H., A. H. SCHULTZ u. D. STARCK (Hrsg.) (1958):

Primatologia III/1

S. Karger Verlag, Stuttgart, New York

HOLT, C., W. V. HOLT u. H. D. M. MOORE (1996):

Choice of operating conditions to minimize sperm subpopulation sampling bias in the assessment of boar semen by computer- assisted sperm analysis.

J Androl 17, Nr.5, 587-59

HOLT, W. V. (1986):

Collection, assessment, and storage of sperm.

in: K. BENIRSCHKE (Hrsg.):

Primates, the road to self- sustaining populations, Springer- Verlag, Berlin, 32, 413-424

HOLT, W.V. (1994):

Reproductive technologies.

in: P. J. S. OLNEY, G. M. MACE u. A.T.C. FEISTNER (Hrsg.):

Creative conservation: interactive management of wild and captive animals, Verlag Chapman and Hall, London

HOLT, W.V., u. M. J. PALOMO (1996):

Optimization of a continous real-time computerized semen analysis system for ram sperm motility assessment, and evaluation and four methods of semen preparation.

J. Reprod. Fertil., 8, 219-230

HORST, G. VAN DER, J. V. SEIER, A. C. SPINKS u. S. HENDRICKS (1999):

The maturation of sperm motility in the epididymidis and vas deferens of the vervet monkey, *Cercopithecus aethiops*.

Int. J. Androl. 22, 197-207

IUCN (2000):

Red list of threatened species

www.redlist.org/info/tables/table1a.html

JEYENDRAN, R. S., W. J. HOLMGREN, P. BIELFELD u. A. C. WENTZ (1992):

Fertilizing capacity of various populations of spermatozoa within an ejaculate.

Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 9, Nr. 1,

JOHNSON, D. D. P., u. J. V. BRISKIE (1999):

Sperm competition and sperm length in shorebirds.

The condor 101, 848-854

KISHIKAWA, H., H. TATENO u. R. YANAGIMACHI (1999):

Fertility of mouse spermatozoa retrieved from cadavers and maintained at 4°C.

J. Reprod. Fertil. 116, 217-222

KNODEL, H., u. H. BAYRHUBER (Hrsg.) (1983):

Linder Biologie

19. Auflage, Metzlersche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, S. 295

KRAEMER, D. C., u. T. J. KUEHL (1980):

Semen collection and evaluation of breeding soundness in nonhuman primates.

in: D. A. MORROW (Hrsg.):

Current therapy in theriogenology: Diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in animals, Verlag W.B. Saunders, Philadelphia, 1134-1137

KRAEMER, D. C., u. N. C. VERA CRUZ (1969):

Collection, gross characteristics and freezing of baboon semen.

J. Reprod. Fertil. 20, 345-348

KÜDERLING, I., J. M. MORRELL u. P. L. NAYUDU (1996):

Collection of semen from marmoset monkeys (*Callithrix jacchus*) for experimental use by vaginal washing.

Lab. anim. 30, 260-266

KÜDERLING, I., A. SCHNEIDERS, J. SÖNKSEN, P. L. NAYUDU u. J. K. HODGES (2000)

Non-invasive collection of ejaculates from common marmoset (*Callithrix jacchus*) using Penile vibrostimulation.

Am. J. Primatol 52, 149-154

LANG, C. M. (1967):

A technique for the collection of semen from squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) by electro-ejaculation.

Lab. Anim. Care 17, Nr. 2, 218-221

LAPLAUD, M., u. R. CASSOU (1945):

Nouveau procédé de recolte du sperme par électrode bipolaire rectale unique.

C. r. Acad. agric. Fr. 31, 37

zit. nach MARTIN, I. C. A. (1978)

LAPLAUD, M., u. R. CASSOU (1948):

Recherches sur l'électro-ejaculation chez le taureau et le verrat.

C. r. Séance Soc. Biol. 142, 726-727

zit. nach MARTIN, I. C. A. (1978)

LEEUWENHOEK, A. VAN (1678):

Observations de Anthonü Lewnhoeck, de natis e semini genitali animalculis.

Phil. Trans. Roy. Soc. 12, 1040-1043

zit. nach GRUDZINSKAS, J. G., u. J. L. YOVICH (Hrsg.) (1995)

LEIDL, W., W. SCHEFELS, R. STOLLA u. E. METZGER (1971):

Differenzierung und Befruchtungsvermögen pathologischer Spermien.

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 78, 129-134

zit. nach: W. BUSCH u. A. HOLZMANN (Hrsg.): Veterinärmedizinische Andrologie.

Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, S. 100

LEVINE, R. J. (1999):

Seasonal variation of semen and fertility.

Scand. J. Work. Environ. Health 25, Nr.1, 34-37

LUNDQUIST, F. (1949):

Aspects of the biochemistry of human semen.

Acta Physiol. Scand. 19, 7-105

zit. nach GRUDZINSKAS, J. G., u. J. L. YOVICH (Hrsg.) (1995)

MARKS, S. L., J. DUPUIS, D. MICKELSEN, M. A. MEMON u. C. C. PLATZ JR (1994):

Conception by use of postmortem epididymal semen extraction in a dog.

JAVMA 204, Nr.10, 1639-1640

MARTIN, D. E., K. G. GOULD u. H. WARNER (1975):

Comparative morphology of primate spermatozoa using scanning electron microscopy I. Families Homonidae, Pongidae, Cercopithecidae and Cebidae.

Journal of Human Evolution 4, 287-292

MARTIN, I. C. A. (1978):

The principles and practice of electroejaculation of mammals.

Symp. zool. Soc. Lond. 43, 127-152

MASTROIANNI JR., L., u. W. MANSON JR. (1963):

Collection of monkey semen by electroejaculation.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 112, 1025-1027

MENKVELD, R., F. S. H. STANDER, T. V. W. KOTZE, T. F. KRUGER u.**J. A. VAN ZYL (1990):**

The evaluation of morphological of human spermatozoa according to stricter criteria.

Human Reprod 5, Nr.5, 586-592

MØLLER, A. P. (1988):

Ejaculate quality, testes size and sperm competition in primates.

Journal of Human Evolution 17, 479-488

MØLLER, A. P. (1989):

Ejaculate quality, testes size and sperm production in mammals.

Funct. Ecol. 3, 91-96

MØLLER, A. P. (1991):

Concordance of mammalian ejaculate features.

Proc. R. Soc. Lond. B. 246, 237-241

MOORE, C. R., u. T. F. GALLAGHER (1930):

Seminal vesicle and prostatic function as a testis-hormone indicator: the electric ejaculation test.

Am. J. Anat. 45, 39-69

zit. nach MARTIN, I. C. A. (1978)

MORRELL, J. M. (1997):

CASA as an aid to selecting sperm suspensions for artificial insemination in *Callithrix jacchus*.

Int. J. Androl 20, 287-296

MORRELL, J. M., I. KUEDERLING u. J. K. HODGES (1996)

Influence of semen collection method on ejaculate characteristics in the common marmoset, *Callithrix jacchus*.

J. Androl. 20, 287-296

MORTIMER, S. T. (1997):

A critical review of the physiological importance and analysis of sperm movement in mammals.

Human Reprod. Update, 3, Nr.5, 403- 439

OHL, D. A. (1993):

Electroejaculation.

Urol. Clin. North Am. 20, Nr.1, 181-188

PARKER, G. A. (1993):

Sperm competition games: sperm size and sperm number under adult control.

Proc. R. Soc. Lond. B 253, 245-254

PHILLIPS, D. M., u. M. J. BEDFORD (1987):

Sperm– Sperm associations in the loris epididymis.

Gamete Research 18, 17- 25

PLATZ JR., C. C., D. E. WILDT, C. H. BRIDGES, S. W. SEAGER u. B. S. WHITLOCK (1980):

Electroejaculation and semen analysis in a male lowland gorilla, (*Gorilla gorilla gorilla*).

Primates 21, Nr.1, 130-132

RETZIUS, G. (1909):

Spermatozoa of mammals.

Biol. Unters. N. F. 14, 163-178

zit. nach CUMMINS, J. M. u. P. F. WOODALL (1985)

ROBERT, M., u. C. GAGNON (1999):

Semenogelin I: a coagulum forming, multifunctional seminal vesicle protein.

Cell. Mol. Life Sci. 55, 944-960

ROLDAN, E. R. S., M. GOMENDIO u. A. D. VITULLO (1992):

The evolution of eutherian spermatozoa and underlying selective forces: female selection and sperm competition.

Biol. Rev. 67, 551-593

ROWE, N. (1996):

The pictorial guide to the living primates.

Pogonias Press, East Hampton, New York

SCHAFFER, N., R. S. JEYENDRAN u. B. BEEHLER (1991):

Improved sperm collection from the lowland gorilla: recovery of sperm from bladder and urethra following electroejaculation.

Am. J. Primatol 24, 265-271

SCHROD, A., A. SCHNEIDERS, M. HEISTERMANN u. J. K. HODGES (2002):

Comparative aspects of sperm morphology and morphometrics in nonhuman primates
in: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e. V., Fachgruppe "Fortpflanzung und ihre Störungen", 35. Jahrestagung Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung u. 27. Veterinär-Humanmedizinische Gemeinschaftstagung, Leipzig, 2002, S. 66

SEIER, J. V., J. E. FINCHAM, R. MENKVELD u. F. S. VENTER (1989):

Semen characteristics of vervet monkeys.

Lab. Anim. 23, 43-47

SEIER, J. V., G. VD HORST u. R. LAUBSCHER (1996):

Abnormal morphology of vervet monkey sperm.

J. Med. Primatol. 25, 397-403

SHORT, R. V. (1977):

Sexual selection and the descent of man.

in: Proc. Canberra Symp. Reprod. Evol., 3-19

SHORT, R. V. (1979):

Sexual selection and its component parts, somatic and genital selection, as illustrated by man and the great apes.

Adv. Stud Behav 9, 131-158

SILBERNAGEL, S., und A. DESPOPOULOS (1991):

Taschenatlas der Physiologie.

4. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart, New York

SINOWATZ, F. (2001):

Morphologie und Histologie der männlichen Genitalorgane

in W. BUSCH u. A. HOLZMANN (Hrsg.): Veterinärmedizinische Andrologie.

Schattauer Verlag, Stuttgart, New York

S. 1- 22

SIVINSKI, J. (1984):

Sperm in competition.

in: R. L. SMITH (Hrsg.):

Sperm competition and the evolution of animal mating systems, Academic Press, Orlando, Florida, 85-115

SMITHWICK, E. B., K. G. GOULD u. L. G. YOUNG (1996):

Estimate of epididymal transit time in the chimpanzee.

Tissue and Cell 28, Nr.4, 485-493

SOBRERO, A. J., H. E. STEARNS u. J. H. BLAIR (1965):

Technic for the induction of ejaculation in humans.

Fertil. Steril. 16, Nr.6, 765-767

STEPHENS, D. T., R. HICKMAN u. D. D. HOSKINS (1988):

Description, Validation, and Performance characteristics of a new computer-automated sperm motility analysis system.

Biol. Reprod. 38, 577-586

TÖPFER-PETERSEN, E., u. D. WABERSKI (2001):

Spermienreifung und Befruchtung

in W. BUSCH u. A. HOLZMANN (Hrsg.): Veterinärmedizinische Andrologie.

Schattauer Verlag, Stuttgart, New York

S. 67-82

VALERIO, D. A., E. B. ELLIS, M. L. CLARK u. G. E. THOMPSON (1969):

Collection of semen from macaques by electroejaculation.

Lab. Anim. Care 19, Nr.2, 250-252

WATSON, P. F. (1978):

A review of techniques of semen collection in mammals.

Symp. zool. Soc. Lond. 43, 97-126

WEITZE, K.-F. (2001):

Spermatologische Untersuchung

in W. BUSCH u. A. HOLZMANN (Hrsg.): Veterinärmedizinische Andrologie.

Schattauer Verlag, Stuttgart, New York

S. 87-109

WEISBROTH, S., u. F. A. YOUNG (1965):

The collection of primate semen by electro-ejaculation.

Fertil. Steril. 16, Nr.2, 229-235

**WEN, R.-Q., S.-Q. LI, C.-X. WANG, Q.-H. WANG, Q.-K. LI, H.-M. FENG,
Y.-J. JIANG u. X.-L. ZHANG (1993):**

Analysis of spermatozoa from the proximal vas deferens of fertile man.

Int. J. Androl. 16, 87-91

WHO (1988):

WHO Handbuch zur Laboruntersuchung des menschlichen Ejakulates und der Spermatozoen-Zervikalschleim-Interaktion.

Schattauer Verlag, Stuttgart, New York

WHO (1992):

WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm- cervical mucus interaction.

2. Auflage, Cambridge University Press, Cambridge

WILDT, D. E. (1986):

Spermatozoa-Collection, Evaluation, Metabolism, Freezing and Artificial insemination.

in: W. R. DUKELOW u. J. ERWIN (Hrsg.):

Comparative Primate Biology, Verlag Alan R. Liss, New York, Bd. 3, Reproduction and Development, 171-193

WILDT, D. E. (1996):

Male reproduction: Assessment, management, and control of fertility.

in: D. G. KLEIMAN, M. E. ALLEN, K. V. THOMPSON u. S. LUMPKIN (Hrsg.):

Wild mammals in captivity, University of Chicago Press, Chicago, London, 39, 429-450

YEOMAN, R. R., J. SONKSEN, S. V. GIBSON, B. M. RIZK u. C. R. ABEE (1998):

Penile vibratory stimulation increased spermatozoa and accessory gland production compared with rectal electroejaculation in a neurologically intact primate (*Saimiri boliviensis*).

Human Reprod. 13, Nr.9, 2527-2531

YEUNG, C.H., G. OBERLÄNDER u. T. G. COOPER (1992):

Characterization of the motility of maturing rat spermatozoa by computer-aided objective measurement.

J. Reprod. Fertil. 96, 427-441

YEUNG, C.-H., F. PEREZ-SANCHEZ, C. SOLER, D. POSER, S. KLIESCH u.

T.G. COOPER (1997) :

Maturation of human epididymal spermatozoa (from selected epididymides of prostatic carcinoma patients) with respect to their morphology and ability to undergo the acrosome reaction.

Human Reprod. Update 3, Nr. 3, 205-213

YEUNG, C. H., G. F. WEINBAUER u. E. NIESCHLAG (1989):

Movement characteristics of ejaculated sperm from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) analysed by manual and automated computerized image analysis.

J. Med. Primatol. 18, 55-68

YOUNG, L. G., E. B. SMITHWICK u. K. G. GOULD (1995):

Characteristics of chimpanzee (*Pan troglodytes*) ejaculates collected by rectal probe electrostimulation and by artificial vagina.

Am. J. of Primatol. 35, 293-304

8 Anhang

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen:

A	Ampere
BCF	Beat cross frequency, Flagellarbewegung des Spermiums
CASA	Computerassistierte Spermienmotilitätsanalyse
EE	Elektroejakulation
Hz	Hertz
HSM	Hobson Sperm Morphology Software
HST	Hobson Sperm Tracker
LIN	Linearität der tatsächlichen Spermien schwimmgeschwindigkeit
MOT	Motile, Anteil motiler Spermien in einer Probe
MS	Masturbation
PVS	Penile Vibrostimulation
V	Volt
VAP	Average path velocity, Durchschnittsgeschwindigkeit des Spermiums
VCL	Curvilinear velocity, tatsächliche Spermien schwimmgeschwindigkeit
VSL	Straight line velocity, errechnete Spermien geschwindigkeit auf einer Gerade zwischen Anfangs und Endpunkt der Analyse
WHO	World Health Organisation

Tyrodes Laktat Medium (nach Robert Gilchrist)

Chemikalie	Konzentration in mM	g/100ml
NaCl	127,0	0,742
KCl	3,16	0,0236
NaHCO ₃	2,0	0,0168
NaH ₂ PO ₄ * H ₂ O	0,35	0,0048
Na Laktat	10,0	0,186 ml
MgCl ₂ *H ₂ O	0,50	0,1
Glukose	5,0	0,0901
Hepes (Na-Salz)	5,0	0,1302
Hepes (Säure)	5,0	0,1192
Phenolrot	0,01 mg/ml	0,001
Aqua bidest		/100 ml

Osmolarität = 290 ± 5 mOsm

PH = 7,33 (optimal)

Zusatz vor Gebrauch :

3,00 mg/ml BSA (Fraktion V)

0,25 mM Natrium-Pyruvat

Modifizierte Spermienfärbung nach Papnicolaou (gemäß WHO)

-Ausstrich lufttrocknen und gleichen Teile Ethanol und Äther für 5 bis 15 Minuten fixieren

Färbung:

Ethanol 80 %	10 * tauchen
Ethanol 70 %	10 * tauchen
Ethanol 50 %	10 * tauchen
Destilliertes Wasser	10 * tauchen
Harries' oder Mayer's Hämatoxylin	exakt 3 Minuten
Fließendes Wasser	3-5 Minuten
Saurer Alkohol	2 * tauchen
Fließendes Wasser	3-5 Minuten
Destilliertes Wasser	1* tauchen
Ethanol 50 %	10 * tauchen
Ethanol 70 %	10 * tauchen
Ethanol 80 %	10 * tauchen
Ethanol 95%	10 * tauchen
Orange G6	2 Minuten
Ethanol 95 %	10 * tauchen
Ethanol 95 %	10 * tauchen
EA- 50	5 Minuten
Ethanol 95 %	5 * tauchen
Ethanol 95 %	5 * tauchen
Ethanol 95 %	5* tauchen
Ethanol 99,5 %	2 Minuten
Xylol (3 Färbetröge)	ca. 1 Minute in jedem

Sofort einbetten.

Danksagung

Danken möchte ich allen voran Professor J. Keith Hodges für die Überlassung des interessanten Themas.

Ein großes Dankeschön spreche ich PD Dr. Almuth Einspanier aus für die Betreuung dieser Arbeit und ihr Engagement auch über diese Funktion hinaus.

Vielen Dank an Alex Schneiders, der mich in die hohe Kunst der Spermengewinnung und -analyse eingeführt hat und dem es zu verdanken ist, daß ein sehr umfangreiches, einfach bedienbares Equipment vorhanden ist.

André Ganswindt gebührt Dank für sein stets offenes Ohr und seine konstruktiven Korrekturvorschläge und vor allem in seiner Funktion als Computerfachmann.

Ein Dank auch an Antje, die versucht hat mir die Grundzüge der Statistik zu erklären.

Nicole Umland möchte ich danken für die Mithilfe bei der Spermengewinnung und Vor- und Nachbereitung meiner zahlreichen Dienstreisen.

Keith, Alex, Ellen, Nicola, Julia, Nicole, Akka, André und Susanne möchte ich danken für ihre hervorragende Fähigkeiten als fachlich versierte Gläserhalter.

Vielen Dank allen Mitarbeitern der Abteilung Reproduktionsbiologie des Deutschen Primatenzentrums, die mir jederzeit hilfsbereit und unterstützend zur Seite standen.

Mein besonderer Dank gilt Susanne Rensing für die tatkräftige Unterstützung bei zahlreichen Ejakulatsammlungen und der Vermittlung von Kooperationspartnern.

Danken möchte ich auch den zahlreichen Zoos und Instituten, ohne deren Kooperationsbereitschaft diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre:

DPZ	Susanne Rensing
PEI	Dr. Cheick Coulibaly, Dr. Rudolf Plesker
CNRS Brunoy Paris	
Primatenzentrum Strassbourg	
Universität Tübingen	Prof. Dr. Erkert
Zoo Antwerpen	Dr. Kristin Leus
Zoo Berlin	Dr. Andreas Ochs
Zoo Halle	Dr. Jens Thielebein
Zoo Krefeld	Dr. Vogt
Zoo München	Dr. Julia Gräfin von Maltzan
Zoo Münster	
Zoo Neuwied	Dipl.- Biol. Heinrich Klein, Stefan von Gemünden
Zoo Wuppertal	Dr. Arne Lawrenz
Safari Beekse Bergen	Paul Vercammen
La vallee des singes	Jan und Majorie Vermeer
Serengeti Park Hodenhagen	PD Dr. Michael Boer

Selbstverständlich gilt dieser Dank nicht nur den aufgeführten Personen, sondern allen, die eine Probensammlung ermöglicht haben, insbesondere allen Tierpflegern.

Vielen herzlichen Dank meiner Familie und meinen Freunden, allen voran Jens, deren Unterstützung ich jederzeit sicher sein konnte.

Und „last, but not least“ danke an Gabi, ohne die ich nie in Göttingen gelandet wäre.

Name: Schrod

Vorname: Annette

Geburtstag: 04. Februar 1973

Geburtsort: Kassel

Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulische Ausbildung: 08.1979- 1983
Grundschule Fuldabruck

1983- 07.1992
Engelsburg Gymnasium Kassel

Berufsausbildung: 08.1992- 07.1994
Ausbildung zur Bankkauffrau

Studium: 10.1994 –10.1996
1.- 9. Fachsemester (WS 94/95- WS 98/99) Studium der
Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin
Dritter Abschnitt der Tierärztlichen Prüfung abgelegt am
15.12 1999 mit Gesamturteil 2,44

Tag der Approbation: 25.01.2000

Berufserfahrung: 07.1994- Ende 09.1994
Tätigkeit als Innenrevisor bei der Sparda-Bank Kassel eG

02.- 04. 1998
Tierärztliche Klinik Dr. Wolfgang Döring in Kassel

03.- 05. 1999
Tierärztliche Praxis Birgit Kalvelage Bad Zwesten

05.- 07.1999
Tierärztliche Klinik für Pferde in Mühlen

12.1999- 04.2001
Assistenz und Vertretung in tierärztlicher Praxis Dr. Gabriele
Kisters, Dörnhagen

Seit 04.2000
Doktorandin in der Abteilung für Reproduktionsbiologie des
Deutschen Primatenzentrums Göttingen

Seit 09.2001 Tierärztliche Tätigkeit in der Abteilung für
Tiermedizin und Primatenhaltung des Deutschen Primatenzentrums
Göttingen