

Aus dem Institut für Zoo- und Wildtierforschung (IZW)
Im Forschungsverbund Berlin e. V.

Eingereicht beim
Fachbereich Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Experimentelle Untersuchungen zur Reproduktionsbiologie und zum
Embryotransfer beim Europäischen Reh (*Capreolus capreolus*)**

Inaugural – Dissertation
Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Alexandra Broich
Tierärztin aus Kürten
Berlin 2001

Journal-Nr: 2584

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Michael F. G. Schmidt

Erster Gutachter: Univ. -Prof. Dr. R. R. Hofmann

Zweiter Gutachter: Univ. -Prof. Dr. P. S. Glatzel

Tag der Promotion: 19.04.2002

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Allgemeiner Teil – Literaturübersicht	3
3.1 Die embryonale Diapause des Europäischen Rehs	3
3.2 Embryotransfer	7
2.2.1 Prinzip des Embryotransfers	7
2.2.1.1 Brunstsynchronisation	8
2.2.1.2 Superovulation	9
2.2.1.3 Gewinnung und Transfer von Embryonen	10
2.2.1.4 Beurteilung von Embryonen	11
2.2.1.5 Aufbewahrung und Lagerung von Embryonen	12
2.2.1.5.1 Kurzfristige Lagerung	12
2.2.1.5.2 Langfristige Lagerung	12
2.2.2 Entstehung des Embryotransfers und assoziierter Biotechniken	13
2.2.3 Anwendungsgebiete für den Embryotransfer	17
2.2.4 Einsatz des Embryotransfers bei Zoo- und Wildtieren	19
3. Spezieller Teil – Eigene Untersuchungen	
zum Embryotransfer beim Europäischen Reh	35
3.1. Zielsetzung	35
3.2 Material und Methoden	37
3.2.1 Tiermaterial	37
3.2.2 Immobilisation	37
3.2.3 Embryotransfer – Programm	38
3.2.3.1 Spendertiere	41
3.2.3.2 Empfängertiere	41
3.2.3.3 Vorbereitung der Spendertiere	41
3.2.3.3.1 Synchronisation	41
3.2.3.3.2 Superovulation	42

3.2.3.3.3	Brunstbeobachtung	42
3.2.3.4	Embryonengewinnung	42
3.2.3.4.1	Spülmedium/Kulturmedium	43
3.2.3.4.2	Nicht-chirurgische Embryonenspülung	43
3.2.3.4.3	Chirurgische Embryonenspülung	43
3.2.3.5	Embryonenbeurteilung	44
3.2.3.6	Kryokonservierung	45
3.2.3.7	Chirurgischer Embryotransfer	46
3.2.3.8	Zyklusinduktion und –synchronisation der Empfängertiere	47
3.2.3.9	Auftauen und Transfer der kryokonservierten Ovarprodukte	47
3.2.4	Ultrasonographische Verlaufsuntersuchungen	48
3.2.5	Bestimmung von Hormonprofilen	49
3.2.6	Trächtigkeitsdiagnostik	49
3.2.7	Genetischer Abstammungsnachweis	49
3.2.8	Statistische Absicherung	50
3.2.9	Postmortale Untersuchungen	50
<hr/>		
4.	Ergebnisse	52
<hr/>		
4.1	Synchronisation und Superovulation der Spendertiere	52
4.1.1	Brunstbeobachtung und Östruserkennung	52
4.1.2	Ovardynamik	53
4.1.3	Ergebnis der hormonellen Superovulation	55
4.2	Embryonengewinnung	58
4.2.1	Rückgewinnungs- und Auffindungsraten, Embryonenzahl	58
4.2.2	Embryonenklassifizierung	63
4.3	Synchronisation der Empfängertiere	66
4.4	Trächtigkeiten bei allen beteiligten Rehen	68

4.5	Trächtigkeitsrate und Entwicklungsstand der Fruchtanlagen	71
4.6	Trächtigkeitsdauer	72
4.7	Abstammungsnachweis der Embryotransfer-Kitze	73
4.8	Postmortale Untersuchungen	76
<hr/>		
5.	Diskussion	77
<hr/>		
5.1	Embryotransfer beim Europäischen Reh	77
5.1.1	Hormonelle Zyklussynchronisation und Östruserkennung	77
5.1.2	Hormonelle Superovulation	80
5.3	Embryonengewinnung	83
5.2	Frühe Embryonalentwicklung beim Europäischen Reh	85
5.3	Trächtigkeit und embryonale Diapause beim Reh nach Embryotransfer	89
<hr/>		
6.	Zusammenfassung	95
<hr/>		
7.	Summary	97
<hr/>		
8.	Literaturverzeichnis	100
<hr/>		
9.	Verzeichnis der Abbildungen	117
<hr/>		
10.	Liste der eigenen Veröffentlichungen	119
<hr/>		
	Danksagung	121
<hr/>		
	Lebenslauf	123

Abkürzungen

Abb.	Abbildung
Bez.	Bezeichnung
chir.	chirurgisch
C. ll.	Corpora lutea
DNA	desoxyribonucleotid acid
ECG	equine chorionic gonadotropine
eD	embryonale Diapause
ET	Embryotransfer
fD	fakultative Diapause
FKS	fetales Kälberserum
FSH	Follikel Stimulierendes Hormon
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormon
hCG	human Chorionic Gonadotropin
HMG	human Menopausal Gonadotropin
i.m.	intramuskulär
k. A.	keine Angabe
LH	Luteinisierungshormon
n. chir.	nicht chirurgisch
NKO	nicht-klassifizierbare Objekte
oD	obligate Diapause
PCR	polymerase chain reaction
PGF _{2α}	Prostaglandin F _{2α}
PMSG	Pregnant's Mare Serum Gonadotropin
RNA	ribonucleotid acid
Tab.	Tabelle
TAS	Transrektale Adaptersonographie
TU	Trächtigkeitsuntersuchung
UFO	unbefruchtete Oocyte
ZP	Zona pellucida

Danksagung

Für die Überlassung des hochinteressanten Themas dieser Arbeit, die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und die stets freundliche Unterstützung möchte ich mich an erster Stelle bei Herrn Prof. Dr. R. R. Hofmann recht herzlich bedanken.

Mein besonderer Dank gilt meinen beiden Kollegen und Betreuern Herrn Dr. Frank Göritz und Herrn Dr. Thomas Hildebrandt für ihre engagierte Betreuung, die Unterstützung bei der Konzeption der Arbeit, ihre unermüdliche Diskussionsbereitschaft und für alles, was ich über Ultraschall bei (Wild-)Tieren lernen durfte.

Beim Leiter der Tierklinik für Fortpflanzung der FU Berlin, Herrn Prof. Dr. P. Glatzel bedanke ich mich für die Möglichkeit, an der FU erste Kenntnisse zum Embryotransfer bei Kleinen Wiederkäuern erwerben zu können sowie für die „Bereitstellung“ des fast gesamten Mitarbeiter-Stabs der Klinik für meine Arbeit wann immer notwendig.

Bei Herrn Thomas Lengwinat möchte ich mich ganz herzlich für die tatkräftige Hilfe bei der Beschaffung des Probenmaterials bedanken.

Ein riesiges Dankeschön an alle Mitarbeiter und Kollegen des Instituts für Zoo- und Wildtierforschung sowie der Freien Universität Berlin, die mit praktischer und/oder seelischer Unterstützung auch noch weit nach Feierabend zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, vor allem:

Herrn Dr. Mirko Quest, Herrn Dr. Robert Hermes, Herrn Dr. Steffen Blottner, Herrn Dr. Jörns Fickel, Frau A. Reinsch, Herrn Guido Fritsch, Frau Mirja Fassbender, Frau Cornelia Witte, Frau Beate Peters, Frau Sigrid Holz, Frau Andrea Krause, Herrn Wolfgang Tauche, Frau Dr. Christina Baugatz, Herrn Peter Baumann, Herrn Dr. André Lange, Herrn Dr. Markus Gilles.

Ich finde, wir waren ein super Team!

Ganz lieben Dank – last, but not least – an meinem Freund Marcus, der mich während meiner Arbeit am IZW zeitweise nur selten zu Hause zu Gesicht bekam, dem deshalb manchmal der Kragen platzte und der doch niemals wirklich die Geduld verloren hat ☺ !

Lebenslauf
Alexandra Broich

Kotterhof 55
51515 Kürten

Geburtsdatum:	27.04.1971	Geburtsort:	Wipperfürth
Staatsangehörigkeit:	deutsch	Familienstand:	ledig
Beruf:	Tierärztin	Approbation:	April 1997

Familie:

Vater:	Vinzenz Broich	Beruf:	Rentner
--------	----------------	--------	---------

Mutter:	Dorothea Broich, geb. Höller
---------	------------------------------

Ausbildung:

1977 - 1981	Gemeinschaftsgrundschule Kürten-Olpe
1981 –1990	Städt. Engelbert-von-Berg-Gymnasium, Wipperfürth; Abitur
1990 – 1991	Ausbildung zur Arzthelferin, Praxis Dr. Fabig, Hückeswagen
1991 – 1997	Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin; Tierärztin

Bisherige Tätigkeiten:

1997 – 1999	Doktorandin am Institut für Zoo- und Wildtierforschung Berlin, Forschungsgruppe 6 „Reproduktionsmanagement“
seit 1999	Mitaufbau einer eigenen Firma (futterKonzept, Futtermittel und Tierzubehör)

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation nur unter zu Hilfenahme der angegebenen Literatur eigenständig erstellt habe.

Alexandra Broich