

Aus der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand : Prof. Dr. R. Stolla

Angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. J. Braun

**Untersuchungen zur Eignung von Empfängertieren
im Rahmen des Embryotransfers**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Christiane Vaessen
aus
Longsdorf

München 2003

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan : Univ.-Prof. Dr. R. Stolla
Referent : Univ.-Prof. Dr. J. Braun
Korreferent : Univ.-Prof. Dr. E. Wolf

Tag der Promotion : 7. Februar 2003

**Meinen Eltern
in Liebe und Dankbarkeit**

INHALTSVERZEICHNIS		SEITE
1	EINLEITUNG	1
2	LITERATUR	2
2.1	Bedeutung der Ultraschalldiagnostik in der Rindergynäkologie	2
2.2	Darstellung der Ovarien	2
2.2.1	Darstellung der Follikel	2
2.2.2	Darstellung des Corpus luteum	3
2.2.3	Darstellung des Uterus und der Trächtigkeit	4
2.3	Auswahl der Empfängertiere für den Embryotransfer	7
2.3.1	Züchterische Selektion der Empfängertiere	7
2.3.2	Gesundheitliche Anforderungen an die Empfängertiere	7
2.3.3	Berücksichtigung von Alter und Parität bei Empfängertieren	9
2.4	Untersuchung der Empfängertiere vor dem Embryotransfer	10
2.4.1	Vorbericht und gynäkologische Untersuchung der Empfängertiere	10
2.4.2	Spezielle Untersuchung der Ovarien	12
2.4.2.1	Follikelwellen und dominanter Follikel	12
2.4.2.2	Untersuchung des Corpus luteum	14
2.5	Einflüsse auf den Transfererfolg	16
2.5.1	Zyklussynchronität zwischen Spender und Empfänger	16
2.5.2	Dauer zwischen Spülung und Transfer, Temperaturschwankungen	17
2.5.3	Handling und Transfer	18
2.5.4	Tiefgefrierung	19
2.5.5	Embryonenqualität	21
2.5.6	Entwicklungsstadium der Embryonen	22
2.5.7	Progesteronspiegel	23
2.5.8	Gelbkörperqualität	26

2.6	Embryonale Mortalität	28
2.6.1	Definition und Einteilung	28
2.6.2	Diagnose und Vorkommen der embryonalen Mortalität	28
2.6.3	Ursachen für eine embryonale Mortalität	30
2.6.4	Klinik der embryonalen Mortalität	31
3	MATERIAL UND METHODE	32
3.1	Versuchszeitraum	32
3.2	Versuchsbetriebe und Tiere	32
3.3	Untersuchungstermine	33
3.4	Vorbereitung der Empfängertiere	34
3.4.1	Synchronisation	34
3.4.2	Blutprobengewinnung, –aufbereitung und Progesteronbestimmung	34
3.4.3	Brunstbeobachtung	36
3.4.4	Manuelle Palpation und Bewertung der Corpora lutea	36
3.5	Ultraschalluntersuchung	37
3.5.1	Ultraschallgerät	37
3.5.2	Untersuchungstechnik	38
3.5.3	Untersuchungstermine	38
3.5.4	Videoaufnahmen	39
3.5.5	Auswertung der Bilder	39
3.5.6	Größmessungen	40
3.6	Auswahl der Empfängertiere und der Embryonen	40
3.6.1	Auswahl der Empfängertiere	40
3.6.2	Klassifizierung und Auswahl der Embryonen	41
3.6.2.1	FrISCHE Embryonen	41
3.6.2.2	Tiefgefrorene/Aufgetaute Embryonen	42
3.7	Transfer der Embryonen	43
3.8	Statistische Auswertungen	43

4	ERGEBNISSE	44
4.1	Synchronisationsergebnisse	44
4.1.1	Brunstausprägung und Plasmaprogesteronwert	44
4.1.2	Synchronisationsmethode und Plasmaprogesteronwert	45
4.2	Befunde der klinischen, ultrasonographischen und hormonanalytischen Untersuchungen vor der Embryonenübertragung	46
4.2.1	Empfängertierauswahl	46
4.2.2	Palpatorisch ermittelte Ausprägung der Corpora lutea	46
4.2.3	Größe der Corpora lutea	47
4.2.4	Plasmaprogesteronspiegel	50
4.3	Embryonenqualität	51
4.4	Befunde der ultrasonographischen und hormonanalytischen Untersuchungen am Zyklustag 21	52
4.4.1	Brunstausprägung und Fläche der Corpora lutea	52
4.4.2	Größe der Corpora lutea	53
4.4.3	Plasmaprogesteronspiegel	54
4.4.4	Größe der Follikel	55
4.5	Zusammenhang zwischen der Synchronisationsmethode, den Befunden bei der Embryonenübertragung und dem Trächtigkeitsergebnis	55
4.5.1	Einfluss der Synchronisationsmethode auf das Trächtigkeitsergebnis	55
4.5.2	Einfluss der Brunstausprägung auf das Trächtigkeitsergebnis	56
4.5.3	Seite des Corpus luteum beim Transfer	57
4.5.4	Einfluss der Brunstausprägung vor dem ET und der palpatorisch beurteilten Gelbbkörperqualität beim ET auf das Trächtigkeitsergebnis	57
4.5.5	Einfluss der Größe des Corpus luteum auf das Trächtigkeitsergebnis	57
4.5.6	Einfluss des Plasmaprogesterongehaltes auf das Trächtigkeitsergebnis	60
4.5.7	Einfluss der Follikelgröße auf das Trächtigkeitsergebnis	61
4.5.8	Einfluss der Embryonenqualität auf das Trächtigkeitsergebnis	62
4.5.9	Einfluss der Parität auf das Trächtigkeitsergebnis	64

5	DISKUSSION	65
5.1	Befunde der klinischen, ultrasonographischen und homonanalytischen Untersuchungen vor der Embryonenübertragung	65
5.2	Befunde der klinischen, ultrasonographischen und hormonanalytischen Untersuchungen am Zyklustag 21	68
5.3	Zusammenhang zwischen der Synchronisationsmethode, den Befunden bei der Embryonenübertragung und dem Trächtigkeitsergebnis	69
5.4	Schlussfolgerung	73
6	ZUSAMMENFASSUNG	74
7	SUMMARY	76
8	LITERATURVERZEICHNIS	78
	ANHANG	108

1 EINLEITUNG

Der Embryotransfer ist eine anerkannte Biotechnik, die sich bereits seit drei Jahrzehnten in der Landwirtschaft bewährt hat, indem sie dem Rinderzüchter zu einer schnelleren Zucht wertvoller Nachkommen verhilft und somit einen schnelleren Zuchtfortschritt ermöglicht.

Die Ergebnisse im Embryotransfer sind von einer Reihe interner und externer Faktoren abhängig, unter anderem von der Reaktion der Spendertiere auf die hormonelle Stimulierung, von dem Befruchtungsergebnis, von der Qualität und der Entwicklung der Embryonen, von der Erfahrung des ET-Teams und nicht zuletzt von der Vorbereitung der Empfängertiere.

Dabei sind die Haltung und Fütterung der Empfängertiere, ihr einwandfreier Gesundheitsstatus, insbesondere des Genitaltraktes, die Synchronisation sowie eine genaue Brunstbeobachtung und Dokumentation von besonderer Bedeutung, da die Anwachsrate der Embryonen, der Erhalt der Trächtigkeit und die Zahl der lebend geborenen Kälber für den wirtschaftlichen Aspekt des kommerziellen Embryotransfers ausschlaggebend sind.

Da die Länge der Zwischenkalbezeit ein wesentlicher Faktor der Wirtschaftlichkeit milcherzeugender Betriebe darstellt, müssen Tiere die nicht aufgenommen haben, so früh wie möglich als nicht-tragend identifiziert werden (Pieterse et al., 1990a). Dies erklärt auch warum in den letzten Jahren der Einsatz des Ultraschalls in der modernen Rinderpraxis, besonders auf dem Gebiet der Bestandsbetreuung, an Bedeutung gewonnen hat.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Möglichkeiten der Sonographie bei der Untersuchung der Empfängertiere im Rahmen des kommerziellen Embryotransfers zu überprüfen und zu bewerten. Dabei wurden die vor der Embryonenübertragung erhobenen palpatorischen sowie ultrasonographischen Befunde der Ovarien miteinander verglichen und mit dem ermittelten Plasmaprogesteron Gehalt ins Verhältnis gesetzt. Im weiteren Verlauf der Untersuchung wurde der Einfluss dieser Faktoren auf die Trächtigkeitsrate zu definierten Zeitpunkten bestimmt.

2 LITERATUR

2.1 Bedeutung der Ultraschalldiagnostik in der Rindergynäkologie

Aus Kostengründen war die Anwendung der gynäkologischen Ultraschalluntersuchung in der Tiermedizin lange Zeit beim Rind sehr begrenzt. So geht Müller et al. (1986) von einer hauptsächlichlichen Nutzung der Sonographie beim Rind in der klinischen Forschung aus. Kähn (1997) jedoch hebt deren Vorteile auch für die tierärztliche Praxis hervor. Bei den landwirtschaftlichen Nutztieren ist erst mit einem besseren Preis-Leistungs-Verhältnis der Geräte in den letzten Jahren ein Praxiseinsatz möglich geworden (Neumann, 1999). Inzwischen wird die Bedeutung der Ultraschalluntersuchung zur Trächtigkeitsdiagnose hervorgehoben (Heuwieser et al., 2000).

2.2 Darstellung der Ovarien

2.2.1 Darstellung der Follikel

Im Ultraschallbild stellen sich Follikel aufgrund des fehlenden Echos ihres Flüssigkeitsinhalts fast schwarz dar. Sie kennzeichnen sich durch einen runden Bereich von unterschiedlicher Größe, der von der Umgebung (Ovarstroma, helle Echogenität) gut abgegrenzt ist (Pierson und Ginther, 1984a ; Kähn und Leidl, 1986 ; Quirk et al., 1986 ; Omran et al., 1988 ; Kähn, 1991). Die dünne Follikelwand ist nur sehr selten nachweisbar. Sie wird vereinzelt durch einen sehr dünnen, echolosen Spalt vom Ovargewebe abgegrenzt (Kähn, 1991). Andere Formen können auftreten wenn mehrere Follikel oder ein Follikel mit einem Gelbkörper aneinandergrenzen (Pierson und Ginther, 1984a ; Kähn und Leidl, 1986).

2.2.2 Darstellung des Corpus luteum

Gelbkörper stellen sich im Ultraschallbild als grobkörnige, graue Struktur dar, die echoärmer als das echohelle Ovarialstroma ist und von diesem durch eine sichtbare Demarkationslinie gut abgegrenzt wird (Pierson und Ginther, 1988; Kähn, 1991; Kähn, 1997). Im Zentrum des Schnittbildes findet man vielfach eine strichförmige, echointensive Zone (Omran et al., 1988; Kähn, 1991). Sie entspricht einer bindegewebigen Verästelung, die die wulstförmig aufgeworfenen, dicht gepackten Luteinzellschichten vor allem von der Mitte aus gliedert. Eine echointensive Zentralzone kann regelmäßig beobachtet werden, nachdem sich der Hohlraum eines Gelbkörpers geschlossen hat. Die zystischen Gelbkörper sind durch ein echofreies, d. h. mit Flüssigkeit gefülltes Zentrum gekennzeichnet, das von einem mehrere Millimeter breiten, stark echogenem Randsaum umgeben ist. Der Randsaum zeigt die typische Echogenität von Luteingewebe (Pierson und Ginther, 1984a ; Reeves et al., 1984 ; Kähn und Leidl, 1986 ; Kito et al., 1986). Der Tag an dem der Hohlraum seine maximale Größe erreicht, liegt im Mittel bei 5,5 bis 7 Tagen (Kastelic et al., 1990a) bzw. bei 9 bis 10 Tagen (Grygar et al., 1997; Kähn, 1991). Die Gelbkörpergewebefläche unterscheidet sich nicht signifikant bei den verschiedenen Hohlraum-Größen (Kito et al., 1986). Okuda et al. (1988) berichten, dass die Gelbkörper mit Hohlraum eine größere Gewebefläche aufwiesen als kompakte Corpora lutea. Die längste Periode, in der der Hohlraum bei tragenden Tieren sichtbar war, betrug 42 Tage (Kito et al., 1986). Kleinere Hohlräume verschwanden früher als große Hohlräume ; Hohlräume der Corpora lutea graviditatis persistierten bis zum 40ten Tag der Trächtigkeit (Kito et al., 1986 ; Grygar et al., 1997). Die Gelbkörpergewebefläche vergrößerte sich linear bei trächtigen Färsen in den Tagen 21 bis 60 (durchschnittliches Wachstum: $2,6 \text{ mm}^2/\text{Tag}$) (Kastelic et al., 1990a). Aus mehreren Untersuchungen wurde berichtet, dass die Inzidenz der Gelbkörper-Hohlräume mit dem Entwicklungsgrad der Gelbkörper abnimmt, da sich der Hohlraum zunehmend mit Gelbkörpergewebe füllt (Kito et al., 1986; Okuda et al., 1988; Kastelic et al., 1990a ; Garcia und Salaheddine, 2000).

Angaben zum Vorkommen der zystischen Gelbkörper variieren sehr stark zwischen verschiedenen Studien, was einerseits auf den unterschiedlichen Untersuchungszeitraum, andererseits auf die Definition des Mindestdurchmessers des Hohlraumes zurückzuführen ist.

Eine Untersuchung an 266 Holstein-Frisien Färsen am Tag 7 (Tag 0 = Östrus) ergab bei 40,7 % der Tiere die Anwesenheit eines Gelbkörper-Hohlraumes (Garcia und Salaheddine, 2000). Andere Autoren berichten von 37 % (Kito et al., 1986), 47,8 % (Pierson und Ginther, 1987a), 77 % (Kastelic et al., 1990a), 30 bis 50 % (Kähn, 1991) und 72,7 % (Singh et al., 1997). Mit Hilfe der Ultraschalluntersuchung lassen sich die Gelbkörper mit Hohlraum von Follikel-Theka-Zysten differenzieren (Jeffcoate und Ayliffe, 1995; Max et al., 1997).

Eine sonographische Unterscheidung zwischen Anbildungs- und Rückbildungsgelbkörper ist äußerst schwierig und hängt nicht nur von der Qualität des Ultraschallgerätes ab sondern auch von der Erfahrung des Untersuchers (Pieterse et al., 1990b, Battocchio et al., 1999 ; Hanzen et al., 2000 ; Veronesi et al., 2002). Anbildungsgelbkörper haben eine geringe Echogenität und sind meist innerhalb des Ovars gelegen. Im Rückbildungsgelbkörper ist die Demarkationslinie wegen der geringen echogenen Differenz zwischen Gelbkörper und Ovargewebe sehr matt (Quirk et al., 1986 ; Pieterse et al., 1990b ; Ribadu et al., 1994). In Einzelfällen kann ein Corpus albicans noch wenige Tage über den Beginn des nächsten Zyklus hinaus beobachtet werden (Kähn, 1991).

2.2.3 Darstellung des Uterus und der Trächtigkeit

Das Schnittbild durch die Gebärmutterwand zeigt körnige, unterschiedlich strukturierte Grautöne. Im Zentrum des Organs ist häufig die dicht zusammenliegende endometriale Schleimhaut des Innenraumes als helle Linie zu erkennen (Kähn, 1991). Abhängig vom Zyklusstadium können jedoch kleinere, nur wenige Millimeter dicke, fadenförmige Hohlräume im Uteruslumen beobachtet werden. Diese treten vermehrt in den Tagen um den Östrus, gelegentlich auch im Diöstrus auf (Pierson und Ginther, 1984b). Im Östrus kann die Flüssigkeitsansammlung stark variieren. Da während der gesamten Länge eines Zyklus, auch ohne eine erfolgte Konzeption, mit dem Auftreten von Sekret im Uterus gerechnet werden muss, darf der Nachweis einer Flüssigkeitsansammlung im Ultraschallbild nicht als sicheres Zeichen einer Gravidität gewertet werden. Dies ist nur statthaft, wenn embryonale Strukturen zuverlässig angesprochen werden können (Kähn, 1991).

Kähn (1985) berichtet, dass das Embryonalsäckchen um den 22. Tag einen maximalen Durchmesser von 3 bis 4 mm aufwies und auf einer Länge von 1 cm erkennbar war. Am 25. Tag

der Gravidität erreichte die Fruchtblase an der Stelle ihrer stärksten Ausdehnung eine Dicke von etwa 10 mm. Ab dem 28. Graviditätstag kann der Embryo und seine Herzaktion in Form des Pulsierens mehrerer Lichtpunkte auf dem Bildschirm festgestellt werden (Pierson und Ginther, 1984b ; Kähn, 1985). Andere Autoren beobachteten die Herzaktion am 24. Tag (Kastelic et al., 1989) bzw. am 22. Tag (Boyd et al., 1990). Bis zum 30. Trächtigkeitstag liegt der Embryo meist der Uteruswand an und wölbt sich als echointensive Zone in das Uteruslumen. Ab dem 30. Trächtigkeitstag ist der Embryo frei im Uteruslumen und von allen Seiten mit Fruchtwasser umgeben (Kähn, 1985). Ab dem 30. Tag ist die Fruchtblase bereits im kontralateralen Horn nachweisbar und ab dem 35. Trächtigkeitstag ist die Amnionblase erkennbar, die den Embryo als dünne, echoreiche Membran umgibt (Pierson und Ginther, 1984b ; Kähn, 1997). Falten der Uteruswand , die in das Lumen hineinragen, unterbrechen den Gesamtverlauf der Fruchtblase und rufen ein « pseudoampullenhaftes » Bild hervor (Kähn et al., 1989).

Für den Besitzer ist es von entscheidender Bedeutung, dass Feststellung oder Ausschluss einer Gravidität möglichst früh und mit maximaler Sicherheit erfolgen. Aus betriebswirtschaftlichen Gründen wäre es wünschenswert, bereits vor dem 21. Tag nach dem Belegen eine definitive Diagnose zu haben, damit nichtgravide Tiere ohne Verzug wieder gedeckt oder besamt werden können. Nicht umrindern und Corpus-luteum-Feststellung am 20. Tag nach der Besamung sind jedoch relativ unzuverlässige Kriterien (Van der Weijden und Taverne, 1999). Zaied et al. (1979) beobachteten bei graviden Tieren nur in 69 % und bei nichtgraviden Tieren nur in 87 % der Fälle eine Übereinstimmung mit der Diagnose aufgrund des Corpus-luteum-Befundes. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Kastelic et al. (1989) wo eine Übereinstimmung von 65 % bei graviden bzw. 84 % bei nichtgraviden Tieren vorlag. Boyd et al. (1990) erreichten ab dem 17. Tag nach der Besamung eine Übereinstimmung von 100 %, sowohl bei trächtigen als auch bei nicht trächtigen Tieren. Die Autoren führen dieses Ergebnis einerseits auf die Anwendung einer hochauflösenden Ultraschallsonde (7,5 MHz), andererseits auf die sichtbaren Veränderungen im Corpus luteum zurück, die ab dem 17. Tag bei nicht trächtigen Tieren einsetzen.

Untersuchungen vor dem 42. Tag nach der Besamung haben den Vorteil, dass bei Kühen, die symptomlos umgerindert haben (stille Brunst), bereits die zweite Brunst nach der erfolglosen Belegung wieder ausgenutzt werden kann (Van der Weijden und Taverne, 1999). Obwohl durch

wiederholte sonographische Untersuchungen beim gleichen Tier schon vor dem 20. Tag nach der Besamung eine Erkennung der Gravidität möglich ist (Pierson und Ginther, 1984b ; Curran et al., 1986a ; Kastelic et al., 1991a), haben verschiedene Feldstudien gezeigt, dass unter praktischen Bedingungen erst ab dem 24. bis 26. Tag eine genaue Trennung von trächtigen und nicht trächtigen Tieren (Sensitivität : 95-99 % ; Spezifität : 75-97 %) erfolgen kann (Taverne et al., 1985 ; Pieterse et al., 1990a ; Hanzen und Laurent, 1991). Müller (2000) empfiehlt die Trächtigkeitsuntersuchung mittels Ultraschall im wöchentlichen Rhythmus bei Kühen zwischen dem 29. und 35. Tag bzw. bei Färsen zwischen dem 25. und 31. Tag nach der Besamung durchzuführen. In diesem Zeitraum konnte jeweils eine Genauigkeit der Trächtigkeitsuntersuchung mittels Ultraschall von 98 % erreicht werden. Es hat sich gezeigt, dass falsch-negative Diagnosen vor dem 33. Tag besonders dann erfolgen, wenn die Untersuchung zu rasch durchgeführt wird, wenn Schallköpfe mit niedriger Frequenz benutzt werden und wenn die Kühe eine relativ große Gebärmutter haben, die weit in die Bauchhöhle herabhängt (Szenci et al., 1995).

Da zwischen dem 20. und 42. Tag nach der Besamung bei 12-16 % der Tiere noch eine späte Embryonalsterblichkeit erfolgt (Hanzen und Laurent, 1991 ; Peters, 1996), besteht bei einer relativ frühen Trächtigkeitsdiagnose die Gefahr, dass ein positiver Befund im Rahmen einer späteren, wiederholten Untersuchung oder durch ein ausbleibendes Abkalben nicht bestätigt wird. White et al. (1985) empfehlen die Trächtigkeitsuntersuchung ab dem 30. Tag durchzuführen, da vorher häufig embryonale Mortalität auftritt. Andererseits ermöglicht die (wiederholte) Anwendung der transrektalen Sonographie eine zeitige Erkennung (keine Herztätigkeit, zu wenig Allantoisflüssigkeit, keine klare Amnionflüssigkeit, Desintegration von Fruchthüllen) von Kühen mit später embryonaler oder früher Fetalsterblichkeit (Chaffaux et al., 1986 ; Szenci et al., 1998). Dies ist von großer praktischer Bedeutung, da bei Tieren mit intrauterinem Fruchttod der Gelbkörper noch mehrere Tage bis sogar Wochen aktiv bleiben kann und die Kühe deshalb nicht in Brunst kommen (Kassam et al., 1987 ; Kastelic und Ginther, 1989).

2.3 Auswahl der Empfängertiere für den Embryotransfer

Bei der Auswahl geeigneter Empfängertiere sind besonders der Gesundheitszustand, der Reproduktionsstatus, die Brunstsynchronisation, das Alter und der Ernährungszustand sowie die Haltungsform zu berücksichtigen (Niemann und Meinecke, 1993).

2.3.1 Züchterische Selektion der Empfängertiere

Wenn auch der genetische Wert der Rezipienten unter dem der Donoren liegt, so sind die Anforderungen, die an die Zuchtkondition und Gesundheit der Tiere gestellt werden, mit denen bei Donoren identisch (König und Rommel, 1987). Dabei wird vor allem eine gute Kondition und ein ungestörter Sexualzyklus gefordert. Zur Vorbereitung der Rezipienten gehört auch die wiederkäufer- und leistungsgerechte Fütterung der Tiere. Die Stoffwechselgesundheit der Rezipienten ist ebenso bedeutsam wie die der Donoren (König und Rommel, 1987). Oft werden in der Praxis azyklische Tiere als Empfänger vorgestellt.

Die Fruchtbarkeitslage in der Herde, die beispielsweise anhand des Besamungsindex ermittelt werden kann, ist oft ein guter Indikator für die zu erzielenden Trächtigkeitsraten nach ET. Somit lässt ein hoher Besamungsindex schlechte Transferergebnisse erwarten (Janowitz, 1994). Weil das Management der Empfängertiere in vielen Betrieben nicht optimal ist, halten kommerzielle ET-Einrichtungen nach Möglichkeit eigene Empfängertierherden (Seidel und Seidel, 1991).

2.3.2 Gesundheitliche Anforderungen an die Empfängertiere

Die Fruchtbarkeit ist, wie die allgemeine Gesundheit und Leistungsfähigkeit, eine Reaktion des Organismus auf seine Umwelt, denn schlechte Haltungsbedingungen (Überbelegung, Minderversorgung, Futtermittelintoxikation) sind Störgrößen, die den komplexen Regelmechanismus der Fortpflanzung zum Entgleisen bringen (Görlach, 1997).

Mängel der Fütterung können wesentlich zur Entstehung von Fruchtbarkeitsstörungen beitragen (Mansfeld et al., 1999). Butler und Smith (1989) berichten, dass es infolge der stark ansteigenden Milchleistung zu Beginn der Laktation und der oft nicht leistungsgerechten Energieaufnahme zu

einer negativen Energiebilanz, mit der daraus resultierenden Mobilisierung der Körperreserven, bei Hochleistungstieren kommt. Bei diesen Tieren wurde ein verlängerter post-partum Intervall bis zur ersten Ovulation und eine niedrigere Trächtigkeitsrate festgestellt (Butler und Smith, 1989). Empfängertiere sollten sich bereits in der Vorbereitungszeit zum Embryotransfer in einem guten Ernährungszustand befinden und eine anabole Stoffwechsellaage haben (Seidel und Seidel, 1991 ; Görlach, 1997).

Infektionen des Genitaltraktes (Ovidukt, Uterus) können durch spezifische und unspezifische pathogene Organismen verursacht werden (Vanroose et al., 2000). Empfänger, die aus verschiedenen Herden stammen, müssen je nach Hygienestatus der Ursprungsherden vor ihrer Zusammenstellung eventuell in Quarantäne gestellt und seuchen-hygienisch untersucht werden (Leukose, Brucellose, Tuberkulose, BHV 1, BVD) (Görlach, 1997).

Das Entstehen von Erkrankungen nach Chlamydieninfektionen wird gerade in der intensiven Tierhaltung durch Resistenz mindernde Einflüsse, Mängel in der Haltung und Fütterung (Bisping und Bostedt, 1999) oder das ständige Zuführen großer Tierzahlen aus vielen verschiedenen Beständen zur Reproduktion begünstigt (Horsch, 1980). Die Pathogenese der Genitalinfektion ist noch nicht geklärt (Bisping und Bostedt, 1999). In der Mehrzahl der Fälle mag es sich um eine hämatogene oder um eine aktivierte latente Infektion handeln, jedoch kann der venerische Übertragungsweg nicht ausgeschlossen werden. Die als Bestandsproblem auftretenden Chlamydia-psittaci-assoziierten Genitalkatarrhe müssen zu den multifaktoriell bedingten Erkrankungen gerechnet werden, bei denen eine Störung des labilen Erreger-Wirt-Gleichgewichtes bereits bestehender latenter Chlamydieninfektionen unter dem Einfluss Resistenz mindernder Faktoren eine gesteigerte Vermehrung des Erregers und damit die Induzierung entzündlicher Reaktionen nach sich zieht (Bisping und Bostedt, 1999). In geruchlosem putriden Vaginalausfluss konnte in 60 % der Proben mit enzymimmunologischer Methode Chlamydienantigen nachgewiesen werden (Wittenbrink et al., 1993). Chlamydien können zwar die Zona pellucida nicht durchdringen, aber durch die direkte Infektion der Uterusschleimhaut kann es infolge einer Endometritis zu einem frühen Embryonaltod kommen (Gerbermann, 1990). Im Interöstrus ist der Uterus viel anfälliger für Infektionen als im Östrus. Deshalb kann man die Bedeutung der Hygiene beim Embryotransfer nicht stark genug betonen.

2.3.3 Berücksichtigung von Alter und Parität bei Empfängertieren

Eine häufig gestellte Frage ist die, nach der Tauglichkeit von Kühen oder Färsen als Empfänger. Der große Vorteil von Kühen liegt in der leichteren Abkalbung (King et al., 1985), jedoch sind Kühe oft den hohen Anforderungen der Laktation ausgesetzt. Darüber hinaus haben primipare Kühe in der Regel ihr eigenes Körperwachstum noch nicht abgeschlossen und müssen sich mit der sozialen Rangordnung innerhalb der Herde auseinandersetzen (Broadbent et al., 1991 ; Görlach, 1997). Färsen werden oft gegenüber Kühen als Empfänger bevorzugt, weil sie in der Regel keine Genitalinfektionen (Endometritis) oder Störungen der Ovarfunktion (Ovarzysten) aufweisen, günstiger zu erwerben und einfacher zu managen sind als Kühe. Nachteile bei Färsen sind die oft schwierigere Zervixpassage, der höhere Anteil an Zwicken oder anderen Abnormalitäten des Reproduktionstraktes bzw. Azyklie (Broadbent et al., 1991). Coultard (1991) fand heraus, dass etwa bei 10 % der Färsen die Zervixpassage erschwert oder unmöglich ist. Nach Görlach (1997) eignen sich für den ET zuchtreife und geschlechts gesunde Jungrinder sowie gynäkologisch unbedenkliche, gesunde Kühe, bzw. junge Kühe (Niemann und Meinecke, 1993).

In verschiedenen Studien wurde der Einfluss der Parität auf die Trächtigkeitsrate nach künstlicher Besamung sowie nach Embryotransfer untersucht. Dochi et al. (1998) stellten nach Transfer von tiefgefrorenen/aufgetauten Embryonen bei Färsen eine signifikant höhere Trächtigkeitsrate als bei Kühen fest. Zwischen Kühen die einmal, zweimal oder öfters abgekalbt hatten gab es keine signifikanten Unterschiede in der Trächtigkeitsrate. Hanekamp (1999) erzielte nach Übertragung von tiefgefrorenen/aufgetauten Embryonen der Rasse Blonde d'Aquitaine auf Milchviehfärsen und -kühe eine höhere Trächtigkeitsrate bei den Färsen (42 % vs. 33 %). Auch beim Transfer frischer Embryonen erreichten Färsen höhere Trächtigkeitsraten (Chagas e Silva et al., 1999a). Hasler (2001) fand nach dem Transfer frischer bzw. tiefgefrorener/aufgetauter Embryonen bei Milchviehfärsen eine höhere Trächtigkeitsrate als bei Milchviehkühen. Ebenso waren in einer Studie von Altino Pires De Almeida (1995) die Trächtigkeitsraten bei nulliparen Empfängertieren höher als bei « repeat-breeder » Kühen, unabhängig von der Parität des Spendertieres.

Beim Vergleich der Trächtigkeitsraten zwischen Färsen und Kühen bei verschiedenen Fleischrassen konnten keine Unterschiede festgestellt werden (Wright, 1981 ; Hasler, 2001).

Broadbent et al. (1991) sowie Callesen et al. (1994) fanden keinen signifikanten Unterschied in der Trächtigkeitsrate zwischen Kühen und Färsen. Newcomb und Rowson (1980) berichten von höheren Trächtigkeitsraten bei Kühen gegenüber Färsen und begründen diese Tatsache dadurch, dass Färsen eine schwierigere Zervixpassage haben als Kühe.

Einige Autoren berichten, dass bei Empfängern der Fleischrassen die Synchronität eine größere Rolle spielt (Schneider et al., 1980; Donaldson, 1985; Putney et al., 1988; van Wagendonk-de Leeuw, 1996) als bei Milchviehfärsen (Coleman, 1987; Hasler et al., 1987). Hasler (2001) fand keinen Unterschied in der Trächtigkeitsrate in Abhängigkeit vom Synchron-Status zwischen Milchviehfärsen und -kühen sowie Kühen einer Fleischrasse.

2.4 Untersuchung der Empfängertiere vor dem Embryotransfer

2.4.1 Vorbericht und gynäkologische Untersuchung der Empfängertiere

Bevor die gynäkologische Untersuchung erfolgt, ist ein Vorbericht zu erheben. Dabei sollte einerseits ein Überblick über die Fruchtbarkeitslage im Betrieb gewonnen werden, andererseits sollten spezifische Daten des Empfängertieres erfragt werden.

Zur Beurteilung der Herdenfruchtbarkeit werden nach Mansfeld et al. (1999) mindestens die folgenden Kennzahlen benötigt: Der Erstbesamungserfolg (%), die mittlere Anzahl von Besamungen pro tragend (Trächtigkeitsindex) und pro nicht tragend gewordener Kuh (Nichtträchtigkeitsindex), die Güstzeit (= Zwischentragezeit), sowie die Abgänge wegen Unfruchtbarkeit pro Zeiteinheit (Mansfeld et al., 1999). Weiterhin ist das Auftreten von Erkrankungen im Bestand (z. B. IBR/IPV, BVD, Parasitenbefall), sowie die Milchleistung der Herde von Bedeutung.

Spezifische Fragen über das Empfängertier beinhalten den Zyklus (Regelmäßigkeit, Dauer), die Brunst (Beginn, Intensität, Dauer), die Methode der Brunstbeobachtung (Häufigkeit, Dauer), das Laktationsstadium, die Milchleistung bzw. das Säugen eines Kalbes, das Datum der letzten Abkalbung mit dem Verlauf des Puerperiums und die wiederholte Nutzung als Empfängertier.

Eventuell sind Fragen über Futtermittelumstellungen oder Änderungen der Haltungsbedingungen der Empfänger zu stellen.

Ziel der gynäkologischen Untersuchung ist es, Tiere mit anormalen Befunden (z. B. juvenile Geschlechtsorgane, Zwitter) auszuschließen und gynäkologisch bedenkliche Tiere (z. B. Azyklie, Nymphomanie, Endometritis) zu erkennen (Görlach, 1997). Im Durchschnitt haben annähernd 10 % der Kühe, in einigen Betrieben sogar 40 %, einmal oder wiederholt im Leben Ovarialzysten (Grunert, 1999b).

Die Allgemeinuntersuchung bezieht sich beim Empfängertier im besonderen auf den Habitus, die Kontrolle des Haarkleides, den Ernährungszustand (Body Condition Score), die Klauen und das Euter. Dabei ist speziell auf Abmagerung infolge eines Parasitenbefalls, chronische Erkrankungen oder Fütterungsfehler bzw. auf Klauen- oder Eutererkrankungen zu achten (Grunert, 1999a).

Die Schamlippen sind im Interöstrus gefältelt (Grunert, 1999a). Bei der äußeren gynäkologischen Untersuchung ist besonders auf Hinweise für Ovarialzysten zu achten (Erschlaffung des kaudalen Randes der breiten Beckenbänder, Schwellung bzw. unzureichender Schluss der Schamlippen). Weiterhin wird die Vestibulumschleimhaut auf entzündliche Veränderungen bzw. Bläschen und das Fehlen von Vaginalausfluss untersucht. Die Klitoris ist bei Zwicken vergrößert. Kleine Schamlippen sind bei Zwicken und bei Färsen mit hypoplastischen Ovarien festzustellen (Grunert, 1999a).

Bei der rektalen Untersuchung sollte erst das Vorliegen einer Trächtigkeit, sowie einer Verwachsung der Zervix bzw. der Gebärmutter ausgeschlossen werden (Grunert, 1999a). Im Anschluss erfolgt die Untersuchung der Ovarien auf ein dem Zyklusstand entsprechenden Gelbkörper bzw. auf das Fehlen von Ovarialzysten.

2.4.2 Spezielle Untersuchung der Ovarien

2.4.2.1 Follikelwellen und dominanter Follikel

Mit Hilfe der Ultraschalluntersuchung konnte die wellenartige Anbildung der Follikel dargestellt werden und es wurde beobachtet, dass sich innerhalb eines Brunstzyklus zwei bis drei Follikelwellen an bilden (Savio et al., 1988 ; Sirois und Fortune, 1988 ; Kähn, 1989; Ginther et al., 1989a ; Driancourt, 1991 ; Fortune et al., 1991 ; Bo et al., 1995; Garcia et al., 1999). Inwieweit genetische, umwelt- oder ernährungsbedingte Faktoren (Murphy et al., 1991) bzw. Faktoren im Zusammenhang mit dem Alter, der Parität oder dem Laktationsstadium (Lucy et al., 1992) die Anzahl der Follikelwellen in einem Brunstzyklus beeinflussen, ist noch unklar. Die Follikelwellen beginnen in der Regel am Tag der Ovulation (Tag 0) und am Tag 10 bei Zwei-Wellen-Zyklen und am Tag 0, 9 und 16 bei Drei-Wellen-Zyklen (Garcia et al., 1999). Kühe mit drei Follikelwellen haben eine etwas längere Zyklusdauer (Ginther et al., 1989a; Knopf et al., 1989 ; Fortune, 1993). Ginther et al. (1989b) teilen die Entwicklung des einzelnen Follikels innerhalb einer Follikelwelle in drei Phasen : die Wachstums-, die Statische- und die Regressionsphase. Nach funktionellen Kriterien kann man die Follikelwelle in die Stadien Rekrutierung, Selektion und Dominanz einteilen (Ireland, 1987). Ireland und Roche (1983) klassifizieren die Follikel nach ihrer endokrinologischen Aktivität und bezeichnen nur Follikel mit einem Verhältnis der E2-Konzentration zur P4-Konzentration in der Follikelflüssigkeit von > 1 als dominant. Das E/P-Verhältnis gilt als verlässlicher Parameter für den funktionellen Status des dominanten Follikels (Sunderland et al., 1994 ; Ali et al., 1999).

Was die Ausprägung des größten, sowie des zweitgrößten Follikels während den unterschiedlichen Zyklustagen betrifft, so stellten Pierson und Ginther (1986) bei trächtigen bzw. nicht trächtigen Färsen signifikante Unterschiede beim Durchmesser des größten und zweitgrößten Follikels am Tag 21 nach der Brunst fest. Dieser Unterschied beruht auf dem Wachstum und der Ovulation des ovulatorischen Follikels in den Tagen 18 bis 21 bei nicht trächtigen Färsen. Mit Ausnahme der Tage im Metöstrus ist normalerweise im gesamten Verlauf des Ovarialzyklus eine Blase mit einem Durchmesser von > 10 mm auf einem der beiden Ovarien vorhanden (Schneebeil und Eggenberger, 1985; Stock und Stolla, 1995).

Das Intervall von der Einleitung der Luteolyse nach einmaliger PGF_{2α}-Injektion bis zum Brunsteintritt scheint vom Stadium der Follikelwelle abhängig zu sein (Kastelic et al., 1990b ; Lucy et al., 1992 ; Adams, 1994; Stock und Stolla, 1995). Wird die Luteolyse während der Wachstumsphase oder frühen statischen Phase des dominanten Follikels induziert, dann ovuliert dieser Follikel nach 2 bis 3 Tagen. Wird die Luteolyse während der späten statischen Phase oder in der regressiven Phase induziert, so scheint der dominante Follikel seine funktionelle Dominanz verloren zu haben und der dominante Follikel der nächsten Welle wächst heran und wird zum ovulatorischen Follikel, was zu einem längeren Intervall zwischen Behandlung und Brunst führt (Stock und Stolla, 1995 ; Ali et al., 2001).

Die Unterscheidung zwischen dominantem Follikel in der Corpus luteum Phase und Brunstfollikel ist anhand der rektalen Palpation nicht möglich und kann erfahrungsgemäß zu Fehldiagnosen bei der Ansprache des Zyklusstadiums führen (Stolla und Himmer, 1980). So lässt sich auch der in Problembetrieben beschriebene hohe Anteil von Fehlbesamungen (bis zu 20 %) im Interöstrus erklären (Grunert, 1999c) (Abschnitt 2.5.7.). Dass Brunsterscheinungen einschließlich des Duldungseffektes (« standing estrus ») bei diöstrischen Kühen mit aktivem Corpus luteum auftreten können, ist wiederholt beschrieben und durch Progesteronbestimmungen verifiziert worden (Busch, 1991). Es wird vermutet, dass die brunstähnlichen Erscheinungen in der Lutealphase mit der erhöhten Östrogenproduktion dominanter Follikel zusammenhängen, obwohl die Konzentrationen während des Diöstrus nur ein Drittel der Werte zu Beginn der Follikelphase, d. h. nach der Regression des Gelbkörpers erreichen (Martin et al., 1991).

In einer Untersuchung von Ginther et al. (1989c) über den intraovariellen Zusammenhang zwischen dem Gelbkörper und dem dominanten Follikel bei tragenden und nicht-tragenden Holstein-Friesen Färsen konnte während des Brunstzyklus keine Beziehung zwischen der Gelbkörperlage und der Lage des dominanten Follikels festgestellt werden. Jedoch konnte bei tragenden Färsen während der 3. bis 10. Follikelwelle gezeigt werden, dass der dominante Follikel und der Gelbkörper signifikant öfter auf verschiedenen Ovarien lokalisiert waren. Dies stimmt mit anderen Untersuchungen von Pierson et al. (1987b) überein, bei denen gezeigt wurde, dass der Gelbkörper einen negativen Einfluss auf das Wachstum großer Follikel auf dem

ipsilateralen Ovar in den Tagen 22 bis 60 der Trächtigkeit hat. In einer Studie von Nation et al. (1999) an erstkalbigen Holstein-Frisien Kühen konnte gezeigt werden, dass der dominante Follikel in der frühen post-partalen Periode größtenteils auf dem kontralateralen Ovar zum vorangegangenen Trächtigkeitsgelbkörper tragenden Ovar lokalisiert war und überwiegend auf der rechten Seite.

2.4.2.2 Untersuchung des Corpus luteum

Im Regelzyklus ist etwa 5 bis 6 Tage nach der Ovulation das sich anbildende Corpus luteum durch eine rektale Untersuchung festzustellen (Stolla und Himmer, 1980). Es hebt sich zu diesem Zeitpunkt nur wenig vom übrigen Ovar ab und ist von weicher Konsistenz. Zwischen Tag 6 und 10 wächst das Corpus luteum weiter an, ragt über das übrige Ovar hinaus und hat häufig eine zentrale Einziehung. Bereits vom 12. Tag an wird die Konsistenz kontinuierlich fester. Eine deutliche, auch klinisch feststellbare Verringerung des Durchmessers erfolgt jedoch erst etwa ab dem 16. bis 17. Tag (Stolla und Himmer, 1980).

Wesentlich für die Eignung eines Tieres als Rezipient ist das Vorhandensein eines dem Zyklusstand entsprechenden Gelbkörpers. Die letztendliche Entscheidung hinsichtlich der Verwendung des geprüften Tieres als Rezipient wird anhand des Vorberichtes sowie der aktuellen Untersuchungsbefunde getroffen (König und Rommel, 1987). Ein Empfängertier kann abgelehnt werden aufgrund des Genotyps, des Alters, der Parität, der Körperkondition, oder aufgrund seines Gesundheits- und Reproduktionsstatus. Weiterhin wird eine fristgerechte deutlich ausgeprägte Brunst, die Ovulation und die Bildung eines adäquaten Gelbkörpers von entscheidender Bedeutung für die Auswahl des Empfängers sein (Broadbent et al., 1991). Die korrekte Diagnose des Gelbkörpers und seines funktionellen Status sind wichtige Voraussetzungen für eine erfolgreiche Rezipientenselektion vor dem Embryotransfer (Garcia und Salaheddine, 2000). Fuentes und De la Fuente (1997) berichten, dass bis zu 55 % der Empfänger abgelehnt werden, weil der Gelbkörper seinen funktionellen Status nicht erreicht hat oder er den Kriterien des Untersuchers nicht entspricht. Die eventuelle Abwesenheit oder Ablehnung eines Gelbkörpers kann Folge einer fehlenden Ovulation, eines zu großen flüssigkeitsgefüllten Hohlraums im Gelbkörper oder einer Fehldiagnose sein (Garcia und Salaheddine, 2000).

Erhebungen über die Häufigkeit von Fehler bei der rektalen Palpation von Blasen, Zysten und Gelbkörpern am Ovar haben Fehldiagnosen von bis zu einem Drittel ergeben (Stolla und Himmer, 1980; Sprecher et al., 1988). Trotzdem stellt die rektale Untersuchung der Empfänger und ihre Klassifizierung in taugliche oder ungeeignete Rezipienten eine hinreichend sichere Methode dar, deren Wert hinreichend belegt ist (Görlach, 1997).

Nach den Kriterien für die gynäkologische Untersuchung nach Rosenberger (1977) werden Empfängertiere als sehr gut, gut und mäßig eingestuft. Zur Einstufung wird neben der Größe des Gelbkörpers auch der Brunstzeitpunkt und die Brunstintensität, die Konsistenz des Uterus sowie die Größe und die Konsistenz der Ovarien mit herangezogen (Küsters, 1983). Die Einteilung der Empfänger in die drei Klassen unterliegt stark subjektiven Einflüssen (Görlach, 1997).

Heute kommen in der gynäkologischen Untersuchung beim Rind sowohl die rektale Untersuchung, als auch die Ultraschalluntersuchung zum Einsatz. Es ist daher wichtig, Möglichkeiten und Grenzen beider diagnostischer Methoden zu kennen, um eine genaue Diagnose der physiologischen und pathologischen Strukturen am Ovar stellen zu können. Hanzen et al. (2000) verglich die Ergebnisse mehrerer Studien miteinander und ermittelte bei der rektalen Palpation der Gelbkörper einen positiv prädiktiven Wert von 78 % und bei der Ultraschalluntersuchung der Gelbkörper im Diöstrus einen positiven prädiktiven Wert von 87 %. Aus den Vergleichen geht hervor, dass die Ultraschalluntersuchung eine genauere Angabe über die Zahl und die Größe der vorhandenen Gelbkörper erlaubt, als dies nach rektaler Palpation möglich ist.

In einer Untersuchung von Kähn und Leidl (1986) mit einem 5 MHz-Linearscanner war der junge Gelbkörper frühestens ab dem 2. Tag sichtbar. Bis zum 6. Zyklustag nahm er weiter zu und wuchs auf 20 bis 30 mm heran. Die einmal erreichte Ausdehnung bzw. seine Echogenität änderte sich bis zum 16. Tag nur unwesentlich ; danach verkleinerte der Gelbkörper sich jedoch rasch. Ein Vergleich der rektalen Palpation und der Ultraschalluntersuchung mit dem Befund am exenterierten Ovar hat bei den Follikeln und Gelbkörpern mit einem Durchmesser über 11 mm für beide Methoden eine Sensitivität von 83 % aller Befunde ergeben (Kähn und Leidl, 1986). Pieterse et al. (1990b) erreichten bei der rektalen Palpation von Gelbkörpern im Diöstrus

ebenfalls eine Sensitivität von 83,3 % und einen prädiktiven Wert von 73,2 %. Die entsprechenden Werte nach der transvaginalen Ultraschalluntersuchung lagen bei 80,6 % und 85,3 %. Ribadu et al. (1994) erreichten bei der rektalen Palpation des diöstrischen Gelbkörpers eine Sensitivität von 85 % und einen positiv prädiktiven Wert von 89,5 %. Die Ultraschalluntersuchung ergab eine Sensitivität von 95 % und einen positiv prädiktiven Wert von 100 %. Diesen Werten steht die Untersuchung von Max et al. (1997) gegenüber, die das Corpus luteum in 85 % der Fälle durch Ultraschall richtig identifizierten, während die Palpation in 94 % der Fälle eine richtige Aussage ergab.

2.5 Einflüsse auf den Transfererfolg

Der Transfererfolg ist von einer Reihe Faktoren abhängig, wobei insbesondere die Embryonenqualität, das Transfermedium, der Synchronisationsgrad von Spender und Empfänger, das Alter der Embryonen, das Risiko einer Infektion, der Transfer in Relation zum Corpus luteum, der Transferverlauf und der Ernährungsstatus des Empfängers zu nennen sind (Niemann und Meinecke, 1993).

2.5.1 Zyklussynchronität zwischen Spender und Empfänger

Während der Periode der embryonalen Elongation muss die Entwicklung des Embryos synchron mit der des uterinen Milieus sein. Änderungen in der uterinen Sekretion sind in der zweiten Trächtigswoche besonders kritisch für das Überleben des Embryos (Goff, 2002). Die embryonale Entwicklung bleibt zurück, wenn der Embryo in einen "jüngeren" Uterus übertragen wird und die Entwicklung wird beschleunigt, wenn der Embryo in einen "älteren" Uterus transplantiert wird. Eine extreme Asynchronität führt zu abnormalen Embryonen die sich nicht implantieren (Goff, 2002). Wright (1981) und Putney et al. (1988) gehen auch davon aus, dass es vorteilhaft ist, wenn die Rezipienten vor den Donoren in Brunst waren. Andere Autoren stellten keinen Unterschied in den Trächtigsraten fest, solange die Brunstsynchronität zwischen Empfänger- und Spendertier innerhalb 24 Stunden lag (Donaldson, 1985; Sreenan und Diskin, 1987; Lester et al., 1999; Hasler, 2001; Spell et al., 2001). Schneider et al. (1980), sowie Hasler et al. (1987) erzielten die niedrigste Trächtigsrate bei den Empfängern, die 12 Stunden nach dem Donor rinderten. Die Gründe für die besseren Ergebnisse, wenn die Empfänger in ihrem

Zyklus etwas weiter als die Spender waren, liegen möglicherweise darin, dass die Embryonen von superovulierten Tieren in ihrer Entwicklung weiter sind, verglichen mit denen nicht superovulierter Tiere (Hasler et al., 1987).

Lindner und Wright (1983) postulierten, dass die Synchronität zwischen Embryo und Empfänger ein geeigneteres Beurteilungskriterium darstellt als die Synchronität zwischen Spender und Empfänger. Sie bestimmten den Begriff Entwicklungsalter, welches mit dem erwarteten Alter eines Embryos korrespondiert, unabhängig vom Zeitpunkt seiner Gewinnung. Die Übertragung von Embryonen exzellenter Qualität auf bis zu 2 Tage vor dem Spender asynchrone Empfänger führten zu ähnlichen Trächtigkeitsergebnissen wie beim Transfer auf synchrone Empfänger. Embryonen niedriger Qualität führten bei 2 Tage asynchronen Empfängern zu schlechteren Trächtigkeitsergebnissen (Nelson et al., 1982). Meinecke und Meinecke-Tillmann (1990) empfehlen, dass Embryonen, die retardiert sind, auf solche Empfänger übertragen werden sollten, die nach den Spendern in Brunst waren.

Hasler (2001) klassifizierte die Empfänger in 6, 7 oder 8 Tage post-Östrus und fand eine signifikant höhere Trächtigkeitsrate bei Tag 7 Empfängern als bei Tag 6 oder Tag 8 Empfängern (59,0 % gegenüber 48,9 % bzw. 53,6 %). Wright (1981) fand ebenfalls bei Empfängern im Zyklustag 5, 5,5 und 6 niedrigere Trächtigkeitsraten als bei Empfängern am Tag 6,5, 7 oder 7,5. Wright folgerte aus seiner Studie, dass für den Erhalt der Trächtigkeit nicht der Zyklustag des Empfängertieres entscheidend ist sondern vielmehr die Fähigkeit des Embryos für die Kontinuität der Trächtigkeit zu sorgen.

2.5.2 Dauer zwischen Spülung und Transfer, Temperaturschwankungen

Embryonen sind nach ihrer Gewinnung für Manipulationen verschiedenster Art (Embryoteilung, Zellentnahme) direkt zugänglich. Dabei ist ihre Zwischenaufbewahrung bei Umgebungstemperatur in Kulturmedium die einfachste und effektivste Art Zeiträume von mehreren Stunden zu überbrücken (Görlach, 1997). Das physikalische und chemische Umfeld des gewonnenen Embryos muss der embryonalen Umgebung im Uterus so ähnlich wie möglich sein (Kuzan, 1990). Leichte Änderungen in der Osmolarität des Mediums können die Überlebenschancen des transferierten Embryos herabsetzen. Ist beispielsweise die Osmolarität

des Mediums niedriger als in der uterinen Umgebung, wird der Embryo Wasser absorbieren und anschwellen. Weiterhin sollten pH-Schwankungen sowie starke Temperatur-schwankungen vermieden werden (Kuzan, 1990).

In einem Versuch von Leibo und Waininger (1986) wurden 324 Embryonen in einer phosphatgepufferten Salzlösung (PBS) bei 0 °C über große Distanzen transportiert. Die Zeit zwischen Spülung und Übertragung lag bei 12 bis 24 Stunden. Die mittlere Trächtigkeitsrate betrug 57,7 % ; die Trächtigkeitsrate von qualitativ guten bis sehr guten Embryonen lag bei 61,8 % und die von qualitativ schlechteren Embryonen bei 44,9 %. Hasler et al. (1987) bewahrten Embryonen während 2 bis 7, 8 bis 18 sowie 19 bis 24 Stunden in einer PBS-Lösung bei Zimmertemperatur auf und erreichten in allen Gruppen ähnliche Trächtigkeitsraten (73 %, 72 % resp. 72 %). In einem Laborversuch kultivierten Ryan et al. (1992) Tag 6-Embryonen bei 40 °C auf Oviduktzellen, um den chronischen Stress einer in vivo Umgebung zu imitieren. Die Embryonen schlüpften früher als Embryonen der Kontrollgruppe, die bei 38,6 °C kultiviert wurden. Nach 60 Stunden überlebten signifikant weniger der bei 40 °C kultivierten Embryonen als in der Vergleichsgruppe.

2.5.3 Handling und Transfer

Beim Management der Empfänger muss man unterscheiden zwischen Empfängertieren die in kommerziellen Embryo-Transfer-Zentren (z. B. Besamungsstationen) gehalten werden bzw. den Empfängern auf landwirtschaftlichen Betrieben. Oftmals stehen auf den landwirtschaftlichen Betrieben nicht genügend Empfänger zur Verfügung oder das Management der Empfänger ist nicht optimal (Seidel und Seidel, 1991).

Thibier und Nibart (1992) nennen als Grundregel beim Umgang mit Empfängertieren die Verhinderung von Stress. In einer Studie von Schrick et al. (2000) konnte nachgewiesen werden, dass die $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Konzentration kurz nach dem Transfer von Embryonen unter minimaler Manipulation signifikant anstieg. Butler (1998) beschreibt eine höhere uterine $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Konzentration bei Kühen mit einer negativen Energiebilanz. Giri et al. (1984) stellten in der Milch von Kühen, bei denen eine Mastitis mit gram-negativen Bakterien vorlag, erhöhte $\text{PGF}_{2\alpha}$ -

Konzentrationen fest und Malayer et al. (1990) wiesen bei Milchkühen bzw. bei Fleischviehkühen, die einem Hitzestress ausgesetzt waren, ebenfalls eine erhöhte $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Konzentration nach.

Beim Transfer muss eine Verletzung des Endometriums sowie eine Traumatisierung des Uterus unbedingt vermieden werden (Gordon, 1994). Infolge der Verletzung kann es zu einer Entzündung des Endometriums mit nachfolgender Makrophagen- und Granulozyten-einwanderung kommen, die wiederum eine embryonale Mortalität begünstigen können (Gordon, 1994). Tervit et al. (1980) konnten eine lineare Beziehung zwischen der Zeit, die für einen Transfer benötigt wird und der Trächtigkeitsrate beobachten. Bei einer durchschnittlichen Transferdauer von 1,8 Minuten konnten bessere Trächtigkeitsraten beobachtet werden, als nach einer längeren Transferdauer. Sreenan und Diskin (1987) sind der Meinung, dass der größte Einzelfaktor, der den Erfolg des transzervikalen Embryotransfers bestimmt, die Geschicklichkeit und Erfahrung des Operateurs darstellt. Schneider et al. (1980) fanden signifikante Unterschiede in der Trächtigkeitsrate in Abhängigkeit von der ausführenden Person (48 %, 53% , bzw. 28 %) oder dem Transferverlauf (Coleman, 1987). Verlieft der Transfer ohne Komplikationen, betrug die Trächtigkeitsrate 81,2 %; beim verzögerten Transfer wurden 16,4 % und bei starken Tierbewegungen wurden nur 2,4 % trüchtig. Dochi et al. (1998) erzielten niedrigere Trächtigkeitsraten, wenn die Dauer der Übertragung 11 min. überschritt. Broadbent et al. (1991) unterstreichen den Vorteil einer Epiduralanästhesie, die zu einer verminderten Stressbelastung des Tieres durch die Manipulation vor allem bei der Zervixpassage führt.

2.5.4 Tiefgefrierung

Beim Embryotransfer ist die Synchronität der Zyklen von Spender- und Empfängertieren eine absolut notwendige Voraussetzung für den Erfolg dieser Technik. Dieses Erfordernis führt aber im praktischen Ablauf häufig zu Problemen, weil entweder nicht ausreichend viele Empfängertiere für die Vorbereitung zur Verfügung stehen oder bei unzureichenden Ergebnissen der Superovulation und Embryogewinnung mangels ausreichender Zahl an Embryonen die vorbereiteten Empfänger nicht genutzt werden können (Brem, 1999). Die Technik der Tiefgefrierkonservierung von Embryonen ist nach jahrzehntelangen Bemühungen inzwischen zufriedenstellend ausgereift und gewährleistet Transferergebnisse um 50 % und darüber

(Görlach, 1997). Bei Einsatz des One-step-Verfahrens sind Trächtigkeitsraten von 40 bis 50 % zu erzielen (Brem, 1999). In einer Untersuchung von Hasler (2001) sind die Trächtigkeitsraten nach Übertragung von tiefgefrorenen/aufgetauten Embryonen 8,4 bis 9,9 % niedriger als nach Übertragung von frischen Embryonen (68,3 %). Leibo und Winninger (1986), Sreenan und Diskin (1987) und Spell et al. (2001) verzeichnen durch die Tiefgefrierung einen Effizienzverlust zwischen 10 und 30 % gegenüber frischen Embryonen.

Die Zeit zwischen der Spülung und dem Einfrieren stellt einen bedeutenden Faktor im kommerziellen Embryotransfer dar (Hasler, 2001). Nohner (1986) berichtet, dass nach einer über 5-stündigen Kultivierung der Embryonen vor der Tiefgefrierung signifikant weniger Tiere tragend waren als nach einer möglichst raschen Kryokonservierung im Anschluss an die Embryogewinnung (27,0 % vs. 45 %). Otter (1994) verglich die Trächtigkeitsraten der Embryonen die 0 bis 2, 2 bis 4 und 4 bis 6 Stunden nach der Spülung tiefgefroren wurden. Wenn die Zeit zwischen Spülung und Tiefgefrierung länger als 2 Stunden dauerte, waren die Trächtigkeitsraten signifikant niedriger, wobei der Unterschied bei den qualitativ sehr guten Embryonen (71,0 %; 66,0 % und 56,9 %) nicht so hoch war wie bei den guten Embryonen (63,1 %; 51,1 % und 32,1 %). Hasler (2001) stellte in einem Zeitraum von 30 Minuten bis 3 Stunden keinen Einfluss auf die Anwachsrate fest. Tiefgefrorene/aufgetaute Embryonen stellen auch keine höheren Anforderungen an die Synchronizität der Empfängertiere als frische Embryonen (Hasler, 2001).

Zur Erzielung hoher Überlebens- und Trächtigkeitsraten ist es erforderlich, bereits vor der Tiefgefrierkonservierung eine strenge Selektion vorzunehmen (Niemann et al., 1982; Sreenan und Diskin, 1987). Die Überlebensraten nach Kryokonservierung hängen einerseits von der Embryonenqualität (Niemann et al., 1982) andererseits vom Entwicklungsstand und von den Konditionen, unter welchen die Embryonen sich entwickelt haben, ab (Pollard und Leibo, 1994). Hasler (2001) ist der Meinung, dass die niedrigere Trächtigkeitsrate der tiefgefrorenen/aufgetauten Embryonen auf Schäden zurückzuführen sind, die bei der Beurteilung der Morphologie nicht zu erkennen sind.

Es gibt kaum Unterschiede in der Trächtigkeitsrate nach Verwendung von 10 %igem Glycerol oder 1,5 M Ethylenglykol als Gefrierschutzmittel (Arreseigor et al., 1998; Dochi et al., 1998; Chagas e Silva et al., 1999b; Lester et al., 1999).

2.5.5 Embryonenqualität

Bei der morphologischen Beurteilung von Rinderembryonen sollte immer auch berücksichtigt werden, dass es sich bei der visuellen Beurteilung um eine sehr subjektive Einschätzung handelt (Sreenan und Diskin, 1987; Meinecke und Meinecke-Tillmann, 1990). Farin et al. (1995) untersuchten die Übereinstimmung von 6 erfahrenen Personen in der Beurteilung der Embryonenqualität (68,5 %) und in der Beurteilung des embryonalen Entwicklungsstadiums (89,2 %). Die Beurteilung von Embryonen sehr guter Qualität und eindeutig degenerierter Embryonen fiel einheitlicher aus, als bei Klasse 2- und 3-Embryonen (Farin et al., 1995). Bei kommerziellen ET-Programmen hat es sich deshalb bewährt, die morphologisch intakten Embryonen vorrangig zu übertragen bzw. einzufrieren und partiell geschädigte Embryonen nach einer mehrstündigen Kultivierung erneut zu beurteilen. Je nach Zustand können diese Embryonen dann verworfen oder auf synchrone Empfänger übertragen werden (Sreenan und Diskin, 1987; Görlach, 1997).

Donaldson (1985) ist der Ansicht, dass mit fortschreitender Entwicklung die qualitative Beurteilung der Embryonen schwieriger wird. Obschon diese Aussage zutrifft, wird die Trächtigkeitsrate vorwiegend durch die Embryonenqualität und weniger vom Entwicklungsstadium beeinflusst. Auch andere Autoren fanden eine Korrelation der qualitativen Klassifizierung der Embryonen mit den Trächtigkeitsraten (Schneider et al., 1980; Tervit et al., 1980; Shea, 1981; Wright, 1981; Lindner und Wright, 1983; Coleman, 1987; Hasler et al., 1987; Niemann und Meinecke, 1993; Hasler, 2001). Donaldson (1985) fand unterschiedliche Trächtigkeitsraten zwischen Embryonen exzellenter (56,1 %), guter (48,9 %), mäßiger (40,1 %) und schlechter (32,5 %) Qualität. Bei Hasler (2001) unterschieden sich die Trächtigkeitsraten frischer Embryonen sehr guter (73,2 %), guter (68,3 %) und mäßiger (56,3 %) Qualität signifikant, jedoch unterschieden sich letztere nicht signifikant von qualitativ schlechten Embryonen (47,5 %). Ebenso waren die Trächtigkeitsraten in einer Studie von Wright (1981) bei qualitativ guten Embryonen (64 %) besser, als bei mäßigen (45 %) oder schlechten Embryonen

(33 %). Niemann und Meinecke (1993) berichten, dass die Trächtigkeitsrate von 25 bis 30 % nach Transfer qualitativ mäßiger Embryonen bis zu 30 bis 40 % unter der von Embryonen mit guter oder sehr guter Qualität liegen kann, welche bei 60 bis 65 % lag.

Lindner und Wright (1983), Otter (1994) sowie Spell et al. (2001) fanden keine Unterschiede in den Trächtigkeitsraten von qualitativ sehr guten gegenüber guten Embryonen. Abe et al. (2002) untersuchten die morphologischen Unterschiede bei bovinen Morulae exzellenter, guter, mäßiger und schlechter Qualität im Elektronenmikroskop. Es konnten auffällige ultrastrukturelle Unterschiede zwischen den verschiedenen Qualitätsstufen gesehen werden.

2.5.6 Entwicklungsstadium der Embryonen

Das embryonale Entwicklungsstadium übt einen signifikanten Einfluss auf die resultierenden Trächtigkeiten aus (Schneider et al., 1980; Wright, 1981; Donaldson, 1985; Hasler et al., 1987). Einige Studien berichten über bessere Trächtigkeitsraten bei frischen Blastozysten gegenüber Morulae (Donaldson, 1985; Hasler et al., 1987; Putney et al., 1988; Schneider et al., 1980, Wright, 1981; Hasler, 2001). Andere Studien erzielten ähnliche Trächtigkeitsraten bei Morulae und Blastozysten (Otter, 1994) bzw. eine niedrigere Trächtigkeitsrate bei expandierten Blastozysten gegenüber Morulae (Dochi et al., 1998).

Wright (1981) konnte, was die Trächtigkeitsrate betrifft, weder einen signifikanten Unterschied zwischen Morulae (44 %) und fortgeschrittenen Morulae (53 %), noch zwischen beginnenden Blastozysten, Blastozysten und späten Blastozysten nachweisen (65 %, 66 % bzw. 64 %). In einer anderen Untersuchung nahmen mit fortschreitender Entwicklung der Embryonen die Trächtigkeitsraten ab (Coleman, 1987). Hasler et al. (1987) fanden in ihren Untersuchungen bei Blastozysten (77 %) und frühen Blastozysten (75 %) signifikant höhere Trächtigkeitsraten als bei Morulae (71%), expandierten Blastozysten (70 %) und geschlüpften Blastozysten (66 %). Die Autoren halten es für möglich, dass die niedrigeren Erfolgsraten bei Morulae dadurch bedingt sind, dass mehr Morulae von mäßiger und schwacher Qualität übertragen wurden als Blastozysten in diesen Qualitätsklassen, da Morulae, die am Tag 7 oder 8 von Spendern

gewonnen wurden einen größeren Anteil an retardierten Embryonen im Vergleich zu den Blastozysten darstellten.

Andere Autoren fanden keinen signifikanten Einfluss des embryonalen Entwicklungsstadiums auf die Trächtigkeitsraten (Lindner und Wright, 1983; Spell et al., 2001).

2.5.7 Progesteronspiegel

Beim Rind, wie auch bei anderen Haustieren, beeinflusst das Progesteron (P4), welches vom Corpus luteum (C. l.) sezerniert wird, den physiologischen Status des Uterus ganz entscheidend. Es ist unabdingbar für die Entstehung und Aufrechterhaltung der Trächtigkeit.

Während der Frühträchtigkeit produziert der Embryo ein Protein, das sog. Interferon- τ , welches den Ablauf des luteolytischen Mechanismus verhindert. Die häufigste Ursache der embryonalen Mortalität liegt darin, dass der luteolytische Prozess nicht unterbunden wird. Der Embryo muss um den 16. Tag der Gravidität in der Lage sein genügend Interferon- τ zu produzieren, um die Luteolyse zu verhindern. Diese Fähigkeit ist größtenteils abhängig von der maternalen P4-Produktion. Ein später P4-Anstieg nach der Ovulation oder eine niedrige P4-Sekretion während der Lutealphase resultiert in der Entwicklung eines Embryos mit geringer oder fehlender Interferon- τ Produktion zum kritischen Zeitpunkt (Mann et al., 1999). Der Embryo wirkt der Luteolyse entgegen, indem er die Anbildung der Oxytocin-Rezeptoren an das luminale Epithel des Endometriums der Gebärmutter verhindert. Dadurch wird im Endometrium die Oxytocin-induzierte Sekretion des PGF_{2 α} unterbunden und gleichzeitig wird ein Prostaglandin-Synthase Inhibitor induziert (Thatcher et al., 1995).

P4-Bestimmungen in der Milch, die zum Zeitpunkt der Besamung entnommen wurde, zeigten, dass bei Anbindestallhaltung und schlechtem Management erfahrungsgemäß über 20 % aller Erstbesamungen im Interöstrus, d. h. bei Vorhandensein eines funktionellen Gelbkörpers, erfolgten (Grunert, 1999c). Zur Objektivierung der Brunstbeobachtung (Rattenberger und Richter, 1983), sowie des Fruchtbarkeitsstatus in der post-partum Phase (Stille Brunst, Azyklie, Gelbkörperzysten) (Elsaesser et al., 1979) erscheint der Milchprogesterontest « vor Ort » sinnvoll

zu sein (Brandes et al., 1988). Pope et al. (1969) beschreiben, dass der Plasma P4-Wert um den Ovulationszeitpunkt unter 2 ng/ml lag, unabhängig vom Auftreten von Brunstsymptomen. In einer Studie von Weigelt et al. (1988) gab es am Tag der Besamung keine signifikanten Unterschiede in der Milch P4-Konzentration von Kühen, bei denen eine embryonale Mortalität eintrat, von tragend gebliebenen Kühen und von Kühen, die im regelmäßigen Brunstzyklus umrinderten (0,8 ; 0,9 ; resp. 1,0 ng/ml).

Pope et al. (1969) berichten, dass die durchschnittlichen P4-Werte während der ersten 14 Tage nach der Brunst bei normal zyklischen Tieren sich nicht von den Werten tragender Tiere des gleichen Zeitraumes unterschieden; danach fielen die P4-Werte der normal zyklischen Tiere ab, aber nicht die der tragenden Tiere. Boyd et al. (1969) fanden am 16. Tag bei trächtigen Kühen etwas höhere Plasma P4-Konzentrationen als bei nicht trächtigen Tieren. Eine kritische Frage ist, ob der post-ovulatorische P4-Anstieg in Verbindung zum embryonalen Überleben steht (Thatcher et al., 1994). In einer Studie von Shelton et al. (1990) konnte zwischen zyklischen und trächtigen Tieren in der 6-tägigen post-ovulatorischen Periode kein Unterschied im Anstieg der P4-Werte festgestellt werden (0,05 ng/ml/h). Jedoch zeigten subfertile Kühe einen langsameren P4-Anstieg in dieser Zeit (0,03 ng/ml/h) (Shelton et al., 1990). Maurer und Echternkamp (1982) berichten, dass Kühe mit normalen Embryonen am 3. Tag nach der Brunst eine höhere Plasma P4-Konzentration aufweisen als Kühe mit einem degenerierten Embryo. Tiere bei denen eine frühe embryonale Mortalität auftrat hatten um den 12. Tag nach der Besamung niedrigere Plasma P4-Konzentrationen (Mann und Lamming, 1999). Es wird angenommen, dass sowohl der post-ovulatorische P4-Anstieg als auch die Höhe der P4-Konzentration während der Gelbkörperphase in Zusammenhang mit der embryonalen Überlebensrate stehen (Thatcher et al., 1994). Chagas e Silva et al. (2002) stellen keinen signifikanten Unterschied in der Plasma P4-Konzentration am Tag 0 und 7 zwischen später trächtigen und nicht trächtigen Empfängern fest. Dies stimmt überein mit den Ergebnissen von Hasler et al. (1980), Stubbings und Walton (1986), Kastelic et al. (1990c), Smith et al. (1996), Garcia und Salaheddine (2000), widerspricht aber den Untersuchungen von Remsen et al. (1982), Niemann et al. (1985) und King et al. (1986). Als mögliche Ursachen einer verringerten P4-Bildung können eine gestörte präovulatorische Follikelentwicklung, abnormale luteale Reifung oder zu geringe Lebensdauer des Gelbkörpers in Frage kommen (Grunert, 1999b). Die Lutealfunktion kann mehr oder weniger stark negativ

beeinträchtigt werden infolge einer IBR-Infektion oder nach Hitzestress in den Sommermonaten (Grunert, 1999b). Die maternale P4-Konzentration sollte nicht als ein absolut bestimmender Faktor der frühen Trächtigkeit angesehen werden, sondern eher als ein Faktor der den Erfolg oder Misserfolg einer Trächtigkeit beeinflusst (Mann, 2002).

Bei tragenden Kühen wird das Corpus luteum periodicum in ein C. l. graviditatis umgewandelt. Infolgedessen bleibt die P4-Konzentration im Blut bei diesen Tieren über den 20. Tag post inseminationem hinaus auf einem erhöhten Niveau. Hat dagegen keine Konzeption stattgefunden oder ist die befruchtete Eizelle vor dem 15. Tag, also vor der mütterlichen Reaktion auf die Gravidität degeneriert, so kommt es ab dem 17. Tag nach der Besamung zu einer funktionellen und morphologischen Rückbildung des C. l., so dass am 20./21. Zyklustag nur eine basale P4-Konzentration im Plasma nachweisbar ist (van der Weijden und Taverne, 1999).

Shemesh et al. (1968) untersuchten die periphere P4-Konzentration bei gepaarten und nicht gepaarten Kühen. Sie kamen dabei zu dem Ergebnis, dass eine Konzeption stattgefunden hat, wenn am 19. Tag post ovulationem eine P4-Konzentration von mehr als 3 ng/ml Plasma vorliegt. Schams et al. (1972) fanden das Maximum der P4-Konzentration am 20. und 21. Tag der Gravidität (12,0 ng/ml); danach erfolgte ein leichter Abfall des Progesteron-Gehaltes und anschließend bis zum 240. Tag eine gewisse Konstanz zwischen 5,0 und 9,0 ng/ml. Erst zwei Tage vor der Geburt kommt es zu einem Abfall auf etwa 2 ng/ml. Bei niedriger P4-Konzentration zwischen dem 19. und 21. Tag nach der Besamung ist davon auszugehen, dass das Tier nicht trächtig ist, sofern Fehler bei der Probengewinnung, Lagerung und Analyse ausgeschlossen werden können (Brandes et al., 1988). Dementsprechend ist die Zahl der Tiere, die als "nicht-tragend" bezeichnet werden, tatsächlich aber tragend sind (falsch-negative Befunde) relativ gering.

Bei hohen Progesteronwerten gibt es nach van der Weijden und Taverne (1999) hingegen verschiedene Interpretationsmöglichkeiten. Das Tier kann tragend sein (normale Gravidität) oder zur Zeit tragend sein, aber zum späteren Zeitpunkt noch resorbieren. Das Tier kann eine verzögerte Rückbildung des Gelbkörpers haben (ohne tragend zu sein oder aufgrund eines ab dem 15. Tag der Gravidität aufgetretenen frühembryonalen Fruchttodes). Darüber hinaus kann

das Tier einen verkürzten Brunstintervall haben oder es ist während der Gelbkörperphase irrtümlich besamt worden (van der Weijden und Taverne, 1999). Die genannten Gründe erklären warum häufig falsch-positive Diagnosen gestellt werden, also Tiere als tragend bezeichnet werden, die tatsächlich nicht tragend sind. Der Anteil positiver Befunde (hoher P4-Wert um den Tag 21) bei Kühen, die sich im nachhinein als nicht trächtig erwiesen haben, beträgt 15-50 % (Rattenberger und Richter, 1983 ; Franco et al., 1987; Pieterse et al., 1990a).

Die Auswertung einer großen Zahl von Studien, in denen eine P4-Supplementierung die Trächtigkeitsrate erhöhen sollte, ergab eine signifikante Verbesserung der Trächtigkeitsraten von 5 %. Die Ergebnisse waren besser, wenn die P4-Behandlung vor dem 6. Tag begann und bei Tieren deren vorherige Trächtigkeitsrate sehr niedrig war (Mann und Lamming, 1999).

2.5.8 Gelbkörperqualität

Ultraschall ist eine effiziente Technik, um die Gelbkörperregression (Quirk et al., 1986) und die Gelbkörper-Entwicklung abschnittsweise darzustellen (Kähn und Leidl, 1986 ; Pierson und Ginther, 1987a ; Kastelic und Ginther, 1989; Kastelic et al., 1990a,c ; Rajamahendran und Taylor, 1990; Singh et al., 1997). Mit Hilfe der Ultraschalluntersuchung konnte in mehreren Studien eine signifikante Korrelation zwischen der Gelbkörpergröße und der Plasma P4-Konzentration nachgewiesen werden (Quirk et al., 1986; Kastelic et al., 1990c; Rajamahendran und Taylor, 1990; Ribadu et al., 1994; Singh et al., 1997). Grygar et al. (1997) stellten fest, dass die periphere P4-Konzentration im Blut unabhängig war vom Gesamtvolumen des Gelbkörpergewebes. Nach Weber (1994) erlaubt die palpatorische bzw. ultrasonographische C. l.-Beurteilung vor dem Embryotransfer keine differenzierten Aussagen über die sekretorische Gelbkörperaktivität des Rezipienten.

Kastelic et al. (1990c) berichten, dass die Gelbkörpergewebefläche sowie die Plasma P4-Konzentration an den Tagen 2, 5, 8 und 11 gleichermaßen bei trächtigen und nicht trächtigen Färsen anstieg, wobei die Anstiegsrate 12 bis 13 % des Maximums / Tag betrug. An den Tagen 14 bis 20 gab es signifikante Unterschiede in der Gelbkörpergewebefläche sowie in der Plasma P4-Konzentration bei tragenden und nicht tragenden Tieren.

Bei nicht trächtigen gegenüber trächtigen Färsen sanken die Gelbkörpergewebefläche und die Plasma P4-Konzentration erstmals signifikant in den Tagen -6 bis -4 in Bezug zur nächsten Ovulation ab. Dabei sank die Plasma P4-Konzentration schneller als die Gelbkörpergewebefläche (28 % des Maximums / Tag) (Kastelic et al., 1990c). Ribadu et al. (1994) diagnostizierten ab dem Tag -3 und -2 in Bezug zur nächsten Brunst eine Gelbkörpergröße die der Ausprägung während der Zyklusmitte entspricht, jedoch lag der Plasma P4-Wert unter 0,5 ng/ml.

Vergleichende Untersuchungen über die Größenentwicklung von Corpora lutea mit und ohne Hohlraum, sowie die gleichzeitige P4-Bestimmung im Plasma wurden erstmals bei graviden Rindern von Kito et al. (1986) bzw. bei zyklischen Kalbinnen von Kähn (1986) durchgeführt. Auch andere Autoren konnten keine signifikanten Unterschiede der peripheren P4-Konzentration zwischen Gelbkörpern mit und ohne Hohlraum feststellen (Kastelic et al., 1990c; Garcia und Salaheddine, 2000). Demgegenüber steht eine Untersuchung von Grygar et al. (1997) die belegt, dass die periphere P4-Konzentration bei trächtigen Kühen mit einem Gelbkörper mit Hohlraum höher war als bei trächtigen Kühen mit einem kompakten Corpus luteum. Bei Färsen, die einen sehr großen flüssigkeitsgefüllten Hohlraum aufwiesen und dazu einen sehr schmalen Rand aus Gelbkörpergewebe, kam keine Trächtigkeit zustande. Es ist unklar ob es sich in diesen Fällen um einen Gelbkörper mit großem flüssigkeitsgefülltem Hohlraum handelt oder um einen luteinisierten Follikel, da die Ovulation nicht mit Ultraschall kontrolliert wurde (Garcia und Salaheddine, 2000).

Kastelic et al. (1990c) sind der Meinung, dass die Ultraschalluntersuchung der Gelbkörper eine entsprechende Alternative zur Bestimmung der peripheren Progesteronwerte in der Ermittlung der Gelbkörperfunktion bei Holstein-Frisien Färsen darstellt. Weber (1994) und Max et al. (1997) dagegen geben zu bedenken, dass letztendlich durch die Sonographie doch nur das Vorhandensein, nicht aber die endokrine Aktivität des Corpus luteum erfasst werden kann.

2.6 Embryonale Mortalität

2.6.1 Definition und Einteilung

Auf Vorschlag des Committee on Bovine Reproductive Nomenclature (1972) wird die Periode vom Tag der Konzeption bis zum Stadium der Differenzierung, das bei der Kuh ungefähr um den 45. Tag post conceptionem erreicht ist, als Embryonalperiode und Fruchtverluste während dieses Entwicklungsabschnittes als embryonale Mortalität bezeichnet.

Hanzen et al. (1999) teilen den Zeitpunkt des Vorkommens der embryonalen Mortalität klinisch gesehen in zwei Abschnitte ein: die Periode der frühen embryonalen Mortalität und die Periode der späten embryonalen Mortalität. Die frühe embryonale Mortalität ist klinisch nicht zu diagnostizieren und dauert in etwa bis zum 20. Trächtigkeitstag. Die späte embryonale Mortalität lässt sich anhand der gleichen Methoden untersuchen mit der auch die Trächtigkeitsdiagnose erfolgt wie z. B. Ultraschall, Hormonanalysen (Progesteron, bovine Pregnancy-Specific Protein B, bovine Pregnancy-Associated Glycoprotein 1) oder die rektale Untersuchung (Szenci et al., 2000).

2.6.2 Diagnose und Vorkommen der embryonalen Mortalität

Auf Absterben und Resorption des Embryos kann innerhalb des ersten Graviditätsmonates nur indirekt geschlossen werden, da dieser Vorgang ohne besondere klinische Symptome verläuft (Baier, 1965). Wiederholtes Umrindern und Zyklusverlängerungen – man spricht von Problem- oder Repeat-Breeder-Kühen – werden als mögliche Anzeichen eines eingetretenen embryonalen Fruchttodes gewertet (Baier und Rüsse, 1968).

Die ersten Versuche zur Feststellung des Vorkommens der embryonalen Mortalität wurden durchgeführt, indem Tiere zu bestimmten Zeitpunkten nach der Fertilisation geschlachtet und die Oozyten bzw. Embryonen ausgezählt und beurteilt wurden. Auf diese Weise konnten Befruchtungsraten nach künstlicher oder natürlicher Besamung von 71 bis 100 % diagnostiziert werden (Ayalon, 1978; Diskin und Sreenan, 1980; Roche et al., 1981; Linares, 1981; Maurer und

Chenault, 1983; Dunne et al., 2000). Der Verlust infolge embryonaler Mortalität wurde in einer Studie von Boyd et al. (1969) zwischen dem 9. und 26. Trächtigkeitstag mit 15 % angegeben. Baier und Rüsse (1968) diagnostizierten aufgrund eines makroskopischen Nachweises von Eihäuten und Embryonen geschlachteter Muttertiere in der 2. Hälfte des ersten Graviditätsmonats eine embryonale Mortalität von 29,2 %. In einer Studie von Dunne et al. (2000) an 47 Färsen die am 14. Tag nach der Besamung laparotomiert wurden konnten 32 (68 %) normal entwickelte Embryonen gewonnen werden, so dass die embryonale Mortalität bis zum 14. Tag bei 22 % lag. Weitere Untersuchungen stellten aufgrund von Eileiterspülungen bzw. Schlachtungen fest, dass bei geschlechtsgesunden Färsen und Kühen 20 bis 30 % der Embryonen bereits vor dem 16. Tag der Gravidität absterben (Diskin und Sreenan, 1980 ; Roche et al., 1981), wohingegen bei Repeat-Breeder-Kühen der kritische Zeitpunkt um den 6./7. Trächtigkeitstag liegt (Baier, 1965 ; Ayalon, 1981 ; Altino Pires de Almeida, 1995). Aurich (1999) beschreibt, dass die Phasen in denen es häufig zum Absterben des Embryos kommt, der Übergang von der Morula zur Blastozyste (6./7. Tag nach der Konzeption), das Stadium der maternalen Erkennung der Trächtigkeit (12.-16. Tag der Trächtigkeit), sowie der Beginn der Implantation ab der 3. Woche post conceptionem sind.

Mit Hilfe von Progesteronbestimmungen kann der Anteil embryonaler Mortalität in der Herde indirekt genauer ermittelt werden. Tiere die am 21. Tag post inseminationem hohe P4-Werte aufweisen, sind zu diesem Zeitpunkt vermutlich tragend. Wenn diese Verdachtsdiagnose zu einem späteren Zeitpunkt nicht bestätigt werden kann, deutet dies auf ein Absterben der Frucht hin (Berger, 1990).

Mehrere Untersuchungen zur embryonalen/fetalen Mortalität anhand der rektalen Palpation (Abbit et al., 1978; Vaillencourt et al., 1979; Franco et al., 1987; Weigelt et al., 1988; Humblot, 2001) ergaben, dass nach positiver Trächtigkeitsdiagnose zwischen dem 30. und 60. Tag nach der Besamung 5-15 % der Tiere sich nachträglich als nicht trächtig erwiesen. Wathes (1992) schätzt die nach der Implantation zwischen dem 30. und 70. Tag der Trächtigkeit auftretenden Embryonenverluste auf 10 %.

Eine große Bedeutung in der Diagnose der embryonalen Mortalität hat die Ultraschalluntersuchung. Ab dem 28. Tag nach der Besamung kann der Konzeptus mit Herzschlag eindeutig mittels Ultraschall dargestellt werden. Tritt der Fruchttod nach dem 28. Tag post conceptionem auf, kann dieser u. a. anhand der verminderten Fruchtblüssigkeit, dem retardierten Wachstum oder dem fehlenden Herzschlag sonographisch am Einzeltier erfasst werden (Pierson und Ginther 1984b; Curran et al., 1986b; Kastelic und Ginther, 1989; Kähn, 1991). Mehrere Studien, die innerhalb dem 1. und 3. Trächtigkeitmonat erfolgten, konnten in diesem Zeitraum eine embryonale Mortalität zwischen 5 und 30 % nachweisen (Kastelic und Ginther., 1991b; Chaffaux et al., 1986; Hanzen und Laurent, 1991; Dunne et al., 2000; López-Gatius et al., 2002).

Aus einer Untersuchung mehrerer Studien über das Vorkommen fetaler Verluste ermittelten Forar et al. (1995) eine Abortrate von 0,4 % bis 10,6 %. Bei den Studien, bei denen ausschließlich beobachtete Aborte berücksichtigt wurden, lag die mittlere Abortrate bei 1,95 % und in den Studien, in denen beobachtete und unbeobachtete Aborte berücksichtigt wurden, lag die mittlere Abortrate bei 6,5 % (Forar et al., 1995). Szenci et al. (1998) stellten bei Kühen eine späte embryonale Mortalität von 8,6 % fest. In einer Studie von Dunne et al. (2000) starben ab dem 30. Trächtigkeitstag bis zur Kalbung weitere 4,2 % ab. Allgemein geht man in der Literatur von einer Abkalberate nach einmaliger künstlicher Besamung von etwa 50 % aus.

2.6.3 Ursachen für eine embryonale Mortalität

Vanroose et al. (2000) teilt die Ursachen der embryonalen Mortalität in infektiöse und nicht-infektiöse Ursachen ein. Dabei sind die nicht-infektiösen Einflüsse zu 70 % am Entstehen einer embryonalen Mortalität beteiligt. Nicht-infektiöse Ursachen für einen embryonalen Fruchttod sind z. B. Chromosomenanomalien, verschiedene externe Faktoren (hohe Umgebungstemperaturen, Futtermittelintoxikationen) bzw. maternale Faktoren (Hormonimbalancen oder Alter). Diese multifaktoriellen Einflüsse sind schwierig zu diagnostizieren (Vanroose et al., 2000). In seltenen Fällen kann eine primäre Gelbkörperinsuffizienz mit einer mangelnden Progesteronproduktion zur embryonalen Mortalität führen (Wathes, 1992 ; Mann et al., 1998).

2.6.4 Klinik der embryonalen Mortalität

Kastelic und Ginther (1989) fanden heraus, dass zum einen ein embryonaler Verlust nach einer Luteolyse durch einen schnellen Verlust der frischen Frucht gekennzeichnet ist, zum anderen ein embryonaler Verlust mit erhaltenem Corpus luteum, durch die Retention einer degenerierten Frucht und deren Hüllen begleitet wird und dass die Frucht mit den Hüllen eher durch die Zervix ausgeschieden, als im Uterus resorbiert wird. Andere Autoren berichten, dass wenn der Embryo nach der maternalen Erkennung der Trächtigkeit abstirbt, die Fruchtwässer, der Embryo und zuletzt die Fruchthüllen resorbiert werden (Kastelic et al., 1991c; Aurich, 1999; Humblot, 2001). Erfolgen das Absterben des Embryos und die Rückbildung des Gelbkörpers vor dem 14. Tag der Gravidität, rindern die Tiere nach einem normalen Brunstintervall um (Baier, 1965; Hansel et al., 1973; Aurich, 1999; Hanzen et al., 1999), erfolgt das Absterben allerdings danach, kommt es zu einem unregelmäßig verlängerten Brunstintervall (Aurich, 1999).

3 MATERIAL UND METHODE

3.1 Versuchszeitraum

Die Einarbeitung mit dem Ultraschallgerät erfolgte in den Monaten März und April 2000 und die praktischen Untersuchungen wurden von Mai 2000 bis Dezember 2000 durchgeführt. Die Einarbeitung fand in der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik der LMU München statt.

3.2 Versuchsbetriebe und Tiere

Die praktischen Untersuchungen dieser Arbeit wurden auf 24 landwirtschaftlichen Betrieben im Besamungsgebiet des Besamungsvereins Neustadt a. d. Aisch e.V. und auf 3 Betrieben im Besamungsgebiet der Rinderunion Baden-Württemberg e.V. durchgeführt. Die Untersuchung der Empfängertiere erfolgte ausschließlich im Rahmen der kommerziellen Embryotransferprogramme der beiden genannten Besamungsstationen. Von 290 synchronisierten Empfängertieren wurden 257 Tiere zur Brunst (= Tag 0) und davon 224 Tiere am Tag 7 untersucht. Bei 200 Empfängertieren, denen ein Embryo übertragen wurde, erfolgten weitere Untersuchungen am Tag 21, 35 und 49. Die Anzahl der auf einem Betrieb untersuchten Empfängertiere lag zwischen zwei und 77 Tieren. Auf Empfängertiere, die im Rahmen von Zuchtprogrammen genutzt wurden, wurden überwiegend frische Embryonen (n = 104) übertragen und auf die Empfängertiere, die als Serviceleistung der Besamungsvereine dienten, wurden überwiegend tiefgefrorene/aufgetaute Embryonen (n = 96) übertragen.

Die Empfängertiere wurden in 4 verschiedenen Stallformen gehalten :

- Laufstall mit Liegeboxen,
- Anbindestall,
- Buchten mit Spaltenboden,
- Buchten mit Stroh.

Es wurden sowohl Jungrinder (n = 223) als auch unipaare (n = 38) und multipaare Kühe (n = 29) als Empfängertiere untersucht.

Der überwiegende Teil der Tiere gehörte der Rasse Deutsches Fleckvieh (n = 196) an, ein kleinerer Teil der Rasse Deutsch Schwarzbunte (n = 94).

3.3 Untersuchungstermine

Die Untersuchung der Empfängertiere erfolgte an folgenden Tagen:

Tag 0	Tag 6/7	Tag 20/21	± Tag 35
Brunstbeobachtung, Plasmaproben-gewinnung zur P4-Bestimmung.	US-Untersuchung der Ovarien : <ul style="list-style-type: none"> • Corpus luteum • Größter und 2größter Follikel Plasmaproben-gewinnung zur P4-Bestimmung.	Brunstbeobachtung, US-Untersuchung der Ovarien : <ul style="list-style-type: none"> • Corpus luteum • Größter und 2größter Follikel Plasmaproben-gewinnung zur P4-Bestimmung.	Trächtigkeits-untersuchung mit US.

3.4 Vorbereitung der Empfängertiere

Die Auswahl der Empfängertiere zur Synchronisation erfolgte einerseits durch den jeweiligen Landwirt für den der Embryotransfer durchgeführt wurde, andererseits durch die Besamungsstation, sofern die Empfängertiere zum Verkauf bestimmt waren. Es wurde darauf geachtet, dass die Empfängertiere frei von pathologischen Veränderungen des Genitaltraktes waren und dass sie ein gutes Allgemeinbefinden zeigten.

3.4.1 Synchronisation

Die Synchronisation der Empfängertiere kann in drei Gruppen eingeteilt werden.

Die Synchronisation der Empfänger durch eine einmalige Injektion von 500 µg Cloprostenol (2 ml, Estrumate[®], Fa. ESSEX) (n = 163) erfolgte bei 21 Empfängertieren zwischen dem 5 ten und 15ten Zyklustag und bei den restlichen 142 Empfängertieren ohne Kenntnis des Zyklustages. Die Empfängerkühe wurden 9,5 Tage (abends) und die Empfängerrinder 9 Tage (morgens) vor dem geplanten Embryotransfer-Termin ohne vorherige gynäkologische Untersuchung synchronisiert.

Die Synchronisation der Empfänger durch eine zweimalige Injektion von jeweils 500 µg Cloprostenol (2 ml, Estrumate[®], Fa. ESSEX) (n = 94) wurde im Abstand von 11 Tagen durchgeführt.

Ohne jegliche Vorbehandlung wurden auch solche Empfänger zum Transfer genutzt, die zufällig in einem Intervall von – 48 h bis + 48 h mit den Spendern in natürlicher Brunst waren und die aufgrund ihres gynäkologischen Befundes unmittelbar vor dem Transfer als Empfänger geeignet schienen (n = 33).

3.4.2 Blutprobengewinnung, –aufbereitung und Progesteronbestimmung

Die für die Progesteronbestimmung notwendige Blutentnahme erfolgte durch Punktion der V. bzw. A. coccygealis mediana. In einzelnen Fällen, wenn die Entnahme am Schwanz nicht

möglich war, erfolgte die Punktion der V. jugularis externa. Für die Punktion dienten EDTA-Vacutainerröhrchen (Fa. Greiner) mit dem dazu konzipierten Entnahmesystem.

Die Plasmaproben wurden nach der Entnahme mit Hilfe einer Tischzentrifuge (Fa. Hettich) während 15 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert. Das überstehende Plasma wurde aliquotiert und in Eppendorf-Gefäße zu je 2 x 2 ml bei – 20 °C eingefroren. Jede Probe wurde mit einer laufenden Nummer, dem Untersuchungstag sowie dem Buchstaben a oder b gekennzeichnet. Die vergebenen Nummern wurden auf einem vorgefertigten Befundbogen dokumentiert (Anhang 1, 2, 3). Die Blutprobenentnahme erfolgte je Empfängertier dreimal; zunächst bei der Brunstbeobachtung (= Tag 0) (n = 246), vor dem Embryotransfer (Tag 6/7) (n = 224) und am Tag des voraussichtlichen Brunsttermins nach dem Transfer (Tag 20/21) (n = 199). Bei der letzten Untersuchung auf dem jeweiligen Betrieb wurden die Proben eingesammelt und in einer Tiefkühlbox bei – 5 °C zur Besamungsstation transportiert, wo sie wieder bei –20 °C gelagert wurden.

Das in der Arbeit angewendete Bestimmungsverfahren für Progesteron bediente sich der Methode des kompetitiven Enzymimmuntests unter Verwendung der Doppelantikörpertechnik (Prakash et al., 1987). Hierbei konkurrieren eine konstante Menge an enzymmarkiertem Hormon (Marker; P4-3-CMO-HRP) mit nativem, nicht markiertem Hormon aus der Probe um eine limitierte, konstante Anzahl an jeweils hormonspezifischen Bindungsstellen eines monoklonalen Antikörpers (AK1; Antigen: Progesteron-7- α -BSA). Dieser Antikörper wird durch einen zweiten, fest an die Mikrotiterplatte gebundenen Antikörper (AK2; IgG-Schaf-Anti-IgG-Ratte) vollständig fixiert. Die kompetitive Immunreaktion von markiertem und nativem Hormon um die Bindungsstellen des hormonspezifischen Antikörpers finden gleichzeitig mit der Fixierung des AK1 an den AK2 während der Inkubation statt. Nach der Gleichgewichtseinstellung und der Entfernung von nichtgebundenem Marker wird mittels quantitativer photometrischer Bestimmung einer durch das Enzym katalysierten Farbreaktion die Menge an unmarkiertem, nativem Hormon in der Probe berechnet. Die photometrische Messung erfolgte bei einer Wellenlänge von 450 nm. Die Gesamttestvariation (Inter- und Intraassay Variation) betrug < 10 %.

Zur Festlegung der Aktivität eines Gelbkörpers galten Progesteronwerte < 1 ng/ml als niedrig (inaktiv) und > 1 ng/ml als hoch (aktiv).

3.4.3 Brunstbeobachtung

Die gezielte Brunstbeobachtung erfolgte bei den Kühen 2,5 Tage und bei den Rindern 2 Tage nach der letzten Prostaglandin-Gabe. Zuerst wurden die äußeren Brunstsymptome adspektorisch erfasst und anschließend erfolgte eine rektale Untersuchung um die Kontraktionsbereitschaft des Uterus sowie die Menge und die Beschaffenheit des Brunstschleimes zu beurteilen. Die erhobenen Befunde wurden auf einem vorgefertigten Befundbogen (Anhang 1) dokumentiert.

Für die einzelnen Kategorien waren folgende Kriterien maßgebend :

Deutliche Brunst : deutliche äußere Brunstsymptome mit fadenziehendem Schleim und mittel-bis hochgradiger Uteruskontraktion.

Undeutliche Brunst : Brunstsymptome schwächer ausgeprägt und ohne Schleimabsonderung.

Keine Brunst : Keine äußeren Brunstsymptome, keine Schleimabsonderung und keine Uteruskontraktion.

Falls keine deutlichen Brunstsymptome ausgebildet waren, wurde die Brunstbeobachtung durch den Landwirt fortgesetzt um das Brunstdatum jedes Tieres festzuhalten (Anhang 5).

Die Brunstbeobachtung am Tag 21 diente der frühestmöglichen Erfassung derjenigen Empfängertiere, die nicht trächtig waren.

3.4.4 Manuelle Palpation und Bewertung der Corpora lutea

Die manuelle Klassifizierung der Corpora lutea der Empfängertiere erfolgte am Tag der Embryonenübertragung durch einen Tierarzt oder einen Besamungstechniker der beiden Besamungsstationen. Bei der palpatorischen Untersuchung der Ovarien wurde das

Vorhandensein eines Corpus luteum und das Freisein von Zysten überprüft. Ein Punkte-Schema von 0 bis 3 diente zur Bewertung der Gelbkörperqualität (Tab. 1), wobei in 0,5-Punkte Schritten vorgegangen wurde.

Tab. 1 : Subjektives Bewertungsschema der palpatorisch diagnostizierten Corpora lutea :

Punktzahl	
0	Corpus luteum nicht vorhanden
1	Sehr kleines Corpus luteum in Anbildung
2	Gut palpierbares Corpus luteum, weicher Konsistenz
3	Deutlich ausgeprägtes Corpus luteum, weiche bis feste Konsistenz

Für die Auswahl der Empfänger zum Embryotransfer war letztlich die Gelbkörperbeurteilung entscheidend, wobei die vorausgegangenen Brunstbeobachtungen als ergänzende Information herangezogen wurden.

3.5 Ultraschalluntersuchung

3.5.1 Ultraschallgerät

Die Ultraschalluntersuchungen wurden mit dem Gerät SONO ACE 600[®] (Fa. Kretztechnik) und einer 7,5 MHz-Linearsonde durchgeführt. Der Scanner SONO ACE 600[®] ist ein tragbares Gerät, welches sowohl für den Netz- als auch Batteriebetrieb ausgerichtet ist. Die Untersuchungen dieser Arbeit wurden ausschließlich mit Netzbetrieb durchgeführt, wobei das Ultraschallgerät als auch der Videorekorder in einem Schubkarren plaziert wurden und auf diese Weise sicher innerhalb des Stalles transportiert werden konnten. Der Monitor des Gerätes ermöglichte das Ablesen der Befunde aus einer Distanz von etwa 1,5 m.

Zur Untersuchung befand sich der Schallkopf in einem mit Ultraschallgel gefüllten Finger eines Einmalhandschuhs, wie er zur rektalen Untersuchung verwendet wird. Es wurde darauf geachtet, dass die Einstellungen des Gerätes im gesamten Untersuchungszeitraum nicht verändert wurden.

3.5.2 Untersuchungstechnik

Während der Ultraschalluntersuchung wurden die Tiere zum Schutz des Gerätes und des Untersuchers entweder im Selbstfanggitter oder in den Liegeboxen fixiert. Nach gründlicher Entleerung des Rektums erfolgte eine manuelle Kontrolle des inneren Genitaltraktes. Der Uterus wurde im Becken versammelt und die Eierstöcke wurden lokalisiert. Anschließend wurde der Schallkopf unter manueller Kontrolle in das Rektum eingeführt und über dem Uterus plziert.

Zunächst wurde das rechte Ovar, dann das linke Ovar, anschließend die beiden Uterushörner untersucht. Beide Ovarien wurden mehrmals in mediolateraler und lateromedialer Richtung mit dem Schallkopf umfahren. Dazu lag der Schallkopf zwischen den zugespitzten Fingern und das Ovar wurde mit dem Zeigefinger und dem kleinen Finger seitlich begrenzt.

3.5.3 Untersuchungstermine

Die Ultraschalluntersuchung erfolgte am Tag 7 im Anschluss an die manuelle Klassifizierung der Gelbkörper, sofern frische Embryonen übertragen wurden (Anhang 2). Beim Transfer von tiefgefrorenen/aufgetauten Embryonen wurden die Tiere schon am Tag vorher untersucht, da das Auftauen von Tiefgefrierembryonen nur sehr wenig Zeit beanspruchte und eine vorherige Ultraschalluntersuchung nicht ermöglichte. Untersucht wurden beide Ovarien mit den darauf befindlichen Funktionskörpern. Der Gelbkörper sowie der größte und zweitgrößte Follikel wurden in ihrem größten Durchmesser beurteilt.

Die Ultraschalluntersuchung am Tag 21 diente der Erfassung von Größenveränderungen an den Funktionsgebilden, im Vergleich zur Tag 7 Untersuchung. Die Befunde der Ultraschalluntersuchung sowie der Brunstbeobachtung wurden, wie bei den beiden vorherigen Untersuchungen, in einem vorgefertigten Befundbogen festgehalten (Anhang 3). Das Tier galt als

tragend, wenn keine Regression des Gelbkörpers festgestellt werden konnte, wenn keine sichtbaren Brunstsymptome vorlagen und der Plasmaprogesteronwert > 1 ng/ml lag.

Die Ultraschalluntersuchung am Tag 35 diente der Trächtigkeitsdiagnose um ein Absterben der Frucht zu erfassen (Anhang 4). Bevor die beiden Uterushörner untersucht wurden, wurde kurz das Vorhandensein sowie gegebenenfalls die Lokalisation des Corpus luteum überprüft. Die beiden Uterushörner wurden auf den Inhalt von Fruchtwasser untersucht und der Fetus wurde lokalisiert. Da die Versuche im Rahmen des kommerziellen Embryotransfers der beiden Besamungsstationen durchgeführt wurden, wurde darauf geachtet, dass die Stressbelastung der Tiere so gering wie möglich war. Ein Tier galt als tragend, wenn im Innern des Uterushornes Flüssigkeit und ein Embryo diagnostiziert wurden. Keinesfalls erfolgte bei Ausschluss der Trächtigkeit eine Brunsteinleitung, sondern alle Empfänger wurden am Tag 49 vom Hoftierarzt respektiv Besamungstechniker nachuntersucht und das Trächtigkeitsergebnis wurde telefonisch erfragt. Falls keine Trächtigkeit diagnostiziert wurde, wurde das Brunstdatum vom Landwirt erfragt, sofern eine Brunst beobachtet werden konnte.

3.5.4 Videoaufnahmen

Um die Ultraschalluntersuchung so kurz wie möglich zu halten, wurde die Untersuchung auf einem S-VHS-Videorekorder (S-VHS-Video-Cassetten-Rekorder AG-7330[®], Fa. Panasonic), der an das Ultraschallgerät angeschlossen war, komplett aufgezeichnet.

3.5.5 Auswertung der Bilder

Zur Auswertung der Ultraschallbilder wurde die gesuchte Videosequenz an einem Fernsehmonitor (Fa. Panasonic) betrachtet. Das Videoband wurde gestoppt, sobald ein Funktionsgebilde mit seinem größten Durchmesser abgebildet war. Diese Aufnahme wurde in das Bildverarbeitungsprogramm (NIH-Image 1.60[®], 1996) eines Apple MacIntosh[®]-Computers eingelesen und mit einem speziell programmierten Makro ausgewertet.

3.5.6 Größenmessungen

Zur Bestimmung der Länge und Breite der Funktionsgebilde wurden deren größter Durchmesser und der Durchmesser senkrecht dazu berechnet, indem die Pixel der Abbildung ausgezählt wurden. Anschließend wurden die beiden Werte als Durchmesser des Follikels gemittelt. Zur Bestimmung der Fläche des größten Querschnittes durch das Funktionsgebilde wurde eine "region of interest" markiert. Sie schloss den Umriss des Funktionsgebildes ein. Auch hier wurde die Anzahl der Pixel, welche die Fläche ausmachen, berechnet. Die Pixel wurden anschließend in Millimeter bzw. Quadratmillimeter umgerechnet, indem die Pixelzahl einer bekannten Strecke (4 cm bzw. 4 cm²) bestimmt wurde. Das Corpus luteum sowie der größte und zweitgrößte Follikel, wurden ausgemessen.

Zur Bestimmung der Fläche des Hormon produzierenden Gewebes des Corpus luteum wurde die Fläche eines Gelbkörperhohlraums von der Gesamtfläche des Corpus luteum abgezogen.

3.6 Auswahl der Empfängertiere und der Embryonen

3.6.1 Auswahl der Empfängertiere

Die Auswahl der Empfängertiere erfolgte unmittelbar vor dem Transfer der Embryonen unter Berücksichtigung der Gelbkörperbewertung und der Brunstdaten der Empfängertiere.

Dabei wurde darauf geachtet, dass die nach morphologischen Kriterien besten Embryonen auf die besten Empfänger und weniger gute Embryonen auf die restlichen Empfänger übertragen wurden. Falls genügend Empfänger zur Verfügung standen, wurden auch Embryonen schlechter Qualität auf gute Empfängertiere übertragen. Aus diesem Grunde ist es wichtig, bei jeder Spülung eine ausreichende Zahl Empfängertiere zu synchronisieren.

3.6.2 Klassifizierung und Auswahl der Embryonen

3.6.2.1 Frische Embryonen

Die Beurteilung des Entwicklungsstandes und der Qualität der Embryonen erfolgte ausschließlich nach morphologischen Kriterien mit Hilfe eines Stereomikroskops bei 30-60-facher Vergrößerung.

Die qualitative Beschreibung der Embryonen ist in folgende 6 Klassen zusammengefasst:

- Klasse 1: Sphärisch runde und intakte Zona pellucida mit scharf strukturiertem Zellverband und Zellen gleicher Größe.
- Klasse 2: Sphärisch runde bis leicht ellipsoide, intakte Zona pellucida, mit einzelnen aus dem sonst intakten Zellverband ausgeschleusten Blastomeren.
- Klasse 3: Intakte oder beschädigte Zona pellucida mit unterschiedlichen morphologischen Abweichungen der Blastomeren und des Zellverbandes mit 30 bis 60 % intakten Blastomeren; geringgradig verzögerte Entwicklungsstadien (32-Zeller).
- Klasse 4: Intakte oder beschädigte Zona pellucida mit erheblich degenerierten Zellen des z. T. losen Zellverbandes und weniger als 30 % intakten Blastomeren; verzögerte Entwicklungsstadien mit großen Blastomeren (16- bis 32-Zeller).
- Klasse 5: In Auflösung befindlicher Zellverband in meist intakter Zona pellucida, mit unterschiedlich großen, oft pyknotisch erscheinenden Blastomeren, wie auch in der Entwicklung stehengebliebenen Teilungsstadien (2-, 4- und 8- bis 16-Zeller).
- Klasse 6 : Befruchtete wie unbefruchtete, ungeteilte Eizellen mit meist intakter bis sphärisch veränderter Zona pellucida.

Zur Aufbewahrung der Embryonen, die frisch übertragen werden sollten, diente Dulbecco's PBS (Phosphate Buffered Saline) der Fa. Biochrom, dem 15 % FCS (Fetale Calf Serum) der Fa. Biochrom zugesetzt wurde. Das Uhrglas mit dem Kulturmedium und den Embryonen befand sich

bis zum Aufziehen der Embryonen auf einer Wärmeplatte, um ein Abkühlen zu verhindern. Unmittelbar vor dem Transfer wurden die Embryonen in 0,25 ml Minipailletten (Fa. IMV) aufgezogen, wobei der Embryo in der mittleren Fraktion, seitlich begrenzt von jeweils einer Luftblase und einer weiteren Flüssigkeitsfraktion, plaziert wurde. Der Transfer erfolgte bis auf Ausnahmen innerhalb von 5 Stunden nach der Spülung.

War die Zahl der Embryonen größer als die Zahl der vorbereiteten Empfängertiere, mussten die überzähligen Embryonen eingefroren werden. Zum Einfrieren wurden Embryonen der Klasse 1 und 2 verwendet, die sich im Stadium der Morulae bzw. beginnende Blastozyste befanden. Expandierte Blastozysten wurden bevorzugt frisch übertragen und nur im Falle ungenügender Empfängertieranzahl eingefroren.

3.6.2.2 Tiefgefrorene/Aufgetaute Embryonen

Ein Teil der Embryonen wurde mit Ethylenglykol (EG) (n = 42) und ein Teil mit Glycerin (G) (n = 54) als Gefrierschutzmittel eingefroren. Die unterschiedliche Einfriermethode lag daran, dass die Gefrierembryonen von unterschiedlichen Besamungsstationen stammten. Das Auftauen der eingefrorenen Embryonen erfolgte unabhängig von der Einfriermethode für 10 sec. bei Raumtemperatur und 15 sec. in 30 °C warmem Wasser. Die in Glycerin eingefrorenen Embryonen wurden in 4 Schritten ausverdünnt :

1. 6,6 % Glycerin in PBS + 0,3 molare Sucrose/PBS,
2. 3,3 % Glycerin in PBS + 0,3 molare Sucrose/PBS,
3. 0,3 molare Sucrose/PBS,
4. PBS Kulturmedium.

Jeder der vier Schritte benötigt eine etwa 5-7minütige Äquilibrierungszeit. Die Embryonen wurden auf Empfängertiere der Punktzahl 1,5 bis 3 übertragen.

3.7 Transfer der Embryonen

Die Übertragung der Embryonen, durch einen Tierarzt oder einen Besamungstechniker, erfolgte mit einem vorgewärmten Transfergerät (Fa. Wörrlein), das mit einer Plastikhülle umgeben war. Diese verhinderte eine Kontamination des Transfergerätes innerhalb der Scheide.

Die Empfängertiere wurden zum Übertragen der Embryonen gleichermaßen fixiert wie zur Ultraschalluntersuchung, d.h. ein Helfer stand seitlich am Tier zur Fixierung. Es wurde kein Uterusrelaxans verabreicht.

Bevor das Transfergerät in die Scheide eingeführt wurde, wurden die Schamlippen mit sauberem Papier gründlich gereinigt. Unmittelbar vor der Zervix wurde die Plastikhülle von einem Helfer zurückgezogen und das Gerät durch den Gebärmutterkörper in das zum Gelbkörper korrespondierende Gebärmutterhorn eingeführt. Der Embryo wurde möglichst weit cranial im Gebärmutterhorn abgelegt, wobei aber darauf geachtet wurde, dass die Gebärmutterhornspitze unberührt blieb.

3.8 Statistische Auswertungen

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe der Programme Microsoft Excel 2000[®] (Fa. Microsoft Inc.) und SAS[®] (Fa. Statistical Analysis System Institute Inc. 1985) unter dem Betriebssystem Windows NT[®] (Fa. Microsoft). Es wurde Mittelwert, Standardabweichung, Minimum und Maximum, Varianzanalyse (lineares Modell), Regression und Korrelation berechnet. Als signifikant wurden Irrtumswahrscheinlichkeiten von $p < 0,05$ angesehen.

4 ERGEBNISSE

Im Zeitraum vom 19. Mai bis 20. Dezember 2000 wurden 290 Empfängertiere des Besamungsvereins Neustadt an der Aisch e.V. sowie der Rinderunion Baden-Württemberg e.V. in Herbertingen im Rahmen des kommerziellen Embryotransfers untersucht. Bei 257 synchronisierten Tieren erfolgte eine Brunstuntersuchung und 33 Empfänger zeigten eine spontane Brunst. Bei 200 Empfängern, denen ein Embryo übertragen wurde, erfolgte am Tag des Embryotransfers und am Zyklustag 21 eine ultrasonographische Untersuchung der Ovarien und am Zyklustag 35 eine Trächtigkeitsuntersuchung. An den Untersuchungstagen 0, 7 und 21 wurde eine Blutprobe gezogen, deren Plasmaprogesteiongehalt nachträglich bestimmt wurde.

4.1 Synchronisationsergebnisse

Die Synchronisation erfolgte bei 163 Tieren durch eine einmalige und bei 94 Tieren durch eine doppelte Prostaglandininjektion. Bei diesen Tieren wurden zum voraussichtlichen Brunsttermin die Brunstsymptome untersucht und der Plasmaprogesteiongehalt bestimmt.

Aus praktischen Gründen erfolgte nur eine einmalige Blutprobengewinnung die bei den Kühen ± 60 h und bei den Rindern ± 48 h nach der letzten Prostaglandininjektion stattfand. Anschließend wurden die Brunstsymptome erfasst (= Tag 0), die aber durch die Beobachtungen des jeweiligen Landwirten in den folgenden Stunden noch ergänzt wurden. Bei den Tieren mit spontaner Brunst konnte größtenteils keine Blutprobe gewonnen werden, da diese Tiere zum Untersuchungszeitpunkt noch nicht gemeldet waren.

4.1.1 Brunstausprägung und Plasmaprogesteionwert

Die Empfänger wurden bezüglich der Brunstausprägung nach deutlich sichtbaren, fraglichen oder nicht vorhandenen Brunstsymptomen eingeteilt.

Die Brunstsymptome waren bei 174 von 257 Tieren deutlich (68 %), bei 44 Tieren fraglich (17 %) und bei 29 Tieren waren keine Brunstsymptome sichtbar (11 %). In 8 Fällen wurde eine Zyste diagnostiziert (3 %) und 2 Tiere bluteten ab (1 %).

Die Progesteronbestimmung zeigte, dass 232 von 260 Tieren (89 %) 2 bzw. 2,5 Tage nach der letzten Prostaglandininjektion einen niedrigen und 28 Tiere (11 %) einen hohen Plasmaprogesteron Gehalt (P4) aufwiesen (Tab. 2). Bei 13 dieser Tiere wurden deutliche Brunstsymptome beobachtet.

Tab. 2: Zusammenhang zwischen dem Plasmaprogesteron Gehalt und der Brunstintensität

P4 (ng/ml)	Anteil Tiere mit Brunstsymptomen						
	n	deutlich		fraglich		keine	
	n	n	%	n	%	n	%
< 1	232	171	74	33	14	28	12
> 1	28	13	46	10	36	5	18

4.1.2 Synchronisationsmethode und Plasmaprogesteronwert

Der Anteil Tiere die am Tag der Brunstuntersuchung einen niedrigen Plasmaprogesteronwert aufwiesen, war nach einmaliger oder doppelter Prostaglandin-Injektion in etwa gleich (91 % vs. 86 %) (Tab. 3). Es gab keine signifikante Unterschiede im Anteil der Tiere mit niedriger Progesteronkonzentration nach einmaliger oder doppelter Prostaglandininjektion ($p > 0,05$).

Tab. 3: Anteil Tiere mit niedriger bzw. hoher Plasmaprogesteronkonzentration in Abhängigkeit von der Synchronisationsmethode

	n	P4 < 1 ng/ml		P4 > 1 ng/ml	
		n	%	n	%
1 x PGF2 α	154	140	91	14	9
2 x PGF2 α	92	92	86	13	14

4.2 Befunde der klinischen, ultrasonographischen und hormonanalytischen Untersuchungen vor der Embryonenübertragung

4.2.1 Empfängertierauswahl

Insgesamt wurden 200 von 290 Tieren als Empfänger ausgewählt. 20 Tiere standen am Tag des ET nicht weiter als Rezipienten zur Verfügung und 2 Tiere bluteten am Tag der Brunstuntersuchung ab. In 38 Fällen wurde am Tag der Embryonenübertragung eine fehlende Gelbkörperanbildung und in 24 Fällen eine Ovarzyste diagnostiziert. Bei 6 Empfängern konnte aufgrund einer mangelnden Embryonenanzahl kein Embryo übertragen werden.

4.2.2 Palpatorisch ermittelte Ausprägung der Corpora lutea

Insgesamt wurden 268 von 290 synchronisierten Tieren am Tag der Embryonenübertragung (= Tag 7) rektal untersucht und der gynäkologische Status erhoben. Aufgrund des Befundes erfolgte die Einstufung in eine von fünf Punktezahlen (s. Abschnitt 3.4.4.). Bei 3 Tieren wurde eine doppelte Gelbkörperanbildung am Tag 7 diagnostiziert; diese Tiere wurden bei der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt.

Bei 24 von 265 Tieren wurde der Gelbkörper wegen seiner geringen Größe mit 1 Punkt bewertet, 16 Tiere (6 %) erhielten 1,5 Punkte, 85 Tiere (32 %) 2 Punkte, 55 Tiere (21 %) 2,5 Punkte und 47 Tiere (18 %) 3 Punkte. Nicht kategorisiert wurden Tiere ohne Gelbkörperanbildung (n = 17) und Tiere mit einer Zyste (n = 21) am Tag 7.

Bei 200 Empfängern die am Tag 7 klinisch und sonographisch physiologische Befunde aufwiesen, wurde ein Embryo übertragen.

Bei den Empfängern, bei denen ein Embryo transferiert wurde, ergab die Corpus luteum Beurteilung folgende Ergebnisse :

3 bzw. 14 Embryonen wurden jeweils auf Empfänger mit einem kleinen Corpus luteum (1 und 1,5 Punkte),

80, 54 und 47 Embryonen wurden jeweils auf Empfänger mit der Gelbkörperbewertung 2; 2,5 bzw. 3 übertragen (Abb. 1).

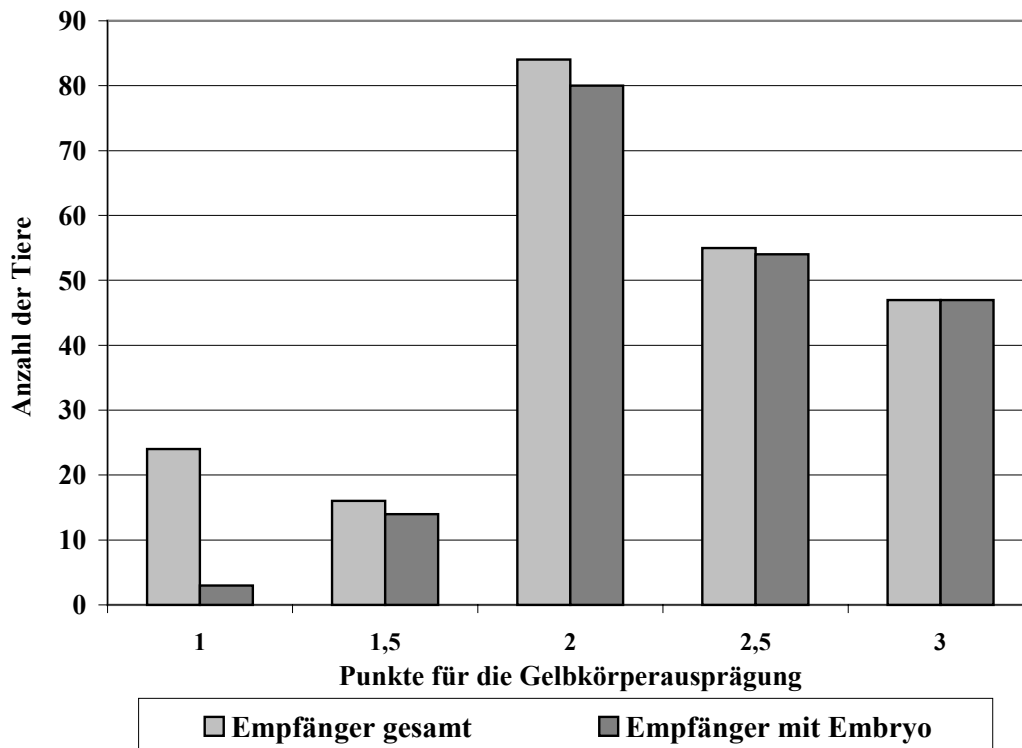


Abb. 1: Palpatorisch ermittelte subjektive Gelbkörperausprägung der Empfänger mit und ohne Embryonenübertragung

4.2.3 Größe der Corpora lutea

Bei 224 Tieren wurde vor der Embryonenübertragung eine Ultraschalluntersuchung durchgeführt und die Befunde der Ovarien und ihrer Funktionsgebilde festgehalten. Die Größe der Corpora lutea und der Follikel wurde ermittelt, indem die Länge und Breite bzw. die Fläche des größten Gelbkörper- bzw. Follikelquerschnitts im Ultraschallbild berechnet wurden. Die mittlere Fläche des Lutealgewebes der Corpora lutea mit Hohlraum wurde durch Subtraktion der Fläche der Kavität von der Fläche des Gesamtgelbkörpers errechnet. Bei den kompakten Corpora lutea entsprach sie der Gesamtgelbkörperfläche.

Die im Ultraschall gemessene mittlere Fläche des größten Querschnitts des Gelbkörpers war mit der subjektiven, palpatorisch ermittelten Gelbkörperausprägung signifikant korreliert ($r = 0,22$; $p < 0,001$) (Tab. 4). Die im Ultraschall gemessene mittlere Gelbkörperfläche der palpatorisch mit einem Punkt bewerteten Gelbkörper unterscheidet sich signifikant von den palpatorisch besser (1,5; 2; 2,5 und 3 Punkte) bewerteten Gelbkörpern ($p < 0,05$). Weiterhin unterscheiden sich Gelbkörper mit 2 Punkten ($3,2 \text{ cm}^2$) signifikant von Gelbkörpern mit 2,5 Punkten ($3,6 \text{ cm}^2$) bzw. 3 Punkten ($3,7 \text{ cm}^2$; $p < 0,05$). Jedoch streuen die im Ultraschall gemessenen Gelbkörperflächen in allen Punkteklassen sehr breit.

Tab. 4: Zusammenhang zwischen der palpatorisch ermittelten subjektiven Gelbkörperbewertung und der gemessenen Fläche des größten Gelbkörperquerschnitts im Ultraschallbild (in cm^2)

Palpationsbefund	n	x	$\pm s$	Min	Max
1	24	2,2 ^a	0,8	0,7	4,3
1,5	15	3,1 ^{b,c}	0,8	1,7	4,7
2	83	3,2 ^b	1,3	1,1	7,3
2,5	55	3,6 ^c	0,9	1,7	6,6
3	47	3,7 ^c	1,0	2,0	6,9

Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben innerhalb einer Spalte sind signifikant unterschiedlich
a : b ($p < 0,05$), a : c ($p < 0,05$) b : c ($p < 0,05$)

Bei 109 von 198 Tieren (55 %) waren Corpora lutea mit einer im Ultraschallbild sichtbaren Kavität angebildet. Gelbkörper mit Hohlraum waren mit einer durchschnittlichen Gesamtfläche von $3,8 \text{ cm}^2$ signifikant größer als kompakte Gelbkörper mit durchschnittlich 3 cm^2 ($p < 0,05$) (Tab. 5). Die mittlere Fläche der Kavitäten ($n = 109$) betrug $0,8 \pm 0,7 \text{ cm}^2$ (Mittelwert \pm Standardabweichung) wobei die kleinste Fläche $0,1 \text{ cm}^2$ und die größte $3,7 \text{ cm}^2$ betrug. Zwischen der errechneten Fläche des Lutealgewebes bei Gelbkörpern mit Hohlraum und der Fläche kompakter Gelbkörper bestand kein Unterschied (jeweils 3 cm^2 ; $p > 0,05$).

Tab. 5 : Übersicht über die gemittelte Gelbkörperfläche der Gelbkörper mit und ohne Hohlraum am Tag des Embryotransfers (in cm²)

Tag 7	n	x	± s	Min	Max
Corpora lutea mit Hohlraum	109				
Fläche inkl. Hohlraum		3,8 ^a	1,1	2,0	7,3
Fläche Lutealgewebe		3,0 ^b	0,9	1,1	6,3
Corpora lutea kompakt					
Fläche Lutealgewebe	89	3,0 ^b	1,0	1,1	6,0

Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben innerhalb einer Spalte sind signifikant unterschiedlich
a : b (p < 0,05)

Von 198 Empfänger denen ein Embryo übertragen wurde waren 147 Rinder, 26 Erstkalbskühe und 25 Kühe die mehrfach abgekalbt haben.

Die Parität (Jungrind/ Kuh) beeinflusste sowohl die Fläche kompakter Corpora lutea (2,8 cm² vs. 3,5 cm²; p < 0,05) als auch die errechnete mittlere Fläche hormonproduzierenden Gewebes der Gelbkörper mit Hohlraum (2,9 cm² vs. 3,5 cm²; p < 0,05) (Tab. 6).

Tab. 6 : Mittlere Fläche des Lutealgewebes bei Corpora lutea mit und ohne Hohlraum in Abhängigkeit von der Parität (in cm²)

Tag 7	n	x	± s	Min	Max
Corpora lutea mit Hohlraum					
bei Jungrinder	80	2,9 ^a	0,7	1,1	5,0
bei Kühen	29	3,5 ^b	1,1	1,6	6,3
Corpora lutea kompakt					
bei Jungrinder	67	2,8 ^a	0,9	1,1	4,7
bei Kühen	22	3,5 ^b	1,2	1,5	6,0

Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben innerhalb einer Spalte sind signifikant unterschiedlich
a : b (p < 0,05)

4.2.4 Plasmaprogesteronspiegel

Bei den Tieren bei denen eine Ultraschalluntersuchung durchgeführt wurde, wurde zusätzlich eine Blutprobe gezogen um den Plasmaprogesterongehalt zu bestimmen.

Die Fläche des Lutealgewebes korrelierte am Tag 7 signifikant mit dem Plasmaprogesteronwert ($r = 0,40$; $p < 0,001$). Der Plasmaprogesteronwert lag bei 176 von 198 Empfängertieren am Tag des Transfers über 1 ng/ml. Bei 22 Tieren denen ein Embryo übertragen wurde lag der Plasmaprogesteronwert am Tag 7 unter 1 ng/ml (Tab. 7). Die mittlere Fläche des Lutealgewebes betrug bei diesen Tieren $2,2 \text{ cm}^2$ und war signifikant kleiner als bei Tieren mit hohem Progesterongehalt ($3,1 \text{ cm}^2$; $p < 0,001$).

Tab. 7 : Corpus luteum Fläche in Abhängigkeit vom Plasmaprogesteronwert am Tag des ET (in cm^2)

P4-Wert (ng/ml)	n	x	$\pm s$	Min	Max
< 1	22	2,2	0,7	1,1	3,9
> 1	176	3,1	0,9	1,1	6,3

Die mittlere Plasmaprogesteronkonzentration war nicht signifikant korreliert mit der Klassifizierung bei der rektalen Gelbkörperpalpation ($r = 0,13$; $p > 0,05$). Dennoch unterschied sich die mittlere P4-Konzentration von Gelbkörpern mit 2 Punkten signifikant von Gelbkörpern der Punktzahl 3 (1,9 vs. 2,4 ng/ml; $p < 0,05$) (Tab. 8).

Tab. 8 : Zusammenhang zwischen der palpatorisch ermittelten subjektiven Gelbkörperbewertung und dem Plasmaprogesteronwert (in ng/ml)

Palpationsbefund	n	x	± s	Min	Max
1	24	1,3 ^{a,b}	0,9	0,2	4,1
1,5	15	1,9 ^{a,b}	0,9	0,9	3,3
2	83	1,9 ^a	1	0,2	4,4
2,5	55	2,2 ^{a,b}	1,1	0,7	4,7
3	47	2,4 ^b	1,9	0,6	14,3

Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben innerhalb einer Spalte sind signifikant unterschiedlich
a : b (p < 0,05)

4.3 Embryonenqualität

Von 198 übertragenen Embryonen waren 102 frische und 96 tiefgefrorene Embryonen. Es wurden 56 frische Embryonen der Klassen 1 und 2 (tiefgefriertauglich) und 46 frische Embryonen der Klassen 3 und 4 (nicht tiefgefriertauglich) übertragen (Tab. 9). Bei den tiefgefrorenen Embryonen handelte es sich um 41 Embryonen die vom ET-Team des Besamungsvereins Neustadt an der Aisch e.V. mit Äthylenglykol eingefroren und vom gleichen Team übertragen wurden und um 55 in Glycerin eingefrorene Embryonen die aus dem Ausland importiert und vom ET-Team der Rinderunion Baden-Württemberg e.V. in Zusammenarbeit mit einem ausländischen ET-Team übertragen wurden. Die Einteilung der Embryonen erfolgte in 6 Qualitätsstufen (Abschnitt 3.6.2.1.).

Sofern genügend Empfänger zur Auswahl standen, wurden qualitativ schlechtere Embryonen (Klasse 3 und 4) auf gute Empfänger übertragen; in 13 Fällen ließ es sich jedoch nicht vermeiden, dass qualitativ schlechte Embryonen auf mäßig bis schlecht klassifizierte Empfänger übertragen wurden.

Tab. 9 : Embryonenqualität und Empfängertierbewertung

Embryonenqualität		Empfängertierbewertung				
		1	1,5	2	2,5	3
Frisch	Klasse 1 + 2	0	1	23	19	13
Frisch	Klasse 3 + 4	3	9	16	14	4
TG	Äthylenglykol	0	4	11	9	17
TG	Glycerin	0	0	30	12	13

Der Entwicklungsstand der Embryonen wurde bei 40facher Vergrößerung unter dem Stereomikroskop beurteilt (Morulae, beginnende Blastozysten und expandierte Blastozysten). Insgesamt wurden 136 Morulae, 38 beginnende Blastozysten und 12 expandierte Blastozysten übertragen. Bei den restlichen Embryonen handelte es sich um 10 degenerierte Embryonen und um zwei 16-Zeller.

4.4 Befunde der ultrasonographischen und hormonanalytischen Untersuchungen am Zyklustag 21

Bei 198 Tieren erfolgte am Zyklustag 21 eine Ultraschalluntersuchung der Ovarien und ihrer Funktionsgebilde um diese mit den Befunden am Tag der Embryonenübertragung zu vergleichen. Gleichzeitig wurden die Empfängertiere auf Brunstsymptome untersucht und es wurde, zwecks späterer Plasmaprogesteronbestimmung, eine Blutprobe gezogen.

4.4.1 Brunstausprägung und Fläche der Corpora lutea

Die Empfänger (n = 198) wurden am Tag 21 bezüglich der Brunstausprägung nach deutlich sichtbaren, fraglichen oder nicht vorhandenen Brunstsymptomen eingeteilt. Die Brunstsymptome waren bei 54 Empfänger deutlich (27 %) und bei 136 Tieren waren keine Brunstsymptome sichtbar (69 %) (Tab. 10). Bei 8 Tieren waren fragliche Brunstsymptome vorhanden.

Die brünstigen Empfänger zeigten am Tag 21 eine signifikant kleinere Gesamtgelbkörperfläche (1,8 cm²) als die Tiere ohne Brunstsymptome (3,7 cm²; p < 0,001).

Tab. 10: Ergebnis der Brunstuntersuchung und mittlere Gelbkörperfläche am Tag 21 (in cm²)

Brunst Tag 21	n	x	± s	Min	Max
deutlich	54	1,8	1,3	0	8,8
keine	136	3,7	0,9	1,5	9,5

4.4.2 Größe der Corpora lutea

Der Anteil der Empfänger mit einer im Ultraschall sichtbaren Kavität nahm zwischen Tag 7 (55 %) und Tag 21 (11 %) signifikant ab (p < 0,001). Gelbkörper mit Hohlraum waren auch am Tag 21 mit einer mittleren Gesamtfläche von 4,3 cm² signifikant größer als kompakte Gelbkörper mit durchschnittlich 3 cm² (p < 0,001) (Tab. 11). Die mittlere Fläche des Hohlraums betrug 0,9 ± 1,4 cm² (Mittelwert ± Standardabweichung) wobei die kleinste Fläche 0,1 cm² und die größte 5,2 cm² betrug. Zwischen der errechneten mittleren Fläche des Lutealgewebes bei Gelbkörpern mit Hohlraum (3,3 cm²) und der mittleren Fläche kompakter Gelbkörper (3 cm²) bestand kein signifikanter Unterschied (p > 0,05).

Tab. 11: Übersicht über die gemittelte Gelbkörperfläche der Gelbkörper mit und ohne Hohlraum am Tag 21 (in cm²)

Tag 21	n	x	± s	Min	Max
Corpora lutea mit Hohlraum	22				
Fläche inkl. Hohlraum		4,3 ^a	1,8	1,9	9,5
Fläche Lutealgewebe		3,3 ^b	0,7	1,7	5,0
Corpora lutea kompakt					
Fläche Lutealgewebe	176	3,0 ^b	1,2	0	6,1

Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben innerhalb einer Spalte sind signifikant unterschiedlich
a : b (p < 0,001)

4.4.3 Plasmaprogesteronspiegel

Von den 54 Tieren mit deutlichen Brunsterscheinungen zeigten 49 Tiere einen Progesteronspiegel < 1 ng/ml. Bei keinem dieser Empfänger konnten Anzeichen einer Trächtigkeit am Tag 35 beobachtet werden. 22 Tiere hatten ein Corpus luteum mit Hohlraum und davon hatten 20 Tiere einen P4-Wert > 1 ng/ml (Fläche Lutealgewebe 3,4 cm²). Bei den 176 Tieren mit kompakten Corpora lutea war die Gelbkörperfläche bei Tieren mit einem niedrigen P4-Wert (1,5 cm²) signifikant kleiner als bei Tieren mit einem hohen P4-Wert am Tag 21 (3,5 cm²; p < 0,001) (Tab. 12).

Tab. 12 : Fläche des Lutealgewebes von Empfängern mit kompaktem Corpus luteum in Abhängigkeit vom Plasmaprogesteronwert am Tag 21 (in cm²)

P4-Wert (ng/ml)	n	x	± s	Min	Max
< 1	47	1,5	0,9	0	4,6
> 1	129	3,5	0,8	0,4	6,1

4.4.4 Größe der Follikel

Die mittlere Fläche des im Ultraschall gemessenen größten Follikels war an den Zyklustagen 7 und 21 gleich. (1,1 vs. 1,2 cm²) (Tab. 13). Ebenso besaß die mittlere Fläche des zweitgrößten Follikels an beiden Untersuchungstagen in etwa den gleichen Wert (0,4 vs. 0,6 cm²).

Tab. 13 : Fläche des größten und zweitgrößten Follikels am Zyklustag 7 und 21 (in cm²)

	n	Größter Follikel		Zweitgrößter Follikel	
		x	± s	x	± s
Tag 7	224	1,1	0,6	0,4	0,3
Tag 21	198	1,2	0,7	0,6	0,3

4.5 Zusammenhang zwischen der Synchronisationsmethode, den Befunden bei der Embryonenübertragung und dem Trächtigkeitsergebnis

Von 198 Empfängern denen ein Embryo übertragen wurde, zeigten 136 Tiere (69 %) am Tag 21 keine Brunstsymptome. Bei 50 % wurde am Tag 35 und bei 47 % am Tag 49 eine Trächtigkeit diagnostiziert.

4.5.1 Einfluss der Synchronisationsmethode auf das Trächtigkeitsergebnis

Die Konzeptionsrate am Tag 35 und 49 war bei den Empfängern mit zweimaliger Prostaglandininjektion an beiden Tagen signifikant niedriger (38 % bzw. 33 %) als bei den Tieren mit einmaliger Injektion (55 % bzw. 52 %) oder nach spontaner Brunst (jeweils 53 %) ($p < 0,05$) (Tab. 14).

Tab. 14: Konzeptionsrate in Abhängigkeit von der Synchronisationsmethode

Synchronisations- methode	Anzahl Transfers	Tag 21 keine Brunst	Tag 35 trächtig	Tag 49 trächtig
	n	%	%	%
1 x PGF _{2α}	111	69 ^a	55 ^a	52 ^a
2 x PGF _{2α}	55	69 ^a	38 ^b	33 ^b
Spontan	32	72 ^a	53 ^a	53 ^a

Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben innerhalb einer Spalte sind signifikant unterschiedlich
a : b (p < 0,05)

In der Gruppe der Empfänger mit doppelter Prostaglandininjektion wurde etwa 5 Wochen nach dem Embryotransfer eine Chlamydieninfektion diagnostiziert (s. Diskussion).

4.5.2 Einfluss der Brunstausprägung auf das Trächtigkeitsergebnis

Bei 168 von 198 Empfänger denen ein Embryo transferiert wurde, waren die Brunstsymptome 7 Tage vor dem Transfer deutlich ausgeprägt (Tab. 15). In dieser Gruppe wurden 88 Trächtigkeiten erzielt (52 %). Von 26 Tieren mit fraglichen Brunstsymptomen konzipierten 9 (35 %). Das Tier ohne Brunstsymptome konzipierte nicht und von 3 Tieren mit einer Ovarialzyste am Tag der Brunst waren 2 am Tag 35 trächtig. Die Unterschiede zwischen diesen Gruppen waren nicht signifikant.

Tab. 15: Einfluss der Brunstausprägung auf das Trächtigkeitsergebnis

Brunstsymptome	Tragend		Nicht tragend	
	n	%	n	%
deutlich	168	52	80	48
fraglich	26	35	17	65

4.5.3 Seite des Corpus luteum beim Transfer

Bei allen untersuchten Tieren befand sich das Corpus luteum graviditatis auf dem zum Embryo ipsilateral gelegenen Ovar. Von den 198 übertragenen Embryonen wurden 76 (38 %) in das linke Uterushorn transferiert. Hieraus resultierten 39 Trächtigkeiten (51 %). 122 in das rechte Uterushorn übertragene Embryonen führten zu 60 (49 %) Trächtigkeiten ($p > 0,05$).

4.5.4 Einfluss der Brunstausprägung vor dem ET und der palpatorisch beurteilten Gelbkörperqualität beim ET auf das Trächtigkeitsergebnis

Empfänger mit deutlichen Brunstsymptomen und Gelbkörper mit der Punktzahl 2; 2,5 oder 3 erzielten die höchste Trächtigkeitsrate (53 %) (Tab. 16). Empfänger mit deutlichen Brunstsymptomen und mäßigem Gelbkörper (1 oder 1,5 Punkte) oder jene mit fraglichen Brunstsymptomen und gutem Gelbkörper hatten Konzeptionsraten von 42 % und 36 %. Die niedrigste Trächtigkeitsrate wiesen Empfänger mit fraglicher Brunst und mäßigem Gelbkörper auf (20 %). Die Unterschiede zwischen diesen Gruppen waren jedoch nicht signifikant.

Tab. 16: Einfluss der Brunstausprägung und der Gelbkörperqualität auf das Trächtigkeitsergebnis

Brunst	C.l. Tag 7	Anzahl Transfers		
		n	Tag 35 trchtig	
			n	%
deutlich	gut	159	85	53
	mäßig	12	5	42
fraglich	gut	22	8	36
	mäßig	5	1	20

4.5.5 Einfluss der Groe des Corpus luteum auf das Trächtigkeitsergebnis

Am Tag der Embryonenübertragung wurde der Zyklusgelbkrper mittels rektaler Palpation subjektiv in ein Punkteschema von 1 bis 3 mit 0,5-Punkte Zwischenschritten eingeteilt (n = 198).

Tabelle 17 zeigt die Trächtigkeitsrate in Abhängigkeit vom Palpationsbefund am Tag der Embryonenübertragung. Die Trächtigkeitsrate war bei den Empfängern mit 3 Punkten (60 %) höher als in der Gruppe mit 2,5 (54 %) bzw. 2 Punkten (45 %), jedoch waren die Unterschiede nicht signifikant ($p > 0,05$).

Tab. 17: Rektaler Gelbkörperbefund beim ET und Trächtigkeitsergebnis am Tag 35

Palpationsbefund	Anzahl Transfers		Tag 35 tragend	
	n		n	%
1	3		1	33
1,5	14		6	43
2	80		36	45
2,5	54		29	54
3	47		28	60

Die mittlere Gesamtgelbkörperfläche war am Tag der Embryonenübertragung bei später trächtigen bzw. nicht trächtigen Empfängern in etwa gleich ($3,5 \text{ cm}^2$ vs. $3,3 \text{ cm}^2$; $p > 0,05$) (Tab. 18). Dagegen war am Tag 21 die mittlere Gesamtgelbkörperfläche bei später trächtigen Tieren ($3,7 \text{ cm}^2$) signifikant größer als bei nicht trächtigen Tieren ($2,6 \text{ cm}^2$; $p < 0,05$).

Tab. 18: Mittlere Gesamtgelbkörperfläche am Zyklustag 7 und 21 bei später trächtigen und nicht trächtigen Empfängern (in cm^2)

Cl-Fläche	Trächtig		Nicht trächtig	
	n	$x \pm s$	n	$x \pm s$
Tag 7	99	$3,5 \pm 1,1$	99	$3,3 \pm 1,1$
Tag 21	99	$3,7 \pm 0,8$	99	$2,6 \pm 1,6$

Bei 109 von 198 Empfängern (55 %) war am Tag 7 und bei 22 Tieren am Tag 21 (11 %) ein Gelbkörper mit Hohlraum sonographisch erkennbar. Von 109 Empfängern, die am Tag 7 ein

Corpus luteum mit Hohlraum aufwiesen, waren 49 (45 %) am Tag 35 trächtig (Tab. 19). Von 89 Empfängern die am Tag 7 einen kompakten Gelbkörper zeigten waren später 50 Tiere (56 %) tragend ($p > 0,05$). Die mittlere Gewebefläche der Gelbkörper mit und ohne Hohlraum unterschied sich am Tag der Embryonenübertragung nicht signifikant bei später trächtigen bzw. nicht trächtigen Empfängern ($p > 0,05$).

Tab. 19: Mittlere Lutealfläche der Corpora lutea mit und ohne Hohlraum am Tag des Embryotransfers bei später trächtigen und nicht trächtigen Empfängern (in cm^2)

Tag 7	Tag 35	n	x	$\pm s$	Min	Max
C.l. mit Hohlraum	Trächtig	49	3,3	1,0	1,9	6,3
	Nicht trächtig	60	2,8	0,7	1,1	4,7
Kompaktes C.l.	Trächtig	50	3,0	0,9	1,1	4,7
	Nicht trächtig	39	3,0	1,1	1,2	6,0

Am Tag 21 war die mittlere Gelbkörperfläche der kompakten Gelbkörper bei trächtigen Empfängern signifikant größer als bei nicht trächtigen Tieren (3,6 vs. 2,3 cm^2 ; $p < 0,05$) (Tab. 20). Die Gewebeflächen der Gelbkörper mit Hohlraum waren bei trächtigen und nicht trächtigen Empfängern in etwa gleich (3,4 vs. 3,3 cm^2 ; $p > 0,05$).

Tab. 20: Mittlere Gewebefläche der Corpora lutea mit und ohne Hohlraum am Zyklustag 21 bei trächtigen und nicht trächtigen Empfängern (in cm^2)

Tag 21	Tag 35	n	x	$\pm s$	Min	Max
C.l. mit Hohlraum	Trächtig	11	3,4 ^a	0,7	2,3	5
	Nicht trächtig	11	3,3 ^a	0,8	1,7	4,4
Kompaktes C.l.	Trächtig	88	3,6 ^a	0,7	1,5	5,4
	Nicht trächtig	88	2,3 ^b	1,3	0	6,1

Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben innerhalb einer Spalte sind signifikant unterschiedlich
a : b ($p < 0,05$)

4.5.6 Einfluss des Plasmaprogesterongehaltes auf das Trächtigkeitsergebnis

Die mittlere Plasmaprogesteronkonzentration zum Zeitpunkt des Transfers betrug bei den Tieren, die später konzipierten 2,1 ng/ml (Tab. 21). Empfänger, die nach dem Embryotransfer nicht aufnahmen, wiesen einen mittleren Progesteronwert von 2,2 ng/ml auf (Differenz: $p > 0,05$).

Von den 22 Tieren die am Tag der Embryonenübertragung einen niedrigen P4-Wert (< 1 ng/ml) aufwiesen, waren 12 Tiere (55 %) am Tag 35 trächtig.

Tab. 21: Plasmaprogesteronwert am Tag 7 bei später trächtigen und nicht trächtigen Empfängern (in ng/ml)

Tag 35	n	x	$\pm s$	Min	Max
trächtig	99	2,1	0,8	0,2	4,4
nicht trächtig	99	2,2	1,7	0,2	14,3

Am Tag 21 war die mittlere Plasmaprogesteronkonzentration bei trächtigen Empfängern signifikant höher (4,3 ng/ml) als bei nicht trächtigen Empfängern (1,9 ng/ml; $p < 0,001$) (Tab. 22).

Tab. 22: Plasmaprogesteronwert am Tag 21 bei später trächtigen und nicht trächtigen Empfängern (in ng/ml)

Tag 35	n	x	$\pm s$	Min	Max
trächtig	99	4,3	2,1	1,9	16,7
nicht trächtig	99	1,9	2,5	0,2	16,1

Von 200 Rezipienten denen am Tag 7 ein Embryo übertragen wurde, wiesen 49 Tiere am Tag 21 einen niedrigen Plasmaprogesteronwert auf und davon zeigten am Tag 21 46 Tiere deutliche Brunstsymptome (Tab. 23). Bei keinem dieser Tiere konnte am Tag 49 eine Trächtigkeit diagnostiziert werden.

Von den verbleibenden 151 Empfängern mit hohem Plasmaprogesteronwert am Tag 21 zeigten 138 Tiere keine Brunstsymptome, jedoch waren am Tag 49 nur 94 von 151 Tieren (62 %) tatsächlich trächtig.

Tab. 23: Plasmaprogesteronwert am Tag 21 und Konzeptionsrate am Tag 49

P4-Wert Tag 21		Brunst Tag 21		Trächtigkeit Tag 49	
ng/ml	n	ja	nein	ja	nein
< 1	49	46	3	0	49
> 1	151	13	138	94	57

4.5.7 Einfluss der Follikelgröße auf das Trächtigkeitsergebnis

Bei der Ultraschalluntersuchung am Tag 7 und am Tag 21 war die mittlere Fläche des größten und des zweitgrößten Follikels bei trächtigen und nicht trächtigen Empfängern in etwa gleich (Tab. 24).

Tab. 24: Fläche des größten und zweitgrößten Follikels am Tag 7 und 21 bei später trächtigen und nicht trächtigen Empfängern (in cm²)

	Tag 35 trächtig	Tag 35 nicht trächtig
	x ± s	x ± s
Tag 7	n = 100	n = 100
Größter Follikel	1 ± 0,1	0,9 ± 0,1
Zweitgrößter Follikel	0,3 ± 0	0,3 ± 0
Tag 21	n = 100	n = 99
Größter Follikel	1,2 ± 0,1	1,3 ± 0,2
Zweitgrößter Follikel	0,6 ± 0,1	0,5 ± 0,1

4.5.8 Einfluss der Embryonenqualität auf das Trächtigkeitsergebnis

Am Tag 7 wurden 104 frische und 96 tiefgefrorene/aufgetaute Embryonen auf 200 Empfänger übertragen. Von den frischen Embryonen wiesen 57 Embryonen eine gute Qualität und 47 Embryonen eine schlechte Qualität auf.

Die Trächtigkeitsrate an den Tagen 21, 35 und 49 war bei den Embryonen guter Qualität (86 %, 65 % bzw. 63 %) signifikant höher als bei den Embryonen schlechter Qualität (57 %, 38 % bzw. 34 %) und bei den tiefgefrorenen/aufgetauten Embryonen (66 %, 45 % bzw. 44 %) ($p < 0,05$) (Tab. 25).

Bei den Empfängern, bei denen ein frischer Embryo schlechter Qualität bzw. ein tiefgefrorener/aufgetauter Embryo transferiert wurde, rinderten signifikant mehr Tiere am Tag 21 als bei den Tieren mit einem frischen Embryo guter Qualität (45 % bzw. 34 % vs. 14 %; $p < 0,05$). Die embryonale Mortalität war in den drei Gruppen zwischen den Tagen 21, 35 und 49 in etwa gleich, wobei die Trächtigkeitsrate bei frischen Embryonen schlechter Qualität bzw. bei tiefgefrorenen/aufgetauten Embryonen tendenziell stärker abnahm als bei frischen Embryonen guter Qualität ($p > 0,05$; Abb. 2).

Tab. 25: Trächtigkeitsrate an den Untersuchungstagen 21, 35 und 49 in Abhängigkeit von der Embryonenqualität (in %)

Embryonenqualität	n	Tag 21 nicht	Tag 35	Tag 49
		brünstig (%)	tragend (%)	tragend (%)
FrISCHE Embryonen, gut	57	86 ^a	65 ^a	63 ^a
FrISCHE Embryonen, schlecht	47	57 ^b	38 ^b	34 ^b
TG Embryonen, gesamt	96	66 ^b	45 ^b	44 ^b

Mittelwerte mit verschiedenen Buchstaben innerhalb einer Spalte sowie innerhalb einer Reihe sind signifikant unterschiedlich a : b ($p < 0,05$)

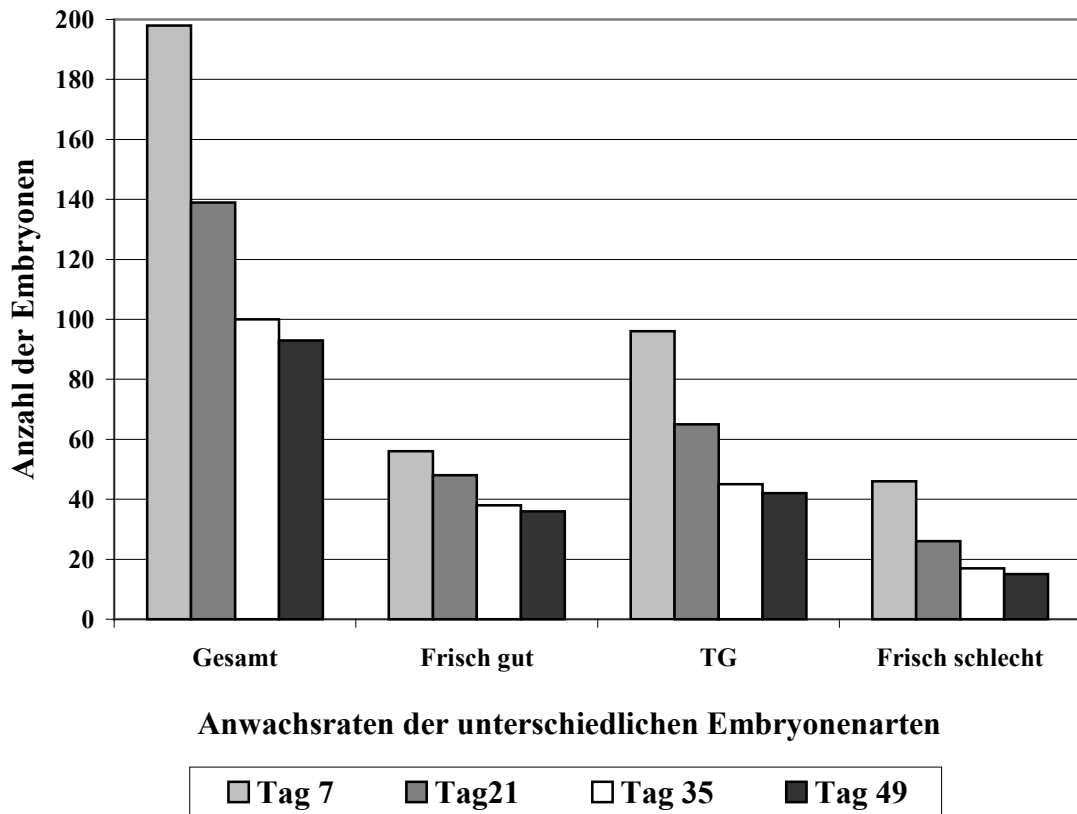


Abb. 2 : Anwachsdaten der Embryonenarten an den verschiedenen Untersuchungstagen

Die beste Trächtigkeitsrate erzielte die Gruppe mit den frischen Embryonen guter Qualität und den Empfängern mit mäßiger Gelbkörperqualität (71 %, Tab. 26). Die niedrigste Trächtigkeitsrate wurde in der Gruppe mit den frischen Embryonen schlechter Qualität und den mäßigen Empfängern erreicht (28 %) ($p > 0,05$).

Tab. 26: Trächtigkeitsrate am Tag 35 in Abhängigkeit von der Embryonenqualität und dem Palpationsbefund am Tag der Embryonenübertragung

Embryonenqualität	Palpationsbefund	Gesamt		Tag 35 tragend	
		n		n	%
Frisch, Klasse 1 + 2	1; 1,5 und 2	24		17	71
	2,5 und 3	32		21	66
Frisch, Klasse 2 + 3	1; 1,5 und 2	28		8	28
	2,5 und 3	18		9	50
Tiefgefrorene	1; 1,5 und 2	45		17	38
	2,5 und 3	51		27	53

4.5.9 Einfluss der Parität auf das Trächtigkeitsergebnis

Bei der Untersuchung der Unterschiede bezüglich des Transfererfolges bei Rindern und Kühen wurde nur unterschieden, ob die Tiere bereits gekalbt hatten oder nicht. Es konnte kein signifikanter Unterschied in der Trächtigkeitsrate zwischen Rindern und Kühen festgestellt werden ($p > 0,05$) (Tab. 27).

Tab. 27: Trächtigkeitsrate an den Untersuchungstagen 21 und 35 in Abhängigkeit von der Parität

Parität	Tag 21 keine Brunst			Tag 35 tragend	
	n	n	%	n	%
Rinder	147	103	70	74	50
Kühe	51	36	71	26	51

5 DISKUSSION

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es die Möglichkeiten der Sonographie bei der Untersuchung der Empfängertiere im Rahmen des kommerziellen Embryotransfers zu bewerten. Die vor der Embryonenübertragung mittels rektaler Palpation erhobene subjektive Bewertung des Corpus luteum sowie der ultrasonographische Befund der Ovarien wurden miteinander verglichen und mit dem ermittelten Plasmaprogesteorgehalt ins Verhältnis gesetzt. Im weiteren Verlauf der Untersuchung (Tag 21, 35 und 49) wurde der Einfluss dieser Faktoren sowie der Einfluss der Embryonenart (frisch, tiefgefroren/aufgetaut), der Embryonenqualität und der Parität der Empfängertiere auf die Trächtigkeitsrate ermittelt.

5.1 Befunde der klinischen, ultrasonographischen und homonalytischen Untersuchungen vor der Embryonenübertragung

Von insgesamt 290 vorgestellten Empfängertieren waren 200 Tiere (70 %) für den Transfer geeignet. Empfängertiere, die ausselektiert werden, stellen einen Kostenfaktor (Medikamente, verlängerte Güstzeit) dar, der vom Gewinn der restlichen Empfängertiere abgezogen werden muss. In einer Studie über die Untersuchung von ET-Rezipienten wurden nur Empfänger zum Transfer zugelassen, deren mit Ultraschall gemessene Corpus luteum Größe im Durchschnitt 10 mm betrug und deren Progesteronkonzentration (P4) am Tag der Embryonenübertragung über 1 ng/ml lag. Diesen Kriterien konnten 11,3 % der Empfänger nicht genügen (Garcia und Salaheddine, 2000). Broadbent et al. (1991) geht von einer Gewinnsteigerung von 7 % pro Trächtigkeit aus, wenn der Anteil der Tiere, die für den ET genutzt werden, von 80 % auf 90 % ansteigt. Die Kosten des ET können auch gesenkt werden, wenn ausschließlich Empfänger mit spontaner Brunst ausgewählt werden (Hanekamp, 1999). Eine wichtige Voraussetzung für die richtige Empfängertierauswahl ist eine gute Brunstbeobachtung (Seidel und Seidel, 1991), die nur bei lückenloser Dokumentation einen ausreichenden Aussagewert besitzt (Mansfeld et al., 1999). Nach Gordon (1994) werden nur etwa 50 % der tatsächlich brünstigen Tiere erkannt und nach Esslemont (1993) sind bis zu 20 % der als brünstig erkannten Tiere nicht im Östrus.

In den eigenen Untersuchungen wurde das Corpus luteum am Tag des Embryotransfers mittels rektaler Palpation subjektiv beurteilt und in ein Punkte-Schema eingestuft. Im Anschluss erfolgte eine Ultraschalluntersuchung sowie eine Blutprobenentnahme zur späteren Plasma P4-Bestimmung. Die im Ultraschall gemessene mittlere Fläche des größten Querschnitts des Gelbkörpers war mit der subjektiven, palpatorisch ermittelten Gelbkörperausprägung signifikant korreliert ($r = 0,22$; $p < 0,001$). Dies zeigt, dass ein erfahrener Untersucher die Größe des Gelbkörpers bei der rektalen Palpation zuverlässig einschätzen kann. Nach Görlach (1997) stellt die rektale Untersuchung der Empfänger und ihre Klassifizierung in taugliche oder ungeeignete Rezipienten eine hinreichend sichere Methode dar. Auch Janowitz (1994) berichtet, dass die rektale Voruntersuchung der Empfänger vor dem Transfer, in Verbindung mit Angaben über die Brunst der Tiere, eine praxisgerechte Methode zur Beurteilung und Auswahl der Empfänger für den Transfer darstellt. Hasler et al. (1987) sind der Meinung, dass ein Empfängertier die Kriterien zum Transfer erfüllt, wenn eine sichtbare Brunst vorliegt und ein Gelbkörper unabhängig von seiner Qualität palpierbar ist. Auch in den eigenen Untersuchungen wurden bei Rezipienten mit deutlichen Brunsterscheinungen und guter Corpus luteum Qualität die besten Trächtigkeitsraten erzielt (53 %; $p > 0,05$).

Die Aussagekraft der rektalen Palpation der Ovarien im Vergleich zur Progesteronbestimmung (Remsen et al., 1982; Ott et al., 1986) oder im Vergleich zur Ultraschalluntersuchung (Sprecher et al., 1988; Pieterse et al., 1990; Garcia und Salaheddine, 2000; Hanzen et al., 2000) ist umstritten; keine dieser Methoden liefert alleine eine sichere Aussage über den funktionellen Status bzw. den Zyklusstand des Gelbkörpers. Auch in der vorliegenden Untersuchung konnte kein Zusammenhang zwischen der Bewertung der Gelbkörper mittels rektaler Palpation und der mittleren Plasma P4-Konzentration festgestellt werden ($r = 0,13$; $p > 0,05$). Dies stimmt überein mit Untersuchungen von Stubbings und Walton (1986) bzw. Iriarte et al. (1991) die ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen der Bewertung der Gelbkörperqualität mittels rektaler Palpation und dem P4-Wert gefunden hatten. Dagegen war in den eigenen Untersuchungen die im Ultraschall gemessene Fläche des Lutealgewebes am Tag 7 signifikant mit dem Plasma P4-Wert korreliert ($r = 0,40$; $p < 0,001$). Dies stimmt überein mit mehreren Studien, in denen mit Hilfe der Ultraschalluntersuchung eine signifikante Korrelation zwischen der Gelbkörpergröße und der Plasma P4-Konzentration nachgewiesen werden konnte (Quirk et al., 1986; Kastelic et al., 1990c;

Rajamahendran und Taylor, 1990; Ribadu et al., 1994, Singh et al., 1997; Veronesi et al., 2002). Allerdings ist eine Vorhersage der funktionellen Aktivität des Gelbkörpers ausschließlich anhand der Ultraschalluntersuchung nicht möglich (Battocchio et al., 1999).

Bei 55 % der Empfängertiere war am Tag des Embryotransfers ein Corpus luteum mit einer im Ultraschallbild sichtbaren Kavität angebildet. In anderen Studien schwankte der Anteil der Corpora lutea mit Kavität zwischen 30 und 79 % (Kito et al., 1986; Pierson und Ginther, 1987a; Kastelic et al., 1990a; Kähn, 1991; Singh et al., 1997; Garcia und Salaheddine, 2000; Spell et al., 2001). Diese Unterschiede können durch den gewählten Mindestdurchmesser der Hohlräume bedingt sein oder mit der Qualität der verwendeten Ultraschallgeräte zusammenhängen. Die Inzidenz der Gelbkörper mit Hohlraum nahm vom Tag des Transfers (Tag 7 des Zyklus) bis zum Tag 21 (11 %) signifikant ab ($p < 0,001$). Auch andere Autoren stellen fest, dass mit zunehmendem Entwicklungsstadium (Anbildung, Blütestadium und Regression) des Gelbkörpers die Inzidenz der Gelbkörper mit Hohlraum abnimmt und begründen die Ursache damit, dass der Hohlraum zunehmend mit Lutealgewebe gefüllt wird (Kito et al., 1986, Okuda et al., 1988; Kastelic et al., 1990a; Garcia und Salaheddine, 2000). Auch wenn in der vorliegenden Untersuchung die Gesamtfläche der Gelbkörper mit Hohlraum signifikant größer war als die Fläche kompakter Corpora lutea, so konnte doch kein Unterschied in der errechneten Lutealfläche der Gelbkörper mit Hohlraum und der Fläche kompakter Gelbkörper festgestellt werden ($p < 0,001$). Diesem Ergebnis entspricht die Beobachtung, dass die endokrinologische Aktivität der Gelbkörper mit Hohlraum nicht von der Norm abweicht (Kastelic et al., 1990c; Ribadu et al., 1994; Garcia und Salaheddine, 2000).

Die Größe des Corpum luteum war signifikant abhängig von der Parität ($p < 0,05$). Die Zyklusgelbkörper der Jungrinder waren am Tag der Embryonenübertragung signifikant kleiner als die von Kühen ($p < 0,05$). Zum gleichen Ergebnis kommt Schwab (2000) wogegen Assey et al. (1993) weder am Tag 0 noch am Tag 7 einen signifikanten Unterschied in der Gelbkörpergröße zwischen Färsen und Kühen feststellen konnten.

5.2 Befunde der klinischen, ultrasonographischen und hormonanalytischen Untersuchungen am Zyklustag 21

Am Zyklustag 21 erfolgte zunächst eine Brunstbeobachtung und im Anschluss eine Ultraschalluntersuchung sowie eine Blutprobenentnahme zur späteren Plasma P4-Bestimmung. Bei 54 Tieren wurden deutliche Brunsterscheinungen am Tag 21 (14 Tage nach dem Transfer) beobachtet, davon hatten wiederum 49 Tiere einen P4-Wert < 1 ng/ml. Keines dieser Tiere wurde am Tag 35 als trächtig befunden. Dies zeigt, dass durch eine gute Überwachung der Rezipienten vermutlich nicht trächtige Empfängertiere sehr schnell wieder für andere Zwecke genutzt werden können.

Die brünstigen Empfänger hatten am Tag 21 im Mittel eine signifikant kleinere Gesamtgelbkörperfläche als die Tiere ohne Brunstsymptome ($p < 0,001$). Ebenso wurde festgestellt, dass bei Tieren mit einem niedrigen P4-Wert die Fläche der kompakten Corpora lutea signifikant kleiner war als bei Tieren mit einem hohen P4-Wert ($p < 0,001$). Die ultrasonographisch beurteilte Gelbkörpergröße war bei Färsen sowohl in der Regressions- als auch in der Anbildungsphase signifikant mit der Plasma P4-Konzentration korreliert (Assey et al., 1993; Sprecher et al., 1988; Kastelic et al., 1990c); allerdings nimmt in der Regressionsphase die periphere P4-Konzentration schneller ab als die Fläche des Gelbkörpers (Ribadu et al., 1994; Kastelic et al., 1990c).

Die Möglichkeit des Ultraschalls zur korrekten Ansprache der Gelbkörperentwicklung wird kontrovers diskutiert (Veronesi et al., 2002). Mehrere Autoren berichten, dass eine Unterscheidung zwischen Anbildungs- und Rückbildungsgelbkörper äußerst schwierig ist und einerseits von der Qualität des Ultraschallgerätes, andererseits von der Erfahrung des Untersuchers abhängt (Pieterse et al., 1990b; Battocchio et al., 1999; Hanzen et al., 2000; Veronesi et al., 2002). Für die Belange der Untersuchung von Rezipienten im Rahmen des Embryotransfers sind diese Unterscheidungen allerdings von geringerer Bedeutung. Wie die Ergebnisse der Gelbkörper-Bewertung am Tag 7 belegen, besteht nur ein loser Zusammenhang zwischen der Fläche des Lutealgewebes und den Trächtigkeitsraten. Der Aufwand einer exakten Bestimmung dieses Parameters unter Praxisbedingungen lässt sich damit nicht rechtfertigen. Die

Gelbkörper-Bewertung am Tag 21 (Lutealfläche) ergab zwar eine eindeutige Beziehung zum Zyklusstadium (Östrus), jedoch war hier in den meisten Fällen eine klare Erkennung der Brunstsymptome ausreichend. Ob die Einführung eines Grenzwertes für die Lutealfläche eines aktiven Gelbkörpers hilfreich ist, muss ebenfalls bezweifelt werden, da am Tag 21 in Fällen eines leicht verlängerten Zykluses auch Gelbkörper in Regression zur Beurteilung kämen.

5.3 Zusammenhang zwischen der Synchronisationsmethode, den Befunden bei der Embryonenübertragung und dem Trächtigkeitsergebnis

Die Konzeptionsrate am Tag 35 und 49 war bei den Empfängern mit zweimaliger Prostaglandininjektion jeweils signifikant niedriger als bei den Tieren mit einmaliger Injektion oder nach spontaner Brunst ($p < 0,05$). Diese Unterschiede beruhen jedoch sehr wahrscheinlich auf einer Chlamydien-Infektion, die in der Gruppe der Empfänger mit doppelter Prostaglandininjektion etwa 5 Wochen nach dem Embryotransfer diagnostiziert wurde. Über die Verbreitung der Chlamydieninfektion in den Geschlechtsorganen des Rindes bestehen unsichere Erkenntnisse, da der Nachweis dieser Bakterien sehr aufwendig ist (Bisping und Bostedt, 1999). Das Entstehen von Erkrankungen nach Chlamydieninfektionen wird gerade in der intensiven Tierhaltung durch Resistenz mindernde Einflüsse, Mängel in der Haltung und Fütterung (Bisping und Bostedt, 1999) oder das ständige Zuführen großer Tierzahlen aus vielen verschiedenen Beständen zur Reproduktion begünstigt (Horsch, 1980).

Die Brunstausprägung 7 Tage vor dem Transfer hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Trächtigkeitsrate ($p > 0,05$), allerdings zeichnet sich eine Tendenz ab, nach der Tiere mit guten Brunstsymptomen vor dem Transfer bessere Ergebnisse haben. Janowitz (1994) konnte bei einer sehr viel höheren Tierzahl (2478 ausgewertete Transfers) nachweisen, dass die Brunstausprägung die Trächtigkeitsrate signifikant beeinflusst. Auch andere Autoren sind, ohne dies durch Ergebnisse zu belegen, der Ansicht, dass eine genaue Brunstbeobachtung bei den Rezipienten wichtig für den Erfolg des Embryotransfers ist (Donaldson, 1985; Hasler et al., 1987).

Es konnte kein Zusammenhang der Trächtigkeitsrate mit der subjektiv ermittelten Gelbkörperbewertung festgestellt werden ($p > 0,05$). Ebenso bestand am Tag der

Embryonenübertragung kein signifikanter Unterschied in der durch Ultrasonographie ermittelten mittleren Gesamtgelbkörperfläche bei später trächtigen bzw. nicht trächtigen Empfängern. Dies stimmt überein mit anderen Untersuchungen, in denen keine Korrelation zwischen der Gelbkörperqualität und der Trächtigkeitsrate zu erkennen war (Iriarte, 1991; Spell et al., 2001). Die Meinung, dass Empfänger nicht allein wegen einer mangelnden Gelbkörperqualität für den Transfer abgelehnt werden sollten, wird wiederholt geäußert (Ott et al., 1986; Stubbings und Walton, 1986; Hasler et al., 1987; Hanekamp, 1999). Dagegen berichten Küsters (1983) und Nohner (1986) von einer signifikanten Abhängigkeit des Transfererfolges von der Empfängerqualität bei Transfer von tiefgefrorenen/aufgetauten Embryonen. Letztere Ergebnisse weisen darauf hin, dass diese Ergebnisse jeweils stark von der verwendeten Qualität der Embryonen abhängig sein dürften.

Der Anteil trächtiger Tiere, die am Tag des Embryotransfers einen Gelbkörper mit Hohlraum aufwiesen unterschied sich nicht vom Anteil trächtiger Tiere, die einen kompakten Gelbkörper hatten. Zum gleichen Ergebnis kommen Garcia und Salaheddine (2000) sowie Spell et al. (2001), die nach Embryotransfer keinen signifikanten Unterschied in der Trächtigkeitsrate fanden zwischen Empfängertieren mit kleinen oder flüssigkeitsgefüllten Gelbkörpern und großen kompakten Gelbkörpern. Auch bei Empfängern, bei denen Corpora lutea mit großen flüssigkeitsgefüllten Hohlräumen vorhanden waren, nahmen die Trächtigkeitsraten nicht signifikant ab. Diese Ergebnisse bestätigen, dass Gelbkörper mit Hohlraum funktionell gleichwertig zu kompakten Gelbkörpern sind.

Die mittlere Gelbkörperfläche war bei trächtigen Empfängern am Tag 21 signifikant größer als bei nicht trächtigen Tieren ($p < 0,05$). Die funktionelle und morphologische Rückbildung des Corpus luteum findet statt, wenn entweder keine Konzeption stattgefunden hat oder wenn der Embryo die Luteolyse nicht durch geeignete Signale blockieren kann (Baier, 1965; Hansel et al., 1973; Hanzen et al., 1999; van der Weijden und Taverne, 1999). Die Unterbindung der lutealen Regression und damit die Sicherstellung der Progesteronwirkung erfolgt nur dann, wenn der Embryo Interferon- τ produziert, welches durch Unterdrückung der uterinen PGF $_{2\alpha}$ -Produktion einen antiluteolytischen Effekt aufweist (Hansen, 1997). Bei Rezipienten im Embryotransfer dürfte die Fähigkeit zur Bildung von Interferon- τ ganz wesentlich von der Qualität der

übertragenen Embryonen abhängen. Beim Embryotransfer dürfte die Qualität der übertragenen Embryonen ganz wesentlich für die Interferon- τ Produktion im Rezipient sein.

Die mittlere Plasma P4-Konzentration war sowohl am Tag der Brunstuntersuchung 7 Tage vor dem ET als auch am Tag des Embryotransfers bei später trächtigen bzw. nicht trächtigen Empfängern in etwa gleich ($p > 0,05$). In Untersuchungen von Remsen et al. (1982), Niemann et al. (1985) und King et al. (1986) wird eine optimale Progesteronkonzentration für das Zustandekommen einer Trächtigkeit zwischen 2,0 und 5,0 ng/ml postuliert. Andere Studien kamen dagegen auch zu dem Ergebnis, dass die Höhe der Progesteronkonzentration am Tag des Transfers nicht für die späteren Trächtigkeitsraten entscheidend ist (Hasler et al., 1980; Stubbings und Walton, 1986 ; Spell et al., 2001). Chagas e Silva et al. (2002) sind der Meinung, dass die Bestimmung des Plasma P4-Wertes bis zum Tag des Embryotransfers von begrenzter praktischer Bedeutung ist ; einzige Ausnahme ist die Ablehnung von Empfängern mit eindeutig fehlender Gelbkörperfunktion. Allerdings waren in den vorliegenden Untersuchungen von den 22 Tieren, die am Tag der Embryonenübertragung einen niedrigen P4-Wert (< 1 ng/ml) aufwiesen, 12 Tiere (55 %) am Tag 35 trächtig. Manche Autoren berichten von Trächtigkeiten bei Empfängern, deren P4-Konzentration am Tag 7 unter 1 ng/ml lag (Hasler et al., 1980 ; Stubbings und Walton, 1986 ; persönliche Mitteilung Görlach, 2002). Niedrige Plasma P4-Konzentrationen am Tag des Embryotransfers können Ausdruck einer subnormalen Gelbkörperfunktion sein, Folge einer mangelnden Brunstbeobachtung (Shelton et al., 1990), oder einer individuellen Variation im Progesteronanstieg nach der Brunst sein (Smith et al., 1996). Eine Probenverwechslung als Ursache dieses Ergebnisses kann nie völlig ausgeschlossen werden ; eine extreme Häufung von Fehlern genau in dieser Gruppe ist aber eher unwahrscheinlich. Die ansonsten durchgehend mit den Ergebnissen der Gelbkörperbeurteilung bzw. der Brunstbeobachtung übereinstimmenden P4-Konzentrationen schließen auch gravierende Testfehler als Ursache aus.

In der vorliegenden Studie hatte die Embryonenqualität einen signifikanten Einfluss auf die Trächtigkeitsrate ($p < 0,05$). Frische Embryonen guter Qualität zeigten eine signifikant höhere Trächtigkeitsrate am Tag 21 als Embryonen schlechter Qualität. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen eine Reihe von Studien, die ebenfalls den Einfluss der Embryonenqualität auf die Trächtigkeitsergebnisse untersuchten (Wright, 1981; Lindner und Wright, 1983; Donaldson,

1985 ; Coleman, 1987 ; Niemann und Meineke, 1993 ; Hasler, 2001). Allerdings sollte bei der morphologischen Beurteilung von Rinderembryonen immer auch berücksichtigt werden, dass es sich bei der visuellen Beurteilung um eine sehr subjektive Einschätzung handelt (Sreenan und Diskin, 1987; Meinecke und Meinecke-Tillmann, 1990). Empfänger, bei denen ein frischer Embryo schlechter Qualität bzw. ein tiefgefrorener/aufgetauter Embryo transferiert wurde, zeigten signifikant häufiger am Tag 21 Brunstsymptome, als Tiere mit einem frischen Embryo guter Qualität. Dies stimmt überein mit früheren Untersuchungen, nach denen der Hauptanteil der embryonalen Mortalität vor dem 18. Trächtigkeitstag liegt (Ayalon, 1978, Diskin und Sreenan, 1980; Roche et al., 1981; Dunne et al., 2000 ; Chagas e Silva et al., 2002). Die Trächtigkeitsrate der Empfänger mit den qualitativ guten Embryonen war auch an den Tagen 35 und 49 signifikant höher als bei den Empfängern mit qualitativ schlechteren Embryonen bzw. tiefgefrorenen/aufgetauten Embryonen ($p < 0,05$). Das Ausmaß der embryonalen Mortalität zwischen den Tagen 21, 35 und 49 war demzufolge in den drei Gruppen in etwa gleich, wobei die Trächtigkeitsrate bei Empfängern mit frischen Embryonen schlechter Qualität bzw. mit tiefgefrorenen/aufgetauten Embryonen tendenziell stärker abnahm als bei frischen Embryonen guter Qualität ($p > 0,05$). In einer Studie von Stubbings und Walton (1986) waren 59 % der Tiere, die am Tag 21 einen P4-Wert über 1 ng/ml zeigten, am Tag 60 nicht trächtig. In der vorliegenden Arbeit waren dagegen nur 32 % der Tiere, die am Tag 21 keine Brunstsymptome sowie einen P4-Wert über 1 ng/ml aufwiesen, am Tag 49 nicht trächtig. Das Ausmaß der embryonalen Mortalität kann neben der Embryonenqualität im Einzelfall von bestandsspezifischen Faktoren (Infektionen, Fütterung, Haltung etc.) abhängig sein.

Empfängertiere mit tiefgefrorenen/aufgetauten Embryonen wiesen in dieser Arbeit eine signifikant niedrigere Trächtigkeitsrate auf als frische Embryonen guter Qualität, aber ähnliche Konzeptionsraten wie Empfänger denen ein frischer Embryo schlechter Qualität transferiert wurde. Einige Autoren stellten eine Abnahme der Trächtigkeitsraten von 8,4 % bis 15 % nach Übertragung von tiefgefrorenen/aufgetauten Embryonen gegenüber frischen Embryonen fest (Leibo, 1986 ; Sreenan und Diskin, 1987 ; Hasler et al., 2001 ; Spell et al., 2001). Die niedrigeren Trächtigkeitsraten nach Übertragung von tiefgefrorenen/aufgetauten Embryonen könnten auf einen niedrigeren luteotropen Stimulus tiefgefrorener Embryonen auf den Gelbkörper gegenüber frischen Embryonen zurückzuführen sein (Chagas e Silva et al., 2002). Allgemein wird deshalb

empfohlen, nur Embryonen sehr guter Qualität für die Tiefgefrier-Konservierung zu nutzen (Niemann et al., 1982; Sreenan u. Diskin, 1987). Diese Praxis wird auch von den Embryotransfer-Einrichtungen, an denen diese Untersuchungen durchgeführt wurden, angewandt.

Die Parität (Jungrind/ Kuh) hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Trächtigkeitsrate am Tag 35 ($p > 0,05$). Auch Wright (1981) und Callesen et al. (1994) fanden keinen Unterschied in der Trächtigkeitsrate zwischen Kühen und Rindern. Dagegen berichten andere Autoren, dass bei Färsen bessere Trächtigkeitsraten erzielt wurden als bei Kühen (Altino Pires de Almeida, 1995; Janowitz, 1994 ; Dochi et al., 1998 ; Chagas e Silva et al., 2002) bzw. dass bei Kühen bessere Trächtigkeitsraten erzielt wurden (Newcomb und Rowson, 1980). Eine Untersuchung von Altino Pires de Almeida (1995) ergab, dass die Trächtigkeitsraten bei Färsen besser waren als bei sogenannten “repeat-breeder” Kühen, unabhängig davon ob die Embryonen von Rindern oder von Problem-Kühen stammten. Die Autoren sehen darin den Beweis, dass die physiologische embryonale Entwicklung stärker von den uterinen Verhältnissen als von der Herkunft der Embryonen (Rinder oder Kühe) abhängig ist.

5.4 Schlussfolgerung

Der Einsatz der Sonographie zur Untersuchung der Empfängertiere vor dem Embryotransfer ist von begrenzter praktischer Bedeutung. Die Plasmaprogesteronbestimmung gibt am Tag der Embryonenübertragung keine zusätzliche Auskunft sofern das Tier eine deutlich sichtbare Brunst zeigte und am Tag der Embryonenübertragung ein deutlicher Gelbkörper palpirt werden kann. Eine gute Brunstbeobachtung am Tag 21 ist sinnvoll, damit Tiere so früh wie möglich wieder belegt werden können; eine Bestimmung der Progesteron-Konzentration am Tag 21 kann zusätzliche Hinweise geben. Der Einsatz der Sonographie zur Trächtigkeitsuntersuchung bei den Rezipienten zu einem möglichst frühen Zeitpunkt ist im Rahmen des Embryotransfers zu empfehlen.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Untersuchungen war es, die Möglichkeiten der Sonographie bei der Untersuchung der Empfängertiere im Rahmen des kommerziellen Embryotransfers beim Rind zu überprüfen.

Insgesamt wurden 257 Tiere mittels ein- oder zweimaliger Injektion von Prostaglandin F₂alpha synchronisiert, 33 potentielle Empfängertiere zeigten eine spontane Brunst. Bei 200 Rezipienten, denen ein Embryo übertragen wurde, erfolgte am Tag des Embryotransfers bzw. am Zyklustag 21 eine rektale Palpation sowie eine ultrasonographische Untersuchung der Ovarien. Die Rezipienten wurden am Tag 35 (28 Tage nach dem Transfer) ultrasonographisch und erneut am Tag 49 mittels rektaler Palpation auf eine Trächtigkeit untersucht. An den Untersuchungstagen 0 (Östrus), 7 (Transfer) und 21 wurde eine Blutprobe (Plasma) zur Bestimmung des Progesterongehalts (P4) entnommen. Die Bestimmung der P4-Konzentration erfolgte mittels eines enzymimmunologischen Verfahrens im Plasma.

Die im Ultraschall gemessene Fläche des größten Querschnitts des Gelbkörpers war mit der subjektiven, palpatorisch ermittelten Gelbkörperausprägung signifikant korreliert ($r = 0,22$; $p < 0,001$). Es bestand kein Zusammenhang zwischen der Bewertung der Gelbkörper mittels rektaler Palpation und der mittleren P4-Konzentration ($r = 0,13$; $p > 0,05$), wohingegen die im Ultraschall gemessene Fläche des Lutealgewebes am Tag 7 signifikant mit dem P4-Wert korrelierte ($r = 0,40$; $p < 0,001$). Bei 55 % der Empfängertiere wurde am Tag des Transfers ein Gelbkörper mit einem sonographisch darstellbaren Hohlraum gefunden (Anteil am Tag 21 11 %). Corpora lutea mit Hohlraum waren größer als kompakte Gelbkörper ($3,8 \text{ cm}^2$ bzw. 3 cm^2 ; $p < 0,001$), die Fläche des Lutealgewebes von Gelbkörpern mit oder ohne Kavität war jedoch nicht signifikant verschieden ($p > 0,05$).

Von 200 Rezipienten, denen ein Embryo übertragen wurde, zeigten 136 Tiere am Tag 21 keine Brunstsymptome (69 %). Am Tag 35 bzw. 49 wurde bei 50 % bzw. 47 % der Tiere eine Trächtigkeit festgestellt. Die höchste Trächtigkeitsrate (60 %) wurde in der Gruppe von Rezipienten erzielt, deren Gelbkörper beim Transfer palpatorisch mit der höchsten Punktzahl

bewertet wurden. Es bestand jedoch kein signifikanter Unterschied in der Trächtigkeitsrate zwischen Tieren mit verschiedener Gelbkörperbewertung. Die Trächtigkeitsrate am Tag 35 betrug 56 % bei Tieren mit kompaktem Gelbkörper und 45 % bei Gelbkörpern mit Hohlraum ($p > 0,05$). Der P4-Wert am Tag 7 bei später trächtigen bzw. nicht-trächtigen Tieren war im Mittel nicht signifikant verschieden (2,1 bzw. 2,2 ng/ml).

Bei 54 Tieren, bei denen am Tag 21 nach dem letzten Östrus deutliche Brunsterscheinungen beobachtet wurden, hatten 49 Tiere einen P4-Wert von < 1 ng/ml. Die Fläche kompakter Corpora lutea bei Empfängern mit einem P4-Wert < 1 ng/ml am Tag 21 war signifikant kleiner als bei Tieren mit einem P4-Wert > 1 ng/ml (1,5 cm² bzw. 3,5 cm²; $p < 0,001$). Ebenso war die mittlere Gelbkörperfläche der kompakten Gelbkörper am Tag 21 (3,6 cm² bzw. 2,3 cm²; $p < 0,05$) bei trächtigen Empfängern signifikant größer als bei nicht-trächtigen Tieren.

Der Anteil vermutlich (Tag 21) bzw. sicher trächtiger Tiere (Tag 35 und 49) betrug 86 %, 65 % bzw. 63 % bei frischen Embryonen guter Qualität, 57 %, 38 % bzw. 34 % bei frischen Embryonen schlechter Qualität sowie 66 %, 45 % bzw. 44 % bei tiefgefroren/aufgetauten Embryonen.

Der Einsatz der Sonographie zur Beurteilung der Gelbkörperqualität bei den Empfängertieren vor dem Embryotransfer ist von begrenzter praktischer Bedeutung im kommerziellen Embryotransfer. Eine gute Brunstbeobachtung am Tag 21 ist sinnvoll, damit Tiere so früh wie möglich wieder belegt werden können; dazu beitragen könnte auch die Bestimmung des Progesterongehalts an diesem Tag. Die Ultraschalluntersuchung der Rezipienten zur Feststellung der frühen Trächtigkeit (Tag 35 und früher) kann helfen, nicht-trächtige Tiere möglichst schnell erneut nutzen zu können.

7 SUMMARY

„EXAMINATION OF EMBRYO TRANSFER RECIPIENTS IN CATTLE“

The aim of this study was to test the possibilities of ultrasonography in the examination of recipient animals during commercial embryo transfer in cattle.

Altogether 257 animals have been synchronised by a single or a double injection of Prostaglandine F2alpha, 33 potential recipients showed spontaneous heat. On 200 of the animals actually being used as embryo recipients, a rectal palpation as well as an ultrasonographic examination of the ovaries was performed on the day of the transfer and on day 21 of the cycle. The recipients were examined again for pregnancy by ultrasound on day 35 (28 days after the transfer) and by rectal palpation on day 49. A blood sample (plasma) was taken on day 0 (oestrus), 7 (transfer) and 21, in order to measure the progesterone concentration (P4). An enzyme-based immunological assay was used to evaluate the plasma samples for P4 concentration.

The ultrasonographically defined area of the largest cross-section of the corpus luteum was significantly correlated ($r = 0,22$; $p < 0,001$) with the corpus luteum size evaluated by rectal palpation. There was no relation between the scoring of the corpora lutea performed by palpation and the average P4-concentration ($r = 0,13$; $p > 0,05$), whereas on day 7 the luteal tissue area measured by ultrasonography was significantly correlated with the P4 values ($r = 0,40$; $p < 0,001$). In 55 % of the recipients, a sonographically detectable cavity within the corpus luteum was found on the day of transfer. Corpora lutea with a cavity were bigger than those without ($3,8 \text{ cm}^2$ vs. 3 cm^2 ; $p < 0,001$), however the luteal tissue area of corpora lutea with or without cavity was not significantly different ($p > 0,05$).

On day 21, 136 animals out of 200 (69 %) having received an embryo, showed no signs of oestrus. On day 35 and 49 pregnancy was diagnosed in 50 % and 47 % respectively. The highest pregnancy rate (60 %) was obtained in the group of recipients, with the best score evaluated by

rectal palpation. However, there was no significant difference in pregnancy rate between animals with different corpora lutea scores. The pregnancy rate on day 35 was 56 % in animals with a compact corpus luteum and 45 % when a cavity was present in the corpus luteum. The mean P4 value on day 7 of animals later diagnosed as pregnant or not was not significantly different (2,1 ng/ml vs. 2,2 ng/ml).

54 animals showing clear signs of heat 21 days after the last oestrus, had a P4 value of < 1 ng/ml. The area of compact corpora lutea of recipients having a P4 content of < 1ng/ml on day 21 was significantly smaller than that of animals having a P4 value > 1 ng/ml (1,5 cm² vs. 3,5 cm² ; p < 0,001). The average area of compact corpora lutea on day 21 (3,6 cm² vs. 2,3 cm²; p < 0,05) was significantly bigger in pregnant than in non-pregnant animals.

The percentage of presumably (day 21), respectively definitely pregnant animals (day 35 and 49), was 86 %, 65 % and 63 % respectively with fresh embryos of good quality, 57 %, 38 % and 34 % respectively with fresh embryos of poor quality and 66 %, 45 % and 44 % respectively with frozen/thawed embryos.

The use of ultrasonography in the evaluation of the corpus luteum quality of recipients prior to the transfer is of limited value in commercial embryo transfer. A good oestrus detection on day 21 is useful to get the animal pregnant as fast as possible; the determination of the plasma progesterone content on this day could contribute to obtain this goal. The ultrasonographic examination of the recipients for early pregnancy diagnosis (day 35 and earlier) can help, to re-use the non-pregnant animals again as soon as possible.

8 LITERATURVERZEICHNIS

Abbitt B, Ball L, Kitto GP, Sitzman CG, Wilgenburg B, Raim LW, Seidel Jr. GE (1978).
Effect of three methods of palpation for pregnancy diagnosis per rectum on embryonic and fetal attrition in cows.

Journal of the American Veterinary Medical Association 173(8), 973-977.

Abe H, Matsuzaki S, Hoshi H (2002).

Ultrastructural differences in bovine morulae classified as high and low qualities by morphological evaluation.

Theriogenology 57, 1273-1283.

Adams GP (1994).

Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: Implications for synchronization and superstimulation.

Theriogenology 41, 19-24.

Ali A, Gilles M, Lange A, Klocke P, Glatzel P (1999).

Characteristics of the Bovine Dominant Follicle on Day 10 of Estrous Cycle.

Reproduction in Domestic Animals 34, 21 (Abstrakt).

Ali A, Lange A, Gilles M, Glatzel PS (2001).

Morphological and functional characteristics of the dominant Follicle and Corpus Luteum in cattle and their influence on ovarian function.

Theriogenology 56, 569-576.

Almeida LAPd (1995).

Early embryonic mortality in "repeat-breeder" cows.

Ars Veterinaria 11, 18-34.

Arreseigor CJ, Sisul A, Arreseigor AE, Strahring RC (1998).
Effect of Cryoprotectant, Thawing Method, Embryo Grade and Breed on Pregnancy Rates of Cryopreserved Bovine Embryos.
Theriogenology 49(1), 160 (Abstrakt).

Assey RJ, Purwantara B, Greve T, Hyttel P, Schmidt MH (1993).
Corpus luteum size and plasma progesterone levels in cattle after cloprostenol-induced luteolysis.
Theriogenology 39, 1321-1330.

Aurich JE (1999).
Embryonale Mortalität.
In: E Grunert, Ad Kruif (Hrsg.), *Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind*.
Parey Buchverlag, Berlin, S: 255-260.

Ayalon N (1978).
A review of embryonic mortality in cattle.
Reproduction Fertility 54, 483-493.

Ayalon N (1981).
Embryonic mortality in cattle.
Zuchthygiene 16, 97-109.

Baier W (1965).
Embryonale Mortalität.
Fortpflanzung der Haustiere 1, 351-360.

Baier W, Rüsse I (1968).
Über die Häufigkeit des embryonalen Fruchttodes beim Höhenfleckvieh. Untersuchungen an Schlachtrindern.
Fortpflanzung der Haustiere 4, 383-387.

- Battocchio M, Gabai G, Mollo A, Veronesi MC, Soldano F, Bono G, Cairoli F (1999).
Agreement between ultrasonographic classification of the CL and plasma progesterone concentration in dairy cows.
Theriogenology 51, 1059-1069.
- Berger G (1990).
Hinweise zur Ermittlung der Häufigkeit der embryonalen Mortalität mittels Progesteronbestimmung (Kurzmitteilung).
Monatsheft der Veterinärmedizin 45, 761-762.
- Bisping W, Bostedt H (1999).
Genitalinfektionen.
In: E Grunert, Ad Kruif (Hrsg.), *Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind*.
Parey Buchverlag, Berlin, S: 231-249.
- Bo GA, Caccia M, Martinez M, Adams GP, Pierson RA, Mapletoft RJ (1995).
Exogenous Control of Follicular Wave Emergency in Cattle.
Theriogenology 43, 31-40.
- Boyd H, Bacsich P, Young A, McCracken JA (1969).
Fertilization and embryonic survival in dairy cattle.
The British Veterinary Journal 125, 87-97.
- Boyd JS, Omran SN, Ayliffe TR (1990).
Evaluation of real time B-mode ultrasound scanning for detecting early pregnancy in cows.
The Veterinary Record 127, 350-352.
- Brandes K, Ellendorff F, Elsaesser F (1988).
Neuere Entwicklungen der hormonalen "Vor Ort-sofort" Fertilitäts- und Trächtigkeitsdiagnose beim Rind durch Progesteronbestimmung.
Tierärztliche Umschau 43, 568-576.

Brem G (1999).

Embryotransfer und assoziierte Techniken.

In: E Grunert, Ad Kruif (Hrsg.), Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind.

Parey Buchverlag, Berlin, S:361-379.

Broadbent PJ, Stewart M, Dolman DF (1991).

Recipient management and embryo transfer.

Theriogenology 35(1), 125-139.

Busch W (1991).

Brunstverhalten und Zyklusrhythmik.

In: W Busch, K Löhle und W Peter: Künstliche Besamung bei Nutztieren.

Fischer Verlag, Jena, 401.

Butler WR, Smith RD (1989).

Interrelationships between Energy Balance and Postpartum Reproductive Function in Dairy Cattle.

Journal of Dairy Science 72, 767-783.

Butler WR (1998).

Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle.

Journal of Dairy Science 81, 2533-2539.

Callesen H, Bak A, Greve T (1994).

Embryo recipients: dairy cows or heifers?

Proceedings of the Tenth Scientific Meeting of the European Embryo Transfer Association Lyon, France, 125-135.

Chaffaux S, Reddy GNS, Valon F, Thibier M (1986).

Transrectal real-time ultrasound scanning for diagnostic pregnancy and for monitoring embryonic mortality in dairy cattle.

Animal Reproduction Science 10, 193-200.

Chagas e Silva J, Cidado R, Silva JR, Costa LLd (1999a).

Effect of embryo and recipient on pregnancy rate and embryo-fetal mortality following transfer in cattle.

Proceedings of the Third Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction Anger, France, 47 (Abstrakt).

Chagas e Silva J, Cidado MR, Lopes DCL (1999b).

Effect of parity and type of estrus of recipient on pregnancy rate following embryo transfer in dairy cattle.

Proceedings of the 15th Scientific Meeting of the A.E.T.E. Lyon, France, 132 (Abstrakt).

Chagas e Silva J, Costa LLd, Silva JR (2002).

Plasma progesterone profiles and factors affecting embryo-fetal mortality following embryo transfer in dairy cattle.

Theriogenology 58, 51-59.

Coleman DA (1987).

Estrous Synchronization and Establishment of Pregnancy in Bovine Embryo Transfer Recipients. Journal of Dairy Science 70, 858-866.

Coultard H (1991).

On farm embryo transfer in cattle.

In Practice 13, 16-22.

Curran S, Pierson RA, Ginther OJ (1986a).

Ultrasonographic appearance of bovine conceptus from days 10 through 20.
Journal of the American Veterinary Medical Association 189(10), 1289-1294.

Curran S, Pierson RA, Ginther OJ (1986b).

Ultrasonographic appearance of bovine conceptus from days 20 through 60.
Journal of the American Veterinary Medical Association 189(10), 1295-1302.

Diskin MG, Sreenen JM (1980).

Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination.
Journal of Reproduction and Fertility 59, 463-468.

Dochi O, Yamamoto Y, Saga H, Yoshiba N, Kano N, Maeda J, Miyata K, Yamauchi A,
Tominaga K, Oda Y, Nakashima T, Inohae S (1998).

Direct transfer of bovine embryos frozen-thawed in the presence of Propylene Glycol or Ethylene
Glycol under on-farm conditions in an integrated embryo transfer program.
Theriogenology 49, 1051-1058.

Donaldson LE (1985).

Matching of embryo stages and grades with recipient oestrous synchrony in bovine embryo
transfer.
The Veterinary Record 117, 489-491.

Driancourt MA (1991).

Follicular Dynamics in Sheep and Cattle.
Theriogenology 35, 55-79.

Dunne LD, Diskin MG, Sreenan JM (2000).

Embryo and fetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term.
Animal Reproduction Science 58, 39-44.

Elsaesser F, Ellendorf F, Smidt D (1979).

Die Milchprogesteron-Bestimmung als Mittel zur Objektivierung des Fruchtbarkeitsstatus von Milchkuhherden in der post-partum Phase.

Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 86, 53-54.

Esslemont RJ (1993).

Relationship between herd calving to conception interval and culling rate for failure to conceive.

The Veterinary Record 133, 163-164.

Farin PW, Britt JH, Shaw DW, Slenning BD (1995).

Agreement among evaluators of bovine embryos produced in vivo or in vitro.

Theriogenology 44, 339-349.

Forar AL, Gay JM, Hancock DD (1995).

The frequency of endemic fetal loss in dairy cattle: a review.

Theriogenology 43, 989-1000.

Fortune JE, Sirois J, Turzillo AM, Lavoie M (1991).

Follicle Selection in Domestic Ruminants.

Journal of Reproduction and Fertility, Suppl. 43, 187-198.

Fortune JE (1993).

Follicular dynamics during the bovine estrous cycle: A limiting factor in improvement of fertility?

Animal Reproduction Science 33, 111-125.

Franco OJ, Drost M, Thatcher M-J, Shille VM, Thatcher WW (1987).

Fetal survival in the cow after pregnancy diagnosis by palpation per rectum.

Theriogenology 27(4), 631-644.

Fuentes S, de la Fuente J (1997).

Different synchronization treatments for direct embryo transfer to recipients.

13^e Réunion A.E.T.E., Lyon, 148 (Abstrakt).

Garcia A, Weijden GCvd, Colenbrander B, Bevers MM (1999).

Monitoring follicular development in cattle by real-time ultrasonography: a review.

The Veterinary Record 145, 334-340.

Garcia A, Salaheddine M (2000).

Ultrasonic Morphology of the Corpora Lutea and Central Luteal Cavities during Selection of Recipients for Embryo Transfer.

Reproduction of Domestic Animals 35, 113-118.

Gerbermann H (1990).

Chlamydiose beim Rind und ihre Bedeutung im Fruchtbarkeitsgeschehen.

Wiener Tierärztliche Monatsschrift 78, 13-19.

Ginther OJ, Knopf L, Kastelic JP (1989a).

Temporal Associations among Ovarian Events in Cattle during Oestrous Cycles with two and three Follicular Waves.

Journal of Reproduction and Fertility 87, 223-230.

Ginther OJ, Kastelic JP, Knopf L (1989b).

Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrus cycle.

Animal Reproduction Science 20, 187-200.

Ginther OJ, Kastelic JP, Knopf L (1989c).

Intraovarian relationships among dominant and subordinate follicles and the corpus luteum in heifers.

Theriogenology 32, 787-795.

Giri SN, Chen Z, Carroll EJ, Mueller R, Schiedt MJ, Panico L (1984).
Role of prostaglandins in pathogenesis of bovine mastitis induced by Escherichia coli endotoxin.
American Journal of Veterinary Research 45, 586-591.

Goff AK (2002).
Embryonic Signals and Survival.
Reproduction of Domestic Animals 37, 133-139.

Gordon J (1994).
Laboratory Production of Cattle Embryos.
Cab International, Wallingford (U.K.), S: 329.

Görlach A (1997).
Embryotransfer beim Rind.
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.

Grunert E (1999a).
Die Gynäkologische Untersuchung.
In: E Grunert, Ad Kruif (Hrsg.), Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind.
Parey Buchverlag, Berlin, S: 29-59.

Grunert E (1999b).
Ovarielle Dysfunktionen.
In: E Grunert, Ad Kruif (Hrsg.), Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind.
Parey Buchverlag, Berlin, S: 111-142.

Grunert E (1999c).
Sexualzyklus.
In: E Grunert, Ad Kruif (Hrsg.), Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind.
Parey Buchverlag, Berlin, S: 3-11.

Grygar I, Kudlac E, Dolezel R, Nedbalkova J (1997).

Volume of luteal tissue and concentration of serum progesterone in cows bearing homogeneous corpus luteum or corpus luteum with cavity.

Animal Reproduction Science 49, 77-82.

Hanekamp WJA (1999).

Transfer of Beef Embryos in Dairy Cows: Influence of Recipient and Embryo Quality on Pregnancy Rate and Calving Performance.

Reproduction of Domestic Animals 34, 459-463.

Hansel W, Concannon PW, Lukaszewska JH (1973).

Corpora Lutea of the Large Domestic Animals.

Biology of Reproduction 8, 222-245.

Hansen PJ (1997).

Interactions between the immune system and the bovine conceptus.

Theriogenology 47, 121-130.

Hanzen C, Laurent Y (1991).

Application de l'échographie bidimensionnelle au diagnostic de gestation et à l'évaluation de l'incidence de la mortalité embryonnaire dans l'espèce bovine.

Annales de Médecine Vétérinaire 135, 481-487.

Hanzen C, Drion PV, Lourtie O, Depierreux C, Christians E (1999).

La mortalité embryonnaire 1. Aspects cliniques et facteurs étiologiques dans l'espèce bovine.

Annales de Médecine Vétérinaire 143, 91-118.

Hanzen C, Pieterse M, Scenczi O, M.Drost (2000).

Relative Accuracy of the Identification of Ovarian Structures in the Cow by Ultrasonography and Palpation per Rectum.

The Veterinary Journal 159, 161-170.

Hasler JF, Bowen RA, Nelson LD, Seidel Jr GE (1980).

Serum progesterone concentrations in cows receiving embryo transfers.

Journal of Reproduction and Fertility 58, 71-77.

Hasler JF, McCauley AD, Lathrop WF, Foote RH (1987).

Effect of Donor-Recipient Interactions on Pregnancy Rate in a Large-Scale Bovine Embryo Transfer Program.

Theriogenology 27(1), 139-169.

Hasler JF (2001).

Factors Affecting Frozen and Fresh Embryo Transfer Pregnancy Rates in Cattle.

Theriogenology 56, 1401-1415.

Hasler JF, McCauley AD, Lathrop WF, Foote RH (1987).

Effect of Donor-Recipient Interactions on Pregnancy Rate in a Large-Scale Bovine Embryo Transfer Program.

Theriogenology 27(1), 139-169.

Heuwieser W, Müller K, Ahlers D (2000).

Trächtigkeitsuntersuchung beim Rind.

Der praktische Tierarzt 81(7), 587-589.

Horsch F (1980).

Epizootiologie, Pathogenese und Infektionsabwehr bei den Chlamydieninfektionen der Wiederkäuer.

Wissenschaftliche Zeitschrift der Humboldt-Universität zu Berlin, Math.- Nat. R. 29(1), 5-9.

Humblot P (2001).

Use of Pregnancy Specific Proteins and Progesterone assays to Monitor Pregnancy and Determine the Timing, Frequencies and Sources of Embryonic Mortality in Ruminants.

Theriogenology 56, 1417-1433.

Ireland JJ (1987).

Control of follicular growth and development.

Journal of Reproduction and Fertility 34, 39-54.

Ireland JJ, Roche JF (1983).

Development of Nonovulatory Antral Follicles in Heifers: Changes in Steroids in Follicular Fluid and Receptors for Gonadotropins.

Endocrinology 112, 150-156.

Iriarte J, Garcia F, Mendizabal J (1991).

Selection of bovine recipients according to the plasma progesterone concentrations.

7è Réunion A.E.T.E.- Cambridge, 148 (Abstrakt).

Janowitz U (1994).

Untersuchung zu Einflussfaktoren auf den Transfererfolg bei Empfängern im Rahmen des Embryotransfers beim Rind.

Vet. Med. Diss., Justus-Liebig-Universität Gießen.

Jeffcoate IA, Ayliffe TR (1995).

An ultrasonographic study of bovine cystic ovarian disease and its treatment.

The Veterinary Record 136, 404-410.

Kähn W (1985).

Zur Trächtigkeitsdiagnose beim Rind mittels Ultraschall.

Tierärztliche Umschau 40, 472-477.

Kähn W (1986).

Vorkommen und Wachstumsdynamik von Gelbkörpern mit Hohlraum während des Ovarialzyklus bei Rindern und deren Hormonprofile.

Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 93, 465-520.

Kähn W, Leidl W (1986).

Die Anwendung der Echographie zur Diagnose der Ovarfunktion beim Rind.

Tierärztliche Umschau 41, 3-12.

Kähn W (1989).

Die Entwicklung von Follikeln beim Rind: Veränderung ihrer Anzahl und Grösse während des Ovarialzyklus.

Berlin Münchener Tierärztliche Wochenschrift 102, 44-49.

Kähn W, Leidl W, Rienmüller R (1989).

Die Kammerung des Rinderuterus während der Frühgravidität. Ein Vergleich morphologischer, sonographischer und kernspintomographischer Befunde.

Journal of Veterinary Medicine A 36, 641-652.

Kähn W (1991).

Die Ultraschalldiagnostik beim Rind.

In: W Kähn (Hrsg.), Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik: Gynäkologische Untersuchung und Reproduktion.

Schlütersche Verlagsanstalt und Druckerei, Hannover, S: 83-185.

Kähn W (1997).

Ultraschalldiagnostik an Uterus, Fetus und Ovarien.

In: U Braun (Hrsg.), Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik beim Rind.

Parey Buchverlag, Berlin, S: 207-225.

Kassam A, BonDurant RH, Basu S, Kindahl H, Stabenfeldt GH (1987).

Clinical and endocrine responses to embryonic and fetal death induced by manual rupture of the amniotic vesicle during early pregnancy in cows.

Journal of the American Veterinary Medical Association 191(4), 417-420.

Kastelic JP, Curran S, Ginther OJ (1989).

Accuracy of ultrasonography for pregnancy diagnosis on days 10 to 22 in heifers.
Theriogenology 31(4), 813-820.

Kastelic JP, Ginther OJ (1989).

Fate of conceptus and corpus luteum after induced embryonic loss in heifers.
Journal of the American Veterinary Medical Association 194(7), 922-928.

Kastelic JP, Pierson RA, Ginther OJ (1990a).

Ultrasonic morphology of corpora lutea and central luteal cavities during the estrus cycle and early pregnancy in heifers.
Theriogenology 34(3), 487-497.

Kastelic JP, Knopf L, Ginther OJ (1990b).

Effect of day of prostaglandin F₂α treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers.
Animal Reproduction Science 23, 169-180.

Kastelic JP, Bergfelt DR, Ginther OJ (1990c).

Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers.
Theriogenology 33(6), 1269-1278.

Kastelic JP, Bergfelt DR, Ginther OJ (1991a).

Ultrasonic detection of the conceptus and characterization of intrauterine fluid on days 10 to 22 in heifers.
Theriogenology 35(3), 569-581.

Kastelic JP, Northey DL, Ginther OJ (1991b).

Spontaneous Embryonic Death on Days 20 to 40 in Heifers.
Theriogenology 35(2), 351-363.

King KK, Seidel Jr GE, Elsdon RP (1985).

Bovine embryo transfer pregnancies. Part I. Abortion rates and characteristics of calves.
Journal of Animal Science 61, 747-757.

King ME, Odde KG, Lefever DG, Brown LN, Neubauer CJ (1986).

Synchronization of estrus of embryo transfer recipients receiving demi-embryos with Synchron-Mate B or Estrumate.

Theriogenology 26(2), 221-229.

Kito S, Okuda K, Miyazawa K, Sato K (1986).

Study on the appearance of the cavity in the corpus luteum of cows by using ultrasonic scanning.
Theriogenology 25(2), 325-333.

Knopf L, Kastelic JP, Schallenberger E, Ginther OJ (1989).

Ovarian follicular dynamics in heifers: Test of two-wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles.

Domestic Animal Endocrinology 6(2), 111-119.

König I, Rommel P (1987).

In: Embryotransfer beim Rind: Biologie Technik Organisation.
Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin.

Küsters G (1983).

Tiefgefrierversuche mit Rinderembryonen unter besonderer Berücksichtigung der Ausverdünnungsmethoden.

Vet. Med. Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover.

Kuzan FB (1990).

Classification of embryos prior to freezing.

In: GE Jr Seidel (Hrsg.), Bovine Embryo Transfer, short course proceedings.

Colorado State University, Fort Collins, S: 38-55.

Leibo SP, Waininger D (1986).

Production of bovine pregnancies from embryos transported at 0 °C by air.

Theriogenology 25, 165 (Abstrakt).

Leibo SP (1986).

Commercial production of pregnancies from one-step diluted frozen-thawed bovine embryos.

Theriogenology 25(1), 166 (Abstrakt).

Lester TD, McNew RW, Rorie RW (1999).

Use of electronic estrous detection to evaluate the effect of embryo-recipient synchrony on pregnancy rate in cattle.

Theriogenology 51, 265 (Abstrakt).

Linares T (1981).

Embryonic development in repeat breeder and virgin heifers seven days after insemination.

Animal Reproduction Science 4, 189-198.

Lindner GM, Wright RW (1983).

Bovine embryo morphology and evaluation.

Theriogenology 20(4), 407-416.

López-Gatius F, Santolaria P, Yániz J, Rutllant J, Béjar ML-R (2002).

Factors affecting pregnancy loss from gestation Day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd.

Theriogenology 57, 1251-1261.

Lucy MC, Savio JD, Badinga L, Sota RLDL, Thatcher WW (1992).

Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle.

Journal of Animal Science 70, 3615-3626.

Malayer BJR, Hansen PJ, Gross TS, Thatcher WW (1990).

Regulation of heat shockinduced alterations in the release of prostaglandins by the uterine endometrium of cows.

Theriogenology 34, 219-230.

Mann GE, Lamming GE, Payne JH (1998).

Role of early luteal phase progesterone in control of the timing of the luteolytic signal in cows.

Journal of Reproduction and Fertility 113, 47-51.

Mann GE, Lamming GE (1999).

The Influence of Progesterone During Early Pregnancy in Cattle.

Reproduction in Domestic Animals (Suppl.) 34, 269-274.

Mann GE, Lamming GE, Robinson RS, Wathes DC (1999).

The regulation of interferon- τ production and uterine hormone receptors during early pregnancy.

Journal of Reproduction and Fertility(Suppl.) 54, 317-328.

Mann GE (2002).

Corpus luteum function and early embryonic death in the bovine.

XXII. World Buiatric Congress Hannover, Germany, 300-306.

Mansfeld R, Heuwieser W, Hoedemaker M (1999).

Two Different Programs to Improve Reproductive Efficiency in Dairy Herds with Special Regard to the Treatment of Endometritis.

Reproduction of Domestic Animals 34, 275-276.

Mansfeld R, Kruif Ad, Hoedemaker M, Heuwieser W (1999).

Fruchtbarkeitsüberwachung auf Herdenbasis.

In: E Grunert, Ad Kruif (Hrsg.), Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind.

Parey Buchverlag, Berlin, S: 337-350.

Martin TL, Fogwell RL, Ireland JJ (1991).

Concentrations of inhibins and steroids in follicular fluid during development of dominant follicles in heifers.

Biology of Reproduction 44, 693-700.

Maurer RR, Echternkamp SE (1982).

Hormonal asynchrony and embryonic development.

Theriogenology 17, 11.

Maurer RR, Chenault JR (1983).

Fertilization failure and Embryonic mortality in Parous and Nonparous Beef cattle.

Journal of Animal Science 56(5), 1186-1189.

Max A, Jurka P, Witkowski M, Boryczko Z, Bostedt H (1997).

Kritischer Vergleich zwischen klinisch und ultrasonographisch erfassten Ovarbefunden im Interoestrus des Rindes.

Tierärztliche Praxis 25, 207-211.

Meinecke M, Meinecke-Tillmann S (1990).

Assessment of the embryo quality in cattle and small ruminants.

6e Réunion A.E.T.E. Lyon, 53-66.

Müller E, Rath D, Klug E, Merkt M (1986).

Die Anwendbarkeit der Sonographie zur Diagnostik am weiblichen Genitale des Rindes.

Berlin Münchner Tierärztliche Wochenschrift 99, 311-318.

Müller KW (2000).

Genauigkeit und Wirtschaftlichkeit einer Trächtigkeitsuntersuchung mittels Ultraschall zwischen dem 20. und 34. Tag nach der künstlichen Besamung bei Kühen und Färsen.

Vet. Med. Diss., Freie Universität Berlin.

Murphy MG, Enright WJ, Crowe MA, McConnell K, Spicer LJ, et al. (1991).

Effect of intake on pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle in beef heifers.

Journal of Reproduction and Fertility 92, 333-338.

Nation DP, Burke CR, Rhodes FM, Macmillan KL (1999).

The inter-ovarian distribution of dominant follicles is influenced by the location of the corpus luteum of pregnancy.

Animal Reproduction Science 56, 169-176.

Nelson LD, Elsdon RP, Seidel Jr GE (1982).

Effect of synchrony between estrous cycles of donors and recipients on pregnancy rates in cattle.

Theriogenology 17(1), 101(Abstrakt).

Neumann D (1999).

Die Entwicklung der Sonographie in der Tiermedizin.

Vet. Med. Diss., LMU München.

Newcomb R, Rowson LEA (1980).

Investigation of physiological factors affecting non-surgical transfer.

Theriogenology 1, 41-49.

Niemann H, Lampeter WW, Sacher B, Kruff B (1982).

Comparison of survival rates of day 7 and day 8 bovine embryos after fast freezing and thawing.

Theriogenology 18(4), 445-452.

Niemann H, Sacher B, Elsaesser F (1985).

Pregnancy rates relative to recipient plasma progesterone levels on the day of nonsurgical transfer of frozen/thawed bovine embryos.

Theriogenology 23(4), 631-639.

Niemann H, Meinecke B (1993).

Embryotransfer und assoziierte Biotechniken bei landwirtschaftlichen Nutztieren.

Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.

Nohner HP (1986).

Versuche zur Tiefgefrierkonservierung von Rinderembryonen unter besonderer Berücksichtigung verschiedener Ausverdünnungsverfahren.

Vet. Med. Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover.

Okuda K, Kito S, Sumi N, Sato K (1988).

A study of central cavity in the bovine corpus luteum.

The Veterinary Record 123, 180-183.

Omran SN, Ayliffe TR, Boyd JS (1988).

Preliminary observations of bovine ovarian structures using B-mode real time ultrasound.

The Veterinary Record 122, 465-466.

Ott RS, Bretzlaff KN, Hixon JE (1986).

Comparison of palpable corpora lutea with serum progesterone concentrations in cows.

Journal of the American Veterinary Medical Association 188(12), 1417-1419.

Otter T (1994).

Pregnancy rate of fresh and frozen-thawed cattle embryos.

10th Scientific Meeting of the A.E.T.E. Lyon, France, 228 (Abstrakt).

Peters AR (1996).

Embryo mortality in the cow.

Animal Breeding Abstract 64, 587-598.

Pierson RA, Ginther OJ (1984a).

Ultrasonography of the bovine ovary.

Theriogenology 21(3), 495-504.

Pierson RA, Ginther OJ (1984b).

Ultrasonography for detection of pregnancy and study of embryonic development in heifers.

Theriogenology 22, 225-233.

Pierson RA, Ginther OJ (1986).

Ovarian follicular populations during early pregnancy in heifers.

Theriogenology 26(5), 649-659.

Pierson RA, Ginther OJ (1987a).

Reliability of diagnostic ultrasonography for identification and measurement of follicles and detecting the corpus luteum in heifers.

Theriogenology 28(6), 927-936.

Pierson RA, Ginther OJ (1987b).

Intraovarian effect of the corpus luteum on ovarian follicles during early pregnancy in heifers.

Animal Reproduction Science 15, 53-60.

Pierson RA, Ginther OJ (1988).

Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle.

Theriogenology 29(1), 21-37.

Pieterse MC, Szenci O, Willemse AH, Bajcsy CSA, Dieleman SJ, Taverne MAM (1990a).
Early pregnancy diagnosis in cattle by means of linear-array real-time ultrasound scanning of the uterus and a qualitative and quantitative milk progesteron test.
Theriogenology 33(3), 697-707.

Pieterse MC, Taverne MAM, Kruip TAM, Willemse AH (1990b).
Detection of corpora lutea and follicles in cows: A comparison of transvaginal ultrasonography and rectal palpation.
The Veterinary Record 126, 552-554.

Pollard JW, Leibo SP (1994).
Chilling sensitivity of mammalian embryos.
Theriogenology 41(1), 101-106.

Pope GS, Gupta SK, Munro IB (1969).
Progesterone levels in the systemic plasma of pregnant, cycling and ovariectomized cows.
Journal of Reproduction and Fertility 20, 369 - 381.

Prakash BS, Meyer HHD, Schallenberger E, Wiel DFMVD (1987).
Development of a sensitive enzymeimmunoassay (EIA) for progesterone determination in unextracted bovine plasma using the second antibody technique.
Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 28, 623-627.

Putney DJ, Thatcher WW, Drost M, Wright JM, DeLorenzo MA (1988).
Influence of environmental temperature on reproductive performance of bovine embryo donors and recipients in the southwest region of the United States.
Theriogenology 30(5), 905-922.

Quirk SM, Hickey GJ, Fortune JE (1986).

Growth and regression of ovarian follicles during the follicular phase of the oestrous cycle in heifers undergoing spontaneous and PGF₂α-induced luteolysis.

Journal of Reproduction and Fertility 77, 211-219.

Rajamahendran R, Taylor C (1990).

Characterization of ovarian activity in postpartum dairy cows using ultrasound imaging and progesterone profiles.

Animal Reproduction Science 22, 171-180.

Rattenberger E, Richter O (1983).

Lösung von Fruchtbarkeitsproblemen bei Rindern durch den Milchprogesterontest.

Der Tierzüchter 6/7, 229-230.

Reeves JJ, Rantanen NW, Hauser M (1984).

Transrectal real-time ultrasound scanning of the cow reproductive tract.

Theriogenology 21(3), 485-493.

Remsen LG, Roussel JD, Karihaloo AK (1982).

Pregnancy rates relating to plasma progesterone levels in recipient heifers at day of transfer.

Theriogenology 18(1), 365-372.

Ribadu AY, Ward WR, Dobson H (1994).

Comparative evaluation of ovarian structures in cattle by palpation per rectum, ultrasonography and plasma progesterone concentration.

The Veterinary Record 135, 452-457.

Roche JF, Bolandl MP, McGeady TA (1981).

Reproductive wastage following artificial insemination of heifers.

The Veterinary Record 109, 401-404.

Rosenberger G (1977).

Klinische Untersuchungen des Rindes.

Parey Buchverlag, Berlin.

Ryan DP, Prichard JF, Kopel E, Godke RA (1992).

Comparing early embryo mortality in dairy cows during hot and cool seasons of the year.

Theriogenology 39, 719-737.

Savio JD, Keenan L, Bowland MP, Roche JF (1988).

Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers.

Journal of Reproduction and Fertility 88, 663-671.

Schams D, Hoffmann B, Fischer S, Marz E, Karg H (1972).

Simultaneous determination of LH and progesterone in peripheral bovine blood during pregnancy, normal and corticoid-induced parturition and the post-partum period.

Journal of Reproduction and Fertility 29, 37-48.

Schneebeli J, Eggenberger E (1985).

Klinische Untersuchungen über die Follikelbildung auf dem Rinderovar.

Schweizer Archiv für Tierheilkunde 127, 213-230.

Schneider HJJ, Castleberry RS, Griffin JL (1980).

Commercial aspect of bovine embryo transfer.

Theriogenology 13, 73-85.

Schrick FN, Hockett ME, Towns TM, Edwards JL, Wehrman ME, Wert NE (2000).

Prostaglandin F₂α appears to directly influence early embryonic survival in cattle: Would administration of Flunixin Meglumine be beneficial during embryo transfer.

American Embryo Transfer Association.

19th Annual Convention Sacramento, California, 9-16.

Schwab J (2000).

Der Einsatz von Ultraschall zur Untersuchung von Spenderkühen im Embryotransfer.
Vet. Med. Diss., LMU München.

Seidel GE Jr, Seidel SM (1991).

Training manual for embryo transfer in cattle.
FAO Animal Production and Health Paper, Fort Collins, USA, S: 77.

Shea BF (1981).

Evaluating the bovine embryo.
Theriogenology 15(1), 31-37.

Shelton K, Abreu MFGd, Hunter MG, Parkinson TJ, Lamming GE (1990).

Luteal inadequacy during the early luteal phase of subfertile cows.
Journal of Reproduction and Fertility 90, 1-10.

Shemesh M, Ayalon N, Lindner HR (1968).

Early effect of conceptus on plasma progesterone level in the cow.
Journal of Reproduction and Fertility 15, 161-164.

Singh J, Pierson RA, Adams GP (1997).

Ultrasound image attributes of the bovine corpus luteum: structural and functional correlates.
Journal of Reproduction and Fertility 109, 35-44.

Sirois J, Fortune J (1988).

Ovarion Follicular Dynamics during the Estrous Cycle in Heifers Monitored by Real-time
Ultrasonography.
Biology of Reproduction 39, 308-317.

- Smith AK, Broadbent PJ, Folman DF, Grimmer SP, Davies DAR, Dobson H (1996).
Norgestomet implants, plasma progesterone concentrations and embryo transfer pregnancy rates
in cattle.
The Veterinary Record 139, 187-191.
- Spell AR, Beal WE, Corah LR, Lamb GC (2001).
Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in Beef
cattle.
Theriogenology 56, 287-297.
- Sprecher DJ, Nebel RL, Whiman SS (1988).
The predictive value, sensitivity and specificity of palpation per rectum and transrectal
ultrasonography for the determination of bovine luteal status.
Theriogenology 31(6), 1165-1171.
- Sreenan JM, Diskin MG (1987).
Factors affecting pregnancy rate following embryo transfer in the cow.
Theriogenology 27(1), 99-113.
- Stock AE, Stolla R (1995).
Der dominante Ovarfollikel beim Rind - Physiologische Zusammenhänge und praktische
Bedeutung.
Tierärztliche Umschau 50, 543-550.
- Stolla R, Himmer B (1980).
Probleme bei rektaler Untersuchung der Ovarien.
Praktischer Tierarzt 61, Coll. Vet. X., 9-12.

Stubbings RB, Walton JS (1986).

Relationship between plasma progesterone concentrations and pregnancy rates in cattle receiving either fresh or previously frozen embryos.

Theriogenology 26(2), 145-155.

Sunderland SJ, Crowe MA, Bowland MP, Roche JF, Ireland JJ (1994).

Selection, Dominance and Atresia of Follicles during the Oestrous Cycle of Heifers.

Journal of Reproduction and Fertility 101, 547-555.

Szenci O, Beckers JF, Varga J, Taverne MAM (1995).

Effect of uterus position relative to the pelvic inlet on the accuracy of early pregnancy diagnosis by means of ultrasonography.

Veterinary Quarterly 17, 37-39.

Szenci O, Beckers JF, Humblot P, Sulon J, Sasser G, Taverne MAM, Varga J, Baltusen R, Schekk G (1998).

Comparison of ultrasonography, bovine pregnancy-specific protein B, and bovine pregnancy-associated glycoprotein 1 tests for pregnancy detection in dairy cows.

Theriogenology 50, 77-88.

Szenci O, Humblot P, Beckers JF, Saspers G, Sulon J, Baltusen R, Varga J, Bajcsy CA, Traverne MAM (2000).

Plasma Profiles of Progesterone and Conceptus Proteins in Cows with Spontaneous Embryonic/Fetal Mortality as Diagnosed by Ultrasonography.

The Veterinary Journal 159, 287-290.

Taverne MAM, Szenci O, Szötag J, Piros A (1985).

Pregnancy diagnosis in cows with linear-array real-time ultrasound scanning: a preliminary note.

Veterinary Quarterly 7, 264-270.

Tervit HR, Cooper MW, Goold PG, Haszard GM (1980).

Non-surgical embryo transfer in cattle.

Theriogenology 13, 63-72.

Thatcher WW, Staples CR, Danet-Desnoyers G, Oldick B, Schmitt EJ-P (1994).

Embryo health and mortality in sheep and cattle.

Journal of Animal Science 72 (Suppl.) 3, 16-30.

Thatcher WW, Mayer MD, Danet-Desnoyers G (1995).

Maternal recognition of pregnancy.

Journal of Reproduction and Fertility 49 (Suppl.), 15-28.

Thibier M, Nibart M (1992).

Clinical aspects of embryo transfer in some domestic animals.

Animal Reproduction Science 28, 139-148.

Vaillancourt D, Bierschwal CJ, Ogwu D, Elmore RG, Martin CE, Sharp AJ, Youngquist RS (1979).

Correlation between pregnancy diagnosis by membrane slip and embryonic mortality.

Journal of the American Veterinary Medical Association 175(5), 466-468.

Vanroose G, Kruif Ad, Soom AV (2000).

Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions.

Animal Reproduction Science 60-61, 131-143.

Veronesi MC, Gabai G, Battocchio M, Mollo A, Soldano F, Bono G, Cairoli F (2002).

Ultrasonographic appearance of tissue is a better indicator of CL function than CL diameter measurement in dairy cows.

Theriogenology 58, 61-68.

Wagtendonk de Leeuw AM (1996).

Evaluation of uniformity among persons in embryo grading from video recordings.
Theriogenology 45, 230 (Abstrakt).

Wathes DC (1992).

Embryonic mortality and the uterine environment.
Journal of Endocrinology 134, 321-325.

Weber F (1994).

Kriterien zur Auswahl von Empfängertieren zur Optimierung des Embryotransfers beim Rind.
Diss. der Agrarwissenschaften, Technische Universität München.

Weigelt B, Weigelt R, Barth T, Bach S, Eulenberger K, Schulz J (1988).

Untersuchungen zur embryonalen Mortalität in einer Milchkuhherde.
Monatsheft der Veterinärmedizin 43, 157-160.

Weijden GCvd, Taverne M (1999).

Trächtigkeitsuntersuchung.

In: E Grunert, Ad Kruif (Hrsg.), *Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind*.
Parey Buchverlag, Berlin, S: 78-92.

White IR, Russel AJF, Wtight IA, Whyte TK (1985).

Real-time ultrasonic scanning in the diagnosis of pregnancy and the estimation of gestational age in cattle.

The Veterinary Record 117, 5-8.

Wittenbrink MM, Schoon HA, Mansfeld R, Bisping W (1993).

Endometritis in the cattle experimentally induced by *Chlamydia psittaci*.
Journal of Veterinary Medicine B 40, 437-450.

Wright JM (1981).

Non-surgical embryo transfer in cattle: Embryo-recipient interactions.

Theriogenology 15(1), 43-56.

Zaied AA, Bierschwal CJ, Elmore RG, Youngquist RS, Sharp AJ, Gaverick HA (1979).

Concentrations of progesterone in milk as a monitor of early pregnancy diagnosis in dairy cows.

Theriogenology 12, 3-11.

ANHANG

Anhang 1: Empfängertier-Untersuchungsplan für Tag 0

Laufende Nummer:

OM.-Nr.:

Name:

Kuh/Kalbin:

Anzahl Abkalbungen:

Letztes Abkalbedatum:

Besitzer:

Datum:

Zyklustag:

Datum PgF2 α -Injektion: o morgens o abends

Brunstsymptome: o deutlich o fraglich o keine

Schamlippen: o blass, gefaltet, trocken
 o gerötet, geschwollen, wärmer

Brunstschleim: o kein o vorhanden, fadenziehend
 o vorhanden, eingedickt

Blut: o kein o vorhanden

Eiter: o kein o vorhanden

Scheidenschleimhaut: o ohne besonderen Befund sonstiges:

Uteruskontraktion: o gering o mäßig o stark

Progesteronprobe:

Laufende Nummer des Eppendorfgefäßes: .0 a/b

Plasmaprobe eingefroren am:

Plasmaprobe gelagert bei: o Besitzer o BVN/RBW

Anhang 2: Empfängertier-Untersuchungsplan für Tag 7

Laufende Nummer:

OM.-Nr.:

Besitzer:

Datum:

Zyklustag:

Embryo übertragen von:

Gelbkörperbewertung:

Scheidenschleimhaut: o ohne besonderen Befund sonstiges:

Ultraschalluntersuchung:

Videokassetten-Nr.:

Seite des C.I.: o rechts o links

C.I. mit Hohlraum: o ja/groß o ja/klein o nein

Größter Follikel: o rechts o links

Embryo übertragen: o ja o nein

Embryoart: o frisch o tiefgefroren/aufgetaut EG/G

Entwicklungsstand und Qualität:

Kenndaten vom Spendertier: Kuh/ Jungrind

Progesteronprobe:

Laufende Nummer des Eppendorfgefäßes: .7 a/b

Plasmaprobe eingefroren am:

Plasmaprobe gelagert bei: o Besitzer o BVN/RBW

Anhang 3: Empfängertier-Untersuchungsplan für Tag 21

Laufende Nummer:

OM.-Nr.:

Besitzer:

Datum:

Zyklustag:

Seite des C.I. am Tag 7: o rechts o links

Gelbkörperbewertung am Tag 7:

Ultraschalluntersuchung:

Videokassetten-Nr.:

Seite des C.I. am Tag 21: o rechts o links

C.I. mit Hohlraum: o ja/groß o ja/klein o nein

Größter Follikel: o rechts o links

Brunstsymptome: o deutlich o fraglich o keine

Schamlippen: o blass, gefaltet, trocken
o gerötet, geschwollen, wärmer

Brunstschleim: o kein o vorhanden, fadenziehend
o vorhanden, eingedickt

Blut: o kein o vorhanden

Eiter: o kein o vorhanden

Scheidenschleimhaut: o ohne besonderen Befund sonstiges:

Uteruskontraktion: o gering o mäßig o stark

Progesteronprobe:

Laufende Nummer des Eppendorfgefäßes: .21 a/b

Plasmaprobe eingefroren am:

Plasmaprobe gelagert bei: o Besitzer o BVN/RBW

Anhang 4: Empfängertier-Untersuchungsplan für Tag 35

Laufende Nummer:

OM.-Nr.:

Besitzer:

Datum:

Zyklustag:

Ultraschalluntersuchung:

Trächtigkeit:

ja

Videokassetten-Nr.:

nein

Datum der letzten Brunst:

Seite des C.I. am Tag 7:

rechts

links

Gelbkörperbewertung am Tag 7:

Seite der Embryoübertragung:

rechts

links

Embryo lokalisiert:

ja

nein

Seite des Embryos:

rechts

links

Herzschlag:

ja

nein

Progesteronprobe:

Plasmaprobe abgeholt am:

CURRICULUM VITAE

Persönliche Daten :

Name : Christiane Thérèse Vaessen
Geburtsdatum : 15. Dezember 1972
Geburtsort : Ettelbrück, Luxemburg
Konfession : römisch-katholisch
Staatsangehörigkeit : Luxemburgerin
Eltern : Hendricus Hubertus Maria Vaessen, Landwirt
Mariette Guillemine Vaessen, geb. Theis, Hausfrau
Familienstand : ledig

Schulische Ausbildung :

Schulbildung : 1978 – 1984 Grundschule, Fouhren
1984 – 1987 Lycée technique, Diekirch
1987 – 1988 Lycée technique hôtelier « Alexis Heck », Diekirch
1988 – 1992 Lycée technique agricole, Ettelbrück
1992 Zusatzprüfung in Biologie und Umweltkunde am
Bundesgymnasium, -realgymnasium und wirtschafts-
kundl. Realgymnasium, Graz

Hochschule : 1993 – 1994 Veterinärmedizinische Universität Wien
1994 – 1996 Veterinärmedizinische Universität Budapest
1996 – 2000 Veterinärmedizinische Universität Leipzig
Februar 2000 Approbation als Tierärztin

Berufliche Tätigkeit : Februar 2000 Beginn der Arbeit an vorliegender
Dissertation an der Ludwig-Maximilian
Universität, München
Januar 2001 Angestellte der Landwirtschaftskammer Luxemburg

DANKSAGUNG

Mein aufrichtiger Dank gilt Herrn Prof. Dr. Joachim Braun für die Überlassung des praxisnahen Themas sowie für die jederzeit gewährte verständnisvolle Unterstützung und die gute Betreuung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Rudolf Stolla danke ich für die apparative Ausrüstung, die Progesteronuntersuchungen, den Arbeitsplatz im Oberwiesefeld und für die zeitweise Unterkunft in der Gynäkologischen Tierklinik.

Den Leitenden Direktoren des Besamungsvereins Neustadt a. d. Aisch e.V., Herrn Dr. Johannes Aumann und Herrn Dr. Claus Leiding möchte ich für die im Rahmen der Dr. Dr. h.c. Karl-Eibl-Stiftung gewährten Zuschüsse sowie der Bereitstellung der Wohnräume danken. Ganz besonders bedanke ich mich bei Herrn Dr. Johannes Aumann für seine Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Hans-Peter Nohner und Herrn Dr. Andreas Kling für Ihren persönlichen Einsatz und die gute fachliche Betreuung bei der Durchführung der Versuche. Weiterhin bedanke ich mich sehr herzlich beim ganzen ET-Team sowie bei allen weiteren Mitarbeitern des BVN, die an der Durchführung der Arbeit beteiligt waren.

Dem Leitenden Direktor der Rinderunion Baden-Württemberg e.V. in Herbertingen, Herrn Dr. Heinz Nüssle und Frau Dr. Anne-Rose Fischer möchte ich für Ihre Unterstützung bei der Durchführung der Versuche danken.

Weiterhin bedanke ich mich bei Herrn Dr. Heiner Bollwein, Herrn Dr. Hendrick Wenigerkind und bei Herrn Dr. Matthias Lautner für ihre Hilfe bei der praktischen Einarbeitung sowie bei Herrn Dr. Frank Weber und Frau Heidi Mayrhofer für die Bestimmung der Progesteronproben.

Herrn Willi Pütz danke ich für die großzügige Überlassung des Ultraschallgeräts SONOACE 600® der Firma Kretztechnik® mit der sämtliche Ultraschalluntersuchungen in optimaler Weise durchgeführt werden konnten.

Ebenso bedanke ich mich bei den Besitzern der Empfängertiere für die Bereitstellung der Empfänger und für ihre tatkräftige und geduldige Mithilfe bei der Ausführung der Untersuchungen.

Herrn Dr. Albert Görlach danke ich ganz besonders für seine guten fachlichen Tipps und für seine konstruktive Kritik und Frau Ingrid Görlach danke ich für ihre jederzeit freundliche und aufmunternde Unterstützung und dafür, dass Sie mir mit kleinen Tricks das « Embryonensuchen und -finden » beigebracht hat.

Frau Marion und Herrn Albert Oesch sowie Herrn Jean-Pierre Theis danke ich für die Durchsicht und das Korrekturlesen.

Meinen Mit-DoktorandInnen Frau Jutta Schwab, Frau Adriane Haenisch-Woehl, Frau Fabiana Sterza-Melo, Frau Sabrina Sarmiento und Frau Karola Petschow möchte ich ebenfalls sehr herzlichen danken.

Mein wichtigster Dank gilt jedoch meiner Familie, meinen Freunden und meinem Freund, ohne deren Vertrauen, Geduld und Unterstützung diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.