

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, inwieweit sich verschiedene Versuchsbedingungen auf Teilungs- und Entwicklungsraten von in-vitro gereiften, in-vitro befruchteten und in-vitro kultivierten Rinderoozyten auswirken.

Für diese Versuche wurde die Temperatur des Transportmediums für die Ovarien vom Schlachthof zum Versuchslabor variiert, die frisch punktierten Oozyten anhand ihrer morphologischen Qualität selektiert und TG-Sperma unterschiedlicher Bullen getestet. Weiterhin sollte geklärt werden, ob Mischsperma einen positiven Einfluß auf die Befruchtungs- und Weiterentwicklungsraten ausübt.

Darüber hinaus wurde untersucht, mit welchem Erfolg Embryonen aus einem geschlossenen IVF-System auf synchrone Empfänger-tiere übertragen werden können. Des weiteren sollte geklärt werden, ob IVF-Embryonen mit der herkömmlichen "One-step" Methode erfolgreich eingefroren und wiederaufgetaut werden können.

Folgende Ergebnisse wurden ermittelt:

1. Die mittels Follikelpunktion aus Schlachtovarien (n = 440) gewonnene Anzahl von Oozyten sehr guter Qualität betrug durchschnittlich 3,9 Oozyten pro Eierstock.
2. Beim Transport der Ovarien in unterschiedlich temperierten Transportmedien (37°C, 4°C) zeigten nach 24-stündiger In-vitro-Reifung die Oozyten der 37°C-Gruppe eine signifikant höhere Gesamtkumuluszellexpansion. Die Transporttemperatur blieb jedoch ohne Einfluß auf die nachfolgenden Teilungs- und Entwicklungsraten bei der IVK.
3. Nach Einteilung der frisch punktierten Oozyten in verschiedene Qualitätsstufen ("GUTE, MÄSSIGE, SCHLECHTE") waren hochsignifikante Unterschiede in der Expansion der Kumuluszellen zwischen den Gruppen nachweisbar.

4. Nach Verwendung von TG-Sperma 5 verschiedener Bullen wurden 49 - 64,1 % der verwendeten Oozyten befruchtet und 8,5 - 31,5 % der verwendeten Oozyten entwickelten sich zu Morulae/Blastozysten. Dabei zeigten sich nach IVB zwischen den einzelnen Bullen signifikante bis hochsignifikante Unterschiede in den Befruchtungs- und Teilungsraten.
5. Wurde bei der IVB Mischsperma verwendet, entwickelten sich 25,4 - 33,3 % der Oozyten zu Morulae/Blastozysten. Durch den Einsatz von Mischsperma, im direkten Vergleich zu Einzelsperma, konnte eine signifikante Steigerung in der Entwicklungsrate beobachtet werden, wenn die Ergebnisse mit Einzelsperma gering bis mäßig waren.
6. Die Teilungs- und Entwicklungsrate war abhängig von der Oozytenqualität. Zu Blastozysten entwickelten sich 29 % der qualitativ guten Oozyten, 16,8 % der qualitativ mäßigen Oozyten und 0,9 % der schlechten Oozyten. Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren hochsignifikant.
7. Nach In-vitro-Befruchtung mit TG-Samen verschiedener Bullen ergaben sich nach anschließender In-vitro-Kultivierung nichtsignifikante Differenzen (51,9 - 62,5 %) in der Schlupfrate der Blastozysten.
8. Bei der Übertragung von 19 qualitativ guten IVF-Embryonen auf Empfängertiere (D<sub>7</sub>) konnte eine Trächtigkeitsrate von 52 % erreicht werden. Mit qualitativ schlechteren Embryonen konnte keine Trächtigkeit erzielt werden.

10. Die Tiefgefrierkonservierung mit Hilfe des "One-step"-Verfahrens wirkte sich nachteilig auf die Qualität der IVF-Embryonen aus. Beim Vergleich mit tiefgefrorenen/aufgetauten Embryonen, die nach Superovulation und In-vivo-Befruchtung gewonnen waren, ergaben sich sowohl hinsichtlich der morphologisch intakten Embryonen (86,3 % vs 26,3 %) als auch hinsichtlich der Weiterentwicklungsfähigkeit (59,1 % vs 7 %) und der Schlupfrate (36,3 % vs 0 %) hochsignifikant schlechtere Ergebnisse für die kryokonservierten in-vitro befruchteten Embryonen.

**Uwe Waldmann:**

Results of in vitro fertilization experiments with cattle oocytes under consideration of their developmental ability after transfer to recipients.

## **SUMMARY**

In the present study it was to be investigated to what degree various experimental conditions affect the rates of division and development of cattle oocytes matured, fertilized and cultivated in vitro. For these experiments the temperature of the transport medium for the ovaries from the slaughter house to the lab was varied, the freshly punctated oocytes were selected on the basis of their morphological quality, and the deep-frozen semen of various bulls was tested.

Whether or not pooled semen has a positive effect on the rates of fertilization and further development was also to be examined. It was also to be investigated with which success embryos from a closed IVF system can be transferred to synchronized recipients and if IVF embryos can be successfully frozen and then thawed using the standard "one-step" method.

The following results were obtained:

1. With follicle punctation an average of 3,9 oocytes of very good quality were obtained per ovary from slaughter ovaries.
2. With transport of the ovaries in transport media of various temperatures (37°C, 4°C), the 37°C group showed a significantly higher total cumulus cell expansion after 24 h of in vitro maturation. The transport temperature had no influence on the following rates of division and development in IVC.

3. After classification of the freshly punctated oocytes into the various quality classes ("good, medium, poor"), highly significant differences in the expansion of the cumulus cells could be shown between the groups.
4. With deep-frozen semen from five various bulls, 49 - 64,1 % of the oocytes used were fertilized and 8,5 - 31,5 % of the oocytes used developed to morulas/blastocysts. Significant to highly significant differences were hereby seen between the various bulls after IVF.
5. When pooled semen was used, 25,4 - 33,3 % of the oocytes developed to morulas/blastocysts. With the use of pooled semen, in comparison to pure semen, a significant improvement in the rate of development could be observed, when the results with pure semen was poor to medium.
6. The rate of division and development was dependant on the quality of the oocytes. 29 % of the qualitatively good oocytes developed to blastocysts, as did 16,8 % of the oocytes of medium quality and 0,9 % of the poor oocytes. The differences between the groups were significant.
7. Non-significant differences were seen in the rate of hatching of blastocysts (51,9 % - 62,5 %) after in vitro fertilization of oocytes with deep-frozen semen from various bulls and subsequent in vitro cultivation.
8. A pregnancy rate of 52 % could be reached through the transfer of 19 embryos of good quality to recipient animals (D<sub>7</sub>). No pregnancies were achieved using embryos of lower quality.

9. Deep-freeze conservation of embryos with help of the "one-step" method had a negative effect on the quality of the embryos. In comparison to deep-frozen/thawed embryos, which were collected after superovulation and in vitro fertilization, highly significantly poorer results were obtained with the cryoconserved, in vitro fertilized embryos, both in view of morphologically intact embryos (86,3 % vs. 26,3 %) and ability to develop further (59,1 % vs. 7 %), as well as the hatching rates (36,3 % vs. 0 %).