

15.-16.06.2023

# AET-d 2023

Arbeitsgemeinschaft Embryotransfer  
deutschsprachiger Länder

Bad Waldsee

Andreas Vernunft | Hannes Kohler

Organisation vor Ort

Anna-Rose Fischer | Lukas Demattio

[www.aet-d.de](http://www.aet-d.de)





**48. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft Embryotransfer  
deutschsprachiger Länder (AET-d)**

**am 15.06. und 16.06.2023**

**in der schwäbischen Bauernschule in Bad Waldsee**



## Goldspensoren



konivet



## Silbersponsor



## Bronzesponsoren



*zoetis*

**BAYERN**  
**GENETIK**

---

Perfect Match.

## Bronzesponsoren



## Weitere Sponsoren



**Wir bedanken uns bei unseren Sponsoren  
für die finanzielle Unterstützung unserer Tagung**



## Sponsorenadressen

### Gold

**Rinderunion Baden-Württemberg e.V.**

Ölkofer Straße 41  
88518 Herbertingen  
Tel.: +49 (0) 7586 9206 20  
www.rind-bw.de

**KONIVET GmbH**

Robert-Bosch-Straße 6  
49632 Essen (Oldb.)  
Tel.: +49 (5434) 923649-33  
www.konivet.de (falk.hofmann@konivet.de)

### Silber

**IMV Technologies**

ZI n1 Est  
61300 L'Aigle, Frankreich  
Andres Kling  
Tel.: +332 33 34 64 64  
www.imv-technologies.com

### Bronze

**Minitüb GmbH**

Hauptstr. 41  
84184 Tiefenbach  
Tel: 08709 9229 123  
https://www.minitube.com

**RMP Medizinische Produkte**

Eyber Straße 74  
91522 Ansbach  
Tel.: 0981/ 97 22 47 - 0  
www.rmp-med-produkte.de

**SYNETICS Germany GmbH**

Osterkrug 20  
27283 Verden (Aller)  
Tel.: +49 4231 679-0  
www.synetics.world

**Zoetis Deutschland GmbH**

Schellingstraße 1  
10785 Berlin  
Tel: (+49) (0) 6029 999195  
Internet: www.zoetis.de

**Bayern-Genetik GmbH**

Altenbach 2  
84036 Kumhausen  
Tel.: +49 871 - 95 310 0  
www.bayern-genetik.de

**Swissgenetics**

Hauptstrasse 61  
5243 Mülligen AG  
Tel: +41 56 201 45 72  
www.swissgenetics.com

### Weitere

**Vetoquinol GmbH**

Reichenbachstraße 1  
85737 Ismaning  
Tel.: 089 999 79 74 0  
www.vetoquinol.de

**Bodinco BV**

Hazenkoog 35B  
1822 BS Alkmaar, Netherlands  
Tel: +31(0)72 5670067  
www.bodinco.nl

**RSHeG**

Rendsburger Strasse 178  
24537 Neumünster  
Tel.: +49 4321 905 322  
www.rsheg.de

## Programm

### zur 48. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft Embryotransfer deutschsprachiger Länder (AET-d), 15./16.06.2023

#### Donnerstag 15.06.2023

#### Praktisches Seminar

10:00-11:00 Uhr (Bullenstation, Hopfenweiler Weg 20, Stadtmitte Bad Waldsee)

**Workshop Sexing-Labor (Arbeitsschritte und Abläufe, Hygiene- und Qualitätsmanagement)**

Lukas Demattio, A.-R. Fischer

Rinderunion Baden-Württemberg e.V.

Gruppe A: für alle, die schon vor Ort sind

#### 12:00 Uhr Kleiner Imbiss

#### 13:00 Uhr Begrüßung

Dr. Andreas Vernunft, 1. Sprecher der AET-d

Dr. Alfred Weidele, Geschäftsführer Rinderunion Baden-Württemberg e.V.

#### Sektion 1: Zusammenhänge Tierernährung und Fruchtbarkeit

13:15-14:50 Uhr, Moderation Andreas Vernunft

##### 13:15 Uhr-14:15 Uhr

**Vitamin- und Spurenelementversorgung der Milchkuh**

2

– Viel hilft viel oder ist weniger mehr?

Corinna Ingmanns, MIAVIT GmbH; Ruminant Nutritionist

##### 14:15 Uhr-14:35 Uhr

**Einfluss einer pansengeschützten Methionin- und Lysin-Supplementation auf die Entwicklungs-kompetenz boviner Kumulus-Oozyten-Komplexe (gewonnen mittels OPU von Milchkühen)**

3

Markus Ritz<sup>1</sup>, A. Gonzalez<sup>1</sup>, A.-S. Fries<sup>1</sup>, T. Scheu<sup>2</sup>, N. Blad-Stahl<sup>1</sup>, F. Kotarski<sup>1</sup>, G. Schuler<sup>1</sup>, C. Koch<sup>2</sup>, C. Wrenzycki<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Justus-Liebig-Universität Gießen; <sup>2</sup>Hofgut Neumühle, Münchweiler an der Alsenz

##### 14:35 Uhr-14:50 Uhr

**Equipment und Vorgehen beim ET – Status quo**

5

Ana Kassens, Synetics Germany GmbH, Verden

#### 14:50-15:30 Uhr Pause und Industrieausstellung

## Sektion 2: Ein Blick über den Tellerrand

15:30-17:30 Uhr, Moderation Kirsten Mense

**15:30 Uhr-16:15 Uhr**

**Embryo transfer in South American Camelids** **8**

**Jesus Manuel Palomino;**

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; Universidad Científica del Sur; Lima, Perú

**16:15 Uhr-16:35 Uhr**

**Ein Blick über den Tellerrand: Reproduktionstechnologien für Vögel  
und Genom-Editierung in primordialen Keimzellen von Hühnern** **9**

**Stephanie Altgilbers, C. Dierks, S. Klein, S. Weigend, W.A. Kues, C. Klein**

Friedrich-Loeffler-Institut, Institut für Nutztiergenetik, Mariensee

**16:35 Uhr-16:55 Uhr**

**Aufbau eines SPF-Zuchtbestandes gentechnisch modifizierter Schweine über  
laparoskopischen Embryotransfer** **10**

**Barbara Keßler, A. Hinrichs**

Lehrstuhl für molekulare Tierzucht und Biotechnologie, LMU München

**16:55 Uhr-17:15 Uhr**

**Impaired sperm maturation in cloned boars with a SNP in the KCNJ5 gene – a case study** **11**

**Katerina Marcollova<sup>1</sup>, J. C. Gutierrez-Anez<sup>1</sup>, L. Lenk<sup>1</sup>, P. Hassel<sup>1</sup>, P. Kielau<sup>1</sup>, B. Sieg<sup>1</sup>, V.**

**Hensel<sup>1</sup>, H. Henning<sup>1</sup>, B. Petersen<sup>1</sup>, C. Klein<sup>1</sup>, U. Scholl<sup>2</sup>, A. Lucas-Hahn<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Friedrich-Loeffler-Institut, Institut für Nutztiergenetik, Mariensee

<sup>2</sup>Berlin Institute of Health an der Charité (BIH), Berlin, Germany

**17:15 Uhr-17:30 Uhr**

**Praxismanagement: Nachwuchsförderung für den praktischen Embryotransfer** **12**

**Kirsten Mense<sup>1</sup>, J. Detterer<sup>2</sup>, A. Krebbers<sup>3</sup>, P. Henningsen<sup>4</sup>, J. Seliger<sup>1,5</sup>**

<sup>1</sup>Synethics Verden, <sup>2</sup>VOST-Besamungs- und ET-Station Georgsheil,

<sup>3</sup>Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere, Justus-Liebig-

Universität Gießen, <sup>4</sup>ET-Service Schleswig-Holstein, <sup>5</sup>Uni Leipzig

**17:30-18:00 Uhr: Pause und Transfer zur Bullenstation Bad Waldsee**

## Praktisches Seminar

**18:00-19:00 Uhr** (Bullenstation, Hopfenweiler Weg 20, Stadtmitte Bad Waldsee)

**Workshop Sexing-Labor (Arbeitsschritte und Abläufe, Hygiene- und Qualitätsmanagement)**

**Lukas Demattio, A.-R. Fischer**

Rinderunion Baden-Württemberg e.V.

**Gruppe B:** für alle, die erst angereist sind

## Abendveranstaltung

**19:30 Uhr Abendessen im Restaurant „Grüner Baum“ (Hauptstraße 34, Navi: Wettgasse 7)**

**21:30 Uhr Ausklang in der Kellerbar der Bauernschule**

## Freitag 16.06.2023

### Sektion 3: Einflussfaktoren auf Embryonen

08:30 -10:30 Uhr, Moderation Lukas Demattio

**08:30 Uhr-09:10 Uhr**

**Die Umwelt der Väter hat epigenetische Konsequenzen für die Nachkommen** 14

Jens Vanselow<sup>1</sup>, A. Sharma<sup>1</sup>, C. Wesenauer<sup>2</sup>, F. Becker<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Forschungsinstitut für Nutztierbiologie (FBN, Dummerstorf), <sup>2</sup>RinderAllianz GmbH, Woldegk

**09:10 Uhr-09:30 Uhr**

**Ein Vergleich auf Basis der Proteinexpression von *in vivo* gewonnen Rindereizellen mit Schlachthofmaterial** 16

Rebecca Herbicht<sup>1</sup>, J. Paredes<sup>2</sup>, C. Klein<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Nutztiergenetik, Friedrich-Loeffler-Institut, Neustadt

<sup>2</sup>Ontario Veterinary College, University of Guelph, Guelph, Ontario, Kanada

**09:30 Uhr-09:50 Uhr**

**Effekte eines Serum-Zusatzes zum IVP-Kulturmedium für die mitochondriale Respiration vor und nach einer Kryokonservierung beim Rinderembryo** 17

Jessica Kurzella<sup>1</sup>, F. Rings<sup>1</sup>, E. Tholen<sup>1</sup>, C. Große-Brinkhaus<sup>1</sup>, D. Salilew Wondim<sup>2</sup>, E. Held-Hölker<sup>1</sup>, M. Hölker<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, <sup>2</sup>Georg-August Universität Göttingen

**09:50 Uhr-10:10 Uhr**

**Nachhaltige Effekte einer L-Carnitine Supplementation während der *in vitro* Kultur auf den Metabolismus boviner Embryonen an Tag 7 und Tag 14** 19

Eva Held-Hölker<sup>1</sup>, J. Kurzella<sup>1</sup>, D. Salilew-Wondim<sup>2</sup>, F. Rings<sup>1</sup>, E. Tholen<sup>1</sup>, C. Große-Brinkhaus<sup>1</sup>, M. Hölker<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, <sup>2</sup>Georg-August Universität Göttingen

**10:10 Uhr-10:30 Uhr**

**Untersuchung des Einflusses von IVP auf die Entwicklung von Rinderembryonen durch Einzelzellsequenzierung** 21

Gregor Neufeld, D. Herrmann, S. Altgilbers, R. Herbicht, S. Heras Garcia, C. Klein  
Friedrich-Loeffler-Institut, Institut für Nutztiergenetik, Mariensee

**10:30-11:10 Uhr Pause und Industrieausstellung**

## **Sektion 4: Embryonentransfer Praxis**

11:10-12.50 Uhr, Moderation Hannes Kohler

**11:10 Uhr-11:30 Uhr**

**Zusammenfassung und Vorstellung der Schwerpunktthemen der  
“49th Annual Conference of the International Embryo Technology Society ( IETS)”,  
Januar 2023, in Lima, Peru.** **24**  
Hanna Grothmann, Synetics Germany GmbH, Verden

**11:30 Uhr-11:50 Uhr**

**Einflussfaktoren auf die Abkalberaten nach dem Transfer von  
in-vivo gewonnenen und kryokonservierten Rinderembryonen unter besonderer  
Berücksichtigung des Gelbkörpers der Empfängertiere** **25**  
Jan Detterer<sup>1</sup>, L. Pieper<sup>2</sup>, T. Röpke<sup>2</sup>  
<sup>1</sup> VOST-Besamungs- und ET-Station Georgsheil, Südbrookmerland  
<sup>2</sup> IFN Schönau e.V., Bernau bei Berlin

**11:50 Uhr-12:10 Uhr**

**Flüssigkonservierung in vivo gewonnener Rinderembryonen unter Praxisbedingungen** **27**  
Elena Wolf<sup>1</sup>, H.-P. Nohner<sup>1</sup>, C. Wrenzycki<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Besamungsverein Neustadt a.d. Aisch e.V., Neustadt a.d. Aisch  
<sup>2</sup>Justus-Liebig-Universität Gießen

**12:10 Uhr-12:30 Uhr**

**Einfluss einer Mito-Tempo-Supplementation von Maturations- und Kulturmedium  
auf die Entwicklung und Kryoresistenz boviner Embryonen** **29**  
Maibritt Schreiber<sup>1</sup>, J. Kurzella<sup>2</sup>, F. Rings<sup>2</sup>, M. Rahimi<sup>1</sup>, D. Salilew Wondim<sup>1</sup>, N. Ghanem<sup>1</sup>,  
M. Hölker<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, <sup>2</sup>Georg-August Universität Göttingen

**12:30 Uhr-12:50 Uhr**

**Einfluss von Laktobazillen auf in-vivo gewonnene Rinderembryonen** **31**  
Alexandra Krebbers<sup>1</sup>, C. Gabler<sup>2</sup>, C. Kehrenberg<sup>3</sup>, J. Detterer<sup>4</sup>, C. Wrenzycki<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere, Justus-Liebig-  
Universität Gießen, <sup>2</sup>Freie Universität Berlin, <sup>3</sup> Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde,  
Justus-Liebig-Universität Gießen, <sup>4</sup> VOST-Besamungs- und ET-Station Georgsheil

## **12:50 Uhr Abschlussbesprechung, Anregungen, Verabschiedung**

Dr. Andreas Vernunft und Dr. Hannes Kohler, Sprecher der AET-d

**Kleiner Imbiss**



**Sektion 1**  
**Zusammenhänge Tierernährung und Fruchtbarkeit**

Moderation: Andreas Vernunft

## **Vitamin- und Spurenelementversorgung der Milchkuh – Viel hilft viel oder ist weniger mehr?**

**Corinna Ingmanns**

MIAVIT GmbH, Robert-Bosch-Straße 3, D-49632 Essen (Oldb.), Germany

Die richtige Rationsgestaltung für Milchkühe wird unter Fachleuten mannigfaltig diskutiert. Häufige Themenschwerpunkte sind die Strukturversorgung, das Fressverhalten, die Proteineffizienz oder auch die Transitphase. Weniger Beachtung wird dahingegen den Vitaminen und Spurenelementen geschenkt, obwohl sie gerade in der Transitphase bzw. vom Zeitpunkt des Trockenstellens bis zur Trächtigkeit eine entscheidende Rolle spielen.

Die Kalbung ist die herausforderndste Phase für die Milchkuh, da sie mit vielen metabolischen Veränderungen einhergeht. Allerdings führt dies nicht zwangsläufig zu Problemen, da es sich um ganz natürliche Prozesse handelt. Nur wenn das Immunsystem nicht in der Lage ist, die Entzündungen zu kontrollieren und das System aus dem Gleichgewicht gerät, treten schwerwiegende Erkrankungen auf.

Unter den Mikronährstoffen gehören Vitamin E und Selen zu den wichtigsten Antioxidantien, die in der Lage sind Zellen zu schützen und helfen können Infektionen zu vermeiden. Eine ausreichende Versorgung in der Trockenstehzeit reduziert die Nachgeburtsverhaltung, die Metritisinzidenz und Mastitiden in den ersten 60 Tagen post partum. Doch was heißt ausreichend? Wie viel sollte zugesetzt werden oder sind schon ausreichende Mengen an Vitaminen in den Silagen enthalten? Gibt es Unterschiede zwischen organischem und anorganischem Selen?

Da die Fruchtbarkeit durch eine Metritis negativ beeinflusst werden kann, lässt sich schon hier ein Zusammenhang feststellen. Doch Antioxidantien können nicht nur Entzündungsprozesse reduzieren, sondern auch den Uterus und die Follikel direkt schützen und somit einen positiven Einfluss auf den Besamungserfolg nehmen. Neben Vitamin E und Selen gehört Beta-Carotin ebenfalls zu den Antioxidantien. Es wird in den Eierstöcken der Wiederkäuer zu Vitamin A umgewandelt, welches sich dort anreichert und dadurch eine Schutzfunktion einnehmen kann.

Schließlich kann die richtige Versorgung der Kuh unter Berücksichtigung einiger weniger Eckdaten sichergestellt und somit mangelbedingten Fruchtbarkeitsstörungen vorgebeugt werden. Regelmäßige Blut- und Haaranalysen lassen Rückschlüsse auf die Versorgung zu und können zur Lösung von möglichen Problemen beitragen.



**Einfluss einer pansengeschützten Methionin- und Lysin-Supplementation auf die Entwicklungskompetenz boviner Kumulus-Oozyten-Komplexe (gewonnen mittels OPU von Milchkühen)**

**Markus Ritz<sup>1</sup>**, A. Gonzalez<sup>1</sup>, A.-S. Fries<sup>1</sup>, T. Scheu<sup>2</sup>, N. Blad-Stahl<sup>1</sup>, F. Kotarski<sup>1</sup>, G. Schuler<sup>1</sup>, C. Koch<sup>2</sup>, C. Wrenzycki<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Professur für Molekulare Reproduktionsmedizin, Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere, Justus-Liebig-Universität Gießen

<sup>2</sup> Hofgut Neumühle, Münchweiler an der Alsenz

Aminosäuren (AA) sind wichtige Nahrungsbestandteile für die Reproduktion von Milchkühen, wobei sich die Zufuhr pansengeschützter AA (RPAA) als wirksame Maßnahme zur Versorgung mit limitierenden AA erwiesen hat. Methionin und Lysin sind die beiden wichtigsten limitierenden AA für laktierende Milchkühe. Es gibt immer mehr Hinweise darauf, dass die Reifung der Oozyten, die Befruchtung und die Entwicklung des frühen Embryos besonders empfindlich auf Veränderungen in der mütterlichen Ernährung reagieren. Kürzlich wurde gezeigt, dass sich eine Methionin-Supplementierung offenbar auf die Embryonen superovulierter Kühe auswirkt und ihre Entwicklungsfähigkeit verbessert. Die Supplementierung von Methionin sorgte für eine Akkumulation endogener Lipide, welche als Energiequelle dienen können. Darüber hinaus wurden in der Follikelflüssigkeit des ersten dominanten Follikels nach dem Abkalben bei Kühen, die zwischen 21 Tagen vor und 30 Tagen nach dem Abkalben mit pansengeschütztem Methionin und pansengeschütztem Cholin supplementiert wurden, höhere Methioninkonzentrationen festgestellt. Es wurde angenommen, dass höhere Methioninkonzentrationen in der Follikelflüssigkeit die Oozytenqualität beeinflussen könnten. Bisher gibt es keine Informationen über die Auswirkungen einer kombinierten Methionin- und Lysin-Supplementierung (jeweils pansengeschützt) auf die Oozytenqualität. Ziel dieser Studie war es daher, die Auswirkung einer kombinierten Methionin- und Lysin-Supplementierung während der frühen bis mittleren Laktation auf die Entwicklungskompetenz von Oozyten zu untersuchen, die von laktierenden Milchkühen entnommen wurden.

Dreißig trächtige, pluripare deutsche Holstein-Kühe wurden 3 Wochen vor dem erwarteten Kalbetermin in Gruppen eingeteilt und erhielten identische Rationen. Nach dem Abkalben wurden sie nach dem Zufallsprinzip zwei Gruppen zugeteilt, die eine totale Mischration erhielten, die mit (N=14 Kühe; RPAA) oder ohne (N=16 Kühe; CON) verkapseltes Lysin auf einem Siliziumdioxidträger und dem Methionin-Analogen, Hydroxymethylthiobuttersäure (40 g bzw. 45 g), ergänzt wurde. Ab dem 45. Tag p.p. wurden die Tiere beider Gruppen mindestens 8 Wochen lang einmal wöchentlich einer transvaginalen Follikelpunktion (OPU) unterzogen. Die gewonnenen Kumulus-Oozyten-Komplexe (KOK) wurden einem Standardprotokoll für die In-vitro-Produktion (IVP) unterzogen. Die Teilungs- und Entwicklungsraten bis zum Morula-/Blastozystenstadium wurden an den Tagen 3, 7 und 8 (T3, T7, T8) erfasst. Alle statistischen Analysen wurden mit SigmaStat (Version 3.5, Systat Software GmbH, Erkrath, Deutschland) durchgeführt. Die Daten wurden mit dem t-Test ausgewertet. Als statistisch signifikant wurde ein P-Wert von  $\leq 0,05$  angesehen.

Insgesamt wurden 1211 Follikel von RPAA-Kühen punktiert, verglichen mit 1413 von CON-Kühen, von denen 742 bzw. 885 KOK gewonnen wurden. Die berechnete Wiederfindungsrate auf der Grundlage der Anzahl der aspirierten Follikel und der gewonnenen KOK war bei beiden Gruppen ähnlich ( $61,3 \pm 29,4\%$  gegenüber  $62,6 \pm 33,5\%$ ;  $P > 0,05$ ). Die Teilungs- und Entwicklungsraten auf der Grundlage von 240 (RPAA-Gruppe) und 299 (CON-Gruppe) KOK zeigten ebenfalls ähnliche Ergebnisse (RPAA: T3:

84,1±5,9% [202/240], T7: 18,3±4,4% [44/240], T8: 18,8±4,7% [45/240]; CON: T3: 81,9±8,6% [245/299], T7: 15,4±8,9% [46/299], T8: 16,7±8,4% [50/299];  $p>0,05$ ).

Die Supplementation von RPAA (Methionin und Lysin) hatte keine Auswirkung auf die Entwicklungsfähigkeit der von diesen Tieren gewonnenen KOK im Vergleich zu denjenigen, die von Kühen stammen, die mit einer Ration ohne RPAA gefüttert wurden.

## Equipment und Vorgehen beim ET

- Teil 1: Fragebogen -

### Ana Kassens

*Synetics Germany GmbH, Osterkrug 20, 27283 Verden*

In der heutigen Zeit ist es für Unternehmen und Tierarztpraxen herausfordernd, geeigneten tierärztlichen Nachwuchs – besonders im Bereich des Embryotransfers (ET) – zu finden und zu halten. Zudem ist es teilweise schwierig, neuen Kollegen eine vielfältige Einarbeitung zu bieten, die nicht nur das Tagesgeschäft abdeckt, sondern über den eigenen Tellerrand hinausblicken lässt. Dieses ist nicht zuletzt fehlender Zeit und der zunehmenden Kommerzialisierung des ETs geschuldet.

Um u.a. die Einarbeitung neuer Kollegen zu erleichtern, soll ein Überblick über die in den deutschsprachigen Ländern genutzten Materialien und Techniken erarbeitet werden. Dazu wird während der im Programm angegebenen Zeit ein Fragebogen zum oben genannten Thema ausgeteilt und gemeinsam besprochen.

Eine hohe Beteiligung der Tagungsteilnehmer und das Beisteuern von Fotos oder Zeichnungen würden ermöglichen, dass für die nächste Tagung der AET-d ein informativer Beitrag erstellt werden kann. Dies kann und soll natürlich nicht den persönlichen fachlichen Austausch ersetzen, kann aber eine Ergänzung darstellen.

### Für Rückfragen und Bilder:

Ana Kassens

Synetics Germany GmbH

Tel.: 0151 54641894

e-mail: [ana.kassens@synetics.world](mailto:ana.kassens@synetics.world)



Übersichtsbild zu den während der Embryonenspülung genutzten Materialien



## **Sektion 2**

### **Ein Blick über den Tellerrand**

Moderation. Kirsten Mense

### **Embryo transfer in South American Camelids**

**Jesus Manuel Palomino** DVM, MSc, PhD;

Aktuell als Dozent an der Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; Universidad Científica del Sur; Lima, Perú.

Jesus Manuel Palomino ist Doktor der Veterinärmedizin an der Universidad Nacional Mayor de San Marcos. M.Sc. und Ph.D. mit Spezialisierung auf Reproduktionsphysiologie an der University of Saskatchewan. Er absolvierte ein Postdoktorat an der Université Laval (Kanada) und ein Postdoktorat an der Universität von Guelph (Kanada). Er ist Reproduktionsspezialist bei Boviteq Inc (Kanada), Mitglied der Internationalen Gesellschaft für Embryotechnologie (IETS) und war Dozent des Kurses "Ultraschall und Embryotransfer-Workshops" an der Universität von Saskatchewan in den Jahren 2015 und 2017. Er ist ehemaliger Professor für Tierreproduktion, veterinärmedizinische Geburtshilfe und Gynäkologie sowie veterinärmedizinische Biotechnologiekurse an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga.

#### Themenbezogene Veröffentlichungen

Palomino, J. M., Mastromonaco, G. F., Cervantes, M. P., Mapletoft, R. J., Anzar, M., & Adams, G. P. (2020). Effect of season and superstimulatory treatment on in vivo and in vitro embryo production in wood bison (*Bison bison athabasca*). *Reproduction in Domestic Animals*, 55(1), 54-63.

Palomino JM, Jones L, Vanhanen T, Mastromonaco GF, Busato R, Adams GP. Alpaca embryo transfer on a private Canadian farm. *Can Vet J*. 2018;59(6):631-634.

## **Ein Blick über den Tellerrand: Reproduktionstechnologien für Vögel und Genom-Editierung in primordialen Keimzellen von Hühnern**

**Stephanie Altgilbers**, C. Dierks, S. Klein, S. Weigend, W.A. Kues, C. Klein

Friedrich-Loeffler-Institut, Institut für Nutztiergenetik, Mariensee

Basierend auf den Besonderheiten der Reproduktionsphysiologie des Vogels, hat sich die in vitro Manipulation von primordialen Keimzellen (PGCs) des Haushuhns als Werkzeug zur Erstellung transgener Hühnermodelle etabliert. Dabei werden die PGCs aus Hühnerembryonen gewonnen, in vitro kultiviert, editiert und anschließend in einen Hühnerembryo re-injiziert. Als Modell zur Funktionalitätsprüfung der CRISPR/Cas9-Methode in PGCs, wurde hier eine provirale Sequenz (EAV-HP) mit einer Größe von 4.2 kb ausgewählt, die in bestimmten Geflügelrassen mit dem Phänotyp der blauen Eischalenfarbe assoziiert ist. Diese provirale Zielsequenz, befindet sich im Promotorbereich des *SLCO1B3* Gens auf Chromosom 1. Zwei experimentelle Ansätze wurden verfolgt: Die Elimination der gesamten proviralen Sequenz in Blauleger-PGCs, sowie die Insertion dieser Sequenz in das Genom von Weißlegern mittels CRISPR/Cas9 induzierter homologer Rekombination. Dazu wurden rasse-spezifische PGC-Linien etabliert und mit den entsprechenden CRISPR/Cas9-Plasmiden transfiziert. Anschließend wurde genomische DNA isoliert und ein T7EI-Assay durchgeführt. Für eine absolute Quantifizierung wurden digital PCR Assays durchgeführt. Die Deletions-Effizienz in Blauleger-PGCs betrug 69% und die Insertions-Effizienz lag bei maximal 6%. Die Untersuchung von Einzelzellklonen zeigte eine biallelische Deletion des Provirus in Blauleger-PGCs. Die Insertion konnte in Weißleger-PGCs präzise an gewünschter Position monoallelisch auf Chromosom 1 eingefügt werden. Die erstellten Zell-Linien werden folgend in Hühnerembryonen injiziert und die Nachkommen auf die Ausprägung der Eischalenfarbe geprüft. Mit diesen Arbeiten demonstrieren wir die hohe Effizienz des CRISPR/Cas Systems für die präzise Deletion und Insertion einer großen proviralen Sequenz in Hühner-PGCs.

Die Gewinnung und ex-situ-Konservierung (Genbank-Management), sowie die Re-injektion von weiblichen und männlichen PGCs in Hühnerembryonen, bietet zudem die Möglichkeit die gesamte Genetik bedrohter und lokal adaptierter Rassen, die robust gegenüber bestimmten Umwelteinflüssen sein können, langfristig zu erhalten. Dies kann mit der genetischen Anpassung bestimmter Merkmale durch das CRISPR/Cas System sinnvoll ergänzt werden.

## **Aufbau eines SPF-Zuchtbestandes gentechnisch modifizierter Schweine über laparoskopischen Embryotransfer**

**Barbara Keßler**, A. Hinrichs

Lehrstuhl für molekulare Tierzucht und Biotechnologie, Ludwig-Maximilians-Universität München

Im Rahmen des Neuaufbaus des Center for Innovative Medical Models (CiMM) an der LMU München sollte der bestehende Zuchtbestand sowie neu zu erstellende genetisch modifizierte Linien auf ein höheres hygienisches Haltungsniveau gebracht werden. Es handelt sich dabei um einen Versuchstierbestand ohne landwirtschaftliche Nutzung. Vorgabe waren dabei nicht nur die Freiheit von möglichst vielen schweinepathogenen Erregern, sondern auch von potentiellen Zoonoseerregern wie Hepatitis E-Virus oder Porcinem Cytomegalievirus.

Die Erstbelegung erfolgte mit 11 trächtigen Zukaufsjungsaunen aus einem Betrieb mit einem sehr hohen Hygienestatus. Die Abferkelung wurde eingeleitet und überwacht, die geborenen Ferkel wurden dabei etwa alle 2 Stunden kontrolliert zum Gesäuge gelassen, um eine ausreichende Kolostrumaufnahme zu gewährleisten. Nach 24 Stunden wurden sie abgesetzt und weiter in RescueDecks aufgezogen. Diese erste Generation im CiMM war ausschließlich als Embryotransfer-Empfängertiere vorgesehen.

Die Einschleusung des eigentlichen Zuchtbestands begann als die ET-Empfänger ein Alter von 6 Monaten erreicht hatten. Die Sauen wurden mit Altrenogest, ECG und HCG synchronisiert, der Embryotransfer erfolgte an Tag 1 nach Ovulation. Transferiert wurden Tag 1 und Tag 2 Embryonen, die entweder über IVF oder Kernttransfer generiert wurden.

Der Embryotransfer wurde laparoskopisch nach der Methode von Urban Besenfelder durchgeführt. Er erfolgt am anästhesierten Tier, das in Rückenlage ausgebunden und in Richtung Kopf leicht gekippt ist. Der Trokar für die Optik wird in der Linea alba etwa eine Handbreit hinter dem Nabel positioniert. Nach optischer Kontrolle der korrekten Lage wird Co2 insuffliert und ein zweiter Trokar für die Faßzange platziert. Nun wird das Ovar aufgesucht, das Infundibulum vorsichtig angehoben und eine Hohlnadel durch die Bauchwand ins Eileiterlumen vorgeschoben. Durch diese können die vorher in einen flexiblen Venenkatheter aufgezogenen Embryonen direkt unter Sichtkontrolle in den Eileiter abgesetzt werden. Ein einseitiger Transfer ist beim Schwein ausreichend, da über das Corpus uteri beide Uterushörner miteinander verbunden sind und die Embryonen sich auch in das contralaterale Horn verteilen.

In der ersten Runde Embryotransfer konnten bei 21 von 43 Empfängertieren Trächtigkeiten erzielt werden (49%). 30 dieser Tiere wurden entweder nach Leerbleiben nach dem ersten ET oder nach Geburt und Absetzen ihres ersten Wurfes erneut für den ET verwendet. Der Transfer erfolgte dabei auf der contralateralen Seite, da Verklebungen am Infundibulum durch die Manipulation mit der Faszange nicht immer vermieden werden können. Diese können den Transfer unter Umständen erschweren. Die Trächtigkeitsrate für den zweiten ET lag bei 40% (12 Trächtigkeiten).

In 4 Fällen wurden in leicht abgewandelter Technik (Punktion des Uterus nahe des uterotubalen Übergangs) Blastocysten transferiert. Hierbei konnte eine Trächtigkeit (25%) etabliert werden.

Die laparoskopische Technik ist ein minimalinvasives Verfahren, das Zugang zu Eileiter und Uterus ermöglicht, und somit für frühe und späte Embryonen geeignet ist. Der Eingriff dauert für einen geübten Operateur nur wenige Minuten, und kann (bei Vorhandensein einer geeigneten Lagerungsmöglichkeit) auch unter Feldbedingungen durchgeführt werden.



### **Gestörte Spermienreifung in geklonten Ebern mit einem SNP im *KCNJ5* Gen – eine Fallstudie**

**Katerina Marcollova<sup>1</sup>**, J. C. Gutierrez-Anez<sup>1</sup>, L. Lenk<sup>1</sup>, P. Hassel<sup>1</sup>, P. Kielau<sup>1</sup>, B. Sieg<sup>1</sup>, V. Hensel<sup>1</sup>, H. Henning<sup>1</sup>, B. Petersen<sup>1</sup>, C. Klein<sup>1</sup>, U. Scholl<sup>2</sup>, A. Lucas-Hahn<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Friedrich-Loeffler-Institut, Institut für Nutztiergenetik (ING), Neustadt, Germany

<sup>2</sup> Berlin Institute of Health an der Charité (BIH), Berlin, Germany

Kürzlich wurde an unserem Institut ein Schweinemodel für primären Hyperaldosteronismus etabliert. Das Model basiert auf der Editierung einer einzelnen Base im *KCNJ5*-Gen, das für einen Kaliumkanal kodiert. Dadurch kommt es zu einer Natriumpermeabilität des Kanals, die in der Nebenniere zu einer Depolarisation und zu spannungsgesteuertem Calciumeinstrom führt. Vier Eber wurden im Alter von 10 Monaten einer Zuchttauglichkeitsuntersuchung unterzogen. Sie waren klinisch gesund. Am Phantom konnte bei drei Tieren erfolgreich Spermia gewonnen werden. Interessanterweise enthielten die Ejakulate von allen Ebern durchweg einen erhöhten Anteil morphologisch abweichender Spermien (86 % bis 100 %). Spermien mit persistierenden Plasmotropfen (PT) waren die häufigste Abweichung (69 % bis 96 %). Persistierende Plasmotropfen deuten auf eine unvollständige Spermienreifung hin.

Die genomeditierten Eber sollten als Foundertiere zur Erstellung einer F1-Generation dienen, die dann in Forschungsprojekten eingesetzt werden sollen. Das Ziel der vorliegenden Studie war es, zu testen, ob der hohe Anteil abnormaler Spermien mit einer Befruchtung *in vitro* oder *in vivo* vereinbar ist. Darüber hinaus, haben wir evaluiert, ob die Spermaqualität sich verbessert, sobald die Pubertät bei den Tieren abgeschlossen ist.

Für den *in vitro* Versuch wurde Tiefgefriersperma von zwei Ebern im Alter von 10 Monaten mit der *KCNJ5*-Modifikation sowie von einem nicht transgenen Kontrolltier für die *in vitro* Befruchtung (IVF) *in vitro* gereifter Oozyten eingesetzt. Die Blastozystenrate nach 6 Tagen *in vitro* Kultur war bei den *KCNJ5*-modifizierten Ebern mind. dreimal niedriger (0,6% und 3,7%) als für das Kontrolltier (10,8%). Das Verhältnis von Spermien zu Eizelle im IVF wurde für den *KCNJ5*-modifizierten Eber mit der höheren Blastozystenrate optimiert. Verbesserungen auf Blastozystenraten von 13,7 % (300 Spermien/Eizelle) und 15,1 % (600 Spermien/Eizelle) wurden erzielt und erreichten damit 2/3 des Niveaus des Kontrolltieres (20,8% bei 60 Spermien/Eizelle und 26,5 % bei 75 Spermien/Eizelle).

Im Alter von 18 Monaten wurden die beiden Eber erneut untersucht. Die Ejakulate enthielten 37 % bis 94 % Spermien mit morphologischen Abweichungen. Die Abweichungen waren hauptsächlich Spermien mit proximalen PT, distalen PT und Schwanzschleifen mit PT. Erste Daten aus der computer-gestützten Spermienanalyse der Motilität zeigten keine Unterschiede zwischen *KCNJ5*-modifizierten Ebern und Kontrolltieren. Mittels Durchflusszytometrie wurden in lebenden Spermien von *KCNJ5*-modifizierten Ebern 1,5 bis 1,6-fach erhöhte Werte für den basalen Gehalt an freiem intrazellulärem Kalzium im Vergleich zu Wildtyp-Ebern gemessen. Dies stellte im Rahmen der *in vitro* Kapazitation kein Hindernis für die Induktion eines Kalzium-Influx in einer Subpopulation der Spermien dar.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass funktionell-veränderte *KCNJ5*-Kanäle vermutlich einen Einfluss auf die Spermienreifung bei Ebern haben. Trotzdem ist ein ausreichender Anteil der Zellen zur Kapazitation und Befruchtung *in vitro* fähig. Eine erhöhte Spermienzahl bei der Insemination optimiert den Befruchtungserfolg.

## **Gedanken zur Nachwuchsförderung für den praktischen Embryotransfer**

**Kirsten Mense**<sup>1</sup>, J. Detterer<sup>2</sup>, A. Krebbers<sup>3</sup> P. Henningsen<sup>4</sup>, J. Seliger<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>Synethics Verden, <sup>2</sup>VOST-Besamungs- und ET-Station Georgsheil

<sup>3</sup>Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere, Justus-Liebig-Universität Gießen, <sup>4</sup>ET-Service Schleswig-Holstein, <sup>5</sup>Uni Leipzig

In fast allen Branchen gestaltet sich die Rekrutierung von MitarbeiterInnen schwierig. Im tierärztlichen Bereich gilt das besonders für die Nutztierpraxis. Noch größere Probleme haben die ET-Teams interessierte KollegInnen für die den praktischen Embryotransfer zu gewinnen. Die Lage wird sich in den nächsten Jahren verschärfen, da sich viele der zurzeit tätigen ET-TierärztInnen aus dem aktiven Berufsleben in den Ruhestand verabschieden werden. Eine Ursache für das geringe Interesse an einer Tätigkeit bei einer ET-Station, könnte mangelndes Wissen über dieses Aufgabengebiet sein. Zur Aufklärung über dieses interessante Spezialgebiet der Reproduktionsmedizin schlagen wir folgende Ansatzpunkte vor:

1. Informationsveranstaltungen an veterinärmedizinischen und agrarwissenschaftlichen Fakultäten

Dazu könnte man Kooperationspartner an den Bildungseinrichtungen in Deutschland gewinnen, um Studenten schon im Studium über die Perspektiven im Bereich Embryotransfer bzw. die Arbeit bei Zuchtorganisationen zu informieren. Im Rahmen einer Vorlesung oder Übung könnten KollegInnen aus der Praxis über ihre tägliche Arbeit berichten und eventuell auch praktische Dinge demonstrieren.

2. Angebot von Praktika für Studierende der höheren Semester bzw. im PJ bei den ET-Teams

Neben den Kernbereichen (Embryonengewinnung mit der dazugehörigen Laborarbeit und Transfers,) kann ein Praktikum die Möglichkeit bieten, bestimmte Fertigkeiten in der Reproduktionsmedizin, wie die Ultraschalldiagnostik oder die künstliche Besamung zu erlernen. Dabei wird auch ein Einblick in moderne Züchtungsmethoden, wie die Genomzucht, ermöglicht. Die Praktika könnten zeitlich so gelegt werden, dass auch die Teilnahme an der AET-d oder der sogenannten „kleinen ET-Runde“ ermöglicht wird. Diese Tagungen zeigen das umfangreiche Feld der Projekte im Bereich der Biotechniken und dienen dem Knüpfen von Kontakten.

3. Förderung von Dissertationen im angewandten ET

ET-Teams sollen motiviert werden, praxisrelevante Forschungsthemen für das Anfertigen von Dissertationen vorzuschlagen und diese auch finanziell zu unterstützen. Das Engagement der Wirtschaft für derartige Projekte ist essentiell, da die Hochschulen für angewandte Forschung in der Regel kaum Drittmittel einwerben können. Eine fachlich fundierte und engagierte Betreuung durch die ProfessorInnen der Universitäten und ihre Mitarbeitenden bildet hierbei natürlich die Grundlage dafür junge Menschen für eine Tätigkeit in unserem Fachbereich zu motivieren.

4. Hospitieren von angehenden FachtierärztInnen bei den ET Teams

Im Rahmen der Fachtierarztausbildung kann spezialisierten KollegInnen ein Einblick in die Arbeit der ET Teams ermöglicht werden.

5. Digitale Präsenz auf Job-Plattformen für Praktika- und Jobangebote (z.B. Vetstage, job.vet TVD)

Neben den klassischen Formaten, wie Anzeigen in Zeitschriften, könnten für Job- und Praktikumsangebote stärker auch digitale Portale genutzt werden.

Wir würden uns freuen, wenn im Rahmen der Diskussion weitere Ideen und Vorschläge zur Nachwuchsförderung entwickelt werden können.

## **Sektion 3**

### **Einflussfaktoren auf Embryonen**

Moderation: Lukas Demattio

## Die Umwelt der Väter hat epigenetische Konsequenzen für die Nachkommen

Jens Vanselow<sup>1</sup>, A. Sharma<sup>1</sup>, C. Wesenauer<sup>2</sup>, F. Becker<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Forschungsinstitut für Nutztierbiologie (FBN), Wilhelm-Stahl-Allee 2, D-18196 Dummerstorf

<sup>2</sup>RinderAllianz GmbH, Am Bullenberg 1, D-17348 Woldegk, Germany

Umweltfaktoren haben einen großen Einfluss auf die weibliche Fruchtbarkeit, sowie auf die Entwicklung der Nachkommen. So findet man bei Milchkühen unter Hitzestressbedingungen eine reduzierte Eizellkompetenz und Gelbkörperfunktion, aber auch die Embryonen selbst zeigen eine Beeinträchtigung ihrer Entwicklungsfähigkeit (Roth, 2020). Dies lässt sich dadurch erklären, dass die unter Hitzestress deutlich erhöhte Körpertemperatur der Kuh einen direkten Einfluss auf diese reproduktiven Prozesse hat. Aber auch auf der männlichen Seite reagiert der Prozess der Spermatogenese besonders während post-meiotischer Stadien empfindlich auf erhöhte Außentemperaturen (Rahman *et al.*, 2018). Interessanterweise können sich solche Effekte auch noch auf nachfolgende Generationen auswirken.

In einer rein epidemiologischen Studie wurde zunächst beim Menschen beschrieben, dass die Ernährungssituation in der vorpubertären Phase väterlicher Familienmitglieder die spätere kardiovaskuläre Gesundheit und die Stoffwechselgesundheit der Nachkommen bis in die übernächste Generation beeinflussen kann (Kaati *et al.*, 2002). Dabei war noch vollkommen unklar, wie die Spermien diese Effekte an die nächste (intergenerational) oder gar übernächste Generation (transgenerational) übermitteln.

Erst Jahre später, infolge der Aufklärung verschiedener epigenetischer Mechanismen wurde gezeigt, dass Spermien u.a. kleine, nicht-kodierende RNA Moleküle (sncRNA = small non-coding RNA) enthalten, die sie bei der Befruchtung in die Eizelle übertragen. Diese können dann im sich entwickelnden Embryo einen steuernden Einfluss auf die Aktivität embryonaler und fötaler Gene ausüben und so zur Ausprägung des Phänotyps beitragen. Interessanterweise verändert sich die Zusammensetzung der Spermien sncRNAs im Verlauf der Spermatogenese und Maturation, wobei die Nebenhodenpassage einen entscheidenden Einfluss hat (Chen *et al.*, 2016b). In Mausmodellen konnte gezeigt werden, dass Umwelteinflüsse und Ernährung des Vaters über sncRNA an die Nachkommen weitergegeben werden können (Chen *et al.*, 2016a). So kann insbesondere die Stoffwechselgesundheit der Nachkommen beeinträchtigt sein. Es konnte auch gezeigt werden, dass selbst Verhaltensmerkmale wie Ängstlichkeit durch vom Vater übertragene sncRNA Moleküle verändert sein können, wobei in diesem Fall das Alter des Vaters eine Rolle zu spielen scheint (Guo *et al.*, 2021). Nicht zuletzt kann auch chronischer Alkoholkonsum Spermien sncRNA vermittelte Auswirkungen auf die Nachkommen haben (Rompala *et al.*, 2018). Bei Bullen wurde gefunden, dass die Zusammensetzung der Spermien sncRNAs mit der non-return Rate korreliert (Fagerlind *et al.*, 2015).

In Zusammenarbeit mit der RinderAllianz haben wir untersucht, wie sich Hitzestress auf die Spermienqualität von Bullen auswirkt und ob mögliche Effekte an die männlichen Nachkommen weitergegeben werden. Spermaproben, die von denselben Tieren während der heißen Sommermonate und in der folgenden Wintersaison entnommen wurden, haben wir deshalb vergleichend analysiert. Es wurden die Parameter Ejakulatvolumen, Spermiedichte, Motilität und die Blastozystenrate nach IVF bestimmt. RNA-Analyse mittels Hochdurchsatzsequenzierung (RNAseq) der Spermaproben sollte zudem Aufschluss darüber geben, ob die Konzentrationen verschiedener

sncRNAs aufgrund von saisonalem Hitzestress moduliert werden. Um generationsübergreifende Effekte zu erfassen wurden männliche Nachkommen über künstliche Besamung (AI) erzeugt und deren Spermaproben auf dieselben Qualitäts- und Leistungsparameter untersucht. Die bislang erfassten Daten zeigen, dass die in vitro Blastozystenraten von Sommer- im Vergleich zu Wintersperma reduziert waren. Überraschenderweise zeigte aber auch noch die Motilität von Spermaproben der nächsten Generation signifikante Unterschiede. Aus unseren Daten schließen wir, (i) dass saisonaler sommerlicher Hitzestress während der Spermatogenese einen Einfluss auf die Spermaqualität haben kann und (ii) dass bestimmte Effekte möglicherweise über sncRNAs an die nächste männliche Generation weitergegeben werden können.

Das Projekt wurde durch das Forschungs- und Innovationsprogramm Horizont 2020 der Europäischen Union unter der Fördervereinbarung Nr. 815668 (BovReg) gefördert.

Chen, Q., Yan, M., Cao, Z., Li, X., Zhang, Y., Shi, J., Feng, G. H., Peng, H., Zhang, X., Zhang, Y., Qian, J., Duan, E., Zhai, Q. and Zhou, Q. (2016a). Sperm tsRNAs contribute to intergenerational inheritance of an acquired metabolic disorder. *Science*, **351**, 397-400.

Chen, Q., Yan, W. and Duan, E. (2016b). Epigenetic inheritance of acquired traits through sperm RNAs and sperm RNA modifications. *Nat Rev Genet*, **17**, 733-743.

Fagerlind, M., Stålhammar, H., Olsson, B. and Klinga-Levan, K. (2015). Expression of miRNAs in Bull Spermatozoa Correlates with Fertility Rates. *Reprod Domest Anim*, **50**, 587-594.

Guo, Y., Bai, D., Liu, W., Liu, Y., Zhang, Y., Kou, X., Chen, J., Wang, H., Teng, X., Zuo, J. and Gao, S. (2021). Altered sperm tsRNAs in aged male contribute to anxiety-like behavior in offspring. *Aging Cell*, **20**, e13466.

Kaati, G., Bygren, L. O. and Edvinsson, S. (2002). Cardiovascular and diabetes mortality determined by nutrition during parents' and grandparents' slow growth period. *Eur. J. Hum. Genet*, **10**, 682-688.

Rahman, M. B., Schellander, K., Luceño, N. L. and Van Soom, A. (2018). Heat stress responses in spermatozoa: Mechanisms and consequences for cattle fertility. *Theriogenology*, **113**, 102-112.

Rompala, G. R., Mounier, A., Wolfe, C. M., Lin, Q., Lefterov, I. and Homanics, G. E. (2018). Heavy Chronic Intermittent Ethanol Exposure Alters Small Noncoding RNAs in Mouse Sperm and Epididymosomes. *Front Genet*, **9**, 32.

Roth, Z. (2020). Influence of heat stress on reproduction in dairy cows-physiological and practical aspects. *J Anim Sci*, **98**, S80-s87.

## Ein Vergleich auf Basis der Proteinexpression von *in vivo* gewonnen Rindereizellen mit Schlachthofmaterial

Rebecca Herbicht<sup>1</sup>, J. Paredes<sup>2</sup>, C. Klein<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut für Nutztiergenetik, Friedrich-Loeffler-Institut, Neustadt, Deutschland

<sup>2</sup> Ontario Veterinary College, University of Guelph, Guelph, Ontario, Kanada

Für einen Großteil der Studien im Bereich Reproduktionsbiologie des Rindes (auch stellvertretend für die Humanmedizin) wird auf Schlachthofmaterial, v.a. Schlachthofovarien, zurückgegriffen. Der Vorteil besteht darin, dass für Forschungszwecke mehrmals wöchentlich in großer Stückzahl Eierstöcke beziehbar sind und so Eizellen ohne die Notwendigkeit eines Tierversuchs gewonnen werden können. Nachteilig ist hierbei allerdings, dass kaum bis keine Informationen über die „Spendertiere“ bekannt sind, wie beispielsweise Alter oder Gesundheitszustand.

In dieser Studie soll sich der Frage angenähert werden, wie repräsentativ Versuche mit aus Schlachthofovarien gewonnen Eizellen für die tatsächliche *In-vivo*-Situation sein können. Hierbei liegt der Fokus auf der Entwicklungsphysiologie der bovinen Oozyte. Zu diesem Zweck wurden unreife Eizellen aus Schlachthofovarien gewonnen. Die eine Hälfte der Eizellen wurde dekumuliert und anschließend direkt eingefroren, die Zweite wurde im Labor gereift, um *in vitro* gereifte Eizellen zu erhalten. Eine dritte Gruppe, *in vivo* gereifte Eizellen, wurde mittels Ovum-Pick-up nach Superovulation und GnRH-Injektion gewonnen. Pro Versuchsgruppe wurden vier biologische Replikate à 10 Oozyten gesammelt und bei -80 °C gelagert. Das Proteom der Eizellen wurde dann mittels Massenspektrometrie (ABSciex TripleTOF 6600 Massenspektrometer und SWATH Methode) erfasst.

Insgesamt konnten 1213 verschiedene Proteine in den Eizellen identifiziert werden. Die Proteinexpressionsdaten wurden statistisch mittels One-way ANOVA mit FDR-Korrektur ausgewertet, wobei ein statistisch signifikanter Unterschied in der Expression eines Proteins angenommen wurde, wenn  $P < 0.05$ . Eine erste Auswertung zeigt, dass es zwischen den drei Eizellgruppen bei insgesamt 322 Proteinen einen signifikanten Unterschied in der Expression gibt. Beim Vergleich *in vitro* mit *in vivo* gereiften Eizellen sind insgesamt 152 Proteine unterschiedlich exprimiert. Hiervon zeigen 145 Proteine eine niedrigere Expression in den *in vivo* gereiften Eizellen, u.a. Transcription elongation factor A protein 1 (TCEA1) und Estradiol 17-beta-dehydrogenase (HSD17B1) mit 11-fach bzw. 3,2-fach geringerer Expression in der *In-vivo*-Gruppe. Sieben Proteine sind hingegen höher exprimiert, beispielsweise 2,6-fach Centrobilin (DNTRB), welches essenziell für Zytokinese ist. Zusätzlich deuten erste Clustering-Analysen darauf hin, dass die vier Pools der *in vivo* gereiften Eizellen recht homogene Proteinexpressionsprofile aufweisen, während die *in vitro* gereiften Eizellen durch inhomogene Expressionsprofile gekennzeichnet sind.

### **Effekte eines Serum-Zusatzes zum IVP-Kulturmedium für die mitochondriale Respiration vor und nach einer Kryokonservierung beim Rinderembryo**

Jessica Kurzella<sup>1</sup>, F. Rings<sup>1</sup>, E. Tholen<sup>1</sup>, C. Große-Brinkhaus<sup>1</sup>, D. Salilew Wondim<sup>2</sup>, E. Held-Hölker<sup>1</sup>, M. Hölker<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut für Tierwissenschaften, Tierzucht, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, 53115 Bonn

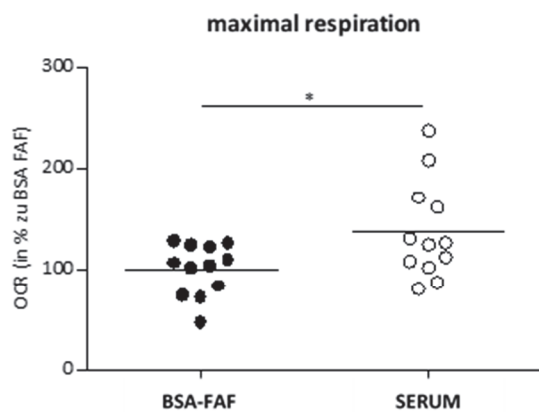
<sup>2</sup>Department für Nutztierwissenschaften, Biotechnologie & Reproduktion landw. Nutztiere, Georg-August-Universität Göttingen, 37077 Göttingen

Die Kryokonservierung ermöglicht die effiziente Nutzung in vitro produzierter (IVP) Rinderembryonen im Rahmen der Rinderzuchtprogramme. Dieser Nutzen wird jedoch aufgrund der geringen Kryotoleranz der in vitro produzierten Rinderembryonen eingeschränkt. Es besteht Konsens darüber, dass die Kulturbedingungen und insbesondere der Zusatz von Serum einen determinierenden Einfluss auf die Kryotoleranz und damit auf die Embryonale Vitalität nach dem Erwärmen ausüben. Als ein wichtiger Indikator für die embryonale Vitalität wird dabei seit einiger Zeit der embryonale Energiestoffwechsel diskutiert. Detaillierte Kenntnisse hinsichtlich der Bedeutung verschiedener Kulturzusätze für den embryonalen Energiestoffwechsel einerseits und die Embryonale Vitalität bzw. Kryotoleranz boviner Embryonen andererseits liegen jedoch gegenwärtig so gut wie nicht vor obwohl diese das Potential hätten einen Beitrag zur Optimierung der in vitro Kulturbedingungen zu leisten.

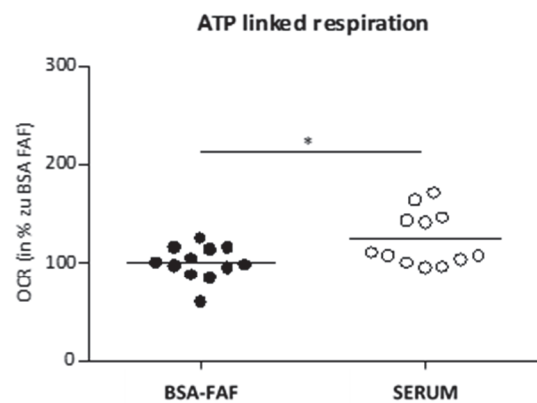
Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher die Bedeutung unterschiedlicher Kulturzusätze (SERUM vs. BSA-FAF) auf den embryonalen Stoffwechsel vor und nach einer Kryokonservierung zu untersuchen. Hierzu wurden unter Anwendung eines extrazellulären FLUX-Analyzers (SeahorseXFp, Agilent) in einem 1. Experiment die oxygen consumption rate (OCR) und die extra cellular acidification rate (ECAR) in vitro produzierter expandierter Rinderblastozysten (SERUM vs. BSA-FAF, Pools von 10 expandierten Blastozysten, 7 Replikate) ermittelt. Darüber hinaus wurden in einem 2. Experiment der Einfluss eines Serumzusatzes zum Kulturmedium auf die mitochondriale OCR unter Nutzung des Cell-Mito-Stress Tests (Agilent) erfasst (BSA-FAF vs. SERUM, Pools von 10 expandierten Blastozysten, 12 Replikate) um Auswirkungen auf die maximale potentielle mitochondriale Respiration und den Umfang der Mitochondrialen Respiration zur Produktion von ATP zu ermitteln. In einem 3. Experiment schließlich untersuchten wir den Einfluss eines Serumzusatzes zum Kulturmedium auf kryokonservierte und in der Folge erwärmte und reexpandierte Rinderembryonen (SERUM vs. BSA-FAF, Pools von 10 reexpandierten Blastozysten, 6-10 Replikate).

Die Ergebnisse unserer Untersuchung zeigten, dass Rinderblastozysten der Gruppe SERUM im Vergleich zur Gruppe BSA-FAF eine signifikant höhere OCR (137.6 %,  $p < 0,05$ ) und eine signifikant erhöhte ECAR (155.5 %,  $p < 0,05$ ) aufweisen. Darüber hinaus zeigte sich, dass der Zusatz von Serum zum Kulturmedium (SERUM) im Vergleich zur Kontrollgruppe (BSA-FAF) eine signifikant ( $p < 0,05$ ) erhöhte maximale potentielle Mitochondriale Respiration (137.2 %) und eine signifikant erhöhte ATP-gebundene Respiration (123.8%) bedingt (Abb. 1 & 2). Beim Vergleich der Gruppen SERUM und BSA-FAF zeigte sich nach Kryokonservierung und Erwärmen innerhalb von 5h kein Unterschied hinsichtlich der Reexpansionsrate (39.9 % vs. 31.2 %). IVP-Blastozysten der Gruppe SERUM zeigten nach dem Erwärmen jedoch eine 1,2-fach höhere OCR im Vergleich zu IVP-Blastozysten der Gruppe BSA-FAF ( $p < 0,05$ , Abbildung 3). Die relative Mitochondriale Reservekapazität, und damit das noch vorhandene ungenutzte Potential zur Energiegewinnung, lag nach dem Erwärmen bei Blastozysten der Gruppe SERUM auf einem signifikant höherem Niveau ( $p < 0,05$ ) als bei Blastozysten der Gruppe BSA-FAF (287,9% vs. 236,9%, Abb. 4).

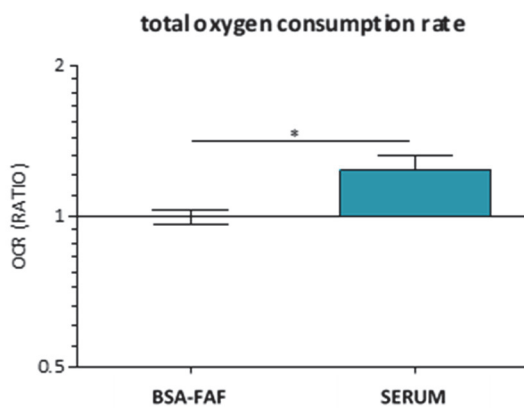
Die Ergebnisse unserer Studie zeigen, dass der Zusatz von Serum zum IVP-Kulturmedium zu einer höheren Stoffwechselaktivität im Vergleich zu einem Zusatz von BSA-FAF führt was sich auch in einem höheren Sauerstoffverbrauch zur Produktion von ATP widerspiegelt. Kryokonservierte expandierte Blastozysten die zuvor unter Zusatz von Serum kultiviert worden waren weisen jedoch im Vergleich zu Embryonen die unter Zusatz von BSA-FAF kultiviert worden waren nach dem Erwärmen einen höhere Sauerstoffverbrauch und eine höhere Reservekapazität auf. Zusammenfassend zeigen unsere Ergebnisse damit, dass der Zusatz von Serum zum Kulturmedium nicht zu einer Reduktion des Energiestoffwechsels, insbesondere nicht nach Kryokonservierung, führt. Die höhere Reservekapazität nach Kryokonservierung und Erwärmung der Embryonen die zuvor unter Zusatz von Serum kultiviert worden waren sollte jedoch in Folgestudien näher untersucht werden.



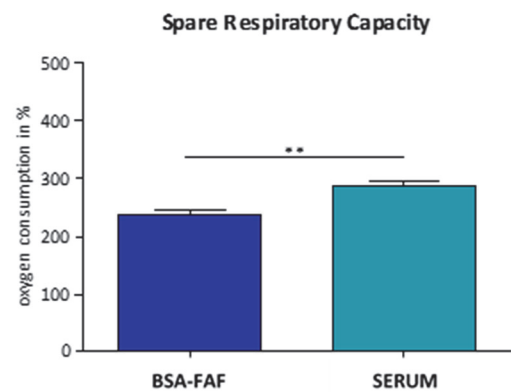
**Abb.1: Maximale Respiration:** In Serum kultivierte Embryonen weisen eine signifikant ( $p < 0.05$ ) höhere maximale OCR auf.



**Abb. 2: ATP linked respiration.** In Serum kultivierte Embryonen weisen eine signifikant ( $p < 0.05$ ) höhere ATP gebundene OCR auf.



**Abb. 3: Total oxygen consumption.** In Serum kultivierte Embryonen weisen eine signifikant ( $p < 0.05$ ) höhere OCR nach Kryokonservierung auf.



**Abb. 4: Spare Respiratory Capacity.** In Serum kultivierte Embryonen weisen eine signifikant ( $p < 0.05$ ) höhere Spare Respiratory Capacity auf.



## **Nachhaltige Effekte einer L-Carnitine Supplementation während der in vitro Kultur auf den Metabolismus boviner Embryonen an Tag 7 und Tag 14**

**Eva Held-Hölker<sup>1</sup>**, J. Kurzella<sup>1</sup>, D. Salilew-Wondim<sup>2</sup>, F. Rings<sup>1</sup>, E. Tholen<sup>1</sup>, C. Große-Brinkhaus<sup>1</sup>, M. Hölker<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut für Tierwissenschaften, Abteilung Tierzucht und Haustiergenetik, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

<sup>2</sup>Institut für Tierwissenschaft, Biotechnologie und Reproduktion landwirtschaftlicher Nutztiere, Georg-August Universität Göttingen

Es ist weitestgehend bekannt, dass L-Carnitine die Akkumulation von Lipiden und freien Radikalen in in vitro produzierten Embryonen signifikant verringert und so maßgeblich zu einer verbesserten Kryotauglichkeit beiträgt.

In einer vorangegangenen Studie konnten wir zeigen, dass die Supplementation von L-Carnitine und die gleichzeitige Reduktion von Fettsäuren, zwar die Überlebensraten von Rinderembryonen nach Kryokonservierung signifikant verbessert, aber diese Fastensituation und die zusätzliche Stimulation der Mitochondrien durch L-Carnitine den Metabolismus stark modifiziert was eventuell zu einer de novo Fettsäuresynthese führt.

Ziel der vorliegenden Studie war es den längerfristigen Einfluss von L-Carnitine auf die präimplantative Entwicklung von Rinderembryonen zu untersuchen. Hierzu wurden in vitro produzierte Zygoten in zwei Gruppen eingeteilt, beide wurden in einer fettsäurefreien Umgebung kultiviert (BSA fatty acid free), zusätzlich wurde eine Gruppe mit 2,5 mM L-Carnitine (LC) supplementiert. An Tag 6 wurden frühe Blastozysten und Morulae auf Empfängertiere transferiert. Pro Tier wurden zwischen 22 und 27 Embryonen transferiert und an Tag 14 aus den Uteri post mortem zurückgespült. Intakte elongierte Embryonen wurden zur späteren Vermessung fotografiert und unmittelbar für eine Genexpressionsanalyse mittels Next Generation Sequenzierung (NGS) eingefroren.

Bezüglich der Länge der elongierten Embryonen konnte zwischen den beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied gefunden werden (Kontrolle:  $3199 \mu\text{m} \pm 1304$  vs. LC:  $3282 \mu\text{m} \pm 374.3$ ).

Hinsichtlich der Geneexpression konnten wir bei den elongierten Embryonen jedoch einige interessante Unterschiede feststellen. Insgesamt führte die Supplementation des Kulturmediums mit L-Carnitine bis Tag 6 zu einer differentiellen Expression von 341 Genen bei den elongierten Embryonen. Die funktionelle Analyse dieser Gene zeigte, dass diese größtenteils in biologische Prozesse und Pathways wie oxidative Phosphorylierung, Glucose Transmembran Transport und die zelluläre Stressantwort involviert sind. Weiterhin fiel auf, dass bei den LC Embryonen im Vergleich zur Kontrollgruppe alle mitochondrial kodierten Gene signifikant herunter reguliert sind. Das ließ uns vermuten, dass eine in vitro Kultur von Rinderembryonen unter Zusatz von L-Carnitine einen nachhaltigen Einfluss auf den mitochondrialen Stoffwechsel ausübt. Daher haben wir uns in einem weiteren Versuch den Einfluss eines L-Carnitine Zusatzes auf den Metabolismus der Mitochondrien genauer angeschaut. Hierzu kultivierten wir die Embryonen wiederum in den beiden oben genannten Medien und analysierten die sich entwickelnden Blastozysten an Tag 7 mittels einer extrazellulären Flux Analyse (Seahorse XFp). Neben der basalen Sauerstoffverbrauchsrate (OCR = Oxygen Consumption Rate), wurden noch weitere Parameter durch eine mitochondrialen Stresstest ermittelt, wie unter anderem die nicht-mitochondriale Atmung, der Anteil der Respiration der zur ATP

Gewinnung genutzt wird und die mitochondriale Reservekapazität der Mitochondrien. Die Ergebnisse veranschaulichen, dass Embryonen die in Abwesenheit von Fettsäuren und einer zusätzlichen Supplementation von L-Carnitine kultiviert wurden eine signifikant höhere basale Respiration, eine effizientere ATP Generierung und eine deutlich höhere Reservekapazität der Mitochondrien aufweisen als die Kontrollgruppe. Bezogen auf die nicht-mitochondriale Atmung, die ein Maß für sauerstoffverbrauchende Prozesse ist, die unabhängig von den Mitochondrien ablaufen und als prooxidativ eingestuft werden können, zeigte sich ein positiver Trend durch die Supplementation von L-Carnitine (Abb. 1)

Zusammenfassend konnten wir in der vorliegenden Studie zeigen, dass die in vitro Kultur von Rinderembryonen in fettsäurefreier Umgebung bei gleichzeitiger Gabe von L-Carnitine einen direkten Einfluss auf den mitochondrialen Metabolismus ausübt und dieser Effekt nachhaltig auch nach Transfer auf Empfängertiere mindestens bis zum Entwicklungsstadium des elongierten Embryos nachweisbar ist.

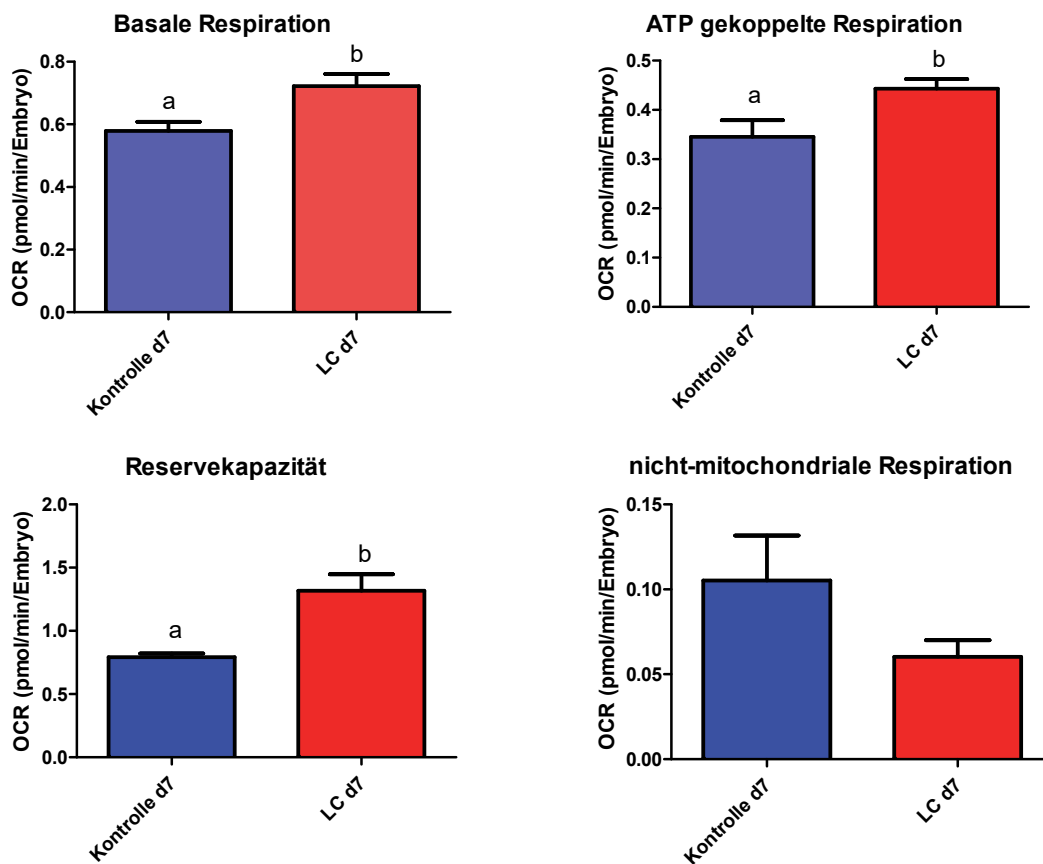


Abb. 1: Ergebnisse der extrazellulären Flux Analyse (Seahorse XFp)

## **Untersuchung des Einflusses von IVP auf die Entwicklung von Rinderembryonen durch Einzelzellsequenzierung**

**Gregor Neufeld**, D. Herrmann, S. Altgilbers, R. Herbicht, S. Heras Garcia, C. Klein

Friedrich-Loeffler-Institut, Institut für Nutztiergenetik, Mariensee

Einzelzellsequenzierung erlaubt uns das Transkriptom individueller Zellen im hohen Durchsatz zu bestimmen. Diese Technologie ermöglicht es, die Heterogenität und Vielfalt biologischer Proben aufzudecken. Um dieses Verfahren bei Rinderembryonen anzuwenden, wurden 17 Tage alten Embryonen durch Spülung der Gebärmutter (nach Schlachtung des Tieres) gewonnen. Drei aus künstlicher Besamung gewonnene Embryonen wurden bereits mittels Einzelzellsequenzierung (10X Genomics Technologie) analysiert.

Die ersten Ergebnisse zeigen Zellcluster aus zwei großen Entwicklungsschichten, die durch Genexpression von Markergenen identifiziert wurden: die von der inneren Zellmasse (ICM) stammenden Zellen und die vom Trophektoderm stammenden Zellen. Die aus der ICM stammenden Zellen konnten auch den Zelltypen Epiblast/Mesoderm/Endoderm zugeordnet werden. Die aus trophektodermischer Zellen konnten IFNT-positive und IFNT-negative Zellen zugeordnet werden. Aus dieser letzten Gruppe sind die sogenannten Binukleare Trophoblast-Riesenzellen durch die Expression spezifischer Markergene sowie einiger PAGs und der Familie der PRL-Gene gut erkennbar (Polei, 2020).

Einer den nächsten Schritten ist der Vergleich der Genexpression auf Zellebene zwischen Embryonen, die aus in vitro gereiften Eizellen, aus in vivo gereiften Eizellen und aus solchen, die in Medium mit Serum kultiviert wurden, um die Auswirkungen von IVP auf das Transkriptom während der Embryonalentwicklung besser zu verstehen.



## **Sektion 4**

### **Embryonentransfer Praxis**

Moderation: Hannes Kohler

## Zusammenfassung und Vorstellung der Schwerpunktthemen der “49th Annual Conference of the International Embryo Technology Society (IETS)”, Januar 2023, in Lima, Peru.

**Hanna Grothmann**, Synetics Germany GmbH, Verden

Das Thema der diesjährigen Jahreskonferenz der IETS, die vom 16.-19. Januar in Lima Peru abgehalten wurde, war „Walking the Line Between Science and Industry“. Es sollte sowohl Praktiker als auch Forschende gleichermaßen ansprechen, da es inhaltlich auf die Herausforderungen abzielte, die durch die exponentiell gestiegene Anzahl weltweit produzierter Embryonen entstanden sind.

Da der produzierte Embryo in der nächsten Donoren- und Rezipientengeneration resultiert, war es die Absicht der Programmverantwortlichen, die Entwicklung des Embryos von der Keimzelle zum geborenen Tier nachzuzeichnen. Grundsätzlich resultieren ideale Embryonenproduktionsbedingungen in gesunden Nachkommen. Suboptimale Startvoraussetzungen hingegen, die jederzeit während der embryonalen und fetalen Entwicklung auftreten können, beeinflussen die kommende Generation negativ.

Die Sprecher der Hauptvorträge stammten sowohl aus etablierten als auch aus neuen, aufstrebenden Arbeitsgruppen. Die Themen der Hauptvorträge finden sich in Tabelle 1.

Zusätzlich ließen die drei Pre-Conference Workshops keine Wünsche offen: So konnten die Praktiker sich in einem Workshop auf den Stand der Forschung in punkto assistierte Biotechniken beim Lama und Alpaka bringen lassen, oder an einem Seminar des Health Advisory Scientific Committees zur Sicherheit des Handels mit in vitro produzierten Embryonen teilnehmen. Auch die Arbeitsgruppe Domestic Animal Biomedical Embryology Committee bot eine Preconference Veranstaltung zum Thema “Modeling embryo function in vitro: the era of synthetic embryos” an.

Im während der Haupttagung durchgeführten Practitioner’s Forum lag der Focus auf der Reduzierung von Trächtigkeitsverlusten in kommerziellen OPU-IVF Programmen.

Zusammenfassend war es trotz der schwierigen politischen Lage am Veranstaltungsort, die zwar zur physischen Abwesenheit einiger Redner führte, jedoch für die Anwesenden dank der hervorragenden Arbeit des Local Organizing Committees keine weiteren Einschränkungen mit sich brachte, eine gelungene Tagung mit spannenden Vorträgen und Diskussionen.

<b>Sprecher</b>	<b>Titel</b>
Jo Leroy, University of Antwerp, Belgium	Maternal metabolic health and fertility: We should not only care about but also for the oocyte!
Lawrence Reynolds, North Dakota State University, USA	Maternal nutrition and developmental programming of offspring
Clémence Belleannée, Université Laval, Canada	Intra and intercellular signals governing sperm maturation
Kylie Dunning, University of Adelaide, Australia	Non-invasive assessment of oocyte developmental competence
Amanda de Mestre, Royal Veterinary College, University of London, United Kingdom	Lethal variants of equine pregnancy: Is it the placenta or fetus leading the conceptus in the wrong direction?
Ky Pohler, Texas A&M University, USA	Decisive points for pregnancy losses in beef cattle
Geoffrey Dahl, University of Florida, USA	Programming effects of late gestation heat stress in dairy cattle
Qi Chen, University of California, Riverside, USA	Sperm RNA-mediated epigenetic inheritance in mammals: Challenges and opportunities

Tabelle 1: Hauptsprecher der 49<sup>th</sup> Annual Conference of the International Embryo Technology Society mit Vortragsthemen

## **Einflussfaktoren auf die Abkalberaten nach dem Transfer von in-vivo gewonnenen und kryokonservierten Rinderembryonen unter besonderer Berücksichtigung des Gelbkörpers der Empfängertiere**

**Jan Detterer<sup>1</sup>, L. Pieper<sup>2</sup> und T. Röpke<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>VOST-Besamungs- und ET-Station Georgsheil, Südbrookmerland

<sup>2</sup>IFN Schönau e.V., Bernau bei Berlin

Die grundlegende Fragestellung bei dieser Studie war, inwieweit sich das Vorhandensein eines Hohlraumes beim Gelbkörper des Empfängertieres am Tage des Transfers auf die Abkalbeergergebnisse auswirkt.

In der Literatur finden sich überwiegend Studien, bei denen bezüglich eines Hohlraumes keine Unterschiede festgestellt wurden (Nogueira et al., 2012; Thomson et al., 2021). In einer anderen Untersuchung (Jaśkowski et al., 2021) wurden bei Empfängern mit Gelbkörpern mit Hohlraum signifikant bessere Trächtigkeitsergebnisse als bei einem kompakten Corpus luteum (52 % zu 33 %) erzielt.

Der schlussendlich entscheidende Gradmesser für ein erfolgreiches ET-Programm ist die Zahl der lebend geborenen Kälber. Daher wurden in dieser Auswertung nicht die oft üblichen Trächtigkeitsergebnisse, sondern die Abkalberaten (AR) nach dem Transfer von 255 in-vivo gewonnenen und in Ethylenglykol kryokonservierten Rinderembryonen von Spendertieren der Rasse Holstein im Gebiet des Vereins Ostfriesischer Stammviehzüchter im Zeitraum vom 15.2.22 bis zum 28.7.22 ausgewertet.

Stadium und Qualität der Embryonen wurden nach dem IETS-Schlüssel beurteilt. Als Empfängertiere dienten nulli- (n=194), primi- (n=28) und multipaare (n=33; 2-10 Abkalbungen) Tiere der Rasse Holstein. Die Transfers erfolgten 7 Tage nach einer Brunst auf verschiedenen Betrieben im VOST-Gebiet. Die Empfängertiere mussten auf einem der Ovarien ein Corpus luteum von mindestens 2 cm Durchmesser vorweisen. Die Einteilung der Gelbkörper erfolgte in drei Kategorien: 1. Kompakter Gelbkörper. 2. Gelbkörper mit einem Hohlraum von maximal 50 % des Gesamtdurchmessers. 3. Gelbkörper mit einem Hohlraum von über 50 % des Gesamtdurchmessers. Der Hohlraum durfte nicht von Septen durchsetzt sein und außerdem durfte sich kein großer Follikel (>15 mm) auf einem der Ovarien befinden. Die Diagnostik wurde mit Easyscan™ Ultraschallgeräten durchgeführt. Die Auswertung der Abkalbung erfolgte über die SERVIT-Datenbank des VIT in Verden. Es wurden nur Abkalbungen berücksichtigt, die in einem Zeitraum von 264 bis 295 Tagen nach dem jeweiligen Transfer erfolgten.

Die statistische Auswertung erfolgte mit SPSS und zur Signifikanzberechnung wurden Chi-Quadrat Tests durchgeführt.

Bei 182 (71,4 %) zum Transfer ausgewählten Tieren wurde ein kompakter Gelbkörper, bei 58 Tieren (22,7 %) ein Hohlraum bis 50 % des Gesamtdurchmessers und bei 15 Tieren (5,9 %) ein Hohlraum von über 50 % des Gesamtdurchmessers diagnostiziert.

Aus den 255 Transfers resultieren insgesamt 103 Abkalbungen (40,4 %) bei denen 97 Kälber lebend (94,2 %) und 6 tot (5,8 %) geboren wurden. Die AR nach Gelbkörperqualität verteilten sich wie folgt: Kompakter Gelbkörper 40,7 %, bis 50 % Hohlraum 41,4 % und über 50 % Hohlraum 33,3 % (P=0,844).

In der folgenden Tabelle werden die Ergebnisse zusammengefasst dargestellt:

Parameter	Gruppen	Nicht abgekalbt	Abgekalbt	P-Wert
<b>Corpus luteum</b>				0,844
	Kompakt	108 (59 %)	74 (41 %)	
	<50 % Hohlraum	34 (59 %)	24 (41 %)	
	>50 % Hohlraum	10 (67 %)	5 (33 %)	
<b>Laktationsnummer</b>				0,090
	0	112 (58 %)	82 (42 %)	
	1	22 (79 %)	6 (21 %)	
	>1	18 (55 %)	15 (45 %)	
<b>Belegungen vor dem Transfer</b>				0,019
	0	91 (54 %)	78 (46 %)	
	1	30 (77 %)	9 (23 %)	
	>1	31 (66 %)	16 (34 %)	
<b>Stadium Embryo</b>				
	3	1 (50 %)	1 (50 %)	0,677
	4	93 (61 %)	60 (39 %)	
	5	21 (62 %)	13 (38 %)	
	6	27 (52 %)	25 (48 %)	
	7	10 (71 %)	4 (29 %)	
<b>Qualität Embryo</b>				0,077
	1	135 (58 %)	98 (42 %)	
	2	17 (77 %)	5 (23 %)	

Anzahl (Prozent) der Tiere

Als weitere Parameter wurden die Anzahl der Laktationen, die Anzahl der Belegungen vor dem Transfer, das Stadium und die Qualität der Embryonen ausgewertet. Rinder hatten eine AR von 42,3 %, und multipaare Kühe von 45,5 %. Der Wert lag bei Erstkalbinnen bei 21,4 %; dieser Unterschied war aber nicht signifikant ( $P=0,090$ ). Die höchsten AR (46,2 %) erzielten Tiere, die vor dem Transfer noch keine Belegung hatten. Bei Empfängertieren mit zwei und mehr Belegungen vor dem Transfer führte dieser in 34,0 % der Fälle zu einer Abkalbung. Tiere die nur einmal zuvor belegt waren, kalbten zu 23,0 % und damit signifikant seltener ab ( $P=0,019$ ). Bezogen auf das Embryonenstadium konnten wir die AR nach dem Transfer der Stadien 3 bis 7 vergleichen. Dabei wiesen Transfers mit Stadium 7 die höchste AR von über 70 % auf. Transfers mit Embryonen von Stadium 4 & 5 >60 % und Stadien 3 & 6 >50 %. Beim Transfer von Embryonen der Qualitäten 1 und 2 bestanden keine signifikanten Unterschiede (AR 42,1 % zu 22,7 %;  $p=0,077$ ).

Unsere Auswertungen konnten die Studien bestätigen, bei denen sich ein Gelbkörperhohlraum nicht signifikant auf die Abkalberaten ausgewirkt hat.

Tiere, die bereits eine Belegung vor dem Transfer hatten, hatte eine signifikant schlechtere Abkalberate.

Bei weiteren Parametern wie der Anzahl der Laktationen der Empfängertiere, dem Stadium und der Qualität der Embryonen konnten bezüglich der Abkalbungen keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Aufgrund der zum Teil geringen Gruppengrößen wird die Auswertung kontinuierlich erweitert werden.

Jaśkowski, B.M., Bostedt, H., Gehrke, M., Jaśkowski, J.M., 2021. Ultrasound Characteristics of the Cavitory Corpus Luteum after Oestrus Synchronization in Heifers in Relation to the Results of Embryo Transfer. *Animals* 11, 1706.

<https://doi.org/10.3390/ani11061706>

Nogueira, É., Cardoso, G.S., Marques Junior, H.R., Dias, A.M., Ítavo, L.C.V., Borges, J.C., 2012. Effect of breed and corpus luteum on pregnancy rate of bovine embryo recipients. *Rev. Bras. Zootec.* 41, 2129–2133. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982012000900022>

Thomson, S., Holmes, R., Landes, P., Allworth, M., 2021. Assessment and selection of the recipient cows' corpus luteum at the time of embryo transfer, and its influence on conception rate. *Aust. Vet. J.* 99, 288–292.

<https://doi.org/10.1111/avj.13068>



## Flüssigkonservierung in vivo gewonnener Rinderembryonen unter Praxisbedingungen

Elena Wolf (geb. Sosnina)<sup>1</sup>, H.-P. Nohner<sup>1</sup>, C. Wrenzycki<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Besamungsverein Neustadt a.d. Aisch e.V., Neustadt a.d. Aisch

<sup>2</sup> Professur für Molekulare Reproduktionsmedizin, Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere, Justus-Liebig-Universität Gießen

Eine Alternative zur Aufbewahrung früher Embryonalstadien für einige Tage ohne Tiefgefrieren stellt die Flüssigkonservierung bei Temperaturen um 4 °C dar. Diese Methode wurde bereits vor mehr als vier Jahrzehnten entwickelt (Sreenan et al. 1970), hat sich jedoch durch die Entwicklung der Kryokonservierung unter Verwendung von flüssigem Stickstoff nicht durchsetzen können. Vorangegangene neuere Untersuchungen haben gezeigt, dass in vivo produzierte, nicht-bioptierte Embryonen, für sieben Tage flüssigkonserviert, ähnliche Trächtigkeitsraten lieferten wie frischtransferierte (flüssigkonserviert: 75% vs. frischtransferiert 77 %; Ideta et al. 2013).

Ziel unseres Projektes war es, eine zuverlässige mehrtägige Flüssigkonservierungsmethode für in vivo erzeugte Rinderembryonen als Alternative zur Tiefgefrierkonservierung zu entwickeln.

Für die Versuche wurden nach Superovulation gewonnene In vivo Embryonen verwendet. Die gewonnenen transfertauglichen Embryonen (Einteilung nach IETS-Code: 4, 5, 6: Morula, frühe Blastozyste, Blastozyste) wurden zufällig drei Gruppen zugeordnet; Gruppe 1: Embryonen für den Frischtransfer; Gruppe 2: Embryonen für die konventionelle Kryokonservierung, Transfer nach Auftauen; Gruppe 3: Embryonen für die Flüssigkonservierung, Transfer nach Erwärmen. Die Flüssigkonservierung der Embryonen erfolgte in TCM-Air mit 25% FBS für 48 bis 72 Stunden in einem Kühlschrank bei 4 °C. Am Tag des Transfers wurden die Embryonen mit PBS plus 20% FBS ausverdünnt und bei 19 bis 23 °C transportiert. Danach erfolgte die Übertragung auf die Empfängertiere. Es wurden 9 Tiere gespült und insgesamt 117 Transfers durchgeführt, 41 im Frischtransfer, 45 im TG-Transfer und 31 im Kühltransfer. Soweit möglich, wurden die Embryonen einer Spülung auf alle 3 Gruppen verteilt. Die folgende Tabelle zeigt die Trächtigkeitsraten in den verschiedenen Gruppen.

Tabelle 1: Trächtigkeitsraten (gesamt) nach Frischtransfer, TG-Transfer und Kühltransfer.

	<b>Frischtransfer</b>	<b>TG-Transfer</b>	<b>Kühltransfer</b>
Tier	Trächtigkeitsrate (%)	Trächtigkeitsrate (%)	Trächtigkeitsrate (%)
1	50,0 (2/4)	85,7 (6/7)	100,0 (3/3) *
2	100,0 (3/3)	66,7 (2/3)	66,7 (2/3) *
3	60,0 (3/5)	66,7 (2/3)	75,0 (3/4) *
4	50,0 (2/4)	100,0 (6/6)	0,0 (0/3) *
5	85,7 (6/7)	100,0 (4/4)	50,0 (3/6) *
6	100,0 (3/3)	33,3 (1/3)	0,0 (0/3) **
7	75,0 (3/4)	100,0 (7/7)	0,0 (0/3) **
8	33,3 (1/3)	66,7 (2/3)	66,7 (2/3) **
9	75,0 (6/8)	77,8 (7/9)	33,0 (1/3) **
Σ	<b>69,9 (29/41)</b>	<b>77,4 (37/45)</b>	<b>43,5 (14/31)</b>

\*Abkühlung für 48 Stunden; \*\* Abkühlung für 72 Stunden

Die Ergebnisse zeigen signifikant reduzierte Trächtigkeitsraten nach Transfer gekühlter Embryonen im Vergleich zu denen nach Frisch- und TG-Transfer ( $P \leq 0,05$ ).

Die Trächtigkeitsraten in Relation zum Entwicklungsstadium der Embryonen sind in der Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2.: Trächtigkeitsraten (TR) bei allen Verfahren in Relation zum Entwicklungsstadium der Embryonen.

Stadium der Embryonalentwicklung	Tier	Frischtransfer/TR (%)	TG-Transfer/TR (%)	Kühltransfer/TR (%)
4 - Morula	1	50,0 (2/4)	85,7 (6/7)	100,0 (2/2)
	2	-*	-*	0,0 (0/1)
	3	66,7 (2/3)	0,0 (0/1)	50,0 (1/2)
	4	50,0 (2/4)	100,0 (6/6)	0,0 (0/3)
	5	-*	100,0 (1/1)	-*
	6	100,0 (3/3)	33,3 (1/3)	0,0 (0/3)
	7	75,0 (3/4)	100,0 (7/7)	0,0 (0/3)
	8	33,3 (1/3)	-*	66,7 (2/3)
	9	100,0 (2/2)	60,0 (3/5)	0,0 (0/1)
	<b>Ø</b>	<b>67,9 (15/23)</b>	<b>68,4 (24/30)</b>	<b>27,1 (5/18)</b>
5 - Blastozyste, 6 - exp. Blastozyste	1	-*	-*	100,0 (1/1)
	2	100,0 (3/3)	66,7 (2/3)	100,0 (2/2)
	3	50,0 (1/2)	100,0 (2/2)	100,0 (2/2)
	5	85,7 (6/7)	100,0 (3/3)	50,0 (3/6)
	8	-*	66,7 (2/3)	-*
	9	66,7 (4/6)	100,0 (4/4)	50,0 (1/2)
	<b>Ø</b>	<b>75,6 (14/18)</b>	<b>86,7 (13/15)</b>	<b>80,0 (8/13)</b>

-\* Embryonen mit diesen Entnahmestadien waren nicht vorhanden.

Im Stadium 4 (Morula) liegen signifikante Unterschiede zwischen Kühl- und Frischtransfer und auch zwischen TG- und Kühltransfer vor ( $P \leq 0,05$ ). Bei Blastozysten/expandierten Blastozysten sind keine signifikanten Unterschiede zwischen allen Gruppen vorhanden ( $P > 0,05$ ).

Weiterentwickelte Embryonen scheinen den Kühltransfer besser zu tolerieren als jüngere Stadien. Für die weiterentwickelten Embryonen stellt der Kühltransfer eine geeignete Alternative zum TG-Transfer dar.

Wir danken der Dr. Dr. Karl-Eibl-Stiftung für die finanzielle Unterstützung.

## **Einfluss einer Mito-Tempo-Supplementation von Maturations- und Kulturmedium auf die Entwicklung und Kryoresistenz boviner Embryonen**

**Maibritt Schreiber<sup>1</sup>**, J. Kurzella<sup>2</sup>, F. Rings<sup>2</sup>, M. Rahimi<sup>1</sup>, D. Salilew Wondim<sup>1</sup>, N. Ghanem<sup>1</sup>, M. Hölker<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department für Nutztierwissenschaften, Biotechnologie & Reproduktion landw. Nutztiere, Georg-August-Universität Göttingen, 37077 Göttingen

<sup>2</sup>Institut für Tierwissenschaften, Tierzucht, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, 53115 Bonn

Trotz umfangreicher Bestrebungen zeichnen sich *in vitro* produzierte (IVP) Rinderembryonen im Vergleich zu *ex vivo* Embryonen nach wie vor durch geringere Entwicklungs- und Trächtigkeitsraten sowie durch eine verringerte Kryoresistenz aus. Es konnte bereits zuvor gezeigt werden, dass eine Supplementation der Maturations- und Kulturmedien mit Antioxidantien positive Effekte auf die *in vitro* Entwicklungsraten zur Blastozyste, den intrazellulären ROS-Gehalt und die Kryotauglichkeit boviner Embryonen ausübt. Ziel der vorliegenden Studie war es daher im Rahmen von 2 Experimenten den spezifischen Einfluss der Antioxidans Mito-TEMPO während der *in vitro* Maturation und der *in vitro* Kultur auf die frühe embryonale *in vitro* Entwicklung und die Kryotauglichkeit der IVP-Blastozysten zu analysieren.

Für diese Untersuchungen wurden Kumulus-Oozyten-Komplexe (KOK) mittels Slicing-Methode aus den Ovarien geschlachteter Kühe gewonnen. In einem ersten Experiment zur Analyse des Effektes einer Mito-TEMPO Supplementation zum Maturationsmedium wurden jeweils 50-70 KOKs zufällig aufgeteilt und entweder in TCM199 (Kontrolle) oder in TCM199 mit zusätzlicher Supplementation von 1µM Mito-TEMPO (Mito-Tempo) für 22 Stunden in 4-Well-Plates (NUNC, 400µl, ohne Ölüberschichtung, 39°C, 5% CO<sub>2</sub>, 20% O<sub>2</sub>) maturiert. Für die anschließende Fertilisation wurde das TG-Sperma aufgereinigt (SpermFilter®, IVF Bioscience) und in einer Konzentration von 2x10<sup>6</sup> Zellen/ml zu den maturierten Oozyten zugesetzt (Fert.-TALP.-Medium, NUNC, 400µl, Ölüberschichtung, 39°C, 5% CO<sub>2</sub>, 20% O<sub>2</sub>). 19 Stunden nach Fertilisationsbeginn wurden die Eizellen/Zygoten denudiert und in der Folge bis zum 8 Entwicklungstag weiterkultiviert (SOFaa + 0,3%BSA, NUNC, 400µl, Ölüberschichtung, 39°C, 5% CO<sub>2</sub>, 20% O<sub>2</sub>).

In einem zweiten Experiment zur Analyse des Effektes einer Mito-TEMPO Supplementation zum Kulturmedium erfolgte die Maturation aller KOKs für 22h in TCM199 in 4-Well-Plates (NUNC, 400µl, ohne Ölüberschichtung, 39°C, 5% CO<sub>2</sub>, 20% O<sub>2</sub>). Für die Fertilisation wurde das TG-Sperma nach Aufreinigung erneut in einer Konzentration von 2x10<sup>6</sup> Zellen/ml zu den maturierten Oozyten zugesetzt (Fert.-TALP.-Medium, NUNC, 400µl, Ölüberschichtung, 39°C, 5% CO<sub>2</sub>, 20% O<sub>2</sub>) und die Eizellen/Zygoten 19 Stunden nach Fertilisationsbeginn denudiert. Im Anschluss wurden die vermeintlichen Zygoten zufällig aufgeteilt und entweder in SOFaa + 0,3% BSA (Kontrolle) oder in SOFaa 0,3% BSA+ 1µM Mito-TEMPO (Mito-TEMPO) bis zum 8 Entwicklungstag weiterkultiviert (NUNC, 400µl, Ölüberschichtung, 39°C, 5% CO<sub>2</sub>, 20% O<sub>2</sub>).

In beiden Experimenten wurden Tag 7 Blastozysten unter Nutzung der „BO-VitriCool™“-Medien (IVF Bioscience) vitrifiziert (Cryotop®-Vitrifikationssystem, Kitazato). Nach dem Erwärmen der zuvor vitrifizierten Blastozysten (BO-VitriWarm™-Kit, IVF Bioscience) folgte jeweils eine Post-Warming-Kultur für 72 Stunden zur Bestimmung der Vitalitäts-, Expansions- und Schlupfaten.

Die Ergebnisse des ersten Experiments zeigten, dass der Zusatz von Mito-TEMPO zum Maturationsmedium (1 $\mu$ M) keinen Einfluss auf die Teilungs- und Entwicklungsrate zur Blastozyste ausübt. Im Gegensatz dazu zeigten Blastozysten nach Zusatz von Mito-Tempo zum Maturationsmedium nach Vitrifikation und Erwärmung eine signifikant ( $p < 0,05$ ) höhere Schlupfrate als Blastozysten der Kontrollgruppe. Die Ergebnisse des zweiten Experiments zeigten ebenfalls, dass der Zusatz von Mito-TEMPO zum Kulturmedium (1 $\mu$ M) keinen Einfluss auf die Teilungs- und Entwicklungsrate zur Blastozyste ausübt. Im Gegensatz dazu zeigten Blastozysten nach Zusatz von Mito-TEMPO zum Kulturmedium nach Vitrifikation und Erwärmung wiederum eine signifikant ( $p < 0,05$ ) höhere Reexpansionsrate wie auch eine signifikant höhere Schlupfrate als Blastozysten der Kontrollgruppe.

Die Ergebnisse unserer Studie bestätigen somit unsere Hypothese, dass der Zusatz der Antioxidans Mito-TEMPO sowohl während der Maturation als auch während der Kulturphase zu einer Verringerung von kryoinduzierten Schäden nach Vitrifikation beiträgt.

## Potentieller Einfluss von Laktobazillen auf in vivo gewonnene Rinderembryonen

Alexandra Krebbers<sup>1</sup>, C. Gabler<sup>2</sup>, C. Kehrenberg<sup>3</sup>, J. Detterer<sup>4</sup>, C. Wrenzycki<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere, Justus-Liebig-Universität Gießen

<sup>2</sup>Institut für Veterinär-Biochemie, Freie Universität Berlin

<sup>3</sup>Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde, Justus-Liebig-Universität Gießen

<sup>4</sup>Besamungs- und ET-Station Georgsheil, Verein Ostfriesischer Stammviehzüchter

Probiotika sind lebende Mikroorganismen, die in einer adäquat applizierten Menge einen Gesundheitsvorteil mit sich bringen (Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization, 2006). Bei den verwendeten Mikroorganismen handelt es sich zumeist um Milchsäurebakterien (Lactobacillales), aber auch Hefen und andere Spezies. Milchsäurebakterien kommen jedoch auch als uterine Kommensalen im Rinderuterus vor und stimulieren das lokale Immunsystem (Gärtner et al., 2015). Der darunter befindliche *Lactobacillus buchneri* wies bei intrauteriner Applikation positive Effekte auf die Uterusgesundheit (weniger Endometritiden) und die Reproduktionsleistung (kürzere Günstzeit & höherer Erstbesamungserfolg) auf (Peter et al., 2018). Potenziell positive Einflüsse von Milchsäurebakterien auf die Geschlechtsgesundheit von Kühen sind in Hinblick auf den Einfluss eines optimalen uterinen Gesundheitszustands für eine erfolgreiche Zucht in der Milchviehhaltung von besonderem Interesse.

Ziel der Studie war es herauszufinden, ob Laktobazillen, insb. *Lactobacillus buchneri* und ein grundsätzlich probiotisches Keimmilieu im Uterushorn einen positiven Einfluss auf die Spülergebnisse von Kühen bei der In-vivo-Gewinnung von Rinderembryonen hat. Parallel wurde untersucht, ob die vorherrschende Meinung, dass pathogene Keime im Uterus einen schlechten Einfluss auf die Rinderembryonen ausüben, bestätigt werden kann. Dazu wurden bei 22 Holsteinkühen während der Embryonengewinnung horngetrennt sowohl mikrobiologische Proben gewonnen, als auch die Embryonen gesucht und ausgewertet. Die Kühe waren bereits alle laktierend, allgemein- und geschlechtsgesund und wurden im konventionellen ET-Programm des Vereins ostfriesischer Stammviehzüchter (VOST) in Ostfriesland im Zeitraum eines Jahres (Juni 2021 bis Juli 2022) vorgestellt. Sie wurden mit 10 ml Pluset (FSHp & LHp, Calier, 500 IE/500 IE) superovuliert und entweder mit konventionellen oder gesextem Sperma künstlich von einem Besamungstechniker oder Eigenbestandsbesamer besamt.

Für die mikrobiologische Auswertung wurden die ersten 50 – 60 ml Spülflüssigkeit (EmXcell, inv technologies) nach Durchlaufen des Embryonenfilters separat aufgefangen. Zusätzlich wurden nach Durchsuchen der Abspülflüssigkeit des Filters jeweils weitere 10 ml Probe genommen. Die Proben wurden gekühlt per Kurier in das Untersuchungslabor an der FU Berlin verschickt und vor Ort auf MRS – und SL – Medium in Reinkultur angezüchtet. Anschließend wurde eine Einzelstrang-PCR zur Bestimmung des Bakteriengenus und -spezies durchgeführt. Zusätzlich wurden Proben an die LUFA Nord-West zur Abklärung des allgemeinen Keimgehalts geschickt. Dort wurde die Spülflüssigkeit auf fünf verschiedenen Agarn (Columbia-Agar, Columbia-Agar (mikroaerophil), Gassner-Agar, Sabouraud-Agar, YGC-Agar) ausgestrichen, die Bakterien in Reinkultur gebracht und anschließend mittels MALDI-TOF Massenspektrometrie nach Bruker klassifiziert.

Zur Überprüfung des Vorkommens und der intrauterinen Verteilung von Laktobazillen und anderen Milchsäurebakterien bei Holsteinkühen wurden in einem separaten Versuch die Gebärmutter von 9 Schlachtkühen gewonnen. An drei Terminen wurden bei jeweils drei Kühen ca. 2 Stunden nach der

Schlachtung der ligierte Gebärmutterkörper und die ligierten Hornspitzen mit 20 - 30 ml Spülflüssigkeit gespült und die wiedergewonnene Flüssigkeit zur Untersuchung an das Labor des Instituts für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde der JLU Gießen und zur LUFA in Oldenburg geschickt.

Die Embryonenqualität wurden nach IETS-Standard klassifiziert. Dabei wurde zwischen nicht transfertauglichen Strukturen (unbefruchtete Eizellen und retardierte / degenerierte Embryonen) und transfertauglichen Embryonen (Qualität 1 -3) unterschieden. Zusätzlich wurden mittels Ultraschall die Corpora lutea pro Eierstock gezählt und somit die Ausspülrate bestimmt.

Bisher liegen 34 mikrobiologische Ergebnisse der 44 gespülten Hörner vor. Davon wiesen 16 Hörner eine rein probiotische, 12 Hörner eine rein pathogene und 6 Hörner eine gemischte Besiedlung auf. Der *Lactobacillus buchneri* konnte in lediglich 3 Hörnern (verteilt auf 2 Tiere) isoliert werden.

Hörner mit probiotischer Besiedlung wiesen zu 64,3 % gute Ausspülergebnisse (AR) (Referenzwert: 81,2 %; Wolgast, 2009) von durchschnittlich 98,6 % auf. 53,3 % wiesen eine Embryonenqualität (EQ) auf, die über dem deutschen Durchschnitt aus 2021 von 69,8 % lag (Quinton, AETE, 2022).

Bei den pathogen besiedelten Hörnern wiesen 72,7 % eine sehr gute AR von durchschnittlich 100 % auf, lediglich 3 der Hörner wiesen schlechte AR auf. Bei Betrachtung der EQ kam es nur bei 27,3 % der pathogen besiedelten Hörner zu guten Ergebnissen. Hingegen zeigte sich bei 72,7 % eine durchschnittliche Rate an tauglichen Embryonen von 50,7 %. Die gemischt besiedelten Hörner wiesen sowohl bei der AR, als auch bei der EQ zu 50,0 % gute und zu 50,0 % schlechte Ergebnisse auf.

Folgende Ergebnisse ergab die Auswertung der von den Schlachtuteri gewonnenen Proben: Bei allen 9 Kühen konnten bei den insgesamt 27 Proben in keinem Fall Laktobazillen nachgewiesen werden. Bei 3 Kühen wurden in allen drei Lokalisationen Milchsäurebakterien festgestellt, bei den anderen 6 Kühen dagegen an keiner Lokalisation. Hinsichtlich des allgemeinen Keimgehalts wurde bei 3 Kühen eine pathogene Besiedlung festgestellt. Davon wiesen 2 Uteri diese in allen 3 Lokalisationen auf, der andere Uterus war nur im rechten Horn und Corpus besiedelt.

Bei der Auswertung handelt es sich um vorläufige Daten, die noch nicht um andere Einflussfaktoren korrigiert wurden. Zum bisherigen Stand kann daraus geschlossen werden, dass das Vorhandensein probiotischer Keime Einfluss auf die Ausspülrate, jedoch nicht auf die Embryonenqualität nimmt. Hingegen ist das Vorhandensein pathogener Keime kontraproduktiv für die Embryonenqualität, jedoch nicht die Ausspülrate. Über den Einfluss von dem *Lactobacillus buchneri* lässt sich keine Aussage treffen, da er in dieser Studie zu selten isoliert wurde.

Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization (Eds.), 2006. Probiotics in food: health and nutritional properties and guidelines for evaluation, FAO food and nutrition paper. Food and Agriculture Organization of the United Nations : World Health Organization, Rome.

Gärtner, M.A., Bondzio, A., Braun, N., Jung, M., Einspanier, R., Gabler, C., 2015. Detection and Characterisation of *Lactobacillus* spp. in the Bovine Uterus and Their Influence on Bovine Endometrial Epithelial Cells In Vitro. PLOS ONE 10, e0119793. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119793>

Peter, S., Gärtner, M.A., Michel, G., Ibrahim, M., Klopffleisch, R., Lübke-Becker, A., Jung, M., Einspanier, R., Gabler, C., 2018. Influence of intrauterine administration of *Lactobacillus buchneri* on reproductive performance and pro-inflammatory endometrial mRNA expression of cows with subclinical endometritis. Sci. Rep. 8, 5473. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22856-y>

Wolgast, T., 2009. Versuche zur Verbesserung der Embryonengewinnungsrate durch den Einsatz uterusmotilitätsfördernder Medikamente an einer kommerziellen Embryotransferstation für Rinder.

Quinton, H., AETE, 2022. Commercial Embryo Transfer Activity in Europe 2021.



**WirmachenDruck.de**  
**Sie sparen, wir drucken!**

