

Embryotransfer beim Pferd

Schriftenreihe, Heft 22/2012



Etablierung des Embryotransfers beim Pferd am Sächsischen Hauptgestüt Graditz

Claudia Reppel, Karen Reguszynski
Steffen Bothendorf, Hartmut Lohr

1	Einleitung	7
2	Die Spenderstute	8
2.1	Literatur	8
2.2	Spenderstuten in Graditz	8
3	Auswahl der Empfängerstute	10
3.1	Literatur	10
3.2	Empfängerstuten in Graditz	10
4	Durchführung der Spülung	11
4.1	Literatur	11
4.2	Spülungen in Graditz	12
5	Durchführung des Transfers.....	15
5.1	Literatur	15
5.2	Transfers in Graditz	15
6	Kryokonservierung von Embryonen	17
6.1	Literatur	17
6.2	Konservierte Embryonen in Graditz	17
7	Einfluss des Hengstes auf den Erfolg.....	18
7.1	Literatur	18
7.2	Beobachtungen in Graditz	18
8	Diskussion und Schlussfolgerungen.....	19
	Literaturverzeichnis.....	20

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Entwicklung der Bedeckungsarten in der Warmblutzucht (Quelle: FN Jahresbericht 2010).....	7
Abbildung 2:	Spülung einer Spenderstute	13
Abbildung 3:	Aufsuchen eines Embryos	13
Abbildung 4:	Pferdeembryo im Morulastadium, Tag 6,5 (links) und im Stadium der Blastocyste, Tag 7,5 (rechts).....	16
Abbildung 5:	Kryokonservierung von Embryonen in N ₂ mithilfe eines programmierbaren Einfriergeräts.....	18

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Übersicht der Spenderstuten	9
Tabelle 2:	Übersicht der Empfängerstuten	11
Tabelle 3:	Anzahl getätigter Spülungen und Embryonengewinnung zum Direkttransfer	14
Tabelle 4:	Anzahl getätigter Spülungen und Embryonengewinnung zur Kryokonservierung.....	14
Tabelle 5:	Verwendung gewonnener Embryonen.....	16

Abkürzungsverzeichnis

BMELV	Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz
ET	Embryotransfer
FN	Deutsche Reiterliche Vereinigung (Fédération Equestre Nationale)
HCG	Human Chorion Gonadotropin
LN ₂	flüssiger Stickstoff
TU	Trächtigkeitsuntersuchung

1 Einleitung

Das Forschungs- und Entwicklungsvorhaben wurde im Rahmen der Projektarbeit des LfULG im Projektthema „Nutzungsvielfalt Tierhaltung Sachsen 2020“ im Teil Pferdezucht und -haltung bearbeitet. Die Bedeutung des Vorhabens lag neben der geplanten Nutzung zum Erhalt tiergenetischer Ressourcen in der Stärkung der Wettbewerbsfähigkeit der sächsischen Pferdezucht und damit einer möglichen Erhöhung der Wertschöpfung im Ländlichen Raum.

Auch einige Biotechniken aus der Reproduktionsmedizin haben die Überleitung aus dem Human- in den Nutztierbereich geschafft. Die Künstliche Besamung ist längst bei vielen Tierarten ein etabliertes Verfahren. In der modernen Rinderzucht besitzen auch die Anwendung des Embryotransfers (ET) und abgeleitete Techniken wie z. B. die In-vitro-Produktion von Embryonen bereits einen hohen Stellenwert. Im Jahr 2010 wurden beispielsweise fast 3.400 Spülungen und über 15.500 Transfers durchgeführt. Aufgrund verschiedener Besonderheiten in der equinen Fortpflanzungsphysiologie, welche sowohl die schwierige Kryokonservierung gewonnener Embryonen als auch die mangelhafte Reaktion der Spenderstuten auf eine Superovulation bewirken, konnten diese Verfahren jedoch in der europäischen Pferdezucht bislang nicht dieselbe Bedeutung erlangen. Ebenso treten der weiteren Verbreitung des ET ethische und praktische Bedenken sowie Restriktionen der Pferdezuchtorganisationen entgegen, die z. T. bis heute bestehen.

Die ersten Versuche zum equinen ET wurden 1972 unternommen, seit den 1980er-Jahren stieg der Einsatz beim Pferd vor allem auf Versuchsbasis. In Südamerika und den USA wird der ET beim Pferd regelmäßig und erfolgreich in der Zucht eingesetzt. In Deutschland stiegen in den letzten Jahren auch die kommerziellen Aktivitäten auf diesem Gebiet an (vgl. Abb. 1). Die Zahl der gemeldeten Embryotransfereinrichtungen wächst stetig.

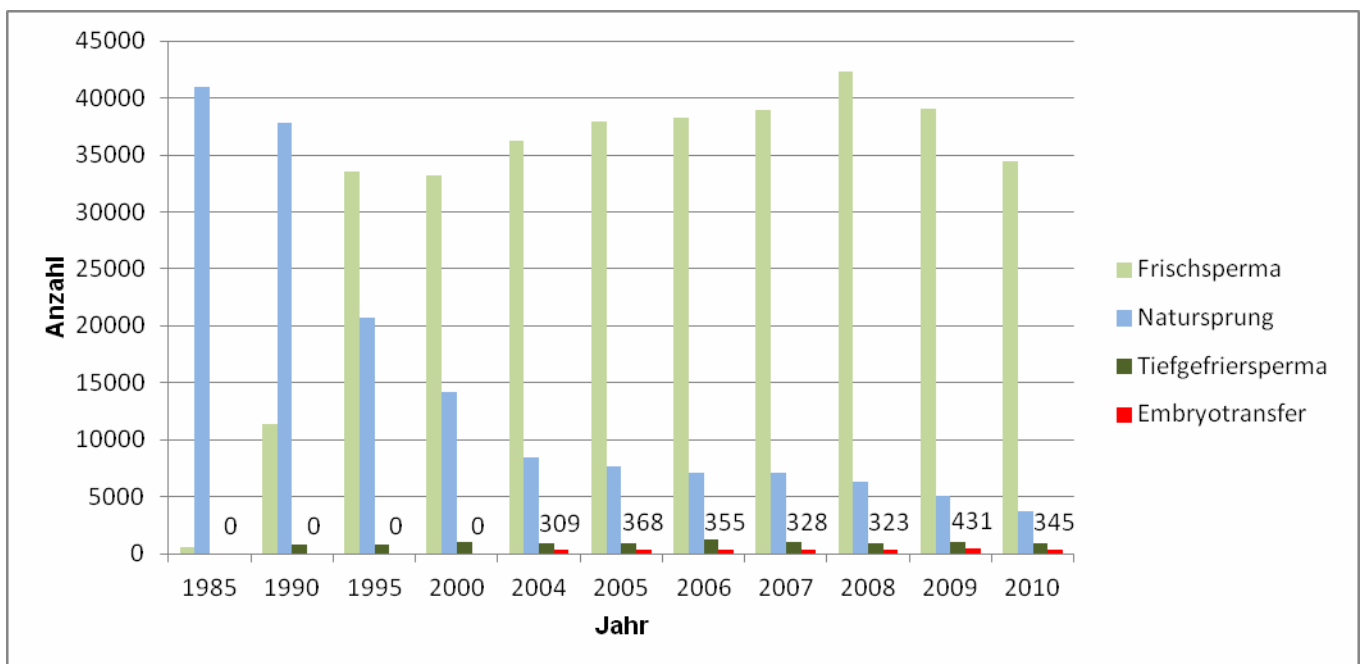


Abbildung 1: Entwicklung der Bedeckungsarten in der Warmblutzucht (Quelle: FN Jahresbericht 2010)

Es gibt zwölf zugelassene Einrichtungen für die Entnahme von Embryonen für die Tierart Pferd (Liste des BMELV, Stand: 14.12.2010), die meisten befinden sich in den alten Bundesländern. Es ist eine wichtige Aufgabe der Haupt- und Landgestüte der einzelnen Bundesländer, dem interessierten Züchter in ihrer Region die etablierte Palette züchterischer Möglichkeiten zugänglich zu machen. Vor diesem Hintergrund sollte die Technik der Gewinnung und Verwendung equiner Embryonen am Hauptgestüt Graditz etabliert und ins Serviceprogramm eingebunden werden.

2 Die Spenderstute

2.1 Literatur

Welche Vorteile bietet der Einsatz des Embryotransfers dem Züchter, damit dieser Aufwand gerechtfertigt wird? Zucht bedeutet, in bestimmten Merkmalen besonders hochwertige Elterntiere bevorzugt und verstärkt zu vermehren. Während die Ausnutzung hochwertiger Hengste durch die Nutzung der Künstlichen Besamung deutlich gesteigert werden kann, ist dies bei züchterisch besonders wertvollen Stuten mithilfe des Embryotransfers möglich. Es können pro Saison mehrere Embryonen aus einer Stute gewonnen und so aus dieser mehrere Nachkommen pro Jahr erzeugt werden. Die Anpaarung kann mit verschiedenen Hengsten erfolgen, sodass in einem kurzen Zeitintervall verschiedene interessante Anpaarungen Fohlen bringen können.

In erster Linie ist der ET interessant für die Sportpferdezucht. Dank dieser Technologie können Stuten in einer Saison gleichzeitig Nachkommen erzeugen und weiter am Sportgeschehen teilnehmen. Dadurch können diese Stuten bereits zeitig zum Zuchtfortschritt beitragen. Weil das Fohlen nicht selber ausgetragen wird, können züchterisch interessante Jungstuten bereits ab dem Alter von zwei Jahren zum ET genutzt werden, was zu einer Verkürzung des Generationsintervalls führt. Eine weitere Zielgruppe können Stuten sein, die zwar tragend werden, aber regelmäßig zu einem späteren Zeitpunkt abortieren oder bei denen aufgrund anderer Erkrankungen eine Hochträchtigkeit nicht mehr zumutbar ist. Letztendlich können auch kryokonservierte Embryonen vom Aussterben bedrohter Rassen eine Genreserve bilden.

Die Spenderstute trägt mit ihrer Fruchtbarkeit maßgeblich zum Erfolg der Embryonengewinnung bei. Bei Stuten ab einem Alter von >14 Jahren und mit Fruchtbarkeitsproblemen liegt die Gewinnungsrate signifikant unter der von fertilen Stuten (SQUIRES, IMEL et al. 1982; VOGELSANG & VOGELSANG 1989; MEADOWS, LISA et al. 2000). Auch das Alter der Spenderstute zeigt einen Einfluss auf das Spülergebnis. Bei älteren Spenderstuten wurde ein erhöhter Anteil frühembryonaler Mortalität zwischen den Tagen 4-14 festgestellt (BALL, LITTLE et al. 1989). Dies gilt als Erklärung für eine verminderte Gewinnungsrate und für eine verminderte Anwachsrate nach Transfer (SQUIRES, IMEL et al. 1982; SQUIRES, CARNEVALE et al. 2003). Dies sollte bei Stuten, die älter als 14 Jahre sind, einkalkuliert werden.

Beim bovinen ET hat man die Möglichkeit, durch eine spezielle hormonelle Stimulation der Eierstöcke gleichzeitig mehrere Eizellen zur Reifung und zum Eisprung zu animieren. Dadurch kann man bei einer Spülung mehrere Embryonen gewinnen. Diese sogenannte „Superovulation“ funktioniert bei der Stute leider bislang nur sehr bedingt. Trotz zahlreicher Ansätze mit verschiedenen Behandlungsprotokollen konnte noch keine zufriedenstellende Methode entwickelt werden (McCUE 1996). Als Erklärung dafür gilt die abweichende Anatomie des equinen Eierstocks (ALLEN 2005). Es haben sich in den letzten Jahren verschiedene Wissenschaftler mit diesem Thema befasst und viele mögliche Stimulationsvarianten getestet. Es wurden trotz Stimulation kaum mehr als drei Eisprünge erzielt. Zudem kann derzeit noch keine fundierte Aussage über Langzeitschäden dieser Behandlung am Eierstock der Stuten getroffen werden. Daher wird von dieser Stimulation der Eierstöcke beim equinen ET bislang wenig Gebrauch gemacht und die vergleichsweise geringe Ausbeute an Embryonen in Kauf genommen.

Erfolgt die Embryonengewinnung *lege artis*, hat sie keine nachteiligen Auswirkungen auf die spätere Fruchtbarkeit der Spenderstuten. Dies ist auch dann nicht der Fall, wenn Spülungen mehrfach hintereinander durchgeführt werden (AURICH 2009).

2.2 Spenderstuten in Graditz

Seitens des Gestüts wurden für die verbleibende Saison 2009 die zwei Stuten „Donna Clara“ und „Diplomation“ als Spenderstuten zur Verfügung gestellt. Letztere konnte aufgrund starker Durchtrittigkeit kein Fohlen mehr selber austragen. Die Stute Donna Clara wurde in diesem Jahr dreimal gespült, die Stute Diplomation viermal.

Im Jahr 2010 sollten mehr als zwei Stuten als Spenderstuten in das ET-Programm einbezogen werden. Bei rechtzeitigem Beginn der Maßnahme könnten verschiedene Stuten derart genutzt werden, dass sie zwei- bis dreimal gespült werden und dann

selber trächtig werden. Die Verzögerung der eigenen Trächtigkeit betrüge einen Monat (zwei Spülungen) bzw. anderthalb Monate (drei Spülungen). Dies ließ sich leider in diesem und auch im Folgejahr nicht recht verwirklichen, sodass keine eigenen Beobachtungen zur eigenen Trächtigkeit einer Spenderstute nach einer oder mehreren Spülungen getroffen werden können.

In der Saison 2011 wurden zwei Jungstuten in das Programm mit einbezogen. Die Stute Upsala hat nicht auf die Rosse-induzierende Injektion von Prostaglandin nach der Spülung reagiert, ebenso nicht auf deren Wiederholung 14 Tage später. Dies deutet darauf hin, dass statt einer korrekten Ovulation eher eine Atresie des dominanten Follikels stattgefunden hat. Es bildet sich nach einer Ovulation physiologischerweise ein Gelbkörper, der am Spülungstag auf jeden Fall ansprechbar auf Prostaglandin ist. Bei einer Follikelatresie fehlt diese Gelbkörperbildung, im Fall Upsala kam es über einen längeren Zeitraum zur Azyklie (kein Zyklus, Ausbleiben der Rosse). Daher fiel die Stute für den ET für den Rest der Saison leider aus.

Tabelle 1: Übersicht der Spenderstuten

Stute	Geburtsjahr	Abstammung	Reproduktionsleistung
Donna Clara	2001	v. Don Cardinale a.d. Lehngräfin v. Lehdorff	Erstbedeckung 2004 bisher fünf Fohlen
Diplomation		v. Pierot II	mehrere Fohlen gehabt durchtrüff
Hohe Zeit	2005	v. Ra a.d. Hora v. Pierot II	Erstbedeckung 2009 bisher kein Fohlen - 2009 resorbiert
Hela	2008	v. Fipes Winged a.d. Hymne	Maidenstute
Donna Clara	2001	v. Don Cardinale a.d. Lehngräfin v. Lehdorff	Erstbedeckung 2004 bisher fünf Fohlen 2009 ET-Spenderstute
Fidella	2000	v. Argentinus a.d. Fidelity v. Fidelio	Erstbedeckung 22.05.2003 bisher vier Fohlen 2009 tragend 18.04.09 v. Lewinsky
Ronja	2001	v. Gipsy King a.d. Ravenna v. Sonnenstrahl	Erstbedeckung 2006 bisher drei Fohlen
Upsala	2008	v. Cardino a.d. U-Carisma	Maidenstute

3 Auswahl der Empfängerstute

3.1 Literatur

Die gründliche Selektion der Empfängerstute beeinflusste entscheidend die Trächtigkeitsrate nach Transfer des Embryos (CARNEVALE, RAMIREZ et al. 2000). Als Qualitätskriterien gelten in diesem Fall eine gute Fruchtbarkeit und möglichst hohe Synchronität zum Zyklus der Spenderstute ebenso wie deren Alter.

Die Fruchtbarkeit der Empfängerstute wird zum einen anhand des generellen klinischen Bildes bei einer eingehenden Zuchttauglichkeitsuntersuchung und durch ihre vorhergehende Fruchtbarkeitsleistung beurteilt. Ebenso wichtig ist aber auch der Zustand des Geschlechtsapparats zum Zeitpunkt des Transfers. Hier werden vor allem der Tonus von Gebärmutter und Zervix beurteilt. Eine Studie zeigte, dass Trächtigkeitsraten am Tag 50 signifikant höher waren, wenn die Rezipienten einen als gut bzw. akzeptabel eingestuften Uteruston aufwiesen als bei Rezipienten mit nur mäßig akzeptablem Tonus (CARNEVALE, RAMIREZ et al. 2000). Damit eine entsprechende Auswahlmöglichkeit besteht, sollten zwei bis drei Empfängerstuten pro Spenderstute bereitgestellt werden.

Bezüglich der Zyklussynchronität wird in Fachkreisen derzeit eine Empfängerstute bevorzugt, deren Ovulationszeitpunkt im Intervall -1 bis +3 Tage zur Ovulation der Spenderstute liegt (SQUIRES, IMEL et al. 1982; STOUT 2006). Studien berichten von geringeren embryonalen Verlustraten, wenn Empfängerstuten an Tag 5 oder 6 nach ihrer Ovulation genutzt werden (CARNEVALE, RAMIREZ et al. 2000).

Das Alter der Empfängerstuten sollte zwischen drei und zehn Jahren liegen, ein wiederholter erfolgreicher Zuchteinsatz spricht für eine gute Fruchtbarkeit. Es sollten möglichst keine Empfängerstuten in der Fohlenrosse genutzt werden. Aufgrund der möglicherweise noch nicht vollständig abgeschlossenen Rückbildungsvorgänge an der Gebärmutter ist die Fruchtbarkeitsleistung noch nicht in vollem Umfang gegeben.

Nicht vernachlässigen sollte man bei Anwendung dieses Verfahrens auch den mütterlichen Einfluss, welchen die austragende Stute auf das Fohlen ausübt. Daher sollte sie für die Aufzuchtphase nach der Geburt eine gute Milchleistung und überdurchschnittliche „Mutterstuteneigenschaften“ aufweisen. Es gibt bislang wenig gesicherte Erkenntnisse, was diese „maternalen Effekte“ betrifft. Eine Studie aus der Schweiz hat mit einer Ausnahme keine signifikanten Einflüsse der Empfängerstute auf Charaktereigenschaften des ET-Fohlens feststellen können. Lediglich auf das Lernverhalten wurde ein Einfluss festgestellt (BURGER 2008).

Lange wurde angenommen, dass die Größe der Empfängerstute auch die Größe des Fohlens beeinflusst. Um negative Einflüsse auf die Fohlenentwicklung zu vermeiden, wird in der Regel eine Empfängerstute genutzt, die mindestens die Größe der Spenderstute hat. Untersuchungen zeigen jedoch, dass die Größe der Empfängerstute keinen signifikanten Einfluss auf die zukünftige Größe des Fohlens hat bzw. werden während der fetalen Phase auftretende Beeinträchtigungen während der späteren Entwicklung des Fohlens postnatal kompensiert (TISCHNER & KLIMCZAK 1989; ALLEN, WILSHER et al. 2004).

3.2 Empfängerstuten in Graditz

Bei beginnender Rosse einer Spenderstute wurde eine potenzielle Empfängerstute mit gut ausgeprägtem Gelbkörper mit PGF in Rosse gebracht, sofern nicht im Pool der Empfängerherde eine Stute auf natürlichem Weg eine Rosse gezeigt hat. Bei Ovulation der Spenderstute wurde der Rezipientin bei Vorliegen eines Follikels >3,5 cm HCG zur Ovulationsinduktion verabreicht. In Graditz wurden neben den in Kap. 3.1 genannten Kriterien Stuten als Empfänger ausgeschlossen, die bereits zwei Embryonen übertragen bekommen und nicht aufgenommen haben. Spezialisierte Zentren erzielen ihre hohen Trächtigkeitsraten ebenfalls nur durch konsequenten Ausschluss solcher Stuten aus der Empfängerherde.

Zur Verbesserung der Erfolgsaussichten des ET kann im Gestüt Graditz die Bereitstellung von Rezipienten in Form einer eigens dafür etablierten Empfängerherde noch deutlich verbessert werden. Eine gewisse Auswahlmöglichkeit sollte, wie auch in der Literatur beschrieben, für jeden anstehenden Transfer gegeben sein.

Tabelle 2: Übersicht der Empfängerstuten

Stute	Geburtsjahr	Abstammung	Reproduktionsleistung
Aufgabe	2003	v. Liberator a.d. Armada v. Sanssouci	Erstbedeckung 11.03.2008 bisher ein Fohlen tragend v. Fürst Wettin 01.05.2009
Aida	1998	v. Dinglinger a.d. Athene v. Pierot II	Erstbedeckung 2001 bisher sieben Fohlen 2009 tragend 29.05.09 v. Colestus
Impression	1994	v. Maggiore a.d. Ivana v. Margo	Erstbedeckung 2004 bisher vier Fohlen
Fidelia	2000	v. Argentinus a.d. Fidelity v. Fidelio	Erstbedeckung 22.05.2003 bisher vier Fohlen 2009 tragend 18.04.09 v. Lewinsky
Diva	2007	V. Lehnbach a.d. Diplomation v. Pierot II	Erstbedeckung 2010 ein Fohlen
Alora	1999	v. Grapaldi a.d. Aster v. Argument	kein Fohlen
Prominenz	1997	v. Sanssouci a.d. Prima v. Parademarsch I	Erstbedeckung 2001 bisher acht Fohlen 2010 tragend aus ET- Empfängerstute
Ronja	2001	v. Gipsy King a.d. Ravenna v. Sonnenstrahl	Erstbedeckung 2006 bisher drei Fohlen

4 Durchführung der Spülung

4.1 Literatur

Die Spülung der Spenderstute wird bevorzugt an Tag 7 oder 8 nach der Ovulation durchgeführt, wenn ein Direkttransfer oder gekühlter Versand erfolgen soll. Der Übertritt des Embryos aus dem Eileiter in den Uterus erfolgt bei der Stute mit 144-156 Stunden nach erfolgter Ovulation verhältnismäßig spät (BATTUT, COLCHEN et al. 1997; BATTUT, GRANDCHAMP DES RAUX et al. 2001). Bei einer späteren Gewinnung ab Tag 9 besteht die Gefahr, dass der rasch wachsende Embryo leichter beschädigt wird (MCKINNON & SQUIRES 1988; MCKINNON & SQUIRES 1988; CARNEVALE, RAMIREZ et al. 2000). Die Spülung vor Tag 7, wie es erforderlich ist, um einen gefriertauglichen Embryo zu erhalten, ist mit niedrigeren Erfolgsaussichten verbunden (BOYLE, SKIDMORE et al. 1989).

Die Angaben zur Embryonengewinnungsrate variieren in der Literatur etwa zwischen 35-70 %. Wird kein Embryo gewonnen, ist entweder kein vitaler Embryo in die Gebärmutter eingewandert oder aber er konnte nicht herausgespült werden. In einer Studie aus den 1980er-Jahren entstanden vereinzelt Trächtigkeiten bei Spenderstuten, bei denen kein Embryo gewonnen wurde (BETTERIDGE, RENARD et al. 1985). Durch die fest ins Spülprogramm verankerte Prostaglandin-Injektion nach vollzogener Spülung zur unterstützenden Reinigung der Gebärmutter besteht diese Gefahr heute nicht mehr. In manchen ET-Centern wird durch eine weitere Spülung unter Oxytocineinfluss die Embryonengewinnungsrate verbessert (MCCUE, NISWENDER et al. 2003;

SQUIRES, CARNEVALE et al. 2003) oder das Spülmedium des letzten Spülganges für ca. drei Minuten im Uterus belassen (HINRICHS 1990). Ebenso ist es entsprechend der Häufigkeit von Zwillingsträchtigkeiten (rasseabhängig bis zu 30 % [NEWCOMBE 1995; MOREL, NEWCOMBE et al. 2005]) bei der Stute auch möglich, dass bei einem Spülgang zwei Embryonen gewonnen werden.

Wird ein Embryo im verbleibenden Spülgut gefunden, wird er durch mehrfaches Umsetzen in einem sterilen Haltemedium gewaschen. Die Qualität des Embryos wird im Stereomikroskop bewertet und nach McKinnon in Grad 1-4 unterteilt (McKINNON & SQUIRES 1988). Embryonen, die in Grad 3 oder 4 eingestuft werden, resultieren signifikant schlechter in einer Trächtigkeit als Grad 1- oder Grad 2-Embryonen (CARNEVALE, RAMIREZ et al. 2000).

4.2 Spülungen in Graditz

Die Spülungen in Graditz wurden an der unsedierten Stute mit einem geschlossenen System durchgeführt. Dazu wurde ein steriler Spülkatheter (90 cm, CH32, Silikon) transcervikal in den Uterus eingeführt und der Ballon zum Verschluss des inneren Muttermundes mit ca. 90 ml Luft gefüllt. Über einen y-Schlauch wurden in vier Spülgängen insgesamt 4 l eines Spülmediums (EquiPro) in die Gebärmutter verbracht und wieder abgehebert. Die rückgewonnene Spülflüssigkeit fließt durch ein Filtersystem (MiniFlush), welches den Embryo aus der Spülflüssigkeit herausfiltert. Um eine zusätzliche Kontrolle zur Menge der rückgewonnenen Flüssigkeit zu haben, wird der Überschuss in einem skalierten Eimer aufgefangen. Nach beendeter Spülung wird der Stute zur Unterstützung der Beseitigung restlicher Spülflüssigkeit aus der Gebärmutter 1ml PGF_{2α} (Dinolytic®) verabreicht.

In der Saison 2009 wurden die Stute Donna Clara dreimal gespült, die Stute Diplomation viermal. Aus Donna Clara konnten dabei ein Embryo gewonnen werden, aus Diplomation zwei.

Insgesamt wurden in der Saison 2010 elf Spülungen an drei verschiedenen Stuten durchgeführt. Davon wurden sieben Spülungen am Tag 7/8 vorgenommen, weil mindestens eine der vorgesehenen Empfängerstuten im erforderlichen Zeitraum null bis zwei Tage nach der Spenderstute ovulierte und somit ein direkter Transfer möglich war. Vier Spülungen wurden möglichst auf den Zeitpunkt 6,5 Tage nach der Ovulation gelegt, weil in diesen Fällen kein passender Rezipient zur Verfügung stand und gewonnene Embryonen hätten eingefroren werden müssen. Die zweite Spülung am Tag 6,5 wurde als Doppelspülung morgens und abends angesetzt. Weil in diesem Fall die Ovulationskontrolle der Spenderstute nur einmal täglich durchgeführt worden war, ließ sich Tag 6,5 nicht genau bestimmen.

Insgesamt wurden in der Saison 2011 sechs Spülungen an fünf verschiedenen Stuten durchgeführt, zwei weniger als geplant. Die übrigen Spülungen wurden in die kommende Saison verschoben und nicht erzwungen. Von den sechs durchgeführten Spülungen wurden drei am Tag 7/8 vorgenommen, weil mindestens eine der vorgesehenen Empfängerstuten im erforderlichen Zeitraum null bis zwei Tage nach der Spenderstute ovulierte und somit ein direkter Transfer möglich war. Es konnte in der Saison 2011 nur ein Embryo direkt übertragen werden, welcher leider nicht angewachsen ist. Die Stute Upsala hat nicht auf die Rosse-induzierende Injektion von Prostaglandin nach der Spülung reagiert, ebenso nicht auf deren Wiederholung 14 Tage später. Dies deutet darauf hin, dass statt einer korrekten Ovulation eher eine Atresie des dominanten Follikels stattgefunden hat. Es bildet sich nach einer Ovulation physiologischerweise ein Gelbkörper, der am Spülungstag auf jeden Fall ansprechbar auf Prostaglandin ist. Bei einer Follikelatresie fehlt diese Gelbkörperbildung, im Fall Upsala kam es über einen längeren Zeitraum zur Azyklie (kein Zyklus, Ausbleiben der Rosse). Diese Jungstute sollte mehrfach genutzt werden, was dadurch leider ausfiel. Drei Spülungen wurden möglichst auf den Zeitpunkt 6,5 Tage nach der Ovulation gelegt, weil in diesen Fällen kein passender Rezipient zur Verfügung stand und gewonnene Embryonen hätten eingefroren werden müssen. Die Ovulationskontrollen wurden in diesen Fällen zweimal täglich durchgeführt. Dabei wurde ein Embryo im Stadium der frühen Blastocyste gewonnen und eingefroren.



Abbildung 2: Spülung einer Spenderstute

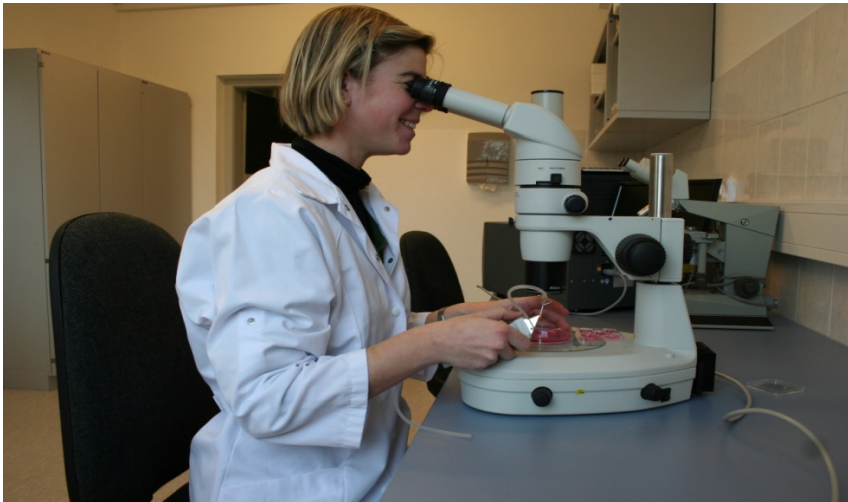


Abbildung 3: Aufsuchen eines Embryos

Die durchschnittliche Spülungsrate, die in Fachkreisen und Fachpublikationen genannt wird, liegt bei 0,5-0,7 Embryonen pro Spülung bezogen auf die Spülung an Tag 7/8. Der Mittelwert aus den drei Jahren zeigt, dass diese Rate auch durch das Team in Graditz erzielt wird. Ebenso ließen sich Einflussfaktoren wie z. B. mäßige Samenqualität des ausgewählten Hengstes nachvollziehen.

Tabelle 3: Anzahl getätigter Spülungen und Embryonengewinnung zum Direkttransfer

Anpaarung	Saison	Anzahl Spülungen	Anzahl gewonnene Embryonen	Bemerkung
Donna Clara x Lord Moritzburg	2009	3	1	mäßige Samenqualität
Diplomation x Fiepes Winged	2009	2	1	
Diplomation x Colestus	2009	2	1	
Donna Clara x Sir Hayfield	2010	4	4	
Hohe Zeit x Sir Hayfield	2010	3	3	
Upsala x Calibri	2011	1	0	kein Zyklus
Hela x Calibri	2011	1	1	
Ronja x Millennium	2011	1	0	
Gesamt		17	11	Gewinnungsrate: 64,7 %

Tabelle 4: Anzahl getätigter Spülungen und Embryonengewinnung zur Kryokonservierung

Anpaarung	Saison	Anzahl Spülungen	Anzahl gewonnene Embryonen	Bemerkung
Hohe Zeit x Sir Hayfield	2010	1	0	
Hohe Zeit x Sir Hayfield	2010	1	0	Doppelspülung
Donna Clara x Sir Hayfield	2010	1	0	Postovulatorische KB
Fidelia x Sir Hayfield	2010	1	0	
Prestige x Millennium	2011	1	0	
Ronja x Millennium	2011	1	1	herkömmlich kryokonserviert
Donna Clara x Millennium	2011	1	0	
Gesamt		7	1	Gewinnungsrate: 14,3 %

Die Spülrate an Tag 6,5 zur Kryokonservierung ist bekanntlich schlechter als diejenige an Tag 7/8 zum Direkttransfer. Ein kritischer Punkt ist die möglichst exakte Bestimmung des Tags 6,5. So werden an Tag 6,0 noch keine Embryonen gewonnen, an Tag 6,5 ca. 50 % (0,5 Embryonen/Spülung). Der möglichst exakten Bestimmung von Tag 6,5 kommt daher große Bedeutung zu. Dies ist ein Punkt, der auch durch das ET-Team in Graditz durch häufigere Ovulationskontrollen der Spenderstuten noch verbessert werden kann.

5 Durchführung des Transfers

5.1 Literatur

Ist keine passende Empfängerstute vor Ort, kann die Versendung des auf +5 °C gekühlten Embryos in einem entsprechenden Haltemedium erfolgen. Derart gekühlte Embryonen sind etwa 24 Stunden ohne Vitalitätsverlust lagerbar und erlauben so einen Versand in geeigneten Transportgefäßen zu bereitstehenden Empfängertieren (CARNEVALE, SQUIRES et al. 1987). Die Trächtigkeitsraten nach einem Transfer derart behandelter Embryonen sind vergleichbar mit den Ergebnissen aus dem Direkttransfer (CARNEY 1991). Es gibt spezialisierte ET-Einrichtungen, die als Serviceleistung eine entsprechend große Empfängertierherde halten. Es stehen dadurch dort täglich mehrere passende Empfänger bereit, in welche vor Ort gewonnene sowie eingesandte Embryonen transferiert werden können.

Eine Studie der Universität Wien konnte zeigen, dass mit einer parenteralen Behandlung der Empfängerstute mit einem Nicht-steroidalen Entzündungshemmer kurz vor der Übertragung des Embryos eine Entzündungsreaktion des Endometriums nach dem ET vermindert werden kann. Durch Vermeidung dieser subklinischen Endometritis wurde die Trächtigkeitsrate signifikant gesteigert (KOBLSCHKE, BUDIK et al. 2010).

Die Manipulation der Cervix mit dem Finger stimuliert eine Oxytocin-Freisetzung, was möglicherweise einen negativen Einfluss auf die Progesteron-Sekretion haben kann (HANDLER, KONIGSHOFER et al. 2003). Um die Auswirkungen einer möglichen Luteolyse zu umgehen, wurde im Jahr 2009 mit einer unterstützenden Gestagengabe (Regumate[®], Fa. Janssen) begonnen.

In der Literatur wird von Erfolgsraten für den direkten Transfer frischer Embryonen von bis zu 80 % berichtet, wenn der transferierende Tierarzt viel Erfahrung, d. h. viele Transfers durchgeführt hat. Für unerfahrene „Beginner“ wird eine Erfolgsrate von 20-50 % angegeben (SQUIRES, MCCUE et al. 1999; ALLEN 2005).

5.2 Transfers in Graditz

Der direkte Transfer gewonnener Embryonen auf eine bereit stehende Empfängerstute wurde mit einer sterilen Einweg-ET-Hülle für 0,5 ml-Pailletten mit seitlicher Öffnung und zusätzlicher Schutzhülle durchgeführt. Die Schutzhülle wird bei Eintritt in die Zervix durchstoßen, sodass nur die ET-Hülle die Gebärmutter penetriert.

Bei jeder erfolgreichen Spülung in der Saison 2009 hatte eine der Empfängerstuten im erforderlichen Zeitraum null bis zwei Tage nach der Spenderstute ovuliert, somit konnten alle drei gewonnenen Embryonen frisch übertragen werden. Die erste Übertragung wurde ohne jegliche Medikation der Empfängerstuten durchgeführt, die folgenden beiden mit unterstützender Gestagengabe (Regumate[®], Fa. Janssen) von Tag 5 nach der eigenen Ovulation bis zur Feststellung des akzessorischen Gelbkörpers resp. der negativen Trächtigkeit.

In der Saison 2010 wurden die Übertragungen begleitet von einer Medikation der Empfängerstuten mit dem Entzündungshemmer Flunixin-Meglumin intravenös zehn Minuten vor dem Transfer und oral an den beiden Folgetagen (Finadyne RPS, Finadyne Paste; Fa. Intervet Deutschland GmbH).

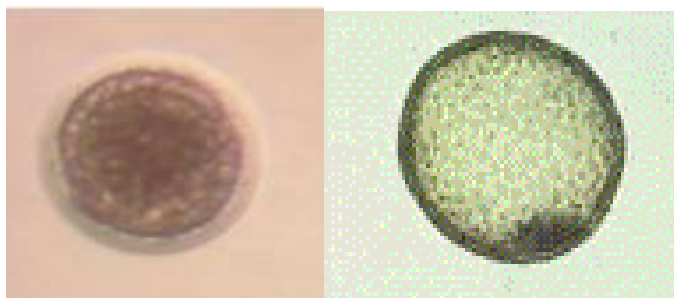


Abbildung 4: Pferdeembryo im Morulastadium, Tag 6,5 (links) und im Stadium der Blastocyste, Tag 7,5 (rechts)

Tabelle 5: Verwendung gewonnener Embryonen

Biologische Eltern	Saison	Empfängerstute	Medikation	TU	Bemerkung
Donna Clara x Lord Moritzburg	2009	Flinke	-	Neg.	
Diplomation x Fiepes Winged	2009	Abordnung	Regumate®	Neg.	
Diplomation x Colestus	2009	Prominenz	Regumate®	Pos.	resorbiert
Donna Clara x Sir Hayfield	2010	Ronja	Finadyne	Neg.	Fohlenrosse
Donna Clara x Sir Hayfield	2010	Prominenz	Finadyne + Regumate® ab TU+	Pos.	Fohlen geboren
Hohe Zeit x Sir Hayfield	2010	Aufgabe	Finadyne	Neg.	Fohlenrosse
Donna Clara x Sir Hayfield	2010	Aufgabe	Finadyne	Neg.	
Hohe Zeit x Sir Hayfield	2010	Ronja	Finadyne	Neg.	
Hohe Zeit x Sir Hayfield	2010	Aufgabe	Finadyne	Neg.	
Donna Clara x Sir Hayfield	2010	Impression	Finadyne+ Regumate® ab Transfer	Pos.	Verlust im Herbst
Ronja x Millennium	2011	herkömmlich kryokonserviert			
Hela x Calibri	2011	Diva	Finadyne	Neg.	
Gesamt				3/11	27,3 %

6 Kryokonservierung von Embryonen

6.1 Literatur

Steht keine geeignete Empfängerstute zur Verfügung, gibt es die Alternative der Kryokonservierung. Dies bedeutet, den Embryo in flüssigem Stickstoff bei -196 °C zu konservieren. Dazu muss allerdings die entsprechende Technik in Form einer Einfrierapparatur vorhanden sein, damit der Einfrierprozess nach einem fest definierten Schema verläuft. Diese Embryonen sind dann unbegrenzt lagerbar, sofern sie keinen Temperaturschwankungen ausgesetzt werden. Die Trächtigkeitsraten bei einem Transfer von Tiefgefrierembryonen sind niedriger als bei direkter Übertragung, ein Erfolg kann überhaupt nur unter Beachtung bestimmter Voraussetzungen eintreten. Aufgrund von Besonderheiten in der Embryogenese gestaltet sich die Kryokonservierung des Pferdeembryos schwieriger als bei anderen Spezies (SQUIRES, McCUE et al. 1999). Der Embryo muss zur Kryokonservierung in einem möglichst frühen Entwicklungsstadium aus der Gebärmutter gewonnen werden. Die Morula oder frühe Blastocyste sollte nicht größer als $300\text{ }\mu\text{m}$ im Durchmesser sein (CZLONKOWSKA, BOYLE et al. 1985; SLADE, TAKEDA et al. 1985; SQUIRES, CARNEVALE et al. 2003). Mit etwa sechs Tagen tritt der Embryo aus dem Eileiter in die Gebärmutter über, im Alter von 6,5 Tagen sollte er bereits herausgespült werden. Ab diesem Entwicklungsstand bildet der Pferdeembryo eine Glykoproteinkapsel um sich herum, die vermutlich das Eindringen und Wirken des beigefügten Gefrierschutzes verhindert (BETTERIDGE, EAGLESOME et al. 1982; FLOOD, BETTERIDGE et al. 1982). Dementsprechend ist der ältere Embryo den Schäden durch das Einfrieren und Auftauen schutzlos ausgeliefert. Dieses knapp bemessene Zeitfenster bedingt jedoch durch eine mindestens zweimal tägliche Kontrolle des Eisprungs einen deutlichen Mehraufwand.

Eine Alternative zur Kryokonservierung ist die Methode der Vitrifikation. Hierbei wird die Viskosität der intra- und extracellulären Flüssigkeit derart erhöht, dass sie erstarren, ohne Eiskristalle zu bilden (glasähnlicher Zustand). Diese Technik erfordert schnelles, sicheres Handling mit den Embryonen, dafür muss keine aufwändige Technik angeschafft werden. In verschiedenen Vergleichsstudien konnten auch mit dieser Methode akzeptable Trächtigkeitsraten erzielt werden (OBERSTEIN, O'DONOVAN et al. 2001; MOUSSA, BERSINGER et al. 2005).

6.2 Konservierte Embryonen in Graditz

Sollten Embryonen kryokonserviert werden, können gängige Einfrierregime für equine Embryonen genutzt werden ebenso wie die Methode der Vitrifikation.

Im Jahr 2011 wurde ein Embryo nach der slow freezing-Methode eingefroren. Dazu wurde der Embryo nach dem Waschen für ca. 15 min in einem Einfriermedium mit 1,5 M Ethylenglycol (ICP, EmCare) inkubiert. Das Aufziehen des Embryos in die Paillette geschieht in drei durch kleine Luftblasen getrennte Flüssigkeitssäulen: Zunächst wird auf ca. ein Drittel der Paillettenlänge reines Kulturmedium aufgezogen, dann, durch eine Luftblase getrennt, eine möglichst kurze Säule Einfriermedium mit dem Embryo. Nach erneuter Luftblase wird wiederum reines Kulturmedium aufgezogen, bis die Paillette vollständig gefüllt ist.

Die Paillette wird mit einem beschreibbaren Stopfen verschlossen und in den Frierkopf des Einfriergeräts (Cryocell 1200, Fa. minitüb) verbracht. Dort verbleibt sie 5 min bei -7 °C . Dann wird das Seeding (Kristallisation des Wassers) ausgelöst, was fünf Minuten dauert. Im Anschluss wird um $0,3\text{ °C/min}$ auf -35 °C abgekühlt. Abschließend werden die Pailletten in flüssigen Stickstoff -196 °C verbracht.



Abbildung 5: Kryokonservierung von Embryonen in N_2 mithilfe eines programmierbaren Einfriergeräts

7 Einfluss des Hengstes auf den Erfolg

7.1 Literatur

Als dritter Beteiligter hat natürlich auch die Fruchtbarkeit und Samenqualität des verwendeten Hengstes Einfluss auf die Gewinnungsrate bei der Spülung, die Embryonenqualität und damit auf die Anwachsrate. Bei der Verwendung von Frisch- bzw. gekühltem Samen wird eine bessere Embryonen-Gewinnungsrate erzielt als bei Verwendung von Tiefgefriersperma (60-70 % vs. 35 %) (SQUIRES, CARNEVALE et al. 2003).

7.2 Beobachtungen in Graditz

Die vom Gestüt ausgewählten Hengste wurden vor der ersten Besamung zum ET einer spermatologischen Untersuchung im Spermatologischen Referenzlabor des IFN Schönow untersucht. Lord Moritzburg wies dabei bereits im Jahr 2009 nur mäßige Samenqualität auf. Dies mag auch Einfluss genommen haben auf das mäßige Ergebnis. Eine von drei Spülungen war erfolgreich, dieser eine Embryo ist nicht angewachsen. Im Folgejahr zeigten sich bei Lord Moritzburg gleiche Mängel in der Spermaqualität vor allem in der Morphologie, sodass er aus dem ET-Programm ausgeschlossen wurde. Sir Hayfield wies eine sehr gute Spermaqualität auf. Im Jahr 2010 waren alle mit seinem Samen belegten Spenderstuten bei Spülung an Tag 7/8 erfolgreich (7 von 7).

8 Diskussion und Schlussfolgerungen

Das Grundprinzip und die Durchführung des equinen Embryotransfers im Sächsischen Landgestüt Graditz sind soweit gefestigt, dass die Produktion und Gewinnung von Embryonen bei Beachtung bestimmter Kriterien zufriedenstellend durchgeführt werden kann. Die Stuten sollten einen regelmäßigen Zyklus haben, mindestens eine Rosse sollte vor der zu nutzenden Rosse vergangen sein. Ebenso sollte nur qualitativ gutes bis sehr gutes Sperma zur Besamung verwendet werden.

Eine entsprechende Empfängerherde als Service bereitzuhalten, sodass zuverlässig ein Rezipient verfügbar ist, erweist sich als schwieriger, weil eine entsprechende Tierzahl notwendig ist, welche damit zur Eigenreproduktion ausfällt. Es bleibt zu diskutieren, ob dies weiterhin angestrebt wird. Durch die EU-Zulassung der ET-Station am IFN Schönnow besteht die Möglichkeit des Versands in spezialisierte Zentren im In- und Ausland.

Werden eigene Stuten als Empfänger genutzt, so sollte es sich nicht um Fohlenrossen handeln. Aufgrund der möglicherweise noch nicht vollständig abgeschlossenen Rückbildungsvorgänge an der Gebärmutter ist die Fruchtbarkeitsleistung noch nicht in vollem Umfang gegeben. Ebenso werden Stuten als Empfänger ausgeschlossen, die bereits zwei Embryonen übertragen bekommen und nicht aufgenommen haben. Spezialisierte Zentren erzielen ihre hohen Trächtigkeitsraten ebenfalls nur durch konsequenten Ausschluss solcher Stuten aus der Empfängerherde. Kurz vor der Übertragung des Embryos sollte eine Medikation der Empfängerstute mit einem Nicht-steroidalen Entzündungshemmer durchgeführt werden.

Embryonen können auch kryokonserviert werden, wenn keine Empfängerstute vorhanden ist und ein Versand nicht gewünscht wird. Dafür können gängige Einfrierregime für equine Embryonen genutzt werden und alternativ mit einem Vitrifikationskit, der vor allem bei den in der Regel einzeln anfallenden Pferdeembryonen in punkto Zeitaufwand und Gerätetechnik Vorteile birgt. Auch in der einschlägigen Literatur wird von vergleichbaren Ergebnissen berichtet, sodass dies auch als Variante in Graditz angewendet werden könnte. Die Spülung der Spenderstuten, deren Embryo zur Kryokonservierung gedacht ist, muss durch häufigere Ovulationskontrollen besser terminiert werden.

Neben den regulären Kosten für die Kontrolle und Besamung der Spenderstute und die Decktaxe des Spenderhengstes muss der Züchter folgende zusätzliche Kosten einkalkulieren:

- ET-Spülung incl. Waschen und Aufbereiten des Embryos (ca. 100-200 €, je nach ET-Center)
- Vorbereitung der Empfängerstute (n), Transfer, 1. TU (ca. 150 €, abh. von Medikation)
- „Leihgebühr“, wenn keine eigene Empfängerstute (ca. 2.500 €)
- ggf. Kosten für Versand, Veterinärattest etc. (ca. 100-150 €)
- ggf. Kosten für Kryokonservierung und Lagerung (ca. 120-150 €)

Trotz der noch nicht optimalen Ergebnisse soll der Embryotransfer am Hauptgestüt Graditz weiterhin Bestandteil der züchterischen Aktivitäten sein. Auch wenn der Markt derzeit nicht sehr groß ist, wird diese Technologie aller Voraussicht nach auch für die Pferdezucht von Interesse bleiben. Vor allem die junge Generation von Sportpferdezüchtern könnte als Zielgruppe in der nahen Zukunft wachsen. Eine Zukunftsperspektive für den ET als Dienstleistung könnte daher neben dem ET mit Direkttransfer sein, züchterisch wertvolle Sportstuten zum Ende der Turniersaison im Herbst zu spülen, die Embryonen einzufrieren und im nächsten Frühjahr zeitig auf Empfängerstuten zu transferieren. Es muss dazu eine Empfängerherde aus gut fruchtbaren Stuten, die tatsächlich nur für den ET gedacht sind, möglichst arbeits- und kostengering am Gestüt etabliert werden.

Literaturverzeichnis

- ALLEN, W. R. (2005): The development and application of the modern reproductive technologies to horse breeding. *Reprod Domest Anim* 40(4): 310-329.
- ALLEN, W. R., S. WILSHER et al. (2004): The influence of maternal size on pre- and postnatal growth in the horse: III Postnatal growth. *Reproduction* 127(1): 67-77.
- AURICH, C. (2009): Nutzung des Embryotransfers in der Sportpferdezucht - Chancen und Probleme, 3. Brandenburger Pferdetag. Neustadt (Dosse).
- BALL, B. A., T. V. LITTLE et al. (1989): Survival of Day-4 embryos from young, normal mares and aged, subfertile mares after transfer to normal recipient mares. *J. Reprod. Fertil.* 85: 187-194.
- BATTUT, I., S. COLCHEN et al. (1997): Success rates when attempting to nonsurgically collect equine embryos at 144, 156 or 168 hours after ovulation. *Equine Vet J (Suppl)* 25: 60-2.
- BATTUT, I., A. GRANDCHAMP DES RAUX et al. (2001): When do equine embryos enter the uterine cavity? An attempt to answer. R&W Publications, Newmarket.
- BETTERIDGE, K. J., M. D. EAGLESOME et al. (1982): Development of horse embryos up to twenty two days after ovulation: observations on fresh specimens. *J Anat* 135(Pt 1): 191-209.
- BETTERIDGE, K. J., A. RENARD et al. (1985): Uterine prostaglandin release relative to embryo collection, transfer procedures and maintenance of the corpus luteum. *Equine Veterinary Journal* 17(S3): 25-33.
- BOYLE, M. S. S. M., J. SKIDMORE et al. (1989): Use of serial progesterone measurements to assess cycle length, time of ovulation and timing of uterine flushes in order to recover equine morulae. *Equine Vet J (Suppl)* 8: 10-2.
- BURGER, D. S., S.N.; WÄGELI, S.; AURICH, C.; GERBER, V.; THUN, R. (2008): Influence of the recipient mare on size and character traits of adult offspring in a warmblood embryo transfer program - preliminary results. 7. Havemeyer ET Symposium. 2008
- CARNEVALE, E. M., R. J. RAMIREZ et al. (2000): Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. *Theriogenology* 54(6): 965-79.
- CARNEVALE, E. M., E. L. SQUIRES et al. (1987): Comparison of Ham's F10 with CO₂ or Hepes buffer for storage of equine embryos at 5 C for 24 H. *J Anim Sci* 65(6): 1775-81.
- CARNEY, N. S., EL, COOK VM; SEIDEL GE JR; JASKO DJ (1991): Comparison of pregnancy rates from transfer of fresh versus cooled, transported eqine embryos. *Theriogenology* 36: 23-32.
- CZLONKOWSKA, M., M. S. BOYLE et al. (1985): Deep freezing of horse embryos. *J Reprod Fertil* 75(2): 485-90.
- Flood, P. F., K. J. Betteridge, et al. (1982). "Transmission electron microscopy of horse embryos 3-16 days after ovulation." *J Reprod Fertil Suppl* 32: 319-27.
- HANDLER, J., M. KONIGSHOFER et al. (2003): Secretion patterns of oxytocin and PGF₂alpha-metabolite in response to cervical dilatation in cyclic mares. *Theriogenology* 59(5-6): 1381-91.
- HINRICHS, K. (1990): Work in progress: A simple technique that may improve the rate of embryo recovery on uterine flushing in mares. *Theriogenology* 33(5): 937-42.
- KOBLISCHKE, P., S. BUDIK et al. (2010): Practical experience with the treatment of recipient mares with a non-steroidal anti-inflammatory drug in an equine embryo transfer programme. *Reprod Domest Anim* 45(6): 1039-41.
- MCCUE, P. M. (1996): Superovulation. *Vet Clin North Am Equine Pract* 12(1): 1-11.
- MCCUE, P. M., K. D. NISWENDER et al. (2003): Modification of the flush procedure to enhance embryo recovery. *J Equine Vet Science* 23: 336-7.
- McKINNON, A. O. & E. L. SQUIRES (1988): Equine embryo transfer. *Vet Clin North Am Equine Pract* 4(2): 305-33.
- McKINNON, A. O. & E. L. SQUIRES (1988): Morphologic assessment of the equine embryo. *J Am Vet Med Assoc* 192(3): 401-6.
- MEADOWS, S., H. LISA et al. (2000): Factors affecting embryo recovery, embryo development and pregnancy rate in a commercial embryo transfer programme. 1st European Equine Gamete Group, Havemeyer Foundation Monograph Series, Newmarket, R&W Publications.
- MOREL, M. C., J. R. NEWCOMBE et al. (2005): The effect of age on multiple ovulation rates, multiple pregnancy rates and embryonic vesicle diameter in the mare. *Theriogenology* 63(9): 2482-93.
- MOUSSA, M., I. BERSINGER et al. (2005): In vitro comparisons of two cryopreservation techniques for equine embryos: slow-cooling and open pulled straw (OPS) vitrification. *Theriogenology* 64(7): 1619-32.

- NEWCOMBE, J. R. (1995): Incidence of multiple ovulation and multiple pregnancy in mares. *Vet Rec* 137(5): 121-3.
- OBERSTEIN, N., M. K. O'DONOVAN et al. (2001): Cryopreservation of equine embryos by open pulled straw, cryoloop, or conventional slow cooling methods. *Theriogenology* 55(2): 607-13.
- SLADE, N. P., T. TAKEDA et al. (1985). A new procedure for the cryopreservation of equine embryos. *Theriogenology* 24(1): 45-58.
- SQUIRES, E. L., E. M. CARNEVALE et al. (2003): Embryo technologies in the horse. *Theriogenology* 59(1): 151-70.
- SQUIRES, E. L., K. J. IMEL et al. (1982): Factors affecting reproductive efficiency in an equine embryo transfer programme. *J Reprod Fertil Suppl* 32: 409-14.
- SQUIRES, E. L., P. M. McCUE et al. (1999): The current status of equine embryo transfer. *Theriogenology* 51(1): 91-104.
- STOUT, T. A. (2006): Equine embryo transfer: review of developing potential. *Equine Vet J* 38(5): 467-78.
- TISCHNER, M. & M. KLIMCZAK (1989): The development of Polish ponies born after embryo transfer to large recipients. *Equine Vet. J. Suppl.* 8: 62-63.
- VOGELSANG, S. G. & M. M. VOGELSANG (1989): Influence of donor parity and age on the success of commercial equine embryo transfer. *Equine Vet J., Suppl.* 8: 71-72.

Herausgeber:

Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie (LfULG)
Pillnitzer Platz 3, 01326 Dresden
Telefon: + 49 351 2612-0
Telefax: + 49 351 2612-1099
E-Mail: lfulg@smul.sachsen.de
www.smul.sachsen.de/lfulg

Autoren:

Claudia Reppel, Karen Reguszynski
Institut für Fortpflanzung landwirtschaftlicher Nutztiere (IFN) Schönow e.V.
Steffen Bothendorf, Hartmut Lohr
Sächsische Gestütsverwaltung, Hauptgestüt Graditz

Redaktion:

Dr. Roland Klemm
LfULG, Abteilung Tierische Erzeugung/Referat Tierzucht, Tierhygiene
Am Park 3, 04886 Köllitsch
Telefon: + 49 34222 46-2100
Telefax: + 49 34222 46-2199
E-Mail: roland.klemm@smul.sachsen.de

Fotos:

Titel: Fohlen aus ET im Ergebnis dieses Vorhabens; s. a. Tab. 5
(Archiv Hauptgestüt Graditz)
alle weiteren: Archiv IFN Schönow

Redaktionsschluss:

02.05.2012

ISSN:

1867-2868

Hinweis:

Die Broschüre steht nicht als Printmedium zur Verfügung, kann aber als PDF-Datei unter <http://www.smul.sachsen.de/lfulg/6447.htm> heruntergeladen werden.

Verteilerhinweis

Diese Informationsschrift wird von der Sächsischen Staatsregierung im Rahmen ihrer verfassungsmäßigen Verpflichtung zur Information der Öffentlichkeit herausgegeben. Sie darf weder von Parteien noch von deren Kandidaten oder Helfern im Zeitraum von sechs Monaten vor einer Wahl zum Zwecke der Wahlwerbung verwendet werden. Dies gilt für alle Wahlen.

Missbräuchlich ist insbesondere die Verteilung auf Wahlveranstaltungen, an Informationsständen der Parteien sowie das Einlegen, Aufdrucken oder Aufkleben parteipolitischer Informationen oder Werbemittel. Untersagt ist auch die Weitergabe an Dritte zur Verwendung bei der Wahlwerbung. Auch ohne zeitlichen Bezug zu einer bevorstehenden Wahl darf die vorliegende Druckschrift nicht so verwendet werden, dass dies als Parteinahe des Herausgebers zugunsten einzelner politischer Gruppen verstanden werden könnte.

Diese Beschränkungen gelten unabhängig vom Vertriebsweg, also unabhängig davon, auf welchem Wege und in welcher Anzahl diese Informationsschrift dem Empfänger zugegangen ist. Erlaubt ist jedoch den Parteien, diese Informationsschrift zur Unterrichtung ihrer Mitglieder zu verwenden.