

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob die im Rahmen der In-vitro-Befruchtung von Rinderoozyten erzielten Ergebnisse Rückschlüsse auf die In-vivo-Fruchtbarkeit von Besamungsbullen zulassen. Zu diesem Zweck wurden In-vitro-Befruchtungsraten, spermatologische Befunde, Ejakulateinflüsse und NR-Raten ermittelt sowie mögliche Einflüsse der Oozyten auf die Befruchtungsraten berücksichtigt.

Darüber hinaus wurde untersucht, wie sich die Kryokonservierung auf die weitere In-vitro-Befruchtungsfähigkeit boviner Oozyten auswirkt.

Folgende Ergebnisse wurden ermittelt:

1. Die mittels Follikelpunktion aus Schlachtovarien (N = 682) gewonnene Anzahl Oozyten, die für eine In-vitro-Reifung geeignet erschienen, betrug \bar{x} 4,4 pro Eierstock.
2. Nach Verwendung von TG-Ejakulaten zehn verschiedener Besamungsbullen wurden Penetrationsraten von 35,0 % bis 72,9 % ermittelt. Die erzielten Ergebnisse unterschieden sich signifikant ($p < 0,05$) bis hochsignifikant ($p < 0,001$). Korrelationen zwischen den NR-Raten dieser Bullen und den entsprechenden In-vitro-Befruchtungsraten konnten nicht nachgewiesen werden.
3. Der Funktionszustand der Eierstöcke bzw. Zyklusstand der Spendertiere blieb ohne Einfluß auf die In-vitro-Befruchtungsraten.
4. Zwischen den mit verschiedenen TG-Ejakulaten eines Bullen erzielten Fertilisationsraten existierten hochsignifikante ($p < 0,001$) Unterschiede.
5. Eine Zeitspanne von zwei Stunden zwischen Entnahme der Eierstöcke aus den Schlachttieren und Beginn der Follikelpunktion hatte keinen Einfluß auf die Befruchtungsraten der Oozyten. Unabhängig vom eingesetzten Ejakulat resultierte aus der Verlängerung der Transportdauer auf drei bzw. vier Stunden eine signifikante ($p < 0,05$) bis hochsignifikante

($p < 0,001$) Abnahme der Penetrationsrate. Die als Transportmedien verwendeten 0,9%igen NaCl- bzw. modifizierten PBS-Lösungen waren gleichermaßen geeignet.

6. Nach Reifung der Oozyten in TCM 199 unter Zusatz von ECS konnten im Vergleich zur Standardmethode (TCM 199 + FCS, FSH, LH, 17 β -Oestradiol) signifikant ($p < 0,01$) höhere Penetrationsraten (75,0 % vs. 57,3 %) ermittelt werden.
7. Aus der IVB tiefgefrorener/aufgetauter Rinderoozyten resultierten Penetrationsraten von 21,4 % bis 32,4 %. Weder der Reifezustand der Oozyten, noch die Verwendung verschiedener TG-Ejakulate hatten einen Einfluß auf diese Ergebnisse.
8. Durch das "swim-up" Verfahren konnte die Motilität tiefgefrorener Spermien von 30 % bis 70 % nach dem Auftauen auf 50 % bis 90 % hochsignifikant ($p < 0,001$) gesteigert werden. Gleichzeitig verringerte sich der Anteil morphologisch abweichender Spermienformen signifikant ($p < 0,05$).
9. Obwohl die NR-Rate signifikant mit dem Anteil an pathologischen Spermien nach dem Auftauen korrelierte ($r = -0,82^{**}$) wurden keine Zusammenhänge zwischen den In-vitro-Befruchtungsraten, der Motilität und den MAS festgestellt.

Benedikt Linnenbrink:

Investigations to determine the fertilizing ability of AI bulls by in vitro fertilization tests with bovine oocytes.

Summary

The present study was designed to determine whether the results obtained by in vitro fertilization of bovine oocytes allow conclusions as to the in vivo fertility of AI bulls. For this purpose in vitro fertilization rates, spermatological findings, ejaculate influences, and non-return (NR) rates were determined, as well as the possible influences of the oocyte on fertilization rates.

In addition, the effects of cryopreservation of oocytes on the further in vitro fertilizability of bovine oocytes were examined.

The following results were obtained:

1. The average number of oocytes, collected by follicle punctation of ovaries (N = 628) obtained from the slaughter house, was 4.4 per ovary.
2. Using deep frozen ejaculates from ten different AI bulls, penetration rates of 37.0 % to 72.9 % were obtained. These results varied significantly ($p < 0.05$) to highly significantly ($p < 0.001$). Correlations between the NR rates of these bulls and the corresponding in vitro fertilization rates could not be shown.
3. The functional state of the ovary or stage of the estrous cycle of the donor animals was without effect on the in vitro fertilization rates.
4. Highly significant ($p < 0.001$) differences existed between the fertilization rates obtained using various deep frozen ejaculates of a bull.

5. A time period of two hours between the removal of the ovaries from slaughtered animals and the beginning of follicle punctation had no influence on the fertilization rates of the oocytes. Independent of the ejaculate used, a lengthening of the transport to three to four hours resulted in a significant ($p < 0.05$) to highly significant ($p < 0.001$) reduction in penetration rates. The 0.9 % NaCl and modified PBS solutions used were equally suited as transport media.
6. After incubation of the oocytes in TCM 199 with added ECS, significantly higher ($p < 0.01$) penetration rates could be obtained in comparison to standard methods (TCM 199 + FCS, FSH, LH, 17- β -estradiol).
7. Penetration rates of 21.4 % to 32.4 % resulted from IVF of frozen/thawed bovine oocytes. Neither the maturation state of the oocytes nor the use of various deep frozen ejaculates had an influence on the results.
8. Using the 'swim up' technique, the motility of deep frozen spermatozoa could be raised highly significantly ($p < 0.001$) from 30-70 % after thawing to 50-90 %. The proportion of morphologically altered spermatozoa (MAS) was at the same time significantly reduced ($p < 0.05$).
9. Although the NR rate correlated significantly ($r = -0.82^{**}$) with the proportion of pathological spermatozoa present after thawing no relationships between in vitro fertilization rates, motility, and MAS were seen.