

Exklusive Biotechnologie

Der Embryotransfer ist im eigentlichen Sinne die Übertragung eines gewonnenen Embryos in die Gebärmutter einer Leihmutter. Doch bis es dazu kommt, müssen viele Dinge beachtet werden. In der Humanmedizin und auch bei wirtschaftlich stark genutzten Tierarten, wie beispielsweise den Rindern, ist der ET ein etabliertes Verfahren und nimmt einen immer höheren Stellenwert ein. Ohne den Embryotransfer und die anderen assoziierten Biotechnologien würde es in der internationalen Rinderzucht den erreichten Zuchtfortschritt nicht geben!

Aufgrund verschiedener Besonderheiten in der Reproduktionsphysiologie der Stute konnte der Embryotransfer in der Pferdezucht bislang nicht diese Bedeutung erlangen. Durch intensive wissenschaftliche Untersuchungen konnten in den letzten Jahren jedoch deutliche Verbesserungen hinsichtlich der Gewinnung, des Transports und der Übertragung von Embryonen erreicht werden, so dass die Nutzung des Embryotransfers auch in der Pferdezucht durchaus wirtschaftlich interessant sein kann.

Die ersten Versuche zum equinen Embryotransfer wurden 1972 unternommen, seit den 1980er-Jahren stieg der Einsatz beim Pferd vor allem in Forschungseinrichtungen. Seit den 1990er-Jahren ist die Biotechnik so weit entwickelt, dass sie kommerziell in der Pferdezucht eingesetzt werden kann und auch eingesetzt wird - vor allem in Südamerika und den Vereinigten Staaten. Wissenschaftliche Studien zur Verbesserung der Spünlösungen und -methoden, der Übertragungsprozesse, der Embryonenlagerung und der Empfängerstutenbereitstellung steigern die Wirtschaftlichkeit dieser Technik.

Der Embryotransfer wird auch in Deutschland zunehmend in der Zuchtplanung eingesetzt, jedoch liegt er laut FN Statistik nur bei einem Anteil von insgesamt circa 1% der tragenden Stuten. Die Gründe, weshalb ein Embryotransfer für Züchter nicht in der breiten Masse in Frage kommt, liegt nach Studien an dem zu hohen Zeit- und Arbeitsaufwand und letztlich an den zu hohen Kosten. Hinzu kommen die Skepsis der Züchter und Zuchtverbände, die lange Zeit jährlich nur ein Fohlen pro genetische Mutter akzeptierten. Durch Änderungen in der Zuchtbuchordnung und den Satzungen der Zuchtverbände ist die Registrierung und damit die Teilnahme am Zuchtprogramm von aus dem Transfer stammenden Pferden möglich geworden.

Welche Vorteile bietet der Einsatz des Embryotransfers, damit für den Züchter der Aufwand gerechtfertigt ist? Zucht bedeutet aus Sicht der Populationsgenetik, Elterntiere mit besonders hochwertigen

Merkmale bevorzugt und verstärkt zu vermehren. Während die Ausnutzung hochwertiger Hengste durch die Nutzung der Künstlichen Besamung deutlich gesteigert werden konnte, ist dies bei züchterisch besonders wertvollen Stuten nur mit Hilfe von Biotechnologien, wie dem Embryotransfer, möglich. Es können pro Saison mehrere Embryonen aus einer Stute gewonnen und so aus dieser mehr als ein Nachkommen pro Jahr erzeugt werden. Die Anpaarungen können mit dem gleichen Vatertier oder mit verschiedenen Hengsten erfolgen. Hierdurch ist es möglich, in einem kurzen Zeitintervall verschiedene interessante Anpaarungen pro Stute zu erzeugen.

In erster Linie ist der Embryotransfer interessant für die Sportpferdezucht. Die parallele Zuchtnutzung von weiblichen Sportpferden ohne Unterbrechung des Trainings- oder Turniereinsatzes ist Dank dieser Technologie möglich, hierdurch kann also auch der entsprechende Zuchtwert der Spenderstute gesteigert werden. Auf der anderen Seite kann durch die Besamung und Spülung zweijähriger Stuten eine vorzeitige Zuchtnutzung erfolgen, wenn die Qualität der Jungstute dieses interessant erscheinen lässt um so eine Verkürzung des Generationsintervalls und im Umkehrschluss eine Steigerung des Zuchtfortschrittes zu erzielen.

Aus tiermedizinischer Sicht ist der Embryotransfer bei Stuten indiziert, die aufgrund extragenitaler und genitaler Erkrankungen selbst keine Frucht mehr austragen können oder nicht den Belastungen und Risiken einer weiteren Trächtigkeit ausgesetzt werden sollten. Zu bedenken ist hier jedoch, ob die extragenitale Erkrankungen eine genetische Ursache haben kann oder nicht. Sollte eine erbbedingte Veranlagung möglich sein, ist aus zuchthygienischer Sicht auf jeden Fall auf einen Embryotransfer zu verzichten.

Verschiedene Einfluss- und Managementfaktoren der Spender- und Empfängerstuten haben einen Einfluss auf die Embryogewinnungsrate und die Trächtigkeitsrate. Nur durch eine Optimierung der Arbeitsschritte können unter Praxisbedingungen hohe Erfolgsraten im equinen Embryotransfer erzielt werden.

Der gekörte Invincible Sir v. Best Before Midnight a.d. Insterurmel aus dem Eis v. Padróns Mahogany ist der erste gekörte Hengst Deutschlands, dessen beide Eltern ET-Produkte sind, gezogen und im Besitz der Sportpferdezucht Hasbergen.

Vorbereitung der Spenderstute

Die entscheidenden Faktoren für eine erfolgreiche Embryospülung sind das Besamungsmanagement und die Geschlechtsundheit der Stute. Eine gute Spenderstute sollte zuchttauglich sein, das bedeutet, dass sie genitalgesund und frei von Erbfehlern ist. Stuten mit vorherigem bekanntem Fruchtbarkeitsproblem mindern die erfolgreiche Embryogewinnungsrate deutlich. Auch spielt das Alter eine wesentliche Rolle. Bei Stuten ab etwa fünfzehn Jahren ist mit einer verminderten Fruchtbarkeit zu rechnen und so sinkt auch die Embryogewinnungsrate drastisch gegenüber jungen, gesunden Stuten.

Eine aktuelle Studie aus Kentucky (USA) zeigt, dass bei jungen, trainierten Sportpferden in 80 % der Fälle ein Embryo gewonnen werden konnte, bei Zuchtstuten mittleren Alters nur ungefähr zu 60 % und bei Problemstuten nur noch maximal zu 30 %. Das heißt aber nicht, dass Stuten mit Fruchtbarkeitsstörungen grundsätzlich schlechte Spenderstuten sind. Bei jeder Stute sollte eine gründliche gynäkologische Untersuchung erfolgen und anschließend individuell entschieden werden, ob sie sich zur Embryogewinnung eignet oder nicht. Die Erfahrung hat gezeigt, dass nur wenige Stuten gar nicht geeignet sind. Allerdings können stutenabhängig Probleme auftreten, die die Erfolgsrate senken und die Kosten steigern.

Bei der Besamung der Spenderstute spielen neben der Qualität des Samens, die Art der Samenkonservierung, die Besamungsdosis und der Besamungszeitpunkt eine Rolle. Für den Erfolg des Embryotransferprogramms ist somit auch die Wahl des genutzten Hengstes aus tiermedizinischer Sicht von entscheidender Bedeutung. Hinzu kommen die züchterisch interessanten Eigenschaften wie Pedigree, Exterieur oder Eigenleistung. Dieses hat jedoch nur einen Einfluss auf die Qualität des Zuchtproduktes - für den Spülerfolg sollte die Fruchtbarkeit und die Verfügbarkeit des Hengstes ein wesentliches Selektionskriterium darstellen. Denn Hengste mit geringer Fruchtbarkeit stellen in einem durchgeführten Embryotransferprogramm einen deutlichen Störfaktor dar.

Frischsperma, am Tag der Samengewinnung übertragenes flüssigkonserviertes Sperma, ist aufgrund deutlich besserer Embryonengewinnungsraten dem Versand- und Tiefgefriersperma im Prinzip vorzuziehen. Bei der Besamung junger, fertiler Stuten mit Frischsperma von fertilen Hengsten liegt die Embryogewinnungsrate bei > 70%. Da jedoch häufig ältere Sport- oder Zuchtstuten mit Nachkommenleistung zum Embryotransfer vorgestellt werden und der Einsatz von Versand- oder Tiefgefriersperma gewünscht wird, schwanken die Embryogewinnungsraten in der Praxis zwischen 30 und 50 %.

Die häufigen gynäkologischen Untersuchungen der Spenderstute dienen nicht nur zur genauen Terminierung der Ovulation und damit der Bestimmung des optimalen Besamungszeitpunktes sondern auch der gezielten Embryospülung. Ein zeitgerechter Spülvorgang hat wiederum einen wichtigen Einfluss auf die Embryogewinnungsrate. Die physiologische Zeitspanne von der Befruchtung der Eizelle im Eileiter und der Eintritt in die Gebärmutter der Stute liegt bei etwa 148 Stunden, also circa sechs Tagen, wobei die Dauer der Eileiterpassage von vielen weiteren Faktoren beeinflusst wird. So wurden Verzögerungen zu Beginn der Saison, später Winter Übergang kaltes Frühjahr, und bei der Nutzung älterer Spenderstuten beobachtet. Bei einer direkten Übertragung auf die Empfän-

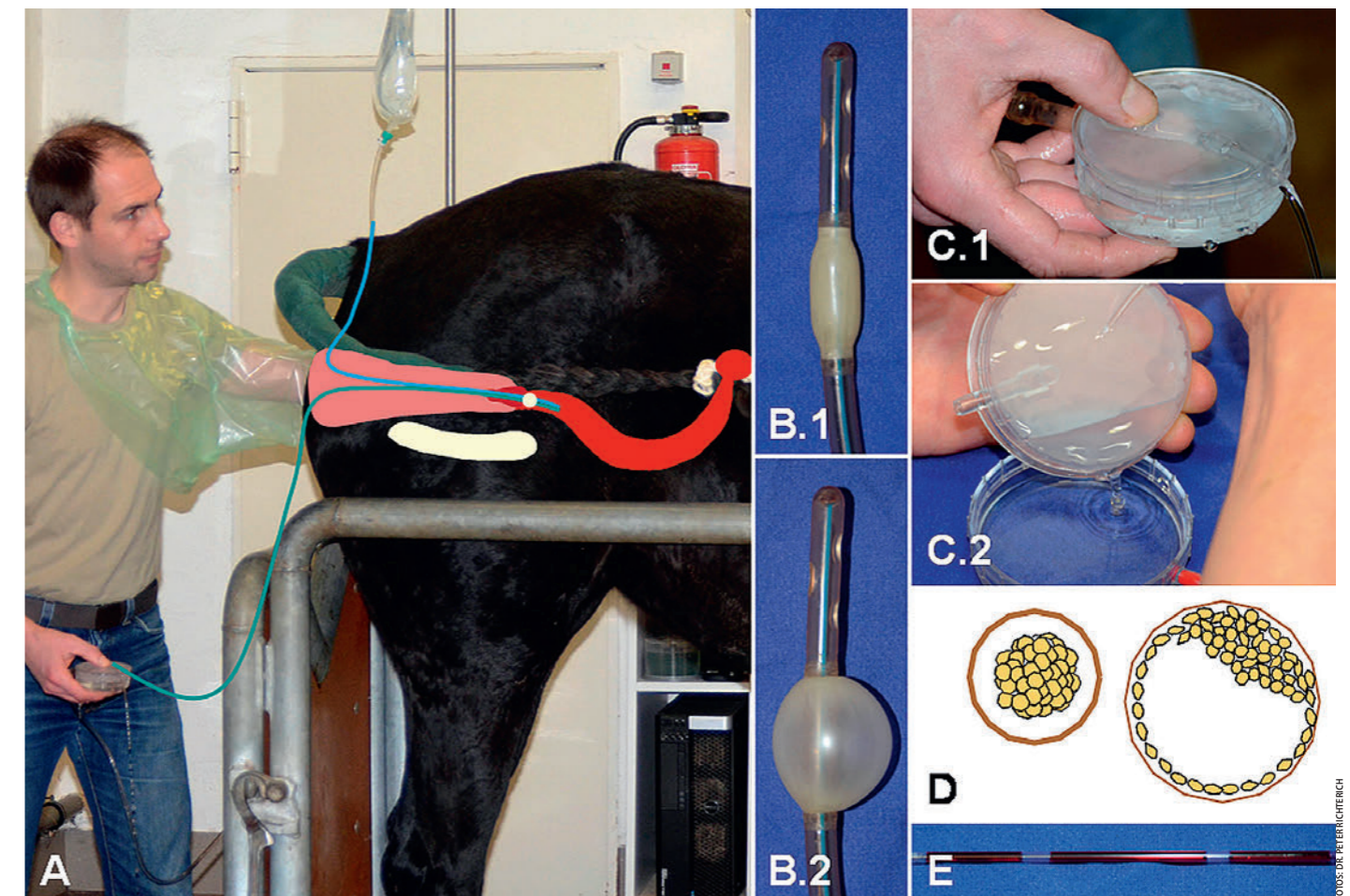
gerstute oder bei einer Übertragung nach bis zu 24h im gekühlten Transport eignet sich die Spülung des Embryos am 7. bis 8. Tag nach der Ovulation. Bei alten Stuten sollte aufgrund der verzögerten Eileiterpassage am 9. Tag gespült werden. Zur Kryokonservierung, das bedeutet das Einfrieren des gewonnenen Embryos und Lagerung bei -196° C in flüssigem Stickstoff, ist die Spülung circa 6,5 Tag nach der Befruchtung essentiell. Grund ist der Durchmesser des Embryos und das hieraus resultierende Volumen und die Oberflächengröße sowie die Eindringtiefe des Mediums im Konservierungsverfahren.

Die Anzahl der Eisprünge ist bei der Embryogewinnung ebenfalls interessant. Die hormonelle Stimulation der Eierstöcke und damit eine gleichzeitige Anbildung und Reifung mehrerer Follikel, die so genannte Superovulation, wie in den Rinderembryotransfersystemen, ist bei der Stute leider nicht oder nur sehr begrenzt erfolgreich. Auch zahlreiche internationale und nationale Forschungseinrichtungen und Studien haben bislang hier noch keinen funktionellen Lösungsansatz gefunden. Die normalerweise nicht gewünschte Doppelovulation, die zu Zwillingsträchtigkeit führen kann, wäre bei der Embryonengewinnung somit von Vorteil. So dass insgesamt bis jetzt nur ein bzw. nach Doppelovulationen auch zwei Embryonen gewonnen werden können.

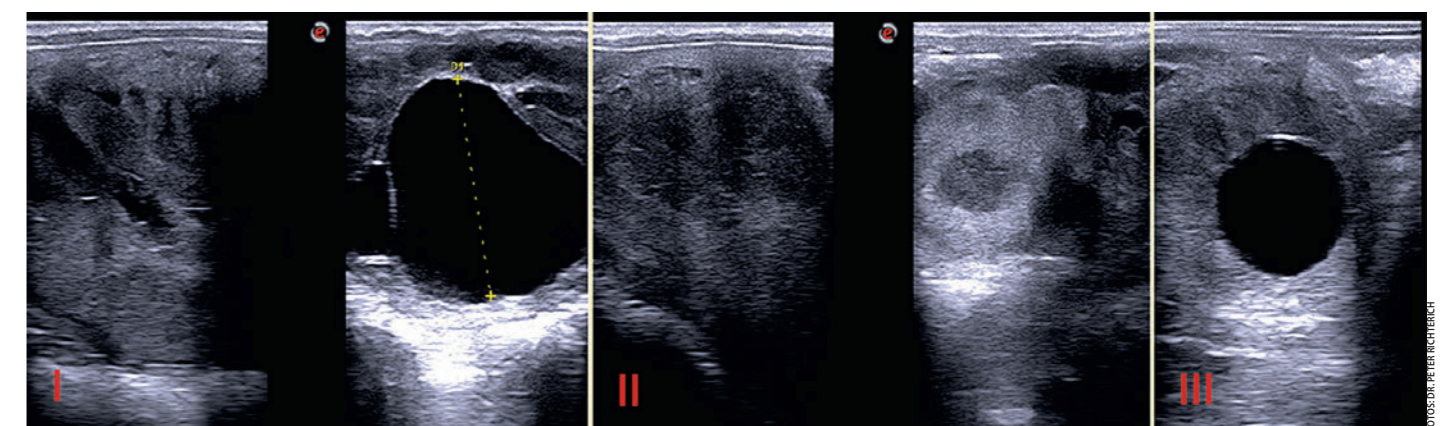
Der Einsatz des Embryotransfers für die züchterische Nutzung von Sportstuten ist der häufigste Grund diese Technik anzuwenden. Wie oben bereits erwähnt, haben diese Stuten eine sehr günstige Fruchtbarkeitsvoraussetzung. Dieses wird auch durch andere wissenschaftliche Untersuchungen gezeigt, da die Fruchtbarkeit von jungen Stuten relativ wenig durch Stress beeinträchtigt wird. Trotzdem zeigt sich häufig das Turnierstuten keine maximalen Ergebnisse aufweisen. Das Problem liegt in der Terminierung von Training und Turniereinsatz der Stute mit den notwendigen gynäkologischen Untersuchungen zur Bestimmung des Besamungszeitpunkts und der Embryonenspülung zu vereinbaren. Eine optimale Embryonengewinnungsrate ist somit nur durch eine gute Organisation und ein effektives Zeitmanagement möglich.

Rechtliche Grundlagen

Die notwendig durchzuführenden Untersuchungsverfahren der Spenderstuten sind abhängig von der genutzten Embryotransfereinrichtung und dem Standort der Trägerstute. Befindet sich die Trägerstute für die Embryoübertragung in Deutschland kann eine nationale ET-Station genutzt werden, hier gelten die Vorgaben der Samentnahmeverordnung (SamEnV) und des Tierzuchtgesetzes. Wird der Embryo über eine innereuropäische Grenze transportiert, muss die ET-Einrichtung nach der Richtlinie 92/65/EWG EU-zertifiziert sein. Dies hat auch wirtschaftliche und finanzielle Bedeutung. Stuten, deren Embryo außerhalb Deutschlands transportiert und übertragen werden sollen, müssen sich aufgrund neuer EU-Vorgaben seit dem 01.09.2010 während zwei Rossen vor der eigentlichen Gewinnung eines Embryos einer Beprobung auf CEM (contagiose eqine Metritis) und Infektiöse Anämie unterziehen. Die jeweilige Auswertung der Proben dauert 14 Tage und die Ergebnisse müssen vor dem Embryotransfer endgültig vorliegen, um die benötigten Begleitpapiere des Veterinärämtes zu erhalten. Bei geplanter mehrmaliger Spülung muss zum Erhalt des Status alle 90 Tage die Blutuntersuchung wiederholt werden.



O BEN | Embryotransfer beim Pferd: **A)** schematische Darstellung und Lage des Spülsystems **B 1 UND 2)** ungeblockter und geblockter Katheter zum Verschluss des Gebärmutterhalses beim Spülvorgang **C)** Spülfilter während der Spülung, das feine Sieb muss nach der Spülung sorgfältig abgespült werden **D)** schematische Embryodarstellung, gewünscht wird die links dargestellte Morula; **E)** Portionierung des Embryos in einem Midipaillette (Embryo in der Mitte, zur Anschauung hier eingefärbte Flüssigkeit)



O BEN | Ultraschalldiagnostik während des Embryotransfers: **I)** Gebärmutter mit reduzierter Radspeichenstruktur, polygonaler Follikel mit erkennbarer Doppelwandigkeit > optimaler Besamungszeitpunkt; **II)** frischer Gelbkörper > bestimmt den Zeitpunkt der Spülung; **III)** erfolgreiche übertragener Embryo in der Trägerstute



O BEN | Info-Tag in Hasbergen.2012: Die Schimmelstute Virginian Girl xx im Alter von 27 Jahren mit einem ET-Stutfohlen von B.B.King, ausgetragen von der Fuchsstute Femme Fatale.

Ist eine passende und geeignete Empfängerstute in Deutschland vorhanden oder sogar im eigenen Besitz, vereinfacht, beschleunigt und vergünstigt sich das Vorhaben des Embryotransfers durch die rechtlichen Vorschriften für den Züchter erheblich. Denn aufgrund der Tatsache, dass der gewonnene Embryo nicht ins Ausland transportiert werden muss, ist eine vorherige Untersuchung der Spenderstute auf CEM und Infektiöse Anämie nicht notwendig, aber zu empfehlen.

Vorbereitung Empfängerstute

Entscheidend für eine erfolgreiche Trächtigkeitsrate nach der Gewinnung und dem Transfer des Embryos ist die Selektion einer geeigneten Empfängerstute. Hierbei sind mehrere Faktoren zu beachten. Den größten Einfluss auf die Angehorte der transferierten Embryone hat die Synchronität des Zyklus von Spender- und Empfängerstute. Durch die große Variabilität der Rossdauer bei Stuten wird die Ovulationsterminierung teilweise erschwert. Eine Empfängerstute deren Ovulationszeitpunkt einen Tag vor bis drei Tage nach der Ovulation der Spenderstute liegt, kann als Leihmutter genutzt werden. Außerhalb dieses Zeitfensters sinkt die Erfolgsrate drastisch und macht die Nutzung als Empfängerstute praktisch unrealistisch. Optimale Trächtigkeitsraten bei Empfängerstuten sind zu erzielen, wenn deren Ovulation ein bis zwei Tage nach der Spenderstute stattgefunden hat. Um diese Synchronität zu erreichen, steht optimalerweise eine Empfängerstutenherde oder ein Minimum von zwei bis drei Empfängerstuten zur Verfügung, bei denen mit unterschiedlichen Hormonprotokollen die Rosse und die Ovulation induziert wird, um sie so für die Embryonenübertragung zu optimieren.

Obwohl die Synchronität der Empfängerstute den wichtigsten Einflussfaktor für den Erfolg der Embryonenübertragung darstellt, müssen noch weitere Aspekte bei der Auswahl einer geeigneten Empfängerstute berücksichtigt werden. Die Stuten sollten in einem gutem Allgemein- und Ernährungszustand sein. Zusätzlich sollte eine eingehende gynäkologische Zuchttauglichkeitsuntersuchung durchgeführt und die vorhergehende Fruchtbarkeitsleistung der entsprechenden Stute beurteilt werden. Bei der Beurteilung der



O BEN | Best Before Midnight v. Sir Shostakovich xx, vielfach S-erfolgreich unter Clara Baunack, ist der erste Hengst, der in Deutschland nach einem ET gekört wurde.

Genitalgesundheit sollte neben normalen Zyklusintervallen auch das Freisein von pathologischen Veränderungen (z. B. endometrialer Zysten, uterine Flüssigkeitsansammlungen, Pneumovagina) besonderes Augenmerk auf den Muttermund und den Gebärmuttertonus gelegt werden. Die Nutzung als Empfängerstute in der Fohlenrosse ist nicht anzuraten, da aufgrund der möglicherweise noch nicht vollständig abgeschlossenen Rückbildungsvorgänge an der Gebärmutter die Fruchtbarkeitsleistung noch nicht in vollem Umfang gegeben ist. Die besten Ergebnisse werden erzielt bei Stuten, die nicht Fohlen führend sind, da sie keine Energie für die Laktation aufbringen müssen. Die Empfängerstute sollte relativ jung sein (3 - 12 Jahre), denn mit zunehmendem Alter kommt es zu Veränderung der Gebärmutterhäut, die zu höheren Trächtigkeitsverlusten führen. Erstlingsfohlen können in der körperlichen Entwicklung zurückbleiben, so dass es sich nach Möglichkeit empfiehlt Stuten zu nutzen, die bereits ein Fohlen geboren haben, was dann einer erstmaligen Nutzung als Trägartier ab vier bis fünf Jahren entspricht. Bei diesen Stuten sind auch Milchleistung und Muttereigenschaften bekannt.

Häufig werden die Größe und die Charaktereigenschaften der Trägerstute und somit die Rasse diskutiert. Die Größe zwischen Spender- und Empfängerstute sollte angleichend sein. Zu kleine Trägartiere können Wachstums- und Entwicklungsstörungen verursachen, die teilweise nicht kompensiert werden können und so die Gesamtwirtschaftlichkeit des Embryotransfers reduzieren. Auch charakterliche Eigenschaften sind essentiell, da durch die Mutter-Kind-Prägung Leistungsbereitschaften des späteren Sportlers positiv oder negativ beeinflusst werden könnten. Die Übertragung von Warmblutembryonen auf Traber- oder Vollblutstuten sind neben der Nutzung von Warmblutstuten minderer Qualität die gängigsten Wege.

Zusammenfassend kann man sagen, dass eine junge genitalgesunde Stute mit guten Muttereigenschaften sich optimal als Empfängerstute eignet. Wenn diese zyklussynchron zur Spenderstute geleitet werden kann, ist von einer Trächtigkeitsrate von bis zu 80% auszugehen.

Dr. Antje Heberling und Dr. Peter Richterich
www.pferdeklunik-boyenstein.de

Die zweite Runde mit den Busch-Elchen

Bei unserem Auftritt beim Galaabend in Neumünster habe ich es versprochen und nun wird sie offiziell eingeläutet: Die 2. Runde mit den Busch-Elchen, der Initiative „Trakehner Nachwuchs in den Vielseitigkeitsattel“!

Der erste Durchgang konnte Mut machen: Über 80 Geländeeinsteiger haben sich im vorigen Frühjahr zu kommen getraut, der Lehrgang in Luhmühlen war mit 18 Pferden und 13 Jugendlichen bis an die Grenze des Möglichen gebucht und die Erfolge in Hannover konnten sich sehen lassen. Am Ende dann unser Auftritt beim Galaabend ... das war schon eine runde Sache, die alle Teilnehmer – im Sattel und zu Fuß – noch einmal richtig mit dem „Trakehnervirus“ infiziert hat. Aber mein persönlich schönster Erfolg aus dieser ersten Runde ist etwas ganz Anderes, kein Turniererfolg, keine Schleife kein Auftritt vor großem Publikum, sondern „nur“ der Beweis eines glücklichen Momentes, nämlich das untenstehende Foto!

Es zeigt Frau Martina Stahl, auf der 6 j. Stute AVINTA v. Summertime. Ich habe dieses Bild im letzten Herbst von ihr bekommen und sie schreibt dazu: *Erstes Geländetraining im Frühjahr 2013 bei den Lehrgängen des Trakehner Verbandes in Ahnsen und Bispingen, davor nur einzelne kleine Sprünge im eigenen Gelände. Weil das Springen mir und meiner Stute so viel Spaß gemacht hat, bin ich anschließend zweimal nach Holzerode gefahren (wo auch das Bild entstand) und habe in Harbansen am offenen Geländetraining bei Uwe Schönrock und Andreas Weiser teilgenommen. Für die nächste Turniersaison habe ich mir vorgenommen eine Geländeprüfung und /oder eine Vielseitigkeit in E oder A zu nennen. Jetzt noch kurz zu mir: Ich bin verheiratet und habe zwei Kinder (11 und 14 Jahre). Neben Avina besitze ich noch ihre Mutter AKALINA v. Herzbube, die ich ebenfalls selbst gezogen habe. Ich habe sie damals, als ich 14 Jahre alt war, von meinem Opa geschenkt bekommen. So fing alles an ...!*

Spätestens mit diesen letzten Sätzen hatte sich Frau Stahl zur „Spitzenreiterin in meiner Zielgruppe“ gemacht und ich kann mich tatsächlich rühmen, diese Entwicklung eingeleitet zu haben! Sie hatte sich für den Termin in Warmeloh angemeldet, konnte dann aber

nicht. Also habe ich ihr zwei Folgetermine angeboten. Bei beiden hatten wir viel Zeit und Ruhe und das Duo, am Anfang sehr zaghaft, wurde von Sprung zu Sprung besser – Avina ist aber auch ein wundervolles Pferd! Im zweiten Nachgespräch kam ich auf die gute Idee, Frau Stahl auf die Trainingsmöglichkeit in Harbansen hinzuweisen. Beide Trainer konnte ich besten Gewissens empfehlen. Der Rest ist bereits gesagt und das Bild, das macht mich richtig stolz!

Ich beschreibe das hier alles so weitschweifig, weil ich die Hoffnung habe das dieses Beispiel Schule macht. Wenn Sie von Dergleichen träumen und ein passendes Pferd haben, dann geben Sie sich einen Ruck und – planen Sie erst einmal – die Teilnahme an einem unserer Einsteigertermine! Die „Spielregeln“ sind unverändert: Teilnehmen kann jeder, keine Altersgrenze, wenn er/sie Pferd und Sattel hat um im Gelände im leichten Sitz reiten zu können. Wenn man dann auch noch in der Lage ist, angesichts eines Sprunges vom Galopp zum Trab durch zu parieren, dann kann es los gehen!

Es wird im Frühjahr wieder Termine in Süsel, Warmeloh, Ganderkese und Münster geben. Auch ein Trainingstag in Südhessen erscheint wieder sinnvoll. Frau Steiner wird in Bayern, und dieses Mal auch in Baden Württemberg, wieder Chancen für Einsteiger anbieten. Ein Problemfeld sind bisher die „Neuen Bundesländer“. Unser Angebot in Berlin Blankenfelde war als einziges schwach nachgefragt, so dass der veranstaltende Verein für 2014 abgewinkt hat. Es laufen Verhandlungen mit einem anderen Verein in Berlin aber da ist noch nichts fest. Deshalb die Bitte an alle Leser: Sollten Sie Interesse an einem Trainingstermin haben, einen geeigneten Trainingsplatz und/oder weitere potentielle Teilnehmer kennen, dann lassen Sie mich das wissen. Noch ist Zeit, noch können wir alles planen! Dafür hier meine Adresse: erdmann.germer@ewetel.net oder 04277 963264



LINKS | Begeisterter Buschnachwuchs: Martina Stahl und ihre Avinta v. Summertime.