

## **TGD Info zum Programm**

### **Gewinnung, Erzeugung und Übertragung von Embryonen:**

#### **Grundlagen**

##### **a) Problemstellung**

Die Entwicklung der landwirtschaftlichen Betriebe in Österreich ist durch politische, wirtschaftliche und geografische Vorgaben gekennzeichnet. So ist die Rinderhaltung seit Jahrzehnten durch eine zunehmend rationelle Betriebsführung mit steigender Anforderung an eine tiergerechte Haltung auf ökonomischem Produktionsniveau charakterisiert, was sich durch eine kontinuierlich anhaltende Konzentration von Betrieben mit stetig wachsenden Tierzahlen in nahezu linearem Anstieg nachvollziehen lässt. Diese Intensivierung in der Rinderhaltung wird von Strukturmaßnahmen zur Erfassung betriebsrelevanter Kennzahlen für ein flexibles Produktionsmanagement mit Zukunft begleitet, die die Betriebe in ihrer Gesamtheit wie auch in Einzelpositionen überschaubar werden lassen, d.h. die Betriebe haben jederzeit Detailinformationen zur Beurteilung betriebsbeeinträchtigender Faktoren. Präventivmaßnahmen werden leichter zu erarbeiten, durchzuführen und aus betriebsökonomischer Sicht sehr effizient sein.

Die Fruchtbarkeit und damit die Reproduktionsleistung einer Herde stellt häufig den wichtigsten ökonomischen Faktor auf der Ebene der Fütterung, Haltung und Zucht in einem Milcherzeugerbetrieb dar. Insbesondere die Effektivität der Brunstbeobachtung und damit die Brunsterkennung ist hierbei entscheidend, da das Brunstverhalten von Hochleistungskühen immer undeutlicher wird und sich zum anderen durch Einsparung von Arbeitskräften und zunehmender Mechanisierung die verfügbare Zeit zur Brunstbeobachtung in Betrieben verkürzt. Insgesamt stellt die weibliche Fruchtbarkeitslage ein gutes Indikatorsystem für die genannten Faktoren dar, da die Tiere zwar nicht als krank erscheinen, die Reproduktionsdaten aber erheblich von denen anderer Tiere/Betriebe abweichen und von signifikanten betrieblichen Einbußen gezeichnet sind. Das Programm „Programm zur Gewinnung, Erzeugung und Übertragung von Embryonen“ konzentriert sich auf prophylaktische Maßnahmen bzw. Maßnahmen zur Erhaltung und Wiederherstellung der Tiergesundheit auf genetischer Basis. Damit soll im Sinne § 1 Abs. 2 der Tiergesundheitsdienst-Verordnung i.d.g.F. der zukünftigen Zucht von Rindern, die für die Lebensmittelerzeugung unter Wahrung

von Sicherheitsanforderungen, Beschaffenheit und Qualität mit bestmöglichem Verbraucherschutz bestimmt sind, Rechnung getragen werden.

### Nutzen des Programms

In der Praxis sollen verschiedene Fruchtbarkeitsprogramme etabliert werden, die helfen sollen, unter Optimierung der Fruchtbarkeitsparameter und Ausschluss von gegebenenfalls bestehenden Defiziten in den Bereichen Fütterung, Haltung und Hygiene, die Terminierung der Besamung, Zwischenkalbezeit, Nutzungsdauer etc. unter Einbeziehung verschiedenster Zuchtmerkmale auf ein betriebsspezifisches Maß anzuheben.

Die Embryogewinnung bzw. -produktion und der Embryotransfer erlauben als einzige zuchttechnische Maßnahme die Züchtung auf tierindividueller Ebene. Dementsprechend ergibt sich der Nutzen für den bäuerlichen Betrieb:

- Erhalt genetischer Aufbauleistung an der Rinderherde über Generationen im Betrieb
- Stärkere Selektionsmöglichkeit im Betrieb und auf der Ebene von Kuhllinien
- Zucht unter Einbeziehung mehrerer Merkmale durch vermehrte Embryoproduktion
- Innerbetriebliche Selektionsschärfe, zeitrelevanter Nutzen
- Anhebung der Nutzungsdauer/-leistung
- Verbesserung der Fruchtbarkeitslage im Betrieb

Information

Übergeordneter Betriebscheck

Tierüberwachung, Follikelpunktion, Embryogewinnung

Es sind aufgrund der strategisch-tiergesundheitsdienstlichen Erfassung Fruchtbarkeitsprogramme zu entwickeln, die individuell an die Betriebsstrukturen angepasst werden müssen und somit helfen sollen, wirtschaftliche Verluste durch Probleme von Fertilitätsstörungen auf ein Minimum zu reduzieren. Es werden Zuchtmaßnahmen unternommen, die von einer dynamischen Eierstockfunktion bis zum präimplantativen Embryonalstadium die Nachkommensproduktion am Betrieb sichern.

### **b) Aspekte der Leistung – Fitness – Genetik**

Die Züchtung bedeutet für einen ökonomisch geführten Betrieb die Ausschöpfung des genetischen Leistungspotentials und die Selektion auf Leistung, Fruchtbarkeit, Langlebigkeit und Gesundheit mit der Konsequenz der Ausmerzungen unwirtschaftlicher Tiere. Die Effizienz der Produktion sowohl seitens des Betriebes wie auch seitens der Tiere ist unweigerlich an die

Reproduktion gekoppelt. Die Nutzungsdauer in Österreich ist mit etwa 4 Kälbern bzw. Laktationen zu veranschlagen. Trotz Intensivierung in der Zucht ist die Nutzungsdauer der Milchkühe über die Dauer der letzten 40 Jahre deutlich zurückgegangen.

Als Abgangsursachen bzw. Erkrankungshäufigkeiten sind verstärkt ungenügende Fruchtbarkeit bzw. Fruchtbarkeitsstörungen zu nennen. 2/3 aller Tiere gehen in der 3. Laktation wegen eines Problems in den Bereichen der Fruchtbarkeit, Euter oder Klauen ab. Hohe Bestandsergänzungsquoten sind die Folge. Die geringe Nutzungsdauer stellt eine besondere Belastung der Betriebe dar, da der relative Aufwand der Aufzucht ungünstig zunimmt. Jedes weitere Nutzungsjahr würde diesen Aufwand zunehmend minimieren. Abgangsursachen, die fruchtbarkeitsbedingt sind, gehen ebenfalls nach der 4. Kalbung zurück. Für die Betriebe findet sich die Kombination einer guten Fruchtbarkeit mit Langlebigkeit in einer erfolgreichen Nachkommensproduktion wieder. Steigende Produktionsleistungen der Tiere unter haltungsrationalisierten Bedingungen erschweren das Erkennen von Reproduktionsleistungen seitens des Betriebes. Diese Reproduktionsleistungen einer Herde sind u.a. maßgeblich von der Brunsterkennungsrate, der veränderten Ausprägung des z.B. Brunstverhaltens der Tiere bis hin zum verzögerten Eisprung und der Konzeptionsrate abhängig. Weiter ist festzuhalten, dass die genetischen Zusammenhänge zwischen Leistung und Nutzungsdauer unausgewogen bzw. gegensätzlich korreliert sind.

Insgesamt steht im Rahmen der Zuchtwertschätzung eine Vielzahl z.T. in sich sehr komplexer Merkmale einer niedrigen Anzahl an Nachzucht kombiniert mit einer geringen Heritabilität der Nutzungsdauer gegenüber. Züchterische Maßnahmen besonders im Bereich der Fitness erscheinen daher als deutlich eingeschränkt und stellen sich als Selektionsdiskrepanz dar, die auf Kosten einzelner Kuhlilien bzw. Betriebe gehen.

Weiterführende, biotechnische Methoden ermöglichen den Einsatz zusätzlicher Zuchtmaßnahmen, um gezielt die Bereiche Fruchtbarkeit, Nachkommensproduktion und Selektion optimal zu kombinieren. Eine wichtige Voraussetzung dieser Zuchtmaßnahmen ergibt sich aus der Tatsache, dass der Embryo die früheste Form der genetischen Vollständigkeit darstellt. Vorteile, die aus diesen biotechnischen Methoden hervorgehen sind:

- Präventivmaßnahmen, die therapeutische Maßnahmen reduzieren
- Erfassung genetischer Merkmale mittels molekulargenetischer Techniken  
→ Molekulargenetische Methode zur Präimplantationsdiagnostik
- Selektionen bereits im Präimplantationszeitraum ermöglicht erhebliche zeitliche Vorteile, erspart unnötige Belegung der Tiere

- Erhöhung der Selektionsschärfe durch vermehrte Produktion von Nachkommen
- Vielseitigere Berücksichtigung von Merkmalen wird ermöglicht
- Erhöhung der Reproduktionsleistung und Senkung der Produktionskosten

Da das Themengebiet Fruchtbarkeit multikausalen (genetisch, umweltbedingt) Ursprungs ist, sind interdisziplinäre Bereiche wie Fütterung, Haltung, Konstitution, Melktechnik, Hygiene und Aufzucht zusammenhängend zu betrachten und negative Einflussfaktoren zu minimieren, um mit einem Fruchtbarkeitsprogramm den gewünschten Erfolg zu erzielen.

### **c) Keimanlage des weiblichen Rindes als Voraussetzung für Zuchtmaßnahmen**

Die entscheidende Voraussetzung für die bislang erfolgreichste Anwendung der Reproduktionstechnologie „Künstliche Besamung“ liegt ausschließlich in physiologischen und anatomischen Ursprüngen. Während beim männlichen Tier nach Einsetzen der Geschlechtsreife in nahezu unerschöpflichem Maße Samen bereitgestellt werden und gewonnen werden können, ist der Ort und die Entwicklung der weiblichen Keimanlage gänzlich verschieden: Noch im Fetalstadium wird ein Vorrat (pool) von Primordialfollikeln gebildet. Sie entwickeln sich aus den primordialen Keimzellen, die aus der Dottersackwand des Fetus in die noch undifferenzierten Gonaden einwandern (beim Rind 30. bis 32. Graviditätstag), sich dort im Kortex mittels Mitose zu Oogonien entwickeln, zwischen Tag 72 und 82 der Trächtigkeit in die Prophase der Meiose I eintreten und sich zu primären Oozyten differenzieren, die im Diplotänstadium arretiert werden. Beim Rind wird diese Proliferationsphase bis zum 7/8. Monat der Trächtigkeit beobachtet. Die Gesamtzahl der Oogonien in den Ovarien von Rinderföten wird mit etwa 2 Millionen beziffert, von denen 90 - 99 % bis zum Erreichen der Geschlechtsreife degenerieren. Bei Kälbern unmittelbar nach der Geburt wird die Anzahl der Oozyten mit durchschnittlich 235.000 angegeben. Das erwachsene Rind weist bereits nur noch  $\leq 100.000$  Primordialfollikel auf, von denen wiederum nur ein kleiner Teil während der Reproduktionsperiode ovulieren wird.

Das Wachstum der Follikel läuft wellenförmig ab. Erste Follikelwellen sind schon bei zwei Wochen alten Kälbern zu beobachten. Mit Beginn der Pubertät erscheinen zwei oder drei (vier) Follikelwellen innerhalb eines Sexualzyklus, wobei Zyklen mit drei Wellen am häufigsten zu beobachten sind.

Jede Follikelwelle ist charakterisiert durch:

### Rekrutierung

Es beginnt das Wachstum einer Gruppe von 5 - 6 Antralfollikeln der Größe 1 - 2 mm, deren weiteres Wachstum vom Vorhandensein von Gonadotropinen abhängt.

### Selektion

Der größte Follikel, der aus der Rekrutierungsphase hervorgeht, wird dominant. Er unterdrückt die Freisetzung von Gonadotropinen aus dem Hypophysenvorderlappen; daraufhin stagniert die Weiterentwicklung der anderen Follikel der Rekrutierungsphase.

Der dominante Follikel durchläuft drei Phasen:

- Wachstum - Vergrößerung des Durchmessers
- Stasis - kleine Veränderungen des Durchmessers
- Atresie - Verkleinerung des Durchmessers

Der Eintritt jeder Follikelwelle beginnt mit einem kurzen Anstieg von FSH 1 - 2 Tage vor der ultrasonographischen Darstellbarkeit der neuen Welle. Am Tag 2 - 3 jeder Welle, wenn die FSH-Konzentration sinkt und gleichzeitig die Amplitude der LH-Pulse steigt, wird einer der wachsenden Follikel dominant (Tag 4 - 5). Die untergeordneten Follikel stellen ihre Östrogenproduktion ein, und beinhalten sodann in ihrer Follikelflüssigkeit höhere Konzentrationen an Progesteron. Sie verlieren die FSH-Rezeptoren und werden während der Dominanzphase und unter der niedrigen FSH-Konzentration atretisch. Der dominante Follikel wächst, bildet LH-Rezeptoren an den Granulosazellen und sezerniert große Mengen Östradiol trotz der verminderten Anzahl an FSH-Rezeptoren und der niedrigen Konzentration von FSH im Serum. Der dominante Follikel ist nur von LH abhängig und die anschließende Phase des dominanten Follikels, Atresie oder Ovulation, wird bestimmt durch die Ab- oder Anwesenheit von LH. Das Ende jeder Dominanzphase ist durch den Verlust der LH- und FSH-Rezeptoren und der Östrogenproduktion charakterisiert. Die pulsatile LH-Freisetzung wird in ihrer Frequenz wesentlich reduziert.

Während der lutealen Phase, in der Progesteron durch negativen „Feedback“ geringe LH-Pulsationen und niedrige Östrogenproduktion bewirkt, ist diese endokrine Umgebung verantwortlich für Wachstum und Entwicklung des dominanten Follikels, der zuerst seine funktionelle und dann auch seine morphologische Dominanz verliert. Der Verlust der

funktionellen Dominanz erlaubt nun wieder die Rekrutierung einer neuen Follikelwelle, der wiederum ein geringgradiger Anstieg von FSH vorausgeht.

#### **d) Möglichkeiten in Österreich**

Im Rahmen von Zuchtmaßnahmen stehen in Österreich sowohl die Superovulation als auch die in vitro-Produktion zur Verfügung. Bei der Superovulation erreichen mehrere Follikel das sprungreife Stadium, die Eizellen werden meist durch Mehrfachbesamung befruchtet, nach 6-8 Tagen aus der Gebärmutter gespült, tiefgefroren oder direkt auf Trägartiere übertragen. Wie aus der physiologischen Follikelentwicklung hervorgeht, werden zwar zuerst mehrere Follikel unter endogenem FSH herangebildet, der größere Follikel setzt sich aber im Wachstum ohne diese FSH-Wirkung deutlich von den kleineren Follikeln ab. Diese fehlende FSH-Wirkung unterbindet das weitere Wachstum aller Follikel aus demselben Follikelpool. Daraus ergibt sich die Möglichkeit zur multiplen Embryogewinnung, indem exogenes FSH über die Dauer der Entwicklung aller Follikel (aus der Welle) bis zur Sprungreife gegeben wird.

- Vorteil:
- einfache und erfolgreiche Methode
  - Gewinnung qualitativ hochwertiger Embryonen
  - Embryonen für die Kryokonservierung und den Direkttransfer geeignet
- Nachteil:
- nicht alle Spendertiere lassen sich im gewünschten Umfang stimulieren
  - z: T. unerwünschte Effekte, die negative Auswirkung auf das Exterieur haben
  - Hormonstimulationen bergen die Gefahr von Zyklusstörungen (Zystenbildung) in sich

Die in vitro-Produktion (IVP) von Embryonen ist als synergistische Methode zur Superovulation zu sehen. Im Gegensatz zur Superovulation, bei der die Embryoentwicklung ganzheitlich von der Ovulation, Befruchtung, Wanderungs- und Entwicklungsphase im Tier abläuft, ist bei der in vitro-Produktion ausschließlich eine gesunde Follikeldynamik am Eierstock die Voraussetzung, jede weitere Entwicklung wird außerhalb des Spendertierkörpers vollzogen. Dadurch ergeben sich folgende Einsatzmöglichkeiten:

- Gewinnung von Eizellen bei Jungtieren vor der Geschlechtsreife

- Embryoproduktion bereits als Vornutzung unmittelbar vor der Belegung
- Follikelpunktion von Tieren, die geschlachtet werden mussten
- Mehrfach wiederholte Follikelpunktion ohne Hormoneinsatz
- Embryoerzeugung bei Tieren, die pathologisch-anatomische Störungen in den dem Ovar nachgeschalteten Organbereichen haben
- Follikelpunktion per se regt die Ovaritätigkeit an; die Chancen auf Wiederbelegung nach Eierstocksdysfunktion steigen nach OPU (Ovarpunktion)

Insgesamt ergibt die Superovulation weniger Embryonen mit guter Qualität, während die IVP auf eine größere Menge an Eizellen zurückgreifen kann, die jedoch in Embryonen geringerer Qualität münden. Zwischen Superovulation und IVP ergeben sich Möglichkeiten, die die Schwächen in der Follikelausbildung durch moderate Hormonunterstützung auszugleichen versuchen. Darüber hinaus ergibt sich für österreichische Verhältnisse die Möglichkeit, die Embryogewinnung zentral über die Follikelpunktion (IVP) zu steuern, jedoch über eine maximal lange Zeit sowohl die Reifung der Eizelle im Spenderovar als auch die Weiterentwicklung der Embryonen im Rindereileiter als Zwischenempfänger zu vollziehen.

Die aufgeführten Zuchtmaßnahmen sind betrieb- und tierindividuell anzupassen, um die potentielle Chance zur Erzeugung zusätzlicher Trächtigkeiten und damit Kälber bestmöglich zu nutzen zu können.

Signaturwert	guok38LIDmSThxbDjiYdf2XKn7ap3Y16T4jAi5V1DwqO2GzHk7fob98esAfi+FRL+t0 A4XbyfXAJ4x9IPBNHY6zApk2gOWDTGGeHAERCe2fpWhVdYeoCWyL7KH2LPwEd+QeBv8 XNhPCfZluYnjQ7vS8LYHPNZaFT9HPydhxrw7W4q86yVHy8AAhHOoQ02c4d7afx+LN9 0DlyUongQTJKT9sdem3JLdsXKFxsk7we7QyzgRDh3uQV4o2zytqDz6rNFR9E0Y3uHNz NbaQirJc0hJxGlTtVWBcWb/BD0xJneSaguqUWNlcr2vBShx63RNuuxXEjBQb/EfkoZ Smc16OA==	
	Unterzeichner	serialNumber=954749996045,CN=Bundesministerium für Gesundheit,C=AT
	Datum/Zeit	2015-12-22T09:04:48+01:00
	Aussteller-Zertifikat	CN=a-sign-corporate-light-02,OU=a-sign-corporate-light-02,O=A-Trust Ges. f. Sicherheitssysteme im elektr. Datenverkehr GmbH,C=AT
	Serien-Nr.	1721029
	Parameter	etsi-bka-moa-1.0
Hinweis	Dieses Dokument wurde amtssigniert.	
Prüfinformation	Informationen zur Prüfung der elektronischen Signatur finden Sie unter: <a href="http://www.signaturpruefung.gv.at">http://www.signaturpruefung.gv.at</a>	