

In-vitro-Erzeugung von Rinderembryonen

Ultraschallgeleitete Entnahme von Eizellen beschleunigt den Zuchterfolg

Thomas Greising (Dummerstorf)

Bei Kulturpflanzen sorgen leistungsfähige und angepasste Sorten für einen hohen Ertrag. Der Züchtung kommt hier eine Schlüsselstellung zu. Für die Nutztierhaltung liegen die Dinge ähnlich. Doch während in der Pflanzenzüchtung mit kurzlebigen, in der Regel einjährigen Arten gearbeitet wird, hat die Züchtung bei Nutztieren mit wesentlich längeren Generationsintervallen zu kämpfen. Da zudem – gerade bei größeren Nutztieren wie Rindern – die Zahl der Nachkommen relativ gering ist, dauert es lange, bis sich ein Züchtungsziel in der Population stabil ausprägt. Mit biotechnologischen Methoden ist es möglich, sowohl die Generationsintervalle zu verkürzen als auch die Nachkommensrate zu erhöhen.

In der Nutztierzucht hängt die Zeit, die für eine meßbare Veränderung von Merkmalen in Richtung des Zuchtzieles benötigt wird, von verschiedenen Faktoren ab. Wichtige Fragen sind zum Beispiel: Wie stark unterscheiden sich die Individuen einer Population in Bezug auf das Selektionsmerkmal, in welchem Maße wird das Merkmal in der nächsten Generation ausgeprägt und wie lange brauchen die neugeborenen Merkmalsträger, um selbst wieder zur Zucht herangezogen zu werden. Bei langer Tragezeit und geringer Anzahl von Nachkommen pro Muttertier dauert es entsprechend lange, bis züchterisch auf veränderte Umweltbedingungen oder neue Ansprüche der Konsumenten reagiert werden kann.

Leistungsmerkmale innerhalb einer Tierpopulation werden über die Keimzellen (Spermien und Eizellen) an die folgende Generation weitergegeben. Sind einzelne Individuen der Population aufgrund herausragender Leistungen in besonderem Maße zur Zucht geeignet, führt eine frühzeitige und verstärkte Nutzung

ihres Keimzellpotentials zu einer erhöhten Anzahl von Nachkommen, die Träger der Erbanlagen für dieses Leistungsmerkmal sind.

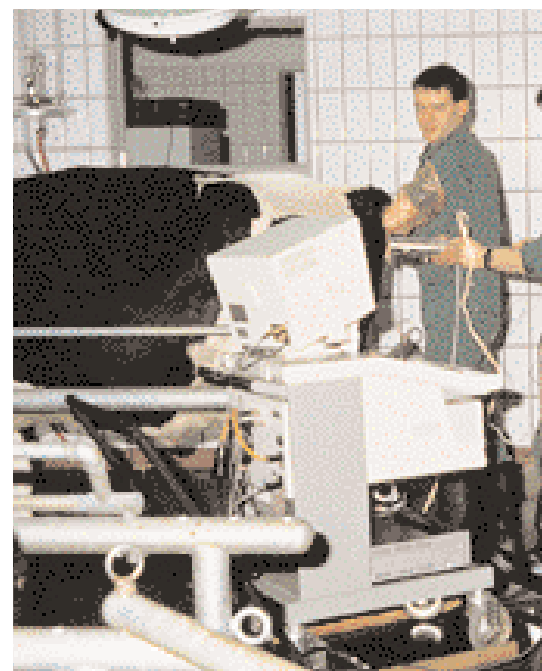
In den letzten Jahren wurden moderne biotechnische Verfahren zur Kontrolle und Steuerung der Fortpflanzung entwickelt, die den Tierzüchter bei der Zucht gesunder, fruchtbarer Tiere unterstützen können und zu einem schnelleren Zuchterfolg verhelfen.

DIE VATERTIERE

In der Rinderzucht ist es durch die Entwicklung der künstlichen Besamung möglich geworden, die züchterischen Ressourcen ausgewählter männlicher Tiere besser zu nutzen. Kontinuierliche Samengewinnung und Tiefgefrierkonservierung verdünnter Ejakulatportionen erlauben es, das genetische Potential leistungsstarker Bullen in einem weitaus stärkeren Maße zur Zucht zu nutzen, als das zuvor durch den natürlichen Deckakt möglich gewesen ist.

SCHWIERIGKEITEN BEI DER NUTZUNG WEIBLICHER KEIMZELLEN

Problematischer gestaltete sich die verstärkte Nutzung des Keimzellpotentials weiblicher Hochleistungsrinder. Säugetiere verfügen bei ihrer Geburt auf den Ovarien (Eierstöcken) über etwa 400.000 Follikel und in diesen Follikeln über je eine Eizelle. Trotz dieser enorm großen Zahl ist die Entwicklungsrate zur befruchtungsfähigen Eizelle äußerst gering. Bis auf wenige Ausnahmen reift in jedem ovariellen Zyklus beim Rind nur eine einzige Eizelle soweit heran, daß sie befrucht-





Umsetzen von tiefgefrierkonservierten Embryonen aus der Gefriermaschine in den Container

tet werden kann. Die Anzahl erzeugter Nachkommen pro Kuh ist daher relativ gering. Oft sind es nicht mehr als fünf Kälber, die von einem Muttertier geboren werden. Damit ist die Möglichkeit, die Erbanlagen weiblicher Hochleistungsrinder auf konventionelle Weise in der Zucht zu nutzen, sehr beschränkt.



Abb. 1:
Die ultraschalleitete Follikelaspiration beim Rind.

A) Die Ultraschallsonde wird durch den Tierarzt fixiert und die Aspirationskanüle durch einen Helfer eingeführt.

B) Ultraschallbild eines Rinder-Ovars.

DER EMBRYOTRANSFER

Anfang der 70er Jahre wurde das Verfahren des Embryotransfers beim Rind entwickelt.

Die sogenannte Superovulationsbehandlung – ein Teilschritt dieses Verfahrens – stellt einen wichtigen Meilenstein bei der verstärkten Nutzung des weiblichen Keimzellpotentials dar. Unter Superovulation versteht man die gezielte Behandlung von Kühen und Färsen mit Hormonen, die dazu führt, daß auf den Ovarien dieser Tiere vermehrt Follikel und damit befruchtungsfähige Eizellen heranreifen. Nach der Ovulation (Eisprung) werden durch künstliche Besamung statt einem gleich mehrere Embryonen erzeugt, die durch Spülung von Eileiter und Uterus aus dem Spendertier gewonnen werden können.

Die Embryonen werden in Empfängertiere transferiert und von ihnen ausgetragen. Pro Behandlung und Spendertier liegt die Erfolgsrate derzeit bei etwa 5-7 transfertauglichen Embryonen, von denen sich in der Regel 2-3 zu Kälbern entwickeln. Bei wiederholter Nutzung dieses Verfahrens sind bis zu 100 Nachkommen pro Kuh möglich.

Superovulation und Embryotransfer tragen als Komplex dazu bei, die Erbanlagen weiblicher Hochleistungstiere in wesentlich stärkerem Maße in die Gesamtpopulation einzubringen, als es durch 'klassische' künstliche Besamung der Tiere möglich wäre.

DIE FORSCHUNG

Obwohl Superovulation und Embryotransfer beim Rind mittlerweile feste Bestandteile der Arbeit von Zuchtverbänden sind, wird weiter an ihrer Optimierung gearbeitet. Beiden Verfahren liegen äußerst komplexe biologische Mechanismen zugrunde, deren

Charakterisierung ein breites Methodenspektrum erfordert. Die Untersuchungen an lebenden Tieren dienen dabei als Grundlage für die Erarbeitung von Modellen zur Simulation physiologischer Vorgänge. Ziel ist es, zelluläre und systemische Regulationsmechanismen genauer zu untersuchen und zu entschlüsseln. Die komplexe Nutzung zellphysiologischer, biochemischer und klinischer Methoden trägt neben dem wissenschaftlichen Erkenntnisgewinn auch zur Entwicklung von innovativen biotechnischen Verfahren bei. Ein Beispiel hierfür ist die ultraschallkontrollierte Entnahme von Eizellen aus den Follikeln (Follikelaspiration), die als Grundlage für die In-vitro-Produktion von Embryonen dient.



Laden des Transfergerätes mit einem aufgetauten TG-Embryo vor der Übertragung

DIE TRANSVAGINALE ULTRASCHALLEITETE FOLLIKELASPIRATION

Superovulation und Embryotransfer waren zunächst die einzigen Möglichkeiten, das Eizellpotential weiblicher Hochleistungsrinder in verstärktem Maße zu Zucht zu nutzen. Nach wie vor war man aber darauf angewiesen, die Kühe künstlich zu besamen und die Embryonen durch Spülung von Eileiter und Uterus zu gewinnen. Mit der Entwicklung von In-vitro-Techniken zur Eizell-

reifung, Befruchtung und Embryokultur eröffnete sich die Möglichkeit, Embryonen auch außerhalb des Organismus zu erzeugen.

Das Problem bei der praktischen Anwendung bestand allerdings darin, daß zur Eizellgewinnung anfangs nur die Ovarien geschlachteter Rinder genutzt werden konnten. Von lebenden Tieren ließen sich keine frischen unbefruchteten Eizellen gewinnen. Die sogenannte ultraschallgeleitete Follikelaspiration hat hier zu einem Durchbruch geführt.

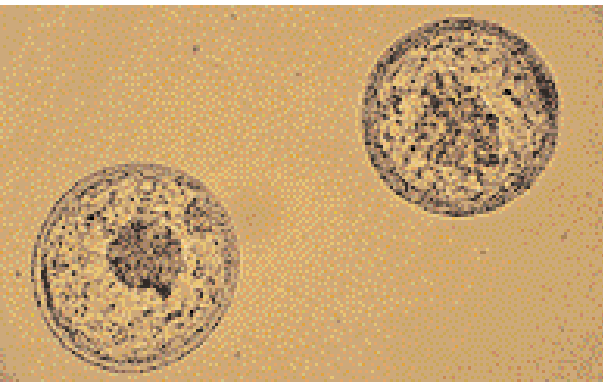


Abb. 2:
Zwei Rinderembryonen im Stadium der Blastozyste, 8 Tage nach der Befruchtung der Eizellen.

Bei diesem Verfahren werden die Ovarien des Eizellspenders und eine transvaginal eingeführte Kanüle mittels Ultraschallsonde auf einem Monitor sichtbar gemacht (Abb. 1). Dadurch kann der Tierarzt das Absaugen von Follikelflüssigkeit und Eizellen auf dem Bildschirm genau verfolgen. Für die Spendertiere stellt dieser Eingriff keine starke Belastung dar, er kann daher in regelmäßigen Abständen wiederholt werden.

UNTERSUCHUNGEN AM FBN

Seit mehreren Jahren werden im Forschungsbereich Fortpflanzungsbiologie des Forschungsinstituts für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere (FBN) in Dummerstorf grundlagenorientierte Forschungsarbeiten zur ultraschallgeleiteten Follikelaspiration durchgeführt. Ein Team von Wissenschaftlern untersucht derzeit den Einfluß verschiedener Fakto-

ren auf die Effizienz der Technik. Im Vordergrund stehen dabei das Alter, der Zyklusstand und die hormonelle Behandlung der Tiere. Die gewonnenen Daten geben Auskunft über die Auswirkungen biologischer Einflußgrößen auf die Anzahl und Qualität der Eizellen. Die Optimierung technischer Details wie Aspirationsdruck, Ultraschallsonde und Aspirationsystem soll dazu beitragen, die Methode als neue Biotechnik in größerem Rahmen als bisher für die Praxis nutzbar zu machen. Gegenwärtig können in Dummerstorf im Mittel sechs reifungstaugliche Eizellen pro Spendertier und Aspiration gewonnen und für die Embryonenproduktion in vitro genutzt werden.

Im Labor werden die gewonnenen Eizellen in Abhängigkeit von der hormonellen Vorbehandlung der Tiere, vom Gewinnungszeitpunkt und vom morphologischen Zustand der Eizellen gereift. Bei ihrer Befruchtung konnte ein Einfluß des Bullen auf die Befruchtungsrate nachgewiesen werden. Durch verschiedene Medienzusätze soll die Effizienz der Embryoproduktion optimiert werden. Derzeit ist es möglich, aus den gewonnenen Eizellen im Durchschnitt 20 % Morulae und Blastozysten – erste Entwicklungsstadien auf dem Weg zum Embryo – zu erzeugen (Abb. 2). Nachdem die ultraschall-

geleitete Follikelaspiration anfänglich nur bei „Problemtieren“ angewandt worden ist, also bei Kühen, die auf die Superovulationsbehandlung nicht angesprochen haben oder von denen aus anderen Gründen keine Embryonen gewonnen werden konnten, stehen mittlerweile vor allem tragende Tiere bis zum vierten Trächtigkeitsmonat sowie Kälber und Jungtiere im Mittelpunkt des Interesses der Forscher.

NUTZEN FÜR DIE TIERZUCHT

Besonders vielversprechend im Hinblick auf eine Beschleunigung des Zuchtfortschrittes ist die Nutzung von Tieren noch vor der Geschlechtsreife. Durch die beschriebenen Techniken wird es möglich, Nachkommen auch von Tieren zu erzeugen, die aufgrund ihres geringen Alters noch nicht in der konventionellen Zucht verwendet werden können. Eine frühere Nutzung der Jungtiere, das heißt eine Verkürzung des Generationsintervalls, bedeutet eine erhöhte Anzahl von Nachkommen pro Muttertier und damit eine größere Einflußnahme ihrerseits auf den Zuchtfortschritt.

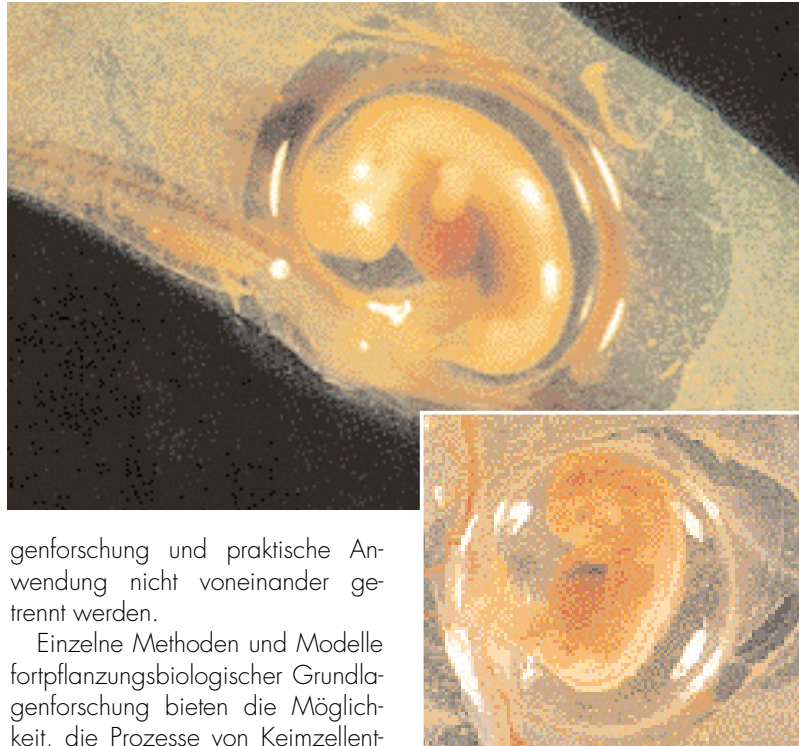
Diese Tatsache gewinnt besondere Bedeutung im Zusammenhang mit



sogenannten MOET-Zuchtprogrammen. Diese Programme sind dadurch gekennzeichnet, daß die Zucht ausschließlich innerhalb bestimmter kleiner Kernpopulationen stattfindet. Charakteristisch für diese Programme ist die Tatsache, daß die Prüfung des Zuchtfortschrittes nicht anhand umfangreicher Nachkomengruppen durchgeführt wird, sondern stattdessen Prüfungsergebnisse von Ahnen, Voll- und Halbgeschwistern herangezogen werden. Ausschlaggebend für die Zuverlässigkeit einer so gefällten Selektionsentscheidung ist die Anzahl und Aussagekraft der Informationen über Eltern und Geschwistertiere. Zwangsläufig ergibt sich damit die Forderung nach einer hohen Anzahl an Nachkommen pro Elternpaar. Die Kombination von ultraschallgeleiteter Follikelaspiration und In-vitro-Techniken zur Embryoproduktion stellt eine Möglichkeit dar, dieser Forderung gerecht zu werden.

RESÜMEE

Wissenschaftliche Erkenntnisse haben mehr und mehr Eingang in die moderne Tierzucht gefunden. Damit ein rascher Wissens- und Technologietransfer in die Praxis sichergestellt wird, sollten Grundla-



**Rinderembryo
30 Tage nach
Befruchtung
(links: Größe
etwa 10 mm)
und 10 Tage
später (unten:
Größe 20 mm)**

genforschung und praktische Anwendung nicht voneinander getrennt werden.

Einzelne Methoden und Modelle fortpflanzungsbiologischer Grundlagenforschung bieten die Möglichkeit, die Prozesse von Keimzellentwicklung und Befruchtung bis hin zur Wechselwirkung von Embryo und Muttertier genauer zu durchdringen. Für die praktische Nutzung dieses Wissens ist es oft notwendig, verschiedene Techniken innerhalb eines biotechnischen Verfahrens zusammenzuführen.

Die Möglichkeit, durch ultraschallgeleitete Follikelaspiration in regelmäßiger Folge Eizellen vom lebenden Tier zu gewinnen, eröffnet dem

Tierzüchter in Kombination mit den In-vitro-Techniken der Reifung, Befruchtung und Embryokultur sowie dem Embryonentransfer neue Perspektiven. Mit Hilfe dieses Methodenkomplexes wird er in die Lage versetzt, das Generationsintervall zu verkürzen und das genetische Potential weiblicher Hochleistungstiere verstärkt für die Zucht zu nutzen.

Alle genannten biotechnischen Verfahren haben derzeit einen Stand erreicht, der ihre praktische Nutzung möglich macht.

Nun kommt es darauf an, den aus der Praxis erfolgenden Informationsrücklauf in die fortlaufenden Forschungsarbeiten zu integrieren, um die Systeme weiter zu verbessern. Wissenschaft und Praxis im Komplex schaffen so die Möglichkeit, den ökonomischen Anforderungen in der Landwirtschaft weiter gerecht zu werden. ■

Dr. Thomas Greising, Forschungsinstitut für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere, Forschungsbereich Fortpflanzungsbiologie, Wilhelm-Stahl-Allee 2, 18196 Dummerstorf

