

## 2. Allgemeiner Teil – Literaturübersicht

### 2.1 Die embryonale Diapause des Europäischen Rehs

Obwohl die eD erstmals beim Reh entdeckt wurde, ist über diese reproduktionsbiologische Besonderheit gerade bei dieser Tierart vergleichsweise wenig bekannt.

Erst über 100 Jahre später beschrieben SHORT und HAY (1966) die eD beim Reh etwas näher.

Nachdem der frühe Konzeptus den Uterus erreicht und sich bis zum Stadium einer aus ihrer Eihülle (Zona pellucida, ZP) geschlüpften Blastozyste entwickelt hat, wird sein Wachstum gehemmt. Erkannt haben die Autoren dies an einer reduzierten mitotischen Aktivität der embryonalen Zellen. Die Implantation des Embryos geschieht erst Monate nach der Brunst. Man spricht daher auch von dem Begriff der „verzögerten Implantation“.

Die eD des Rehs ist, wie auch die eD vieler anderer Spezies der Familien der *Insektivora*, *Chiroptera*, *Edentata* und *Carnivora* (MEAD, 1993), obligatorisch (obligate Diapause; oD), d.h. sie findet auf jeden Fall im Zuge der Embryonalentwicklung statt. Davon abzugrenzen ist die sogenannte fakultative Diapause (fD) (Synonym: Laktationsdiapause) bei Spezies mit einem Östrus post partum. Sofern das Tier post partum neu konzipiert, wird die Retardierung des embryonalen Wachstums durch die Laktation des Muttertieres bedingt (MEAD, 1993). Der Embryo verharrt im Stadium der Diapause, bis die Säugeperiode für das erste Jungtier beendet wird. Auf diese Weise ist es den weiblichen Tieren möglich, während jeder Zuchtsaison tragend zu werden, ohne daß sich aufeinander folgende Säugeperioden überschneiden (VOGEL, 1981).

Anders ist es bei der oD des Rehs:

Als monöstrisches Tier ist das Reh nur während der ca. drei Wochen dauernden Brunst von Mitte Juli bis Anfang August paarungsbereit. Der erfolgreichen Begattung durch den Bock folgt die 5monatige Diapause, während der das Wachstums der Blastozyste minimal ist. Erst zum Ende der Diapause, kurz vor der Implantation, ist die Wachstumsgeschwindigkeit des Embryos wieder vergleichbar mit der anderer Tierarten, so daß es nach einer Tragzeit von insgesamt 10 Monaten im Mai / Juni zur Geburt der Kitze kommt.

Normalerweise korreliert die Dauer der Trächtigkeit mit dem Körpergewicht einer Tierart. Vergleicht man demnach die Tragzeit des Rehs mit der anderer Wiederkäuerarten, so zeigt sich, daß die Trächtigkeit des Rehs durch die Zwischenschaltung der Diapause von dem

Körpergewicht entsprechenden 5 bis 6 Monaten (MARTIN und MacLARNON, 1988) auf 10 Monate verlängert wird.

Diese Verlängerung der Tragzeit ermöglicht es den Tieren, energetisch aufwendige Ereignisse wie Brunst und Geburten in klimatisch günstigen Jahreszeiten (Juli/August, bzw. Mai/Juni) stattfinden zu lassen (AITKEN, 1979). Eine dem Körpergewicht des Rehs entsprechende Trächtigkeitsdauer von 5 bis 6 Monaten würde, bei einer Brunst im Sommer, zur Geburt der Kitze im Winter führen, einer Jahreszeit mit für Jungtiere extrem ungünstigen Temperaturverhältnissen und nicht ausreichendem Nahrungsangebot für den hohen Energiebedarf des Muttertieres während der Laktation.

Der Größenvergleich vermessener Embryonen zu unterschiedlichen Zeitpunkten innerhalb der eD durch unterschiedliche Autoren zeigt, daß das Wachstum der geschlüpften Blastozyste während der Diapause zwar gering ist, jedoch nicht ganz zum Stillstand kommt (BISCHOFF, 1854; KEIBEL, 1902; STIEVE, 1950; SHORT und HAY, 1966; AITKEN et al., 1973; AITKEN, 1974; LENGWINAT und MEYER, 1996; LAMBERT et al., 1999). Während der eD entwickelt sich der Embryo bis zur elongierten Blastozyste (Länge des Trophoblasten: ca. 16 mm; BISCHOFF, 1854). Ende Dezember, kurz vor der Implantation, ist die embryonale Wachstumsgeschwindigkeit wieder mit der anderer Wiederkäuerarten vergleichbar (AITKEN, 1981; LENGWINAT und MEYER, 1996). Bis zu diesem Zeitpunkt ist es endokrinologisch nicht möglich, tragende von nicht tragenden Tieren zu unterscheiden, da auch nicht tragende Tiere nach der Ovulation aktive Gelbkörper ausbilden, die sich histologisch nicht von denen tragender Rehe unterscheiden (AITKEN et al., 1973; HORAK, 1989) und die im gleichen Maße wie bei den tragenden Tieren Progesteron produzieren (SHORT und HAY, 1966; SEMPÉRÉ, 1977; SCHAMS et al., 1980). Erst nach der Implantation (Ende Dezember / Anfang Januar) sind tragende von nicht tragenden Ricken aufgrund steigender Plasmaprogesteron- und -östrogenwerte bei tragenden Tieren, bzw. fallenden Werten bei nicht tragenden Tieren, zu unterscheiden (HOFFMANN et al., 1978; SEMPÉRÉ et al., 1989). Ursächlich hierfür scheint beim Reh die Plazenta als Stätte zusätzlicher Hormonproduktion zu sein, da die Bildung akzessorischer Gelbkörper nicht nachgewiesen werden konnte, bzw. sogar das Gegenteil, die Regression einzelner Gelbkörper beschrieben wurde (HOFFMANN et al., 1978; HERMES, 1998; LAMBERT et al., 1998). Aus diesem Grunde, und aufgrund des Vorkommens embryonaler Resorptionen, korreliert beim Reh die Zahl der Gelbkörper nicht mit der Zahl der Embryonalanlagen, bzw. mit der Zahl der geborenen Kitze (BORG, 1970; HORAK, 1989; HERMES, 1998). Eine Unterscheidung tragender von nicht

tragenden Tieren mittels transkutanem Ultraschall ist, wie bei Bestimmung der Hormonwerte, erst nach der Implantation im Januar möglich. Eine neue Möglichkeit der Trächtigkeitsdiagnostik stellt der Einsatz der transrektalen Sonographie dar, mit deren Hilfe eine Trächtigkeit beim Reh bereits kurz nach der Implantation Anfang Januar dargestellt werden konnte (HERMES, 1998). Durch die computergestützte Graustufenanalyse dieser Ultraschallbilder war es sogar möglich, ab Oktober, d.h. während der eD, Trächtigkeiten auf der Basis endometrialer Flüssigkeitseinlagerung zu diagnostizieren (HERMES, 1998). Auf diese Weise konnten statistisch gesichert trächtige von nicht-trächtigen Tieren bereits zu einem bisher unmöglichen Zeitpunkt unterschieden werden.

Die hormonelle Kontrolle der Diapause, sei es in der fakultativen oder in der obligaten Form, erfolgt bei den verschiedenen Spezies auf sehr unterschiedliche Art und Weise, woraus der Schluß gezogen wurde, daß sich diese besondere reproduktionsbiologische Strategie völlig voneinander in unterschiedlichen taxonomischen Gruppen entwickelt haben muß (MEAD, 1993). Im Gegensatz zu anderen Spezies, bei denen die Regulation der verzögerten Implantation artspezifisch in engem Zusammenhang mit dem Auftreten bestimmter Hormone wie Prolactin, dem Luteinisierungshormon (LH) oder der photoperiodisch bestimmten Melatoninausschüttung steht, sind sowohl die Regulation als auch der Mechanismus für den Ablauf der Diapause beim Reh weitestgehend ungeklärt.

Eine weitere Besonderheit im hormonellen Geschehen während der Trächtigkeit des Rehs ist, daß es bisher zu keinem Zeitpunkt der Diapause gelang, das für andere Ruminantia, darunter auch Vertreter der *Cervidae*, typische Interferon- $\tau$ , welches vom Trophoblasten an seine Umgebung abgegeben wird, nachzuweisen (BAZER, 1994; FLINT et al., 1994; JABBOUR und BAINBRIDGE, 1996). Interferon- $\tau$  agiert bei anderen Wiederkäuern als präimplantatives Signal zur maternalen Erkennung der Trächtigkeit. Es hemmt die Ausbildung endometrialer Oxytocin-Rezeptoren und damit die Sekretion von uterinem  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (Prostaglandin  $\text{F}_{2a}$ ), welches am Ovar zur Luteolyse führen würde (FLINT et al., 1990). Fehlt dieses Signal, ist ein anderer Mechanismus, der verhindert, daß es zur Luteolyse und damit zum Absterben des Konzeptus kommt, unabdingbar. Daß ein solcher Mechanismus existiert, kann aus der Tatsache geschlossen werden, daß es zwar möglich ist, bei pseudograviden Rehen durch die Applikation von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  im Zeitraum von Oktober bis März eine Luteolyse herbeizuführen (SEMPÉREÉ et al., 1992), daß aber die Applikation von Oxytocin selbst nicht zu einem Anstieg von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  und damit zur Luteolyse führt (FLINT et al., 1994).

Die Monöstrie als weitere reproduktionsbiologische Besonderheit des Rehs ist eine der Voraussetzungen für den Ablauf einer eD bei dieser Tierart. Auch bei Abwesenheit von Interferon- $\tau$  kommt es durch Ausbleiben neuer Zyklen nicht zur Luteolyse.

Völlig unbekannt sind zur Zeit die Mechanismen, die ablaufen, um das Wachstum des Konzeptus zu einem bestimmten Zeitpunkt seiner Entwicklung zu retardieren, bzw. die den Embryo dazu veranlassen, sein Wachstum zu einem definierten Zeitpunkt mit unverringelter Geschwindigkeit wieder aufzunehmen. Elektronenmikroskopische Untersuchungen von uterinen Drüsen des Rehs durch AITKEN et al. (1973) zeigten, daß es während der embryonalen Diapause zur Akkumulation von Sekretgranula innerhalb der Drüsenepithelzellen kommt. Daraus schlußfolgerte er, daß die Retardierung des embryonalen Wachstums eine Reaktion des Embryos auf eine suboptimale Umgebung darstellt. Diese Überlegung wird untermauert durch die Tatsache, daß die Sekretgranula mit dem Beginn der Elongation der Blastozyste plötzlich verschwanden und das uterine Drüsenepithel abflachte. Analysen uteriner Spülflüssigkeit, ebenfalls durch AITKEN (1974), zeigen zum gleichen Zeitpunkt einen starken Konzentrationsanstieg verschiedenartiger Substanzen, darunter mehrere uterus-spezifische Proteine. Da jedoch die uterine sekretorische Aktivität im Normalfalle von einer ovariellen Steroidhormonproduktion abhängt, die beim Reh erst nach der Implantation einen markanten Anstieg erfährt und somit selber eher eine Konsequenz als einen Grund für die Wiederaufnahme des embryonalen Wachstums darstellt (AITKEN, 1979), kann nicht ausgeschlossen werden, daß es sich mit der Sekretion embryotropher Substanzen durch den Uterus ganz ähnlich verhält (AITKEN, 1981).

LAMBERT et. al. (1998) kultivierten *in vitro* Rehblastozysten sowie Rehendometriumproben, die im Zeitraum von Anfang November bis Ende Januar entnommen wurden, mit  $^3\text{H}$ -Leucin. Nach 24stündiger Kultivierung konnte eine de novo-Proteinsynthese in den Blastozysten bzw. im Endometrium anhand des Einbaus von  $^3\text{H}$ -Leucin in die synthetisierten Proteine bestimmt werden. Es konnte weiterhin gezeigt werden, daß die Freisetzung markierter Proteine durch die Blastozyste der des Endometriums vorausgeht und daß sich die sezernierten Proteine auch quantitativ deutlich unterscheiden. Diese Beobachtung veranlaßt den Autor zu der Hypothese, daß es der Embryo sein muß, der das Signal für die Beendigung der Diapause gibt. Auch in dieser Studie war es nicht möglich, durch Bestimmung der Hormonprofile (Östrogen, Progesteron, Prolactin) einen Hinweis auf eine hormonelle Kontrolle der embryonalen Diapause beim Reh zu finden.

Bei Tierarten wie dem Fichtenmarder (*Martes americana*), dem Amerikanischen Nerz (*Mustela vison*) und dem Europäischen Dachs (*Meles meles*) wurde nachgewiesen, daß die Länge der Diapause durch die Tageslichtlänge, also einem von außen kommenden, von der Jahreszeit abhängigen Faktor, bestimmt wird. Experimentell war es möglich, durch Veränderung der Photoperiode die Dauer der Diapause bei diesen Tierarten zu beeinflussen (PEARSON und ENDERS, 1944; CANIVENC et al., 1971). Beim Reh kann durch ein modifiziertes Lichtregime, bei dem die weiblichen Tiere künstlich verkürzten Tageslichtlängen ausgesetzt wurden, zwar der Haarwechsel verschoben werden, auf die Geburt der Kitze (bei einem der Rehe) hatte die veränderte Photoperiode jedoch keinerlei Einfluß (LINCOLN und GUINNESS, 1972). Der Autor geht daher von einer Art endogenem Rhythmus aus, der die Dauer der Diapause vorschreibt. Bestätigung findet diese Hypothese in anderen Untersuchungen, bei denen die Tiere wiederum veränderten Tageslichtlängen ausgesetzt wurden. Es konnte gezeigt werden, daß eine konstant kurze Photoperiode, genauso wie intrakutane Melatoninimplantate, die Brunst der weiblichen Tiere sowie die Geburt der Kitze um ca. 2 Monate vorverlegt (SEMPÉREÉ et al., 1998). Setzt man die Tiere hingegen langen Photoperioden aus (SEMPÉREÉ et al., 1995), kommt es zur Verzögerung der Ovulation um ca. 2 Monate gegenüber Tieren einer Kontrollgruppe, bei denen die Ovulation zeitgleich mit abnehmenden Tageslängen einsetzt (SEMPÉREÉ et al., 1995). Daraus schlußfolgerten die Autoren, daß die Regulation des Reproduktionszyklus des Rehes eine Kombination aus Empfindlichkeit gegenüber der Photoperiode und einem nicht weiter erforschten endogenen Rhythmus sein muß.

## **2.2 Embryotransfer**

### **2.2.1 Prinzip des Embryotransfers**

Der „Embryotransfer“ im engeren Sinne bedeutet eigentlich das Verbringen von Embryonen aus dem weiblichen Genitaltrakt eines Säugetieres in den (i) des selben Tieres („autologer Transfer“), (ii) eines anderen Tieres der selben Art („homologer Transfer“) oder (iii) eines Tieres einer anderen, nah verwandten Art („heterologer“ oder „interspezifischer Transfer“). Dieser Prozeß stellt jedoch nur einen sehr kleinen Teil der für den gesamten Prozeß zu leistenden Arbeiten dar. Der Begriff „Embryotransfer“ beschreibt ein sehr komplexes, aus mehreren Teilschritten bestehendes Verfahren. Zum Embryotransfer gehören im weiteren Sinne (NIEMANN und MEINECKE, 1993; SEIDEL, 1998)

- die Auswahl eines oder mehrerer Spendertiere (*Donoren*)
- die Gewinnung der Embryonen mittels chirurgischer oder nicht-chirurgischer Uterus- bzw. Eileiterspülung
- die Beurteilung der Embryonen
- das Aufbewahren der Embryonen über einen definierten, kürzeren oder längeren Zeitraum
- die Auswahl und Vorbereitung von Empfängertieren (*Rezipienten*)
- der Transfer geeigneter Embryonen auf chirurgischem oder nicht-chirurgischem Wege.

Dazu kommen mehrere, zusammenfassend „assozierte Biotechniken“ genannte Verfahren, die für die Technik des Embryotransfers als solchen zwar nicht zwingend notwendig sind, die aber die Ausbeute, den Erfolg und damit die Rentabilität des Verfahrens verbessern. Zu diesen Biotechniken gehören die Zyklussynchronisation von Spender und Empfänger, die Superovulation (Erhöhung der Zahl ovulierter Eizellen und damit der Zahl gespülter Embryonen pro Donor), die Kryokonservierung von Embryonen, ferner die *in vitro* Produktion von Embryonen (dazu gehörig *in vitro maturation (IVM)* und *in vitro fertilisation (IVF)*) sowie Embryosplitting oder –cloning.

Bestimmte Voraussetzungen sind für ein erfolgreiches Gelingen aller dieser Einzelkomponenten unabdingbar. Dazu zählen:

- genaue Kenntnis der reproduktionsbiologischen Vorgänge der Tierspezies
- Möglichkeiten zum Handling und zur Durchführung von Zwangsmaßnahmen
- geeignete Laborausrüstung und qualifiziertes Personal für den Umgang mit den gewonnenen Embryonen
- geeignetes Tiermaterial (SUMMERS, 1986).

### 2.2.1.1 Brunstsynchronisation

Der Erfolg des Embryotransfers und das Überleben der Embryonen hängt unter anderem davon ab, daß eine absolute Synchronizität der Zyklen von Donoren und Rezipienten besteht. Da die korrekte Vorhersage über Zyklusstand und Ovulationszeitpunkt oft schwierig oder unmöglich ist, ist eine hormonelle Beeinflussung der Sexualzyklen auch aus arbeitsorganisatorischen Gründen meist unerlässlich. Diese Beeinflussung kann (i) in einer künstlichen Verkürzung oder (ii) künstlichen Verlängerung der Lutealphase der Tiere bestehen. Dazu stehen im wesentlichen zwei Techniken (auch in Kombination) zur Verfügung. Durch die Applikation luteolytisch wirkender Agenzien (z. B. Prostaglandin  $F_{2\alpha}$ ) wird die frühzeitige Regression eines bestehenden Corpus luteum induziert, während

durch Progesteronpräparate (appliziert über einen längeren Zeitraum) die Lutealphase zunächst verlängert wird, es dann aber, nach abruptem Absetzen des Hormons, zum Wiedereinsetzen des Follikelwachstums kommt.

### **2.2.1.2 Superovulation**

Durch den Einsatz hormoneller Superovulationsregime ist es möglich, die Zahl der zur Ovulation kommenden Follikel eines weiblichen Individuums je nach Spezies um das 2- bis 10fache zu erhöhen.

Während der Embryonalentwicklung werden im Säugerovar je nach Tierart bis zu rund 7 Millionen (Beispiel Mensch; BLOCK, 1953) Oocyten angelegt. Nach der Geburt steht bereits nur noch ein Teil dieser Eizellen als Primordialfollikel in der Rindenschicht des Ovars gespeichert zur Verfügung (RUESSE und SINOWATZ, 1991). Die meisten der Primordialfollikel verfallen, noch vor ihrer Rekrutierung zum Pool der wachsenden Follikel, der Atresie (NIEMANN und MEINECKE, 1993). Dies bedeutet, daß letztendlich nur ein sehr geringer Anteil an Oocyten überhaupt zur Ovulation gelangt.

Die Erhöhung der Ovulationsrate in Kombination mit dem Embryotransfer ist Mittel der Wahl, um die Reproduktionsrate bzw. die Nachkommenschaft von (genetisch) wertvollen weiblichen Individuen zu erhöhen. Die Superovulation stellt somit das Pendant zur Spermagewinnung und -konfektionierung beim männlichen Individuum dar und ist aus diesem Grunde heute Teil fast jeden Embryotransfer-Programms (SEIDEL, 1998).

Das primär für Follikelwachstum und die Follikelreifung verantwortliche Hormon ist das Follikel Stimulierende Hormon (FSH), welches, seinerseits reguliert durch Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH) des Hypothalamus, von der Hypophyse sezerniert wird. Eine Superovulation läßt sich daher bei den meisten Tierarten durch Applikation von porcinem FSH, bzw. von Hormonen wie PMSG (Pregnant Mares' Serum Gonadotropine) oder HMG (Human Menopausal Gonadotropine), die eine analoge Wirkung besitzen, auslösen.

FSH, ein Glykoprotein, besitzt eine sehr kurze Halbwertszeit, so daß zum Auslösen einer Superovulation zweimal tägliche Injektionen über einen Zeitraum von mehreren Tagen notwendig sind. Die Halbwertszeit von PMSG (auch ein Glykoprotein) hingegen ist mit über 10 Tagen im Vergleich zu FSH extrem verlängert. Eine Superovulation kann daher mit PMSG schon durch eine einmalige Injektion erreicht werden; es kann sogar von Vorteil sein, die Wirkung des PMSG durch die Gabe von Anti-PMSG nach einem definierten Zeitraum wieder aufzuheben, so daß es nicht zu einer unerwünschten zweiten Welle der Follikelreifung (Nachhalleffekt) kommt (BINDON und PIPER, 1977). Eine eher

untergeordnete Rolle bei der Anwendung am Tier spielt das HMG, ein Gemisch aus FSH und LH, aufgrund seines zu hohen Preises (NIEMANN und MEINECKE, 1993).

Egal, welches Verfahren man für eine Superovulation auswählt: die ovarielle Reaktion auf diese hormonelle Stimulation ist unterschiedlich und nie ganz vorhersehbar. Das gleiche Superovulationsregime kann völlig fehlschlagen oder im Extremfall zur Produktion von bis zu 30 vitalen Embryonen (z.B. beim Hausrind) führen. Der Erfolg eines solchen Regimes hängt von verschiedenen Faktoren ab; wichtigstes Kriterium ist hier sicher die Tierart, bei der das Hormonregime zur Anwendung kommt. Andere Faktoren sind z.B. Zyklusstand des Tieres zum Zeitpunkt des Behandlungsbeginns, Hormondosierung und -aufbereitung, Jahreszeit (bei Tieren mit streng saisonalem Reproduktionsgeschehen), Alter und Ernährungszustand des Tieres, etc. (HODGES, 1996). Besonders bei der Anwendung von PMSG besteht eine sehr große Variationsbreite in der Art der Ovarreaktionen. So erhöht PMSG dosisabhängig zwar die Zahl der wachsenden Follikel, aber auch die Anzahl der nicht-ovulierten Follikel steigt; es kommt zur Ausbildung ovarieller Zysten (NIEMANN und MEINECKE, 1993). Aufgrund dieses Effektes, der in weniger ausgeprägtem Maße auch bei FSH und HMG auftreten kann, wird der eigentlichen Superovulationsbehandlung oftmals eine Behandlung mit hCG (Human Chorionic Gonadotropin) oder GnRH angeschlossen, um die Ruptur der Follikel und damit die Ovulation zu induzieren (HODGES, 1996).

Ein weiterer Aspekt, den die Anwendung exogener Gonadotropine bei verschiedenen Tierspezies mit sich bringen kann, ist das Risiko einer Antikörperbildung der Tiere gegen die nicht-speziesspezifisch eingesetzten Hormonpräparate, was eine wiederholte Anwendung dieser Hormone bei ein und demselben Tier unmöglich machen, schlimmstenfalls sogar zum anaphylaktischen Schock oder zur Unfruchtbarkeit des Tieres führen kann (HODGES, 1996; PITRA et al. 1991).

Ein zusätzlicher negativer Aspekt von Superovulationsregimen liegt in der Entstehung unphysiologisch hoher Hormonkonzentrationen, verursacht durch die erhöhte Anzahl sich entwickelnder Follikel. Erhöhte Hormonwerte können zu einer für Eizelle, Sperma oder Embryonen negativen Veränderung des uterinen Milieus führen (SUMMERS, 1986).

### **2.2.1.3 Gewinnung und Transfer von Embryonen**

Die Gewinnung der Embryonen erfolgt üblicherweise im Blastozysten-Stadium. Die Zeit, die vergeht, bis die befruchtete Eizelle dieses Stadium erreicht, ist tierartspezifisch; in der Regel vergehen 4 bis 6 Tage, die der Embryo benötigt, um durch den Eileiter zu wandern

und als Morula oder frühe Blastozyste den Uterus zu erreichen (SUMMERS, 1986).

Die Art und Weise, wie Embryonen aus dem Uterus eines Spendertieres gewonnen werden bzw. in den Uterus eines Empfängertier transferiert werden, wird durch die anatomischen Verhältnissen des Genitaltraktes der jeweiligen Tierart bestimmt. Der Trend geht dabei deutlich, wann immer möglich, in Richtung der weniger invasiven, nicht-chirurgischen Verfahren (PITRA et al. 1991). So ist es bei vielen Spezies (darunter Rind und Pferd) möglich, nach Einführung eines Ballonkatheters durch Vagina und Cervix und Einbringen eines geeigneten Spülmediums (phosphatgepufferte Salzlösung mit Serumzusatz) Embryonen unblutig aus dem Uterus herauszuspülen. Der Transfer erfolgt mit Hilfe spezieller Katheter auf demselben Wege. Bei anderen, meist kleineren Spezies ist ein solches Verfahren aufgrund der geringen Dimensionen des weiblichen Genitales oder des besonderen Aufbaus der Cervix nicht oder noch nicht möglich (SEIDEL, 1998). Bei solchen Spezies können Embryonen bisher nur auf chirurgischem Wege gewonnen und transferiert werden – entweder durch Laparotomie oder durch Laparoskopie. Die Wiederholbarkeit dieser Verfahren bei ein und demselben Tier ist aufgrund ihrer Invasivität begrenzt.

Die Gewinnung sehr früher Embryonalstadien aus dem Eileiter, bzw. von Oocyten aus Ovar oder Eileiter, ist zur Zeit bei den meisten Spezies nur auf chirurgischem Wege möglich (SEIDEL, 1998).

#### **2.2.1.4 Beurteilung von Embryonen**

Zur Beurteilung der Embryonen werden (i) morphologische Kriterien (BUSCH et al., 1991; KAUFFOLD und THAMM, 1985), (ii) spezielle Färbungen oder (iii) *in vitro* Stoffwechseluntersuchungen genutzt (NIEMANN und MEINECKE, 1993). Bei der lichtmikroskopischen morphologischen Begutachtung werden zeitgerechte Entwicklung, Durchmesser und Farbe, Zustand der ZP, Anzahl, Struktur und Lage der Blastomeren, extraembryonales Zellmaterial und Größe des perivittelinischen Raumes beurteilt. Diese Begutachtung ermöglicht die Einteilung der Embryonen in Tauglichkeitsklassen von 1 bis 4 (Klasse 1 = sehr gut: transfer- und kryokonservierungstauglich; Klasse 2 = gut: transfertauglich, bedingt tauglich zur Kryokonservierung; Klasse 3 = bedingt transfertauglich; Klasse 4 = untauglich); unbefruchtete Eizellen (UFOs) erhalten die Tauglichkeitsklasse 0 (KAUFFOLD und THAMM, 1985).

Voraussetzung für eine solche Beurteilung anhand von Morphologie und Entwicklungsstand ist eine genaue Kenntnis des zeitlichen Ablaufes der

Embryonalentwicklung der jeweiligen Spezies. So genau dieser Ablauf für domestizierte Tierarten wie Rind und Ziege auch untersucht ist, so unbekannt ist er doch für die meisten nicht-domestizierten Spezies, so daß für diese Tiere derzeit keine absolut sicheren Beurteilungskriterien für ihre Transfertauglichkeit bestehen (PITRA et al., 1991).

## **2.2.1.5 Aufbewahrung und Lagerung von Embryonen**

### **2.2.1.5.1 Kurzfristige Lagerung**

Für die kurzfristige, sich auf einige Stunden beschränkende Aufbewahrung werden die Embryonen in ein geeignetes Kulturmedium überführt. Kulturmedien bestehen, genau wie Medien zur Spülung von Embryonen, aus phosphatgepufferten Salzlösungen, jedoch mit einem erhöhten Zusatz von Serum (z. B. 20 % Bovines Serum, 20% Fetales Kälberserum (FKS), etc.) (SUMMERS, 1986).

### **2.2.1.5.2 Langfristige Lagerung**

Im Jahr 1972 gelang es erstmals, Mäuseembryonen erfolgreich zu kryokonservieren (WHITTINGHAM et al., 1972) und so über einen längeren Zeitraum hinweg aufzubewahren. Nur ein Jahr später wurde das erste Kalb nach Transfer eines tiefgefrorenen und wieder aufgetauten Rinderembryos geboren (WILMUT und ROWSON, 1973).

Seither ist es möglich, Embryonen der Klassen 1 und 2, die nicht sofort transferiert oder kultiviert werden sollen, durch Tiefgefrieren in flüssigem Stickstoff bei  $-196^{\circ}\text{C}$  über mehrere Jahrzehnte hinweg ohne Vitalitätsverlust zu konservieren (SEIDEL, 1998).

Der Erfolg eines Kryoregimes hängt von verschiedenen Faktoren ab: (i) Geschwindigkeiten des Einfrier- und des Auftauvorganges und (ii) Art und Konzentration des verwendeten Gefrierschutzmittels (Kryoprotektivum), das die Zellen des Embryos vor der Zerstörung durch die sich bildenden Eiskristalle schützen soll. Als Kryoprotektiva haben sich im wesentlichen zwei verschiedene Substanzen etabliert (Glyzerin und Äthylenglykol), die unterschiedliche Einfriermethoden nach sich ziehen (POLGE und ROWSON, 1952). Bei Verwendung von Glycerin ist es notwendig, das Kryoprotektivum nach dem Auftauen des Embryos zu entfernen (entweder in einer Ausverdünnungsreihe oder durch gemeinsame Konfektionierung von Embryo, Gefrierschutzmittel und Ausverdünnungsmedium in ein und derselben Paillette). Bei Zusatz von Äthylenglykol kann auf eine Ausverdünnung verzichtet werden. Der Embryo wird nach dem Auftauen

sofort übertragen („Direkttransfer“) (GÖRLACH, 1997).

Welches Kryoregime bzw. welche Konservierungsmethode die besten Überlebenschancen der Embryonen gewährleistet, ist von Tierart zu Tierart unterschiedlich. Genau wie die Hormonregime lassen sich deshalb bestimmte Kryoregime nicht ohne Einschränkungen von einer Tierart auf die andere übertragen (PITRA et al., 1991).

### **2.2.2 Entstehung des Embryotransfers und assoziierter Biotechniken**

Die erste Beschreibung von Embryonen im Stadium der Blastozyste erfolgte 1672 am Kaninchen durch REGNIER DE GRAAF (übersetzt von JOCELYN und SETCHELL, 1972). Obwohl in den folgenden Jahren durch weitere Forscher bestätigt, dauerte es weitere 200 Jahre, bis erneut eine Beschreibung von Eizellen und Embryonen des Hundes durch VON BAER (1827) veröffentlicht wurde. Es folgten Untersuchungen zur Embryonalentwicklung bei verschiedenen Spezies: Schaf (HAUSMANN, 1840), Hund (BISCHOFF, 1845), Reh (BISCHOFF, 1854), Schwein (KEIBEL, 1897), Katze (LONGLEY, 1911), Rind (HARTMAN et al. 1931) und Pferd (AMOROSO et al., 1939). Die Beschreibung menschlicher Embryonen erfolgte im Jahre 1928 (ALLEN et al.).

Der erste erfolgreiche Embryotransfer bei Säugetieren fand 1890 statt (HEAPE, 1891). Nach dem chirurgischen Transfer zweier Embryonen eines weiblichen Angorakaninchens in den Uterus eines belgischen Kaninchenweibchens erfolgte die Geburt von 6 lebenden Nachkommen: 4 Jungtiere entsprachen der belgischen Rasse und 2 Jungtiere der Angora Rasse. Ziel der Studie war die Erforschung des Einflusses des uterinen Milieus auf den Phänotyp der Nachkommen.

Erst in den 20er Jahren, nach neuen Erkenntnissen über endokrinologische Steuermechanismen, Versuchen zur künstlichen Besamung und zur *in vitro*-Kultivierung von Eizellen, wurde die Technik des Embryotransfers bei verschiedenen Spezies wieder aufgegriffen und weiterentwickelt. Kaninchen sollten aber weiterhin eine besondere Bedeutung für die Technik des Embryotransfers besitzen: sie dienten nicht allein als Studienobjekte für entwicklungsbiologische Vorgänge während der Embryonalentwicklung, sondern wurden vor der Entwicklung praxisreifer Technologien zur Embryonenkultivierung und –konservierung für die zeitweise Unterbringung bzw. als „Transportmedium“ für von anderen Tierspezies gewonnenen Embryonen (ADAMS et al., 1961; KRAEMER, 1983; ADAMS, 1982) genutzt.

Tabelle 1 zeigt eine Übersicht der ersten erfolgreichen Embryotransfers bei verschiedenen Tierspezies, darunter sowohl Labor- als auch landwirtschaftliche Nutztiere.

Tab. 1: Erste erfolgreiche Embryotransfers bei domestizierten Tierspezies (modifiziert nach BETTERIDGE, 1981; KRAEMER, 1983).

<b>Jahr</b>	<b>Tierart</b>	<b>Autor</b>
1890	Kaninchen	HEAPE (1891)
1933	Ratte	NICHOLAS (1933)
1932	Ziege <sup>1</sup>	WARWICK et al. (1934)
1933	Schaf	WARWICK et al. (1934)
1935	Maus	FEKETE und LITTLE (1942)
1941	Ziege	WARWICK und BERRY (1949)
1949	Rind <sup>2</sup>	UMBAUGH (1949)
1951	Rind	WILLET et al. (1951)
1951	Schwein <sup>4</sup>	KVASNICKII (1951)
1964	Rind <sup>4</sup>	MUTTER ET AL. (1964)
1964	Hamster	BLAHA (1964)
1969	Kaninchen <sup>4</sup>	TESTART (1969)
1969	Ratte <sup>4</sup>	VICKERY et al. (1969)
1972	Maultier/Maulesel <sup>6</sup>	ALLEN und ROWSON (1972)
1974	Maus <sup>4</sup>	MARSK und LARSSON (1974)
1974	Pferd	OGURI und TSUTSUMI (1974)
1978	Mensch <sup>3</sup>	STEPTOE und EDWARDS
1978	Katze	SCHRIVER und KRAEMER (1978)
1978	Hund	KINNEY et al. (1979)
1983	Maus <sup>5</sup>	KRAEMER (1983)

<sup>1</sup> Wiedereinsetzen

<sup>2</sup> Abort

<sup>3</sup> IVF und Wiedereinsetzen

<sup>4</sup> nicht-chirurgischer Transfer

<sup>5</sup> nicht-chirurgische Gewinnung

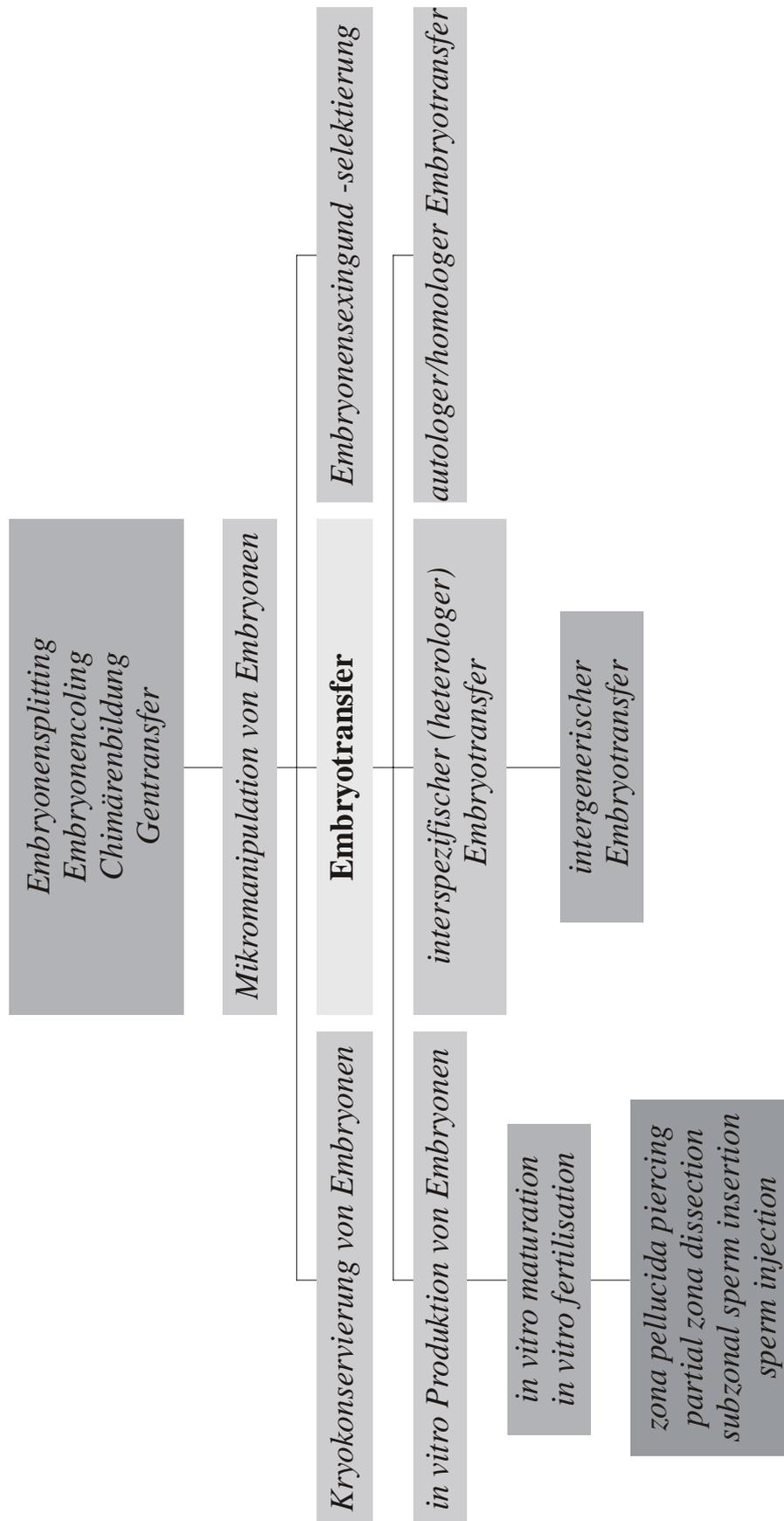
<sup>6</sup> Rezipienten: Esel und Pferd

Im Laufe der Jahre wurde die Technik für einen erfolgreichen Embryotransfer immer weiter verfeinert. Bei vielen Tierarten war es möglich, die chirurgische Gewinnung, bzw. den chirurgischen Transfer der Embryonen durch weniger invasive, laparoskopische Techniken oder durch völlig unblutige Methoden zu ersetzen. Ende des zweiten Weltkrieges führten Versuche, Embryonen über einen längeren Zeitpunkt hinweg bei niedrigen Temperaturen am Leben zu erhalten (CHANG, 1971) zur Entwicklung von Kryoregimen, durch die Embryonen ohne Vitalitätsverlust und Einbußen ihrer Entwicklungskompetenz eingefroren und wieder aufgetaut werden konnten. WHITTINGHAM et al. (1972) berichteten erstmals von einem erfolgreichen Kryoregime für Mäuseembryonen; kurze Zeit später wurde ein solches Verfahren auch beim Rind erfolgreich angewendet (WILMUT und ROWSON, 1973).

Seit den 70er Jahren war die Embryotransfer-Technik bei landwirtschaftlichen Nutztieren, vor allem beim Rind, so weit entwickelt, daß sich ein kommerzieller Einsatz des Embryotransfers in der modernen Tierproduktion lohnte. In vielen Ländern, allen voran den USA, bildeten sich sogenannte Embryotransfer-Gesellschaften, so daß auch in den 90er Jahren die Zahl der jährlich durchgeführten Embryotransfers kontinuierlich weiter anstieg (SEIDEL und SEIDEL, 1981; HAHN und AUMÜLLER, 1992; NIEMANN und MEINECKE, 1996).

Die vermehrte Bereitstellung von Oocyten und Embryonen durch die Technik des Embryotransfers führte zur Entwicklung und Einführung weiterer neuer Verfahren im Bereich der assistierten Reproduktion. Diese als dem Embryotransfer assoziierte Biotechniken bezeichnete Verfahren beinhalten zum einen Prozeduren, die den Erfolg des Embryotransfers verbessern können, wie *in vitro fertilisation* (IVF), *zona pellucida piercing* (ZnPd), *partial zona dissection* (PZD), *subzonal sperm insertion* (SUZI) und *sperm injection* (SI) (ROTH, 1993), zum anderen aber auch Techniken zur direkten Manipulation der Embryonen, wie die mikrochirurgische Teilung von Embryonen („*Embryonensplitting*“), die Geschlechtsbestimmung und das Klonen von Embryonen (NIEMANN und MEINECKE, 1996). Eine weitere Variante des interspezifischen Embryotransfers ist weiterhin der „intergenerische“ Transfer, d. h. das Entfernen der Embryonalanlage (Inner Cell Mass, ICM) der Blastozyste einer Spezies und das Einbringen der ICM einer anderen Spezies in den verbleibenden Trophoblasten vor dem Transfer des Embryos. Abbildung 1 gibt einen Überblick über die Schlüsselstellung des Embryotransfers gegenüber den oben genannten Verfahren.

Abb. 1: Die Schlüsselstellung des Embryotransfers gegenüber den ihm assoziierten Biotechniken



### 2.2.3 Anwendungsgebiete für den Embryotransfer

Der Embryotransfer ist das Mittel der Wahl, um die Nachkommenzahl nicht nur bestimmter männlicher, sondern auch weiblicher Tiere um ein Vielfaches zu erhöhen.

Dies macht ihn in erster Linie zu einem wertvollen Hilfsmittel für die moderne Tierproduktion. Aber auch in der Grundlagenforschung und in der Erhaltungszucht seltener Tierarten spielt er zunehmend eine Rolle. Der genetische Beitrag auch infertiler oder präpubertärer weiblicher Tiere zur Reproduktion wird durch die Erhöhung der aus ihnen hervorgehenden Nachkommenzahl bei gleichzeitiger Verkürzung des Intervalls zwischen zwei Generationen maximiert (LASLEY et al., 1994). Neues genetisches Material kann durch Transport von Embryonen ohne das Risiko der Einschleppung von Krankheiten, bzw. ohne Tiertransporte und den damit verbundenen Streß für die Tiere auch über große Distanzen hinweg in bestehende kleine, daher oftmals inzuchtgefährdete Tierpopulationen verbracht werden. Im- und Exportregelungen für gefährdete Wildtierarten können vereinfacht werden (SCHIEWE et al., 1995). Durch Kryokonservierung von Gameten und Embryonen und die Etablierung von Gameten- und Embryonenbanken können diese Vorteile auch über längere Zeiträume hinweg nutzbar gemacht werden, so z. B. zur Überbrückung von Zeiträumen, in denen passende Rezipienten nicht zur Verfügung stehen, vor allem aber auch als Absicherung gegen einen endgültigen Verlust genetischen Materials von Tieren gefährdeter Populationen (SUMMERS, 1986).

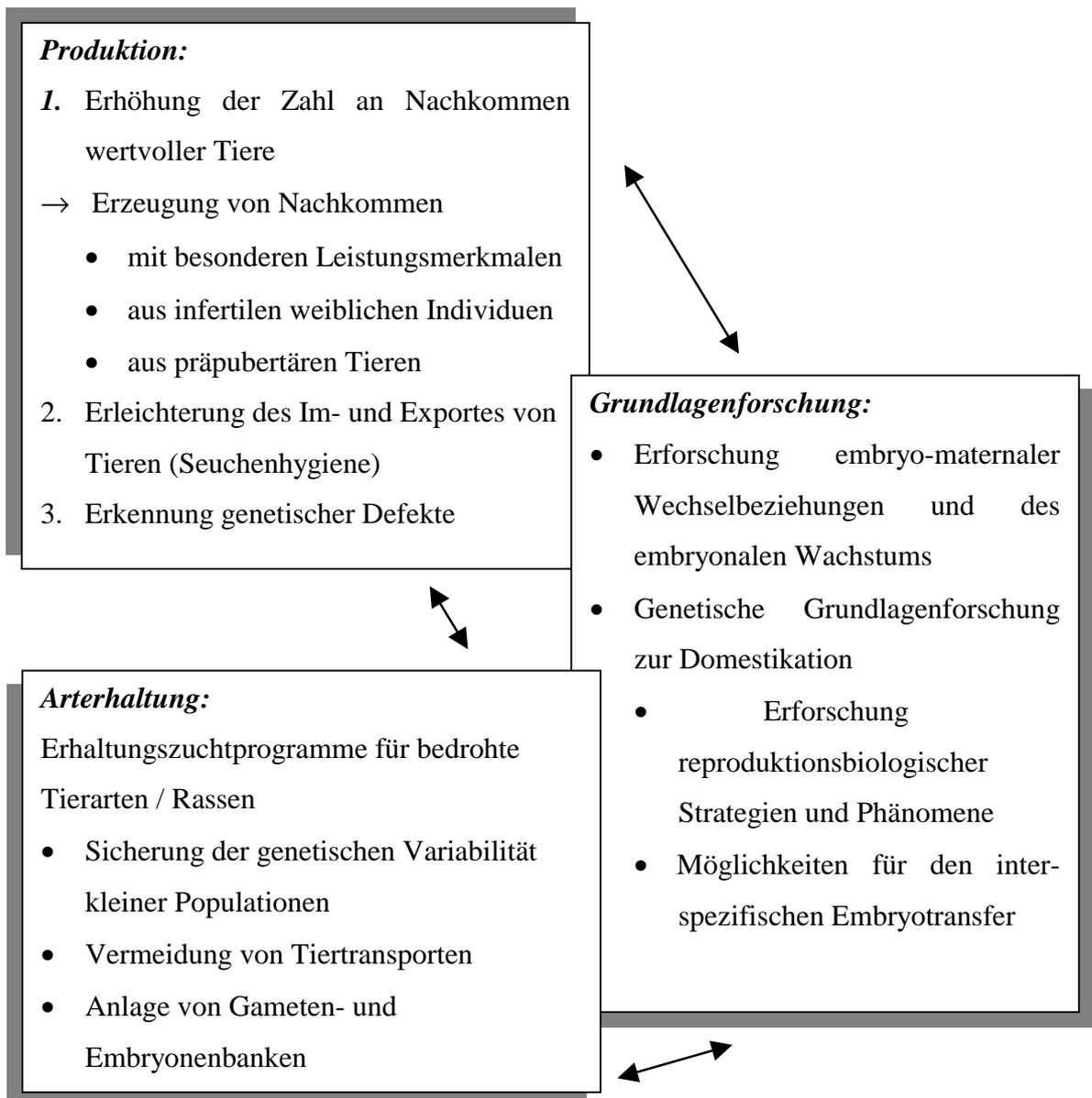
Durch die Untersuchung unterschiedlicher Tierarten wird die detailliertere Erforschung reproduktionsphysiologischer Vorgänge und Strategien bzw. die Erhebung von mit der Fortpflanzung in Verbindung stehenden Grunddaten möglich. Hierzu gehören u. a. Daten zur frühen Embryonalentwicklung, zu verschiedenen Plazentationsformen, zur embryo-maternalen Signalübermittlung und zum Einfluß der Domestikation auf die Entwicklung (Evolution) einer Art. Mit einem fundierten Grundlagenwissen wird es erst möglich, die bei domestizierten Tierarten etablierten Techniken der assistierten Reproduktion erfolgreich bei nicht-domestizierten Spezies einzusetzen, bzw. gegebenenfalls sogar Embryonen einer bedrohten Tierart/-rasse durch Empfängertiere einer verwandten, nicht-bedrohten Tierart/-rasse austragen zu lassen (Interspezies Transfer).

Alle diese Anwendungsgebiete betreffen, mit unterschiedlicher Schwerpunktsetzung, sowohl domestizierte Tierarten, darunter vor allem die landwirtschaftlichen Nutztiere, als auch nicht-domestizierte Tierarten. Gilt das Interesse auf der einen Seite vor allem einer Steigerung der Leistung und Produktivität, so gilt es auf der anderen Seite eher der

Erhaltung vom Aussterben bedrohter Tierarten. Die Grundlagenforschung stellt ein Bindeglied dieser Anwendungsmöglichkeiten dar.

Abb. 2 gibt eine Übersicht über die Indikationen für den Embryotransfer und die Überlappung seiner einzelnen Anwendungsbereiche.

Abb. 2: Anwendungsmöglichkeiten und Indikationen für den Einsatz des Embryotransfers



## 2.2.4 Einsatz des Embryotransfers bei Zoo- und Wildtieren

Hauptintention für den Einsatz des Embryotransfers bei nicht-domestizierten Tierspezies ist, neben der Erarbeitung bislang unbekannter reproduktionsbiologischer Grunddaten, der Beitrag zur Erhaltung bedrohter Arten. Aus diesem Grunde sind die Wildtiere, bei denen der Embryotransfer zur Anwendung kommt, oftmals Zootiere, die sich schlecht reproduzieren oder von denen es nur wenige Individuen gibt. Seltener handelt es sich um Tiere aus freier Wildbahn. Sonderfälle, bei denen eine Charakterisierung der Tiere als nicht-domestiziert oder domestiziert schwierig ist, sind unter anderem Labortiere, die zu Forschungszwecken gehalten werden (darunter einige Nagetiere oder Primaten) und Tiere, die je nach Land oder Kulturkreis entweder unter die eine oder die andere Kategorie fallen und bei denen der Embryotransfer auch aus kommerziellen Gründen angewendet wird (Beispiel: *Camelidae*, Gatterwild der Familie *Cervidae*).

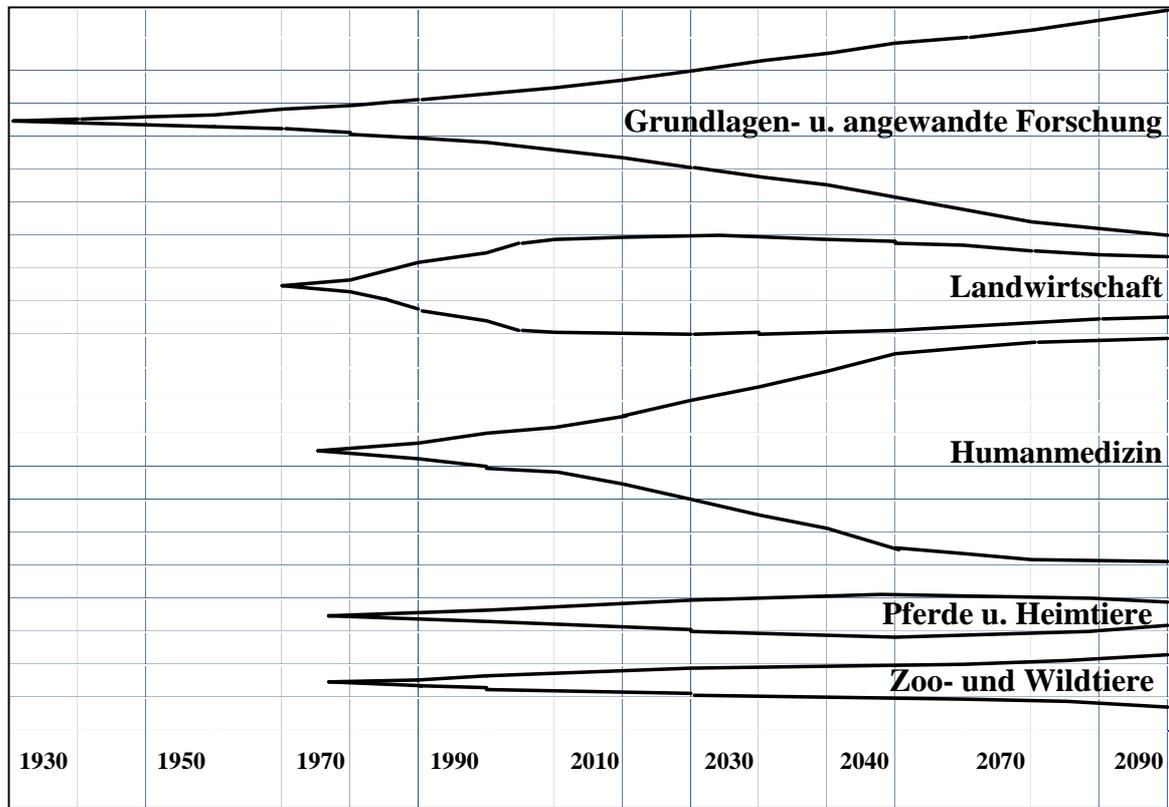
Bei der Anwendung des Embryotransfers bei Zoo- und Wildtieren kommen verschiedene Aspekte zum Tragen, die dieses biotechnische Verfahren nur bedingt von Nutz- auf Wildtiere übertragbar machen. Einige dieser Aspekte sollen im folgenden aufgezählt werden:

- Der Reproduktionsstatus der Tiere ist häufig unbekannt; Oestruserkennung und Beobachtung des Deckaktes ist oft schwierig
- Viele Zootiere zeigen Reproduktionsstörungen aufgrund suboptimaler Haltungsbedingungen oder genetischer Verarmung
- Eine chemische oder physische Immobilisation ist häufig Voraussetzung für Manipulationen am Tier; der Einfluß von Streß und Narkotika auf den Erfolg von Hormonbehandlungen und Embryotransfer ist nicht einschätzbar.
- Es gibt kaum Referenzdaten zur Synchronisation / Superovulation und zur Methode der Embryonengewinnung / des Embryonentransfers.
- Die Beurteilung der Embryonen gestaltet sich aufgrund der Speziesunterschiede oft problematisch.
- Kryokonservierungsprotokolle liegen nicht vor
- Die frühe Trächtigkeitsdiagnostik ist fast immer mit einer Narkose verbunden.
- Genetische Abstammungsnachweise sind nicht etabliert.

Trotz aller Schwierigkeiten werden beginnend in den 60er/70er Jahren Techniken der assistierten Reproduktion aufgrund ihres großen Potentials mit steigender Tendenz und mit

wachsendem Erfolg bei Zoo- und Wildtieren eingesetzt (Abb. 3).

Abb. 3: Voraussichtliche Entwicklung der Arbeit mit Embryonen (nach SEIDEL, 1991)



Bis zum heutigen Tag wurde der Embryotransfer bei über 50 Wildtierarten verschiedener Ordnungen, zum Teil unter Einbeziehung verschiedener assoziierter Biotechniken, mit unterschiedlichem Erfolg\* eingesetzt. Tabelle 2 gibt das Ergebnis einer Literaturrecherche zum Einsatz des Embryotransfers bei Wildtieren wieder.

\*Erfolg: Embryotransfers, bei denen Trächtigkeiten erzielt werden konnten



**Ordnung Unpaarhufer (*Perrisodactyla*)**  
 Familie Pferde (*Equidae*)

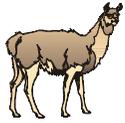
Jahr	Tierart		Rezipient		Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor
1984	Grant-Zebra	<i>Equus burchelli</i>	Pferd	<i>Equus caballus</i>	n. chir.	n. chir.	k.A.	FOSTER und BENNET (1984)
1985	Grant-Zebra		Pferd		n. chir.	chir.	ja	KYDD et al. (1985)
	Grant-Zebra		Esel	<i>Equus asinus asinus</i>	n. chir.	chir.	ja	
	Grant-Zebra		Esel		n. chir.	n. chir.	nein	
1985	Grant-Zebra		Pferd		n. chir.	n. chir.	ja	BENNET und FOSTER (1985)
1986	Grant-Zebra		Pferd		n. chir.	chir.	ja	HEARN und SUMMERS (1986)
	Grant-Zebra		Esel		n. chir.	chir.	ja	
1987	Grant-Zebra		Pferd		n. chir.	chir.	ja	SUMMERS et al. (1987a)
	Grant-Zebra		Esel		n. chir.	n. chir./chir.	ja	
1985	Przewalski-Pferd	<i>Equus przewalski</i>	Pferd		n. chir.	chir.	ja	KYDD et al. (1985)
1986	Przewalski-Pferd		Pferd		n. chir.	chir.	ja	HEARN und SUMMERS (1986)
1987	Przewalski-Pferd		Pferd		n. chir.	n. chir./ chir.	ja	SUMMERS et al. (1987a)

chir.: chirurgisch

n. chir.: nicht chirurgisch

k. A.: keine Angabe

Tab. 2: Literaturübersicht über Einsatz und Erfolg des Embryotransfers beim Wildtier



## Ordnung Paarhufer

Familie Kamele (*Camelidae*)

Jahr	Tierart		Rezipient	Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor
1968	Alpaka	<i>Lama pacos</i>	homolog	chir.	k. A.	ja	NOVOA und SUMAR (1968)
1974	Alpaka		homolog	chir.	chir.	ja	SUMAR und FRANCO (1974)
1987	Alpaka		homolog	n. chir.	n. chir.	ja	PALOMINO et al. (1987)
1985	Lama	<i>Lama glama</i>	homolog	n. chir.	n. chir.	ja	WIEPZ und CHAPMAN (1985)
1990	Lama		homolog	n. chir.	n. chir.	ja	BOURKE et al. (1992)
1992	Lama		homolog	n. chir.	n. chir.	ja	CORREA et al. (1992)
1994	Lama		homolog	n. chir.	n. chir.	ja	GATICA et al. (1994)
1995	Lama		homolog	n. chir.	n. chir.	ja	BOURKE et al. (1995)
1995	Guanaco	<i>Lama guanicoe</i>	Lama	n. chir.	n. chir.	ja	BOURKE et al. (1995)
1989-1993	Dromedar	<i>Camelus dromedarius</i>		n.chir.	n. chir./ chir.	ja	MCKINNON et al. (1994)
1992	Dromedar		homolog	k.A.	k.A.	ja	SKIDMORE et al. (1992)
1993	Dromedar		homolog	n. chir.	n. chir.	ja	ANOUASSI und HAZAA (1993)

chir.: chirurgisch

n. chir.: nicht chirurgisch

k. A.: keine Angabe



**Ordnung Paarhufer (*Artiodactyla*)**  
Familie Hirsche (*Cervidae*)

Jahr	Tierart		Rezipient	Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor
1986	Wapiti	<i>Cervus elaphus</i>	Rothirsch	n. chir.	chir.	ja	WENKOFF und BRINGANS. (1991)
1986	Rothirsch		homolog	chir.	chir.	ja	WENKOFF und BRINGANS. (1991)
1987	Rothirsch		homolog	chir.	chir.	k. A.	KRZYWINSKY (1987)
1987-1998	Rothirsch		homolog	chir.	k. A.	ja	BRINGANS (1989)
1991	Rothirsch		homolog	chir.	chir.	ja	DIXON et al. (1991)
1994	Rothirsch x Pere David's Hirsch		Rothirsch	chir.	k. A.	ja	AGRO et al. (1994)
1994	Rothirsch		homolog	chir.	n.chir.	ja	FENNESY et al. (1994)
1994	Rothirsch		homolog	k. A.	chir.	ja	MCMILLAN et al. (1994)
1995	Rothirsch		homolog	chir.	k. A.	ja	BERG et al. (1995)
1993	Damhirsch	<i>Dama dama</i>	homolog	chir.	chir.	ja	JABBOUR et al. (1993)
1994	Damhirsch		homolog	chir.	n.chir.	ja	FENNESY et al. (1994)
1994	Damhirsch		homolog	chir.	chir.	ja	MORROW et al. (1994)
1997	Damhirsch		homolog	chir.	chir.	nein	LANGHE et al. (1997)
1994	Pere David's Hirsch	<b>Elaphurus davidianus</b>	Rothirsch	chir.	k. A.	nein	AGRO et al. (1994)
1988	Weißwedelhirsch	<i>Odocoileus virginianus</i>	homolog	n. chir.	chir.	ja	MAGYAR et al. (1988)
1989	Weißwedelhirsch		homolog	chir.	chir.	ja	Waldhalm et al. (1989)
	chir.: chirurgisch		n. chir.: nicht chirurgisch		k. A.: keine Angabe		



## Ordnung Paarhufer (*Artiodactyla*)

Familie Hornträger (*Bovidae*)

Unterfamilie Bovinae



Jahr	Tierart		Rezipient	Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor
1982	Elenantilope	<i>Tragelaphus oryx</i>	homolog	n. chir.	n. chir.	k. A.	KRAMER et al. (1982)
	Elenantilope		Hausrind	<i>Bos taurus</i>	n. chir.	chir.	k. A.
1983	Elenantilope		homolog	n. chir.	n. chir.	ja	KRAMER et al. (1983)
1989	Elenantilope		homolog	n. chir.	n. chir.	ja	GELWICKS et al. (1989)
1991	Elenantilope		homolog	n. chir.	n. chir.	ja	POPE und DRESSER (1991)
1984	Bongo-Antilope	<i>Tragelaphus euryceros</i>	Elenantilope	n. chir.	n. chir.	ja	DRESSER et al. (1985)
	Bongo-Antilope		homolog	n. chir.	n. chir.	ja	
1984	Bongo-Antilope		Elenantilope	n. chir.	n. chir.	k. A.	DRESSER (1986)
1991	Nilgauantilope	<i>Boselaphus tragocamelus</i>	Elenantilope	n. chir.	n. chir.	nein	POPE et al. (1991)
1980	Gaur	<i>Bos gaurus</i>	Hausrind	n. chir.	chir.	ja	STOVER et al. (1981)
1988	Gaur		Hausrind	n. chir.	n. chir.	ja	POPE et al. (1988)
1994	Gaur		Hausrind	IVF	n. chir.	ja	JOHNSTON et al. (1994)
	chir.:	chirurgisch	n. chir.:	nicht chirurgisch	k. A.:	keine Angabe	

<b>Jahr</b>	<b>Tierart</b>		<b>Rezipient</b>	<b>Gewinnung</b>	<b>Transfer</b>	<b>Erfolg</b>	
1995	Gaur		Hausrind	IVF	k. A.	ja	ARMSTRONG et al. (1995)
2001	Gaur		Hausrind	IVF	k. A.	ja	HAMMER et al. (2001)
1983	Wasserbüffel	<i>Bubalis bubalis</i>	homolog	n. chir.	n. chir.	ja	DROST (1983)
	Hausrind		Büffel	n. chir.	n. chir.	ja	
1990	Wasserbüffel		homolog	n. chir.	n. chir.	ja	MISRA et al. (1990)
1991	Wasserbüffel		homolog	IVF	k. A.	ja	MADAN et al. (1991)
1994	Wasserbüffel		homolog	IVF	n. chir.		MADAN et al. (1994)
1999	Wasserbüffel		homolog	n. chir.	n. chir.	ja	MISRA et al. (1999)
1984	Banteng	<i>Bos javanicus</i>	Hausrind	n. chir.	n. chir.	ja	WIESNER et al. (1984)
1989	Bison	<i>Bison bison</i>	Hausrind	k. A.	k. A.	ja	DORN (1995)
1993	Bison		homolog	n. chir.	n. chir.	ja	FOXWORTH (unveröffentlicht)
1994	Bison		Hausrind	k. A.	k. A.	k. A.	DORN (1995)
1992	Yak	<i>Bos grunniens</i>	Hausrind	n. chir.	n. chir.	ja	PITRA et al. (1992)

chir.: chirurgisch

n. chir.: nicht chirurgisch

k. A.: keine Angabe



### Ordnung Paarhufer (Artiodactyla)

Familie Hornträger (*Bovidae*)  
 Unterfamilie Pferdeböcke (*Hipptraginae*)

Jahr	Tierart	Rezipient	Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor	
1986	Säbelantilope	<i>Oryx dammah</i>	homolog	n. chir.	k. A.	ja	SCHMITT (1986)
1988	Säbelantilope	homolog	n. chir.	n. chir.	nein	SCHIEWE et al. (1988)	
1991	Säbelantilope	homolog	n. chir.	n. chir.	ja	POPE et al. (1991)	



### Ordnung Paarhufer (Artiodactyla)

Familie Hornträger (*Bovidae*)  
 Unterfamilie Gazellenartige (*Neotraginae*)

Jahr	Tierart	Rezipient	Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor	
1989	Suniantelope	<i>Neotragus moschatus zuluensis</i>	homolog	n. chir.	k. A.	ja	RAPHAEL et al. (1989)
1991	Suniantelope	homolog	n. chir.	chir.	ja	LOSKUTOFF et al. (1991)	



### Ordnung Paarhufer (Artiodactyla)

Familie Hornträger (*Bovidae*)  
 Unterfamilie Ziegenartige (*Caprinae*)

Jahr	Tierart	Rezipient	Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor		
1996	Iberiensteinbock	<i>Capra pyrenaica</i>	Ziege	<i>C. hircus</i>	chir.	chir.	ja	FERNANDEZ-ARIAS et al. (1996)
1981	Mähnspringer	<i>Ammotragus lervia</i>	homolog	chir.	chir.	ja	OOSTERHUIS et al. (1981)	

chir.: chirurgisch

n. chir.: nicht chirurgisch

k. A.: keine Angabe

Jahr	Tierart		Rezipient	Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor
1977	Mufflon	<i>Ovis musimon</i>	Schaf	chir.	chir.	ja	BUNCH et al. (1977)
1995	Mufflon		Schaf	chir.	k. A.	ja	LEDDA et al. (1995)
1990	Dallschaf	<i>Ovis dalli</i>	Schaf	chir.	chir.	ja	BUCKRELL et al. (1990)
1994	Elburs-Wildschaf	<i>Ovis orientalis</i>	Schaf	IVF	chir.	ja	COONROD et al. (1994)
	Elburs-Wildschaf		Mufflon	IVF	chir.		



### Ordnung Paarhufer (*Artiodactyla*)

Familie Schweine (*Suidae*)

Jahr	Tierart		Rezipient	Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor
1994	„Lanyu“ Wildschwein	<i>Sus scrofa</i>	Hausschwein <i>Sus scrofa domesticus</i>	chir.	k. A.	ja	WU (1994)



### Ordnung Hasentiere (*Lagomorpha*)

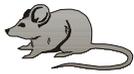
Familie Hasen (*Leporidae*)

Jahr	Tierart		Rezipient	Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor
1975	Wildkaninchen	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Kaninchen	chir.	chir.	ja	ADAMS (1975)
1978	Wildkaninchen		Kaninchen	chir.	chir.	ja	ROJASO et al (1978)

chir.: chirurgisch

n. chir.: nicht chirurgisch

k. A.: keine Angabe



### Ordnung Nagetiere (*Rodentia*)

Familie Mäuse (*Muridae*)

Unterfamilie Echte Mäuse (*Murinae*)

Jahr	Tierart	Rezipient	Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor
1980	"Ryukyu" Maus <i>M. caroli</i>	Maus <i>M. musculus</i>	chir.	chir.	nein	FRELS et al. (1980)
1985	"Ryukyu" Maus	Maus	k. A.	k. A.	nein	CROY et al. (1985)



### Ordnung Nagetiere (*Rodentia*)

Familie Mäuse (*Muridae*)

Unterfamilie Baumwollratten (*Sigmodontinae*)

Jahr	Tierart	Rezipient	Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor
1986	Hirschmaus <i>Peromyscus maniculatus gambelii</i>	Hirschmaus <i>Peromyscusma niculatus santacruzae</i>	chir.	chir.	ja	ROTH und KLEIN(1986)



### Ordnung Nagetiere (*Rodentia*)

Familie Hörnchen (*Sciuridae*)

Jahr	Tierart	Rezipient	Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor
1997	Walddurmeltier <i>Marmota monax</i>	autolog	k. A.	k. A.	ja	CONCANNON et al. (1997)

chir.: chirurgisch

n. chir.: nicht chirurgisch

k. A.: keine Angabe



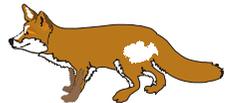
**Ordnung Känguruhverwandte (*Diprotodontia*)**  
 Familie Känguruhs (*Macropodidae*)

Jahr	Tierart	Rezipient	Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor	
1963	Quokka	<i>Setonix brachyurus</i>	homolog	chir.	chir.	ja	TYNDALE-BISCOE (1963)
1970	Tammar	<i>Macropus eugenii</i>		chir.	chir.	ja	TYNDALE-BISCOE. (1970)



**Ordnung Raubbeuteltiere (*Dasyuromorphia*)**  
 Familie Raubbeutler (*Dasyuridae*)

Jahr	Tierart	Rezipient	Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor	
1996	Dickschwänzige Schmalfuß- beutelmaus	<i>Sminthopsis crassi-caudata</i>	homolog	chir.	chir.	ja	BREED und LEIGH (1996)



**Ordnung Raubtiere (*Carnivora*)**  
 Familie Hundartige (*Canidae*)

Jahr	Tierart	Rezipient	Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor	
1979	Silberfuchs	<i>Vulpes vulpes</i>	homolog	chir.	chir.	ja	TRUT und GOLUBITSA (1980)
1998	Silberfuchs	homolog	chir.	chir.	ja	JALKANEN und LINDEBERG (1998)	

chir.: chirurgisch

n. chir.: nicht chirurgisch

k. A.: keine Angabe



### Ordnung Raubtiere (*Carnivora*)

Familie Marder (*Mustelidae*)

Jahr	Tierart		Rezipient	Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor
1966	Frettchen	<i>M. putorius furo</i>	Kaninchen	chir.	chir.		CHANG (1966)
1968	Frettchen		homolog	chir.	chir.	ja	CHANG (1968)
	Frettchen		Nerz	chir.	chir.	nein	
			<i>Mustela vison</i>				
1971	Frettchen		Kaninchen	chir.	chir.	ja	CHANG et al. (1971)
1968	Nerz		homolog	chir.	chir.	ja	CHANG (1968)
	Nerz		Frettchen	chir.	chir.	ja	
1982	Nerz		homolog	chir.	chir.	ja	ADAMS (1982)
1996	Hermelin	<i>Mustela erminea</i>	homolog	chir.	chir.	ja	AMSTISLAVSKY et al. (1996)



### Ordnung Raubtiere (*Carnivora*)

Familie Großbären (*Ursidae*)

Jahr	Tierart		Rezipient	Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor
1999	Schwarzbär	<i>Ursus americanos</i>	homolog	n. chir.	chir.	ja	BOONE et al. (1999)

chir.: chirurgisch

n. chir.: nicht chirurgisch

k. A.: keine Angabe



**Ordnung Raubtiere (*Carnivora*)**  
 Familie Katzen (*Felidae*)

Jahr	Tierart		Rezipient		Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor
1989	"Linqing" Katze		Hauskatze	<i>Felis catus</i>	chir.	chir.	ja	LIANSHENG et al. (1989)
1989	Steppenkatze	<i>Felis silvestris ornata</i>	Hauskatze		IVF	chir.	ja	POPE et al. (1989)
1991	Steppenkatze		autolog		IVF	chir.	nein	POPE et al. (1991)
1991	Rohrkatze	<i>Felis chaus</i>	Hauskatze		IVF	chir.	nein	POPE et al. (1991)
	Rohrkatze		autolog		IVF	chir.	nein	
1991	Fischkatze	<i>Felis viverrina</i>	Hauskatze		IVF	chir.	nein	POPE et al. (1991)
1995	Rotluchs	<i>Felis rufus</i>	homolog		chir.	chir.	ja	MILLER et al. (1995)
1981	Königstiger	<i>Panthera tigris tigris</i>	Löwe	<i>Panthera leon</i>	chir.	chir.	nein	REED et al. (1981)
1990	Tiger	<i>Panthera tigris</i>	autolog		IVF	chir.	ja	DONOGHUE et al. (1990)
1983	Löwe	<i>P. leo</i>	autolog		chir.	chir.	nein	KRAEMER (1983)

chir.: chirurgisch

n. chir.: nicht chirurgisch

k. A.: keine Angabe



### Ordnung Herrentiere (*Primates*)

Familie Kapuzineraffen (*Cebidae*)

Jahr	Tierart	Rezipient	Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor
1975-1979	Totenkopffäffchen	<i>Saimiri sciureus</i> homolog	IVF	chir.	nein	KUEHL und DUKELOW (1979)



### Ordnung Herrentiere (*Primates*)

Familie Krallenaffen (*Callitrichidae*)

Jahr	Tierart	Rezipient	Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor
1986	Weißbüscheläffchen	<i>Callithrix jacchus</i> homolog	chir.	chir.	ja	HEARN und SUMMERS (1986)
1987	Weißbüscheläffchen	homolog	chir.	chir.	ja	SUMMERS et al. (1987b)
1988	Weißbüscheläffchen	homolog	IVF	k.A.	ja	LOPATA et al. (1988)
1988	Weißbüscheläffchen		k.A.	k.A.	ja	SUMMERS et al. (1988)



### Ordnung Herrentiere (*Primates*)

Familie Meerkatzen (*Cercopithecidae*)

Jahr	Tierart	Rezipient	Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor
1997	Schweinsaffe	<i>Macaca nemestrina</i> homolog/ autolog	IVF	chir.	nein	CRANFIELD et al. (1988)
	Schweinsaffe	Rhesusaffe <i>Macaca mulatta</i>	IVF	chir.	nein	
1990	Schweinsaffe / Bartaffe-Hybrid	Schweinsaffe	IVF	chir.	ja	CRANFIELD et al. (1990)
	chir.: chirurgisch	n. chir.: nicht chirurgisch				k. A.: keine Angabe

Jahr	Tierart		Rezipient	Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor
1977	Rhesusaffe		homolog	chir.	chir.	ja	MARSTON et al. (1977)
1983	Rhesusaffe		homolog	chir.	chir.	ja	HODGEN (1983)
1984	Rhesusaffe		homolog	IVF	n. chir.	ja	BAVISTER (1984)
1987	Rhesusaffe		homolog	IVF	n. chir.	ja	BOATMAN (1987)
1989	Rhesusaffe		homolog	IVF	chir.	ja	WOLF (1989)
1990	Rhesusaffe		homolog	n. chir.	n. chir.	ja	GOODEAUX et al. (1990)
1990	Rhesusaffe		homolog	IVF	chir.	ja	LANZENDORF et al. (1990)
1983	"crab-eating" Makake	<i>Macaca fascicularis</i>	homolog	chir.	chir.		HODGEN (1983)
1984	"crab-eating" Makake		Rhesusaffe	IVF	k.A.	ja	BALMACEDA et al. (1984)
1986	"crab-eating" Makake		homolog	IVF	k.A.	ja	BALMACEDA et al. (1986)
1976	Pavian	<i>Papio cynocephalus</i>	homolog	chir.	chir.	ja	KRAEMER et al. (1976)
1983	Pavian		homolog	n. chir.	n. chir.	ja	POPE et al. (1983)
1984	Pavian		homolog	IVF	k.A.	ja	CLAYTON und KUEHL (1984)
1986	Pavian		homolog	kA	n. chir.	ja	POPE et al. (1986)
			chir.: chirurgisch		n. chir.: nicht chirurgisch		k. A.: keine Angabe



## Ordnung Herrentiere (*Primates*)

Familie Menschenaffen (*Pongidae*)

Jahr	Tierart		Rezipient		Gewinnung	Transfer	Erfolg	Autor
1995	Orangutan	<i>Pongo pygmaeus</i>	Orangutan-Hybrid		IVF	n. chir.	nein	JOSLIN et al. (1995)
1989	Flachlandgorilla	<i>Gorilla gorilla gorilla</i>	homolog		IVF	chir.	nein	LOSKUTOFF et al. (1989)
1993	Flachlandgorilla		homolog	homolog	IVF	n. chir.	nein	BARRIE et al. (1993)
1997	Flachlandgorilla		k. A.		IVF	n. chir.	ja	POPE et al. (1997)
			chir.: chirurgisch	n. chir.: nicht chirurgisch	k. A.: keine Angabe			