

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde geprüft, ob modifiziertes Ménézo-Medium (MMM) für die einzelnen Arbeitsschritte der IVF beim Rind geeignet ist und zu einer Vereinfachung des methodischen Aufwandes führen kann.

Das Ménézo-Medium blieb in seiner Zusammensetzung unverändert, nur die Aminosäuren wurden nicht einzeln, sondern als kommerziell erhältliche Konzentrate für BME- oder MEM-Zellkulturmedium zugesetzt.

Während eine Nutzung des MMM für In-vitro-Maturation (IVM) und -Kultivierung (IVC) sowie für den Swim-up zu befriedigenden Teilungs- und Weiterentwicklungsraten führte, war eine Befruchtung (IVF) in MMM nicht möglich.

Im Einzelnen wurden folgende Ergebnisse ermittelt:

1. Bei IVM in MMM mit MEM-Zusätzen zeigen 79,8% der Cumulus-Oocyten-Komplexe eine sehr gute Maturation, in MMM mit BME-Zusätzen nur 35,6% ($p < 0,001$).

2. Nach Maturation in MMM mit MEM-Zusätzen teilten sich bei IVC in MMM mit MEM-Zusätzen 59% der Eizellen, bei IVC in MMM mit BME-Zusätzen 41% ($p < 0,001$).

Nach IVM in MMM mit BME-Zusätzen wurde bei IVC in MMM mit MEM-Zusätzen eine Teilungsrate von 43% gegenüber einer Teilungsrate von 33% bei IVC in MMM mit BME-Zusätzen beobachtet ($p < 0,001$).

3. Nach IVM und IVC in MMM mit MEM-Zusätzen entwickelten sich 35% der kultivierten Eizellen zu transfertauglichen Stadien (Morulae und Blastocysten), bei IVM und IVC in MMM mit BME-Zusätzen nur 25% ($p < 0,001$).

4. Von den geteilten Eizellen erreichten nach IVM und IVC in MMM mit BME-Zusätzen 75% ein transfertaugliches Stadium, nach IVM und IVC in MMM mit MEM-Zusätzen 64% ($p < 0,001$).

5. Bei IVC in MMM mit MEM-Zusätzen schlüpfen 25% der Blastocysten nach IVM in MMM mit MEM-Zusätzen bzw. nach IVM in MMM mit BME-Zusätzen.

Höhere Raten an geschlüpften Blastocysten wurden bei Weiterkultivierung in MMM mit BME-Zusätzen mit 55% nach IVM in MMM mit MEM-Zusätzen und mit 46% nach IVM in MMM mit BME-Zusätzen beobachtet ($p < 0,05$).

6. Die schnellste Entwicklung wiesen die Embryonen nach IVM und IVC in MMM mit BME-Zusätzen auf. In dieser Versuchsgruppe erreichten 64% der Blastocysten dieses Stadium bereits an D6, während das Blastocystenstadium in den anderen Versuchsgruppen in der Mehrzahl der Fälle an D7 erreicht wurde ($p < 0,05$).

7. Eine Erhöhung der Teilungs- und Weiterentwicklungsraten konnte bei IVM und IVC in MMM mit MEM-Zusätzen dadurch erreicht werden, daß der Glutamingehalt des Weiterkultivierungsmediums erhöht wurde. Ein vergleichbarer Effekt wurde erzielt, wenn ein Teil des Weiterkultivierungsmediums nach 48h Kultivierungsdauer durch MMM mit BME-Zusätzen ersetzt wurde. In diesen Versuchsgruppen lag die Teilungsrate bei 65% respektive 64%. Von den kultivierten Eizellen entwickelten sich 36% bzw. 35% zu transfertauglichen Stadien weiter (n.s.).

6. Nach IVM, IVF und IVC der Eizellen von zwei Einzeltieren in MMM konnten bei dem einen Tier 30% ($n=30$) der Eizellen zu transfertauglichen Stadien kultiviert werden. Bei dem anderen Tier wurden keine Teilungstadien beobachtet.

Christine Behrens:

Investigations on in vitro maturation, in vitro fertilization and in vitro culture of bovine oocytes in modified Ménézo-B2-Medium

Summary

It was the aim of this study to investigate if modified Ménézo Medium (MMM) can be used for the different steps of in vitro fertilization in cattle.

The originally Ménézo-B2-Medium was used, with the modification that instead of adding the amino acids as single compounds commercially available supplements for MEM or BME tissue culture medium were added.

MMM was beneficial for in vitro maturation (IVM), culture (IVC) and the swim up procedure but not for fertilization (IVF).

The following results were obtained:

1. A very good expansion of the cumulus oocyte complexes was occurred in 79.8% when MMM supplemented with MEM was used, in MMM with BME a very good maturation was observed only in 35.6% ($p < 0.001$).

2. After maturation of ova in MMM with MEM, culture of fertilized ova was performed in either MMM with MEM or MMM with BME. The percentages of oocytes that entered the cleavage stage were 59% for MMM with MEM and 41% for MMM with BME ($p < 0.001$).

The oocytes matured in MMM with BME underwent cleavage in 43% and 33% when cultured in MMM with MEM and MMM with BME, respectively ($p < 0.001$).

3. After IVM and IVC in MEM supplemented MMM, 35% of cultivated ova developed into morulae and blastocysts. The percenta-

used for IVM and IVC ($p < 0.001$).

4. The percentage of cleaved oocytes that developed into morulae and blastocysts was 75% after IVM and IVC in MMM with BME and 64% after IVM and IVC in MMM with MEM ($p < 0.001$).

5. After culture in MEM supplemented MMM the percentage of hatched blastocysts was 25% irrespectively of the medium used for IVM.

After culture in BME supplemented MMM hatched blastocysts were obtained in 55% when IVM had been performed in MMM with BME and in 64% after IVM in MMM with BME ($p < 0.001$).

6. After IVM and IVC in BME supplemented MMM 64% of ova developed into blastocysts already on D6, in the other groups this stage was reached generally on D7 ($p < 0.05$).

7. Cleavage and development rates tended to be higher when for IVM and IVC in MEM supplemented MMM the glutamine content of this culture medium was increased.

A comparable effect could be obtained when part of the culture medium was replaced by BME supplemented MMM after 48 hours of culture. Then cleavage rates were 65% and 64% for increased glutamine content and replacement of culture medium, respectively. Of the cultivated oocytes 36% and 35%, respectively, developed into morulae and blastocysts (n.s.).

8. After IVM, IVF and IVC of ova of two individual cows in MMM supplemented with MEM from one animal 30% ($n=30$) of ova developed into morulae and blastocysts whereas in the other cow no cleavage of oocytes occurred.