

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	Einzeldaten der Zellzahlzählung	110
8.2	Einzeldaten 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