

6. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Anwendbarkeit der transvaginalen ultraschallgeleiteten Follikelpunktion (OPU) bei Jungrindern zu untersuchen. Der erfolgreiche Einsatz von OPU bei präpuberalen Jungrindern könnte durch Verkürzung des Generationsintervalls eine wesentliche Beschleunigung des Zuchtfortschritts ermöglichen.

Im ersten Experiment wurden 9 Versuchstiere, sobald es ihre körperliche Entwicklung zuließ, zweimal wöchentlich punktiert. Die Punktionen wurden über einen Zeitraum von 9 Monaten kontinuierlich durchgeführt. Alle gewonnenen Oozyten wurden nach morphologischen Kriterien in 5 verschiedene Kategorien eingeteilt und dementsprechend gruppiert *in vitro* maturiert, fertilisiert und kultiviert. Für jede Kategorie wurden die Entwicklungsraten bestimmt. Nach Beendigung der Punktionen wurden die mittlerweile zuchtreifen Rinder künstlich besamt und 5 bis 6 Wochen später auf das Vorliegen einer Trächtigkeit untersucht.

Im zweiten Experiment wurden präpuberale und adulte Rinder zeitgleich punktiert. Embryonen, die aus den gewonnenen Oozyten produziert werden konnten, wurden auf Empfängertiere übertragen, die etwa 5 Wochen nach dem Übertragungstermin auf das Vorliegen einer Trächtigkeit untersucht wurden.

Folgende Ergebnisse wurden erarbeitet:

1. Bei Holstein-Friesian Rinder konnten vom ca. 6. Lebensmonat an die Ovarfollikel punktiert werden; bei Jungrindern der Rasse Schwarzbunt konnte OPU ab dem ca. 9. Lebensmonat an erstmalig durchgeführt werden.
2. OPU konnte bei Jungrindern über einen mehrmonatigen Zeitraum kontinuierlich angewendet werden, ohne Gesundheit und Fertilität der Spendertiere zu gefährden.

3. Die ständige Wiederholung der Punktionen über einen neunmonatigen Zeitraum war durch eine signifikante Abnahme der Anzahl aspirierter Follikel und gewonnener Oozyten im letzten Drittel des Versuchszeitraums gekennzeichnet. Die Punktionsergebnisse der einzelnen Spendertiere unterschieden sich zum Teil signifikant.

4. Von unstimulierten präpuberalen Rindern wurden im Durchschnitt $5,5 \pm 3,4$ Oozyten pro Einzeltierpunktion gewonnen. Von diesen Oozyten wurden 56,7% nach morphologischen Kriterien als IVP-tauglich bewertet.

5. Nach Fertilisierung entwickelten sich insgesamt 11,8% der IVP-tauglichen Oozyten juveniler Spendertiere zu - nach morphologischen Kriterien übertragungsfähigen - Morulae und Blastozysten.

6. Die Übertragung von 21 Embryonen, die in vitro aus den Oozyten präpuberaler Rinder produziert wurden, führte nicht zu Trächtigkeiten der Empfängertiere. In der Kontrollgruppe resultierte der Transfer von 15 Embryonen aus den Oozyten erwachsener Spendertiere in 6 Trächtigkeiten (40%).

Diese Ergebnisse zeigen, daß OPU auch für das Jungrind eine geeignete Methode zur In vivo-Gewinnung von Oozyten darstellt. Die Beantwortung der Frage, ob OPU in Verbindung mit IVP durch die Produktion übertragungsfähiger Embryonen aus den Oozyten präpuberaler Rinder tatsächlich zur Senkung des Generationsintervalls genutzt werden kann, erfordert weitere Untersuchungen. Nach den vorliegenden Resultaten können aus den Oozyten unstimulierter präpuberaler Spendertiere keine vollständig entwicklungs kompetenten Embryonen erzeugt werden. Von daher ist an die Entwicklung geeigneter Hormonbehandlungsschemata für Oozytenspender dieser Altersgruppe oder modifizierter IVP-Verfahren zu denken.

7. SUMMARY

Georg Rick

Experimental investigations of follicle puncture and oocyte development in juvenile cattle

The goal of this work was to test the utility of the transvaginal ultrasound guided follicle puncture method (OPU) in immature heifers. The successful application of OPU in prepuberal heifers could accelerate the rate of genetic improvement by shortening the generation interval.

In the first experiment, 9 immature animals were punctured twice weekly from the point at which application of OPU was physically possible. Puncture sessions were performed continuously for 9 months. After sorting the oocytes into 5 categories of quality using standard morphological criteria, the oocytes collected were matured, fertilized and cultured in vitro. The rates of development for each category were determined. After the collection period all heifers were artificially inseminated and subsequently examined for pregnancy.

In the second experiment, prepuberal and adult cattle were punctured in parallel. Embryos produced from the collected oocytes were transferred to recipients which were examined for pregnancy approximately 5 weeks after the transfer date.

The following results were obtained:

1. The OPU procedure can be carried out with Holstein-Friesian cattle as young as 6 months of age, with German Black-White cattle as young as 9 months of age.
2. It was apparent that continuous application of OPU in immature heifers over several months did not itself present any complication to the health or future fertility of the animals.

3. After 6 months a significant decrease of aspirated follicles and collected oocytes was registered in the course of the continuous application of OPU over a 9 months period. Significant differences between aspiration results of oocyte donors were observed.
4. Over the course of the experiment, the average number of oocytes obtained per session from unstimulated prepuberal heifers was 5.5 ± 3.4 . By morphological criteria, 56.7% of these oocytes were judged fit for in vitro production (IVP).
5. Following fertilization, 11.8% of the viable oocytes developed to the morulae/blastocyst stage embryos which were of a quality suitable for transfer by accepted morphological criteria.
6. The transfer of 21 embryos, produced from oocytes from prepuberal heifers, did not result in any pregnancies. In the control group with adult oocyte donors, the transfer of 15 embryos yielded 6 pregnancies (40%).

These results demonstrate that OPU is a suitable method for the in vivo aspiration of oocytes from immature heifers. However, further investigations will be needed before OPU in combination with IVP can practically be used to shorten the generation interval. The major obstacle which has been identified in this study is that oocytes collected from unstimulated prepuberal donors do not result in pregnancies following transfer. It will probably be necessary to either develop a suitable program of hormone treatment for oocyte donors of this age or an improved in vitro maturation (IVM) protocol.