



Bevruchtend vermogen van konijnensperma uit de genenbank

Rita Hoving, Agnes de Wit, Henk Sulkers, Henri Woelders en Sipke Joost Hiemstra



CGN Rapport 36



Bevruchtend vermogen van konijnensperma uit de genenbank

Rita Hoving, Agnes de Wit, Henk Sulkers, Henri Woelders en Sipke Joost Hiemstra

© 2016 Wageningen, CGN/Stichting DLO

Alle rechten voorbehouden. Overname van de inhoud is toegestaan, mits met bronvermelding.

Wageningen UR aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Dit onderzoek is gefinancierd door het Ministerie van Economische Zaken: WOT-03-003-054 Veiligstellen dierlijke genetische diversiteit in ex situ collecties

Foto voorpagina: Peter Rutjens / Gerard Smout

Centrum voor Genetische Bronnen Nederland

Het Centrum voor Genetische Bronnen, Nederland (CGN) voert namens de Nederlandse overheid wettelijke onderzoekstaken (WOT) uit die verband houden met de genetische diversiteit en identiteit van soorten die van belang zijn voor de landbouw en bosbouw. Het CGN is een onafhankelijke onderzoekseenheid binnen de Stichting DLO die de overheid ondersteunt bij de uitvoering van wet- en regelgeving. De cluster dierlijke genetische bronnen van CGN richt zich op behoud en bevordering van duurzaam gebruik van genetische diversiteit in landbouwhuisdieren.

Adres : Droevendaalsesteeg 1, 6708 PD Wageningen
: Postbus 338, 6700 AH Wageningen
Tel. : 0317 48 05 10
E-mail : rita.hoving@wur.nl
Internet : www.cgn.wur.nl

Inhoudsopgave

	pagina
Voorwoord	5
Samenvatting	7
Summary	9
1. Inleiding	11
2. Materiaal en Methode	13
2.1 Werkwijze	13
2.2 Sperma en inseminatiedosis	13
2.2.1 Vers sperma	13
2.2.2 Ingevroren sperma	14
2.3 Inseminatieprocedure	14
3. Resultaten inseminatieproef	17
4. Discussie en conclusies	19
5. Literatuur	21
Bijlage A Hokindeling, proefuitvoering en resultaten per voedster per ram	23
Bijlage B Drachten per ram per invriesdag	25

Voorwoord

In 2014 heeft het Centrum voor Genetische Bronnen Nederland (CGN) van Wageningen UR, samen met de Stichting Zeldzame Huisdierrassen (SZH) en Kleindier Liefhebbers Nederland (KLN) een start gemaakt met het veiligstellen van genetisch materiaal van de meest zeldzame Nederlandse konijnenrassen in de genenbank. Zie hiervoor CGN Rapport 32 “Winning en cryoconservering van sperma van zeldzame Nederlandse konijnenrassen voor de genenbank”. Konijnenrassen van Nederlandse oorsprong maken deel uit van ons waardevolle levende culturele erfgoed.

In 2015 is onderzocht of met het in 2014 ingevroren sperma ook nakomelingen kunnen worden verwekt. Na bevestiging van het bevruchtend vermogen kan worden geconcludeerd dat de genenbankcollectie een belangrijke bijdrage levert aan het lange termijn behoud van de diversiteit van deze konijnenrassen.

Wij danken Jan Renes, Harry Arts en Henk Smit (allen KLN), Ad Taks (SZH), Gerard Smout en Peter Rutjens (KI Station Rutjens) voor hun onmisbare medewerking in deze. Zonder de goede samenwerking tussen de organisaties KLN, SZH, speciaalclubs en CGN had dit onderzoek niet kunnen plaatsvinden.

Sipke Joost Hiemstra
Directeur CGN

Samenvatting

Bevruchtend vermogen van konijnsperma uit de genenbank

Het Centrum voor Genetische Bronnen, Nederland (CGN) van Wageningen UR heeft als doelstelling om van alle Nederlandse landbouwhuisdierrassen voldoende genetische diversiteit in de genenbank op te slaan. Dit als 'calamiteitenverzekering' voor de lange termijn, voor ondersteuning van de fokkerij van bedreigde rassen op korte termijn, en voor wetenschappelijk onderzoek.

Konijnenrassen van Nederlandse oorsprong maken deel uit van ons waardevolle levende culturele erfgoed.

In 2014 is sperma ingevroren van de meest zeldzame Nederlandse konijnenrassen. In 2015 is vervolgens het bevruchtend vermogen onderzocht door middel van een inseminatieproef. Naast inseminatie van ingevroren sperma is ter vergelijking een deel van de voedsters geïnsemineerd met vers sperma (van zowel Nederlandse rassen als een hybride ras). Het ingevroren sperma gaf bij een inseminatie dosis van 40 miljoen zaadcellen ruim 50% dracht. Vers sperma van de zeldzame rassen gaf een drachtigheidspercentage van 70%. Het aantal jongen per worp was zeven, resp. bijna acht. Het bedrijfsmatig gebruikte sperma gaf 90% dracht en 10 jongen per voedster.

Hoewel de motiliteit van het ingevroren sperma na ontdooien laag was, is toch ruim 50% dracht gerealiseerd. Hoe beter de beweeglijkheid van het sperma na ontdooien, hoe hoger het drachtigheidspercentage. Het gemiddeld aantal jongen per nest lijkt alleen bij lage motiliteit negatief beïnvloed te worden.

Geconcludeerd kan worden dat het in de genenbank opgeslagen sperma een nuttige bijdrage levert aan het lange termijn behoud van de diversiteit van zeldzame rassen.

Summary

Fertilizing capacity of the rabbit semen in the gene bank collection

The main aim of the Centre for Genetic Resources, the Netherlands (CGN) of Wageningen UR is long term conservation of genetic diversity between and within farm animal breeds in gene bank collections. Rabbit breeds from Dutch origin are a valuable part of our cultural heritage of farm animal breeds. In the future semen from gene bank collections can be used in case of genetic problems in live populations (e.g. due to genetic drift or inbreeding), in case of loss of a substantial number of breeding animals or for research purposes. The first gene bank collections for Dutch rare rabbit breeds were established in 2014.

An insemination experiment was carried out to test the fertilizing capacity of the rabbit semen stored in the gene bank collections of CGN. Results of insemination of frozen semen were compared with results of freshly collected semen from Dutch breeds and from a hybrid breed.

The frozen semen resulted in 50% pregnancies with a mean offspring of seven per litter. The pregnancy rate for fresh semen of rare breeds varied between 60-80%, with almost the same litter size. The result for fresh semen of the hybrid breed was 90%, with a higher litter size. A slight relation between motility rate after thawing and pregnancy rate is found.

The conclusion is that semen stored in the gene bank can be used to generate offspring and in this way that genetic diversity in rabbit gene bank collections is relevant for the long term conservation of rare rabbit breeds.

1. Inleiding

Doelstelling van het project “Veiligstellen dierlijke genetische diversiteit in *ex situ* collecties” (WOT-03-003-054) is om alle zeldzame Nederlandse rassen van landbouwhuisdieren veilig te stellen in de genenbank en tevens om een back-up van commerciële populaties in de genenbank op te slaan. Naast de economisch belangrijke diersoorten (rund, varken, schaap, geit, paard, kip) is het ook belangrijk om back-up collecties van de ‘kleinere’ diersoorten, die voornamelijk een cultuurhistorische waarde hebben (eend, gans, konijn, duif en hond), in de genenbank veilig te stellen.

In 2014 hebben het Centrum voor Genetische Bronnen in Nederland van Wageningen UR (CGN), Kleindier Liefhebbers Nederland (KLN) en de Stichting Zeldzame Huisdierrassen (SZH) een spermawin- en invriesactie opgezet om sperma van de zeldzame Nederlandse konijnenrassen voor de genenbank in te vriezen. In de aanloop tot de praktische uitvoering is een protocol voor winning en invriezen van konijnensperma vastgesteld. De rassen die als eerste in aanmerking kwamen voor opname in de genenbank waren de rassen Beige, Deilenaar, Eksterkonijn, Gouwenaar, Havana, Hulstlander, Sallander en Thrianta. Van 55 rammen zijn bijna 1900 rietjes ingevroren en opgeslagen in de genenbank.

In 2015 is onderzoek gedaan naar het bevruchtend vermogen van het in 2014 ingevroren sperma door te kijken of met het ingevroren sperma nakomelingen verwekt kunnen worden. In dit rapport worden de werkwijze en de resultaten van het onderzoek beschreven.

2. Materiaal en Methode

2.1 Werkwijze

Voorafgaand aan de proef is afgestemd met rasorganisaties en andere actoren en experts uit de sector en met wetenschappelijke groepen in het buitenland. Op basis van literatuur en persoonlijke communicatie (Moçé e.a., CITA, Spanje, 2005 en 2014) en overleg met mensen uit de konijnensector is een inseminatie-protocol en de onderbouwing van het aantal te insemineren voedsters vastgesteld.

Voor dit experiment zijn hybride voedsters gebruikt om mogelijke raseffecten van de voedster op aantal jongen in de worp in de proefopzet uit te kunnen sluiten. Na overleg met de contactpersoon Dierhouderij-aangelegenheden van KLN, Harry Arts, en de voorzitter van de vakgroep LTO Konijnenhouderij, Sjef Lavrijsen, is een professioneel inseminator van een konijnen KI station aangezocht en zijn afspraken gemaakt met een neventak konijnenhouder met ruim 50 beschikbare voedsters. Er is voor gekozen om 30 dieren met diepvriessperma van drie verschillende rassen te insemineren en 20 voedsters met vers sperma (10 met sperma van zeldzame rassen en als referentiegroep 10 met sperma van hybride ras).

2.2 Sperma en inseminatiedosis

2.2.1 Vers sperma

Voorafgaand aan de inseminaties is bij een hobbyhouder sperma gewonnen van 2 Havana- en 3 Gouwenaar-rammen. Direct na winning is het sperma 1:1 verdund met Rosato-ei (250 mmol/l TRIS-hydroxymethylaminomethane, 83 mmol/l citric acid, and 52 mmol/l glucose + 10% eidooier), het medium dat ook in 2014 is gebruikt (Hoving e.a., 2014). Het sperma van de Havana rammen is gepooled en verdund tot 3 ml zodat hier 5 voedsters mee geïnsemineerd konden worden à 0.5 ml per voedster. Het sperma van de Gouwenaar rammen is gepooled en verdund tot 6 ml zodat hier 10 voedsters mee geïnsemineerd konden worden. Motiliteit en concentratie van het verse sperma is in verband met de logistiek van de inseminatieproef na afloop van de inseminaties bepaald. De concentratie was 152 miljoen zaadcellen/ml voor de Gouwenaar en 240 miljoen zaadcellen/ml voor de Havana, met een motiliteit van resp. 80 en 60%.

In de bedrijfsmatige houderij wordt met vers sperma gewerkt. Dit sperma van hybride rammen (Hyla) werd geleverd door KI Station Rutjens (<http://www.eurolap.fr/en/accueil.html>). Dit sperma was verdund met de verdunner van Barex Biochemical Products (<http://www.barex-biochem.nl/index.php>) dat ook een ovulatie inducerend middel bevat (GnRH – analoog). De concentratie en motiliteit van dit sperma is niet vastgesteld, door de inseminator werd dit geschat op 35 miljoen zaadcellen per ml met een motiliteit van 80%.

2.2.2 Ingevroren sperma

In 2014 is van acht zeldzame Nederlandse konijnenrassen sperma ingevroren. Het aantal ingevroren rietjes per ras varieerde tussen de 97 en 321 rietjes. Uit deze voorraad is op basis van de aanwezige hoeveelheid doses per ras sperma van drie rassen gekozen met de meeste ingevroren rietjes. Dit waren de rassen Beige, Gouwenaar en Thrianta (Tabel 1).

Tabel 1. *Diepvriessperma voor de inseminatieproef.*

Ras	Aantal rammen	Aantal invriesbatches	Aantal gebruikte rietjes	Aantal geïnsemineerde voedsters
Beige	3	4	10	7
Gouwenaar	6	7	24	15
Thrianta	3	4	12	8
Totaal	12	15	46	30

De rietjes sperma (0.25 ml) zijn in een vat met vloeibare stikstof vervoerd naar de stal. Vlak voor de inseminatie zijn de rietjes per ram/batch ontdooid in een waterbad van 37 °C (1 min), de inhoud is samengevoegd in een epje en verdeeld over het aantal benodigde inseminatie rietjes (0.5 ml rietjes). Spaanse wetenschappers adviseerden 40 miljoen zaadcellen voor inseminatie met diepvriessperma (Moçé, CITA, Spanje). Indien de beoogde 40 miljoen spermacellen in een kleiner volume zat dan 0.5 ml, is eerst wat Rosato-ei-medium in het inseminatie-rietje opgezogen, gevolgd door een luchtbel, en daarna het sperma. De rietjes werden vervolgens overhandigd aan de inseminator met de instructie welke voedster er mee te insemineren. In totaal zijn er 46 rietjes van 12 rammen en 7 verschillende invriesdata ontdooid en hiermee zijn 30 voedsters geïnsemineerd.

2.3 Inseminatieprocedure

Voor de inseminatieproef zijn hybride voedsters gebruikt. In de bedrijfsmatige konijnenhouderij wordt gewerkt met productiegroepen (Beschrijving konijnensector, Bremmer e.a., 2009). Dit betekent dat een groep voedsters op dezelfde dag wordt gedekt, waardoor groepen vleeskonijnen van dezelfde leeftijd kunnen worden afgeleverd. Het konijn kent een reflex-ovulatie, de eisprong wordt opgewekt door het dekken van de ram. Bij KI dient de ovulatie te worden opgewekt door toediening van een eisprongstimulerend middel. De voedsters die met sperma van de zeldzame konijnenrassen werden geïnsemineerd kregen 0.25 ml Receptal (4.2 µg/ml Busserelin acetate, Intervet, Nederland) intramusculair geïnjecteerd om de ovulatie te induceren. Het vers gewonnen sperma van het hybride ras (Hyla) was verdund met de verdunner van Barex Biochemical Products (<http://www.barex-biochem.nl/index.php>) dat al een ovulatie inducerend middel bevat (GnRH – analoog).

De voedsters waren gehuisvest in metalen kooien met een nestkast en kunststof matje op de roosterbodem met ad lib. voer en water. Elf dagen na het werpen werden de voedsters geïnsemineerd. Vijftien dagen na inseminatie werd door middel van uitwendige palpatie gecontroleerd of de voedsters drachtig waren. Drie weken na de inseminatie werd het vorige nest gespeend. Indien de bij palpatie drachtig bevonden voedster 31 dagen na inseminatie nog niet geworpen had, werd het werpen geïnduceerd door middel van een oxytocine injectie.

Op de inseminatiedag waren 54 voedsters ter beschikking. Alle inseminaties zijn door dezelfde inseminator uitgevoerd. De verschillende soorten sperma (diepvries/vers, zeldzaam ras/hybride ras) waren random verdeeld over de stal, zie Bijlage A. Gekozen is om 30 voedsters te insemineren met ingevroren sperma van de zeldzame rassen, 14 voedsters te insemineren met vers verdund sperma van 2 zeldzame Nederlandse konijnenrassen en 10 voedsters met vers sperma van een commercieel hybride ras (Tabel 2).

Tabel 2. Aantal voedsters in inseminatieproef.

	Aantal voedsters met diepvriessperma	Aantal voedsters met vers sperma
Zeldzame NL rassen	30	14
Hybride ras Hyla	-	10

Het 0.5 ml inseminatie rietje werd geladen in een metalen inseminatie pistolet en een 150 mm huls met insert. Bij de inseminatie werd het sperma diep in de schede geïnsemineerd. Direct na de inseminatie kregen de voedsters die met sperma van de zeldzame rassen geïnsemineerd werden 0.25 ml Receptal intramusculair geïnjecteerd om de ovulatie te induceren. Het ovulatie stimulerend middel was bij het hybride sperma aan de verdunner toegevoegd.



Afbeelding 1. Inseminatie pistolet.



Afbeelding 2. Het insemineren van een voedster.

3. Resultaten inseminatieproef

Zowel het ingevroren sperma als het verse sperma heeft geresulteerd in drachtigheden. Het in 2014 ingevroren sperma van de zeldzame rassen gaf een wat lager percentage drachten in vergelijking met vers sperma: 50% versus 71% dracht; en met gemiddeld iets minder jongen: 7.1 versus 7.7 per nest (Tabel 3). Het percentage voedsters dat geworpen heeft is gelijk voor beide groepen.

Tabel 3. *Vergelijking van het bevruchtend vermogen van zeldzame rassen. Vers sperma ten opzichte van ingevroren sperma.*

Vers/ Cryo	Aantal voedsters	Aantal (%) drachtig ^a	Uitval ^b	Aantal (%) nesten	Aantal jongen/nest
Vers (zeldzame rassen)	14	10 (71%)	1	7 (54%)	7.7
Cryo (zeldzame rassen)	30	15 (50%)	2	15 (54%)	7.1

^a *Drachtig bevonden na palpatie op 15 dagen na de inseminatie*

^b *Drie dieren zijn tijdens de proef dood gegaan*

In Tabel 4 zijn de resultaten uitgesplitst per ras. Het verse hybride sperma gaf 90% dracht, het verse sperma van de twee zeldzame rassen gaf een iets lager drachtigheidspercentage: resp. 60 en 78% per ras. Het ingevroren sperma liet een drachtigheidspercentage van resp. 47, 50 en 57% zien. Dat het verse sperma een hoger drachtpercentage heeft vergeleken met het ingevroren sperma is een logisch fenomeen bij alle diersoorten. Elke extra handeling zorgt voor een achteruitgang in de spermakwaliteit.

Het bedrijfsmatige hybride sperma gaf gemiddeld meer jongen per nest: tien jongen per nest tegenover bijna acht bij vers sperma van zeldzame rassen en ongeveer zeven bij het ingevroren sperma. Van het ras Gouwenaar is zowel vers als ingevroren sperma gebruikt geweest, vers had een hoger percentage dracht dan ingevroren, in het aantal jongen per nest was geen verschil. De proef is niet opgezet als een rasvergelijking, daarvoor zijn de aantallen te klein.

Tabel 4. *Bevruchtend vermogen van sperma van de afzonderlijke rassen en procedures.*

Ras	Vers/ Cryo	Aantal voedsters	Aantal (%) drachtig ^a	Uitval	Oxytocine	Aantal (%) nesten	Aantal jongen/nest
Hybride	Vers	10	9 (90)	0	1	9 (90)	10.2
Havana	Vers	5	3 (60)	1	1	1 (25)	7.0
Gouwenaar	Vers	9	7 (78)	0	1	6 (66)	7.8
Beige	Cryo	7	4 (57)	0	1	4 (57)	5.8
Gouwenaar	Cryo	15	7 (47)	1	2	7 (50)	7.8
Thrianta	Cryo	8	4 (50)	1	1	4 (57)	7.0

^a *Drachtig bevonden na palpatie op 15 dagen na de inseminatie*

Zeven dieren zijn rondom het verwachte tijdstip van werpen behandeld met oxytocine om het werpen op gang te helpen (Tabel 4), vier dieren hebben daarna geworpen. Drie voedsters zijn tijdens de proef doodgegaan en drie voedsters kregen baarmoederontsteking.

In Tabel 5 is te zien dat het drachtigheidspercentage hoger is wanneer het percentage beweeglijke spermacellen na ontdooien hoger is. Wanneer slechts 15% van de spermacellen na ontdooien nog motiel is, lijkt het gemiddeld aantal jongen per nest lager te zijn.

Voor dit experiment is ingevroren sperma van 12 dieren van drie rassen gebruikt dat op zeven verschillende dagen ingevroren is. In totaal zijn 15 verschillende batches (ram/invriesdag combinatie) gebruikt. In Bijlage B is per ram per invriesdag het inseminatieresultaat uitgewerkt en daaruit is geen duidelijk verband tussen ram/invriesdag en drachtigheidspercentage te zien. Het lijkt erop dat het wel of niet drachtig worden vooral door toeval bepaald wordt, waarbij de kans op dracht ongeveer 50% is. Voor het kunnen realiseren van hogere drachtigheidspercentages met ingevroren sperma zou de invriesprocedure verder geoptimaliseerd kunnen worden.

Tabel 5. *Effect motiliteit sperma na ontdooien op drachtigheidspercentage en aantal jongen.*

Motiliteit na ontdooien (%)	Aantal geïnsemineerde voedsters	Aantal (%) drachtig ^a	Aantal nesten (%)	Aantal jongen/nest
15	12	5 (42)	4 (30)	4.3
20	6	3 (50)	3 (50)	9
25-30	12	8 (66)	8 (66)	7.8

^a *Drachtig bevonden na palpatie op 15 dagen na de inseminatie*

Na de geboorte zijn jongen overgelegd naar andere nesten om zo het aantal jongen per voedster in het nest uniformer te krijgen. Na het spenen zijn de jongen met 4 per hok opgezet. Hierdoor waren de hokken gemengd van kleur, naast wit waren er waren veel grijze, zwarte en wildkleur konijntjes, zoals in onderstaande foto's in Afbeelding 3 laten zien.



Afbeelding 3. *Afbeeldingen van hokken met nakomelingen van Thrianta, Gouwenaar, Beige, Hyla en Havana.*

4. Discussie en conclusies

De belangrijkste conclusie is dat het ingevroren sperma voor nakomelingen kan zorgen. Hoewel de motiliteit van het ingevroren sperma niet hoog is, was het drachtigheidspercentage ruim 50%. Met deze resultaten is bevestigd dat het in de genenbank opgeslagen konijnensperma een belangrijke bijdrage levert aan het behoud van zeldzame Nederlandse konijnerrassen.

Hoe beter de beweeglijkheid van het sperma na ontdooien, hoe hoger het drachtigheidspercentage. Alleen een heel lage motiliteit lijkt een lager aantal jongen per nest te geven.

Dat het verse sperma een hoger drachtpercentage heeft vergeleken met het ingevroren sperma is een logisch fenomeen bij alle diersoorten. Elke extra handeling zorgt voor een achteruitgang in de spermakwaliteit. Voor het kunnen realiseren van hogere drachtigheidspercentages en nestgroottes bij ingevroren sperma zou de invriesprocedure verder geoptimaliseerd kunnen worden.

Dat er bij het hybride ras meer jongen per nest geboren werden kan meerdere oorzaken hebben. Het bevruchtend vermogen van het ras kan beter zijn, het ovulatie-stimulerende middel in combinatie met de gebruikte verdunner kan resulteren in meer drachten en jongen, maar het kan ook toeval zijn.

De dieren met baarmoederontsteking waren alle drie geïnsemineerd met diepvriessperma. Het gebruikte sperma was van verschillende rammen. Er wordt niet in de baarmoeder geïnsemineerd, maar voor beide cervices in de vagina. Om uit te zoeken of er eventueel een verhoogde kans is op baarmoederontsteking na inseminaties met invriesmedium zou meer onderzoek met grotere aantallen nodig zijn.

Het gebruikte sperma in deze proef is gekozen op basis van wat in 2014 voor de genenbank ingevroren is en daarbij hebben we gekozen voor de rassen met de meeste ingevroren rietjes. Dit waren de rassen Beige, Gouwenaar en Thrianta. Voor het verse sperma van de zeldzame rassen is gekozen voor een fokker die rammen van meerdere rassen hield en dat waren Gouwenaar en Havana. De proef is niet opgezet als een rasvergelijking, daarvoor zijn de aantallen te klein.

5. Literatuur

Beschrijving konijnensector. Auteurs: Bart Bremmer, Jessica Cornelissen, Jorine Rommers, Sierk Spoelstra, 2009:
<http://www.wageningenur.nl/nl/Expertises-Dienstverlening/Onderzoeksinstituten/livestock-research/Expertisegebieden/Veehouderijsystemen/Projecten/Konijnen-op-Koers-1.htm>

Hoving, Rita, Agnes de Wit, Henk Sulkers, Kees Zuidberg, Ina Hulsegge, Henri Woelders en Sipke Joost Hiemstra. CGN rapport 32. 2014. Winning en cryoconservering van sperma van zeldzame Nederlandse konijnenrassen voor de genenbank. <http://edepot.wur.nl/328461>

Moçé, E., E. Blanch, A. Talaván and M.P. Viudes de Castro. 2014. Effect of different freezing velocities on the quality and fertilising ability of cryopreserved rabbit spermatozoa. *Reproduction, Fertility and Development*, www.publish.csiro.au/journals/rfd

Moçé E., Lavara R. and Vicente J.S. 2005. Influence of the Donor Male on the Fertility of Frozen-Thawed Rabbit Sperm after Artificial Insemination of Females of Different Genotypes. *Reprod Dom Anim* 40, 516–521.

Bijlage A Hokindeling, proefuitvoering en resultaten per voedster per ram

Hok	voedster	Leeftijd voedster	Geïncubieerd met type sperma	Herkomst sperma	Ras spermadonor	Ramnummer	Wintdatum sperma	Concentratie inseminatie dosis (miljoen zaadcellen)	% motiliteit (23-4-2015)	Drachtig op dag 15 (8-5-2015) J/N	Aantal geboren jongen
1	1	Vers	Zeldzaam	Havana	meerdere	234-2015	120	60-65	J		
2	1	Cryo	Zeldzaam	Beige	2WP-556	19-5-2014	36	10	J		6
3	1	Vers	Hybride	Hyla	meerdere	234-2015			J		7
4	1	Cryo	Zeldzaam	Gouenaar	2VA-904	19-5-2014	64	10	J		11
5	1	Vers	Zeldzaam	Gouenaar	meerdere	234-2015	76	80	J		9
6	>1	Cryo	Zeldzaam	Thrianta	3HU-310	19-5-2014	44	10	?		0
7	>1	Cryo	Zeldzaam	Gouenaar	3WP-469	21-5-2014	43	15	N		
8	>1	Vers	Hybride	Hyla	meerdere	234-2015			J		12
9	>1	Cryo	Zeldzaam	Beige	2KL-605	10-6-2014	36	5	N		
10	>1	Vers	Zeldzaam	Gouenaar	meerdere	234-2015	76	80	N		
11	>1	Cryo	Zeldzaam	Gouenaar	3WP-469	23-5-2014	35	15	N		
12	>1	Cryo	Zeldzaam	Thrianta	3HU-562	6-6-2014	43	5	J		8
13	>1	Vers	Hybride	Hyla	meerdere	234-2015			N		
14	>1	Cryo	Zeldzaam	Gouenaar	3WP-469	21-5-2014	43	15	J (was N)		1
15	>1	Vers	Zeldzaam	Gouenaar	meerdere	234-2015	76	80	J		10
16	>1	Cryo	Zeldzaam	Beige	3WP-339	19-5-2014	50	10	J		12
17	>1	Vers	Zeldzaam	Havana	meerdere	234-2015	120	60-65	N		
18	>1	Cryo	Zeldzaam	Thrianta	3HU-573	23-5-2014	39	5	N		
19	>1	Vers	Hybride	Hyla	meerdere	234-2015			J		10
20	>1	Cryo	Zeldzaam	Gouenaar	1HW-559	23-5-2014	78	10	J		9
21	>1	Vers	Zeldzaam	Gouenaar	meerdere	234-2015	76	80	N		
22	>1	Cryo	Zeldzaam	Gouenaar	3VA-246	10-6-2014	42	5	N		
23	>1	Cryo	Zeldzaam	Beige	2KL-605	12-6-2014	50	10	J		2
24	>1	Vers	Hybride	Hyla	meerdere	234-2015			J		10
25	>1	Cryo	Zeldzaam	Gouenaar	1WP-565	28-5-2014	38	15	J		11
26	>1	Vers	Zeldzaam	Gouenaar	meerdere	234-2015	76	80	J		5
27	>1	Vers	Zeldzaam	Gouenaar	meerdere	234-2015	76	80	J		0
28	>1	Cryo	Zeldzaam	Thrianta	3HU-573	19-5-2014	44	10	N		
29	>1	Cryo	Zeldzaam	Gouenaar	3WP-469	21-5-2014	43	15	N		
30	>1	Vers	Hybride	Hyla	meerdere	234-2015			J		18
31	>1	Cryo	Zeldzaam	Gouenaar	3WP-469	23-5-2014	35	15	N		
32	>1	Vers	Zeldzaam	Havana	meerdere	234-2015	120	60-65	J		0
33	>1	Cryo	Zeldzaam	Beige	2WP-556	19-5-2014	36	10	J (was ?)		3
34	>1	Cryo	Zeldzaam	Gouenaar	3VA-451	19-5-2014	59	15	J		12
35	>1	Vers	Hybride	Hyla	meerdere	234-2015			J		6
36	>1	Cryo	Zeldzaam	Gouenaar	1WP-565	28-5-2014	38	15	N?		0
37	>1	Vers	Zeldzaam	Gouenaar	meerdere	234-2015	76	80	J		4
38	>1	Cryo	Zeldzaam	Thrianta	3HU-562	6-6-2014	43	5	nvt		
39	>1	Cryo	Zeldzaam	Gouenaar	3VA-246	10-6-2014	42	5	N		
40	>1	Vers	Zeldzaam	Havana	meerdere	234-2015	120	60-65	J		7
41	>1	Vers	Hybride	Hyla	meerdere	234-2015			J		12
42	>1	Cryo	Zeldzaam	Gouenaar	3VA-246	10-6-2014	42	5	J		0
43	>1	Cryo	Zeldzaam	Beige	3WP-339	19-5-2014	50	10	N		
44	>1	Vers	Zeldzaam	Gouenaar	meerdere	234-2015	76	80	J		7
45	>1	Cryo	Zeldzaam	Thrianta	3HU-310	19-5-2014	44	10	J		6
46	>1	Vers	Hybride	Hyla	meerdere	234-2015			J		4
47	>1	Cryo	Zeldzaam	Gouenaar	1WP-565	28-5-2014	38	15	J		3
48	>1	Vers	Zeldzaam	Gouenaar	meerdere	234-2015	76	80	J		12
49	>1	Cryo	Zeldzaam	Thrianta	3HU-562	6-6-2014	43	5	J		8
50	>1	Vers	Zeldzaam	Havana	meerdere	234-2015	120	60-65	N		
51	>1	Cryo	Zeldzaam	Gouenaar	3WP-469	21-5-2014	43	15	J		8
52	>1	Vers	Hybride	Hyla	meerdere	234-2015			J		13
53	>1	Cryo	Zeldzaam	Beige	2KL-605	10-6-2014	36	5	N		
54	>1	Cryo	Zeldzaam	Thrianta	3HU-573	19-5-2014	44	10	J		6

Bijlage B Drachten per ram per invriesdag

Ram/invriesdag	# drachtig / totaal	# nesten	Gem # jongen/nest
1 ^a	1/1	1	2
2 ^a	0/2	0	nvt
3	2/2	2	4.5
4	1/2	1	12
5	1/1	1	9
6	2/3	2	7
7	1/1	1	11
8	1/3	0	nvt
9	1/1	1	12
10 ^b	2/4	2	4.5
11 ^b	0/2	0	nvt
12	1/2	1	6
13	2/3	2	8
14 ^c	1/2	1	6
15 ^c	0/1	0	nvt

^{a,b,c} Batches met een gelijk superscript zijn van dezelfde ram, maar van verschillende invriesdagen.

