

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
2	Literatur.....	4
2.1	In-vitro-Produktion boviner Embryonen.....	4
2.2	In-vivo-Produktion boviner Embryonen.....	8
2.3	Biopsie boviner Embryonen .....	11
2.4	Kryokonservierung boviner Embryonen .....	15
2.4.1	Gefrieren von Zellen.....	15
2.4.2	Kryoprotektiva.....	16
2.4.3	Unterschiedliche Gefrierverfahren .....	17
2.4.3.1	Konventionelle Gefrierverfahren .....	18
2.4.3.2	Vitrifikation.....	19
2.5	Flüssigkonservierung boviner Embryonen .....	22
2.5.1	Metabolismus und biochemische Vorgänge bei niedrigen Temperaturen um 0-4 °C .....	23
2.5.2	Entwicklung und Durchführung der Flüssigkonservierung unterschiedlicher Tierarten .....	25
2.5.2.1	Flüssigkonservierung beim Kaninchen .....	26
2.5.2.2	Flüssigkonservierung beim Schaf .....	27
2.5.2.3	Flüssigkonservierung bei Mäusen .....	29
2.5.2.4	Flüssigkonservierung beim Pferd .....	29
2.5.2.5	Flüssigkonservierung beim Rind.....	30
2.5.3	Proteinquellen während der Flüssigkonservierung .....	36
2.5.3.1	Bovines Serumalbumin (BSA) .....	37
2.5.3.2	Fetales bovines Serum (FBS) .....	38
2.5.3.3	Antifreeze Protein (AFP).....	39
2.5.4	Qualitätsbeurteilung nach Flüssigkonservierung.....	41
3	Material und Methoden.....	45
3.1	In-vitro-Produktion boviner Embryonen.....	45
3.1.1	Herkunft der Ovarien .....	45
3.1.2	Vorbereitung und Selektion der Kumulus-Oozyten-Komplexe.....	45

3.1.3	In-vitro-Maturation .....	48
3.1.4	In-vitro-Fertilisation.....	48
3.1.5	In-vitro-Kultivierung .....	49
3.2	In-vivo-Produktion boviner Embryonen.....	51
3.3	Biopsie am Mikromanipulator.....	53
3.3.1	Biopsie an in vitro produzierten bovinen Embryonen .....	54
3.3.2	Biopsie an in vivo produzierten bovinen Embryonen .....	55
3.4	Flüssigkonservierung .....	55
3.4.1	Flüssigkonservierung der in vitro produzierten bovinen Embryonen .....	56
3.4.2	Flüssigkonservierung der in vivo produzierten bovinen Embryonen .....	56
3.5	Aufwärmen nach der Flüssigkonservierung.....	58
3.6	Qualitätsbeurteilung der Embryonen .....	58
3.6.1	Qualitätsbeurteilung der in vitro produzierten bovinen Embryonen.....	58
3.6.1.1	Reexpansions- und Schlupfraten in vitro produzierter boviner Embryonen .....	59
3.6.1.2	Lebend-Tot-Färbung in vitro produzierter boviner Embryonen .....	59
3.6.2	Qualitätsbeurteilung der in vivo produzierten bovinen Embryonen.....	61
3.6.2.1	Entwicklungs- und Schlupfraten in vivo produzierter boviner Embryonen .....	62
3.6.2.2	Lebend-Tot-Färbung in-vivo-produzierter boviner Embryonen .....	62
3.7	Statistische Auswertung.....	63
3.8	Zweitstufiger Versuchsaufbau.....	64
4	Ergebnisse .....	66
4.1	Erstellung der in vitro produzierten Embryonen .....	66
4.2	Ergebnisse der in vitro produzierten Embryonen der Kontrollgruppen .....	66
4.2.1	Gesamtzellzahlen der in vitro produzierten Embryonen der Kontrollgruppen ...	67
4.2.2	Lebend-Tot-Ratio der in vitro produzierten Embryonen der Kontrollgruppen ...	68
4.3	Ergebnisse der Reexpansions- und Schlupfraten in vitro produzierter Embryonen ...	69
4.4	Ergebnisse der Lebend-Tot-Färbung in vitro produzierter Embryonen.....	73
4.4.1	Gesamtzellzahlen der flüssigkonservierten Embryonen.....	74
4.4.2	Lebend-Tot-Ratio der flüssigkonservierten Embryonen .....	76
4.5	Ergebnisse der Flüssigkonservierung in vivo produzierter Embryonen.....	78

4.5.1	Schlupfraten in vivo produzierter Embryonen.....	78
4.5.2	Gesamtzellzahl und Lebend-Tot-Ratio in vivo produzierter Embryonen.....	79
4.6	Vergleich der Ergebnisse in vitro produzierter und in vivo produzierter Embryonen .....	81
4.6.1	Schlupfraten in vivo und in vitro produzierter boviner Embryonen.....	81
4.6.2	Gesamtzellzahl und Lebend-Tot-Ratio in vivo- und in vitro produzierter boviner Embryonen.....	82
5	Diskussion .....	84
5.1	Beurteilung der Embryonen der Kontrollgruppen in vitro und in vivo produzierter Embryonen .....	86
5.2	Beurteilung in vitro produzierter Embryonen nach der Flüssigkonservierung.....	90
5.2.1	Reexpansions- und Schlupfraten in vitro produzierter Embryonen .....	90
5.2.2	Gesamtzellzahl und Lebend-Tot-Ratio in vitro produzierter Embryonen.....	92
5.3	Beurteilung in vivo produzierter Embryonen nach der Flüssigkonservierung mit 25 % FBS.....	95
5.3.1	Reexpansions- und Schlupfraten in vivo produzierter Embryonen .....	95
5.3.2	Gesamtzellzahl und Lebend-Tot-Ratio in vivo produzierter Embryonen.....	97
5.4	Schlussfolgerung.....	98
6	Zusammenfassung.....	102
7	Summary .....	106
8	Anhang.....	110
8.1	Einzelheiten der Zellzählzählung .....	110
8.2	Einzelheiten der Kultivierung .....	116
8.3	Medien IVP .....	118
8.4	Medien für Flüssigkonservierung .....	124
8.5	Medien für Lebend-Tod-Färbung .....	127
8.6	Labormaterial und Geräte .....	128
9	Verzeichnisse .....	130
9.1	Abkürzungsverzeichnis .....	130
9.2	Abbildungsverzeichnis.....	134
9.3	Tabellenverzeichnis .....	136
10	Literaturverzeichnis.....	139