

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, das Wachstum des dominanten Follikels (> 9 mm, bis drei Tage Plateau) zu charakterisieren und seine Bedeutung für das Superovulationsergebnis bei laktierenden Milchkühen zu eruieren. Durch ultraschallgelenkte Punktion des funktionell dominanten Follikels sollte versucht werden, eine Verbesserung der Superovulationsantwort bei Kühen mit dominantem Follikel zum Zeitpunkt der Superovulationseinleitung zu erreichen. Außerdem sollte ein praxisnahes Ultraschalluntersuchungsregime zur Ermittlung des dominanten Follikels von Spendertieren geprüft werden. Weiterhin wurden mit einem gereinigten FSH-Präparat (Folltropin®) weniger aufwendige Superovulationsschemata in ihrer Brauchbarkeit für die Superovulationseinleitung bei Holstein-Friesian Kühen geprüft. In verschiedenen Versuchsanstellungen wurde eine ein- oder zweimalige intramuskuläre Injektion von Folltropin® über vier Tage, sowie die einmalige subkutane Injektion der Gesamtmenge FSH zur Superovulationseinleitung bei laktierenden Holstein-Friesian Kühen eingesetzt und ihre Auswirkungen auf die Superovulationsantwort studiert. Alle Embryonen wurden an Tag 7 nach der Besamung unblutig gewonnen. Die Untersuchung auf An- oder Abwesenheit eines dominanten Follikels erfolgte retrospektiv anhand von Videobändern. Für die Versuche standen insgesamt 142 Holstein-Friesian Kühe 6 bis 20 Wochen p.p. zur Verfügung.

Folgende Ergebnisse wurden erarbeitet:

1. Bei 69 von 142 laktierenden Milchkühen wurde zum Zeitpunkt der Superovulationseinleitung ein funktionell dominanter Follikel festgestellt.
2. Nach Superovulationseinleitung durch zweimal tägliche intramuskuläre Injektion von Folltropin® über vier Tage in abfallender Dosierung und nach täglicher Ultraschalluntersuchung zur Bestimmung des dominanten Follikels waren bei Kühen mit dominantem Follikel im Vergleich zu Kühen ohne dominanten Follikel die Anzahl der Gelbkörper ($4,7 \pm 1,1$ gegenüber $11,7 \pm 0,9$) und die Anzahl der Eizellen und Embryonen ($2,8 \pm 1,0$ gegenüber $8,2 \pm 1,2$) hochsignifikant ($p < 0,01$) und die der transfertauglichen Embryonen ($2,1 \pm 0,9$ gegenüber $5,0 \pm 1,0$) signifikant ($p < 0,05$) erniedrigt.

3. Weiterhin wurde durch einmal tägliche intramuskuläre Injektion von Folltropin[®] in abfallender Dosierung über vier Tage nach einmaliger Ultraschalluntersuchung zur Bestimmung des dominanten Follikels die Superovulation eingeleitet. Dabei hatten Kühe ohne dominanten Follikel zum Zeitpunkt der Induktion weniger als 10, Kühe mit dominantem Follikel mehr als 10 Follikel in der Größenordnung von 3 bis 8 mm. Das Superovulationsergebnis bei Kühen mit dominantem Follikel war im Vergleich zu Kühen ohne dominanten Follikel in der Anzahl der Gelbkörper von $4,5 \pm 1,4$ gegenüber $15,5 \pm 2,5$ der Anzahl der gewonnenen Eizellen und Embryonen von $1,2 \pm 0,4$ gegenüber $12,9 \pm 2,5$ und der transfertauglichen Embryonen von $0,3 \pm 0,2$ gegenüber $7,8 \pm 2,5$ hochsignifikant ($p < 0,01$) erniedrigt.

4. Nach Superovulationsinduktion durch eine einmalige Injektion der Gesamtdosis Folltropin[®] subkutan hinter die Schulter und nach einmaliger Ultraschalluntersuchung war bei Kühen mit dominantem Follikel im Vergleich zu Kühen ohne dominanten Follikel die durchschnittliche Anzahl der Gelbkörper mit $1,9 \pm 0,8$ gegenüber $11,2 \pm 2,7$ ($p < 0,01$) hochsignifikant, die Anzahl der gewonnenen Eizellen und Embryonen mit $1,2 \pm 0,6$ gegenüber $9,5 \pm 2,7$ ($p < 0,01$) und die Anzahl der transfertauglichen Embryonen mit $0,3 \pm 0,2$ gegenüber $3,4 \pm 1,3$ ($p < 0,05$) signifikant erniedrigt.

5. Nach Superovulationsbehandlung durch einmal tägliche intramuskuläre Injektion von Folltropin[®] über vier Tage in abfallender Dosierung und nach viermaliger Ultraschalluntersuchung im Abstand von zwei Tagen zur Bestimmung des dominanten Follikels waren bei Kühen mit dominantem Follikel folgende Parameter im Vergleich zu den Kühen ohne dominanten Follikel hochsignifikant ($p < 0,01$) erniedrigt. Die Anzahl der Gelbkörper betrug $7,7 \pm 1,6$ gegenüber $19,3 \pm 2,3$, die der Eizellen und Embryonen $5,1 \pm 1,4$ gegenüber $17,4 \pm 2,6$ und der transfertauglichen Embryonen $1,0 \pm 0,5$ gegenüber $10,3 \pm 2,2$. Bei 13 Tieren dieses Versuches wurde der dominante Follikel zwei Tage vor der Superovulations-einleitung mit Hilfe der ultraschallgelenkten transvaginalen Punktion entfernt. Hochsignifikant ($p < 0,01$) bessere Superovulationsergebnisse wurden im Vergleich zu Kühen mit dominantem Follikel erzielt. Die Anzahl der Gelbkörper betrug $21,6 \pm 2,2$ die der gewonnenen Eizellen und Embryonen $18,7 \pm 2,7$ und die der transfertauglichen Embryonen $10,1 \pm 1,5$. Zwischen den Tieren, die nach Entfernung

des dominanten Follikels superovuliert wurden und den Tieren ohne dominanten Follikel zum Zeitpunkt der Superovulationseinleitung bestanden keine signifikanten Unterschiede.

6. Nach Superovulationseinleitung durch zweimal tägliche intramuskuläre Injektion von HMG (Vetemass Plus[®]) über vier Tage in abfallender Dosierung und nach täglicher Ultraschalluntersuchung zur Bestimmung des dominanten Follikels war das Superovulationsergebnis bei Kühen mit dominantem Follikel im Vergleich zu Kühen ohne dominanten Follikel hochsignifikant in den folgenden Parametern schlechter. Die Anzahl der Gelbkörper betrug $2,2 \pm 0,4$ gegenüber $5,9 \pm 1,1$ ($p < 0,01$), die der gewonnenen Eizellen und Embryonen $0,5 \pm 0,1$ gegenüber $4,0 \pm 0,9$ ($p < 0,01$) und die der transfertauglichen Embryonen $0,2 \pm 0,1$ gegenüber $2,4 \pm 0,6$ ($p < 0,01$).

7. Die Progesteronwerte und Gelbkörperdurchmesser zum Zeitpunkt der Superovulationseinleitung waren in den Gruppen innerhalb der Versuche nicht signifikant unterschiedlich.

8. Die Progesteronwerte korrelierten an Tag 3 ($r = 0,4$), Tag 5 ($r=0,6$), Tag 7 ($r = 0,4$), Tag 9 ($r=0,4$) und am Tag der Superovulationseinleitung ($r=0,4$) mit den entsprechenden Gelbkörperdurchmessern.

Diese Ergebnisse zeigen, daß die Anwesenheit eines dominanten Follikels die Superovulationsantwort bei Milchkühen signifikant beeinflusst. Das Superovulationsergebnis ist signifikant erhöht, wenn die Gonadotropinstimulation in Abwesenheit eines dominanten Follikels erfolgt. Die Anwesenheit eines dominanten Follikels kann durch einmalige Ultraschalluntersuchung diagnostiziert werden, indem die Anzahl kleiner Follikel als Kriterium herangezogen wird. Die ultraschallgelenkte Punktion des dominanten Follikels ist eine zuverlässige, sichere und schmerzfreie Methode zur Verbesserung der Superovulationsergebnisse bei Milchkühen. Das reduzierte FSH-Behandlungsschema mit vier Injektionen erbringt ausreichende Superovulationsergebnisse im Vergleich zum Behandlungsschema mit acht Injektionen. Die herabgesetzte Embryonenqualität nach Stimulation durch einmalige subkutane Injektion von FSH erfordert weitere Untersuchungen.

Lothar Bungartz

Experimental investigations into the role of the dominant follicle on superovulatory responses of dairy cows as monitored by ultrasound technology

The purpose of the present study was to characterize the growth of the dominant follicle (>9 mm in a growing phase, stable diameter <3 days) and to elucidate its significance for the superovulatory response of dairy cows. Ultrasound guided aspiration of the dominant follicle was employed to observe the effects on ovarian responses following gonadotropin stimulation. A practically orientated ultrasound regimen was tested in its suitability to identify the dominant follicle. Furthermore the practicability of reduced, less time consuming superovulatory treatment schedules using a purified FSH-P (Folltropin[®]) was investigated. In different experiments a once or twice daily intramuscular injection schedule of Folltropin[®] over four days as well as a single subcutaneous injection of the whole dose were used to induce superovulatory responses in Holstein Friesian (HF) dairy cows. Embryos were collected nonsurgically on day 7 after insemination. The diagnosis as to the presence or absence of a dominant follicle was done retrospectively when analyzing video tapes on which all ovaries had been recorded. A total of 142 HF cows, 6 to 20 weeks post partum, were used for these studies.

The following results were obtained:

1. Sixty nine out of 142 dairy cows possessed a dominant follicle at the beginning of the superovulatory treatment.
2. Donors were scanned daily from day 3 after the estrous preceding superovulation throughout to embryo recovery. Superovulation was induced with Folltropin[®] administered twice daily over four days in a decreasing regimen. Donors superovulated in the absence of a dominant follicle yielded more ($p < 0.01$) CL (11.7 ± 0.09 vs. 4.7 ± 1.1), ova and embryos (8.2 ± 1.2 vs. 2.8 ± 1.0 , $p < 0.01$) and transferable embryos (5.0 ± 1.0 vs. 2.1 ± 0.9 , $p < 0.05$) as compared with donors treated in the presence of a dominant follicle.

3. Donors were scanned only once to determine the dominant follicle. Donors showing fewer than 10 follicles of 3-8mm in diameter were considered as having a dominant follicle, donors with >10 follicles (3-8mm in diameter) as having no dominant follicle. Superovulation was induced with Folltropin[®] administered once daily over 4 days in a decreasing regimen. Donors treated in the absence of a dominant follicle yielded more ($p < 0.01$) CL (15.5 ± 2.5 vs. 4.5 ± 1.4), ova and embryos (12.9 ± 2.5 vs. 1.2 ± 0.4) and transferable embryos (7.8 ± 2.5 vs. 0.3 ± 0.2) compared with donors treated in the presence of a dominant follicle.

4. Donors were scanned only once using the same criteria as in No. 3 to determine the presence or absence of a dominant follicle. Superovulation was induced with a single subcutaneous injection of Folltropin[®] behind the shoulder. Donors treated in the absence of a dominant follicle yielded more ($p < 0.01$) CL (11.2 ± 2.7 vs. 1.9 ± 0.8), more ova and embryos (9.5 ± 2.7 vs. 1.2 ± 0.6) and more ($p < 0.05$) transferable embryos (3.4 ± 1.3 vs. 0.3 ± 0.2) as compared to donors treated in the presence of a dominant follicle.

5. Donors were scanned four times at 2 days intervals and superovulation was induced with once daily intramuscular injections of Folltropin[®] over 4 days in a decreasing regimen. In the absence of a dominant follicle donors yielded more ($p < 0.01$) CL (19.3 ± 2.3 vs. 7.7 ± 1.6), ova and embryos (17.4 ± 2.6 vs. 5.1 ± 1.4) and transferable embryos (10.3 ± 2.2 vs. 1.0 ± 0.5) than in the presence of a dominant follicle. 13 cows were scanned 3 times at 48 hours intervals to determine the dominant follicle which was punctured and aspirated under sonographic control 2 days before superovulation was started. These donors yielded more ($p < 0.01$) CL (21.6 ± 2.2), ova and embryos (18.7 ± 2.7) and transferable embryos (10.1 ± 1.5) than donors treated in the presence of a dominant follicle. There were no significant differences between the donors in which the dominant follicle had been aspirated and donors superovulated in the absence of a dominant follicle.

6. Donors were scanned daily and superovulation was induced with HMG (Vetemass Plus[®]) administered intramuscularly twice daily over 4 days in a decreasing regimen. Donors superovulated in the absence of a dominant follicle yielded more ($p < 0.01$) CL (5.9 ± 1.1 vs. 2.2 ± 0.4), ova and embryos (4.0 ± 0.9 vs. 0.5 ± 0.1) and transferable embryos (2.4 ± 0.6 vs. 0.2 ± 0.1) than donors treated in the absence of a dominant follicle.

7. The levels of progesterone and the diameter of the corpora lutea (CL) at the time when superovulation was started within the different experimental groups were not significantly different.

8. The levels of progesterone on day 3 ($r=0.4$), day 5 ($r=0.6$), day 7 ($r=0.4$), day 9 ($r=0.4$) and the day, when superovulation was started, were correlated to the corresponding diameters of the CL.

Collectively these data indicate that the presence of a dominant follicle significantly affects superovulatory responses in dairy cattle. The superovulatory responses were significantly higher when the gonadotropin treatment had been started in the absence of a dominant follicle. The diagnosis of the dominant follicle can be achieved by a reduced ultrasound scanning schedule using the number of small follicles as criterion. Ultrasound guided follicular aspiration of the dominant follicle provide a sufficient, reliable and painless procedure to increase ovarian responses in dairy cattle. The less time consuming FSH treatment schedule (4 injections versus 8 injections) results in sufficient ovarian responses whereas the decreased embryo quality following a single subcutaneous FSH injection warrants further investigations.