

Aus dem Institut für Veterinär-Biochemie
des Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

sowie

dem Forschungsbereich Fortpflanzungsbiologie
des Leibniz-Institutes in Dummerstorf

**Zusammenhänge zwischen metabolischen und
endokrinen Parametern, der Energiebilanz
und der Ovarfunktion
bei hochleistenden Milchkühen**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Cornelia Annabella Martens, geb. Hametner
Tierärztin
aus Hamburg

Berlin 2017

Journal-Nr.: 3916

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: PD Dr. Christoph Gabler
Zweiter Gutachter: PD Dr. Harald M. Hammon
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Rudolf Staufenberg

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

dairy Cow; body condition; backfat; energy balance; ultrasonography;
reproduction; progesteron; oestrus cycle; oocytes; fat mobilization

Tag der Promotion: 21.07.2017

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86387-831-3

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2017

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2017

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Für meine Familie
und mich

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Verzeichnis der Abkürzungen	VII
1 Einleitung	1
2 Literaturübersicht	3
2.1 Entwicklung der Milch- und Reproduktionsleistung bei Milchkühen	3
2.2 Energetische Situation der Milchkuh vor und nach der Abkalbung	5
2.3 Methoden zur Einschätzung der Energiebilanz	8
2.3.1 Berechnung der Energiebilanz	8
2.3.2 Bestimmung des Body Condition Scores (BCS)	9
2.3.3 Messung der Rückenfettdicke (RFD)	10
2.3.4 Lebendmassewägung	13
2.3.5 Schätzung der Energiebilanz durch freie nicht veresterte Fettsäuren (NEFA).....	13
2.4 Energiebilanz und Ovarfunktion	15
2.4.1 Endokrine Regulation der Ovarfunktion beim Rind	15
2.4.2 Bedeutung des Hormons Progesteron im Sexualzyklus des Rindes	17
2.4.3 Einfluss einer negativer Energiebilanz auf die Ovarfunktion	18
2.4.4 Einflußfaktoren auf das Intervall von der Kalbung bis zum Wiedereinsetzen der Ovarfunktion	21
2.5 Energiebilanz und Oozytenqualität	23
2.6 Ziele der Studie	25
3 Material und Methoden	26
3.1 Material, Medienzusammensetzung und Geräte	26
3.1.1 Reagenzien / angewandte Arzneimittel	26
3.1.2 Verbrauchsmaterialien	28
3.1.3 Geräte	29
3.1.4 Medienzusammensetzung	30
3.1.5 Futtermittelzusammensetzung	34
3.2 Tiermaterial und Haltungsbedingungen	36
3.2.1 Tierausswahl	36
3.2.2 Haltung	36
3.2.3 Fütterung	37
3.3 Probennahmeübersicht	39
3.3.1 Milchproben und Erfassung der Milchleistungsdaten	39
3.3.2 Körpergewicht	40

3.3.3 Rückenfettdicke (RFD)	40
3.3.4 Blutentnahme	41
3.3.5 Leberbiopsie	41
3.3.6 Synchronisation der Tiere und die definierte Gewinnung von Oozyten und Embryonen	42
3.4 Probenaufbereitung, Analysemethoden	43
3.4.1 Futterinhaltsstoffe	43
3.4.2 Energiebilanzberechnung	43
3.4.3 Konzentrationsbestimmung von Milchinhaltstoffen	44
3.4.4 Konzentrationsbestimmung der NEFA	44
3.4.5 Konzentrationsbestimmung von Progesteron	44
3.4.6 Leberfettgehalt	46
3.5 Reproduktionsphysiologische Untersuchungen	46
3.5.1 Brunstbeobachtung	46
3.5.2 Transrektale Palpation des Uterus und der Ovarien	46
3.5.3 Rektale ultrasonographische Untersuchung des Uterus und der Ovarien	48
3.5.4 Wiedereinsetzen der Ovarfunktion / erste luteale Aktivität	48
3.6 Oozytengewinnung	49
3.6.1 Entnahme der Ovarien und Embryonenspülung	49
3.6.2 Beurteilung des Follikelbesatzes und des Corpus luteum	49
3.6.3 Aufarbeitung der Follikel und Oozyten	50
3.6.4 Gewinnung und Klassifizierung der Cumulus-Oozyten-Komplexe	51
3.6.5 Bestimmung der Verteilung und Aktivität von Mitochondrien im Ooplasma und Beurteilung der Chromatinkonfiguration in präovulatorischen Oozyten	52
3.6.5.1 Durchführung der Doppelfärbung an Oozyten	52
3.6.5.2 Verteilung und Aktivität der Mitochondrien in Oozyten	53
3.6.5.3 Anfärbung der Chromatinkonfiguration in Oozyten	54
3.6.6 Entwicklungskompetenz von Oozyten	54
3.6.6.1 <i>In-Vitro</i> -Maturierung der Cumulus-Oozyten-Komplexe	54
3.6.6.2 <i>In-Vitro</i> -Fertilisation der Cumulus-Oozyten-Komplexe	54
3.6.6.3 <i>In-Vitro</i> -Kultivierung der Cumulus-Oozyten-Komplexe	55
3.7 Statistische Methoden	56
4 Ergebnisse	57
4.1 Leistungsniveau der Tiere	57
4.2 Ergebnisse nach der Gruppeneinteilung	58
4.2.1 Erste luteale Aktivität	58

4.2.1.1	Einteilung der Tiere nach Einsetzen der ersten lutealen Aktivität nach der Abkalbung	58
4.2.1.2	Einsetzen der ersten lutealen Aktivität nach der Kalbung in Abhängigkeit zur RFD 1 Woche a.p.	59
4.2.2	Rückenfettdicke	60
4.2.2.1	Entwicklung der RFD in Abhängigkeit zur ersten lutealen Aktivität p.p. ...	60
4.2.2.2	Einteilung der Tiere nach der Rückenfettdicke eine Woche vor der Abkalbung	61
4.2.3	Rückenfettmobilisierung in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p.	62
4.2.4	Energiebilanz	63
4.2.4.1	Die Energiebilanz in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p.	63
4.2.4.2	Energiebilanz in Abhängigkeit zur ersten lutealen Aktivität p.p.	64
4.2.5	Milchleistung	65
4.2.5.1	Milchmengenleistung in Abhängigkeit zur RFD 1 Woche a.p.	65
4.2.5.2	Milchmengeleistung in Abhängigkeit zur ersten lutealen Aktivität p.p.	67
4.2.5.3	ECM in Abhängigkeit zur RFD 1 Woche a.p.	68
4.2.5.4	ECM in Abhängigkeit zur ersten lutealen Aktivität p.p.	69
4.2.6	Trockensubstanzaufnahme (TSA)	70
4.2.6.1	TSA in Abhängigkeit zur RFD 1 Woche a.p.	70
4.2.6.2	Trockensubstanzaufnahme in Abhängigkeit zur ersten lutealen Aktivität p.p.	71
4.2.7	Leberfettgehalt	72
4.2.7.1	Leberfettgehalt in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p.	72
4.2.7.2	Leberfettgehalt in Abhängigkeit zur ersten lutealen Aktivität p.p.	73
4.2.8	Freie nicht veresterte Fettsäuren im Blut	74
4.2.8.1	NEFA-Konzentration im Blut in Abhängigkeit zur RFD 1 Woche a.p.	74
4.2.8.2	NEFA-Konzentrationen im Blut in Abhängigkeit zur ersten lutealen Aktivität p.p.	76
4.2.9	Glucosekonzentrationen im Blut	77
4.2.9.1	Blut-Glucosekonzentration in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p. ..	77
4.2.9.2	Blut-Glucosekonzentration in Abhängigkeit zur ersten lutealen Aktivität p.p.	78
4.3	Analyse der reproduktiven Parameter	79
4.3.1	Ergebnisse der Brunstbeobachtung	79
4.3.2	Progesteronkonzentrationen	82
4.3.2.1	Milchprogesteron	82

4.3.2.2	Blutprogesteron	83
4.3.3	Zykluscharakteristik	84
4.4	Ergebnisse der ovariellen Untersuchungen	84
4.4.1	Präovulatorische Cumulus-Oozyten-Komplexe (COK)	84
4.4.1.1	Beurteilung der Chromatinkonfiguration	85
4.4.1.2	Untersuchungen zur mitochondrialen Aggregation	85
4.4.2	Follikelbesatz in Abhängigkeit vom Zyklustag	85
4.4.3	Cumulus-Oozyten-Komplexe der 3-5 mm großen Follikel	87
4.4.3.1	Gewinnungsrate	87
4.4.3.2	Morphologie	87
4.4.4	Entwicklungscompetenz der Oozyten nach IVM/IVF/IVK	89
4.4.4.1	Furchungsrate	89
4.4.4.2	Blastozystenrate	91
4.5	Embryonen-Gewinnungsrate	91
4.6	Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der vorliegenden Studie	92
5	Diskussion	94
5.1	Gruppeneinteilung nach der RFD 1. Woche a.p.	94
5.2	Einteilung nach der Länge des Intervalls von der Abkalbung bis zur ersten lutealen Aktivität p.p.	99
5.3	Reproduktive Parameter	102
5.3.1	Brunstbeobachtung	102
5.3.2	Zeitpunkt der ersten Ovulation	103
5.3.3	Zykluslänge	104
5.3.4	Progesteron	104
5.4	Oozyten in vitro	104
5.4.1	Präovulatorische Cumulus-Oozyten-Komplexe (COK)	105
5.4.2	Follikelbesatz der Ovarien	105
5.4.3	Entwicklungscompetenz der Oozyten nach IVM/IVF/IVK	106
5.4.3.1	Furchungs- und Blastozystenrate	106
5.4.3.2	Embryonengewinnungsrate	107
6	Schlussfolgerungen	108
7	Zusammenfassung	109
8	Summary	111
9	Anhang	113
9.1	Verzeichnis der Abbildungen	113
9.2	Verzeichnis der Tabellen	115

10	Literaturverzeichnis	116
11	Publikationsliste	135
12	Danksagung	137
13	Selbständigkeitserklärung	138

Verzeichnis der Abkürzungen

µm	Mikrometer
µmol	Mikromol
³ H	Tritium
ADAP	Ahrenshagen Daskow Altenwillershagen Pantlitz (frühere LPG-Standorte)
ADF	acid detergent fiber (Säure-Detergenz-Faser)
ADR	Arbeitsgemeinschaft Deutscher Rinderzüchter e.V.
Ana I	Anaphase I
Ana II	Anaphase II
a.p.	<i>ante partum</i>
Aqua dest.	destilliertes Wasser
BCB	Brilliant Cresyl Blau
BCB+	BCB-positiv (= niedrige G6PDH-Aktivität)
BCB-	BCB-negativ (= hohe G6PDH-Aktivität)
BCS	Body Condition Score
BME	Basal Medium Eagle
BMELV	Bundesministerium für Ernährung Landwirtschaft und Verbraucherschutz
BSA	bovines Serumalbumin
C	Kohlenstoff
CL	Corpus luteum (Gelbkörper)
CLA	konjugierte Linolsäuren
cm	Zentimeter
COK	Cumulus-Oozyten-Komplex
cp	compakter Cumulus
c.r.	<i>Corona radiata</i>
deg.	degeneriert
denud.	denudiert
d.h.	das heißt
DMI	dry matter intake
DMSO	Dimethylsulfoxid
EB	Energiebilanz
ECM	energiekorrigierte Milch
et al.	<i>et alii</i>
EU	Europäische Union
ex	expandierter Cumulus

FBN.....	Forschungsinstitut für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere
FSH.....	follikelstimulierendes Hormon
G6PDH.....	Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
GfE.....	Gesellschaft für Ernährungsphysiologie
GnRH.....	Gonadotropin Releasing Hormon
hCG.....	humanes Choriongonadotropin
HEPES.....	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure
HVL.....	Hypophysenvorderlappen
i.m.....	intramuskulär
ICAR.....	Internationales Komitee für Tierproduktion
IGF-1.....	Insulin-like-Growth Factor 1 (Insulinähnlicher Wachstumsfaktor 1)
IVF.....	<i>in-vitro</i> -Fertilisation
IVK.....	<i>in-vitro</i> -Kultivierung
IVM.....	<i>in-vitro</i> -Maturation
K ₃ EDTA.....	Trikaliummethylenediamintetraessigsäure
kg.....	Kilogramm
KG.....	Körpergewicht
l.....	Liter
LH.....	lutenisierendes Hormon
LKV.....	Landeskontrollverband für Leistungs- und Qualitätsprüfung
LSC.....	Liquid Scintillation Analyzer
Lsg.....	Lösung
LUF.....	Landesuntersuchungs- und Forschungsanstalt für Leistungs- und Qualitätsprüfung Mecklenburg-Vorpommern e.V.
Meta I.....	Metaphase I
Meta II.....	Metaphase II
MHz.....	Mega Herz
Mio.....	Millionen
MIV.....	Milchindustrie-Verband e.V.
MJ.....	Megajoule
mm.....	Millimeter
MML.....	Milchmengenleistung
Mrd.....	Milliarden
MW.....	Mittelwert
n.....	Anzahl
N.....	Stickstoff

Verzeichnis der Abkürzungen

NDF.....	neutral detergent fiber (Neutral-Detergenz-Faser)
NEB.....	Netto-Energie-Bilanz
NEFA	not esterified fatty acids (freie nicht veresterte Fettsäuren)
NEL	Netto-Energie für die Laktation
ng.....	Nanogramm
nm.....	Nanometer
p.....	Signifikanzwert
p.p.....	<i>post partum</i>
PBS.....	Phosphate Buffered Saline
PGF _{2α}	Prostaglandin F _{2α}
PHE.....	Penicillamin Hypotaurin Epinephrin
r.....	Korrelationskoeffizient
RFD.....	Rückenfettdicke
RIA.....	Radioimmunoassay
SOF.....	Synthetic Oviductal Fluid
STABW	Standardabweichung
Tab.....	Tabelle
TCM	Tissue Culture Medium
Telo I.....	Telophase I
Telo II.....	Telophase II
TM.....	Trockenmasse
TMR	total mixed ration
TS	Trockensubstanz
TSA.....	Trockensubstanzaufnahme
USA.....	United States of America
VIT	Vereinigte Informationssysteme Tierhaltung w.V.
ZKZ	Zwischenkalbezeit
ZT.....	Zyklustag

1 Einleitung

Seit mehreren Jahren lassen sich Veränderungen im Management der Herden von Milchviehbetrieben beobachten. Früher stand die Einzeltierbehandlung im Vordergrund des tierärztlichen Handelns. Heute werden zunehmend prophylaktische Maßnahmen zur Vermeidung von Erkrankungen in den Betrieben etabliert. Die Transitperiode, der Zeitraum von drei Wochen vor der Abkalbung bis drei Wochen nach der Abkalbung, steht hierbei im Fokus. Diese Phase ist von entscheidender Bedeutung für die Gesundheit, Produktivität und somit für die Rentabilität der Milchkühe (DRACKLEY, 1999).

Des Weiteren wurde das Leistungsmerkmal Milchmenge bei den Milchkühen intensiv züchterisch gefördert. Dabei steht die steigende Milchleistung in negativer Korrelation zur Fruchtbarkeit. Eine fruchtbare Milchviehherde ist die Grundlage für den wirtschaftlichen Erfolg der Milcherzeugung. Verlängerte Zwischenkalbezeiten (ZKZ), zusätzliche Behandlungs- und vermehrte Besamungskosten bedeuten für den Milcherzeuger hohe finanzielle Verluste. Somit stellen Fruchtbarkeitsstörungen beim Hochleistungsmilchrind ein zunehmendes Problem dar. Sie gehören mittlerweile zu der Hauptabgangsursache für die Schlachtung weiblicher Milchrinder (ADR, 2010).

Unmittelbar nach der Abkalbung muss das Tier neben dem Erhaltungsbedarf auch den Energiebedarf für die Milchleistung kompensieren (SCHRÖDER UND STAUFENBIEL, 2006). Das peripartale Energiedefizit und die daraus resultierenden Adaptationsprozesse belasten den Stoffwechsel der Milchkühe. Der Energiebedarf tritt dabei zu einem Zeitpunkt auf, an dem die Futtermittelaufnahme reduziert und somit die Energieversorgung erniedrigt ist. Laut OCYLOK (2007) durchlaufen mehr als 80 % der Kühe in der Früh-laktation eine Phase der negativen Energiebilanz. Höher leistende Kühe haben einen intensiveren Stoffumsatz und sind demnach auch anfälliger gegenüber Stoffwechselstörungen als Tiere mit niedrigerer Milchleistung. Somit stellen Kühe mit hohen Milchleistungen erhöhte Anforderungen an das Haltungs-, Fütterungs- und Gesundheitsmanagement. Auch ist die Körperkondition vor der Abkalbung entscheidend für die nächste Laktation. Kühe mit einer höheren Rückenfettdicke (RFD) sind in der Lage mehr Körperfett zu mobilisieren, um die negative Energiebilanz ausgleichen zu können. In der Leber werden die abgebauten Fette zu Ketonkörpern umgebaut. Diese könnten jedoch zu einer Ketose bzw. zum Fettlebersyndrom führen.

Es wird deutlich, dass eine negative Energiebilanz nicht nur Auswirkungen auf den Stoffwechsel, sondern auch auf die Fruchtbarkeit und auf die Oozytenqualität der Tiere hat. Mit Zunahme der negativen Energiebilanz steigt die ZKZ an (SCHRÖDER, 2000). Dies ist ein sinnvoller physiologischer Mechanismus, um den Organismus zu schützen. Eine verlängerte ZKZ deutet auf eine schlechtere Fruchtbarkeit hin. Betrachtet man endokrine Parameter der Fortpflanzung wird klar, dass eine negative Energiebilanz die Ausschüttung von

Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH) vermindert. Dadurch sinkt die Sekretion des luteinisierenden Hormons (LH), welches für die Auslösung der Ovulation und der Bildung des Corpus luteum (CL) zuständig ist (ZUREK et al, 1995).

Aufgrund des Rückganges an LH kommt es zu einem unzureichenden Follikelwachstum und in der Folge zu einer verminderten Östrogenausschüttung. Dies wiederum führt zu einer reduzierten Brunstsymptomatik und damit zu einer erschwerten Brunsterkennung, welche eine verlängerte ZKZ nach sich ziehen kann.

In der vorliegenden Arbeit sollte bei hochleistenden Milchkühen der Einfluss der Körperkondition, indiziert durch die erhobenen RFD, eine Woche vor der Abkalbung auf metabolische, endokrine und reproduktionsphysiologische Parameter untersucht werden. Des Weiteren sollte geprüft werden wie sich das Zeitintervall zwischen Abkalbung und erster lutealer Aktivität auf die metabolischen, endokrinen und reproduktionsphysiologischen Parameter p.p. auswirkt. Ein weiteres Ziel der Studie ist die Beurteilung der Oozytenqualität von Hochleistungsmilchkühen. Mit diesen Informationen könnte gegebenenfalls das Kuh- und Haltungsmanagement angepasst werden, um bessere Fruchtbarkeitsergebnisse zu erzielen.

2 Literaturübersicht

2.1 Entwicklung der Milch- und Reproduktionsleistung bei Milchkühen

Milch ist ein hochwertiges Grundnahrungsmittel. Die Milchproduktion in Europa wurde durch die Milchquotenregelung (1984-2015) beschränkt, während die weltweite Kuhmilchproduktion um 20 % auf 580 Mio. Tonnen gestiegen ist. Mehr als ein Fünftel dieser Menge (134,3 Mio. Tonnen) wurde in den Ländern der Europäischen Union (EU) gemolken. Damit ist die EU größter Milcherzeuger weltweit. Zweitwichtigster Milchproduzent sind die United States of America (USA) mit einer Menge von 86,2 Mio. Tonnen. Betrachtet man die Länder für sich, ist Deutschland mit jährlich 29,7 Mio. Tonnen Milch nach den USA, Indien, China und Russland der fünftgrößte Produzent von Kuhmilch der Welt (BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT UND VERBRAUCHERSCHUTZ (BMELV), 2011). Über 20 % der Milchmenge der EU wird in Deutschland gemolken. Die deutsche Milchindustrie setzt jährlich rund 26 Milliarden Euro um. Mit über 33.000 Arbeitsplätzen zählt die milchverarbeitende Industrie zu der stärksten Branche innerhalb der deutschen Ernährungsindustrie (Miv, 2015). Abbildung 1 zeigt den Strukturwandel in der Milcherzeugung in Deutschland. Die Milchleistung je Kuh steigt weiter an, während die Milcherzeuger und die Milchviehbestände deutlich zurückgehen. Insgesamt haben vier Millionen Kühe in Deutschland im Jahr 2014 rund 32,4 Millionen Tonnen Milch produziert.

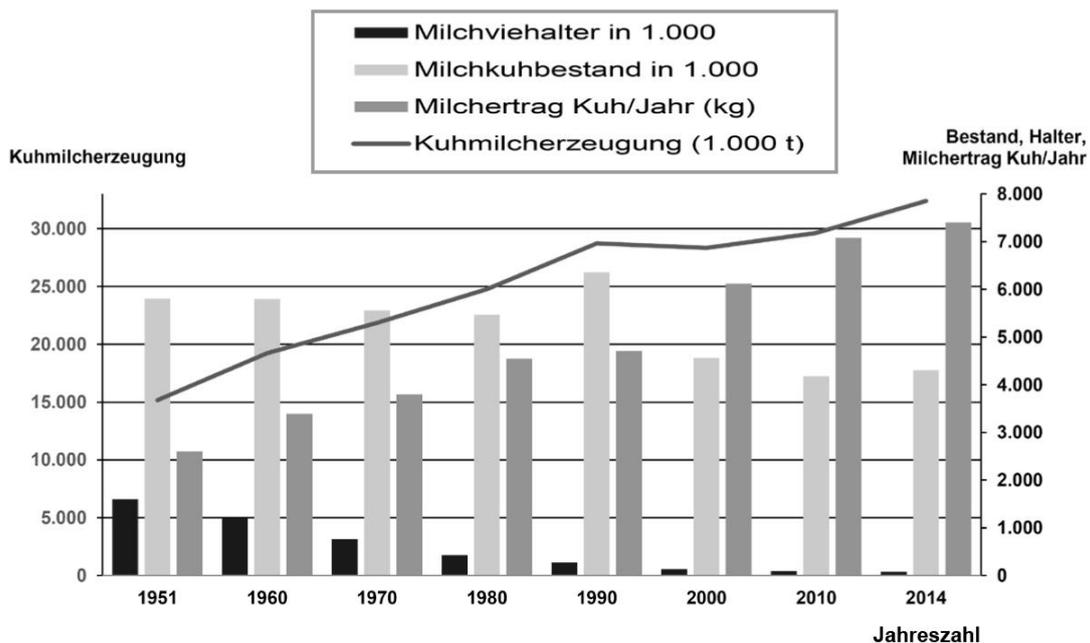


Abb. 1: **Strukturwandel in der Milcherzeugung**
(Miv, 2015)

Die Milchleistung je Kuh und Jahr liegt in Deutschland bei rund 7.400 kg. Innerhalb von Deutschland variiert die Milcherzeugung zwischen den Bundesländern stark. Sachsen, Brandenburg und Mecklenburg-Vorpommern sind mit über 8.239 kg Milch pro Kuh und Jahr die Spitzenreiter. Im Vergleich produziert Bayern 6.017 kg Milch pro Kuh und Jahr (RIESTER ET AL., 2010). Bezogen auf die Rasse Deutsche Holstein (Farbrichtung: Schwarzbunt) stieg in den Landeskontrollverband (LKV) geprüften Betrieben in Mecklenburg-Vorpommern die Milchleistung in den letzten 10 Jahren um 12,5 % von durchschnittlich 8.354 kg Milch pro Kuh und Jahr (2005) auf durchschnittlich 9.394 kg Milch pro Kuh und Jahr (2015) (ADR, 2006; VIT VERDEN, 2015).

Im Bereich der Fruchtbarkeit waren die Zahlen und Tendenzen gegenläufig. Studien dokumentieren den Rückgang im Bereich der reproduktiven Effizienz. BUTLER (1998) präsentierte Daten, die einen Rückgang des Erst-Besamungserfolges von 65 % (1951) auf 40 % (1996) bei Kühen der Rasse Holstein in New York, USA zeigten. LUCY (2001) konnte diese Entwicklung in der Literatur an Hand von Veröffentlichungen im Journal of Dairy Science bestätigen. Ein Rückgang des Erst-Besamungserfolges wurde in Irland (ROCHE ET AL., 2000) festgestellt. Um das Fruchtbarkeitsgeschehen einer Herde beurteilen zu können, ist die ZKZ ein wichtiger Maßstab. Hinsichtlich einer optimalen ZKZ gibt es keinen festen Zielwert. Dieser muss immer in Abhängigkeit von der Milchleistung gesehen werden. Insgesamt kann durch die Verkürzung der ZKZ ein zusätzlicher Ertrag von 2,50 Euro/Tag bzw. von 17,52 Euro/Woche erwirtschaftet werden (LÜHMANN, 2013). Somit ist es sinnvoll, eine Möglichkeit zu finden, die Fruchtbarkeitsergebnisse zu verbessern. Denn Fruchtbarkeitsstörungen gehören zu den Hauptabgangsursachen von Hochleistungsmilchkühen. Im Jahr 2009 wurden 20,7 % aller Abgänge von Kühen in Deutschland durch Sterilität begründet (ADR, 2010). In Deutschland hat sich ZKZ bei den Holstein (Farbrichtung: Schwarzbunt) in den letzten 14 Jahren um 14 Tage verlängert (ADR, 2001; ADR, 2015). Angesichts der Wirtschaftlichkeit der Betriebe hat eine Verlängerung der Zwischentragezeit ebenfalls nachhaltige Folgen. Im Land Mecklenburg-Vorpommern hat sich die Zwischentragezeit der Kühe der Rasse Deutsche Holstein von 119 Tage (1996) auf 128 Tage (2009) verlängert (ZUCHTREPORT MECKLENBURG-VORPOMMERN, 1998; ZUCHTREPORT MECKLENBURG-VORPOMMERN, 2010).

Die Ergebnisse einer im Jahre 2006 von der World Holstein-Friesian Federation initiierten weltweiten Studie über Fruchtbarkeit in der Holstein-Friesian Population zeigten, dass Fruchtbarkeit ein Problem in der Population darstellt und diesem Merkmal auf internationaler und nationaler Ebene eine verstärkte Aufmerksamkeit zu widmen ist (SØRENSEN ET AL., 2007). Milchkühe werden meist aufgrund ihrer hohen Milchleistung zur Weiterzucht selektiert.

Weitere genetische Merkmale wie z. B. die Fruchtbarkeitsrate wurden bei der Auswahl nicht genügend berücksichtigt. Das Merkmal Fruchtbarkeit sollte verstärkt in den Zuchtzielen formuliert werden und als Auswahlkriterium mit berücksichtigt werden.

2.2 Energetische Situation der Milchkuh vor und nach der Abkalbung

Während der Trächtigkeit befindet sich die Milchkuh in einer anabolen Stoffwechsellage. Eine zu hohe Energieversorgung am Laktationsende und in der Trockenstehperiode bewirkt eine Überkonditionierung und damit eine Reduzierung des Futteraufnahmevermögens, was letztendlich zu einer verstärkten Verwendung von Körperfett führt. In der Transitphase (drei Wochen vor bis drei Wochen nach der Abkalbung) unterliegt der Stoffwechsel der Tiere sehr hohen Belastungen. Es kommt zu einem exponentiellen Anstieg des Energiebedarfs (BELL, 1995). Es wird mehr Energie für die Versorgung des Uterus und das Wachstum des Fötus benötigt sowie für die Geburt und die Milchbildung. In dieser kritischen und sensiblen Phase kommt es häufig zu Gesundheitsstörungen (z. B. Ketose) mit deutlichen Leistungseinbußen. In den letzten Wochen der Trächtigkeit begrenzt die Größe des graviden Uterus das Pansenvolumen. Aufgrund dieser physiologischen Situation ergibt sich eine Reduzierung des Futteraufnahmevermögens um 30 – 35 % (INGVARTSEN und ANDERSEN, 2000). Im Gegensatz dazu nimmt der Energiebedarf mit Annäherung an den Partus zu (FRENCH, 2006). Um höchste Futteraufnahmen zu erzielen, sollte ein optimales Trockenstehmanagement praktiziert werden. Des Weiteren sollte die Fütterung an die Milchleistung angepasst werden (KUHLA ET AL., 2016). Als weitere Ursache der peripartalen Reduktion der Futteraufnahme diskutiert BREVES (2007) das Hormon Östrogen. Im Zuge der hormonellen Geburtsvorbereitung erhöht sich die Östrogenkonzentration im Blut signifikant. Dies sieht BREVES (2007) als wesentlichen Grund der Futteraufnahmereduktion um den Geburtszeitpunkt. Die daraus resultierende verminderte Füllung des Gastrointestinaltraktes ist im Hinblick auf einen unkomplizierten Geburtsablauf als sinnvoll zu werten.

Der Energiestoffwechsel einer Milchkuh ist vor der Kalbung auf die Deckung ihres Erhaltungsbedarfes zuzüglich des Bedarfes für das Wachstum des Fötus ausgerichtet. Die Kalbung stellt höchste Anforderungen an die Kuh. Unmittelbar nach der Kalbung muss die Milchkuh neben dem Erhaltungsbedarf auch den Energiebedarf für die Milchleistung kompensieren (SCHRÖDER und STAUFENBIEL, 2006). Die meisten hochleistenden Kühe können die enorme Leistung nicht mit einer adäquaten Futteraufnahme abdecken. Da diese nach der Abkalbung nur langsam ansteigt, reicht die täglich mit dem Futter aufgenommene Energiemenge nicht zur Aufrechterhaltung der metabolischen Funktion und der Milchbildung aus (WRENZYCKI und BOLLWEIN, 2009).

Die Tiere kommen *post partum* in einen Energiemangel und müssen ihre Körperfettreserven verwenden. Der Abbau von Körperfett kann mit Stoffwechselstörungen sowie mit Leistungseinbrüchen und Fruchtbarkeitsstörungen verbunden sein. Die Dauer und das Ausmaß der negativen Energiebilanz (NEB) ist dabei variabel (REIST, 2003).

Gleichzeitig stellt die Abkalbung eine Stresssituation dar, welche zu einer Freisetzung von Catecholaminen führt. Diese wiederum stimulieren die Lipolyse und verstärken den damit verbundenen Körperwasserückgang (HERDT, 2000). Die Tiere sind auf eine kontinuierliche Zuckerneubildung (Gluconeogenese) vor allem für die Milchsynthese angewiesen (STÜRMER, 2009). Reduzierte Futterraufnahme und negative Energiebilanz vermindern die Insulinsekretion. Es besteht eine Korrelation zwischen der Futterraufnahme und der Insulin-Konzentration im Blut (KUHLE ET AL., 2016). Die Insulinempfindlichkeit in den Geweben nimmt ab. Der Glykogenabbau in der Leber sowie der Körperfettabbau werden verstärkt. Die Kühe sind nicht in der Lage, die verstärkt freigesetzten Fettsäuren vollständig zu verstoffwechseln, um sie in Energie umzuwandeln. Der Fettgehalt in der Leber erhöht sich durch die verstärkt anflutenden freien Fettsäuren. Durch das potenziell bereits vor der Abkalbung eintretende Energiedefizit können die NEFA- (non esterified fatty acids) Konzentrationen im Plasma bereits ein bis zwei Wochen *ante partum* (a.p.) ansteigen. Die erhöhten NEFA-Konzentrationen gelten als Hauptauslöser für die verminderte Futterraufnahme (SEPÚLVEDA-VARAS ET AL., 2015).

Die maximale Milchleistung stellt sich in der vierten bis siebten Laktationswoche ein, während das Maximum der Futterraufnahme erst in der achten bis zehnten Laktationswoche erreicht wird (INGVARTSEN und ANDERSEN, 2000). BREVES (2007) und PETERSON ET AL. (2005) beschreiben bei den Tieren zum Ende der ersten vier Laktationswochen wieder eine Trockensubstanzaufnahme (TSA) von 22-24 kg Trockensubstanz (TS)/Tag. Die Beziehung zwischen der Energiebilanz und der Futterraufnahme korreliert stärker (Korrelationskoeffizient $(r) = 0,73$, Signifikanzwert $(p) < 0,01$) als die Beziehung zwischen der Energiebilanz und der Milchleistung ($r = 0,25$, $p < 0,05$) (NEBEL und MCGILLIARD, 1993). Trotz der energiereichen Fütterung kommt es zum postpartalen Energiedefizit, welches durch die Mobilisierung von Depotfett ausgeglichen wird. Dieser Energiemangel in der Früh-laktation hat vielfältige Auswirkungen. Durch eine gestörte Immunfunktion kann es zu Placentaretention, Endometritis oder Mastitis kommen. Ein unzureichender Stoffwechsel kann Fettleber, Ketose oder Pansenacidosen zur Folge haben (ESPOSITO ET AL., 2014). Zum Beispiel kann ein übersteigerter postpartaler Depotfettabbau und das Unvermögen, die freigesetzten Fettsäuren vollständig zu verstoffwechseln zum Fettmobilisationssyndrom mit fettiger Leberdegeneration führen.

In Abbildung 2 sind die genannten Sachverhalte graphisch dargestellt. Der schraffierte Bereich zeigt deutlich das Energiedefizit zwischen der benötigten und der aufgenommenen Energie. Des Weiteren ist der Verlauf der Lebendmasse dargestellt. Ein wichtiger Wendepunkt in den Kurvenverläufen ist um die zwölfte Woche *post partum* (p.p.) zu erkennen.

Zu diesem Zeitpunkt kommen die meisten Tiere wieder in eine positive Energiebilanz und beginnen mit dem Körpermasseaufbau.

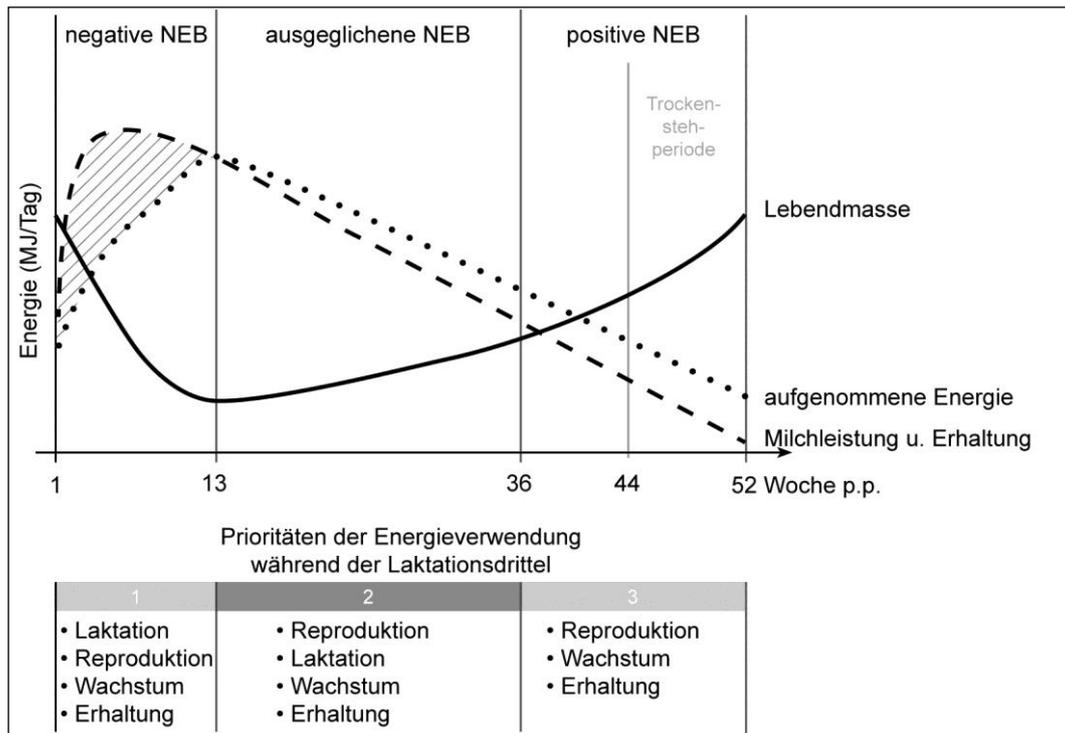


Abb. 2: **Überblick über den Energiehaushalt einer Milchkuh p.p. bis zur nächsten Abkalbung** (STAUFENBIEL, 1997)

Der Verlauf der Energiebilanzkurve von STAUFENBIEL (1997) wird vom Alter, Rasse, Haltungs- und Fütterungsniveau, Leistung sowie der Gesundheit der Kühe bestimmt (STAUFENBIEL, 1997). Ebenfalls bestimmen Parameter wie Körperkondition zum Partus, Anzahl der Laktation, Schwere der Futteraufnahmedepression, Qualität der eingesetzten Futterration und Umwelteinflüsse das Ausmaß der negativen Energiebilanz (BREVES, 2007). Im Zeitraum der negativen Energiebilanz greifen Kühe auf ihre körpereigenen Energiereserven zurück, dies kann sich nach PRYCE ET AL. (2001) negativ auf die Fruchtbarkeit auswirken. Die wichtigste Energiereserve ist das Körperfett (WRENZYCKI und BOLLWEIN, 2009). Körperproteine und Leberglykogene sind aufgrund der geringen Verfügbarkeit als Energiereserve während der Laktation zu vernachlässigen (STAUFENBIEL ET AL., 1992).

2.3 Methoden zur Einschätzung der Energiebilanz

Die Energiebilanz eines Rindes kann auf verschiedene Weisen festgestellt werden. Eine exakte Bestimmung der Energiebilanz erfolgt über die Wärmeproduktion mit Hilfe kalorimetrischer Verfahren. Leichter anwendbar ist die Berechnung der Energiebilanz oder auch die Abschätzung der Energiebilanz durch die Bestimmung des Body Condition Scores (BCS) sowie die Messung der Rückenfettdicke oder die Lebendmassewägung. Jedoch sind für die beiden zuletzt genannten Methoden apparative Hilfsmittel unentbehrlich. Eine weitere Möglichkeit zur Einschätzung der Energiebilanz ist die Bestimmung spezifischer Stoffwechselfparameter (z. B. NEFA, β -Hydroxybutyrat, Glucose). Allerdings sind hierfür meist eine Blutentnahme und deren anschließende Analyse der Parameter im Labor unerlässlich.

2.3.1 Berechnung der Energiebilanz

Unter der Energiebilanz versteht man die Differenz aus der aufgenommenen Energie und der Summe des Energiebedarfes für Erhaltung und Leistung (STAUFENBIEL ET AL., 1989). Um die Energiebilanz zu kalkulieren ist eine möglichst genaue Erfassung von Energieaufnahme und Energieabgabe Voraussetzung (REIST, 2003).

Der Erhaltungsbedarf dient zur Funktionserhaltung lebenswichtiger Organe und zur Sicherstellung der Leistungsbereitschaft. Dazu zählen der Energiebedarf für die Verdauung, der Nährstoffumsatz sowie die Bewegungsleistung zur Aufrechterhaltung der Gesundheit und die Wärmeregulation. Der Leistungsbedarf entspricht jener Energiemenge, die zur Bildung von Milch, Körperwachstum, Körperzunahme und für das Wachstum des Fötus aufgewendet werden muss (WURM, 2010).

Berechnungsformel:

$$\text{Erhaltungsbedarf} = \text{Energie (Megajoule (MJ) Energie/Tag)} = 0,293 * \text{Körpergewicht}^{0,75}$$

Eine 650 Kilogramm (kg) schwere Kuh benötigt dementsprechend etwa 37,7 MJ Energie pro Tag für die Erhaltung der lebenswichtigen Funktionen.

Energiebedarf für die Milchleistung: Der Energiebedarf pro kg Milch ist abhängig von der Milchezusammensetzung, die von Tier zu Tier und innerhalb der Laktation pro Tier variiert. Somit ist es sinnvoll, die Milchmenge auf eine standardisierte Milchezusammensetzung zu berechnen.

Eine normierte Milch enthält 4,0 % Fett, 3,4 % Eiweiß und 4,7 % Laktose. REIST ET AL. (2003) hat eine Formel erstellt, um die individuelle Milchezusammensetzung in eine vergleichbare sogenannte Energie korrigierte Milch (ECM) umzurechnen. Der Energiegehalt der ECM wird aus dem Fett-, Eiweiß- und Laktosegehalt der Milchleistungsdaten abgeleitet.

$$\text{ECM (kg)} = \frac{((0,038 * \text{g Rohfett}) + (0,024 * \text{g Rohprotein}) + (0,017 * \text{g Laktose})) * \text{kg Milch}}{3,14}$$

Je Kilogramm standardisierte Milch sollte ein Tier 3,14 MJ Energie aufnehmen. Für eine Tagesleistung von 40,0 kg ECM wendet eine Kuh demnach 125,6 MJ Energie auf.

Energiebilanz:

Der Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE) (GfE, 2001) hat folgende Formel bezüglich der Energiebilanz erstellt:

$$\text{Energiebilanz (MJ NEL/Tag)} = \text{Energieaufnahme} - (0,293 * \text{KG}^{0,75} + \text{ECM} * 3,14)$$

Wenn eine Kuh pro Tag 20,0 kg TS/Tag mit einem Energiegehalt von 7,14 MJ/kg TS aufnimmt, dann entspricht dies einer täglichen Energieaufnahme von 142,8 MJ NEL. In diesem Fall befindet sich die 650 kg schwere Kuh mit einer Milchleistung von 40,0 kg ECM in einem Energiedefizit von -20,5 MJ NEL.

2.3.2 Bestimmung des Body Condition Scores (BCS)

Die Anwendung des BCS ist eine Methode zur Beurteilung der Energiereserven der Tiere basierend auf der Bewertung der äußeren Erscheinung. Zur Bewertung von Milchkühen finden die Beurteilungskriterien und der Benotungsschlüssel von EDMONSON (1989) die häufigste Anwendung. Hiernach erfolgt die Bewertung des BCS durch Adspektion an acht definierten Körperpartien, die sich an der Lendenwirbelsäule, dem Schwanzansatz und der Beckengegend befinden. Jede Körperregion erhält eine Konditionsnote von 1 (kachektisch, hochgradig abgemagert) bis 5 (adipös, hochgradig verfettet), die jeweils noch in 0,25er Schritten unterteilt wird. Aus diesen Einzelergebnissen wird ein Mittelwert gebildet, der den Konditionszustand des Tieres darstellt. Mit der entsprechenden Erfahrung ist die Beurteilung der Tiere praxisnah, kostengünstig und wenig zeitintensiv (DOMECQ ET AL., 1997). Jedoch lässt die Bestimmung des BCS nur eine grobe Differenzierung zu.

Es werden die Körperfettreserven durch Adspektion und zum Teil durch Palpation äußerlich leicht zugänglicher Körperregionen beurteilt und der Zustand des Tieres nach einem vorgegebenen Schlüssel benotet.

Die körperliche Verfassung einer Milchkuh ist anhand von Körperfettreserven feststellbar. Um die Milchleistung, Gesundheit und Fruchtbarkeit aufrecht zu erhalten, werden Körperfettreserven mobilisiert (KOCILA ET AL., 2009). Für einen optimalen Verlauf des BCS p.p. sollten Kühe zur Abkalbung einen BCS-Wert von 3,5 Punkten aufweisen. Im Idealfall bewegt sich die Kondition im ersten Laktationsdrittel in einem Bereich zwischen 2,75 und 3,0 Punkten. Mit sinkender Leistung können Kühe ab dem zweiten Laktationsdrittel wieder ihre Körperreserven aufbauen. Zum und während des Trockenstellens wird ein BCS-Wert von 3,5 als optimal angesehen.

2.3.3 Messung der Rückenfettdicke (RFD)

Eine weitere Methode zur Beurteilung der Körperkondition basiert auf der Ermittlung der RFD mittels Ultraschall. Der Messpunkt zur Erfassung der RFD wurde nach STAUFENBIEL ET AL. (1992) gewählt und ist in Abbildung 3 dargestellt: Auf einer gedachten Verbindungslinie zwischen dem Sitzbeinhöcker und dem Hüfthöcker, ungefähr eine Handbreit vom Sitzbeinhöcker entfernt, befindet sich der Messpunkt. Die RFD ist ein objektiver Messwert für die Quantität der vorhandenen Körperfettreserven. Das Fettgewebe ist der quantitativ bedeutsamste Energiespeicher zum Ausgleich des postpartalen Energiedefizites (PEDRON ET AL., 1993). Die Dicke des Rückenfettes dient als Indikator für den Energiestatus und liefert wertvolle Informationen über die Stoffwechsellage der Milchkuh (STAUFENBIEL ET AL., 1991). Mit Hilfe dieser ultrasonographischen Messung lässt sich die subkutane Fettauflagerung des Depotfettes einer Milchkuh quantifizieren und die Körperkondition beurteilen (STAUFENBIEL, 1997).



Quelle: Privat

Abb. 3: **Messpunkt der RFD**
a. *Tuber coxae*, b. *Tuber ischiadicum*, c. Auflagepunkt für die Ultraschallsonde

Zwischen der RFD am Messpunkt im Rückenbereich und dem Gesamtkörperfettgehalt besteht bei Milchkühen eine signifikante, positive Korrelation im Bereich von $r = 0,8 - 0,9$. Hierbei entspricht 1 mm gemessene RFD etwa 4,75 kg Körperfett (SCHRÖDER und STAUFENBIEL, 2006). Das bedeutet, dass der Differenzbetrag aus zwei Messungen mit dem Faktor 4,75 multipliziert, die absolute Menge des mobilisierten oder deponierten Körperfettes in Kilogramm angibt (STAUFENBIEL ET AL., 2004). Die Änderung um 1 mm RFD entspricht einer Veränderung des Körperfettgehaltes um ca. 0,75 % bzw. um 200 MJ Nettoenergie. Die Rückenfettdickeveränderung zwischen zwei Messungen spiegelt die laktationsbedingte Veränderung zwischen Katabolismus und Anabolismus wider. Während eines Laktationszyklus finden dynamische Auf- und Abbauvorgänge der Fettreserven statt, wobei die Umbauprozesse von der Energiebilanz abhängen. Die Abnahme der RFD ist ein quantitatives Maß für die Lipolyseintensität und einer Zunahme des Rückenfettes für die Lipogeneserate (STAUFENBIEL, 1997).

Die tägliche Rückenfettabbaurate sollte in den ersten 4 Wochen p.p. 0,14 mm/Tag (oder 1 mm/Woche) nicht überschreiten. Abhängig von der Ausgangskondition zur Abkalbung sollte die Rückenfettdickenabnahme insgesamt 8-16 mm nicht überschreiten. Das entspricht einer Mobilisierung von 38 bis 76 kg Körperfett (STAUFENBIEL ET AL., 1991). Durch die Veränderungen der RFD ist es möglich, Aussagen über die Stärke und Dauer der Konditionsverluste in der Früh- und Spätlaktation zu treffen. In der Mittel- und Spätlaktation ist die RFD-Veränderung nur geringfügig ausgeprägt. In diesen Laktationsabschnitten sind die absoluten RFD-Werte von höherem Informationsgehalt als die RFD-Veränderungen. Bei einer RFD von unter 20 mm zur Abkalbung nehmen die negativen Effekte des Energiedefizites auf Milchleistung und Fruchtbarkeit deutlich zu (STÜRMER, 2009). Um hohe Milchleistungen und gute Fruchtbarkeitsergebnisse zu erzielen, empfehlen STAUFENBIEL ET AL. (2004) eine minimale RFD im Herdenmittel bei etwa 13 mm und den Beginn der Lebendmassezunahme um den 100. Laktationstag.

Die Trockenstehperiode dient der Vorbereitung auf die nächste Laktation. Hier sollte bereits die optimale Kondition erreicht sein. Somit ist während der Trockenstehzeit bis zum Abkalben ein annähernd gleichbleibender Fettansatz anzustreben. Die Fettdepots sind im letzten Laktationsdrittel aufzubauen. Sowohl eine Über- als auch eine Unterkonditionierung zum Zeitpunkt des Trockenstellens haben negative Einflüsse auf die Milchleistung, Gesundheit und Fruchtbarkeit der Milchkuh p.p..

Der optimale Fettansatz zum Kalbezeitpunkt liegt, wie in Abbildung 4 dargestellt, bei einer RFD um 25 mm, das entspricht einem Körperfettgehalt von 25 % (STAUFENBIEL ET AL., 2004).

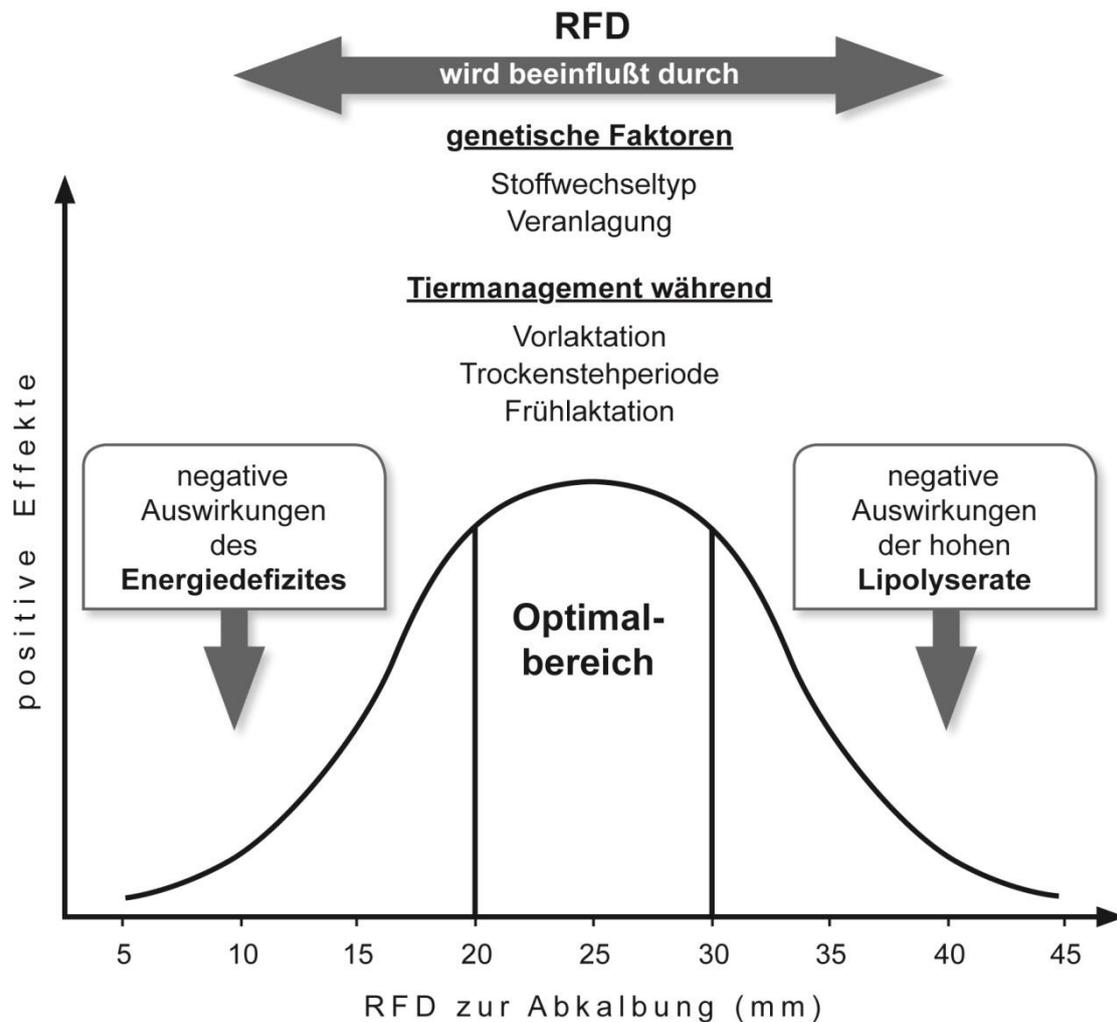


Abb. 4: **RFD-Parabel einer Milchkuh zur Abkalbung**
 modifiziert nach STAUFENBIEL ET AL. (1991)

Bei einer Körperkondition zum Partus unterhalb von 20 mm Rücken Fett nehmen die negativen Auswirkungen des nur unzureichend kompensierten Energiedefizits auf die Milchleistung und Fruchtbarkeit deutlich zu (DOMECQ ET AL., 1997). Überkonditionierte Tiere mit einer RFD von mehr als 30 mm Rücken Fett weisen in der Frühlaktation eine gesteigerte Mobilisierung von Körper Fett auf. Dies erlaubt Rückschlüsse auf spätere gesundheitliche Probleme wie z. B. Ketose oder Fettleber (GILLUND ET AL., 2001). Wichtiger als die absolute Menge mobilisierter Körpermasse ist die Abbaugeschwindigkeit. Je langsamer abgebaut wird, desto geringer sind die Risiken für gesundheitliche Probleme und Fruchtbarkeitsstörungen. Der Zeitpunkt des Konditionstiefpunktes ist vom Leistungsniveau (SCHRÖDER und STAUFENBIEL, 2002), der Kondition zum Partus (PEDRON ET AL., 1993), der Laktationsnummer (SCHRÖDER, 2000) sowie dem Trockensubstanzaufnahmevermögen (BUTLER, 2000) abhängig.

Mit höherem Leistungsniveau, stärkerer Kondition zum Partus, steigender Laktationsnummer sowie höherer Trockensubstanzaufnahme verschiebt sich der konditionelle Tiefpunkt auf einen späteren Zeitpunkt in der Laktation.

2.3.4 Lebendmassewägung

Die Lebendmassewägung gibt einerseits das aktuelle Körpergewicht des Tieres an und andererseits, bei mehreren Messungen in zeitlichen Abständen, die Körpergewichtsentwicklung über die Zeit wieder. Jedoch wird das Lebendgewicht von vielen tierindividuellen Faktoren, wie die letzte Futteraufnahmemenge, der Zeitspanne zwischen der letzten Fütterung und der Lebendmassewägung, das wechselnde Organgewicht und dem Entwicklungsstand des Fötus beeinflusst (STAUFENBIEL ET AL., 2004). Darüber hinaus muss das Körpergewicht des Tieres immer in Relation zur seiner Rahmengröße und in Abhängigkeit vom Alter bzw. der Laktationsnummer betrachtet werden (STAUFENBIEL ET AL., 2004). Der Energiegehalt pro Kilogramm Lebendmasse ist abhängig von der Zusammensetzung des Gewebes und somit variabel.

Die Körpergewichtsveränderungen lassen keine Rückschlüsse auf die prozentualen Veränderungen von Protein, Fett und Wasser im Körper zu (SCHRÖDER und STAUFENBIEL, 2006).

Die Lebendmassemessung führt nach BOISCLAIR ET AL. (1986) zu keiner unabhängigen oder präzisen Aussage zur Mobilisierung oder Speicherung von Energie und ist somit keine optimale Methode für die Einschätzung der Energiebilanz.

2.3.5 Schätzung der Energiebilanz durch freie nicht veresterte Fettsäuren (NEFA)

Die NEFA sind Stoffwechselmetaboliten im Blut. Die Konzentration der im Blut transportierten NEFA korreliert negativ mit der Energiebilanz ($r = -0,685$) (REIST ET AL., 2002). Mit Zunahme der Lipolyserate steigt die NEFA-Konzentration im Blut an (SALLMANN und FUHRMANN, 2005). STÜRMER (2009) beschreibt die NEFA-Konzentration als Indikator für die Fettmobilisation. Bei der Mobilisierung von Körperfettreserven gelangen NEFA verstärkt in die Blutbahn. Auch SALLMANN UND FUHRMANN (2005) beschreiben einen Anstieg der NEFA-Konzentration im Blutplasma in Energiemangelsituationen. Die zirkulierenden freien Fettsäuren werden zum großen Teil von der Leber aufgenommen und entweder zu Triacylglyceriden verestert oder zu Acetyl-CoA abgebaut. Ist die Anzahl der freien Fettsäuren zu groß, dass sie von der Leber nicht mehr abgebaut werden können, steigt in der Konsequenz der Leberfettgehalt an. Weiterhin dienen die NEFA der Energiegewinnung in

den verschiedenen Körpergeweben und werden im Euter für die Milchfettsynthese genutzt. Eine vermehrte Konzentration der freien Fettsäuren im Blut fördert die Milchfettsynthese (SCHOLZ, 1990). Dies wiederum beeinflusst sowohl die Energiebilanz als auch die Stoffwechsellage der Kuh negativ.

Mit der Supplementierung von konjugierten Linolsäuren (CLA) a.p. bis p.p. kann die Ausprägung dieses Phänomens gelindert werden. Die CLA sind in der Lage die Milchfettsynthese zu hemmen, das heißt sie können den Milchfettgehalt senken. Dies wirkt sich günstig auf die Energiebilanz aus, da die Kuh durch einen verminderten Fettgehalt in der Milch weniger Energie benötigt. Die Phase, in der sich die Kuh in der negativen Energiebilanz befindet, wird durch die CLA Supplementierung abgeschwächt (WRENZYCKI UND BOLLWEIN, 2009).

Schon vor der Kalbung gibt die Konzentration der NEFA im Blut Hinweise, ob Kühe infolge eingeschränkter Futterraufnahme a.p. bereits eine NEB aufweisen (REIST ET AL., 2002) und verstärkt Körperfett mobilisieren. Eine negative Korrelation zwischen der NEFA-Konzentration und der Trockensubstanzaufnahme beschreibt GRUMMER (1993). Die Mobilisierung von Körperfett und damit der Anstieg der Serumkonzentration freier Fettsäuren kann bereits vor der Abkalbung einsetzen, erreicht ihren Gipfel während der ersten Woche p.p. und fällt dann bis zur dritten Woche p.p. auf ein geringes Basalniveau zurück (STÜRMER, 2009). Der Referenzbereich des Basalbereiches liegt unterhalb von 620 $\mu\text{mol/l}$ (FÜRLI, 2005). Die Höhe des Anstieges der NEFA-Konzentration ist abhängig von dem Geburtsstress, dem Energiedefizit und der Körperkondition (DRACKLEY, 2002; STAUFENBIEL ET AL., 1991).

2.4 Energiebilanz und Ovarfunktion

2.4.1 Endokrine Regulation der Ovarfunktion beim Rind

Die endokrine Steuerung des Sexualzyklus erfolgt über die hierarchisch aufgebaute Hypothalamus-Hypophysen-Ovar-Achse. Alle drei Ebenen kommunizieren und beeinflussen sich gegenseitig (MEINECKE, 2005). Abbildung 5 stellt die Zusammenhänge der neuro-endokrinen Regulation der Ovarfunktion dar. Das GnRH übt während der verschiedenen Reproduktionsstadien unterschiedliche Wirkungen auf das LH und das Follikelstimulierende Hormon (FSH) aus.

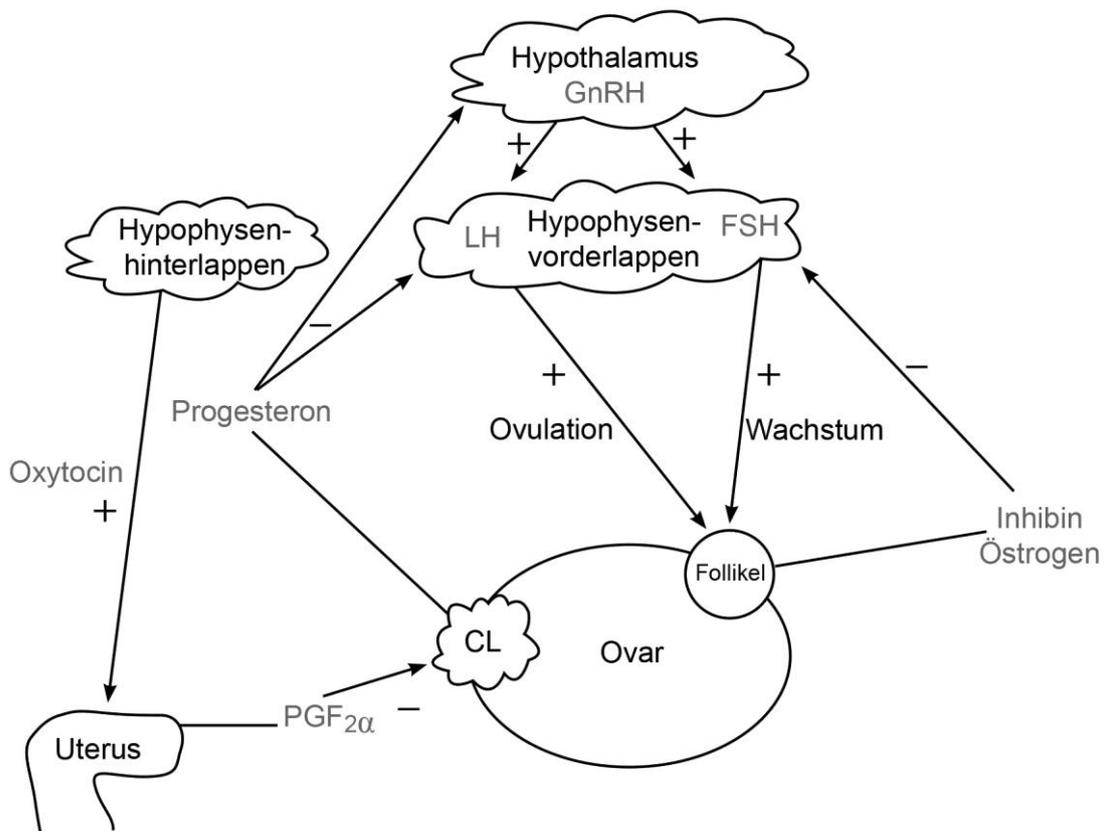


Abb. 5: **Grundzüge der neuro-endokrinen Regulation der Ovarfunktion**
modifiziert nach KANITZ (2003B)

Obwohl die ersten Stadien des Follikelwachstums unabhängig von einer Stimulation durch Gonadotropine verlaufen, kann die Follikelentwicklung durch FSH-Gabe beschleunigt werden. FSH induziert die Mitose der Granulosazellen, fördert das Wachstum des Follikels und die Östrogensynthese. Östrogen wiederum steigert den FSH-Effekt und fördert die Bildung von FSH- und LH-Rezeptoren (DÖCKE, 1994).

Mit dem Erreichen eines bestimmten Funktionszustandes wachsen die Follikel in sogenannten Follikelreifungswellen heran, diese sind in Abbildung 6 dargestellt.

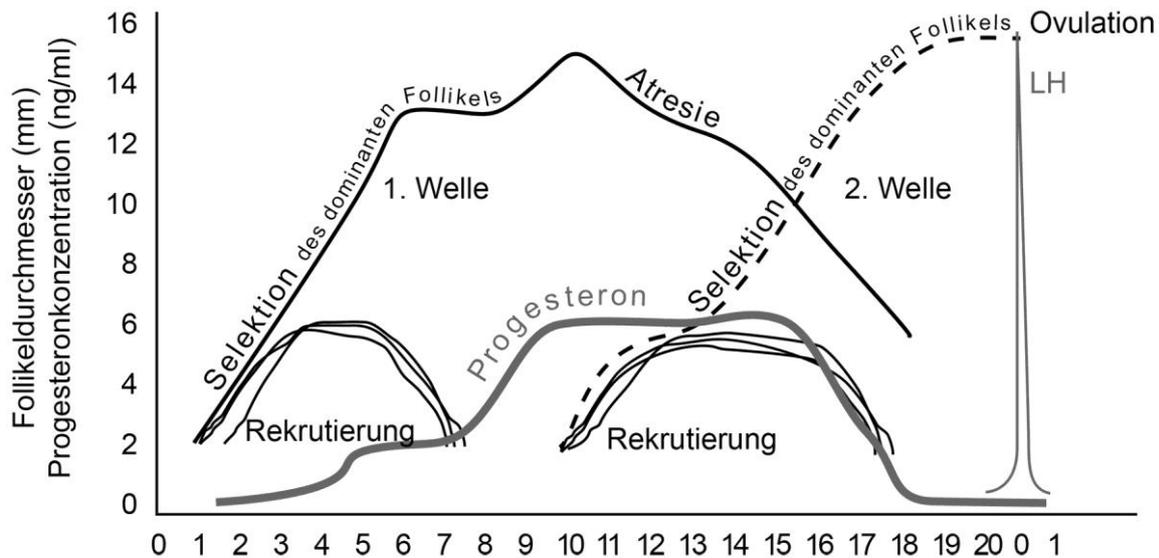


Abb. 6: **Schematische Darstellung von Prozessen in Follikelreifungswellen**
modifiziert nach KANITZ (2003A)

Die Follikelreifungswellen bestehen aus mehreren Phasen: Rekrutierung der Follikel, Wachstum, Selektion eines dominanten Follikels und Atesie.

Etwa um den 15. Tag p.p. befinden sich erneut ovulationsreife Follikel auf den Ovarien. Der dominante Follikel der letzten Follikelreifungswelle wird nach der Auflösung des CL durch Prostaglandin 2α ($\text{PGF}_{2\alpha}$) zum ovulatorischen Follikel. Der Zyklus beginnt mit dem Postöstrus. Die Hormonkonzentrationen von LH, FSH und Östrogen sinken ab. FSH wird auf niedrigem Niveau ausgeschüttet und LH wird in dieser Phase nicht nennenswert sezerniert. Am ersten Tag des Postöstrus kommt es zur Ovulation des reifen Follikels (Graafscher Follikel). In der zurückbleibenden Follikelhöhle beginnt noch unter Einfluss von LH die Luteinisierung und damit die Anbildung des CL (DÖCKE, 1994). Am 5. Zyklustag beginnt der Interöstrus. Der Progesteron produzierende CL dominiert diese Phase. Gegen Ende des Interöstrus kommt es durch eine Oxytocin-Stimulation aus dem Hypophysenhinterlappen zu einer vermehrten Produktion von $\text{PGF}_{2\alpha}$ im Endometrium. $\text{PGF}_{2\alpha}$ bewirkt am Ovar die Luteolyse (BRITT, 1995A). Am 19. Zyklustag beginnt der Proöstrus. Mit Einsetzen der Luteolyse beginnt im dominanten Follikel die vermehrte Bildung von Östrogenen. Dadurch treten Brunstsymptome, wie vermehrte Ödematisierung der Vulva, Abgang von Brunstschleim, Bespringen anderer Kühe sowie die Duldung des Aufsprungs, auf. Die Brunstsymptome sind aufgrund hoher Östrogen-Konzentrationen maximal ausgebildet. Da der Progesteronspiegel weiter absinkt, kann wieder vermehrt GnRH im Hypothalamus freigesetzt werden. FSH und LH erreichen ihre höchsten Werte. FSH sorgt für ein weiteres Wachstum des Follikels und LH führt dann etwa 12 Stunden nach Brunstende zur Ovulation des Graafschen Follikels (MEINECKE, 2005). Ein neuer Zyklus beginnt.

2.4.2 Bedeutung des Hormons Progesteron im Sexualzyklus des Rindes

Progesteron ist ein wichtiges natürliches Gestagen und gehört in die Gruppe der Steroidhormone. Die Biosynthese geht von Pregnenolon aus, dies ist ein Vorläufer aller Steroidhormone (LOEFFLER ET AL., 2007). Beim Rind wird es überwiegend im CL gebildet. Aufgrund fettlöslicher Eigenschaften bindet Progesteron an Lipoproteine im Blut und in der Milch (BURKE ET AL., 1998). Die Konzentration des Progesterons kann in beiden Medien zur Bestimmung der CL-Aktivität bzw. des Zyklusverlaufes gemessen werden (SCHOPPER ET AL., 1993). Die Progesteronkonzentration steht in unmittelbarer Beziehung zur Funktion des CL. Nach der Ovulation des Brunstfollikels bildet sich durch Luteinisierung der Granulosa- und Thekazellen des ovulierten Follikels ein CL heran.

Der Verlauf der Progesteronkonzentration während des Zyklus ist an Abbildung 6 dargestellt. Zum Zeitpunkt der Brunst ist die periphere Progesteronkonzentration niedrig. Sobald das CL seine Funktion aufgenommen hat, steigt der Progesteronspiegel innerhalb weniger Tage (ca. drei) um ein vielfaches an. Dieser Anstieg hält etwa bis zur Mitte des Zyklus an und erreicht ein Plateau, das bis zur Luteolyse ca. am 18. Zyklustag vom CL aufrechterhalten wird (BRITT, 1995A). Die Progesteronkonzentration in der Milch wird wesentlich vom Fettgehalt der Milch beeinflusst. Eine Progesteronkonzentration von < 5 ng/ml im Nachgemelk beschreibt WINDIG ET AL. (2008) als Östrus.

Etwa 14 Tage nach der Ovulation wird das luteolytisch wirkende $\text{PGF}_{2\alpha}$ vom Endometrium gebildet und pulsatil sezerniert. Eine erhöhte Pulsfrequenz und eine vergrößerte Pulsamplitude von $\text{PGF}_{2\alpha}$ induziert die Luteolyse, die die Progesteronsynthese beendet, zur Apoptose der Luteinzellen führt und so den Übergang aus der Luteal- in die Follikelphase des Zyklus bewirkt (DÖCKE, 1994).

Ab ca. dem dritten Tag des Brunstbeginns steigt die Progesteronkonzentration, erfolgt eine Konzeption, bleiben die Progesteronwerte hoch. Werte zwischen 8-12 ng/ml im Nachgemelk zeigen in diesem Zeitraum eine Trächtigkeit an (DÖCKE, 1994). Progesteron ist beim Rind nach der Konzeption das wichtigste Hormon zur Aufrechterhaltung der Trächtigkeit. Der Prozess der Luteolyse wird in der frühen Trächtigkeit durch den bovinen Embryo verhindert. Nach der Befruchtung produziert der Embryo sekretorische Proteine, die die Prostaglandinausschüttung des Uterus reduzieren, so dass das CL aktiv bleibt.

Eines der sekretorischen Proteine ist das Interferon *tau*. Dieses Protein muß ab dem 16 Tag nach der Befruchtung ausreichend vom Embryo sezerniert werden, um die Luteolyse zu verhindern. Es verändert die Immunantwort des Uterus und dient als Signal für eine Trächtigkeit (BRITT, 1995A).

2.4.3 Einfluss einer negativer Energiebilanz auf die Ovarfunktion

Kühe, bei denen das Maximum der negativen Energiebilanz möglichst kurz nach der Kalbung auftritt, erreichen eine höhere periphere Progesteronkonzentration. BRITT (1995A) geht davon aus, dass unter dem Einfluss der metabolischen Hormone während einer negativen Energiebilanz weniger funktionsfähige Follikel gebildet werden. Aus diesen Follikeln entwickeln sich nach der Ovulation weniger funktionstüchtige CL, die niedrigere Progesteronkonzentrationen aufweisen.

Bei laktierenden Kühen wird die Progesteronsekretion des zweiten und dritten Zyklus nach der Kalbung durch das energetische Defizit innerhalb der ersten neun Tage p.p. reduziert. Die damit verbundene Reduktion der totalen und maximalen Progesteronausschüttung erklärt sich durch eine gehemmte luteale Entwicklung und eine verminderte sekretorische Aktivität der Lutealzellen bei Energiemangel. Während der ersten lutealen Phase p.p. ist das CL kaum beeinflussbar. Dies kann auf den verzögerten Einfluss der negativen Energiebilanz zurückgeführt werden (REIST ET AL., 2003; STAPLES ET AL., 1990).

Follikel, die sich während der Trockenstehphase entwickeln, weisen ein besseres Entwicklungspotential auf als Follikel, die sich in der Phase der negativen Energiebilanz entwickeln. Somit beginnen Follikel aus der ersten und zweiten Ovulation p.p. ihre Initialentwicklung während der Trächtigkeit oder der Trockenstehphase, wenn die Tiere sich in einer wünschenswerten metabolischen Situation befinden. Bei den Follikeln der dritten, vierten oder fünften Ovulation findet das Wachstum in der frühen p.p. Periode statt, wo sich die Tiere noch in negativer Energiebilanz befinden. Der aus diesen Follikeln resultierende CL wird durch die ungünstige metabolische Situation nach der Kalbung in seiner Funktion negativ beeinflusst (BRITT, 1995B). Weiter zeigte die Studie von BRITT (1995B), dass die Progesteronkonzentration p.p. von der Entwicklung des BCS abhängt. Tiere mit einem stärkeren BCS-Verlust in den ersten fünf Wochen p.p. (-0,58 Punkte zu +0,06 Punkten) wiesen ab dem dritten postpartalen Zyklus sinkende Progesteronkonzentrationen auf, im Gegensatz zu Tieren mit annähernd gleich bleibenden BCS in den ersten fünf Wochen p.p.. Bei diesen Tieren stieg die Progesteronkonzentration im weiteren Laktationsverlauf an.

Zwischen der Regulation des Energiestoffwechsels und dem neuroendokrinen System bestehen Rückkopplungsmechanismen. DISKIN ET AL. (2003) geht davon aus, dass Glucose Vermittler von ernährungsbedingten Effekten auf die Reproduktion ist. Niedrige Glucosekonzentrationen beeinträchtigen die Synthese der gonadotropen Hormone. Durch die Suppression der GnRH-Sekretion werden Follikelwachstum und Ovulation beeinträchtigt (WALTERS ET AL., 2002). Die negative Energiebilanz p.p. hat meist einen niedrigeren Progesteronspiegel in den ersten Zyklen nach der Abkalbung zur Folge. Da Progesteron in den ersten Tagen einer Trächtigkeit essentiell ist, führen verminderte Progesteronkonzentrationen zu geringeren Trächtigkeitsraten. Es muss immer ausreichend

Progesteron im Blut vorhanden sein, um das Wachstum und das Überleben des Embryos zu sichern.

Während des Zeitraums negativer Energiebilanz wird die Energie für die Erhaltung und die Milchleistung benötigt. In dieser Phase wird nicht nur die pulsatile LH-Sekretion gehemmt, sondern auch die Sensitivität der Ovarien für die LH-Stimulation reduziert (NEBEL und MC GILLIARD, 1993). Eine verminderte Fruchtbarkeit wird somit in Verbindung mit dem Ausmaß der negativen Energiebilanz nach der Abkalbung gebracht.

Eine Theorie über die negative Korrelation zwischen den physiologischen Abläufen der Energiebilanz und den reproduktiven Vorgängen wurde von BUTLER (2003) entwickelt. Verminderte Glucose-, Insulin- und IGF-1-Konzentrationen im Blut führen zu einer Abnahme der pulsatilen LH-Sekretion aus dem Hypophysen-Vorderlappen. Weiterhin vermindert sich die LH-Sensitivität am Ovar. Diese Veränderungen hemmen die Entwicklung dominanter Follikel sowie die Ovulation und vergrößern das Intervall zwischen Kalbung und der ersten Ovulation befruchtungsfähiger Oozyten p.p. (BREVES, 2007). Somit hat die Energiebilanz in der Früh-laktation einen signifikanten Einfluss auf die Fruchtbarkeit. Sie beeinflusst vor allem den Zeitraum von der Abkalbung bis zur ersten Ovulation (DE VRIES und VEERKAMP, 2000).

An der Regulation der Futteraufnahme, die die Energiebilanz entscheidend beeinflusst, ist der im Hypothalamus gebildete Neurotransmitter, das Neuropeptid Y, beteiligt. In der Phase der negativen Energiebilanz, die zur Lipolyse führt, liegt eine niedrige Leptinkonzentration vor. Dies wiederum führt zur Bildung von Neuropeptid Y (SOMINSKY ET AL., 2017). Neuropeptid Y stimuliert die hypothalamische GnRH-Sekretion, wodurch die pulsatile LH-Sekretion gesteuert und das Brunstverhalten reguliert wird (BREVES, 2007). Die Hemmung der Freisetzung von FSH und LH vermindert das Follikelwachstum bis hin zum Wachstumsstillstand. Dadurch wird verhindert, dass das Muttertier bei energetischer Mangelsituation Energie für nicht überlebenswichtige Funktionen wie die Fortpflanzung verbraucht (MEINECKE, 2005).

Abbildung 7 stellt die Folgen eines Energiedefizits dar.

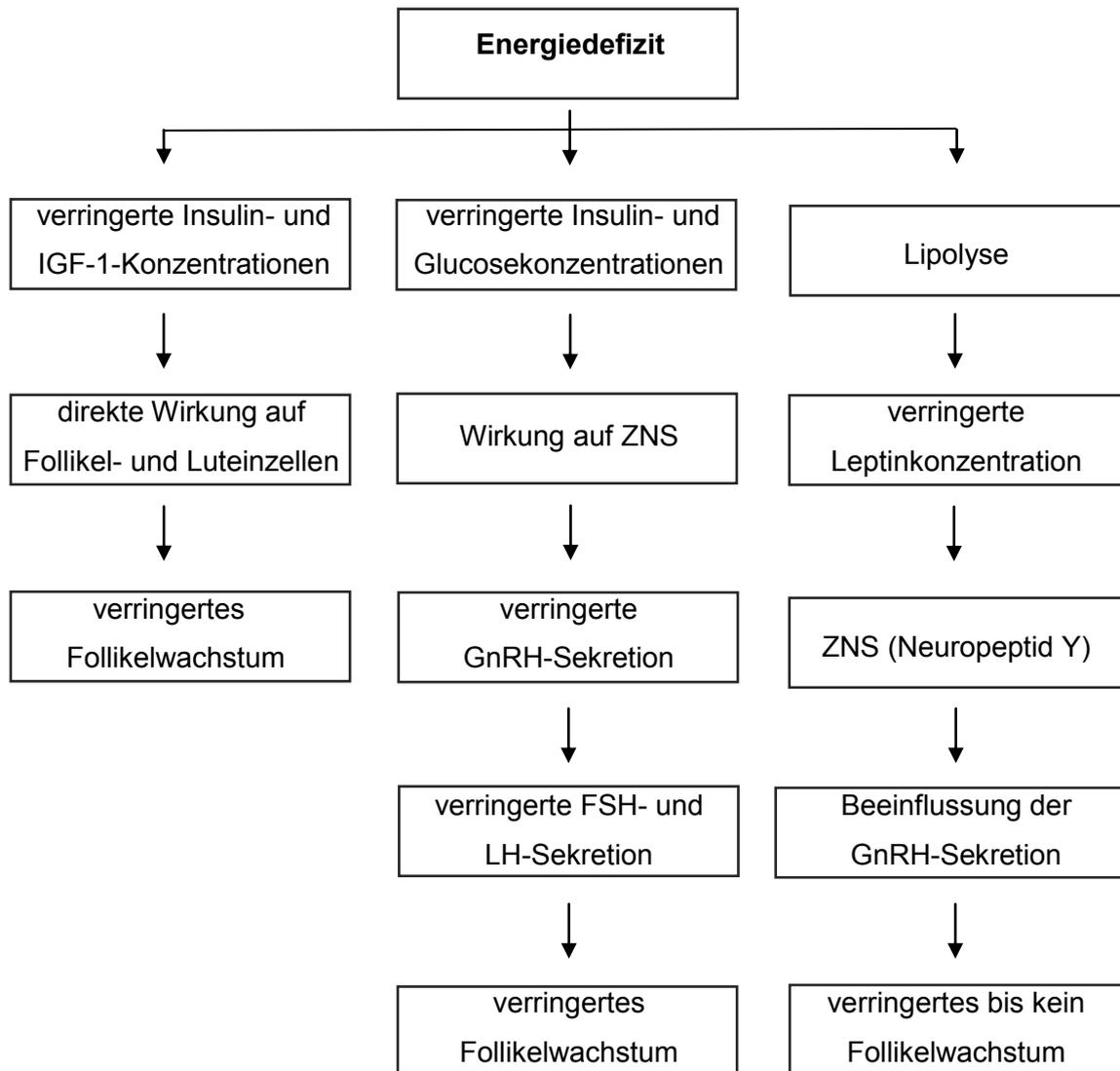


Abb. 7: **Schematische Darstellung von Beziehungen zwischen Energiemangel und Ovarfunktionen**

BEAM und BUTLER verglichen 1999 in einer Studie die täglich ermittelte Energiebilanz mit der per Ultraschall kontrollierten Follikelentwicklung nach der Abkalbung. Sie stellten fest, dass die erste Follikelwelle bei den untersuchten Kühen bereits während der zweiten Woche nach dem Kalben auftritt und diese unabhängig von der Energiebilanz ist. Bei 50 % der Tiere kam es zur Ovulation durch den ersten dominanten Follikel. Kühe, bei denen die erste Follikelwelle ohne dominanten Follikel und ohne Ovulation verläuft, haben zwischen dem achten bis 14. Tag nach der Abkalbung niedrigere mittlere Plasmakonzentrationen an Östrogen, ein längeres Intervall bis zum Tiefpunkt der Energiebilanz, niedrigere Konzentrationen an IGF-1 und eine höhere ECM-Leistung im Vergleich zu Kühen, bei denen es in der ersten Follikelwelle zur Ovulation kommt (BEAM und BUTLER, 1999). Eine mögliche Ursache für einen niedrigen Östrogenspiegel sehen WILTBANK ET AL. (2006) in der hohen Milchleistung. Eine hohe Milchleistung geht mit einer gesteigerten Stoffwechselrate einher.

Dies führt zu einer stärkeren Blutdurchflussrate in der Leber. Die gesteigerte Leberdurchblutung zieht eine beschleunigte Metabolisierung von Hormonen wie Östrogen und Progesteron nach sich. Dadurch verringern sich die Hormonkonzentrationen im Blut schneller und dementsprechend sinkt die Östrogen-Rückmeldung an die Hypophyse ebenfalls ab.

WRENZYCKI und BOLLWEIN (2008) machen eine ungenügende Energieversorgung nach der Abkalbung für das verzögerte Einsetzen des ersten Zyklus nach der Kalbung verantwortlich. Zudem haben sie eine verminderte Oozytenqualität bei ungenügender Energieversorgung festgestellt. Des Weiteren hat das Energiedefizit in dieser Phase Einfluss auf die folliculäre Größenentwicklung und den Ovulationszeitpunkt (BUTLER, 2000; WOLFENSON ET AL., 1995). Um das Energiedefizit besser ausgleichen zu können, können konjugierte Fettsäuren eingesetzt werden. Sie beeinflussen den Fettstoffwechsel positiv. Bei Milchkühen führen konjugierte Fettsäuren zu einem reduzierten Fettgehalt in der Milch. Dadurch können die negative Energiebilanz abgeschwächt und die negativen Auswirkungen auf das Follikelwachstum abgemildert werden (HÖFFMANN ET AL., 2008). In einer Studie von SEPÚLVEDA-VARAS ET AL. (2015) wurde festgestellt, dass ein Großteil der Tiere p.p. an einer klinischen und einer subklinischen Erkrankung (Ketose, Milchfieber, Endometritis) leiden. Dies führt wiederum zu einer reduzierten TSA und zu einer größeren negativen Energiebilanz. In Konsequenz dazu reduziert sich die Fruchtbarkeits- und die Milchleistung. MCART ET AL. (2012) sprechen dem Zeitpunkt des Auftretens von subklinischen Ketosen einen großen Einfluss auf den Erstbesamungserfolg zu.

BRITT (1995B) beschreibt Zusammenhänge zwischen der negativen Energiebilanz und den Follikelreifungswellen. Tiere werden zwischen dem 40.-50. Tage p.p. und dann erst wieder nach den 100. Tag p.p. in Brunst gesehen. Somit fällt die Anbildungs- und Reifungsphase der Follikel zwischen dem 60.-80. Tage p.p. genau in die Zeitspanne der maximalen negativen Energiebilanz. Follikel, die in dieser Phase angebildet werden, sind weniger funktionstüchtig und das aus ihnen resultierende CL produziert weniger Progesteron.

2.4.4 Einflußfaktoren auf das Intervall von der Kalbung bis zum Wiedereinsetzen der Ovarfunktion

In der Früh-laktation kommt es neben den puerperalen Rückbildungs- und Reinigungsprozessen zum Wiedereinsetzen der Ovarfunktion. Die erste Ovulation nach der Kalbung reflektiert eine Wiederaufnahme der Ovarfunktion. Die regelmäßigen und zyklischen Veränderungen der ovariellen Funktionskörper (Follikel und CL) stellen eine physiologische Voraussetzung für eine erneute Konzeption dar.

Bezüglich des Intervalls von der Abkalbung bis zur ersten Ovulation p.p. finden sich in der Literatur unterschiedliche Angaben: BOSTEDT und MAURER (1990) beschrieben, dass bereits ab dem 4.-5. Tag p.p. Follikel mit einem Durchmesser von 5-10 mm auf den Ovarien der Milchkühe zu finden sind, die eine beginnende Ovaraktivität anzeigen. Um den 15. Tag p.p. traten bereits ovulationsreife Follikel mit einem Durchmesser von 15-20 mm auf (GRUNERT und BERCHOLT, 1999).

Die Ovarfunktion wird von zahlreichen endo- und exogenen Faktoren beeinflusst. Ebenfalls haben der Geburtsverlauf und die Nachgeburtsphase sowie Haltung, Fütterung und Milchleistung einen Einfluss auf die Ovarfunktion (VILLA-GODOY ET AL., 1988); STAUFENBIEL ET AL., 1991).

Der Körperkonditionsverlauf hat ebenfalls einen Einfluss auf das Intervall vom Partus bis zur ersten Ovulation p.p.. Tiere mit stärker abfallender Körperkondition wiesen ein längeres Intervall von der Kalbung bis zur 1. Ovulation auf (BEAM und BUTLER, 1999). Eine stark ausgeprägte negative Energiebilanz in der Früh lactation geht mit einer erhöhten Mobilisierungsrate von Körperfettgewebe einher. Dies führt zu Stoffwechselstörungen und damit zu verschlechterten Fruchtbarkeitsergebnissen (ESPOSITO ET AL., 2014). Auch WRENZYCKI und BOLLWEIN (2009) führen die negative Energiebilanz nach der Kalbung als Grund für die Verschlechterung der Reproduktionsleistung sowie dem verzögerten Wiedereinsetzen des Zyklus und der verminderten Oozytenqualität an. Der Tag des tiefsten Punktes der Energiebilanz wird als ein metabolischer Modulator der Ovaraktivität p.p. gesehen (BEAM und BUTLER, 1999).

CANFIELD und BUTLER (1990) belegten in einer Studie, dass die erste Ovulation frühestens sieben Tage nach Durchschreiten des energetischen Tiefpunktes auftrat. BUTLER und SMITH (1989) sowie STAPLES ET AL. (1990) zeigten in ihren Studien, dass Kühe etwa 10 Tage nachdem sie den tiefsten Punkt der negativen Energiebilanz überschritten haben, das erste Mal p.p. in Brunst kamen.

In Untersuchungen von STAPLES ET AL. (1990) wiesen Kühe, die erst nach dem 40. Tag in Brunst kamen, eine größere negative Energiebilanz auf. Diese Tiere verloren in den ersten zwei Wochen p.p. mehr Körpersubstanz im Vergleich zu Kühen, die früher in Brunst kamen. Mit 17,7 kg TS/Tag (zu 18,8 kg TS/Tag) nahmen diese Tiere weniger Futter auf und hatten mit 35,2 kg Milch/Tag (zu 36,6 kg Milch /Tag) eine geringere Milchleistung als Kühe, die einen Brunstbeginn vor dem 40. Tag p.p. aufwiesen.

Durch den Einsatz von diätetischen Fetten kann die Reproduktionsleistung der Hochleistungskühe über eine Beeinflussung der Ovar- und Uterusfunktion gesteigert werden. Im Mittelpunkt steht hier eine erhöhte Verfügbarkeit von Vorstufen für die Synthese von Steroiden und Prostaglandinen (WRENZYCKI und BOLLWEIN, 2008).

Die Verfütterung von konjugierten Linolsäuren (CLA) führt zu einer Senkung des Milchfettgehaltes. So können CLA in der Früh-laktation dem hohen Energiedefizit entgegen wirken (KOCH ET AL 2003). WRENZYCKI und BOLLWEIN (2008) versprachen sich dadurch verbesserte reproduktive Leistungen. Die Tiere, bei denen CLA dem Futter beigefügt wurden, gaben mehr Milch als die Tiere der Gruppe mit isoenergetischer Fütterung. Die reproduktiven Leistungen blieben unbeeinflusst.

In den Untersuchungen von REIST ET AL. (2003), SPICER ET AL. (1990) und VILLA-GODOY ET AL. (1988) konnte kein Einfluss der Energiebilanz auf das Intervall von der Kalbung bis zur ersten Ovulation festgestellt werden.

2.5 Energiebilanz und Oozytenqualität

Den Auswirkungen einer negativen Energiebilanz auf die Oozytenqualität wurde in einer Studie von WRENZYCKI und BOLLWEIN (2008) nachgegangen. Sie stellten fest, dass der Energiegehalt des Futters die Ovar- und Uterusfunktion beeinflusst. Sowohl die Morphologie der Oozyten als auch deren Entwicklungskompetenz werden durch den Energiestatus des Tieres verändert. Des Weiteren führt eine ungenügende Energieversorgung zu einer verminderten Oozytenqualität.

Es besteht eine Verbindung zwischen dem BCS und der Oozytenqualität. Gut konditionierte Kühe mit einem BCS von 3,3 – 4,0 wiesen im Vergleich zu Kühen mit einem BCS von 1,5 - 2,5 eine höhere Anzahl an Oozyten in guter Qualität auf (Teilungsrate von 75,7 % zu 61,9 % und eine Blastozystenrate von 9,9 % zu 3,0 %) (SNIJDERS ET AL., 2000). DOMECCQ ET AL. (1995) und SNIJDERS ET AL. (2000) beschrieben einen Zusammenhang zwischen einer niedrigen Körperkondition und der Follikelanzahl sowie Oozytenqualität.

Tiere mit einem BCS von 1 wiesen $0,48 \pm 0,03$ kleine Follikel mit einem Durchmesser von 1 - 4 mm auf. Mittelgroße Follikel (5 - 9 mm) traten vereinzelt $0,36 \pm 0,06$ auf und große Follikel (> 9 mm) traten mit $0,16 \pm 0,08$ selten auf. Im Vergleich dazu wiesen Tiere mit einem BCS von 3 generell mehr Follikel auf ($0,58 \pm 0,02$ kleine Follikel, $0,54 \pm 0,06$ mittelgroße Follikel und $0,40 \pm 0,11$ große Follikel) (SNIJDERS ET AL., 2000).

In der Rinderernährung spielen Fettsäuren als Energiequelle während der Oozytenreifung eine wichtige Rolle. Dabei stehen eine erhöhte Verfügbarkeit von Vorstufen für die Synthese von Steroiden und Prostaglandinen und eine Verbesserung der energetischen Situation im Mittelpunkt. In einer Studie berichteten HÖFFMANN ET AL. (2008) von Kühen, denen diätische Fette in Form von CLA gefüttert wurden. Die hohe CLA-Supplementierung (100 g/Tag und Tier) steigerte die Anzahl der Follikel (hohe Supplementierung: $5,6 \pm 2,1$ Follikel zu $4,1 \pm 0,8$ Follikeln ohne Supplementierung). Darüber hinaus teilten sich signifikant mehr Oozyten von den Tieren mit hoher CLA Zufütterung (hohe Supplementierung $51,7 \pm 9,9$ zu $35,7 \pm 8,1$ ohne Supplementierung).

Die Blastozystenentwicklungsrate am achten Tag war zudem höher bei den hoch CLA supplementierten Tieren (hoch: $19,1 \pm 6,5$ zu $8,7 \pm 6,4$). HÖFFMANN ET AL. (2008) fassten zusammen, dass eine hohe CLA-Supplementation nach der Kalbung das Entwicklungspotential der jeweils gewonnenen Oozyten verbessern kann.

KENDRICK ET AL. (1999) stellten fest, dass mit hoch energetischem Futter ernährte Kühe eine bessere Oozytenqualitäten aufwiesen. Diese Oozytenqualität gaben sie in Punkten an. In dieser Studie wurde zwei Gruppen von Kühen Futter mit unterschiedlichem Energiegehalt vorgelegt. Die Tiere der einen Gruppe bekamen hoch energetisches Futter mit $7,45$ MJ/kg TS, während der Energiegehalt des Futters bei den Tieren der anderen Gruppe bei $6,36$ MJ/kg TS lag. Die mittlere Oozytenqualität verringerte sich vom 30. bis zum 100. Tag p.p. bei den Tieren, die mit dem höher energetischen Futter versorgt wurde nur geringgradig von $2,04$ auf $2,00$ Punkte. Bei den Tieren der anderen Gruppe verschlechterte sich die mittlere Oozytenqualität über den Versuchszeitraum von $2,10$ auf $1,74$ Punkte. Ungeachtet von der Fütterung war die Oozytenqualität um den 30. Tag p.p. bei den Tieren am höchsten.

Kühe mit der genetischen Veranlagung zu überdurchschnittlich hoher Milchleistung wiesen eine niedrigere Oozytenqualität auf als Tiere mit einer durchschnittlichen Milchleistungsveranlagung. Tiere mit höherem Zuchtwert für Milchleistung und einer tatsächlich höheren 120-Tage Milchleistung ($4096 \pm 108,94$ kg Milch bzw. $3731 \pm 130,32$ kg Milch) produzierten eine geringere Anzahl an Oozyten ($6,7 \pm 0,75$ bzw. $7,6 \pm 0,91$). Zudem war die Blastozystenrate bei Kühen mit höherer Milchleistung geringer ($6,8\%$ bzw. $11,4\%$) (SNIJDERS ET AL., 2000).

Ein weiterer Einfluss auf die Entwicklungskompetenz von Oozyten sehen BILBY ET AL. (2006) in den jahreszeitlich bedingten unterschiedlichen Fütterungen. Änderungen in der Fettsäurezusammensetzung der Nahrung führen zu Veränderungen der Fettsäurezusammensetzung der Oozyten. Dadurch kann die Entwicklungskompetenz der Oozyten verändert werden.

BOLLWEIN (2009) beschrieb einen Zusammenhang zwischen der Progesteronkonzentration, der Länge der Östrogenphase im Zyklus und der Oozytenqualität. Eine hohe Progesteronkonzentration führt zu niedrigen LH-Frequenzen, die wiederum die Anzahl der Follikelwellen bis zur nächsten Ovulation förderte. Dadurch verkürzte sich die Östrogenphase, die eine gute Oozytenqualität zur Folge hatte. Bei niedriger Progesteronkonzentration wurde LH frequenter sezerniert. Es entstanden weniger Follikelwellen und die Östrogenphase dauerte länger. Die Oozytenqualität verschlechterte sich.

2.6 Ziele der Studie

Diese Studie ist ein Teilprojekt von REMEDY (Reproduction and Metabolic Problems in Dairy Cows). In diesem Projekt sollten die Zusammenhänge zwischen metabolischen Parametern und essentiellen Funktionen im Reproduktionstrakt der Hochleistungskuh systematisch erfasst werden. Um diese ambitionierte Aufgabe erfolgreich zu bewältigen, wurde ein interdisziplinäres Konsortium von Experten aus den Gebieten Tierzucht, Tierernährung, Physiologie, Reproduktionsbiologie, funktionale Genomforschung und Bioinformatik zusammengestellt. Die Grundlagenforschung landwirtschaftlicher Nutztiere stand hierbei im Fokus der Untersuchungen.

Der Anstieg der Milchleistung nach der Abkalbung fällt in die Zeitspanne der negativen Energiebilanz des Tieres und kann mit Fruchtbarkeitsproblemen verbunden sein. Bisher ist nicht bekannt, welche reproduktiven biologischen Bereiche betroffen sind. Es stellt sich die Frage, welche Pathomechanismen dahinter stehen.

Auch ist nicht klar, warum ein Teil der Tiere offenbar keine Fruchtbarkeitsprobleme hatte. Sowohl eine Über- als auch eine Unterkonditionierung zur Abkalbung haben negative Einflüsse auf die Milchleistung, Gesundheit und Fruchtbarkeit der Milchkuh p.p.. Die vorliegende Studie sollte diesen Sachverhalt näher verifizieren. Ein starker und vor allem schneller Körpersubstanzabbau in den ersten Laktationswochen erhöht das Risiko von Stoffwechselerkrankungen bei hochleistenden Kühen.

Im Rahmen dieser Arbeit sollten folgende Fragestellungen verifiziert werden:

- Einfluss der unterschiedlichen Körperkonditionierung der Kühe, verifiziert durch die RFD zum Zeitpunkt 1 Woche vor der Abkalbung, auf metabolische, endokrine und reproduktive Parameter p.p..
- Zeigen Tiere, die ein frühes Wiedereinsetzen der lutealen Aktivität aufweisen, andere Strategien, die negative Energiebilanz zu überwinden als Tiere, die ein späteres Wiedereinsetzen der lutealen Aktivität aufweisen?
- Einfluss der hohen Milchleistung und der negativen Energiebilanz auf die Oozytenqualität.

3 Material und Methoden

3.1 Material, Medienzusammensetzung und Geräte

3.1.1 Reagenzien / angewandte Arzneimittel

Substanz	Bezugsquelle	Firmensitz
17-β Östradiol	Sigma	Deisenhofen
Alu-Spray	Selectavet	Weyarn-Holzolling
Antikörper 11-OH-Progesteron-Konjugat (Kaninchen) (Titer 1: 30.000)	Leibniz-Institut	Dummersdorf
Mineral-Öl	Carl Roth	Karlsruhe
Basal Medium Eagle (BME)	PAA	Pasching, Österreich
Braunol, 7,5 % Povidon-Iod-Lösung	B. Braun	Melsungen
Bovines Serumalbumin (BSA)	Sigma-Aldrich	Steinheim
Brilliant Cresyl Blau-Lösung (BCB) 26 µM	Sigma-Aldrich	Steinheim
CaCl ₂ (Calciumchlorid) (≥ 98 %) x 2 H ₂ O	Carl Roth	Karlsruhe
Dextran	Carl Roth	Karlsruhe
Dimethylsulfoxid (DMSO)	Sigma	Deisenhofen
Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (PBS)	BioWhittaker	Lonza, Schweiz
Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)	Sigma-Aldrich	Steinheim
Epinephrin	Sigma-Aldrich	Steinheim
Ethanol ≥ 99,8 %	Carl Roth	Karlsruhe
Follikelstimulierendes Hormon (FSH)	Ovagen	Auckland, Neuseeland
Gelantine	Sigma-Aldrich	Steinheim
Gentamycinsulfat	Sigma	Deisenhofen
Glycerol 87%	Erva	Heidelberg
Gonavet (Gonadorelin)	Veyx Pharma	Schwarzenborn
hCG	Intervet	Unterschleißheim

Substanz	Bezugsquelle	Firmensitz
Heparin (≥ 180 IU/mg)	Carl Roth	Karlsruhe
2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure (HEPES) Pufferan ($\geq 99,5$ %)	Sigma-Aldrich	Steinheim
Hoechst® 33258 - Farbstoff	Sigma-Aldrich	Steinheim
Hypotaurin	Sigma-Aldrich	Steinheim
Isocain ad. us. vet.	Selectavet	Weyarn-Holzolling
Kaliumchlorid (KCl) (≥ 99 %)	Carl Roth	Karlsruhe
Natriumchlorid (NaCl)-Lösung (physiologisch)	B. Braun	Melsung
Aktivkohle	Carl Roth	Karlsruhe
Magnesiumchlorid (MgCl_2) ($\geq 98,5$ %)	Carl Roth	Karlsruhe
MilkoScan	Foss	Rellingen
MitoTracker Orange CMTMRos (M-7510)	Molecular Probes Invitrogen	Karlsruhe
Modified Eagle Medium (MEM)	PAA	Pasching, Österreich
Natriumazid (NaN_3)	Carl Roth	Karlsruhe
Natriumhydrogenphosphat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{H}_2\text{O}$) (≥ 98 %)	Carl Roth	Karlsruhe
Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3) (≥ 99 %)	Carl Roth	Karlsruhe
Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$)	Merck	Darmstadt
Natrium-Lactat	Sigma-Aldrich	Steinheim
Natrium-Metabisulfit	Carl Roth	Karlsruhe
Natrium-Pyruvat (100 mM)	Sigma	Deisenhofen
Paraformaldehyd (3 % m/v)	Sigma-Aldrich	Steinheim
Phosphate Buffered Saline (PBS)	Sigma-Aldrich	Steinheim
Penicillamine	Sigma-Aldrich	Steinheim
Penicillin (60 mg/l)	Sigma-Aldrich	Steinheim
PGF Veyx forte	Veyx Pharma	Schwarzenborn
Phenolrot	Sigma-Aldrich	Steinheim

Substanz	Bezugsquelle	Firmensitz
Polyvinylalkohol (PVA) (3 % ig v/v)	Sigma-Aldrich	Steinheim
Rotiszintecoplus	Carl Roth	Karlsruhe
Synthetic Ovuductal Fluid (SOF)	Minitüb	Tiefenbach
TCM-Stocklösung	Minitüb	Tiefenbach
Testkit-Nr. # 434 – 91795 (NEFA-Bestimmung)	Wako Chemicals	Neuss
Tracer [1,2,6,7- ³ H] Progesteron	GE Healthcare	Amersham, England
Trypsin-EDTA Lösung (59471C)	Sigma-Aldrich	Steinheim

3.1.2 Verbrauchsmaterialien

Produkt	Name/Größe	Bezugsquelle	Firmensitz
Blutröhrchen	K3EDTA-Röhrchen	Greiner Bio-One International	Frickenhausen
Kanülen	Sterican 26G, 20G	Carl Roth	Karlsruhe
Pipettenspitzen	1000 µl	Sarstedt	Nümbrecht
Reaktionsgefäße	1,5 ml	Carl Roth	Karlsruhe
Skalpellklingen	Aesculap BB 501	B. Braun	Melsung
Spritzen	Omnifix 2 ml	B. Braun	Melsung
Sterifilter	99500	Techno Plastic Products	Schweiz
Vakuum Retainer System	Vacurette	Greiner Bio-One	Frickenhausen
Zellkulturplatten	4- und 48-Well	Greiner Bio-One	Frickenhausen
Zellschaber	25 cm steril	Greiner Bio-One	Frickenhausen
Zentrifugenröhrchen	Rotilabo 15 ml	Carl Roth	Karlsruhe

3.1.3 Geräte

Gerätebezeichnung/Name	Bezugsquelle	Firmensitz
Biopsienadel	Wissenschaftlicher Service "Handwerk" des FBN	Dummerstorf
Brennofen EA 1108	Carlo Erba Instruments	Rodano, Italien
Brutschrank 5060 EK-CO ₂	Heraeus	Hanau
Fluoreszenzmikroskop Jenalumar	Carl Zeiss	Jena
Fresswiegetröge	Weihenstephan	Freising
Futtermischwagen R.M.H.	Lachish Industries	Israel
Liquid Scintillation Analyzer TriCarb 2900 TR	Perkin Elmer	Bosten, USA
Massenspektroskop Delta S	Finnigan MAT	San Jose, USA
mobiles Ultraschallgerät Model 180 Plus mit rektalen 5 MHz- Linearschallkopf	SonoSite	Erlangen
pH-Meter, digital	Knick Elektronische Messgeräte	Berlin
Photomultiplier, P100	NIKON	Düsseldorf
Pipetten Research plus	Eppendorf	Hamburg
Purelab Prima 3-10/04	Elga Waterlab	Celle
Spektralphotometer, Pentra 400	Axon Lab	Reichenbach
stationäre Waage für die Tiere im Stall	De Lava	Glinde
Stereomikroskop, SMZ800	NIKON	Düsseldorf
Tandem-Melkstand	DeLaval	Glinde
Vortex Minischüttler VF2	Janke&Kunkel	Staufen
Waage, Basic Plus BP 2215	Sartorius	Göttingen
Waage, Mikro M3P	Sartorius	Göttingen
Wärmeblock MB+ 250	Kleinfeld Labortechnik	Gehrden
Zählkammer Neubauer	Hecht-Assistent	Sondheim
Zentrifuge, Multifuge 3S-R	KendroLabory Products	Langenselbold

3.1.4 Medienzusammensetzung

Spüllösung

PBS unter Zusatz von Penicillin (60 mg/l)

Medien für die *In-vitro*-Maturierung, *In-vitro*-Fertilisation und *In-vitro*-Kultivierung

FSH-Stammlösung:	FSH	3,3 mg
	Natriumchlorid (NaCl)-Lsg.	1 ml
hCG-Stammlösung:	hCG	3,3 mg
	NaCl-Lsg.	1 ml
Östradiol-Stammlösung:	17 β -Östradiol	2 mg
	Ethanol	1 ml
Metabisulfit-Lösung:	Natrium-Metabisulfit	0,20 g
	Natrium-Lactat	0,66 g
	NaCl-Lsg.	200 ml
	→ Einstellen mit NaOH auf pH 4,0	
Hypotaurin-Stammlösung:	Hypotaurin	0,01 g
	NaCl-Lsg.	100 ml
Penicillamin-Stammlösung:	Penicillamin	0,03 g
	NaCl-Lsg.	100 ml
Epinephrin-Stammlösung:	Epinephrin	1,85 mg
	Metabisulfit-Lösung	40 ml
PHE-Stammlösung: (Penicillamin-Hypotaurin- Epinephrin)	Epinephrin-Stammlösung	16 ml
	Penicillamin-Stammlösung	20 ml
	Hypotaurin-Stammlösung	20 ml
	NaCl-Lsg.	32 ml
Gentamycin-Stammlösung:	Gentamycinsulfat	50 mg
	NaCl-Lsg.	5 ml

Heparin-Stammlösung:	Heparin	40 mg
	NaCl-Lsg.	5 ml

Östrisches Kuhserum:	Blut von 5 Tieren (vereinigt)	
	Gerinnung mind. 1 h	
	Zentrifugation (20 min, 500 x g, RT)	
	Überstand zentrifugieren (20 min, 500 x g, RT)	
	Serum einfrieren	

Reifungsmedium TCM 199

TCM 199-Arbeitsansatz:	FSH-Stammlösung	10 µl
	hCG-Stammlösung	10 µl
	Östradiol-Stammlösung	5 µl
	Östrisches Kuhserum (inaktiviert: 30 min bei 56°C)	0,5 µl
	TCM 199-Stocklösung	9,5 ml

Kapazitationsmedium (Sperm-TALP)

Sperm-TALP-Stammlösung:	NaCl	0,58 g	
	KCl	0,02 g	
	NaHCO ₃	0,21 g	
	NaH ₂ PO ₄ x H ₂ O	0,01 g	
	CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0,29 g	
	MgCl ₂	0,01 g	
	Phenolrot	0,01 g	
	Na-Lactat (60%)	310 µl = 0,40 g	
	HEPES	0,24 g	
	Aqua dest	100 ml	
	→ Einstellen mit NaOH auf pH 7,4		
	Sperm-TALP Komplett:	Sperm-TALP-Stammlösung	10 ml
		Na-Pyruvat	1,1 mg
BSA		60 mg	
Sperm-TALP + Heparin:	Sperm-TALP Komplett	2 ml	
	Heparin-Stammlösung	4,2 µl	

Befruchtungsmedium (Fert-TALP)

Fert-TALP-Stammlösung:	NaCl	0,67 g
	KCl	0,02 g
	NaHCO ₃	0,21 g
	NaH ₂ PO ₄ x H ₂ O	0,01 g
	CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0,03 g
	MgCl ₂	0,01 g
	Phenolrot	0,01 g
	Na-Lactat (60%)	143 µl = 0,19 g
	Gentamycin-Stammlösung	100µl
	Aqua dest.	100ml
	→ Einstellen mit NaOH auf pH 7,4	

Fert-TALP I:	Fert-TALP I-Stammlösung	10 ml
	Na-Pyruvat	0,3 mg
	BSA	60 mg

Fert- TALP + Heparin:	Fert-TALP I	0,833 ml
	Heparin-Stammlösung	10 µl

Fert- TALP II:	Fert-TALP I	2,76 ml
	Fert-TALP + Heparin	300 µl
	PHE-Stammlösung	255 µl

Kultivierungsmedium Synthetic Oviductal Fluid (SOF)

SOF:	SOF	9 ml
	Na-Pyruvat	3,3 mg
	Basal Medium Eagle	200 µl
	Modified Eagle Medium	100 µl
	Östrisches Kuhserum (inaktiviert: 30 min bei 56°C)	1 ml
	→ mit BSA bestäuben	

Medien für die zellphysiologischen Untersuchungen

Brillant-Cresyl-Blau-Lösung:	BCB	1,0 mg
	PBS	10 ml
	BSA	2,5 g

Lagerung der Lösung über den Versuchszeitraum bei 4°C unter Licht- und Luftausschluss.

Hoechst 33258:	Glycerol	750 µl
	PBS	250 µl
	Hoechst 33258	2,5 g

Lagerung der Lösung über den Versuchszeitraum bei 4°C und Lichtausschluss

Stammlösung Mito Tracker Orange CMTMRos:

	Mito Tracker Orange CMTMRos	50 µl
	DMSO	117 µl

Portionen von je 10 µl Stammlösung wurden in 1,5 ml Reaktionsgefäße bei -20°C tiefgekühlt über den Versuchszeitraum gelagert.

Mitro Tracker Orange CMTMRos Färbelösung:

	Stammlösung Mito Tracker Orange CMTMRos	2 µl
	PBS + 0,3% BSA	4 ml

Medien für die Progesteronkonzentrationsbestimmung

Inkubationspuffer	NaH ₂ PO ₄ x 2 H ₂ O	10,76 g
(pH 6,8-7,2)	Na ₂ HPO ₄ x 12 H ₂ O	43,00 g
	NaCl	18,00 g
	NaN ₃	2,00 g
	Gelatine	2,00 g

Ad 2 Liter deionisiertes Wasser aus Purelab Prima-Anlage

Material und Methoden

Puffer für die Aktivkohle	NaH ₂ PO ₄ x 2 H ₂ O	5,38 g
	Na ₂ HPO ₄ x 12 H ₂ O	21,50 g
	NaCl	9,00 g
	NaN ₃	1,00 g
	Ad 1 Liter deionisiertes Wasser	
Aktivkohle-Lösung	Aktivkohle	2,5 g
	Dextran	0,250 g
	Ad 1 Liter Puffer für die Aktivkohle	

3.1.5 Futtermittelzusammensetzung

Bezeichnung	Bezugsquelle	Firmensitz	Zusammensetzung	
Rinderstolz-9522	Salvana Tiernahrung	Klein-Offenseth Sparrieshoop	92,00 %	Rohasche
			20,00 %	Calcium
			5,00 %	Phosphor
			8,00 %	Natrium
			6,00 %	Magnesium
Rinderstolz-9235	Salvana Tiernahrung	Klein-Offenseth Sparrieshoop	75,00 %	Rohasche
			4,50 %	Calcium
			6,00 %	Phosphor
			10,00 %	Natrium
			12,00 %	Magnesium und Vitamine
Anionen-Mix 1141	Salvana Tiernahrung	Klein-Offenseth Sparrieshoop	14,00 %	Calcium
			12,50 %	Schwefel
			12,00 %	Chlorid
			10,00 %	Magnesium
			2,00 %	Phosphor und Vitamine

Bezeichnung	Bezugsquelle	Firmensitz	Zusammensetzung
Milchleistungsfutter 2000	Vollkraft	Güstrow	33% Soja 20% Mais 17% Weizenkleber 13% Weizen 8% Rapsextraktions- schrot 5% zuckerarme Melasseschnitzel 2% Natriumhydrogen- carbonat 1,3% Calciumcarbonat 0,2% Natriumchlorid 8,0 MJ/Kg TM NEL 204 g/kg TM Protein
Universal Krafftutter 18/3	Vollkraft	Güstrow	20-40% Getreide (Triticale, Roggen, Weizen, Gerste) <2 % Rapsextraktions- schrot Niedrige Konzentrationen an: Malzkeime Weizenkleberfutter Weizenkleie Haferschälkleie Melasseschnitzel Melasse Glycerin Mineralstoffe Vitamine 6,7 MJ /kg TM NEL 160 g /kg TM Protein

3.2 Tiermaterial und Haltungsbedingungen

3.2.1 Tierauswahl

Das Ziel der Tierauswahl war tragende, hochleistende Milchkühe für diese Studie aufzunehmen. Dazu wurden die Milchleistungsdaten der infrage kommenden Tiere der ersten und der aktuellen zweiten Laktation ausgewertet. Es wurden tragende Tiere erworben, deren Leistungsparameter eine Milchmengenleistung von über 10.000 kg Milch innerhalb von 305 Tagen in der aktuellen zweiten Laktation erwarten ließen.

Für die Untersuchungen (LALLF M-V TSD 7721.3-1.1-005/09) wurden 30 Kühe der Rasse Deutsche Holstein ausgewählt. Sechs Tiere (Nr. 11-13, 26, 28 und 29) stammten von dem Gut Jürgenstorf aus Mecklenburg Vorpommern. 15 Tiere (Nr. 1, 7, 8, 9, 16-25 und 30) stammten aus der ADAP (Ahrenshagen Daskow Altenwillershagen Pantlitz) Rinderzucht GmbH aus Ahrenshagen-Daskow in Mecklenburg-Vorpommern. Fünf Tiere (Nr. 2-5 und 27) stammten aus dem Gut Dummerstorf in Mecklenburg-Vorpommern. Vier Tiere (Nr. 6, 10, 14 und 15) stammten aus dem Lehr- und Versuchszentrum Futterkamp in Schleswig-Holstein.

3.2.2 Haltung

Die Haltung der Kühe wurde in drei Abschnitte entsprechend der Laktationsphase (Trockensteher, Vorbereitung zur Abkalbung und Frischmelker) unterteilt.

Vom Zukauf der Tiere in der Spätlaktation der zweiten Laktation bis berechnete 12 Tage a.p. wurden die Tiere in einem Laufstall mit Spaltenböden und Tiefliegebuchten gehalten. Der Liegebereich war in einzelnen Liegebuchten, die mit Strohhacksel eingestreut waren, unterteilt. Um den Kuhkomfort zu optimieren, stand ein Kuh-Liegeplatzverhältnis von 1:2 zur Verfügung. Frisches Wasser wurde über zwei frei zugängliche, selbstnachlaufende Tränkebecken angeboten. Zusätzlich konnten die Tiere eine elektrische Bürste zur Steigerung des Wohlbefindens nutzen. Vihsalzlecksteine standen den Kühen ebenfalls zur freien Verfügung. Das Tier-Fressplatz-Verhältnis lag bei 1:1,5. Die Fütterung bestand aus einer totalen Mischration (TMR, total mixed ration), die in Fresswiegetrögen *ad libitum* angeboten wurde.

Acht Wochen vor dem errechneten Abkalbetermin wurden die Tiere in einer separaten Gruppe im selben Laufstall gehalten, diese Tiere wurden dann nicht mehr gemolken (Trockensteher). Auch den Tieren dieser Gruppe wurde der oben genannte Kuhkomfort angeboten.

Im Zeitraum vom berechneten 12. Tag a.p. bis einen Tag nach der Kalbung, wurden die Tiere in Einzeltiefstreuboxen mit Stroheinstreu im Abkalbestall einzeln gehalten. Die TMR wurde manuell *ad libitum* auf dem Futtertisch vorgelegt und die Futtermenge wurde ebenfalls

manuell erfasst. Am Tag 1 p.p. kamen die Kühe zurück in den Laufstall zu den laktierenden Tieren.

Über den gesamten weiteren Untersuchungszeitraum wurden die Tiere bei gleichem Fütterungs- und Haltungsregime gehalten, untersucht und beprobt.

Der Milchentzug erfolgte zweimal täglich jeweils morgens zwischen 5:30 - 6:30 Uhr und abends zwischen 16:00 - 17:00 Uhr in einem Tandem-Melkstand. Die individuelle Milchmenge eines jeden Tieres wurde bei jedem Melkvorgang elektronisch erfasst und dokumentiert.

3.2.3 Fütterung

Im Laufstall standen den Tieren Einzelfressplätze mit Fresswiegetrögen zur Verfügung. Jeder Trog war mit einer elektronischen Tiererkennung und einem programmierbaren Zugangstor ausgestattet. Die Kühe erhielten vor der Studie einen Transponder, durch den der Zugang zu den Fresswiegetrögen elektronisch gesteuert wurde. Somit konnte die Menge der täglichen Futterraufnahme tierindividuell erfasst werden.

Da im Abkalbestall keine Fresswiegetröge zur Verfügung standen, wurde hier die tägliche Futtration manuell ausgewogen.

Um die tägliche Futterraufnahme zu ermitteln, wurde die Rückwaage der nicht gefressenen Futtration von der am Vortag eingewogenen Rationsmenge subtrahiert.

Die Fütterung erfolgte entsprechend der Bedarfsempfehlungen der GfE über eine TMR *ad libitum*. Die Rationen wurden jeweils um 6.00 Uhr und um 16.00 Uhr frisch mit einem Futtermischwagen gemischt und den Tieren vorgelegt.

Die Rationsgestaltung entsprach dem jeweiligen Leistungsabschnitt der Kühe. Es gab drei phasenspezifische Fütterungsabschnitte. Vom Trockenstellen von der achten Woche a.p. bis vier Wochen a.p. wurde den Kühen eine Trockensteherration angeboten. Ab der dritten Woche a.p. bis zur Kalbung wurde den Tieren eine Vorbereitungsration vorgelegt. Nach der Kalbung wurden die Kühe mit der Frischmelkerration gefüttert.

Die Zusammensetzung der entsprechenden Rationen ist in Tabelle 1 aufgeführt. Die Hauptkomponenten waren Mais- und Grassilage. Zur Erhöhung des Rohfaseranteils wurden Heu und Stroh hinzugegeben. Die Ration der Vorbereitungsration wurde mit ca. 150 ml Propylenglycol je Kuh und Tag ergänzt. Der Frischmelkerration wurde mit ca. 250 ml Propylenglycol je Kuh und Tag hinzugefügt. Eine bedarfsgerechte Mineralienmischung wurde jeder Ration beigemischt: Rinderstolz 9235 für die trockenstehenden Tiere und Rinderstolz 9522 für die frischmelkenden Tiere. Den Tieren der Vorbereitungsration wurde Anionen-Mix 1141 zur Ration hinzugefügt.

Die Ration für die frisch laktierenden Kühe wurde für eine Milchleistung von 42 kg Milch/Tag bei einer TSA von 22 kg kalkuliert.

	Rationen		
	Trockensteher (8.-4. Wo a.p.)	Vorbereitung (3.Wo a.p. bis zur Abkalbung)	Frischmelker (p.p.)
Inhaltstoffe g/kg TM			
Grassilage	765	290	171
Maissilage	-	341	287
Heu	101	-	45
Stroh	126	102	18
Milchleistungsfutter 2000	-	-	336
Universal Krafffutter 18/3	-	179	-
Rapsextraktionsschrot	-	56	52
melassierte Trockenschnitzel	-	-	72
Mineralmischung	8	20	9
Propylenglycol	-	12	10
Chemische Analyse			
Protein g/kg TM	127	133	164
Fett g/kg TM	36	34	29
NEL MJ/kg TM	5,8	6,4	7,1
ADF (Säure-Detergenz-Faser)	254	194	166
NDF (Neutral-Detergenz-Faser)	448	357	299

Tab. 1: **Futterkomponenten** publiziert in WEBER ET AL. (2013A)

3.3.2 Körpergewicht

Die Bestimmung des Körpergewichts der Tiere erfolgte zwei Mal pro Woche. Dazu wurden die Tiere jeweils nach dem Melken und vor der morgendlichen Fütterung einzeln auf einer stationären Waage gewogen und das Körpergewicht dokumentiert.

3.3.3 Rückenfettdicke (RFD)

Zur Einschätzung der Körperkondition der Tiere wurde im Zeitraum von der achten Woche a.p. bis zur neunten Woche p.p. die RFD gemessen. Dies wurde durchgeführt, um die Rückenfettmobilisierung in Relation mit metabolischen und endokrinen Parametern zu betrachten. Die Erfassung der RFD wurde einmal wöchentlich nach der von SCHRÖDER UND STAUFENBIEL (2006) beschriebenen Methode durchgeführt. Mit einem mobilen Ultraschallgerät wurde die RFD-Messung vorgenommen. Die Messung fand an einem definierten Punkt auf einer Verbindungslinie zwischen dem oberen Bereich des *Tuber ischiadicum* und dem oberen Bereich des *Tuber coxae*, etwa eine Handbreit kranial des *Tuber ischiadicum* statt. Die Abbildung neun zeigt den Aufbau der Körperschichten am Messpunkt im Ultraschallbild. Das Rückenfett befindet sich zwischen der Haut (*Cutis*) und der Muskelfaszie (*Fascia trunci profunda*). Die Angaben zur RFD erfolgten in Millimeter und beinhalteten neben der Fett- auch die Hautdicke.

Die Tiere wurden entsprechend des von STAUFENBIEL ET AL. (2004) empfohlenem optimalen Fettansatz zum Abkalbezeitpunkt von 25 mm RFD eingeteilt. Somit fand die Einteilung der Tiere in drei Gruppen nach ihrer RFD in der ersten Woche a.p. statt. Der ersten Gruppe (**RFD < 20**) sind sechs Tiere mit einer RFD von weniger als 20 mm eine Woche a.p. zugeordnet. Die zweite Gruppe (**RFD 20-30**) wird von 13 Tieren gebildet, die eine RFD zwischen 20 bis 30 mm in der ersten Woche a.p. zeigten und die dritte Gruppe (**RFD > 30**) umfasst sieben Tiere mit einer RFD von über 30 mm in der ersten Woche a.p..

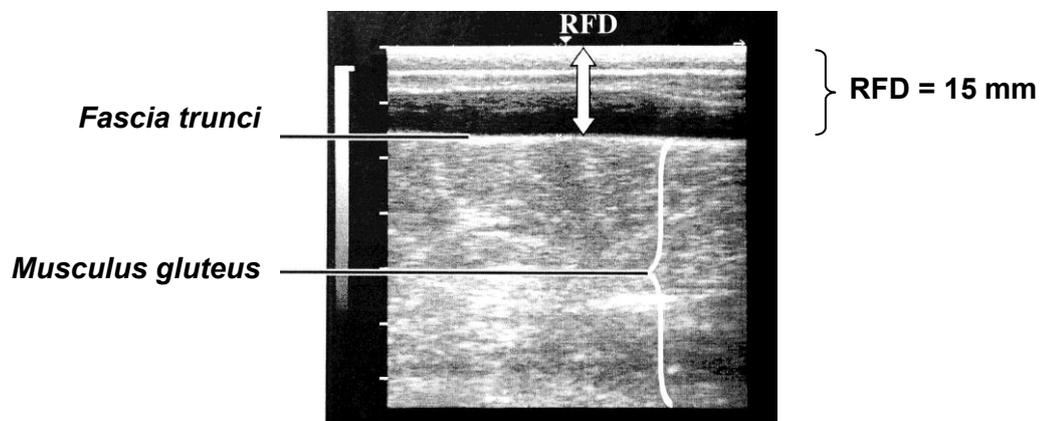


Abb. 9: **Ultraschallbild von der RFD-Messung mit dem Schichtenaufbau**
Kuh-Nr. 10 in der 10. Woche p.p. (Gruppe **RFD 20-30** bzw. **CL < 24**)

3.3.4 Blutentnahme

Die Blutentnahme erfolgte an den Tagen 56., 28., 15. und 5. a.p., dem ersten Tag nach der Kalbung und dann wöchentlich jeweils morgens nach dem Melken und vor der Fütterung. Das Blut wurde mit einem Vakuum Retainer System aus der *Vena jugularis* in Röhrchen mit EDTA als Antikoagulants entnommen. Unmittelbar nach der Blutentnahme wurden die Blutröhrchen auf Eis gestellt. Zunächst fand eine Zentrifugation der Blutproben in einer auf 4° C gekühlten Multifuge 3S-R Zentrifuge für 20 Minuten bei 1500 x g statt. Der Überstand wurde jeweils in vorbereitete 1,5 ml Reaktionsgefäße abpipettiert und bei -20 °C bis zur Untersuchung gelagert.

3.3.5 Leberbiopsie

Für die Analyse von Leberfett wurde Lebergewebe gewonnen. Es wurden pro Tier sechs Leberbiopsien durchgeführt. Die Gewinnung der Leberbiopsate wurde modifiziert nach der Methode von DUSKE ET AL. (2009) durchgeführt. Die Entnahme des Lebergewebes erfolgte am 56., 15. Tag a.p. und am 1., 14., 28. und 49. Tag p.p. Die Hautinsertionsstelle für die Leberbiopsie befand sich auf der rechten Tierkörperseite im 11. Intercostalraum. Circa zwei handbreit unterhalb der Lendenwirbelsäule auf einer gedachten Linie zwischen dem *Tuber coxae* und dem *Articulatio humeri* ist die Einstichstelle lokalisiert (siehe Abbildung 10).



Quelle: Privat

Abb. 10: **Topographie der Punktionsstelle**
a. gedachte Hilfslinie, b. und c. 12. und 11. Rippe, x. Punktionsstelle
modifiziert nach STAUFENBIEL ET AL. (1991)

Die Gewinnung des Leberbioplates erfolgte mit einer maßgefertigten Biopsienadel, die einen Außendurchmesser von 6 mm und eine Länge von 50 cm aufwies. Das Operationsfeld wurde auf ca. 10 x 10 cm rasiert, mit Ethanol entfettet und mit Braunol desinfiziert. Es folgte eine Lokalanästhesie mit 12,0 ml Isocain. Nach 15 Minuten Einwirkzeit fand eine zusätzliche Vereisung der Haut vor dem Hautschnitt statt. Mit einem ca. 1-2 cm langen Skalpellschnitt wurde die Haut mit den darunterliegenden Muskelschichten durchtrennt.

Die Biopsienadel wurde in Richtung des gegenüberliegenden *Articulatio cubiti* eingeführt und bis zum Erreichen der Leber vorgeschoben. Danach wurde nur der Trokar vorgeschoben, um eine entsprechende Menge Lebergewebe zu gewinnen. Die Konservierung der gewonnenen Probe erfolgte unmittelbar nach Entnahme in flüssigem Stickstoff und wurde bei -80 °C gelagert. Im Regelfall konnten mindestens 1 g Lebergewebe gewonnen werden. Die Hautwunde wurde mit einem Einzelheft verschlossen und mit Alu-Spray abgedeckt. In den folgenden drei Tagen nach der Biopsie wurden die Körpertemperatur des Tieres und seine Futteraufnahme genau kontrolliert.

3.3.6 Synchronisation der Tiere und die definierte Gewinnung von Oozyten und Embryonen

Zur Synchronisation der Tiere wurde ein bewährtes Brunst- und Ovulations-synchronisationsregime von BECKER ET AL. (2004) angewandt, um an definierten Trächtigkeitstagen Embryonen und Ovarien mit präovulatorischen Follikeln zu gewinnen. Im Folgenden werden die Trächtigkeitstage in Zyklustagen angegeben.

Zunächst erfolgte eine randomisierte Einteilung der Tiere in drei Gruppen. Ein Drittel der Tiere wurden dem Zyklustag Null (**ZT0**), ein Drittel dem vierten Zyklustag (**ZT4**) und ein Drittel dem zwölften Zyklustag (**ZT12**) zugeordnet. **ZT4** bedeutet, dass sich die Tiere am vierten Tag *post inseminationem* befanden. Entsprechend bedeutet **ZT12**, dass sich die Tiere am zwölften Tag *post inseminationem* befanden.

Alle Tiere wurden zunächst gleich behandelt: Zwischen dem 8. und 14. Tag des Sexualzyklus wurde nach Feststellung eines funktionalen CL bei der entsprechenden Kuh mit 2,0 ml *intra musculaer* (i.m.) injiziertem PGF Veyx forte (entsprechen 0,53 mg Cloprosterol) die Luteolyse eingeleitet. Im Abstand von 65 Stunden zu der PGF_{2α}-Verabreichung fand eine Applikation von 2,0 ml Gonavet (entsprechen 100 µg Gonadorelin) i.m. Anwendung. Durch diese GnRH-Applikation in zeitlicher Nähe zum endogenen LH-Peak, sollten der LH-Peak und die nachfolgende Ovulation synchronisiert werden.

Bei den Tieren vom **ZT0** sollten die präovulatorischen Follikel entnommen werden. Dazu wurden die Tiere jeweils 22 Stunden nach der GnRH-Applikation geschlachtet und die Ovarien mit den präovulatorischen Follikeln gewonnen.

Da von den Tieren vom **ZT4** und **ZT12** befruchtete Oozyten und Embryonen gewonnen werden sollten, wurden die Tiere zunächst nach dem gleichen Schema synchronisiert: 2,0 ml PGF Veyx forte (entsprechen 0,53 mg Cloprosterol) wurden zwischen dem 8. und dem 14. Tag des Sexualzyklus i.m. appliziert. 65 Stunden später folgte eine i.m. Behandlung mit 2,0 ml Gonavet (entsprechen 100 µg Gonadorelin). Im Unterschied zu den Tieren vom **ZT0** folgte bei diesen Tieren 13 Stunden später die einmalige terminorientierte künstliche Besamung. Es wurde jeweils konfektioniertes und geprüfetes Sperma (Besamungspalliette mit 15 Millionen Spermien) von Bullen mit vergleichbaren reproduktiven Parametern eingesetzt. Entsprechend der Gruppen wurden die Kühe am **ZT4** bzw. am **ZT12** nach der Besamung geschlachtet.

3.4 Probenaufbereitung, Analysemethoden

3.4.1 Futterinhaltsstoffe

Bei der Berechnung der täglichen tierindividuellen TSA wurde die tägliche Frischmasseaufnahme und deren Trockensubstanzgehalt berücksichtigt. Aus der täglichen TSA wurde der Wochenmittelwert bestimmt. Das arithmetische Mittel wurde aus den Werten von sieben aufeinanderfolgenden Tagen errechnet. Um bei den Berechnungen mögliche Veränderungen des Trockensubstanzgehaltes, des Roh Nährstoffgehaltes und damit des Energiegehaltes einzelner Rationskomponenten während des Versuchszeitraumes berücksichtigen zu können, wurden Trockensubstanz-, Roh Nährstoffe- und Energiegehalt der Einzelkomponenten bestimmt. Der Trockensubstanzgehalt wurde wöchentlich aus der TMR und den Grundfuttermitteln Mais- und Grassilage bestimmt.

Für die Trockensubstanzbestimmung wurden die Futterproben bei 60 °C für 24 Stunden und anschließend bei 105 °C für 3 Stunden getrocknet. Mittels Differenzwägung vor und nach vollständiger Trocknung wurden die Trockensubstanzgehalte berechnet.

Bis zur Bestimmung der Inhaltsstoffe wurde monatlich eine Probe von der gesamten TMR genommen. Von der Mais- und Grassilage wurden alle zwei Wochen Proben gezogen. Diese Futterproben wurden bis zur Analyse bei -20 °C gelagert.

Die Agrarwissenschaftliche Fakultät der Universität Rostock analysierte mittels vollständiger Weender-Futtermittelanalyse die Roh Nährstoffgehalte zur Ermittlung des Energiegehaltes.

3.4.2 Energiebilanzberechnung

Die Energiebilanz ist das Ergebnis der Differenz zwischen der täglich aufgenommenen Energiemenge und dem energetischen Bedarf für die Erhaltung und Milchleistung. Der Ausschuss für Bedarfsnormen der GFE (2001) hat eine Berechnungsformel erstellt, die bereits in Kapitel 2.2.1 detailliert aufgeschlüsselt wurde.

Die Energiebilanz wurde in Mega Joules pro Tage und Kuh angegeben (REIST ET AL., 2003).

3.4.3 Konzentrationsbestimmung von Milchhaltsstoffen

Das Zentrallabor des Landeskontrollverbandes für Leistungs- und Qualitätsprüfung Mecklenburg-Vorpommern e. V. (Güstrow) bestimmte die Milchhaltsstoffe. Zur Analyse des Fett-, des Eiweiß- und des Laktosegehaltes wurde eine Infrarotabsorptions-Methode (MilkoScan) angewandt.

3.4.4 Konzentrationsbestimmung der NEFA

Das klinische Labor der Klinik für Rinder der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover bestimmte die Konzentration der NEFA unter Verwendung folgender Testkits: Nr. # 434 – 91795. Die Analyse erfolgte automatisch in einem Pentra 400 Spektralphotometer.

3.4.5 Konzentrationsbestimmung von Progesteron

Die Analyse der Progesteronkonzentration im Nachgemelk und im Blutplasma wurde nach der Methode von BLÖDOW ET AL. (1988) im Doppelansatz durchgeführt. Dabei wurde die in den Probemedien enthaltene Progesteronkonzentration mit einem direkten kompetitiven ³H-Radio-Immunoassay (RIA) bestimmt. Bei dieser Methode wird Tritium (³H) als Radionuklid zur Markierung des Antigens/Tracer verwendet. Als Tracer diente ein [1,2,6,7-³H] Progesteron mit einem Titer von 1:100. Der Antikörper wurde in Kaninchen durch Immunisierung mit einem 11-Hydroxy-Progesteron-Konjugat erzeugt und hatte einen Titer von 1:30.000.

Um die Progesteronkonzentration in der Milch zu bestimmen, musste zunächst das Progesteron aus der Milch extrahiert werden. Dazu wurden die Milchproben im Thermoblock bei 25 °C aufgetaut. Nach dem Mischen wurden jeweils 500 µl der Probe abpipettiert und mit 200 µl Ethanol versetzt.

Nach 15 Sekunden vertikalem Schütteln, wurde die Probe 15 Minuten bei 4.000 x g bei 4 °C zentrifugiert und anschließend 30 Minuten ruhen gelassen. Aus dem Überstand wurde für die Bestimmung 50 µl Flüssigkeit abpipettiert. Das Progesteron aus dem Blutplasma konnte ohne vorherige Extraktion gemessen werden. Das zu bestimmende Hormon konkurriert mit seinen Mit-Isotopen um die Bindungsstelle an dem spezifischen Antikörper.

Zur Gleichgewichtseinstellung wurde das extrahierte Progesteron mit Inkubationspuffer, Tracer und Antiserum mit dem Antikörper für 30 Minuten bei 37 °C inkubiert. Nicht markiertes Progesteron und Tracer wurden vom Antikörper gebunden. Für die Durchführung des Immunassays wurden jeweils 50 µl vom Probenmaterial in die mit Puffer laut Pipettierschema (siehe Tabelle 2) vorbereiteten Röhrchen überschichtet.

	Total	Minimum	Standard										Progesteron Probe	
			0,0	6,25	12,5	25	50	100	200	400	800	1600		
Puffer	900	400	300	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	auf 300 auffüllen
Standard	-	-	-	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	-
Tracer	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Anti-serum	-	-	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Aktivkohle	-	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500
Probe	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50

Tab. 2: **Pipettierschema RIA für Progesteronmessung und Eichkurvenerstellung (in µl)**

Nach der Gleichgewichtseinstellung wurde freies Hormon vom antikörpergebundenen Hormon getrennt. Dies erfolgte mit der Dextran-Aktivkohle-Methode. Die Aktivkohlelösung wurde 10 Minuten mit einem Magnetrührer gerührt und anschließend je 500 µl in Röhrchen gegeben, geschüttelt und auf Eis gestellt. In diesem Schritt wurden die Blutproben für zwei Stunden bei 4 °C und die Milchproben für 40 Minuten im Eisbad inkubiert. Der freie Anteil des Progesteron wurde durch die Aktivkohle gebunden und als Sediment nach der Inkubationszeit bei 4.000 x g und 4 °C für 15 Minuten zentrifugiert. Die Proben wurden auf Eis gestellt. Der Überstand enthielt den mit Antikörper gebundenen Anteil, von dem je 500 µl in die Röhrchen für die Szintillation abpipettiert wurden. Nach Zugabe von Rotiszintecoplus und 30 Minuten Inkubationszeit wurde die Messung der Radioaktivität im Flüssigkeitsszintillationsspektrometer (LSC - Liquid Scintillation Analyzer) durchgeführt. In diesem Gerät ist eine MultiCalc-Software für die RIA-Auswertung integriert. Des Weiteren erfolgte die Messung der Standard- und Medien-Konzentration im LSC. Die Bindung des ³H-markierten Steroides an dem Antikörper ist über einen bestimmten Konzentrationsbereich umgekehrt proportional der Menge des Progesterons in der zu untersuchenden Probe. Die Eichkurve wurde durch Einsatz bekannter Progesteronkonzentrationen von 6,25 bis 1.600 pg/ml erstellt. Der Intra-Assay-Variationskoeffizient lag bei 7,6 % und der Inter-Variationskoeffizient betrug 9,8 %. Die Empfindlichkeit des Progesteron-RIAs betrug 7 pg/ml. Die Kreuzreaktivität betrug mit Pregnenolon 0,22 %, mit Estradiol 0,1 %, mit Testosteron 0,45 % und mit Androstendion 0,26 %.

3.4.6 Leberfettgehalt

Die Analyse des Leberfettgehalts erfolgte mittels einer etablierten Methode von KUHLA ET AL. (2004) im Labor des Institutes für Ernährungsphysiologie des Forschungsinstitutes für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere (FBN) in Dummerstorf. Dazu wurde das konservierte Lebergewebe in flüssigem Stickstoff homogenisiert. Die Bestimmung des Leberfettgehaltes erfolgte auf Basis der Kohlenstoff- (C) und Stickstoff- (N) Zusammensetzung des Bioplates, die durch Verbrennung und Elementaranalyse mittels Massenspektroskopie analysiert wurde.

Der gesamte Leberfettgehalt wurde nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Leberfett (\% TS)} = 1,3038 \times \text{C} - 4,237 \text{ N} - 0,58 \times \text{Glycogen} - 0,5125 \times \text{Glucose}$$

3.5 Reproduktionsphysiologische Untersuchungen

3.5.1 Brunstbeobachtung

Es wurde mehrmals täglich eine visuelle Brunstbeobachtung durchgeführt. Dabei wurden die Tiere sowohl zu den Ruhezeiten (gegen 8:30 Uhr und gegen 12:00 Uhr) als auch in ihren aktiven Phasen (vor dem Melken im Wartehof und während der Futteraufnahme gegen 6:00 Uhr und gegen 15:30 Uhr) beobachtet. Die Brunstbeobachtung wurde in drei Kategorien unterteilt und dokumentiert: Das Brunstverhalten, der Brunstschleim und die Rötung der vaginalen Schleimhaut. Zum Brunstverhalten zählt sowohl das Aufsprung- und Duldungsverhalten als auch die Vokalisation der Tiere. Beim Brunstschleim wurden Anzeichen von vaginalem Schleimabgang geprüft und die Qualität des Brunstschleimes beurteilt. Alle Beobachtungen wurden dokumentiert und anschließend mit den Progesteronwerten verglichen, um eine eindeutige Brunst festzustellen.

3.5.2 Transrektale Palpation des Uterus und der Ovarien

Ab dem zehnten Tag p.p. erfolgte zweimal wöchentlich eine rektale Untersuchung, um die gynäkologischen Befunde zu erheben. Dadurch konnten nicht physiologisch verlaufende Puerperien erkannt werden. Dazu wurden die Zervix, der Uterus und die Ovarien untersucht. Die Zervix wurde nach Lage, Stärke, Konsistenz und Oberflächenbeschaffenheit beurteilt. Der Uterus wurde nach Lage, Größe, Symmetrie der Uterushörner, Konsistenz, Kontraktibilität, Tonus, Wandung, Oberfläche und Inhalt beurteilt.

Bei den Ovarien wurden die Größe, Form, Konsistenz und Konsistenzunterschiede innerhalb des Ovars, Beweglichkeit und palpierbare Funktionskörper wie Follikel, Zysten und CL beurteilt.

Ebenfalls wurde der Größenvergleich zwischen den Ovarien dokumentiert. Der Salpinx, Gekröse und die Bänder wurden nach Verklebungen untersucht.

Zur übersichtlichen Dokumentation der Palpationsbefunde wurden die Ergebnisse nach einem Befundungsschlüssel (Tabelle 3) gesichert. Die Involution des Uterus nach der Kalbung wurde durch rektale Untersuchungen verfolgt und dokumentiert.

Uterus		Ovarien		
Größe	Größe G I - G VI	Größe	E- Erbsengroß B- Bohnengroß H- Haselnussgroß K- Kirschgroß W- Walnussgroß H- Hühnereigroß	
	Symmetrie S, +As, As+		Funktionskörper (mm)	F (Follikel) CL-A (CL in Anbildung) CL-B (CL in Blüte) CL-R (CL in Rückbildung)
	Kontraktionsbereitschaft K I - K III			Konsistenz der Blase

Tab. 3: **Palpationsbefund von der rektalen gynäkologischen Untersuchung**
nach GRUNERT UND BERCHTOLD (1999)

3.5.3 Rektale ultrasonographische Untersuchung des Uterus und der Ovarien

Durch die Sonographie lassen sich die weiblichen Geschlechtsorgane visualisieren. So konnten die rektal palperten Befunde überprüft und ergänzt werden. Hierzu wurden die klinisch relevanten physiologischen und pathologischen Befunde am Uterus und an den Ovarien erhoben. Am Ovar wurden neben dem Ovarialstroma und den Blutgefäßen die Funktionsgebilde festgestellt. Die Ovarien wurden in mehreren Projektionen dargestellt, um alle zyklischen Veränderungen zu beurteilen. Die Anzahl und die Durchmesser der Follikel wurden erfasst und vermessen.

Das Vorhandensein eines CL wurde überprüft. Da jedoch vom 5. Tag bis mindestens zum 20. Tag, häufig bis zum 4. Tag des neuen Zyklus, das CL zu sehen ist, ist bei zyklischen Rindern in den meisten Fällen ein CL vorhanden. Somit ist eine qualitative Beurteilung nach Alter des CL (CL in Ausbildung, Blüte oder Rückbildung) unerlässlich. Dies geschieht anhand der relativen Größe, seiner äußeren Form und der Konsistenz. Ein CL in Blüte ist von fest-weicher Konsistenz und seine Größe beträgt mindestens die Hälfte des gesamten Ovars. Beträgt das Volumen des CL weniger als die Hälfte des Gesamtovars und ist von weicherer Konsistenz als das Ovargewebe, so handelt es sich um ein CL in Ausbildung.

Ein CL in Rückbildung ist von derber Konsistenz, seine Größe ist ebenfalls geringer als die Hälfte des Gesamtovars (GRUNERT UND BERCHTOLD 1999).

Die Diagnose Ovarialzyste wurde gestellt, wenn der Durchmesser des mit Flüssigkeit gefüllten Hohlraumes mehr als 25 mm betrug. Bei einer Wiederholungsuntersuchung wurde abgeklärt, ob der flüssigkeitsgefüllte Hohlraum noch vorhanden war oder nicht.

3.5.4 Wiedereinsetzen der Ovarfunktion / erste luteale Aktivität

Das Wiedereinsetzen der Ovarfunktion nach der Abkalbung wurde anhand der lutealen Aktivität der Tiere überwacht. Es wurde davon ausgegangen, dass der ersten lutealen Aktivität eine erste Ovulation vorausgegangen war und die Ovarien damit ihre Funktionsfähigkeit wiedererlangt haben (WINDIG ET AL. 2008). Zur Überwachung der lutealen Aktivität wurden die Tiere nach der Abkalbung regelmäßig reproduktionsphysiologisch untersucht (siehe 3.5.3) und es wurde eine intensive Brunstbeobachtung (siehe 3.5.1) durchgeführt. Die klinische Befundung wurde durch die Bestimmung der Progesteronkonzentration in Milch- und Blutproben (siehe 3.4.5) bestätigt und verifiziert.

Durch die fortlaufende Beprobung war eine Erstellung von Progesteron-Verlaufprofilen möglich. Als Grenzwert für das Vorliegen einer Brunst und somit einer lutealen Aktivität wurden Progesteronkonzentrationen im Nachgemelk von ≥ 5 ng/ml (WINDIG ET AL. 2008) und im Blut von ≥ 1 ng/ml (SAMARÜTEL ET AL. 2008) festgelegt. Es lag somit eine luteale Aktivität vor, wenn sowohl die Milch- als auch die Blutprogesteronkonzentrationen die jeweiligen Grenzwerte überschritten haben und ein CL auf einem Ovar vorhanden war.

3.6 Oozytengewinnung

3.6.1 Entnahme der Ovarien und Embryonenspülung

In der Schlachthalle des Leibniz-Institutes erfolgte ca. 15 Minuten nach dem Tod der Tiere, unmittelbar nach Eröffnung der Bauchhöhle, die Entnahme der Ovarien. Die Gewinnung der Ovarien erfolgte mittels einer chirurgischen Schere. Die separierten Ovarien wurden in temperiertem Phosphate Buffered Saline (PBS) (38,5 °C) unter Zusatz von Penicillin (60 mg/l) unverzüglich zur Analyse ins Labor gebracht.

Die Embryonengewinnung erfolgte bei den Tieren am **ZT4** bzw. **ZT12**. Dazu wurden das Ovidukt und die ipsilaterale Uterushornspitze der Tiere präpariert und mit einer Arterienklemme verschlossen. Danach fand die Spülung des Oviduktes und der Uterushornspitze mit einem feinen Spülschlauch vom *Infundibulum* der *Tuba uterina* mit temperiertem PBS statt. Die Spülflüssigkeit wurde in einem Becherglas aufgefangen und unter dem Mikroskop auf das Vorhandensein von Embryonen und Oozyten untersucht.

3.6.2 Beurteilung des Follikelbesatzes und des Corpus luteum

Die Einteilung und Dokumentation des Follikelbesatzes auf den Ovarien erfolgte entsprechend dem Durchmesser der Follikel. Folgende Gruppen wurden gebildet: Follikel < 3 mm, Follikel von 3 bis 5 mm, Follikel von 6 bis 10 mm und Follikel > 10 mm. Des Weiteren wurde das CL beschrieben und charakterisiert.

3.6.3 Aufarbeitung der Follikel und Oozyten

Die Aufarbeitung der Follikel und Oozyten ist in Abbildung 11 schematisch dargestellt.

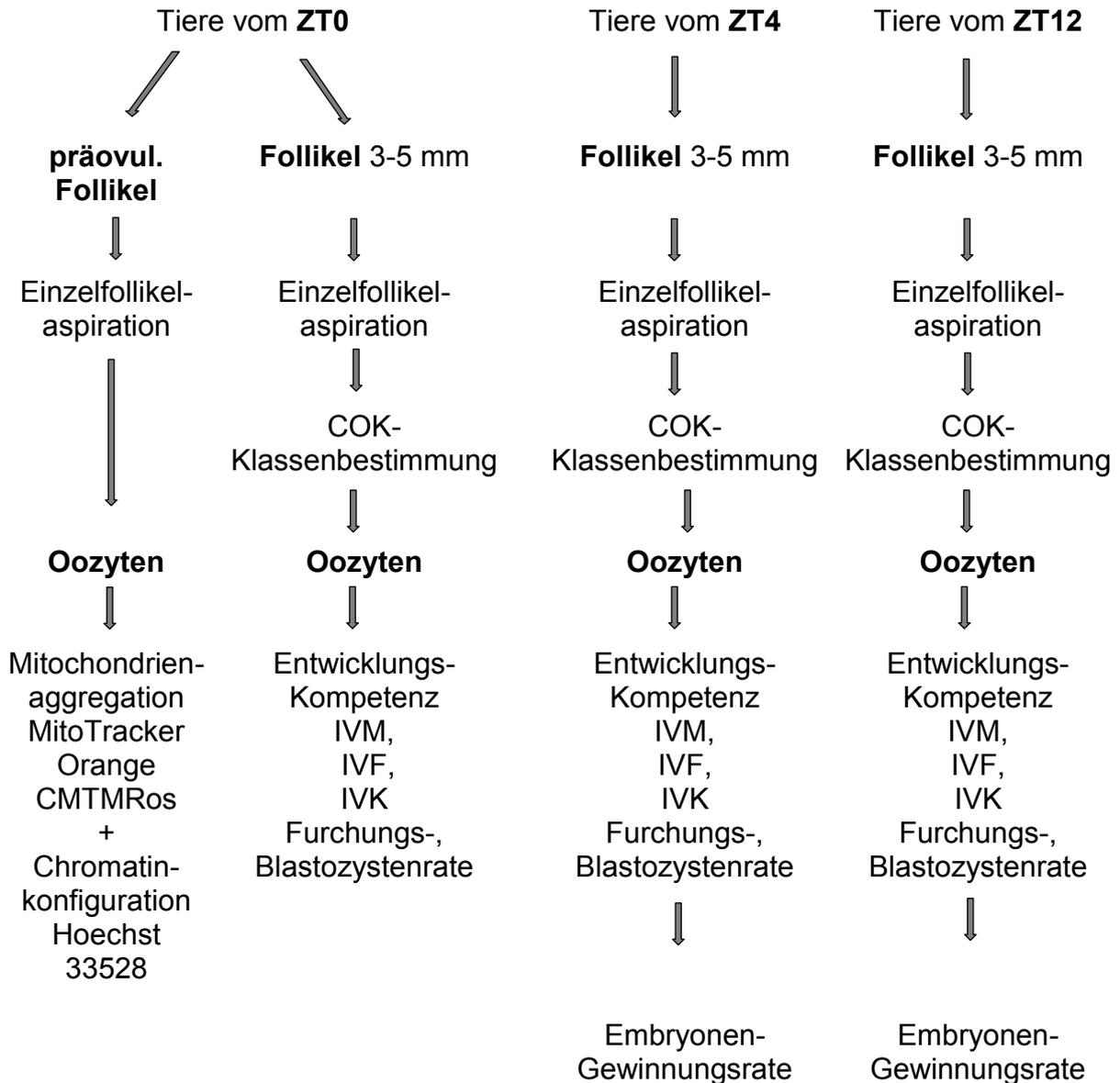


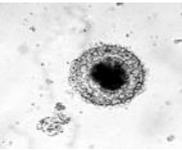
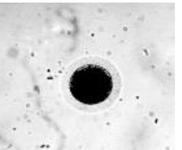
Abb. 11: Versuchsschema für die Aufarbeitung der Follikel und der Oozyten

3.6.4 Gewinnung und Klassifizierung der Cumulus-Oozyten-Komplexe

Für die Gewinnung der Cumulus-Oozyten-Komplexe (COK) wurden zunächst die Ovarien in einer Petrischale fixiert, aufgeschnitten und mit temperiertem PBS +0,2 % Bovinen Serumalbumin (BSA) gründlich gespült.

Zur Entfernung der groben Gewebebestandteile wurde die gewonnene Flüssigkeit durch ein handelsübliches Teesieb in ein Becherglas überführt. Nach der Spülung der Ovarien in PBS, folgte die Gewinnung der COK durch Einzelaspiration der Follikel mit einer Nadelspritzenkombination. Der Inhalt eines Follikels wurde in eine Vertiefung einer 48-Loch-Platte überführt. Dort folgte die Entnahme der COK aus der Follikelflüssigkeit und die Überführung in eine mit PBS +0,2 % BSA gefüllte Sammelschale. Jede Aspiration endete mit dem Spülen der Kanüle mit PBS +0,2 % BSA.

Zur Klassifizierung der COK fand eine Beurteilung der COK unter dem Stereomikroskop bei 15facher Vergrößerung statt. Die COK wurden hinsichtlich ihrer Cumulus- und Ooplasmamorphologie in fünf COK-Klassen eingeteilt (LEIBFRIED UND FIRST, 1979; OTZNDORF, 2006), siehe Tabelle 4. Für die weitere Beurteilung wurden die COK angefärbt, wie nachfolgend beschrieben.

Klasse	Klasse 1	Klasse 2	Klasse 3	Klasse 4	Klasse 5
Morphologie	Compakter Cumulus (cp) 	Expandierter Cumulus (ex) 	Corona radiata (c.r.) 	Denudiert (denud.) 	Degeneriert (deg.)
Beschreibung der Morphologie	Oozyten mit dunklem, homogenem Ooplasma und kompaktem <i>Cumulus oophorus</i>	Oozyten mit dunklem, homogenem Ooplasma und expandiertem <i>Cumulus oophorus</i>	Oozyten mit dunklem, homogenem oder granuliertem Ooplasma und geringem <i>Cumulus oophorus</i>	Oozyten mit dunklem, homogenem oder granuliertem Ooplasma mit fehlendem <i>Cumulus oophorus</i>	Oozyten mit pygnotischem Ooplasma und geringem bis fehlendem <i>Cumulus oophorus</i>

Tab. 4: Klassifizierung der Cumulus-Oozyten-Komplexe nach LEIBFRIED UND FRIST(1979) UND OTZDORF (2006)

Für die Brilliantcresylblau-Färbung wird Brilliantcresylblau (BCB) in Oozyten als Marker der Aktivität der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6PDH), einem Enzym des Pentosephosphatwegs, genutzt. Die G6PDH reduziert den Farbstoff BCB von blau zu farblos. In Oozyten mit abgeschlossenem Wachstum ist die Aktivität des Enzyms geringer. Demnach färbt sich das Cytoplasma blau (**BCB+**). Im Gegensatz dazu zeigen Oozyten während des Wachstums eine hohe G6PDH-Aktivität, ihr Cytoplasma ist farblos (**BCB-**) (OPIELA ET AL., 2010).

Die BCB-Färbung wurde wie bei ALM ET AL. (2005) beschrieben durchgeführt. Nach dem Waschen der COK in PBS +0,2 % BSA fand eine Inkubation mit 26 µM BCB-Lösung bei 38,5 °C für 90 Minuten statt.

Im Anschluss wurden die COK mit PBS +0,2 % BSA gewaschen und unter dem Stereomikroskop aufgrund der Anfärbbarkeit des Cytoplasmas in **BCB+** (blau) und **BCB-** (farblos) eingeteilt.

3.6.5 Bestimmung der Verteilung und Aktivität von Mitochondrien im Ooplasma und Beurteilung der Chromatinkonfiguration in präovulatorischen Oozyten

Für die Analyse zur mitochondrialen Verteilung und Aktivität wurden an den Oozyten eine Doppelfärbung mit den Fluoreszenzfarbstoffen MitoTracker Orange CMTMRos und Hoechst 33258 durchgeführt.

3.6.5.1 Durchführung der Doppelfärbung an Oozyten

Die Doppelfärbung wurde mit den Farbstoffen MitoTracker Orange CMTMRos und Hoechst 33258 durchgeführt. Zunächst wurden die Oozyten in eine auf 38,5 °C temperierter Trypsin-EDTA-Lösung verbracht und die Cumuluszellen mechanisch abgelöst. Dann wurden die Oozyten zweimal mit PBS-Lösung gewaschen. Danach erfolgte die Inkubation in MitoTracker Orange CMTMRos-Färbelösung für 30 Minuten im Dunkeln. Nach Ablauf der Einwirkzeit wurden die Oozyten zweimal mit PBS-Lösung gewaschen und anschließend für 15 Minuten in 3 % igem Paraformaldehyd fixiert. Es folgten drei Waschschrte: einmal mit 3 % igem Polyvinylalkohol und zweimal mit PBS-Lösung. Anschließend fand das Aufbringen von je 5 Oozyten in 10 µl PBS auf einem Objektträger und Überschichten mit 6 µl Hoechst 33258-Färbelösung statt. Nach Eindeckelung der Probe mit Deckgläschen wurden die Ränder mit Nagellack versiegelt und abgedunkelt bei 4 °C gelagert.

Die Färbung der Mitochondrien im Ooplasma erfolgte mit dem Fluoreszenzfarbstoff MitoTracker Orange CMTMRos. Dieser Farbstoff diffundiert passiv durch die Plasmamembran und akkumuliert selektiv in den aktiven Mitochondrien. Der Farbstoff enthält

eine Chlormethyl-Gruppe, die mit den Thiolgruppen von Peptiden der Atmungskette in den Mitochondrien reagiert und fluoreszierende Konjugate bildet (SCORRANO ET AL., 1999).

Für die Bestimmung der Chromatinkonfiguration wurde der Fluoreszenzfarbstoff Hoechst 33258 verwendet. Der Farbstoff Hoechst 33258 gehört in die Gruppe der Bisbenzimid-Farbstoffe. Er ist membrangängig und bindet spezifisch an A-T reiche Sequenzen der DNA. Der Fluoreszenzfarbstoff Hoechst 33342 wird vom UV-Licht bei einer Wellenlänge von 340 nm angeregt und emittiert Licht im Spektrum von Blau bis Cyan (ca. 510 nm). Gebunden an der DNA kommt es zu einer Verschiebung des Emissionsmaximums auf 465 nm. Mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskopes Jenalumar erfolgte die Auswertung der Doppelfärbung.

Die Messung der Emission der mitochondrialen Aktivität der Oozyten erfolgte bei einer Wellenlänge von 570 nm mit einem an das Fluoreszenzmikroskop angeschlossenen Fotomultiplier. Die mitochondriale Aktivität wurde durch Bestimmung der Intensität der Fluoreszenz unter Berücksichtigung der Hintergrundfluoreszenz berechnet.

Für die Bestimmung der Chromatinkonfigurationen wurde die Emission bei 410 nm für die Hoechst 33258-Färbung gemessen.

3.6.5.2 Verteilung und Aktivität der Mitochondrien in Oozyten

Angelehnt an die Einleitung nach TORNER ET AL. (2007) wurde die Verteilung der Mitochondrien im Ooplasma in feingranuliert, grobgranuliert und in kristallin unterteilt. In Abbildung 12 sind Bilder für das jeweilige Aggregationsmuster dargestellt.

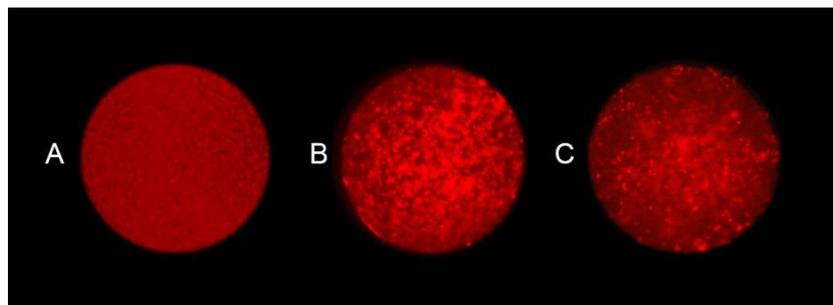


Abb. 12: **Aggregationsmuster von Mitochondrien in Oozyten**
(MitoTracker Orange CMTMRos, Fluoreszenzmikroskop 400 x Vergrößerung, freigestellt)
A. feingranuliert, B. grobgranuliert, C. kristallin

3.6.5.3 Anfärbung der Chromatinkonfiguration in Oozyten

Die Einteilung der Chromatinkonfiguration in den Oozyten erfolgte in unreife (Diplötän Prophase I, Germinalvesikel), fortgeschrittene Meiose (Ana-, Telo-, Metaphase I) und reife (Metaphase II), diese Stadien sind bildlich in Abbildung 13 dargestellt.

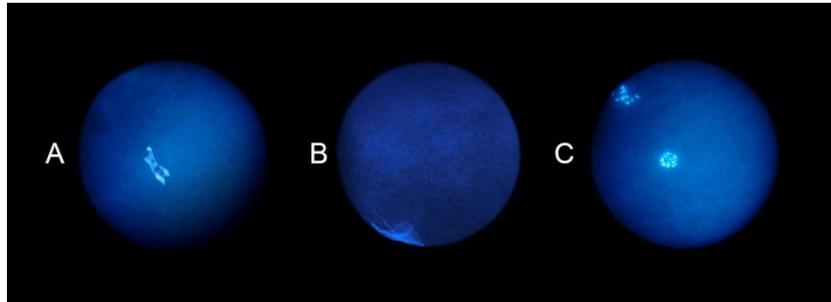


Abb. 13: **Fluoreszenzmikroskopische Darstellung der Chromatinkonfigurationen in Oozyten** (Hoechst 33258, 400 x Vergrößerung, freigestellt)
A. diffuses Diplötän, B. Anaphase, C. Metaphase II

3.6.6 Entwicklungskompetenz von Oozyten

Eine Überprüfung der Entwicklungskompetenz von Oozyten aus 3 bis 5 mm großen Follikeln erfolgte *in-vitro* auf der Basis der etablierten Standardmethode ALM ET AL. (2005). Dazu wurden folgende Parameter der präimplantativen Entwicklungsfähigkeit der Oozyten untersucht: die Befruchtungs-, die Furchungs- und die Blastozystenrate sowie die Maturierungs- und die Fertilisationsrate.

3.6.6.1 *In-Vitro*-Maturierung der Cumulus-Oozyten-Komplexe

Nach Klassifizierung der COK in **BCB+** und **BCB-** wurden sie jeweils einmal mit PBS +0,2 % BSA und mit 420 µl Reifungsmedium TCM 199 gewaschen. Die Reifung der Oozyten erfolgte im Inkubator bei 38,5 °C in feuchtigkeitsgesättigter Atmosphäre unter Zusatz von 5 % CO₂. Die Inkubationszeit betrug 24 Stunden.

3.6.6.2 *In-Vitro*-Fertilisation der Cumulus-Oozyten-Komplexe

Die gereiften COK wurden mit Fertilisationsmedium (Fert-TALP I) gewaschen, in 100 µl Befruchtungsmedium (Fert-TALP II) überführt und vollständig mit Mineralöl überschichtet. Für die *in-vitro*-Befruchtung wurde in Pailletten tiefgefrorenes Spermia verwendet. Nach dem Auftauen der Spermiasuspension für 30 Sekunden in 38,5 °C warmen Wasser erfolgte die

Gewinnung der motilen Sperminenfraktion über eine SWIM-UP-Methode (PARRISH ET AL., 1986). Hierzu wurde die Spermisuspension zunächst mit Kapazitationsmedium (Sperm-TALP) verdünnt und zentrifugiert. Es folgte die Abpipetierung des Überstandes und die Resuspension in das Befruchtungsmedium.

Zu einer Gruppe von je 10 COK wurden je 16 µl der Spermisuspension mit einer Konzentration von 10^6 Spermien/ml gegeben und für 18 Stunden im Brutschrank bei 38,5 °C und 5 % CO₂ inkubiert.

3.6.6.3 *In-Vitro*-Kultivierung der Cumulus-Oozyten-Komplexe

Die COK wurden in Reifungsmedium gewaschen und zurück in die Reifungsschale gesetzt. Nach 24 Stunden fand eine mechanische Entfernung des Cumulus statt. Die bereits gefurchten Oozyten wurden in Synthetic Oviductal Fluid (SOF) gewaschen, in eine 4-Loch-Schale mit SOF überführt und mit Mineralöl überschichtet. Die Kultivierung der bereits gefurchten Oozyten erfolgte anschließend im Inkubator bei 38 °C, 5 % CO₂ und 5 % O₂ über sieben Tage. Die Furchungsrate wurde ermittelt, indem die Anzahl der eingesetzten COK durch die Anzahl der gefurchten COK dividiert wurde. Der Parameter der Furchungsrate wurde nach 48 Stunden nach der Zugabe der Spermisuspension ermittelt. Zu den gefurchten Oozyten wurden die Oozyten gezählt, die mindestens zwei Blastomere aufwiesen.

Am Tag sieben und acht wurde die Entwicklung zur Blastozyste beurteilt.

3.7 Statistische Methoden

Zur Auswertung der Versuchsergebnisse wurden das Tabellenkalkulationsprogramm MS Excel 2010 und die Statistikprogramme SigmaPlot 11.0 und SAS (Statistical-Analysis-System) des Statistikpaketes für Windows, Version 9.2 (SAS INSTITUTE, 2009) herangezogen.

Sämtliche Daten der zootechnischen Parameter, der Serum- bzw. Plasmakonzentrationen der Metabolite und Hormone, der Leberparameter sowie der COK wurden varianzanalytisch (ANOVA) mit den RANDOM und REPEATED Methoden der MIXED-Prozedur des SAS analysiert.

In das verwendete, statistische Model wurden [Gruppe], [Wo_z_Kalb] sowie [Gruppe x Wo_z_Kalb] als fixe Effekte und [Kuh] als zufälliger Effekt einbezogen, wobei [Gruppe] für die Gruppierung (Wiedereinsetzen der ersten lutealen Aktivität p.p. nach der Abkalbung (**CL < 24** und **CL > 58**) bzw. Rückenfettdicke von **< 20 mm**, **20-30 mm** oder **> 30 mm** eine Woche vor der Abkalbung), [Woche] die jeweilige Woche vor oder nach der Abkalbung und [Kuh] für das individuelle Tier stehen. Die Mittelwertdifferenzen wurden als LS MEANS mit einem multiplen Mittelwertvergleich nach Tukey-Kramer auf Signifikanz getestet.

Für die statistische Analyse wurde ein Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$ festgelegt. Die Darstellung der Ergebnisse in den Grafiken erfolgte jeweils als arithmetischer Mittelwert unter Angabe der jeweiligen Standardabweichung. Bei der Gruppeneinteilung nach der RFD eine Woche a.p., wurden drei Gruppen die miteinander verglichen, unterschiedliche Buchstaben bedeuten signifikante Unterschiede. Bei der Gruppeneinteilung nach dem Einsetzen der lutealen Aktivität wurden zwei Gruppen miteinander verglichen, ein Sternchen zeigt signifikante Unterschiede auf. Darüber hinaus wurden jeweils die p-Werte für die in das statistische Analysemodel einbezogenen Effekte angegeben.

4 Ergebnisse

Von den ursprünglich 30 Kühen wurden 26 Tiere in die Auswertung einbezogen. Vier Tiere wurden von der Studie ausgeschlossen, da die Tiere folgende Probleme aufwiesen: Eine Kuh (94841) wies eine Labmagerverlagerung p.p. auf. Der Labmagen wurde operativ reponiert, jedoch bildete sich ein Abszess. Eine Kuh (63238) zeigte ein gestörtes Puerperium mit ketotischer Stoffwechsellage und eine Pansenatonie. Dieses Tier erhielt eine Dauertropfinfusion. Bei zwei Kühen (23799 und 63382) entstanden nach der Abkalbung Zysten auf den Ovarien.

4.1 Leistungsniveau der Tiere

Bei den untersuchten Tieren handelte es sich um hochleistende Tiere mit einer durchschnittlichen Milchleistung von 11245 ± 262 kg / 305 Tage in der 2. Laktation und mit einem durchschnittlichen Milchfettgehalt von $4,0 \pm 0,81$ % und Milcheiweißgehalt von $3,4 \pm 0,25$ %. Der Untersuchungszeitraum erstreckte sich vom Trockenstellen, d.h. acht Wochen vor dem errechneten Abkalbetermin bis zur Schlachtung, diese erfolgte im Mittel am Tag 85 ± 20 Tag p.p. der 3. Laktation. Die 60 Tage-Milchleistung in der 3. Laktation ist in der Abbildung 14 von allen Kühen dargestellt und betrug 2691 ± 384 kg Milch/Kuh mit $3,9 \pm 0,82$ % Fettgehalt und einem durchschnittlichen Eiweißgehalt von $3,02 \pm 0,27$ %.

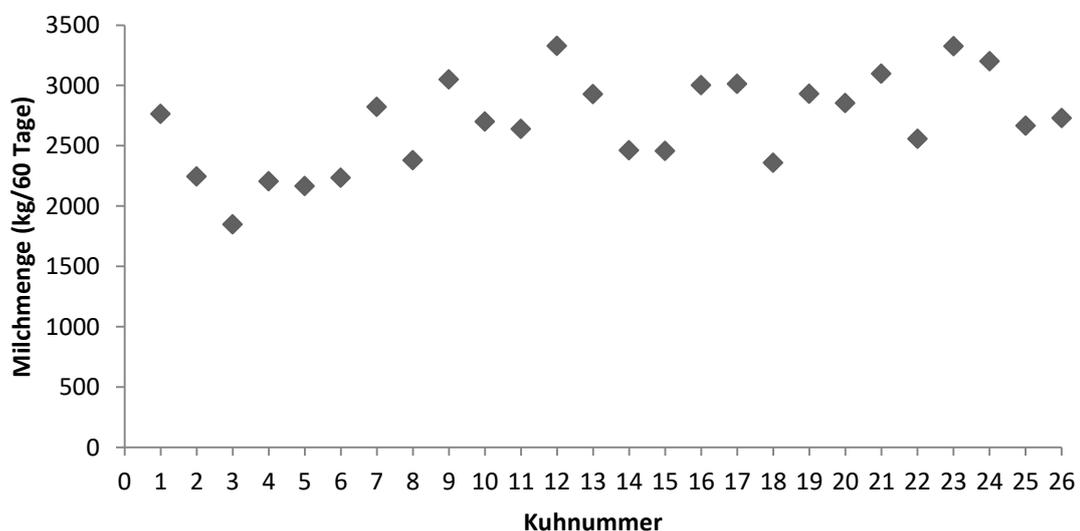


Abb. 14: **60-Tage Milchleistung in der dritten Laktation**
(n = 26, durchschnittliche Milchleistung $2691 \text{ kg} \pm 384 \text{ kg Milch/60 Tage}$)

4.2 Ergebnisse nach der Gruppeneinteilung

4.2.1 Erste luteale Aktivität

4.2.1.1 Einteilung der Tiere nach Einsetzen der ersten lutealen Aktivität nach der Abkalbung

Zum Einschätzen des Wiedereinsetzens der Ovarfunktion nach der Abkalbung wurde das Intervall vom Partus bis zum Einsetzen der ersten lutealen Aktivität bestimmt. Die Bestimmung des Intervalls wurde durchgeführt, um die Zeitspanne in Bezug zu metabolischen und endokrinen Parametern zu betrachten. Eine erste luteale Aktivität konnte bei allen Tieren festgestellt werden. Allerdings traten starke Variationen zwischen den Tieren auf. Das kürzeste Intervall von der Abkalbung bis zum Einsetzen der ersten lutealen Aktivität wiesen die Kühe-Nr. 11 und 12 mit 14 Tagen p.p. auf, während Kuh-Nr. 21 mit 135 Tagen von der Abkalbung bis zum Einsetzen der ersten lutealen Aktivität das längste Intervall aufwies.

Es wurden Tiere verglichen, die ihre erste luteale Aktivität bis zum 24. Tag p.p. aufwiesen, mit Tieren, die nach dem 59. Tag p.p. ihre erste Ovulation hatten. Abbildung 15 zeigt die Intervalllänge von der Abkalbung bis zur ersten lutealen Aktivität der Tiere. Die Tiere der Gruppe **CL < 24** wiesen die kürzesten Intervalle von der Abkalbung bis zur ersten lutealen Aktivität von durchschnittlich 17 ± 3 Tagen auf, während die Tiere der Gruppe **CL > 58** von Tieren gebildet wurde, die die längsten Intervalle von durchschnittlich 85 ± 33 Tagen zeigten. Die Gruppeneinteilung wurde so gewählt, um jeweils eine gleiche Anzahl Tiere mit kurzem Intervall von der Abkalbung bis zur ersten lutealen Aktivität, mit Tieren mit einem längeren Intervall systematisch vergleichen und so Zusammenhänge zwischen metabolischen Parametern und reproduktiven Funktionen erkennen zu können.

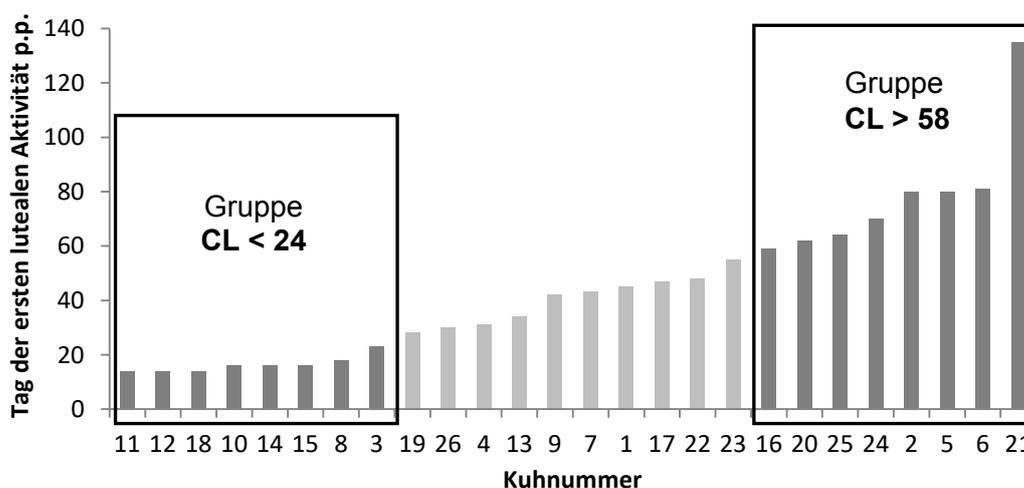


Abb.15: **Verteilung des Einsetzens der ersten lutealen Aktivität p.p.**
(Gruppe **CL < 24**: n= 8, Gruppe **CL > 58**:n= 8)

4.2.1.2 Einsetzen der ersten lutealen Aktivität nach der Kalbung in Abhängigkeit zur RFD 1 Woche a.p.

Die Mittelwerte des Intervalls von der Abkalbung bis zur ersten lutealen Aktivität sind im Verhältnis zur RFD in Abbildung 16 dargestellt. Die Tiere der Gruppe **RFD 20-30** zeigten nach 28 ± 7 Tagen ihre erste luteale Aktivität, während bei den beiden anderen Gruppen das Intervall vom Partus bis zum Einsetzen der ersten lutealen Aktivität mehr als doppelt so lang war. Die Tiere der Gruppe **RFD < 20** zeigten ihre erste luteale Aktivität nach 66 ± 10 Tagen und die Tiere der Gruppe **RFD > 30** nach 59 ± 9 Tagen. Die Mittelwertdifferenzen des Intervalls von der Abkalbung bis zum Einsetzen der ersten lutealen Aktivität von den Tieren der Gruppe **RFD 20-30** unterschieden sich signifikant von denen der Gruppe **RFD > 30** und denen der Gruppe **RFD < 20** ($p < 0,03$), während sich die Mittelwertdifferenzen für diesen Parameter zwischen den Tieren der Gruppe **RFD < 20** und **RFD > 30** nicht signifikant ($p = 0,85$) unterschieden.

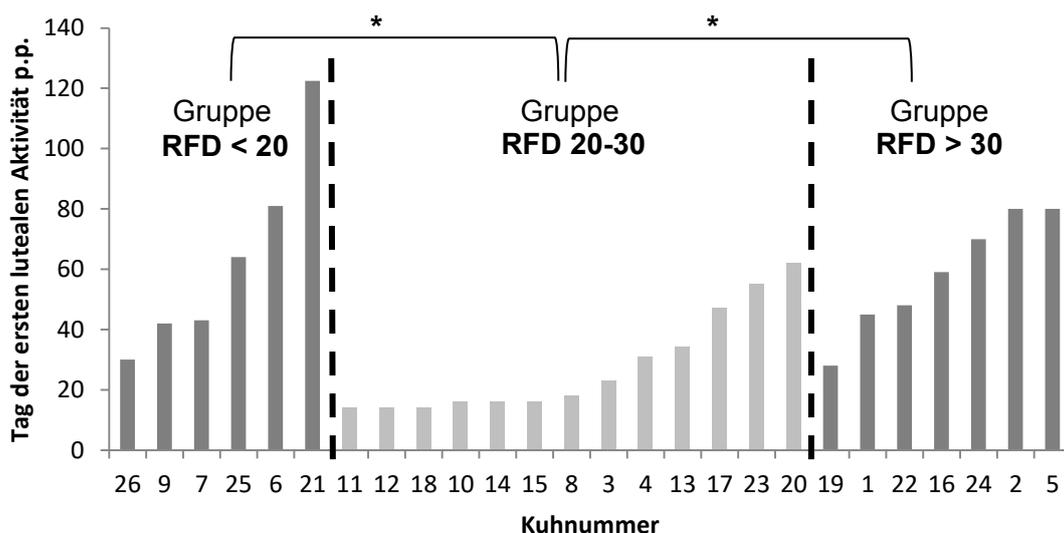


Abb. 16: Verteilung des Einsetzens der ersten lutealen Aktivität p.p. in Abhängigkeit der RFD 1 Woche a.p. (Gruppe **RFD < 20**: n=6, **RFD 20-30**: n=13, **RFD > 30**: n=7); * ($p < 0,03$)

4.2.2 Rückenfettdicke

4.2.2.1 Entwicklung der RFD in Abhängigkeit zur ersten lutealen Aktivität p.p.

Zur Beurteilung der Körperkondition der Tiere wurde im Untersuchungszeitraum die Rückenfettdicke gemessen. Der Verlauf der RFD-Entwicklung der Tiere beider Gruppen ist in Abbildung 17 dargestellt und verlief nahezu identisch.

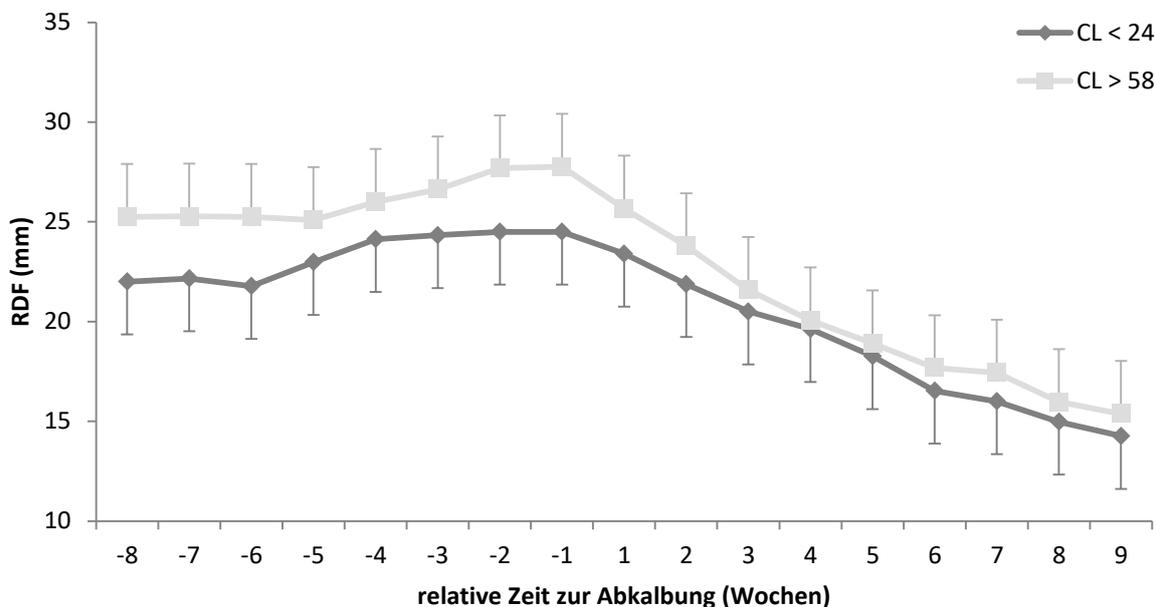


Abb. 17: **Rückenfettdickeentwicklung (MW±STABW) über den Untersuchungszeitraum von der achten Woche a.p. bis zur neunten Woche p.p.**
(Gruppe **CL < 24**: n= 8, Gruppe **CL > 58**: n= 8)

Zu Untersuchungsbeginn wiesen die Tiere der Gruppe **CL < 24** eine RFD von $22,0 \pm 2,6$ mm und die Tiere der Gruppe **CL > 58** eine RFD von $25,25 \pm 2,6$ mm auf.

Die Werte zwischen den Versuchstieren variierten erheblich. In der Woche des Trockenstellens zeigte Kuh-Nr. 26 (**CL 24-58**) mit 5,6 mm die geringste RFD, während Kuh-Nr. 2 (Gruppe **CL > 58**) und Nr. 24 (Gruppe **CL > 58**) mit 38 mm die größte RFD aufwiesen. Bei allen Tieren stieg die RFD bis zur Abkalbung an. Zu diesem Zeitpunkt wurde jeweils die größte durchschnittliche RFD pro Gruppe von $26,1 \pm 1,9$ mm gemessen. Bei den Tieren der Gruppe **CL < 24** lagen die durchschnittlichen Maximalwerte bei $24,5 \pm 2,6$ mm Rücken fett und bei den Tieren der Gruppe **CL > 58** die durchschnittlichen Maximalwerte bei $27,8 \pm 2,6$ mm Rücken fett. Nach der Abkalbung konnte bei den Tieren beider Gruppen eine Reduzierung der RFD festgestellt werden. Zum Ende des Untersuchungszeitraumes wurde bei den Tieren der Gruppe **CL < 24** die geringste RFD mit durchschnittlich $14,3 \pm 2,6$ mm RFD gemessen und bei den Tieren der Gruppe **CL > 58** wurden $15,4 \pm 2,6$ mm RFD gemessen.

Insgesamt konnte eine postpartale Rückenfettdickemobilisierung bei den Tieren der Gruppe **CL < 24** im Durchschnitt von 10,2 mm RFD gemessen werden, während die Tiere der Gruppe **CL > 58** eine RFD von 13,4 mm aufwiesen.

Jedoch reduzierte sich die RFD bei den Tieren der Gruppe **CL > 58** in den ersten zwei Wochen jeweils um zwei mm, während die Tiere der Gruppe **CL < 24** bis zur dritten Woche p.p. insgesamt vier mm Rückenfett mobilisierten. Die Mittelwertdifferenzen der RFD der Tiere beider Gruppen unterschieden sich nicht signifikant ($p = 0,58$) voneinander. Die Mittelwertdifferenzen der RFD verringerten sich jeweils von der letzten Woche vor der Abkalbung bis zur sechsten Woche p.p. über die Zeit in beiden Gruppen signifikant ($p < 0,01$).

4.2.2.2 Einteilung der Tiere nach der Rückenfettdicke eine Woche vor der Abkalbung

Die Entwicklung der RFD über den Untersuchungszeitraum der Tiere in den drei Gruppen ist in Abbildung 18 dargestellt.

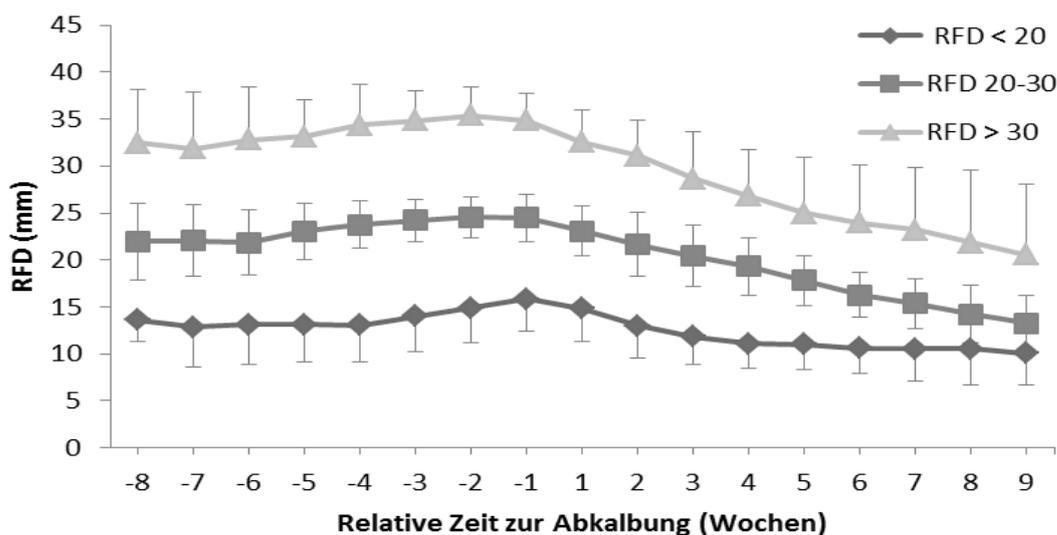


Abb. 18: Rückenfettdicke (MW \pm STABW) in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p. im Zeitraum von der achten Wochen a.p. bis zur neunten Wochen p.p. (Gruppe **RFD < 20**: n=6, **RFD 20-30**: n=13, **RFD > 30**: n=7)

Auffällig war eine hohe Varianz zwischen den Tieren. Die geringste RFD 1 Woche a.p. zeigte Kuh-Nr. 26 (Gruppe **RFD < 20**) mit 9 mm. Die Kuh-Nr. 5 (Gruppe **RFD > 30**) wies mit 38 mm die stärkste RFD 1 Woche a.p. auf. Zwischen den Gruppen zeigte sich ein annähernd gleicher Verlauf der Entwicklung der RFD über den Untersuchungszeitraum. Es wurde deutlich, dass es in allen drei Gruppen vom Zeitpunkt des Trockenstellens bis 1 Woche a.p. zu einer Zunahme der RFD kam. Nach der Abkalbung mobilisierten die Tiere aller drei Gruppen Rückenfett. Zum Ende des Untersuchungszeitraumes waren die Mittelwertdifferenzen zwischen den Gruppen geringer als zum Zeitpunkt des

Trockenstellens. Sie befanden sich in allen drei Gruppen unterhalb des Ausgangswertes zu Untersuchungsbeginn. Die Unterschiede der RFD der Gruppen wurden nicht berechnet, in Abbildung 19 ist die Signifikanz der Abnahmen der RFD sichtbar.

4.2.3 Rückenfettmobilisierung in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p.

In Abbildung 19 ist der Verlauf der Rückenfettmobilisierung nach der Abkalbung dargestellt. Die Gruppe **RFD < 20** hat über den Zeitraum von der Abkalbung bis zum Untersuchungsende die geringsten Abnahmen von $5,3 \pm 1,3$ mm zu verzeichnen. Nach der Abkalbung mobilisierten diese Tiere signifikant weniger ($p < 0,01$) Rückenfett als die Tiere der anderen Gruppen. Die Tiere der Gruppe **RFD 20-30** verringerten ihre RFD um $11,3 \pm 0,9$ mm im postpartalen Zeitraum. Die stärkste RFD-Reduzierung mit insgesamt $14,6 \pm 1,2$ mm fand bei den Tieren der Gruppe **RFD > 30** statt. In den ersten drei Wochen p.p. mobilisierten die Tiere der Gruppe **RFD < 20** von ihrem gesamten RFD-Abbau 69,9 %. Ab der vierten Woche p.p. erfolgte bei diesen Tieren keine weitere RFD-Mobilisierung. Bei der Betrachtung der Mittelwertdifferenzen der Abnahme der RFD ab der vierten Woche p.p. zeigten die Tiere der Gruppen **RFD < 20** und **RFD > 30** signifikante Unterschiede ($p < 0,03$). Ebenfalls ließen sich signifikante Unterschiede in den Mittelwertdifferenzen der Abnahme der RFD zwischen den Tieren der Gruppen **RFD 20-30** und **RFD > 30** ab der vierten Woche p.p. statistisch nachweisen ($p < 0,05$). Die Mittelwertdifferenzen der Abnahme der RFD zeigte zwischen den Tieren der Gruppen **RFD < 20** und **RFD 20-30** ab der sechsten Woche p.p. signifikante Unterschiede ($p < 0,03$).

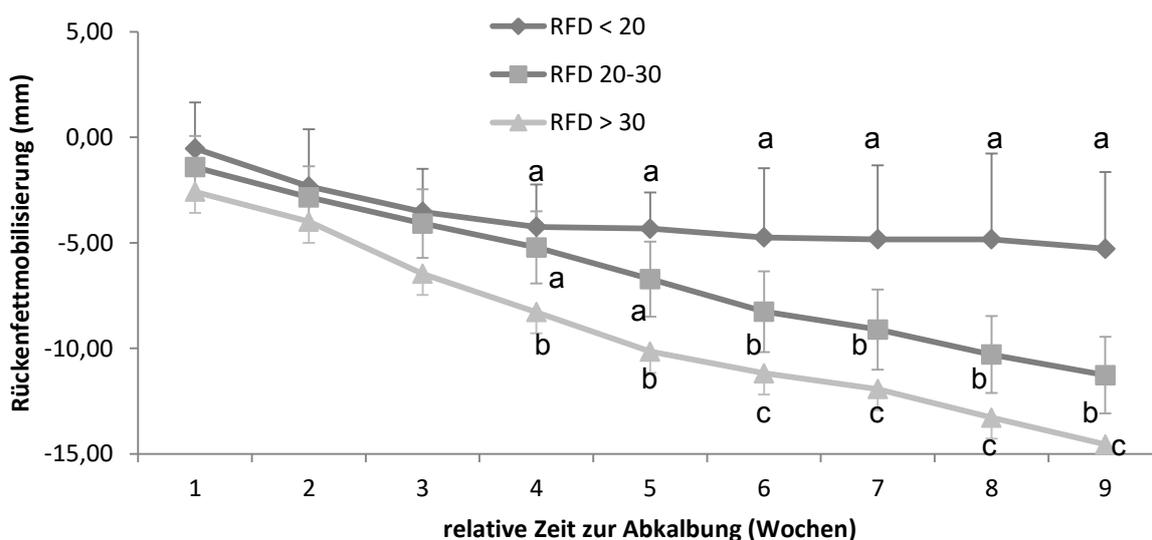


Abb.19: **Abnahme der RFD (MW±STABW) in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p. im Zeitraum von der ersten bis zur neunten Woche p.p.** (Gruppe **RFD < 20**: n=6, **RFD 20-30**: n=13, **RFD > 30**: n=7) a:c ($p < 0,03$), b:c ($p < 0,05$), a:b ($p < 0,03$)

4.2.4 Energiebilanz

Die Energiebilanzen wurden im Wochenmittel als „Nettoenergie für die Laktation“ (NEL) je Tag angegeben.

4.2.4.1 Die Energiebilanz in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p.

Bei der Analyse der Energiebilanz wurde in allen drei Gruppen ein ähnlicher Verlauf festgestellt. Zum Zeitpunkt des Trockenstellens lag die durchschnittliche Energiebilanz bei allen Tieren bei $17,5 \pm 3,1$ MJ NEL. Bis zur Abkalbung erhöhte sich die Energiebilanz geringfügig auf $23,0 \pm 3,3$ MJ NEL. Nach der Abkalbung reduzierte sich die Energiebilanz bei allen Tieren. In der zweiten Woche p.p. wiesen die Tiere der Gruppe **RFD > 30** mit $-77,1 \pm 10,2$ MJ NEL ihre durchschnittlich negativste Energiebilanz auf. Die Tiere der beiden anderen Gruppen zeigten ihre durchschnittlich negativste Energiebilanz in der dritten Woche p.p. ($-44,8 \pm 11,0$ MJ NEL bei den Tieren der Gruppe **RFD < 20** bzw. $-74,2 \pm 7,5$ MJ NEL bei den Tieren der Gruppe **RFD 20-30**). Insgesamt wurde die niedrigste Energiebilanz mit $-139,1$ MJ NEL in der dritten Woche p.p. wurde bei der Kuh-Nr. 20 aus der Gruppe **RFD < 20** festgestellt, während die kleinste negative Energiebilanz zu diesem Zeitpunkt die Kuh-Nr. 8 aus der Gruppe **RFD 20-30** mit $-11,3$ MJ NEL aufwies. In Abbildung 20 sind die Verläufe der Energiebilanz der einzelnen Gruppen dargestellt.

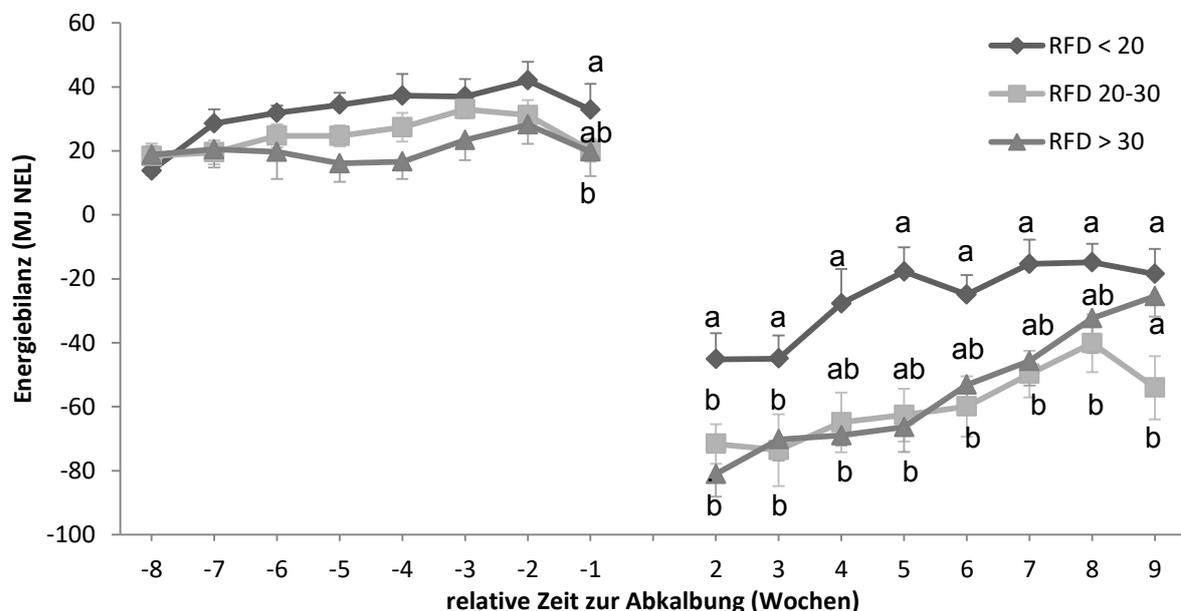


Abb. 20: Energiebilanz (MW \pm STABW) in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p. im Zeitraum von der achten Woche a.p. bis zur neunten Woche p.p. (Gruppe **RFD < 20**: n=6, **RFD 20-30**: n=13, **RFD > 30**: n=7); a:b (p < 0,05)

Eine kontinuierliche Verringerung des Energiedefizites von der Abkalbung bis zur neunten Woche p.p. konnte bei den Tieren der Gruppe **RFD > 30** beobachtet werden. Das Energiedefizit reduzierte sich um 68,2 % auf $-24,6 \pm 10,2$ MJ NEL. Bei den Tieren der Gruppen **RFD 20-30** verringerte sich die negative Energiebilanz von der dritten bis zur achten Woche p.p. fortlaufend um insgesamt 38,5 %, danach nahm die Energiebilanz erneut zu.

Die Mittelwertdifferenzen der Energiebilanzen im Untersuchungszeitraum vor der Abkalbung sind bei den Tieren der Gruppe **RFD < 20** mit $+32,2 \pm 8,5$ MJ NEL signifikant höher ($p < 0,01$) als bei den Tieren der Gruppe **RFD > 30** mit $+20,4 \pm 3,1$ MJ NEL. Die Mittelwertdifferenzen der Energiebilanzen der Tiere der Gruppe **RFD 20-30** lagen zwischen den Werten der Tiere der beiden anderen Gruppen. Nach der Abkalbung konnte ein signifikanter Abfall der Mittelwertdifferenzen der Energiebilanzen aller Tiere statistisch nachgewiesen werden ($p < 0,01$). In dem Untersuchungszeitraum nach der Abkalbung waren die Mittelwertdifferenzen der Energiebilanzen der Tiere der Gruppe **RFD < 20** mit $-26,4 \pm 7,1$ MJ NEL deutlich geringer ($p < 0,01$) als die der Tiere der beiden anderen Gruppen. Die Tiere der Gruppe **RFD 20-30** hatten eine mittlere Energiebilanz p.p. von $-59,6 \pm 4,8$ MJ NEL und die Tiere der Gruppe **RFD > 30** von $-53,4 \pm 6,6$ MJ NEL. In der neunten Woche p.p. wiesen die Mittelwertdifferenzen der Energiebilanzen der Tiere der Gruppe **RFD 20-30** signifikant ($p < 0,04$) geringere Energiebilanzen auf als die Tiere der beiden anderen Gruppen. Die Mittelwertdifferenzen der Energiebilanzen der Tiere der Gruppe **RFD < 20** unterschieden sich in den Wochen zwei, vier und fünf p.p. signifikant ($p < 0,03$) von denen der Tiere der Gruppe **RFD > 30**.

In den Wochen drei bis neun p.p. ergaben sich signifikante Unterschiede ($p < 0,03$) in den Mittelwertdifferenzen der Energiebilanzen der Tiere der Gruppen **RFD < 20** und **RFD 20-30**.

4.2.4.2 Energiebilanz in Abhängigkeit zur ersten lutealen Aktivität p.p.

Bei der Analyse der Energiebilanz wurde in beiden Gruppen ein ähnlicher Verlauf beobachtet (siehe Abbildung 21). Zum Zeitpunkt des Trockenstellens lag die durchschnittliche Energiebilanz bei den Tieren der Gruppe **CL < 24** und **CL > 58** bei $20,2 \pm 6,1$ MJ NEL. Bis zur zweiten Woche a.p. erhöhte sich die Energiebilanz auf $33,0 \pm 5,9$ MJ NEL. Ein Abfall der Energiebilanz konnte schon vor der Abkalbung bis zur zweiten Woche p.p. beobachtet werden. Nach der Abkalbung reduzierten sich die Energiebilanzen in den beiden Gruppen. Der mittlere durchschnittliche Tiefstwert trat in der zweiten Woche p.p. mit $-65,8 \pm 5,9$ MJ NEL auf. Eine Verringerung des Energiedefizites konnte bei den Kühen der Gruppe **CL > 58** bis zum Untersuchungsende festgestellt werden.

Die Tiere dieser Gruppe erreichten eine durchschnittliche Energiebilanz von $-22,7 \pm 8,3$ MJ NEL in der neunten Woche p.p., wohingegen bei den Kühen der Gruppe **CL < 24** eine Reduzierung der negativen Energiebilanz auf $-42,2 \pm 8,3$ MJ NEL bis zur achten Woche p.p. zu beobachten war und anschließend ein weiterer Abfall der Energiebilanz auf $-55,15 \pm 8,3$ MJ NEL bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes festgestellt wurde. Es ließ sich in der achten und neunten Woche p.p. ein statistischer Unterschied zwischen den Mittelwertdifferenzen der Energiebilanzen der Tiere der Gruppe **CL < 24** und den Tieren der Gruppe **CL > 58** feststellen ($p < 0,02$).

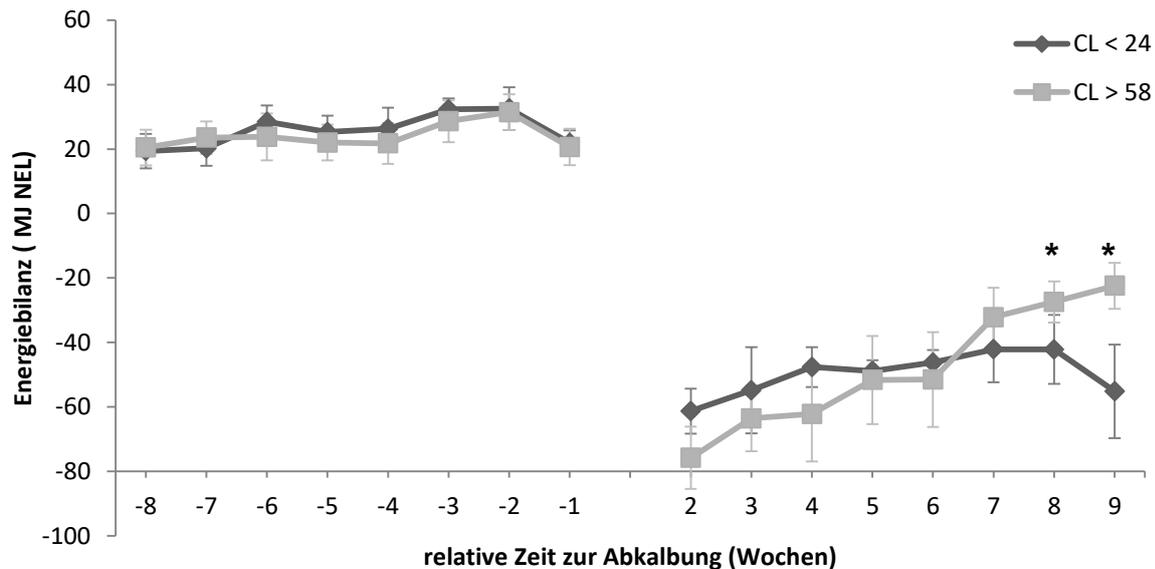


Abb. 21: **Energiebilanz (MW \pm STABW) in Abhängigkeit vom Einsetzen der lutealen Aktivität p.p. über den Untersuchungszeitraum von der achten Woche a.p. bis zur neunten Woche p.p.**

(Gruppe **CL < 24**: n= 8, Gruppe **CL > 58**: n= 8), * ($p < 0,02$)

4.2.5 Milchleistung

Zur Bestimmung der Milchleistung wurden die Milchdaten aller Kühe von der Abkalbung bis zum 60. Tag p.p. erfasst. Die Auswertung der Milchdaten erfolgte in zwei Parametern: Die Milchmengenleistung ist in Abbildung 22 und Abbildung 23 dargestellt und die ECM ist in Abbildung 24 und Abbildung 25 dargestellt.

Während des gesamten Untersuchungszeitraumes traten nur numerische Unterschiede der Mittelwertdifferenzen bezogen auf die Milchparameter zwischen den Gruppen auf. Es konnten keine signifikanten Unterschiede aufgezeigt werden.

4.2.5.1 Milchmengenleistung in Abhängigkeit zur RFD 1 Woche a.p.

Die 60-Tage-Milchleistung in der dritten Laktation betrug durchschnittlich $2691,2 \pm 384,3$ kg Milch und schwankte zwischen mindestens 1848,0 kg (Kuh-Nr. 3; Gruppe **RFD 20-30**) und maximal 3328,0 kg (Kuh-Nr. 12; Gruppe **RFD 20-30**).

Die Tiere der Gruppe **RFD < 20** wiesen die höchste durchschnittliche 60-Tage-Milchleistung mit $2767,2 \pm 312,2$ kg Milch auf, gefolgt von den Tieren der Gruppe **RFD > 30** mit $2695,0 \pm 389,8$ kg Milch und den Tieren der Gruppe **RFD 20-30** mit $2654,1 \pm 432,1$ kg Milch.

Die Milcheinsatzleistung schwankte zwischen maximal 52,8 kg (Kuh-Nr. 24; Gruppe **RFD > 30**) und minimal 28,0 kg (Kuh-Nr. 3; Gruppe **RFD 20-30**). Im Mittel lag die Milcheinsatzleistung bei den Kühen bei $42,5 \pm 1,5$ kg Milch/Tag, wobei sich die durchschnittlichen Mittelwertdifferenzen nicht signifikant von Null unterschieden. In den ersten Wochen p.p. stieg in allen drei Gruppen die Milchmengenleistung an.

Die Milchmengenhöchstwerte wurden in den Gruppen zu unterschiedlichen Zeitpunkten erreicht. Die Tiere der Gruppe **RFD < 20** erzielte mit $51,3 \pm 2,3$ kg Milch/Tier und Tag in der fünften Woche p.p. ihre höchste durchschnittliche Milchleistung, während die Tiere der Gruppe **RFD 20-30** mit $49,9 \pm 2,4$ kg Milch/Tier und Tag ihre höchste durchschnittliche Milchleistung in der sechsten Woche p.p. erreichten und die Tiere der Gruppe **RFD > 30** zeigte mit $49,4 \pm 2,4$ kg Milch/Tier und Tag in der siebten Woche p.p. ihre höchste durchschnittliche Milchleistung. Insgesamt erreichte die Kuh-Nr. 12 (Gruppe **RFD 20-30**) in der sechsten Woche p.p. mit 65,2 kg die höchste tägliche Milchmengenleistung im Wochenmittel. Zum Ende des Untersuchungszeitraumes reduzierte sich die Milchmengenleistung aller Tiere auf durchschnittlich $47,6 \pm 1,5$ kg Milch/Tier und Tag. Bezogen auf den gesamten Untersuchungszeitraum lag die höchste durchschnittliche tägliche Milchmenge mit $48,5 \pm 2,8$ kg bei den Tieren der Gruppe **RFD 20-30**, gefolgt von der durchschnittlichen Tagesmilchleistung mit $47,1 \pm 2,5$ kg Milch/Tier und Tag in der Gruppe **RFD < 20** und $47,2 \pm 1,9$ kg Milch/Tier und Tag bei den Tieren der Gruppe **RFD > 30**.

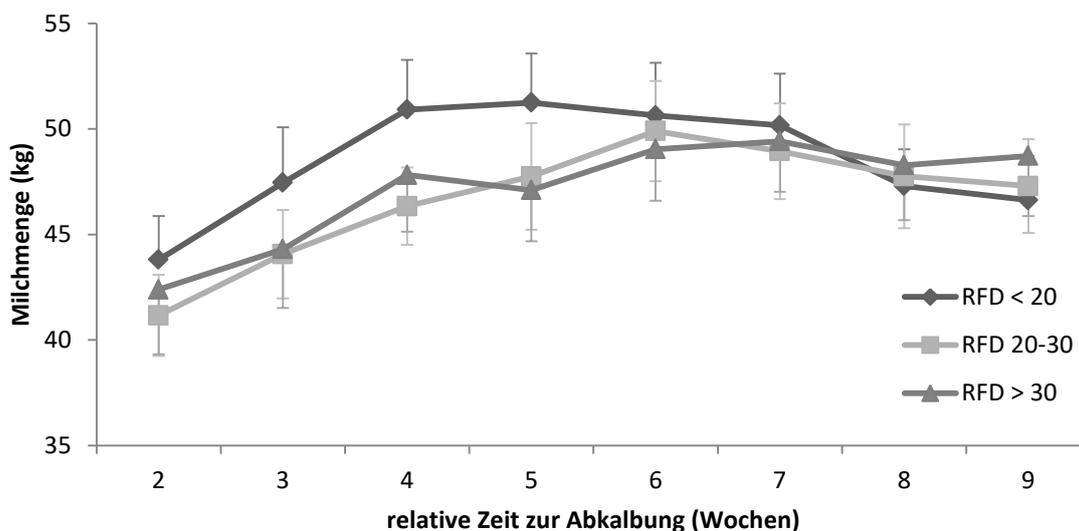


Abb. 22: **Milchmengenleistung (MW±STABW) in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p. im Zeitraum von der zweiten bis zur neunten Woche p.p.** (Gruppe **RFD < 20**: n=6, **RFD 20-30**: n=13, **RFD > 30**: n=7)

4.2.5.2 Milchmengeleistung in Abhängigkeit zur ersten lutealen Aktivität p.p.

Die Tiere der Gruppe **CL < 24** wiesen eine 60-Tage-Milchleistung von $2335,7 \pm 142,2$ kg Milch auf, während die Tiere der Gruppe **CL > 58** bezogen auf die 60-Tage-Milchleistung 6,3% mehr Milch erzeugten ($2493,2 \pm 151,9$ kg).

Der Verlauf der Milchmengenkurven verlief in den beiden Gruppen ähnlich. In der zweiten Woche p.p. wurde in beiden Gruppen die niedrigste Milchmengeleistung festgestellt. Danach stieg in beiden Gruppen die Milchmengeleistung bis zur sechsten Woche p.p. an. Die Tiere der Gruppe **CL < 24** erzielten eine durchschnittliche Milchmengenleistung von $48,0 \pm 2,8$ kg/Tag und die Tiere der Gruppe **CL > 58** von $48,9 \pm 2,8$ kg/Tag. Ab der siebten Woche p.p. kam es in der Gruppe **CL > 58** zu keiner weiteren Steigerung der Milchleistung. Bei den Tieren der Gruppe **CL < 24** reduzierte sich die durchschnittliche Milchmengeleistung zum Untersuchungsende hin um 6,8 %.

Bezogen auf den gesamten Untersuchungszeitraum lag die durchschnittliche Milchmenge der Tiere der Gruppe **CL < 24** mit $45,0 \pm 2,6$ kg Milch/Tag unter der durchschnittlichen Milchmenge von den Kühen der Gruppe **CL > 58** mit $47,1 \pm 2,6$ kg/Tag. Die durchschnittlichen Mittelwertdifferenzen unterschieden sich nicht signifikant ($p = 0,6$). Bezogen auf die Zeit stiegen die Mittelwertdifferenzen der Milchmengeleistung von der zweiten auf die dritte Woche p.p. und von der dritten auf die vierte Wochen p.p. signifikant an ($p < 0,02$).

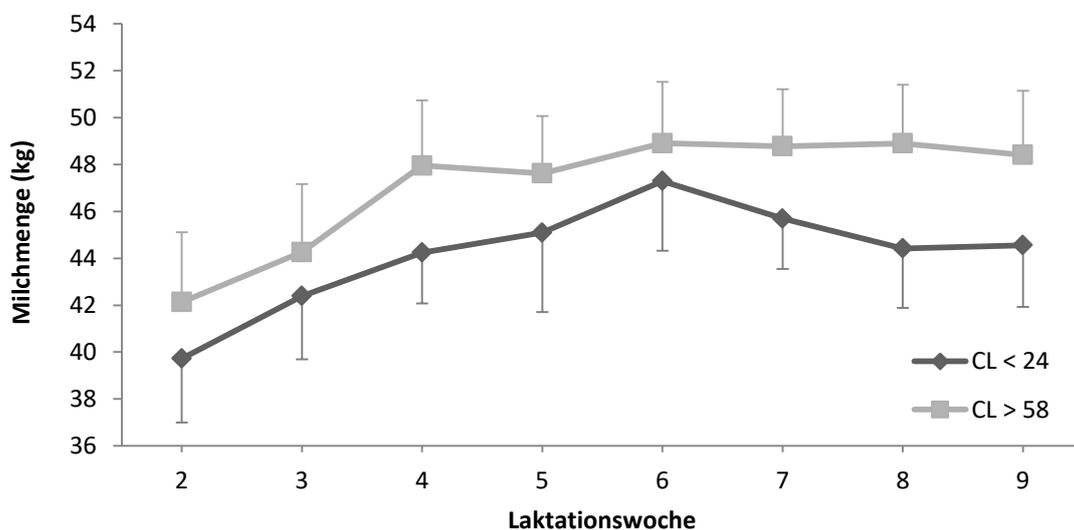


Abb. 23: **Milchmengeleistung (MW \pm STABW) in Abhängigkeit vom Einsetzen der lutealen Aktivität p.p. von der zweiten bis zur neunten Woche p.p.** (Gruppe **CL < 24**: n= 8, Gruppe **CL > 58**:n= 8)

4.2.5.3 ECM in Abhängigkeit zur RFD 1 Woche a.p.

Im Mittel gaben die Kühe im Untersuchungszeitraum in der Gruppe **RFD 20-30** $45,8 \pm 3,1$ kg ECM/Tag, in der Gruppe **RFD < 20** waren es $46,5 \pm 2,9$ kg ECM/Tag und in der Gruppe **RFD > 30** lag die tägliche ECM bei $46,8 \pm 2,1$ kg. Die Einsatzleistung, wiedergegeben in ECM in der zweiten Laktationswoche, lag bei $45,7 \pm 1,8$ kg ECM/Tag und stieg um 2,0 kg bis zur sechsten Laktationswoche auf $47,7 \pm 1,8$ kg ECM/Tag an. Zu Ende des Untersuchungszeitraumes fiel die durchschnittliche ECM auf $45,3 \pm 1,8$ kg/Tag ab. Die Mittelwertdifferenzen der ECM variierten im Untersuchungszeitraum von mindestens 28,4 kg ECM in der zweiten Laktationswoche (Kuh-Nr. 3; Gruppe **RFD 20-30**) bis maximal 66,7 kg ECM in der dritten Laktationswoche (Kuh-Nr. 12; Gruppe **RFD 20-30**). Während des gesamten Untersuchungszeitraumes traten keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,94$) der Mittelwertdifferenzen zwischen den Gruppen auf.

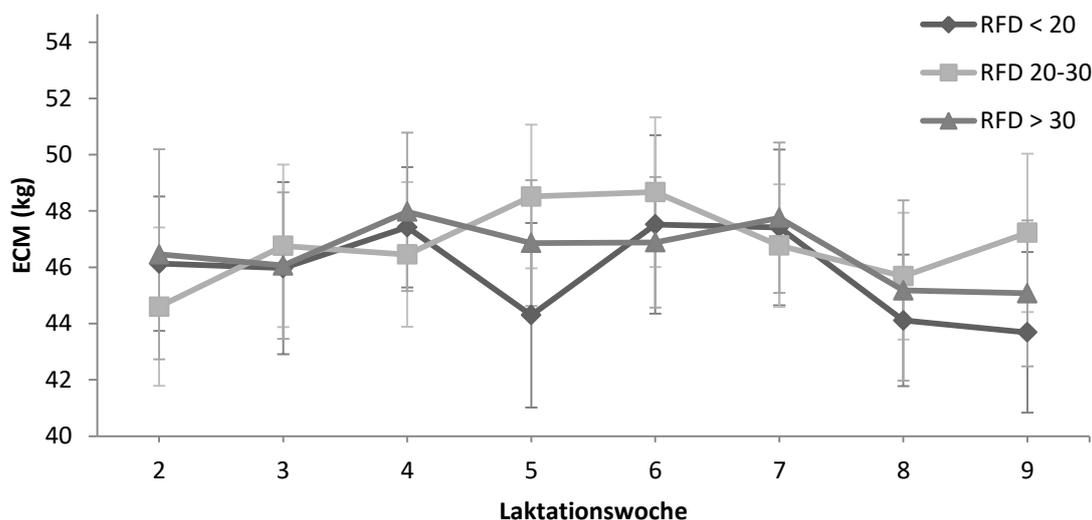


Abb. 24: **ECM (MW±STABW) in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p. im Zeitraum von der zweiten bis zur neunten Woche p.p.**
(Gruppe **RFD < 20**: n=6, **RFD 20-30**: n=13, **RFD > 30**: n=7)

4.2.5.4 ECM in Abhängigkeit zur ersten lutealen Aktivität p.p.

In Abbildung 25 ist der Verlauf der ECM der beiden Gruppen über den Untersuchungszeitraum dargestellt. Die Milcheinsatzleistung lag bei den Tieren der Gruppe **CL < 24** bei $41,6 \pm 3,3$ kg/Tag und bei den Tieren der Gruppe **CL > 58** bei $47,5 \pm 3,3$ kg/Tag. Während ein Anstieg der ECM bei den Kühen der Gruppe **CL < 24** bis zur sechsten Woche p.p. zu beobachten war, schwankte die ECM bei den Tieren der Gruppe **CL > 58** über den Untersuchungszeitraum um durchschnittlich $46,8 \pm 2,9$ kg ECM. Der höchste ECM-Wert in dieser Gruppe lag bei $57,2$ kg/Tag (Kuh-Nr. 24; Gruppe **CL > 58**) in der siebten Woche p.p.. Der niedrigste Wert von $28,9$ kg/Tag (Kuh-Nr. 6; Gruppe **CL > 58**) war in der fünften Woche p.p. zu beobachten. In der Gruppe **CL < 24** erreichte die Kuh-Nr. 12 mit $66,7$ kg/Tag die höchste durchschnittliche ECM-Leistung (in der dritten Woche p.p.). Der niedrigste durchschnittliche ECM-Wert betrug $25,9$ kg/Tag in der vierten Woche p.p. bei der Kuh-Nr. 3 (Gruppe **CL < 24**). Während des gesamten Untersuchungszeitraumes traten weder signifikante Unterschiede ($p = 0,5$) der Mittelwertdifferenzen der ECM innerhalb der Gruppen noch zwischen den Gruppen auf.

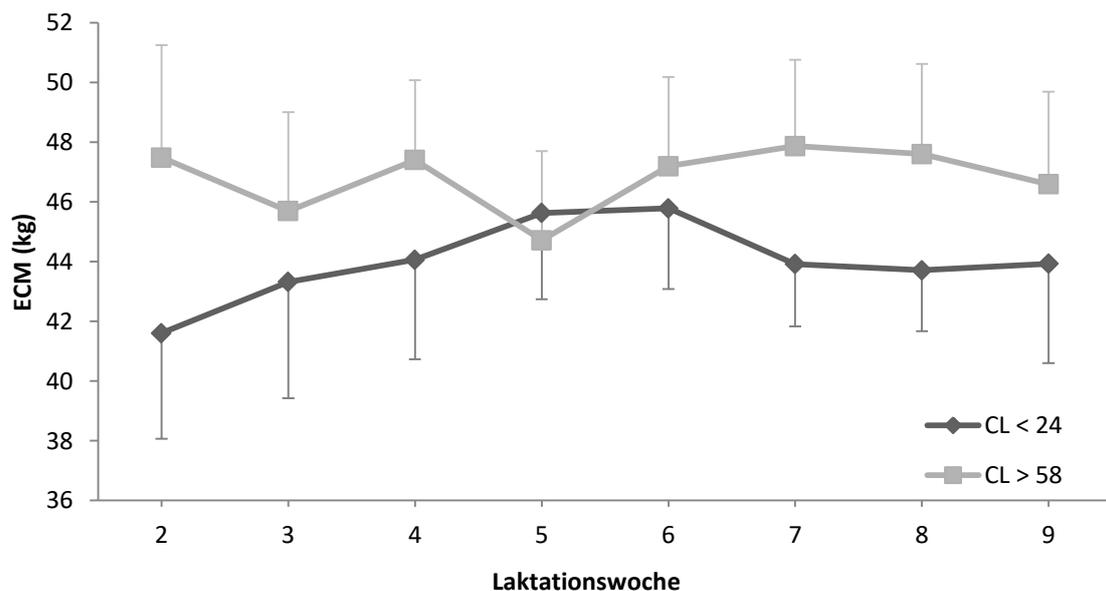


Abb. 25: **ECM (MW \pm STABW) in Abhängigkeit vom Einsetzen der lutealen Aktivität p.p. über den Untersuchungszeitraum von der zweiten bis zur neunten Woche p.p.**
(Gruppe **CL < 24**: n= 8, Gruppe **CL > 58**:n= 8)

4.2.6 Trockensubstanzaufnahme (TSA)

4.2.6.1 TSA in Abhängigkeit zur RFD 1 Woche a.p.

Alle Tiere zeigten im Untersuchungszeitraum einen gleichartigen Verlauf der TSA. Abbildung 26 zeigt die Entwicklung der TSA der Tiere der drei Gruppen über den Untersuchungszeitraum.

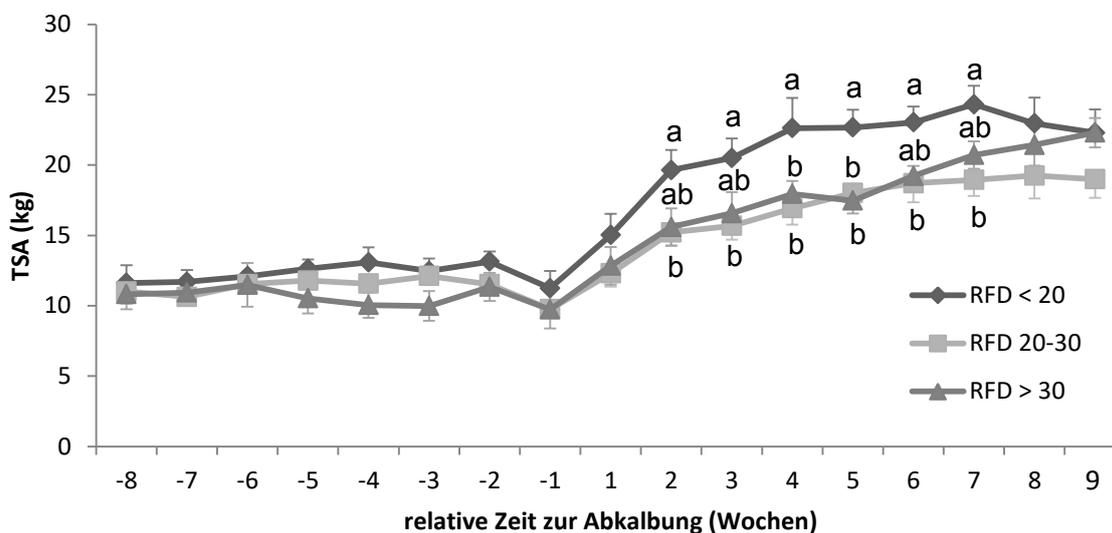


Abb. 26: **TSA (MW \pm STABW) in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p. im Zeitraum von der achten Wochen a.p. bis zur neunten Wochen p.p.**
(Gruppe **RFD < 20**: n=6, **RFD 20-30**: n=13, **RFD > 30**: n=7, a:b ($p < 0,05$))

Vom Trockenstellen bis zur Vorbereitungsfütterung (3. Woche a.p.) hatten die Tiere durchschnittlich $11,4 \pm 0,3$ kg TS/Tag aufgenommen. Dabei variierte die TSA einzelner Tiere zwischen minimal $6,0$ kg TS/Tag (Kuh-Nr. 2; Gruppe **RFD > 30**) und maximal $15,7$ kg TS/Tag (Kuh-Nr. 10; Gruppe **RFD 20-30**). In der Phase der Vorbereitungsfütterung wurden durchschnittlich $11,3 \pm 0,9$ kg TS/Tag aufgenommen. In der letzten Woche vor der Abkalbung reduzierte sich die TSA um durchschnittlich $16,6$ %. Nach der Abkalbung stieg die TSA bis zur maximalen TSA in der siebten Woche p.p. auf durchschnittlich $21,3 \pm 2,7$ kg TS/Tag an. Die Kuh-Nr. 17 (Gruppe **RFD 20-30**) zeigte mit $31,0$ kg die höchste TSA, während die Kuh-Nr. 3 (Gruppe **RFD 20-30**) zu diesem Zeitpunkt mit $13,9$ kg die geringste durchschnittliche TSA aufwies. Signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwertdifferenzen in der TSA ließen sich über die Zeit in folgenden Zeitabschnitten statistisch erkennen: Vor der Abkalbung auf die 1. Woche p.p., von der 1. Woche p.p. auf die 2. Woche p.p. und von der 3. Woche p.p. auf die 4. Woche p.p.) ($p < 0,01$).

Insgesamt hatte die Tiere der Gruppe **RFD < 20** p.p. mit durchschnittlich $21,4 \pm 1,2$ kg TS/Tag die höchste TSA. In der Gruppe **RFD > 30** lag die durchschnittliche TSA bei $18,2 \pm 1,1$ kg TS/Tag und bei der Gruppe **RFD 20-30** bei durchschnittlich $17,1 \pm 0,8$ kg TS/Tag.

Aus der Mittelwertdifferenz der TSA ergeben sich signifikante Unterschiede zwischen den Tieren der Gruppe **RFD < 20** und **RFD 20-30** in den Wochen zwei bis sieben nach der Abkalbung ($p < 0,03$). Die Mittelwertdifferenz der TSA der Tieren der Gruppe **RFD < 20** und der Tiere der Gruppe **RFD > 30** unterschieden sich in Woche vier und fünf p.p. signifikante ($p < 0,04$).

4.2.6.2 Trockensubstanzaufnahme in Abhängigkeit zur ersten lutealen Aktivität p.p.

Die Tiere beider Gruppen (Gruppe **CL < 24** und **CL > 58**) zeigten zu Untersuchungsbeginn eine annähernd gleiche TSA. Sie nahmen in dieser Phase durchschnittliche $11,4 \pm 0,9$ kg TS/Tag auf. Eine Woche vor der Abkalbung war ein Abfall der TSA um 13,5 % auf $9,8 \pm 0,9$ kg TS/Tag zu beobachten. Danach war ein Anstieg der TSA bis zur sechsten Woche p.p. auf $19,3 \pm 0,9$ kg TS/Tag festzustellen. Zu diesem Zeitpunkt erreichten die Tiere der Gruppe **CL < 24** ihre durchschnittlich maximale TSA von $19,39 \pm 1,27$ kg/Tag, während bei den Tieren der Gruppe **CL > 58** eine weitere Zunahme der TSA beobachtet wurde. Die maximale durchschnittliche TSA stieg in dieser Gruppe bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes auf $23,1 \pm 1,3$ kg TS/Tag an, wohingegen es bei den Tieren der Gruppe **CL < 24** ab der siebten Woche p.p. zur Reduktion der TSA kam. Abbildung 27 zeigt die Entwicklung der TSA der Tiere der beiden Gruppen.

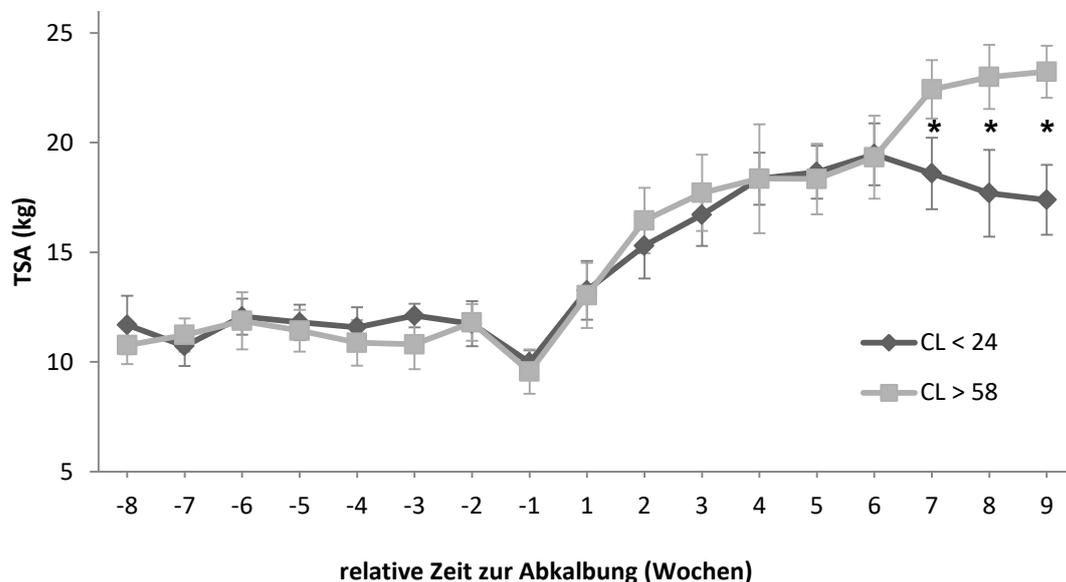


Abb. 27: **TSA (MW \pm STABW) in Abhängigkeit von der lutealen Aktivität p.p.im Zeitraum von der achten Wochen a.p. bis zur neunten Wochen p.p.** (Gruppe **CL < 24**: n= 8, Gruppe **CL > 58**: n= 8), * $p < 0,01$

Zum Ende des Untersuchungszeitraumes nahmen diese Tiere durchschnittlich $17,49 \pm 1,27$ kg TS/Tag auf. Die höchste mittlere TSA im Untersuchungszeitraum erreichte die Kuh-Nr. 21 (Gruppe **CL > 58**) mit 30,0 kg TS/Tag in der achten Woche p.p., während die

niedrigste TSA zu diesem Zeitpunkt bei 9,96 kg TS/Tag (Kuh-Nr. 18; Gruppe **CL < 24**) lag. Die Mittelwertdifferenzen der TSA der Tiere der Gruppe **CL < 24** waren ab der siebten Woche p.p. signifikant niedriger ($p < 0,03$) als die der Tiere der Gruppe **CL > 58**. Bezogen auf die Zeit reduzierten sich die Mittelwertdifferenzen der TSA vor der Abkalbung signifikant ($p < 0,01$), während sich die Mittelwertdifferenzen zur zweiten Wochen p.p. wieder signifikant ($p < 0,01$) erhöhten.

4.2.7 Leberfettgehalt

4.2.7.1 Leberfettgehalt in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p.

Für die Beurteilung der Stoffwechsellage während des Untersuchungszeitraumes wurde der Leberfettgehalt in der TS des Lebergewebes ermittelt. Von den 156 geplanten Leberbiopsien konnten 93,0 % erfolgreich durchgeführt und analysiert werden. Bei 80,8 % der Kühe konnten alle sechs vorgesehenen Leberbiopsien entnommen werden. Abbildung 28 zeigt die Leberfettgehalte in der TS der Tiere der drei Gruppen über den Untersuchungszeitraum.

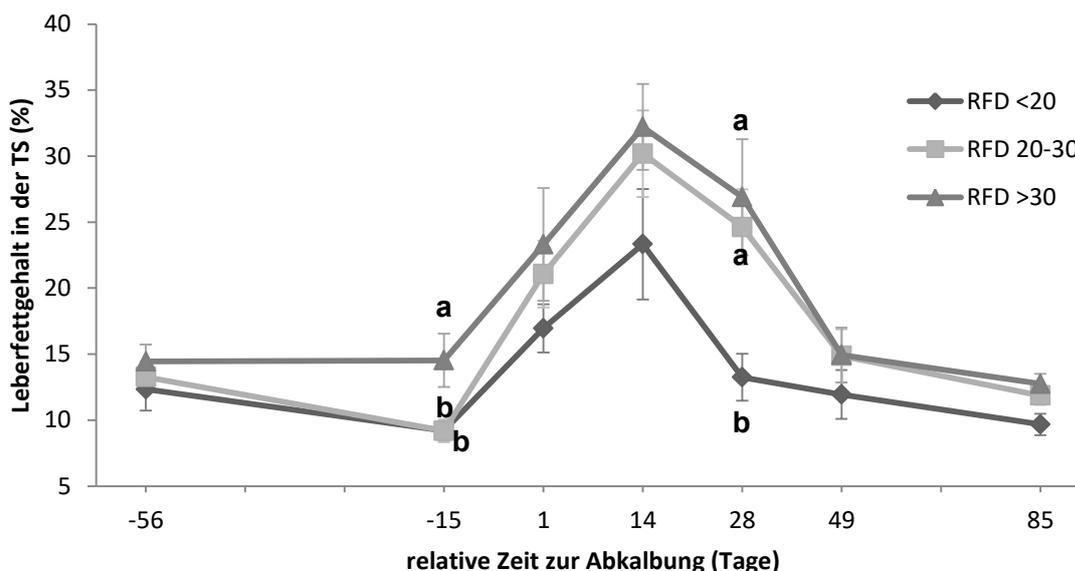


Abb. 28: **Leberfettgehalt in der TS (MW±STABW) in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p. im Zeitraum von 56 Tag a.p. bis zum 85 Tag p.p.** (Gruppe **RFD < 20**: n=6, **RFD 20-30**: n=13, **RFD > 30**: n=7), a:b ($p \leq 0,05$)

Zum Zeitpunkt des Trockenstellens wiesen alle Kühe einen annähernd gleichen Leberfettgehalt von $13,4 \pm 1,1$ % auf. Mit Annäherung an die Abkalbung sank der durchschnittliche Leberfettgehalt. Die niedrigste Leberfettkonzentration wurde mit 3,9 % (Kuh-Nr. 3; Gruppe **RFD 20-30**) am 15. Tag a.p. festgestellt. Die Mittelwerte des Leberfettgehaltes in der TS war bei den Tieren der Gruppe **RFD < 20** mit $9,19 \pm 0,70$ % am 15. Tag a.p. am niedrigsten im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen. Nach der Abkalbung bis zum 14. Tag p.p. stieg der Leberfettgehalt der Tiere in allen drei Gruppen um

über 220 % auf ihren Maximalwert an. Bei den Tieren der Gruppe **RFD 20-30** wurde in diesem Zeitraum ein durchschnittlicher Anstieg um 330 % auf $30,4 \pm 3,3$ % festgestellt. Die durchschnittliche Konzentration des Leberfettgehaltes war von der Abkalbung bis zum 14. Tag p.p. bei den Tieren der Gruppe **RFD < 20** weniger stark ausgeprägt ($23,3 \pm 4,2$ %). Zum Ende des Untersuchungszeitraumes erreichten die Tiere dieser Gruppen mit durchschnittlich $13,9 \pm 1,7$ % Leberfett in der TS in etwa wieder das Ausgangsniveau. Die Tiere der Gruppe **RFD > 30** hatten über den gesamten Untersuchungszeitraum einen durchschnittlichen Leberfettgehalt von $21,1 \pm 3,6$ %. Die Tiere der Gruppe **RFD 20-30** wiesen über den Untersuchungszeitraum durchschnittlich einen Leberfettgehalt von $19,0 \pm 3,7$ % auf. Mit $14,5 \pm 2,6$ % hatten die Tiere der Gruppe **RFD < 20** über den Untersuchungszeitraum durchschnittlich die geringsten Leberfettgehalte. Die Mittelwertdifferenzen des Leberfettgehaltes der Tiere der Gruppe **RFD > 30** waren am Tag 15. a.p. signifikant ($p < 0,02$) höher als die der Tiere der beiden anderen Gruppen, während die Mittelwertdifferenzen des Leberfettgehaltes der Tiere der Gruppe **RFD < 20** am 14. Tag p.p. signifikant ($p < 0,02$) niedriger waren als die der Tiere aus den beiden anderen Gruppen. Am 85. Tag p.p. erreichen alle Tiere wieder annähernd ihre Ausgangswerte.

4.2.7.2 Leberfettgehalt in Abhängigkeit zur ersten lutealen Aktivität p.p.

In Abbildung 29 ist der mittlere Konzentrationsverlauf des Leberfetts in der TS der beiden Gruppen über den Untersuchungszeitraum dargestellt.

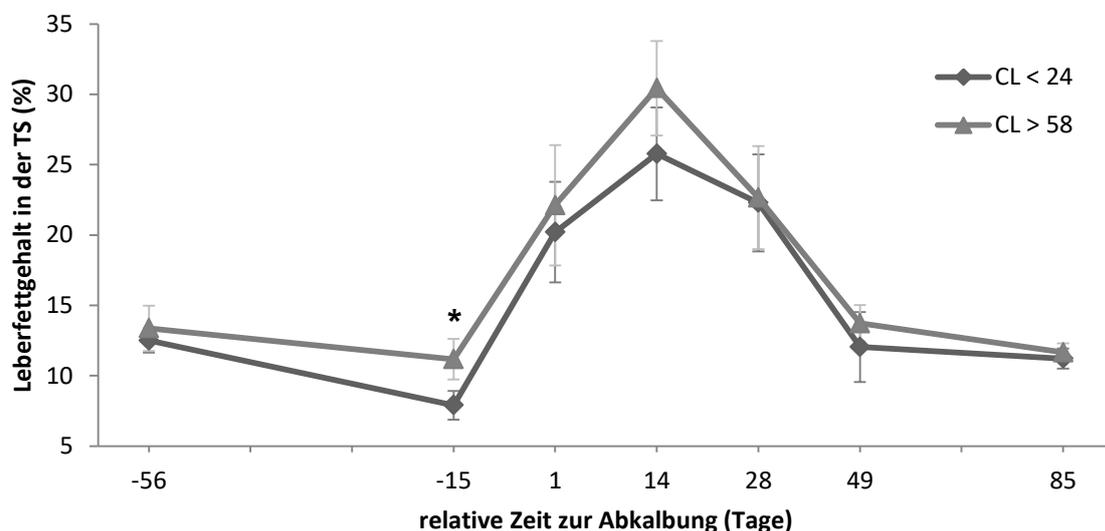


Abb. 29: **Leberfettgehalt in der TS (MW±STABW) in Abhängigkeit von der lutealen Aktivität p.p. über den Untersuchungszeitraum vom 56 Tag a.p. bis zum 85 Tag p.p.**

(Gruppe **CL < 24**: n= 8, Gruppe **CL > 58**: n= 8), * $p \leq 0,05$

In der Woche des Trockenstellens (am Tag 56 a.p.) wiesen die Tiere der Gruppe **CL < 24** einen Leberfettgehalt von $12,5 \pm 4,3$ % auf, während die Tiere der Gruppe **CL > 58** einen

durchschnittlichen Leberfettgehalt von $13,4 \pm 4,5$ % aufwiesen. Mit Annäherung an die Abkalbung reduzierte sich in beiden Gruppen der durchschnittliche Leberfettgehalt.

Die niedrigsten mittleren Leberfettkonzentrationen wurden am 15. Tag a.p. festgestellt. Die Tiere der Gruppe **CL < 24** zeigte durchschnittlich Werte von $7,9 \pm 4,3$ %, die sich signifikant von den Werten der Kühe der Gruppe **CL > 58** mit $11,2 \pm 4,5$ % unterschieden ($p \leq 0,05$).

Danach wurde ein Anstieg des Leberfettgehalts in beiden Gruppen beobachtet. Am 14. Tag p.p. erreichten beide Gruppen die maximalen durchschnittlichen Leberfettgehalte mit $25,8 \pm 4,3$ % in der Gruppe **CL < 24** bzw. $33,2 \pm 4,5$ % in der Gruppe **CL > 58**. Nach dem 14. Tag p.p. reduzierten sich die Leberfettgehalte. Zum Ende des Untersuchungszeitraumes erreichten die Tiere beider Gruppen mit durchschnittlich $13,4$ % \pm $3,1$ % Fett/TS in etwa wieder das Ausgangsniveau. Die durchschnittliche Leberfettkonzentration über den gesamten Untersuchungszeitraumes war bei der Tieren der Gruppe **CL < 24** mit $16,8 \pm 2,9$ % geringer als bei den Tieren der Gruppe **CL > 58** mit $17,8 \pm 3,0$ %.

Die Mittelwertdifferenzen des Leberfettgehaltes zeigten keine signifikanten Gruppenunterschiede ($p = 0,1$). Über die Zeit gesehen ergaben sich in den Mittelwertdifferenzen des Leberfettgehaltes signifikante Unterschiede ($p < 0,01$).

4.2.8 Freie nicht veresterte Fettsäuren im Blut

4.2.8.1 NEFA-Konzentration im Blut in Abhängigkeit zur RFD 1 Woche a.p.

Bei der Analyse der NEFA-Konzentrationen wurde bei den Tieren in allen drei Gruppen ein ähnlicher Verlauf festgestellt, der in Abbildung 30 dargestellt wird. Zum Zeitpunkt des Trockenstellens (Tag 58 a.p.) lagen die durchschnittliche NEFA-Konzentrationen aller Tiere der drei Gruppen bei $517 \pm 86,3$ $\mu\text{mol/l}$. Jedoch variierten die Werte zu diesem Zeitpunkt von 98 $\mu\text{mol/l}$ (Kuh-Nr. 11; Gruppe **RFD 20-30**) bis 1.577 $\mu\text{mol/l}$ (Kuh-Nr. 14; Gruppe **RFD 20-30**). In den folgenden Wochen reduzierte sich die NEFA-Konzentration auf Minimalwerte von durchschnittlich $141,0 \pm 18,2$ $\mu\text{mol/l}$.

Die Tiere der Gruppe **RFD < 20** wiesen mit durchschnittlich $87,6 \pm 18,1$ $\mu\text{mol/l}$ und die Tiere der Gruppe **RFD 20-30** mit $143,1 \pm 79,4$ $\mu\text{mol/l}$ am Tag 15 a.p. die geringste Konzentrationen an freien Fettsäuren auf. An Tag 8 a.p. wurden die niedrigsten durchschnittliche Konzentrationen mit $167,3 \pm 82,2$ $\mu\text{mol/l}$ bei den Tieren der Gruppe **RFD > 30** gemessen. Bereits vor der Abkalbung stiegen die NEFA-Konzentrationen bei den Tieren der Gruppen **RFD 20-30** bis Tag 7 p.p. auf $1045,3 \pm 91,2$ $\mu\text{mol/l}$ an. Bei den beiden anderen Gruppen nahmen die NEFA-Konzentrationen von vor der Abkalbung bis zum 14. Tag p.p. zu. Die Kuh-Nr. 5 (Gruppe **RFD > 30**) erreichte den höchsten Wert von 1.869 $\mu\text{mol/l}$ an Tag 14 p.p.. Zum Ende des Untersuchungszeitraums reduzierten sich die NEFA-Konzentrationen bei den Tieren aller Gruppen auf durchschnittlich $234 \pm 71,5$ $\mu\text{mol/l}$.

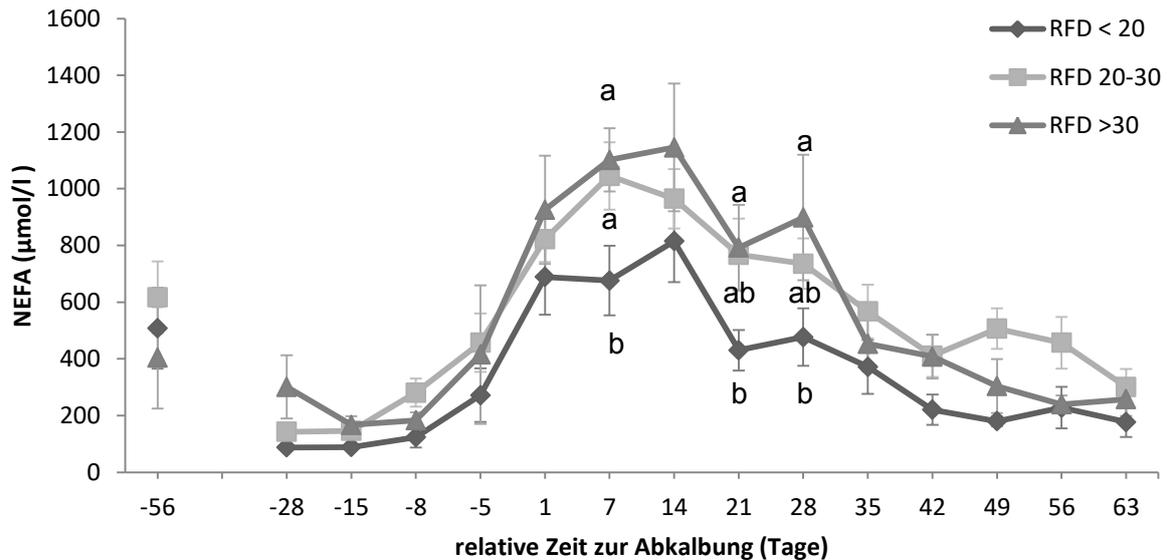


Abb. 30: **NEFA-Konzentrationen (MW±STABW) im Blut in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p. über den Untersuchungszeitraum** (Gruppe **RFD < 20**: n=6, **RFD 20-30**: n=13, **RFD > 30**: n=7), a:b (p < 0,05)

Im Untersuchungszeitraum waren die Mittelwertdifferenzen der mittleren NEFA-Konzentrationen bei den Tieren in der Gruppe **RFD < 20** mit $377,2 \pm 63,5 \mu\text{mol/l}$ signifikant geringer als in den beiden anderen Gruppen ($p < 0,01$). Die Tiere der Gruppe **RFD 20-30** zeigten mittlere NEFA-Konzentrationen von $630,0 \pm 39,5 \mu\text{mol/l}$ und die Tiere der Gruppe **RFD > 30** von $622,9 \pm 53,9 \mu\text{mol/l}$. In allen Gruppen war der Anstieg der Mittelwertdifferenzen der NEFA-Konzentrationen von vor der Abkalbung bis zur ersten Woche p.p (Tag 7 p.p.) signifikant ($p < 0,01$) ausgeprägt. In der ersten Woche p.p. ließen sich Unterschiede in den Mittelwertdifferenzen der NEFA-Konzentrationen bei den Tieren der Gruppe **RFD < 20** zu den Tieren der Gruppe **RFD 20-30** ($p < 0,03$) und zu den Mittelwertdifferenzen der NEFA-Konzentrationen der Tiere der Gruppe **RFD > 30** ($p < 0,02$) statistisch nachweisen. An den Tagen 21 und 28 p.p. waren die Mittelwertdifferenzen der NEFA-Konzentrationen der Tiere der Gruppe **RFD < 20** signifikant niedriger als die der Tiere der Gruppe **RFD > 30** ($p < 0,05$ bzw. $p < 0,02$).

4.2.8.2 NEFA-Konzentrationen im Blut in Abhängigkeit zur ersten lutealen Aktivität p.p.

Bei der Analyse der NEFA-Konzentrationen wurde in beiden Gruppen ein ähnlicher Verlauf festgestellt, der in Abbildung 31 gezeigt wird.

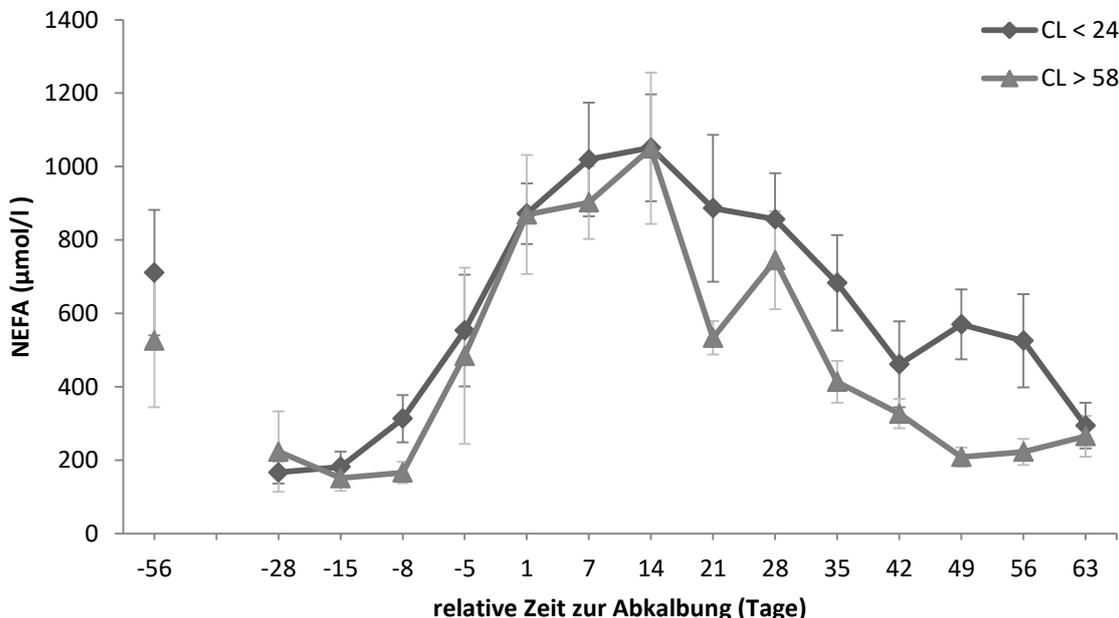


Abb. 31: **NEFA-Konzentrationen (MW±STABW) im Blut in Abhängigkeit von der lutealen Aktivität p.p. über den Untersuchungszeitraum** (Gruppe **CL < 24**: n= 8, Gruppe **CL > 58**: n= 8)

Zum Zeitpunkt des Trockenstellens lagen die durchschnittlichen NEFA-Konzentrationen bei den Tieren in den Gruppen bei $618,2 \pm 88,4 \mu\text{mol/l}$. In den folgenden Wochen reduzierten sich bei den Tieren beider Gruppen die NEFA-Konzentrationen. Bei den Tieren der Gruppe **CL > 58** waren die niedrigsten NEFA-Konzentrationen mit $149,0 \pm 125,0 \mu\text{mol/l}$ an Tag 15 a.p. zu beobachten. Die Tiere der Gruppe **CL < 24** erreichten ihre durchschnittlich tiefsten Werte an Tag 28 a.p. mit $165,1 \pm 133,0 \mu\text{mol/l}$. Danach war in beiden Gruppen ein Anstieg der NEFA-Konzentrationen von 645 % auf $1.050,5 \pm 88,4 \mu\text{mol/l}$ bis zum Tag 14 p.p. zu messen. Zum Ende des Untersuchungszeitraums reduzierten sich die NEFA-Konzentrationen bei den Tieren beider Gruppen auf durchschnittlich $293,83 \pm 91,3 \mu\text{mol/l}$. Jedoch zeigten sich an Tag 49 und 56 p.p. Anstiege der NEFA-Konzentrationen bei den Kühen der Gruppe **CL < 24**. Über den gesamten Untersuchungszeitraum gesehen waren die Mittelwertdifferenzen der mittleren NEFA-Konzentrationen bei den Tieren der Gruppe **CL < 24** mit $619,4 \pm 44,3 \mu\text{mol/l}$ tendenziell ($p = 0,05$) höher als bei den Tieren der Gruppe **CL > 58** mit $495,7 \pm 44,1 \mu\text{mol/l}$. In beiden Gruppen war der Anstieg der Mittelwertdifferenzen der NEFA-Konzentrationen von Tag 15 a.p. bis zur Abkalbung signifikant ($p < 0,05$) ausgeprägt.

Des Weiteren waren bei den Tieren der Gruppe **CL > 58** der Abfall der Mittelwertdifferenzen der NEFA-Konzentrationen von Tag 14 p.p. auf Tag 21 p.p. und von Tag 28 p.p. auf Tag 35 p.p. signifikant ($p < 0,05$).

4.2.9 Glucosekonzentrationen im Blut

4.2.9.1 Blut-Glucosekonzentration in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p.

Vom Trockenstellen bis zur Abkalbung wiesen alle Tiere eine durchschnittliche Glucosekonzentration von $3,9 \pm 0,6$ mmol/l im Blutserum auf. Der Verlauf der Gruppenmittelwerte ist in Abbildung 32 dargestellt.

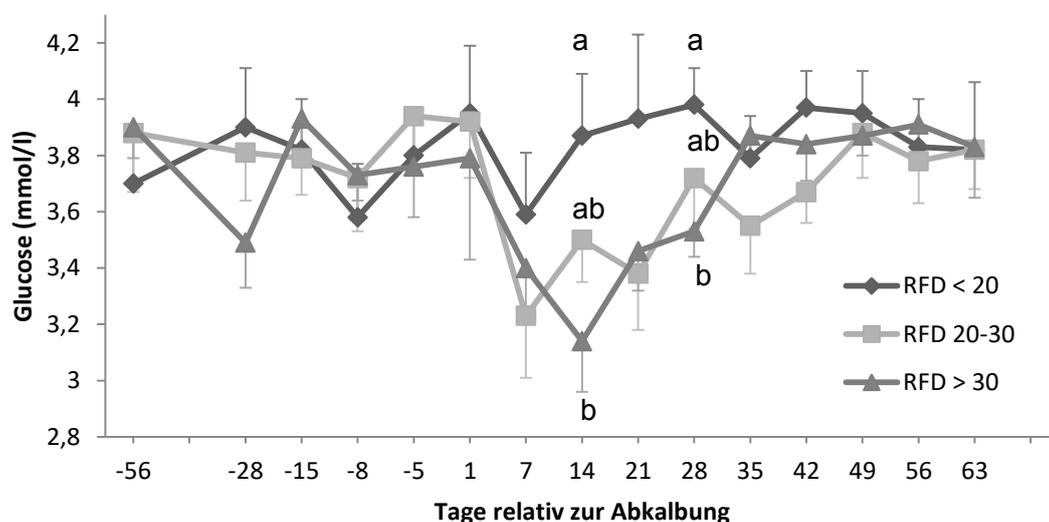


Abb. 32: **Blut-Glucosekonzentration (MW \pm STABW) in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p. über dem Untersuchungszeitraum** (Gruppe **RFD < 20**: n=6, **RFD 20-30**: n=13, **RFD > 30**: n=7), a:b ($p < 0,03$)

Nach der Abkalbung sank in allen drei Gruppen die Glucosekonzentration der Tiere um durchschnittlich 12,3 %. In der ersten Woche p.p. konnte die minimalste Glucosekonzentration mit 1,2 mmol/l (Kuh-Nr. 13 Gruppe; **RFD 20-30**) festgestellt werden, die maximale Glucosekonzentration lag bei 4,5 mmol/l (Kuh-Nr. 12; Gruppe **RFD 20-30**). Bei den Tieren der Gruppe **RFD > 30** fand in der folgenden Woche eine weitere Reduktion der Glucosekonzentration um 7,6 % statt, während in den beiden anderen Gruppen ein Anstieg der Glucosekonzentration zu verzeichnen war. Zum Ende des Untersuchungszeitraumes erreichten die Tiere aller Gruppen mit $3,8 \pm 0,5$ mmol/l wieder die Anfangskonzentrationen. Die Glucosekonzentration variierte an Tag 63 p.p. zwischen 2,8 mmol/l (Kuh-Nr. 9 Gruppe; **RFD < 20**) und 4,9 mmol/l (Kuh-Nr. 12; Gruppe **RFD 20-30**).

In den ersten vier Wochen p.p. wiesen die Tiere der Gruppe **RFD < 20** die höchste Glucosekonzentration mit $3,9 \pm 0,1$ mmol/l auf. Die Tiere der Gruppe **RFD 20-30** zeigten in diesem Zeitraum im Mittel eine Glucosekonzentration von $3,6 \pm 0,1$ mmol/l. Die niedrigste Glucosekonzentration innerhalb der ersten vier Wochen p.p. war bei den Tieren der Gruppe **RFD > 30** mit $3,5 \pm 0,1$ mmol/l zu verzeichnen.

Sowohl an Tag 14 p.p. als auch an Tag 28 p.p. ließen sich in den Mittelwertdifferenzen der Glucosekonzentration der Tiere der Gruppe **RFD < 20** zu den Tieren der Gruppe **RFD > 30** signifikante Unterschiede ($p < 0,03$) statistisch nachweisen.

4.2.9.2 Blut-Glucosekonzentration in Abhängigkeit zur ersten lutealen Aktivität p.p.

In der Abbildung 33 ist der Verlauf der Glucosekonzentration im Blut beider Gruppen über die Zeit dargestellt. Zum Zeitpunkt des Trockenstellens zeigten sich in den Glucosekonzentrationen keine Gruppenunterschiede. Die Tiere der Gruppe **CL < 24** hatten eine durchschnittliche Glucosekonzentration von $4,0 \pm 0,5$ mmol/l und die Tiere der Gruppe **CL > 58** wiesen durchschnittlich $3,7 \pm 0,5$ mmol/l auf.

In der Gruppe **CL < 24** reduzierte sich die Glucosekonzentration auf durchschnittlich $3,8 \pm 0,5$ mmol/l am 8. Tag a.p. und stieg zur Abkalbung an. Die höchste durchschnittliche Glucosekonzentration wurde um den Zeitpunkt der Kalbung mit 5,6 mmol/l (Kuh-Nr. 3; Gruppe **CL < 24**) gemessen. Nach der Abkalbung reduzierten sich in beiden Gruppen die durchschnittlichen Glucosekonzentrationen. Es konnte bei den Tieren der Gruppe **CL > 58** eine geringere Glucosekonzentration von durchschnittlich $3,2 \pm 0,5$ mmol/l an Tag 14 p.p. beobachtet werden. Danach stieg die Glucosekonzentration bei den Tieren der Gruppe **CL > 58** bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes auf durchschnittlich $3,9 \pm 0,5$ mmol/l an.

An den Tagen 56 und 63 p.p. wiesen alle Tiere die gleiche durchschnittliche Glucosekonzentration von $3,9 \pm 0,5$ mmol/l auf, dies entsprach der Anfangskonzentration.

Es konnten keine signifikanten Unterschiede der Mittelwertdifferenzen der Glucosekonzentrationen weder innerhalb einer Gruppe noch zwischen den Gruppen über den Untersuchungszeitraum festgestellt werden ($p > 0,2$).

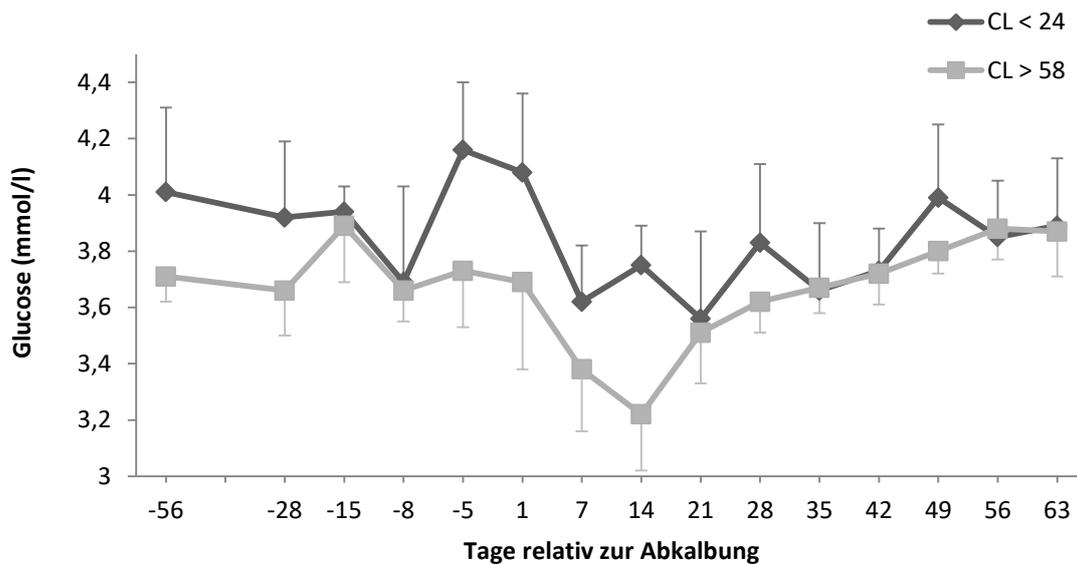


Abb. 33: **Blut-Glucosekonzentration ($MW \pm STABW$) in Abhängigkeit von der lutealen Aktivität p.p. über den Untersuchungszeitraum**
(Gruppe CL < 24: n= 8, Gruppe CL > 58: n= 8)

4.3 Analyse der reproduktiven Parameter

Für die Erfassung des Zeitpunktes des Wiedereinsetzens der Ovarfunktion war die Progesteronkonzentration aus Milch und Blut von entscheidender Bedeutung. Die Ergebnisse der Brunstbeobachtung und der gynäkologischen Untersuchung einschließlich der CL-Befundung wurden unterstützend hinzugezogen. Es wurden tierindividuelle Progesteronprofile erstellt, in die die reproduktionsphysiologischen Befunde eingetragen wurden. Anhand dieser Profile wurde der Zeitpunkt der ersten Ovulation festgestellt. Alle 26 Tiere zeigten im Untersuchungszeitraum mindestens einen Zyklus. Lediglich 26,9 % der Tiere zeigten ihre erste luteale Aktivität in den ersten drei Wochen. Im Zeitraum der vierten bis achten Woche p.p. konnte bei 34,6 % der Tiere die erste luteale Aktivität festgestellt werden. Ein Intervall von mehr als acht Wochen zeigten 30,8 % der Tiere.

4.3.1 Ergebnisse der Brunstbeobachtung

Im Zeitraum von der Abkalbung bis zur Schlachtung wiesen die Tiere unterschiedlich viele Brunsten auf. Alle Brunsten wurden durch die erhöhte Progesteronkonzentration im Blut und Milch festgestellt.

Als Grenzwert für das Vorliegen einer Brunst galten Progesteronwerte im Nachmelk von ≥ 5 ng/ml und im Blut von ≥ 1 ng/ml. Es mussten immer beide Schwellenwerte überschritten werden. Des Weiteren wurde die Brunstbeobachtung mit einbezogen. Bei den 26 Tieren konnten über den Untersuchungszeitraum 55 Brunsten festgestellt werden.

Davon konnten 25 Brunsten durch Brunstbeobachtung und entsprechende Progesteronkonzentration erkannt werden. Die anderen 43,63 % (n=30) wurden nur durch die Progesteronkonzentrationen in Blut und Milch erkannt, siehe Abbildung 34.

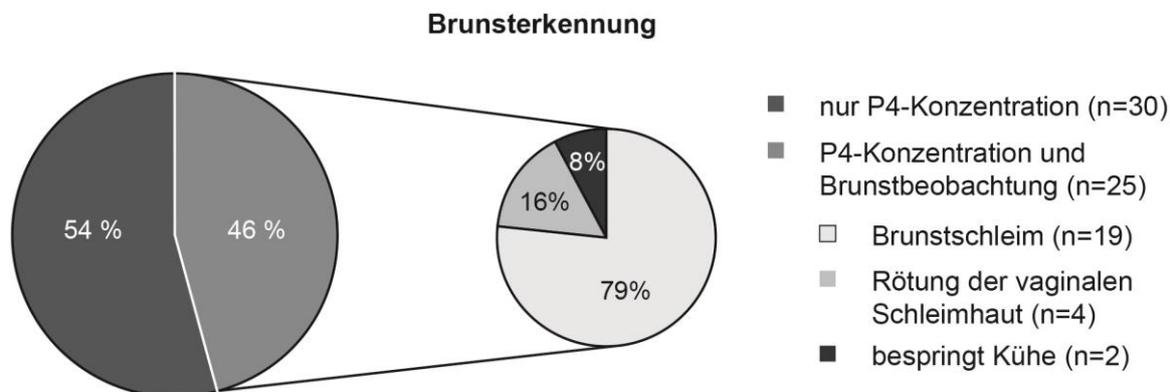


Abb. 34: **Brunsterkennungsmerkmale**
(n=55 Brunsten bei 26 Tieren)

Die Verteilung der Brunstanzeichen, der insgesamt 25 durch Brunstbeobachtung erkannten Brunsten ist, in Abbildung 34 aufgegliedert. Von den 25 Brunsten konnten 79 % durch Anwesenheit von Brunstschleim erkannt werden, 16 % zeigten Rötung der vaginalen Schleimhäute und 8 % der Brunsten konnten aufgrund des Brunstverhaltens (aufspringen oder besprungen werden) beobachtet werden. Kuh-Nr. 17 (Gruppe **RFD 20-30**; Gruppe **CL 25-57**) zeigte während einer Brunst sowohl Brunstschleim als auch Rötungen der vaginalen Schleimhaut. Bei Kuh-Nr. 18 (Gruppe **CL < 24** bzw. Gruppe **RFD 20-30**) konnten ebenfalls mehrere Brunst kategorien beobachtet werden. Die Kuh zeigte Brunstschleim und besprang andere Tiere.

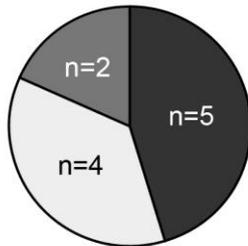
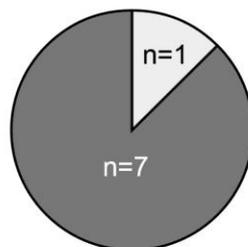
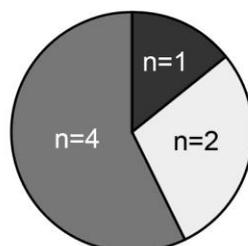
Aufgliederung der durch Progesteronkonzentration und Brunstbeobachtung festgestellten Brunsten: Bei sechs Tieren konnte in diesem Zeitraum eine Brunst nachgewiesen werden, bei elf Tieren traten zwei Brunsten auf und neun Tiere hatten drei Brunsten. Von den in Brunst gesehenen Tieren konnte bei 57,7 % der Tiere (n = 15) mindestens eine Brunst beobachtet werden. Von diesen Tieren zeigten sieben Tiere (46,7 %) jede Brunst deutlich an. Bei 53,3 % dieser Tiere (n = 8) konnte eine von zwei oder drei auftretenden Brunsten erfasst werden.

Betrachtet man die Brunsterkennung durch Brunstbeobachtung bezogen auf die Gruppeneinteilungen, ist in Abbildung 35 zu erkennen, dass Tiere aus der Gruppe **RFD 20-30** die Brunsten am deutlichsten anzeigten.

Zusammenfassungen der Brunsterkennung bezogen auf die Gruppeneinteilungen

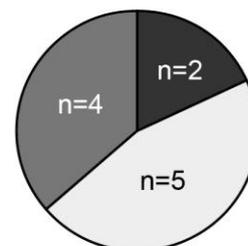
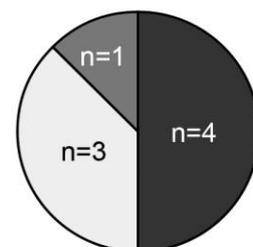
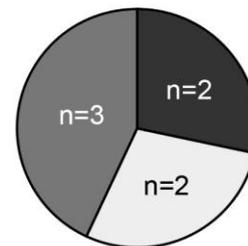
Gruppeneinteilung nach

RFD 1 Woche a.p.

Keine Brunst
erkannt bei 11 Tierenmind. 1 von 2 oder 3 Brunsten
erkannt bei 8 Tierenalle von 1 - 3 Brunsten
erkannt bei 7 Tieren

■ RFD < 20
 ■ RFD 20-30
 ■ RFD > 30

1. luteale Aktivität p.p.

Keine Brunst
erkannt bei 11 Tierenmind. 1 von 2 oder 3 Brunsten
erkannt bei 8 Tierenalle von 1 - 3 Brunsten
erkannt bei 7 Tieren

■ CL < 24
 ■ CL 24-58
 ■ CL > 58

Abb. 35: Zusammenfassungen der Brunsterkennung bezogen auf die Gruppeneinteilungen

4.3.2 Progesteronkonzentrationen

Die Progesteronkonzentrationen wurden nach der Abkalbung von den 26 Tieren sowohl in der Milch als auch im Blutserum bestimmt und ausgewertet. Es wurden individuelle Progesteronkonzentrationsprofile je Tier sowohl von den Werten der Milch als auch von den Werten des Blutes erstellt. In Abbildung 36 sind beispielhaft die Progesteronkonzentrationsverläufe in Blut und Milch über den Untersuchungszeitraum von Kuh-Nr. 26 dargestellt.

4.3.2.1 Milchprogesteron

Ab der zweiten Woche p.p. wurde von jedem Tier zweimal pro Woche die Milchprogesteronkonzentration bestimmt. Eine Progesteronkonzentration über 5 ng/ml im Nachmelk wurde als luteale Aktivität gewertet. Die Progesteronkonzentration unterlag großen Schwankungen. Die Kuh-Nr. 23 (Gruppe **RFD 20-30, CL 55**) zeigte mit 11,7 ng/ml die niedrigste Höchstkonzentration, während bei der Kuh-Nr. 21 (Gruppe **CL > 58** bzw. **RFD < 20**) die Höchstkonzentration bei 73,1 ng/ml lag. Im Mittel schwankten die Progesteronhöchstkonzentrationen um 33,5 ng/ml. Bei den maximalen Progesteronkonzentrationen während der aufeinander folgenden Zyklen eines Tieres waren deutliche Unterschiede zu erkennen. Bei fünf Tieren war die maximale gemessene Progesteronkonzentration im ersten Zyklus niedriger als in den weiteren Zyklen. Bei sieben Tieren waren die Progesteronkonzentrationsmaxima in den Zyklen vergleichbar hoch und bei vier Tieren wies der erste Zyklus höhere Höchstkonzentrationen auf als in den weiteren Zyklen. Die anderen zehn Tiere wurden bereits im ersten Zyklus synchronisiert.

4.3.2.2 Blutprogesteron

Die Blutprogesteronkonzentration wurde einmal wöchentlich bestimmt. Abbildung 36 zeigt den Verlauf der Blutprogesteronkonzentration und der Milchprogesteronkonzentration des gleichen Tieres, Kuh-Nr. 26 (Gruppe **RFD < 20**, **CL 30**). Bei dem Konzentrationsverlauf der Blutprogesteronwerte waren drei Anstiege der Progesteronkonzentration zu verzeichnen. Es wurden somit bei diesem Tier drei Brunsten festgestellt: die erste Brunst ab dem 30. Tag p.p., die zweite Brunst ab dem 54. Tag p.p. und die dritte Brunst ab dem 68. Tag p.p.. Bei dieser Kuh ist deutlich zu erkennen, dass sich die Progesteronkonzentrationen im Blut und in der Milch nahezu konvergent verhalten. Die Progesteronhöchstkonzentrationen in Milch und Blut traten jeweils im zweiten Zyklus auf. Auch wenn nicht an jedem Tag Proben zur Progesteronkonzentrationsbestimmung genommen wurden, ließ sich die luteale Aktivität anhand der vorliegenden Progesteronkonzentrationen, den Brunstbeobachtungen und den Befunden der gynäkologischen Untersuchung zuordnen.

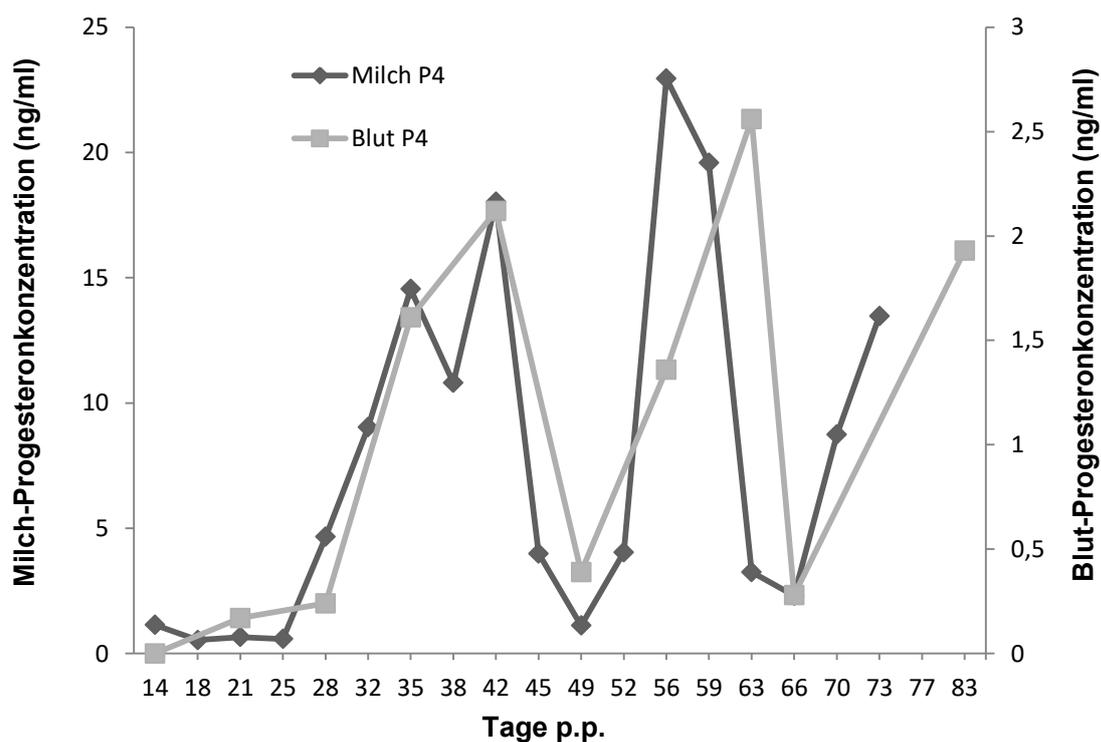


Abb. 36: **Milch- und Blutprogesteronkonzentrationen von Kuh-Nr. 26 im Zeitraum vom 14 Tag bis zum 83 p.p.**

4.3.3 Zykluscharakteristik

Betrachtet man die erste Zykluslänge p.p. unterschieden sich die Tiere hier ebenfalls deutlich. Nimmt man 21 ± 3 Tagen als eine normale Zykluslänge an, zeigten nur 7,7 % ($n = 2$) einen normal langen Zyklus. Eine kürzere Zykluslänge von weniger als 18 Tagen trat bei 23,1 % ($n = 6$) auf, während 30,8 % der Tiere ($n = 8$) einen verlängerten Zyklus von mehr als 24 Tagen aufwiesen. Zum Ende des Untersuchungszeitraumes eines jeden Tieres wurde eine Zyklussynchronisation durchgeführt. Bei 16 Tieren (61,6 %) fand nach Durchlaufen von zwei oder mehr Zyklen eine Zyklussynchronisation statt. Bereits im ersten Zyklus wurden 38,4 % ($n = 10$) synchronisiert.

4.4 Ergebnisse der ovariellen Untersuchungen

Die reproduktiven Organe wurden bei der Schlachtung für die Untersuchung gewonnen. Die Tiere sind im Vorfeld zufällig den Gruppen **ZT0**, **ZT4** und **ZT12** zugeordnet und entsprechend synchronisiert worden.

Von den 26 Tieren wurden neun Tiere dem **ZT0** zugeteilt, acht Tiere dem **ZT4** und neun Tiere dem **ZT12** zugeordnet.

4.4.1 Präovulatorische Cumulus-Oozyten-Komplexe (COK)

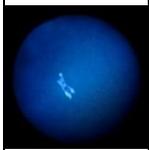
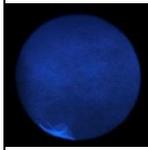
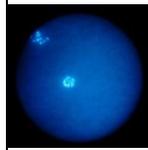
Präovulatorische COK konnten ausschließlich von den Tieren von **ZT0** gewonnen werden. Für die Untersuchung der präovulatorischen COK wurden die Tiere herangezogen, bei denen zum Zeitpunkt der Schlachtung noch die präovulatorischen Follikel vorhanden waren. Von neun Tieren, die in die Gruppe **ZT0** eingeordnet wurden, konnten acht Tiere in die Auswertung einbezogen werden. Die Kuh-Nr. 24 hatte bereits vor der Schlachtung ovuliert, somit konnte dieses Tier nicht in die Beurteilung der präovulatorischen COK-Gewinnungsrate einbezogen werden. Die Kuh-Nr. 18 (Gruppe **CL < 24** bzw. **RFD 20-30**) hatte zwei präovulatorische Follikel ausgebildet, so dass bei den acht Tieren insgesamt neun präovulatorische Follikel gezählt werden konnten. Davon konnten 88,9 % der COK generiert werden, wie in Tabelle 5 dargestellt.

Zyklustag	Anzahl der Tiere (n)	Anzahl präovulatorischer Follikel (n)	Anzahl präovulatorischer COK (n)	COK Gewinnungsrate (%)
0	8	9	8	88,9

Tab. 5: Anzahl der präovulatorischen Follikel und COK in Abhängigkeit vom **ZT0**

4.4.1.1 Beurteilung der Chromatinkonfiguration

Im sehr frühen Meiose-Stadium, dem Diplotän, befanden sich zwei der präovulatorischen COK. In den dann folgenden zwei Entwicklungsstadien, der Metaphase I und der Anaphase I, befand sich jeweils ein der präovulatorischen COK. Bis zur Metaphase II hatten drei der präovulatorischen COK die Meiose durchlaufen. In der Telophase II, dem am weitesten entwickelten Stadium der Meiose, konnte ein der präovulatorischen COK festgestellt werden, siehe Tabelle 5.

Chromatin-konfiguration	Diplotän	Meta I	Ana I	Telo I	Meta II	Ana II	Telo II
							
Anzahl (n)	2	1	1	0	3	0	1
Anteil (%)	25	12,5	12,5	0	37,5	0	12,5
Mitochondrienaggregation	kristallin	kristallin	kristallin	-	kristallin	-	fein

Tab. 6: Anzahl und Anteil der Chromatinkonfigurationen und der Mitochondrienaggregationen am ZT0

4.4.1.2 Untersuchungen zur mitochondrialen Aggregation

Das kristalline Aggregationsmuster wurde bei den gewonnenen präovulatorischen COK mit 87,5 % am Häufigsten gefunden. Das feinkörnige Aggregationsmuster wurde zu 12,5 % ermittelt, das grobkörnige Aggregationsmuster lag bei dieser Untersuchung nicht vor. Die Befunde sind mit in Tabelle 5 aufgeführt.

4.4.2 Follikelbesatz in Abhängigkeit vom Zyklustag

Unmittelbar nach der Schlachtung wurde der Follikelbesatz auf den Ovarien festgestellt. Die neun Tiere vom **ZT0** zeigten insgesamt 13 Follikel mit einem Durchmesser von > 10 mm auf den Ovarien. Bei 50 % der Tiere konnte ein weiterer großer Follikel neben dem präovulatorischen Follikel detektiert werden (siehe Tabelle 7). An den anderen Zyklustagen konnten jeweils ein großer Follikel (> 10 mm) je Tier auf den Ovarien gezählt werden. Mit ansteigendem Zyklustag wurde insgesamt eine höhere Gesamtfollikelanzahl auf den Ovarien detektiert. Es ließen sich keine statistisch signifikanten Unterschiede der

Mittelwertdifferenzen des Follikelbesatzes zwischen den Gruppen der verschiedenen Zyklustage feststellen.

Bei der Kuh-Nr. 17 (Gruppe **RFD 20-30, CL 47**) konnten mit 78 Follikeln der höchste Gesamtfollikelbesatz gezählt werden. Die geringste Follikelanzahl wurde bei der Kuh-Nr. 7 (Gruppe **RFD < 20, CL 43**) mit drei Follikeln festgestellt. Im Durchschnitt konnten pro Tier 25 Follikel detektiert werden.

Betrachtet man die Follikelanzahl je Follikelgröße und Zyklustag, konnten am **ZT0** die geringste Follikelanzahl bei den 3-5 mm großen Follikeln festgestellt werden. Die Kuh-Nr. 18 (Gruppe **CL < 24** bzw. Gruppe **RFD 20-30**) wies in der Gruppe **ZT0** mit 20 Follikeln die höchste Follikelanzahl auf. Am **ZT4** konnten die meisten < 3 mm großen Follikel bei der Kuh-Nr. 16 (Gruppe **CL > 58** bzw. Gruppe **RFD > 30**) mit 25 Follikeln gezählt werden. Am **ZT12** traten die < 3 mm großen Follikel mit 40 Stück bei der Kuh-Nr. 17 (Gruppe **RFD 20-30, CL 47**) am häufigsten auf. Bei den 3-5 mm großen Follikel sah die Verteilung ähnlich aus. Am **ZT0** konnten die meisten Follikel mit 26 Stück bei der Kuh-Nr. 1 (Gruppe **RFD > 30, CL 45**) gezählt werden. Am **ZT4** traten die größte Follikelanzahl mit 23 Follikel bei Kuh-Nr. 16 (Gruppe **CL > 58** bzw. Gruppe **RFD > 30**) auf und am **ZT12** waren es 37 Follikel bei Kuh-Nr. 17 (Gruppe **RFD 20-30, CL 45**). Bei den 6-9 mm großen Follikeln konnten die meisten am **ZT4** mit acht Stück (Kuh-Nr. 3; Gruppe **CL < 24** bzw. Gruppe **RFD 20-30**) festgestellt werden, gefolgt vom **ZT0** mit drei Follikeln (Kuh-Nr. 24; Gruppe **CL > 58** bzw. Gruppe **RFD > 30**) und einem Follikel (Kuh-Nr. 5; (Gruppe **CL > 58** bzw. Gruppe **RFD > 30**) am **ZT12**. Über 10 mm große Follikel konnten in allen drei Gruppen nur bei zwei Tieren detektiert werden.

Zyklustag	Anzahl der Tiere (n)	Anzahl (n) und Größe der Follikel auf beiden Ovarien			
		< 3 mm	3-5 mm	6-10 mm	> 10 mm
0	9	82	99	3	4
4	8	77	87	22	8
12	9	130	140	1	9

Tab. 7: Anzahl und Größe der Follikel auf den Ovarien in Abhängigkeit vom Zyklustag

4.4.3 Cumulus-Oozyten-Komplexe der 3-5 mm großen Follikel

4.4.3.1 Gewinnungsrate

Aus den 3-5 mm großen Follikeln aller Ovarien wurden die COK aspiriert. Insgesamt waren 326 Follikel mit einer Größe zwischen 3-5 mm auf den Ovarien aller Tiere vorhanden. Aus diesen konnten 214 COK aspiriert werden. Von den Tieren am **ZT0** konnten zwischen null COK (Kuh-Nr. 9; Gruppe **RFD < 20, CL 42**) und zwölf COK (Kuh-Nr. 18; Gruppe **CL < 24** bzw. Gruppe **RFD 20-30**) gewonnen werden. Es ergab sich für die Tiere vom **ZT0** im Mittel eine Gewinnungsrate der COK von 49,4 %. Am **ZT4** wurden mindestens zwei COK (Kuh-Nr. 25; Gruppe **CL > 58** bzw. Gruppe **RFD < 20**) und maximal 18 COK (Kuh-Nr. 3; Gruppe **CL < 24** bzw. Gruppe **RFD 20-30**) aspiriert. Insgesamt konnte von den Tieren am **ZT4** eine Gewinnungsrate von 81,6 % erzielt werden.

Am **ZT12** schwankte die Anzahl der gewonnenen COK zwischen null COK (Kuh-Nr. 13; Gruppe **RFD 20-30, CL 34**) und 19 COK (Kuh-Nr. 17; Gruppe **RFD 20-30, CL 47**). Somit lag die durchschnittliche COK-Gewinnungsrate bei den Tieren vom Zyklustag zwölf bei 67,1 %.

Bei der Mittelwertdifferenz der COK-Gewinnungsrate aus den 3-5 mm Follikeln konnte ein statistisch signifikanter Unterschied ($p < 0,03$) zwischen den Tieren **ZT0** und **ZT4** nachgewiesen werden.

4.4.3.2 Morphologie

Die Tabelle 8 zeigt die Häufigkeit des Auftretens der COK-Klassen zu den untersuchten Zyklustagen. Die Mehrzahl der COK zeigte an allen Zyklustagen einen Cumulus mit kompakter Struktur. Am **ZT0** traten die COK mit 53,1 % in kompakter Struktur auf. Am **ZT4** waren es 49,3 % und am **ZT12** waren es 39,4 %. Bei der Verteilung der COK mit kompakter Struktur ließen sich innerhalb der Zyklustage keine statistischen Unterschiede feststellen. COK mit expandiertem Cumulus wurden am **ZT12** mit 37,6 % am häufigsten gefunden. Bei den Mittelwertdifferenzen im Auftreten der COK mit expandiertem Cumulus traten zwischen den Tieren vom **ZT0** und **ZT12** ein signifikanter Unterschied ($p < 0,01$) auf. Es ließen sich keine weiteren Unterschiede in den Mittelwertdifferenzen der verschiedenen COK-Morphologien und unterschiedlichen Zyklustagen statistisch belegen.

Zyklus- tag	Kuh- Nr	Gruppe RFD	Anzahl 3-5 mm Follikel (n)	Summe 3-5 mm Follikel (n)	gewonnene COK						
					COK (n)	COK % (n)	cp (%) (n)	ex (%) (n)	c.r. (%) (n)	denud. (%) (n)	deg. (%) (n)
0	6	<20	4	99	3	49,5 (49)	53,1 (26)	14,3 (7) a	22,4 (11)	8,2 (4)	2 (1)
	9		0								
	8		8								
	12	20-30	18		7						
	14		15		9						
	18		14		12						
	1	>30	26		11						
	19		5		2						
	24		9		1						
4	25	<20	2	87	2	81,6 (71)	49,3 (35)	28,2 (20) ab	14,1 (8)	8,4 (6)	0 (0)
	3	20-30	15		18						
	15		10		8						
	20		13		7						
	23		6		4						
	2	>30	3		6						
	16		23		16						
	27		15		10						
12	7	<20	1	140	1	67,7 (94)	39,4 (37)	37,2 (35) b	14,9 (13)	7,4 (7)	1,1 (1)
	21		9		5						
	26		30		18						
	4	20-30	9		11						
	11		13		15						
	13		0		0						
	17		37		19						
	5	>30	29		15						
	22		12		10						

a:b < 0,01 (T-Test)

graue Felder: Anzahl eingesetzter COK in IVM/IVF/IVK.

cp- kompakter Cumulus; ex- expandierter Cumulus; c.r.- *corona radiata*; denud.- denudiert;
deg.- degeneriert

Tab. 8: Anzahl und Morphologie der gewonnenen COK in Abhängigkeit vom Zyklustag

4.4.4 Entwicklungskompetenz der Oozyten nach IVM/IVF/IVK

Ziel dieser Untersuchung war die Beurteilung der Entwicklungskompetenz von Oozyten von hochleistenden Kühen an den verschiedenen Zyklustagen unter standardisierten Laborbedingungen nach IVM, IVF und IVK. Als Maß für die Entwicklungskompetenz dient die Furchungsrate nach 48 Stunden *post fertilisationem* sowie die Morulae- und Blastozystenrate am Tag acht *post fertilisationem*.

4.4.4.1 Furchungsrate

Die Furchungsrate der Oozyten der Tiere vom **ZT4** schwankt zwischen 68,8 % (Kuh-Nr. 16; Gruppe **CL > 58** bzw. Gruppe **RFD > 30**) und 100 % (Kuh-Nr. 23; Gruppe **RFD 20-30, CL 55** und Kuh-Nr. 25; Gruppe **CL > 58** bzw. Gruppe **RFD < 20**). Im Mittel lag die Furchungsrate bei diesen Tieren bei 84,0 %. In der Gruppe mit den Tieren vom **ZT12** waren die Schwankungen größer, die Furchungsrate reichte von 0 % (Kuh-Nr. 7; Gruppe **RFD < 20, CL 43**) bis 84,2 % (Kuh-Nr. 17; Gruppe **RFD 20-30, CL 47**). Im Durchschnitt betrug die Furchungsrate in dieser Gruppe 62,8 %. Am **ZT0** reichte die Furchungsrate von 0 % (mehrere Kühe) bis 50 % (Kuh-Nr. 18; Gruppe **CL < 24** bzw. Gruppe **RFD 20-30**). Im Mittel wurde eine Furchungsrate von 18,6 % erreicht. Die Oozyten von den Tieren am **ZT4** und **ZT12** zeigten signifikant höhere Mittelwertdifferenzen in der Furchungsrate als die Oozyten von den Tieren am **ZT0** ($p < 0,01$). Die Furchungsraten bezogen auf den Zyklustag sind in Abbildung 37 dargestellt.

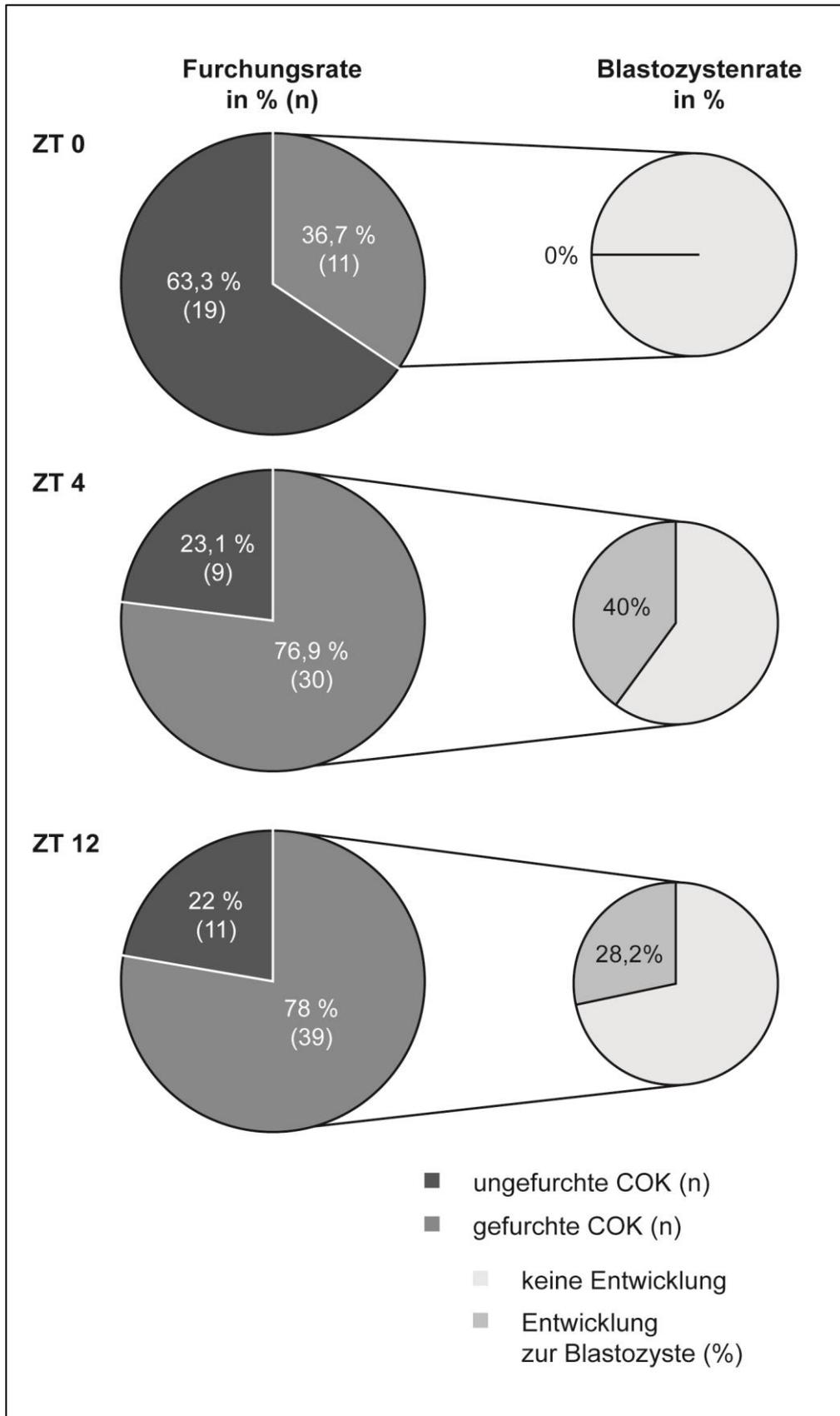


Abb. 37: Furchungsrate nach 48 Stunden *post fertilisationem* und die Blastozystenrate nach 8 Tagen *post fertilisationem* in Abhängigkeit vom Zyklustag

4.4.4.2 Blastozystenrate

Die sich entwickelten Embryonen wurden am achten Tag *post fertilisationem* unter dem Stereomikroskop beurteilt. Die verwendeten COK vom **ZT0** wiesen keine Entwicklung auf. Am **ZT4** betrug die Morulae- und Blastozystenrate, also die Entwicklungskompetenz, bezogen auf die eingesetzten gefurchten COK 40 %. Am **ZT12** lag die Entwicklungskompetenz bei 28,2 %. Es konnte ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der Entwicklungskompetenz der Oozyten der Tiere vom **ZT0** und den Tieren der beiden anderen Zyklustage festgestellt werden ($p < 0,01$), während sich kein Unterschied in der Entwicklungskompetenz zwischen den Oozyten vom **ZT4** und **ZT12** statistisch nachweisen ließ ($p < 0,33$). Die Blastozystenraten sind ebenfalls in Abbildung 37 dargestellt.

4.5 Embryonen-Gewinnungsrate

Die Embryonen-Gewinnungsrate wurde bei den Tieren vom **ZT4** und den Tieren vom **ZT12** festgestellt. Zur Beurteilung der Ovulationen wurden die vorhandenen, den Zyklustag entsprechenden CL herangezogen. Am **ZT4** konnten bei acht Tieren zwölf Ovulationen festgestellt werden. Es zeigten vier Tiere eine Doppelovulation. Bei der Kuh-Nr. 3 und 10 konnten jeweils zwei Embryonen festgestellt werden. Keine Embryonen konnte bei vier Tieren vom **ZT4** gefunden werden. Insgesamt wurden bei diesen acht Tieren vom **ZT4** sechs Embryonen diagnostiziert. Die Embryonen-Gewinnungsraten am **ZT4** betrug somit 50,0 %.

Bei den Tieren vom **ZT12** zeigte Kuh-Nr. 7 durch Anwesenheit von zwei entsprechenden CL eine Doppelovulation. Es konnten bei den neun Tieren von diesem Zyklustag insgesamt zehn Ovulationen festgestellt werden. Die Anzahl der gewonnenen Embryonen belief sich auf drei. Am **ZT12** wurde eine Embryonen-Gewinnungsrate von 30,0 % erreicht.

Tabelle 9 fasst die Ergebnisse zusammen. Es konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Zyklustagen nachgewiesen werden.

Zyklustag	Anzahl der Tiere (n)	Anzahl der Ovulationen (n)	Anzahl der Embryonen (n)	Gewinnungsrate (%)	Trächtigkeitsrate (%)
4	8	12	6	50,0	50,0
12	9	10	3	27	33,3

Tab. 9: Anzahl der Ovulationen und Embryonen in Abhängigkeit vom Zyklustag

4.6 Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der vorliegenden Studie

Parameter	Gruppeneinteilung nach RFD 1 Woche a.p.		
Luteale Aktivität	RFD 20-30	signifikant früher als	RFD < 20 RFD > 30
Rückenfett- mobilisierung	RFD < 20	signifikant geringer ab 6. Wo p.p.	RFD 20-30
	RFD < 20	signifikant geringer ab 4. Wo p.p.	RFD > 30
	RFD 20-30	signifikant geringer ab 4. Wo p.p.	RFD > 30
Energiebilanz	RFD < 20	signifikant höher 1. Wo a.p. signifikant besser 2.+ 3.Wo p.p. und 6.-9. Woche p.p.	RFD 20-30
	RFD < 20	signifikant höher 1. Woche a.p. signifikant besser 2.-5. Wo a.p.	RFD > 30
	RFD 20-30	signifikant schlechter in 9. Wo p.p.	RFD > 30
MML		nicht signifikant	
ECM		nicht signifikant	
TSA	RFD < 20	signifikant höher in Woche 2.-7.	RFD 20-30
	RFD < 20	signifikant höher in Woche 4.+5.	RFD > 30
Leberfettgehalt a.p.	RFD > 30	signifikant höher an Tag 15 a.p.	RFD < 20 RFD 20-30
Leberfettgehalt p.p.	RFD < 20	signifikant niedriger an Tag 28 p.p.	RFD 20-30 RFD > 30
NEFA p.p.	RFD < 20	signifikant niedriger an Tag 7. p.p.	RFD 20-30 RFD > 30
	RFD < 20	signifikant niedriger an Tag 21. und Tag 28. p.p.	RFD > 30
Glucose p.p.	RFD < 20	signifikant höher an den Tagen 14 und 28 p.p.	RFD > 30
Brunstanzeichen	RFD 20-30	deutlicher	RFD < 20 RFD > 30

Tab. 10: Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der vorliegenden Studie nach Gruppeneinteilung der RFD 1 Woche a.p.

Parameter	Gruppeneinteilung nach den Einsetzen der ersten lutealen Aktivität p.p.		
RFD		nicht signifikant	
Δ RFD		nicht signifikant	
Energiebilanz	CL > 58	ab 8. Woche p.p. signifikant kleiner	CL < 24
MML		nicht signifikant	
ECM		nicht signifikant	
TSA	CL > 58	signifikant höher in Woche 7-9 p.p.	CL < 24
Leberfettgehalt	CL > 58	signifikant höher an Tag 15 a.p.	CL < 24
NEFA p.p.	CL > 58	über den gesamten Untersuchungszeitraum tendenziell niedriger (p < 0,06)	CL < 24
Glucose		nicht signifikant	
Brunstanzeichen		nicht signifikant	

Tab. 11: Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der vorliegenden Studie mit Gruppeneinteilung nach dem Einsetzen der ersten lutealen Aktivität p.p.

5 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde eine sehr intensive Phänotypisierung von Hochleistungsmilchkühen vor und während der dritten Laktation durchgeführt. Die Tiere wurden unter identischen Bedingungen am Leibniz-Institut gehalten und bekamen die gleichen Diäten *ad libitum* gefüttert. Es wurden Zusammenhänge zwischen zotechnischen (wie Energiebilanz, RFD, TMA, Milchmengenleistung und ECM), metabolischen (wie NEFA- und Glucose-Konzentrationen) und endokrinen (Progesteron-Konzentrationen) Parametern betrachtet. Die Auswirkungen vom zeitlichen Intervall von der Abkalbung bis zum Wiedereinsetzen der Ovarfunktion auf verschiedenen Stoffwechselfparameter wurden untersucht. Des Weiteren wurde der Einfluss der Hochleistung auf die Oozytenqualität untersucht.

5.1 Gruppeneinteilung nach der RFD 1. Woche a.p.

Da dem Körperfettgewebe als Energiereserve in der Früh-laktation eine wichtige Funktion zukommt, wurden die Tiere unter diesem Aspekt miteinander verglichen. Der optimale Fettansatz zur Kalbung wird von STAUFENBIEL ET AL. (1991) mit 25 mm beschrieben. Auf dieser Grundlage wurden die Tiere dieser Studie in drei Gruppen aufgeteilt. Die Tiere der Gruppe **RFD < 20** hatten eine RFD 1. Woche a.p. von kleiner 20 mm, die Tiere der Gruppe **RFD 20-30** wiesen entsprechend eine RFD zwischen 20 bis 30 mm 1. Wochen a.p. auf und die Tiere der Gruppe **RFD > 30** zeigten eine RFD von mehr als 30 mm 1. Woche a.p.. Eine wichtige Feststellung war, dass die Milchleistung (sowohl die Milchmengenleistung als auch die ECM) zwischen den Gruppen annähernd gleich hoch war. Trotz unterschiedlicher RFD und somit differierender Körperfettreserven der Tiere im Untersuchungszeitraum gab es hinsichtlich der Milchleistung keine signifikanten Unterschiede. Ähnliche Ergebnisse beschreibt STÜRMER (2009). In seinen Untersuchungen unterschieden sich die Tiere, die anhand des Leberfettgehaltes gruppiert worden sind, nicht signifikant in Bezug auf die fettkorrigierte Milch. STÜRMER (2009) vertritt die Hypothese, dass sich die metabolischen Belastungen der Tiere innerhalb eines physiologisch tolerierbaren Bereiches befinden und dass die Milchproduktion gegenüber anderen extramammären energie- und nährstoffintensiven Prozessen bevorzugt wird.

Milchkühe mobilisieren Körperfett, um für die Milchproduktion Energie bereitzustellen. Da die Glucosezufuhr begrenzt ist, werden Fette bevorzugt für die Energieerzeugung genutzt. Die Lipogenese-Aktivitäten werden inaktiviert und die lipolytischen Mechanismen im Fettgewebe werden durch Veränderungen in der Expression von einigen Schlüsselenzymen erhöht. WEBER ET AL. (2013B) haben bei den Tieren dieser Studie einige Schlüsselenzyme des Leberstoffwechsels näher untersucht. Sie beschrieben, dass eine erhöhte

Körperfettmobilisierung in der Frühlaktation mehr die Gluconeogenese als den Lipidstoffwechsel beeinflusste. Dies zeigt die Abhängigkeit des hepatischen Glucose-Metabolismus auf den Leberstatus und die Fettmobilisierung während der Frühlaktation (WEBER ET AL., 2013B).

Der Verlust von Körpermasse geht mit einer erhöhten Konzentration an zirkulierenden NEFA einher. Diesen Sachverhalt bestätigt diese Studie. Die Tiere der Gruppe **RFD < 20** wiesen eine Woche a.p. signifikant bessere Energiebilanzen auf, bauten weniger Körperfett ab und zeigten in den ersten Wochen signifikant niedrigere NEFA-Konzentrationen. Für die Regulation dieser Prozesse sind Veränderungen in der Synthese, Sekretion und in den Signalwegen der somatotropinen Hormone (Insulin, Wachstumshormon und IGF-1) und Leptin von zentraler Bedeutung (WATHES ET AL., 2012). Bei einer entkoppelten somatotropen Achse ist die Wachstumshormon-Konzentration hoch und die Konzentration an Insulin und IGF-1 niedrig. Insulin fehlt für den insulinabhängigen Glukosetransport in die Zellen. Die Milchdrüse wird durch den insulinunabhängigen Glukosetransport versorgt, die anderen Gewebe werden von der Glukoseversorgung abgekoppelt. Durch den entstehenden Glukosemangel in den Zellen kommt es zur weiteren Körperfettmobilisierung (MENN 2017) und vermehrt anflutenden NEFAs. Eine hohe Abhängigkeit von den Fettsäuren als Energiequelle in der peripartalen Zeit wird deutlich. Hierdurch werden oxidative Schäden an den Mitochondrien von metabolisch aktiven Geweben wie der Leber und dem Reproduktionstrakt verursacht (WATHES ET AL., 2012). Die Ergebnisse dieser Studie zeigten, dass die Tiere der Gruppe **RFD 20-30** signifikant höhere NEFA-Konzentrationen in den ersten Wochen aufwiesen und dennoch ein deutlich kürzeres Intervall von der Abkalbung bis zur ersten lutealen Aktivität zeigten als die Tiere der Gruppe **RFD < 20**. Somit wird deutlich, dass weitere Faktoren die reproduktive Funktion beeinflussen und nicht nur die NEFA-Konzentration dafür verantwortlich ist. KAWASHIMA ET AL. (2006) beschrieben, dass niedrige IGF-1-Konzentrationen zu niedrigen Östrogen-Konzentrationen führen, die wiederum keinen LH-Peak auslösen und die Ovulation ausbleibt. LE BLANC (2014) beschrieb den Grad der Fettmobilisierung als Risikofaktor für metabolische Erkrankungen. Eine erhöhte NEFA-Konzentration hat direkte Auswirkungen auf die Leber und die Immunfunktion, dies wiederum führt zu systemischen Erkrankungen. Diese Aussage konnte diese Studie nicht bestätigen, da die Tiere mit höherer NEFA-Konzentration nicht krankheitsanfälliger waren als die anderen Tiere.

Der postpartale Leberfettgehalt dient als Parameter zur quantitativen Beschreibung der peripartalen Stoffwechselbelastung. Werden aufgrund einer starken katabolen Stoffwechsellage p.p. Körperreserven mobilisiert, gelangen die Fettsäuren in die Leber. Ist die Menge anflutender freier Fettsäuren zu groß, können die Hepatozyten nicht alle Fettsäuren oxidieren. Die Fettsäuren werden dann in der Leber reverestert und als

Triglyceride gespeichert. Als Folge steigt der Leberfettgehalt an (NAFIKOV und BEITZ, 2007). Liegt durch unvollständige Fettsäureoxidation Acetyl-CoA im Überschuß vor, werden hieraus Ketonkörper in der Leber synthetisiert. Infolge dessen kommt es zu einer Steigerung der Ketogenese. Die synthetisierten Ketonkörper werden aus der Leber ausgeschleußt. Die erhöhten NEFA-Konzentrationen wiederum bewirken eine Reduzierung der Futteraufnahme (STAUFENBIEL ET AL., 1991). Die Tiere befinden sich in einem *circulus vitiosus*. Allerdings ist eine hohe Fettsäurekonzentration im Blut für die Milchfettsynthese im Euter förderlich (SCHRÖDER, 2000). In dieser Studie waren die ECM zwischen den Gruppen annähernd gleich. Es können keine Rückschlüsse von erhöhten NEFA-Konzentrationen auf höhere Milchfettgehalte gemacht werden.

STAUFENBIEL ET AL. (1991) empfiehlt bei Tieren, die bis zur Abkalbung keine ausreichenden Fettreserven angelegt haben, eine Steigerung der Futteraufnahme, um die Energieverfügbarkeit zu verbessern und so die verminderten energetischen Puffer teilweise zu kompensieren. Dies bestätigt die Untersuchungen von STÜRMER (2009).

Jedoch treten in der Folge verschlechterte Fruchtbarkeits- und Milchleistungen auf. Da in dieser Studie die Milchleistung zwischen den Gruppen vergleichbar ist, treten keine nennenswerten Folgen für die Milchleistung auf.

Überkonditionierte Milchkühe (die Tiere der Gruppe **RFD > 30**) zeigten zu Laktationsbeginn eine intensivere Lipolyserate, die sich in einem verminderten Appetit und damit einer entsprechenden unzureichenden freiwilligen TSA zeigten. Von zentraler Bedeutung für die TSA bei Milchkühen im peripartalen Zeitraum sind sowohl der Umfang der Körperfettreserven als auch die Körperfett-Mobilisierung im geburtsnahen Zeitraum (STÜRMER, 2009). Die präpartale Körpergewichtsänderung und die TSA stehen in der Früh-laktation bei Hochleistungskühen in einem umgekehrt proportionalen Zusammenhang, bedingt durch die Wirkung der Fettmobilisierung auf die TSA. Die Körperfettmobilisierung spiegelt in etwa die Änderung des Körpergewichts wider. Die Körperreserven und der Grad der Verfettung scheinen wichtige Faktoren für die Futteraufnahme nach der Abkalbung zu sein (MCNAMARA, 2003). Diese Studie bestätigte dies. Die optimal konditionierten Kühe (Gruppe **RFD 20-30**) zeigten eine fast gleiche TSA und eine ähnliche Energiebilanz wie die Tiere der Gruppe **RFD > 30**. Die Tiere der Gruppe **RFD < 20** wiesen signifikant größere TSA p.p. auf und verfügten vor der Abkalbung über signifikant geringere Körperfettreserven. Diese Aussage wurde von WEBER ET AL. (2013A) trotz einer anderen Gruppeneinteilung (nach dem Leberfettgehalt) bestätigt.

Häufig wird in der Literatur beschrieben, dass eine intensiv ausgeprägte negative Energiebilanz in der Früh-laktation mit starker Mobilisierung von Körperfett in enger Verbindung mit schlechten Fruchtbarkeitsergebnissen steht (DOMECCQ ET AL., 1997; STAUFENBIEL ET AL., 2003). Dies bestätigt diese Studie jedoch nicht. In Energiemangel-

Situationen wird die zur Verfügung stehende Energie für essentielle Vorgänge genutzt. Die Fortpflanzung gehört jedoch nicht zu den essentiellen Vorgängen. Die Tiere der Gruppe **RFD 20-30** und Gruppe **RFD > 30** wiesen ähnlich starke negative Energiebilanzen p.p. auf, jedoch zeigten die Tiere der Gruppe **RFD 20-30** signifikant kürzere Intervalle von der Abkalbung bis zur ersten lutealen Aktivität. Des Weiteren soll durch eine starke NEB eine Reduktion der GnRH-Sekretion folgen. Dies vermindert die sichtbaren Brunstanzeichen der Tiere. Auch dies bestätigte diese Studie nicht. Die Tiere der Gruppe **RFD 20-30** zeigten die Brunst deutlicher an als die Tiere der beiden anderen Gruppen. Betrachtet man allerdings die Tiere der Gruppe **RFD < 20** im Vergleich zu den Tieren der beiden anderen Gruppen, zeigten diese Tiere eine signifikant niedrigere negative Energiebilanz p.p. auf und wiesen geringere Rückenfettabnahmen auf. Dennoch zeigten diese Kühe das längste Intervall von der Abkalbung bis zur ersten lutealen Aktivität mit durchschnittlich 66 Tagen.

In Abhängigkeit der postpartalen Lipolyserate stieg die NEFA-Konzentration im Blut (SALLMANN UND FUHRMANN, 2005) und der Leberfettgehalt an.

Dies bestätigte diese Studie. Die Tiere der Gruppe **RFD < 20** mobilisierten in den ersten Wochen p.p. weniger Körperfett als die Tiere der beiden anderen Gruppen. Sowohl ein niedriger Leberfettgehalt als auch niedrige NEFA-Konzentrationen sind Indikatoren für diesen Prozess (STÜRMER 2009). Darüber hinaus ist ein verstärktes Energiedefizit mit einer niedrigeren Blutglucose-Konzentration verbunden (STAUFBIEL ET AL. 1991). Die Tiere der Gruppe **RFD < 20** zeigten postpartal das geringste Energiedefizit im Vergleich zu den Tieren der beiden anderen Gruppen. Dementsprechend wiesen diese Tiere an Tag 14 und Tag 28 p.p. auch die höchsten Blutglucose-Konzentrationen auf.

Für die Entstehung von Fruchtbarkeits- und Gesundheitsstörungen machte STÜRMER (2009) eher die postpartale Lipolyserate verantwortlich als die absolut abgebaute Menge an Körperfett. Je langsamer der Abbau vonstattengeht, desto geringer sind die Risiken für Gesundheit und Fruchtbarkeit. Es wird eine möglichst langsame Lipolyse angestrebt, damit die Leber die anflutenden freien Fettsäuren verstoffwechselt und nicht weitere Stoffwechselprobleme auftreten. STAUFBIEL ET AL. (2003) wiesen signifikante Beziehungen zwischen Kennziffern der Milchleistung und der Fruchtbarkeit zum Verlauf der RFD in der Laktation nach. Auf dieser Grundlage entwickelten STAUFBIEL ET AL. (2003) eine Referenzkurve für den optimalen Verlauf der RFD über einen Laktationszyklus. Tiere, die auf hohe Milchleistung (305-Tageleistung > 9000 kg Fett korrigierte Milch) und gute Fruchtbarkeit (ZKZ < 381 Tage) selektiert worden sind, zeigten in ihrem Verlauf der RFD-Entwicklung annähernd den Verlauf der Referenzkurve. STAUFBIEL ET AL. (2003) gehen davon aus, dass das Fruchtbarkeitsgeschehen wesentlich von der Konditionsentwicklung beeinflusst wird. In ihren Untersuchungen wiesen die Tiere mit einer Zwischentragezeit von > 159 Tage deutlich niedrigere RFD auf. Dies bestätigen die Ergebnisse dieser Studie. Bei

den Tieren mit einer **RFD < 20** mm a.p. erfolgte der Verlauf der RFD unterhalb der Referenzkurve. Diese Kühe wiesen ebenfalls ein längeres Intervall mit durchschnittlich 66 Tagen von der Abkalbung bis zur ersten lutealen Aktivität auf, im Gegensatz zu den Tieren der beiden anderen Gruppen. Bei den Tieren der Gruppe **RFD 20-30** setzte die erste luteale Aktivität durchschnittlich nach 28 Tagen ein. Es ist ein signifikanter Unterschied der Mittelwertdifferenzen in Bezug auf das Intervall von der Abkalbung bis zur ersten lutealen Aktivität zu erkennen ($p < 0,01$). GÖLLNITZ (2007) diskutierte eine Anpassung der Referenzkurve für die RFD-Mobilisierung an Tieren mit einer höheren Milchleistung. Sowohl in ihren Untersuchungen als auch in den Untersuchungen von SCHRÖDER (2000) war eine Verschiebung der Referenzkurve bei Tieren mit Milchleistungen von > 10.000 kg nach unten zu erkennen.

STAUFENBIEL ET AL. (2003) beschrieben, dass durch die Fütterung Milchleistung und Fruchtbarkeit nicht gleichermaßen gefördert werden. Es tritt eine unerwünschte Konkurrenz zwischen diesen beiden Parametern auf, die zu Lasten einer schlechteren Fruchtbarkeit geht. Eine gute Fruchtbarkeit wird durch die Faktoren Tiergesundheit, Fütterung, Haltung, Brunst sowie die Besamungstechnik beeinflusst. In dieser Studie wurde nur die Zeit von der Abkalbung bis zur ersten lutealen Aktivität untersucht. Somit kann die Aussage von STAUFENBIEL ET AL. (2003) bezogen auf die Konkurrenz zwischen Milchleistung und Fruchtbarkeit nicht bestätigt werden, da in dieser Studie ein wesentlich kürzerer Untersuchungszeitraum zugrunde lag. Die Tiere der Gruppe **RFD < 20** hatten signifikant höhere TSA und zeigten das längste Intervall von der Abkalbung bis zur ersten lutealen Aktivität im Vergleich zu den Tieren der beiden anderen Gruppen.

Die Tiere der Gruppe **RFD < 20** zeigten ein im Durchschnitt weniger stark ausgeprägtes Energiedefizit. Sie mobilisierten eine geringere Menge Rücken Fett und wiesen geringfügig niedrigere NEFA-Konzentrationen als die Tiere der beiden anderen Gruppen auf. Sie zeigten in den ersten Wochen nach der Abkalbung signifikant geringere Leberfettgehalte. Infolge dessen war eine geringere RFD-Abnahme zu beobachten. Antepartal zeigten die Tiere der Gruppe **RFD > 30** signifikant höhere Leberfettgehalte. Postpartal, an Tag 28, wiesen die Tiere der Gruppe **RFD 20-30** und der Gruppe **RFD > 30** höhere Leberfettgehalte auf als die Tiere der Gruppe **RFD < 20**. Dies lässt sich auf eine stärkere Körperfettmobilisierung nach der Abkalbung zurückführen. Insgesamt deuten die stärkere Rückenfettmobilisierung und die höheren Leberfettkonzentrationen auf stärkere Belastungen des hepatischen Stoffwechsels hin.

In der Studie von KIM und SUH (2006) wurde deutlich, dass Kühe, die zur Abkalbung mehr als 0,75 Körperkonditionspunkte verlieren, signifikant häufiger Endometritiden und Stoffwechselstörungen (zum Beispiel Ketose) aufwiesen, als Tiere die moderate Körperkondition verlieren. Des Weiteren verlängerte sich das Intervall von der Abkalbung bis zur ersten

Besamung deutlich bei den Tieren mit stärkerem Körperkonditionsverlust zum Partus. Dies beschrieb WATHES (2012) als Warnsystem. Wenn die Kuh sich in einem ungünstigen metabolischen Zustand befindet, werden die bereit stehenden Nährstoffe den wichtigen Funktionen des Körpers zur Verfügung gestellt. Als wichtige Funktionen beschrieb sie das Wachstum und die Milchleistung. Da in dieser Studie die Milchleistung bei den Tieren annähernd gleich ist, liegt die Vermutung nahe, dass metabolisch gesehen die Milchleistung eine wichtige Funktion ist.

5.2 Einteilung nach der Länge des Intervalls von der Abkalbung bis zur ersten lutealen Aktivität p.p.

Um die Zusammenhänge zwischen dem Wiedereinsetzen der Ovarfunktion in der Frühlaktation und der Stoffwechsellage im geburtsnahem Zeitraum erkennen zu können, wurden Ergebnisse metabolischer und endokriner Parameter miteinander verglichen. Dazu wurden zwei Gruppen (Gruppe **CL < 24** und Gruppe **CL > 58**) gebildet.

Als Meßgröße wurde die Länge des Intervalls von der Abkalbung bis zur ersten lutealen Aktivität gewählt, da diese Zeit ein wichtiger Parameter für die nachfolgende Trächtigkeit darstellt. Tiere, die früher wieder in den Zyklus kommen und mehrere Zyklen bis zur Besamung haben, zeigen eine gute luteale Aktivität und haben die besten Voraussetzungen für die nächste Trächtigkeit. Nach der Auffassung von BUTLER ET AL. (2006) sollten Milchkühe daher möglichst schnell nach der Abkalbung zu einer regelmäßigen Zyklizität zurückkehren. Je mehr regelmäßige Zyklen die Kühe bis zur ersten Besamung aufwiesen, umso stabiler war die reproduktive Achse. SHRESTHA ET AL. (2004) beschrieben, dass Tiere mit abnormalen ovarialen Zyklen eine schlechtere Fruchtbarkeit aufwiesen. Die Tiere wiesen eine schlechtere Trächtigkeitsrate, verlängerte Intervalle bis zur ersten Besamung und bis zum Kalben auf. Daraus ergibt sich die Frage, was dazu führt, dass diese Kühe früh nach der Abkalbung ovulieren. In dieser Arbeit wurden die metabolischen Parameter von Tieren mit kurzem Intervall mit Tieren mit längeren Intervallen verglichen.

In einer Studie von KAWASHIMA ET AL. (2006) zeigte sich deutlich, dass Tiere, die innerhalb der ersten drei Wochen p.p. ihre erste Ovulation hatten, nach 68 Tagen p.p. besamt werden konnten und die Trächtigkeitsrate deutlich besser war, als bei den Tieren, die später ovulierten. Somit zeigte die Studie von KAWASHIMA ET AL. (2006), dass frühe Ovulationen p.p. besser und sinnvoll für eine gute Reproduktion sind. Aufgrund von einem negativen Energiestatus p.p. kommt es zu verzögertem Wiedereinsetzen der Ovarfunktion. Eine späte erste Ovulation p.p. beschrieb BOLLWEIN (2007) als Hauptursache für erhöhte embryonale Mortalität. In dieser Studie zeigten die Tiere der Gruppe **CL > 58** ab der siebten Woche p.p. eine bessere TSA und ab der achten Woche p.p. bessere Energiebilanzen als die Tiere, die eine erste Ovulation innerhalb der ersten 24 Tage p.p. aufwiesen. Wie sich dieser

Sachverhalt auf die Trächtigkeitsraten und die embryonale Mortalität bei den Tieren auswirkt, wurde in dieser Studie nicht untersucht. Hier wären weitere Untersuchungen interessant gewesen, ob eine spätere positive Energiebilanz positive Auswirkungen auf die folgende Trächtigkeit hat.

In den Untersuchungen von KAWASHIMA ET AL. (2007A) wurde ein frühes Wiedereinsetzen der Ovarfunktion beschrieben, wenn die Tiere innerhalb der ersten drei Wochen p.p. eine luteale Aktivität aufwiesen. STÜRMER (2009) ging von einer frühen ersten lutealen Aktivität aus, wenn die Tiere bis zum 28. Tag p.p. einen Milchprogesteronanstieg von ≥ 5 ng/ml aufwiesen. Bei seiner Studie waren es 40 % der Tiere, die eine frühe ovarielle Funktion zeigten. PATTON ET AL. (2006) beschrieben ein Hauptintervall von 35 ± 15 Tagen. SHRESTHA ET AL. (2004) und TAMADON ET AL. (2011) unterteilten in ihren Studien die Tiere nach ihrer ersten lutealen Aktivität vor und nach dem 45. Tag p.p.. In ihren Untersuchungen stellten SHRESTHA ET AL. (2004) bei 13,2 % und TAMADON ET AL. (2011) bei 28,2 % der Tiere die erste Ovulation nach dem 45. Tag p.p. bzw. keine Ovulation bis zum Untersuchungsende (anovulatorische Tiere) fest.

TAMADON ET AL. (2011) beschrieben in ihren Untersuchungen signifikante Zusammenhänge zwischen der Abbaurate und Abbaugeschwindigkeit des BCS und dem Intervall von der Kalbung bis zur ersten lutealen Aktivität. Die Tiere, die nach dem 45. Tag p.p. ein Wiedereinsetzen der Ovarfunktion aufwiesen, mobilisierten in den ersten drei Wochen p.p. signifikant mehr Körpermasse. Die Ergebnisse von PATTON ET AL. (2006) unterstützen diese Aussage von TAMADON ET AL. (2011). Tiere, die eine kleinere Reduktion des subkutanen Fettgewebes aufwiesen, zeigten ein kürzeres Intervall von der Abkalbung bis zum Wiedereinsetzen der ovariellen Funktion. In der vorliegenden Untersuchung ließ sich diese Aussage nicht bestätigen. Denn die Tiere, die ein längeres Intervall von der Kalbung bis zur ersten lutealen Aktivität aufwiesen, bauten in der ersten Wochen p.p. nicht mehr Rücken fett ab.

Nach GRUMMER (1995) ist das Maximum des Energiedefizites in den ersten Wochen nach der Abkalbung zu erwarten. Dies bestätigten die eigenen Ergebnisse. Einige Autoren [BUTTLER (2003), SHRESTHA ET AL. (2004), PATTON ET AL. (2006), STÜRMER (2009) und TAMADON ET AL. (2011)] beschrieben eine negative Korrelation zwischen der Dauer bzw. der Ausprägung der negativen Energiebilanz und dem Intervall von der Abkalbung bis zum Wiedereinsetzen der ovariellen Funktion. Die vorliegende Studie zeigte jedoch zu dieser Aussage abweichende Ergebnisse. Die Energiebilanzen kurz nach der Abkalbung waren bei den Tieren der Gruppe **CL < 24** und **CL > 58** annähernd gleich, obwohl die Zeitspanne von der Abkalbung bis zur ersten lutealen Aktivität signifikant voneinander abweicht. Warum die Energiebilanz in der achten und neunten Woche p.p. bei den Tieren der Gruppe **CL < 24**

negativer wird und warum die Tiere in dieser weniger Zeit weniger fressen, ist nicht abschließend geklärt.

Weiter zeigten PATTON ET AL. (2006) und STÜRMER (2009), dass eine größere TSA in der Frühlaktation mit einem früheren Wiedereinsetzen der Ovarfunktion einhergeht. Dies konnte die vorliegende Studie nicht bestätigen. Die Tiere der beiden Vergleichsgruppen nehmen während der ersten sechs Wochen p.p. annähernd die gleiche Menge Trockensubstanz zu sich. In der Literatur werden Angaben darüber getätigt, dass das Ausmaß der negativen Energiebilanz in der Frühlaktation stärker von dem Rückgang der Trockensubstanzaufnahme als von der Milchleistung beeinflusst wird (VILLA-GODOY ET AL. 1988; SPICER ET AL. 1990, NEBEL und MCGILLARD 1993).

Weiter konnte in dieser Studie beobachtet werden, dass die Tiere der Gruppe **CL > 58** ab der sieben bzw. achten Woche p.p. signifikant bessere TSA und bessere Energiebilanzen aufwiesen. Diese Tiere hatten ihre erste luteale Aktivität also erst als sie energetisch deutlich besser gestellt waren. Die Dauer der Phase mit negativer Energiebilanz wird im Durchschnitt mit acht Wochen angegeben (DOMECQ ET AL., 1997), sie kann zwischen fünf Wochen (BUTLER ET AL., 1989) und 16 Wochen (BUTLER ET AL., 1992) variieren. Diese Tatsache deutet daraufhin, dass nicht allein die metabolischen Parameter eine wichtige Rolle spielen, sondern auch endokrine Parameter und genetische Faktoren dafür mitverantwortlich sind. Hier wäre interessant, ob die Tiere, die ihre erste Ovulation in einer energetisch günstigeren Phase aufzeigen, bessere Fruchtbarkeitsergebnisse aufweisen. VON LESSEN et al. (2014) beschrieben in deren Studie einen Zuchtwert für die Energiebilanz und stellten fest, dass Tiere mit einem besseren Zuchtwert für die Energiebilanz signifikant früheres Wiedereinsetzen der lutealen Aktivität p.p. aufwiesen.

Ergänzend schlussfolgerten PATTON ET AL. (2006), dass die TSA diejenige Komponente der Energiebilanz darstellt, die die Reproduktionsfunktion in der Frühlaktation stärker verändert als die Milchmengenleistung. In dieser Studie war die Milchmengenleistung zwischen den Tieren der beiden Gruppen annähernd gleich. Dieses Ergebnis bestätigt die Resultate von KAWASHIMA ET AL. (2007B) nicht. In deren Studie konnte, im Vergleich zu den ovulatorischen Tieren, bei den anovulatorischen Kühen signifikant mehr Milch gewonnen werden. In den vorliegenden Ergebnissen ist dies nicht zu erkennen, sowohl die Milchmengenleistung als auch die ECM waren bei den Tieren beider Gruppen gleich.

Die vier Studien von PATTON ET AL. (2006), KAWASHIMA ET AL. (2007B), STÜRMER (2009) und TAMADON ET AL. (2011) zeigten Übereinstimmungen: Tiere mit einem vergleichsweise späten Wiedereinsetzen der ovariellen Funktion nach der Abkalbung sind mit einem höheren postpartalen Energiedefizit sowie niedrigeren Glucosekonzentration assoziiert. Die vorliegende Studie bestätigt diese Übereinstimmungen nicht. In dieser Studie zeigten die Tieren der Gruppe **CL < 24** und die Tiere der Gruppen **CL > 58** ähnliche negative

Energiebilanzen bis zur achten Woche p.p. und gleiche Glucosekonzentrationen p.p.. WATHES ET AL. (2007) beschrieben einen Zusammenhang zwischen einer negativeren Energiebilanz und signifikant höheren NEFA-Konzentrationen. Dies steht im Widerspruch zu den vorliegenden Ergebnissen. Die Tiere der beiden Gruppen wiesen nach der Abkalbung gleiche negative Energiebilanzen bis zur achten Woche p.p. und gleiche NEFA-Konzentrationen über den gesamten Untersuchungszeitraum auf. PATTON ET AL. (2006) beschrieben keinen Zusammenhang zwischen dem Intervall von der Abkalbung bis zur ersten lutealen Aktivität und den gemessenen metabolischen Blutparametern wie Glucose- und NEFA-Konzentrationen. Im Einklang mit TAMADON ET AL. (2011) zeigten die Ergebnisse von PATTON ET AL. (2006), dass die Dauer der negativen Energiebilanz nach dem Abkalben negativ mit der Zeit bis zur ersten lutealen Aktivität korreliert. In den vorliegenden Ergebnissen war zu erkennen, dass die Tiere beider Gruppen in den ersten sieben Wochen p.p. eine gleiche negative Energiebilanz aufwiesen.

Einen signifikanten Zusammenhang zwischen später lutealer Aktivität p.p. und höheren NEFA-Konzentrationen in den ersten Wochen p.p. beschrieben JACKSON ET AL. (2011) in ihrer Studie. Diese Ergebnisse bestätigte diese Studie nicht.

5.3 Reproduktive Parameter

5.3.1 Brunstbeobachtung

Die Brunstbeobachtung sollte nach Angaben von HEUWIESER (1997) mindestens dreimal täglich über mindestens 20 Minuten während der Ruhezeiten durchgeführt werden. Führt man eine Brunstbeobachtung von nur ein- bis zweimal täglich durch, kann nach WILTBANK ET AL. (2006) die Brunsterkennungsrate unter 50 % sinken. Die Duldungsbereitschaft gilt als primäres Brunstanzeichen und kann als Schlüsselzeichen und sicherster Hinweis für eine Brunst bewertet werden. Duldet eine Kuh das Aufspringen einer anderen Kuh, ist sie zu 90-95 % in Hochbrunst. Die Duldungsbereitschaft ist nur für eine bestimmte Zeit während der gesamten Brunst eines Tieres vorhanden. Sie beträgt bei Kühen im Mittel 6-8 Stunden (GASTEINER 2014). Jedoch kann die Dauer der Duldungsbereitschaft bei einigen Tieren extrem kurz sein. Bei hochleistenden Kühen beträgt diese Zeit zum Teil weniger als vier Stunden (WILTBANK ET AL. 2006), so dass die Chance, diese Tiere in Brunst zu erkennen, sehr gering ist. Etwa fünf bis 15 % der Tiere sind stillbrünstig. Diese Tiere sind in Brunst, zeigen aber keine primären Brunstanzeichen. In dieser Studie lag die Brunsterkennungsrate durch die Brunstbeobachtung bei 43,6 % . Auch wenn man in Betracht zieht, dass nicht alle durch die Progesteronanalytik detektierten CL eine sichtbare Brunst zur Folge haben, muss hier von einer unzureichenden Brunstbeobachtung ausgegangen werden. Um eine optimale Brunsterkennungsrate zu erzielen, sind in dieser Studie die Ergebnisse der Milch- und Blutprogesteronbestimmung, der Ultraschall gestützten gynäkologischen Untersuchung und

der Brunstbeobachtung zusammengeführt worden, so dass im Endeffekt eine Brunsterkennungsrate von annähernd 100 % erzielt wurde. BECKER ET AL. (2005) fassten zusammen, dass die Brunsterkennungsrate in milcherzeugenden Betrieben idealerweise etwa 60 bis 80 % betragen sollte. Jedoch liegt im Regelfall die Brunsterkennungsrate in leistungsstarken Milchrinderherden deutlich unter 60 %. Die Ursache begründeten BERGHORG ET AL. (1988) in dem zunehmenden Ausmaß des Energiedefizites, welches die Ausprägung der Brunsterscheinung negativ beeinflusst.

WILTBANK ET AL. (2006) beschrieben den Zusammenhang wie folgt: Eine erhöhte Milchleistung führt zu einer höheren Leberdurchblutung mit der Folge, dass unter anderem die Steroidhormone in der Leber schneller metabolisiert werden. Die Konsequenz der niedrigeren Blutkonzentrationen der Hormone Progesteron und Östrogen sind kürzere Brunsten und geringere Duldungsreflexe. Somit wird die Brunstbeobachtung erschwert. In dieser Studie lag die Brunsterkennungsrate alleine durch die Brunstbeobachtung bei nur 46 %, dies könnte an den von WILTBANK ET AL. (2006) und BERGHORG ET AL. (1988) genannten Zusammenhängen liegen.

Die Duldungsbereitschaft entspricht laut GASTEINER (2014) einem sicheren Brunstanzeichen und gehört zu den sogenannten primären Brunstanzeichen. Zu den sogenannten sekundären Brunstanzeichen zählt der Abgang von klarem Schleim aus der Vulva. Dieses Anzeichen gibt den besten Hinweis auf eine abgelaufene Brunst. Mit 76 % trat dieses Brunstanzeichen am häufigsten bei den Tieren dieser Untersuchung auf. Eine Rötung der vaginalen Schleimhaut konnte bei 16 % der Tiere beobachtet werden und lediglich bei 8 % der Tiere konnte die typische Duldungsbereitschaft festgestellt werden.

5.3.2 Zeitpunkt der ersten Ovulation

In der Literatur gibt es unterschiedliche Angaben zum Zeitpunkt der ersten Ovulation nach der Kalbung. WILTBANK ET AL. (2006) beschrieben eine erste Ovulation nach der Kalbung um den $33,3 \pm 2,1$ Tag p.p., während SCHOPPER ET AL. (1993) durchschnittlich eine erste Ovulation nach der Kalbung um den 23. Tag p.p. nachgewiesen haben. In den ersten drei Wochen p.p. ovulierten in dieser Studie 29,9 % der Tiere. In der Studie von KAWASHIMA ET AL. (2007A) ovulierten bereits 47,8 % innerhalb der ersten drei Wochen p.p..

Weiter zeigten in dieser Studie zwischen der 5.-8. Woche p.p. 34,6 % der Tiere ihre erste Ovulation p.p. und nach der 8. Woche p.p. konnte bei 30,8 % der Tiere eine erste Ovulation beobachtet werden. Im Durchschnitt ovulierten die Tiere in dieser Studie um den $44,4 \pm 28,9$ Tag p.p., während in den Untersuchungen von SHRESTHA ET AL. (2004) bei 86,8 % der Hochleistungskühe ein Einsetzen der Ovarfunktion vor dem 45. Tag p.p. festgestellt wurde. Auch TAMADON ET AL. (2011) beschrieben in ihrer Studie eine erste luteale Aktivität p.p. vor

dem 45. Tag p.p. von 71,8 %. Somit wird deutlich, dass in dieser Studie die meisten Tiere einen wesentlich späteren Wiederbeginn der Ovarfunktion aufwiesen.

5.3.3 Zykluslänge

In der Studie von SHRESTHA ET AL. (2004) wurde eine normale erste Zykluslänge zwischen 10-20 Tagen angesehen. In ihrer Untersuchung zeigten 42,9 % der untersuchten Tiere einen normalen ersten Zyklus innerhalb der ersten 45 Tage p.p.. Bei 35,2 % beobachteten SHRESTHA ET AL. (2004) einen verlängerten Zyklus (>20 Tage) und bei 5,5 % einen verkürzten Zyklus (< 10 Tage). Die restlichen 16,4 % der Tiere waren anovulatorisch.

Wird die Einteilung von SHRESTHA ET AL. (2004) für die vorliegende Studie zu Grunde gelegt, wird deutlich, dass die Ergebnisse ähnlich sind. In dieser Studie wurden etwas mehr Tiere mit verlängertem Zyklus festgestellt (47,1 %). Die Anzahl der Tiere mit verkürzter Zykluslänge bilden mit 11,8 % auch in dieser Untersuchung die kleinste Gruppe. Einen normal langen Zyklus wiesen 41,2 % der Tiere auf. Allerdings zeigten in der Studie von RANASINGHE ET AL. (2011) nur 11,9 % der Tiere einen verlängerten Zyklus von ≥ 20 Tagen. Welche Faktoren die Zykluslänge beeinflussen sind noch nicht ausreichend geklärt.

Des Weiteren stellten sie fest, dass 56 % der Tiere mit einem verlängerten Zyklus eine reduzierte Trächtigkeitsrate und ein verlängertes Intervall bis zur ersten Besamung aufwiesen. Tiere mit einem kurzen Intervall von der Abkalbung bis zur ersten lutealen Aktivität zeigten ein höheres Risiko zu verlängerten Zyklen. Dies konnte diese Studie nicht bestätigen.

5.3.4 Progesteron

In der Literatur werden bei parallelen Messungen der Progesteronkonzentration in der Milch und im Blutserum synchron verlaufende Konzentrationen gezeigt (HOEDEMAKER und HELD, 1985). Die Progesteronkonzentrationsverläufe in der Milch und im Blutserum wiesen eine Übereinstimmung von 83 % auf (HOEDEMAKER und HELD, 1985). Auch in dieser Studie zeigten die Progesteronprofile der Milchprogesteron- und Blutprogesteronkonzentrationen deutliche Übereinstimmungen.

5.4 Oozyten in vitro

Bei der *in vitro* Produktion können die Bedingungen der natürlichen Entwicklung *in vivo* nur bedingt nachgestellt werden, dies führt zu vielfältigen und zum Teil letalen Beeinträchtigungen der *in vitro* Produktion. Die Präimplantationsphase ist eine sehr sensible Phase, in der viele zentrale Prozesse ablaufen (FARIN ET AL., 2001). Dazu zählt zum Beispiel die epigenetische Reprogrammierung des Genoms oder das Imprinting. Eine wichtige Rolle spielt dabei vermutlich die adäquate Methylierung regulatorischer DNA-Sequenzen.

Störungen in diesem hochkomplexen Prozess sind vermutlich eine wichtige Ursache für das Auftreten von embryonalen und fetalen Entwicklungsstörungen (FERNANDEZ-GONZALEZ ET AL., 2007).

5.4.1 Präovulatorische Cumulus-Oozyten-Komplexe (COK)

In dieser Studie standen nur wenige Tiere (n=8) für die Gewinnung präovulatorischer COK zu Verfügung. Die Gewinnungsrate von präovulatorischen COK lag bei 88,9 %. Es folgte die Beurteilung der nukleären Reifung in den präovulatorischen COK. Die Kernreifung ist ein sehr komplexer Vorgang. TROUNSON ET AL. (1977) definieren als „Kernreife“ das Erreichen des Metaphase-Stadiums der zweiten meiotischen Teilung. Für die Beurteilung der Oozytenqualität sind die Wiederaufnahme der Meiose, die Meiosekinetik und die Qualität der Chromatinkonfiguration wichtige Parameter (OTZDORF 2006). Die Bestimmung der Chromatinkonfiguration ist ein leicht zugänglicher Parameter. Aufgrund des komplexen Vorganges der nukleären Reifung ist die alleinige Beurteilung des Erreichens der Metaphase II für die Entwicklungskompetenz von Oozyten nicht ausreichend. In der Literatur wird die Dauer der Reifungszeit bis zum Erreichen der Metaphase II beim Rind unterschiedlich angegeben. In dieser Studie befanden sich drei der COK in der Metaphase II. Diese präovulatorischen Oozyten haben die Meiose bis zur Metaphase II durchlaufen und haben die besten Voraussetzungen für eine Weiterentwicklung. Diese Tiere standen kurz vor der nächsten Ovulation. Zwei der Oozyten befanden sich nicht im erwarteten Zustand, dem Diplotän.

5.4.2 Follikelbesatz der Ovarien

Der metabolische Status einer Milchkuh hat großen Einfluss auf die Reproduktionsfähigkeit, sowohl auf systemischer Ebene als auch durch Beeinflussung der hypothalamischen GnRH-Achse oder durch direkte Wirkung auf ovarieller Ebene durch Regulation des Follikelwachstums, der IGF-1-Entstehung und durch lokale Mediatoren an den Ovarien direkt (GARCIA-GARCIA, 2012).

Bei den Tieren vom **ZT0** trat eigentlich nur ein großer präovulatorischer Follikel auf, der einen negativen Einfluss auf den Pool wachsender Follikeln ausübte. In dieser Studie gab es bei den Tieren keine weiteren großen Follikel. Die Tiere von **ZT4** und **ZT12** wiesen mehrere große Follikel auf. Mit ansteigendem Zyklustag wurde eine höhere Gesamt-Follikelanzahl auf den Ovarien gezählt. Dies lässt sich auf die einsetzende Follikelreifungswelle zurückführen. Bei den Tieren vom **ZT4** sind die ersten Follikelwellen angeschoben. Die Follikel mit einer Größe von 6-10 mm haben meist keine Entwicklungskompetenz beim Rind.

Zu erwarten wäre, dass die prozentuale Verteilung vom kompakten Cumulus bis zum **ZT12** weniger wird, da immer mehr Follikel atretisch werden. Durch die Atresie lockert der Cumulus immer weiter auf, so dass mehr expandierte COK am **ZT12** zu finden sind.

Zur Charakterisierung der Entwicklungskompetenz der Oozyten stellt die Bestimmung der Chromatinkonfiguration einen leicht zu erfassenden Parameter dar. Allerdings ist die Beurteilung der Kernreifung für die Feststellung der Entwicklungskompetenz der Oozyten nicht ausreichend. Es sollten die Vorgänge der zytoplasmatischen Reifung zur Ausbildung der Entwicklungskompetenz mit herangezogen werden. In der vorliegenden Studie wurden zur Bestimmung der Entwicklungskompetenz die Beurteilung der Morphologie des Chromatins der COK eingesetzt.

Untersuchungen von OTZDORFF (2006) kamen zu dem Schluss, dass sich im Verlauf der IVM aus einer feinkörnigen Aggregationsform ein kristallines Aggregationsmuster entwickelte. In ihrer Studie wurde weiter berichtet, dass Oozyten mit einer kristallinen mitochondrialen Aggregation am Ende der IVM entwicklungscompetenter sein könnten. Die kristalline Aggregationsform gab einerseits Hinweise auf eine Differenzierung der Mitochondrien am Ende der Reifung, andererseits wiesen sie auf eine Ansammlung von Mitochondrien an bestimmten zellulären Strukturen hin, die einen höheren Energiebedarf am Ende der Reifung aufwiesen.

5.4.3 Entwicklungskompetenz der Oozyten nach IVM/IVF/IVK

5.4.3.1 Furchungs- und Blastozystenrate

Als Maß für die Entwicklungskompetenz der Oozyten wurde die Blastozystenrate herangezogen. Allerdings darf nicht außeracht gelassen werden, dass für die *in vitro* Fertilisation Oozyten aus der Punktierung von Follikeln der Größe 3-5 mm isoliert wurden. Die Oozyten können sich dabei noch in der Entwicklungs- bzw. Reifungsphase oder bereits in Regression befinden (LEIDENFROST, 2007). Das Entwicklungspotential der einzelnen, so gewonnenen Oozyten ist dementsprechend sehr variabel. Die Bedingungen von IVM/IVF/IVK spiegeln nur unvollkommen die Situation *in vivo* wieder. OTZDORFF (2006) beschrieb, dass die Beurteilung der Entwicklungskompetenz von Oozyten von vielen Arbeitsgruppen über die Bestimmung der Blastozystenrate und damit über die morphologische Beurteilung der Blastozysten vorgenommen wurde. Der Vorteil dieser Beurteilung liegt in der nicht invasiven Methodik sowie der schnellen und einfachen Durchführbarkeit. Tiere am **ZT4** wiesen Acht-Zeller auf. Zu diesem Entwicklungszeitpunkt wird das embryonale Genom angeschaltet, die Oozyte angelegt und implantiert (LEIDENFROST, 2007).

Wird die Technik außer Acht gelassen, wird die Follikelentwicklung bei den Tieren vom **ZT0** von dem dominanten präovulatorischen Follikel unterdrückt. Auf den Ovarien vom **ZT4** kamen vorrangig wachsende Follikel vor. Auf den Ovarien vom **ZT12** wiederum gab es

atretische und wachsende Follikel. In dieser Studie ist die Entwicklung bei **ZT4** und **ZT12** annähernd gleich.

In der Studie von KROPP ET AL. (2017) ging es um Unterschiede zwischen Embryonen, die von Spermien von hoch bzw. niedrig fruchtbaren Bullen (Rasse Holstein) erzeugt wurden sind. Insgesamt wurden in ihrer Studie 5757 Oozyten eingesetzt. Am achten Tag der Kultivierung wurde die Blastozystenrate bestimmt. Sie lag in der Gruppe der niedrig fruchtbaren Bullen bei 27,01%, während die Blastozystenrate in der andere Gruppe bei 29,41 % lag. Anscheinend ist die Fruchtbarkeit der Bullen nicht ausschlaggebend für die Blastozystenrate. Ein Vergleich mit dieser Arbeit, bei der Blastozystenrate von 28,2 % bzw. 40,0 % bei den Tieren der Gruppe **ZT12** bzw. **ZT4** generiert werden konnten, lässt den Schluss zu, dass hochleistende Milchkühe ähnlich gute Embryonenentwicklung in der frühen Phase aufweisen. Allerdings sollten aufgrund der geringen Anzahl eingesetzter Oozyten weitere Untersuchungen folgen.

5.4.3.2 Embryonengewinnungsrate

Ursache für eine nicht so hohe Embryonengewinnungsrate könnten suboptimale Gewinnungstechniken und der Verbleib von Embryonen im Reproduktionstrakt sein. Generell wurden nur COK mit kompaktem Cumulus eingesetzt, um eine gute Embryonenqualität zu erreichen.

Um die Embryonengewinnungsrate zu verbessern, empfehlen WOLGAST ET AL. (2008) den Einsatz von uterotonisch wirkenden Medikamenten zum Beispiel Dinoprost. Die luteolytischen Dosis sollte laut WOLGAST ET AL. (2008) 12 - 16 Stunden vor der Embryonengewinnung verabreicht werden.

WATHES ET AL. (2012) beschrieben, dass überschüssiges Fett unter anderem in den Oozyten eingelagert wird. Dies kann ebenfalls die Fertilität verringern, indem die Embryonenüberlebensrate verringert wird.

In einer Studie von FENWICK ET AL. (2008) wird der Zusammenhang zwischen der NEB während der frühen Laktation bei Milchkühen und der embryonalen Mortalität aufgezeigt. Die NEB führt zu einem veränderten Stoffwechselzustand, der große Auswirkungen auf die Produktion von IGFs hat. Die IGF-Verfügbarkeit im Ovidukt wird durch die NEB negativ beeinflusst. Dadurch wird die Embryonenentwicklung beeinträchtigt, dies wiederum führt zu hohen embryonalen Mortalitätsraten bei Milchkühen. Des Weiteren werden Krankheiten (wie Mastitiden) als mitwirkende Faktoren für den embryonalen Tod diskutiert (WATHES, 2012). Hier lassen biologische Vorgänge und der frühe embryonale Verlust Raum für Spekulationen.

6 Schlussfolgerungen

Bei hochleistenden Milchkühen beobachtete man im Hinblick auf die Stoffwechselprozesse und die Fruchtbarkeitsparameter deutliche Biodiversitäten.

In dieser Studie gab eine intensive Phänotypisierung von Hochleistungskühen Auskünfte über die zootecnischen, metabolischen und endokrinen Parameter der Tiere. Es wurde festgestellt, dass die Tiere bei annähernd identischer Milchleistung zum Teil auf unterschiedlicher Weise das Energiedefizit ausglich. Es zeigten sich unterschiedliche Grade der Mobilisierung von Körperfett bei gleicher Milchleistung.

Tiere mit einer erhöhten (>30 mm) oder verringerten (< 20 mm) RFD vor der Abkalbung zeigten verlängerte Intervalle vom Partus bis zur ersten lutealen Aktivität bei gleicher Milchleistung. Nach den Ergebnissen dieser Studie ist der Nutzen der RFD-Messung als Bestandteil des Herdenmanagement als sinnvoll anzusehen. Es ist ein guter und vor allem einfacher Parameter für den Milcherzeuger, seine Tiere optimal auf die Abkalbung und die darauffolgende Milchleistung vorzubereiten. Die optimale RFD zur Abkalbung liegt zwischen 20-30 mm (STAUFENBIEL ET AL., 2004), wie sich in dieser Studie bestätigte. Optimal konditionierte Kühe schienen die beste Strategie zu haben, die peripartale energetisch schwierige Zeit möglichst ohne größere Probleme zu überwinden. Sie zeigten ein früheres Wiedereinsetzen der lutealen Aktivität und wiesen deutlichere Brunstanzeichen auf. Die Tiere dieser Studie hatten alle eine vergleichbare Milchleistung. Die Milchproduktion scheint somit gegenüber anderen extramammären energie- und nährstoffintensiven Prozessen bevorzugt zu werden. Auch war die Brunsterkennung bei den Tieren mit einer **RFD 20-30** deutlicher als bei den Tieren der anderen beiden Gruppen.

Anhand der ausgewerteten metabolischen und endokrinen Parameter lassen sich keine Aussagen zu den signifikant unterschiedlichen Intervallen der Tiere der beiden Gruppen (**CL < 24** und **CL > 58**) machen. Warum die Tiere der Gruppe **CL < 24** ab der siebten Woche p.p. signifikant schlechtere Werte der Energiebilanz und der TSA im Vergleich zu den Tieren der Gruppe **CL > 58** zeigten, bleibt ungeklärt. Die Pathomechanismen bezogen auf das Einsetzen der ersten lutealen Aktivität p.p. blieben weiterhin unerkannt.

Die auf hohe Milchleistung gezüchteten Kühe zeigten keine Beeinträchtigung bezogen auf die Befruchtungsrates und die Entwicklungskompetenz von COK nach IVP. Somit kann die frühe embryonale Entwicklung auch unter Hochleistungsbedingungen gut sein, wobei hier weitere Untersuchungen an einem größeren Pool von COK vorgenommen werden sollten.

7 Zusammenfassung

Zusammenhänge zwischen metabolischen und endokrinen Parametern, der Energiebilanz und der Ovarfunktion bei hochleistenden Milchkühen

Eine fruchtbare Milchviehherde ist die Grundlage für den wirtschaftlichen Erfolg der Milcherzeuger. Die Milchkühe müssen neben hohen Milchleistungen auch hohe reproduktive Leistungen realisieren. Insbesondere in hochleistenden Milchviehherden werden große individuelle Unterschiede in der Umsetzung einer hohen Milchleistung und einer guten Fruchtbarkeit festgestellt. Das Ziel der Studie war es Zusammenhänge bei hochleistenden Milchkühen zwischen metabolischen und endokrinen Parametern, der Energiebilanz und der Ovarfunktion zu untersuchen. Für diese Studie wurden 30 Kühe der Rasse Deutsche Holstein in der zweiten Laktation mit einer erwarteten Milchleistung von über 10.000 kg Milch innerhalb von 305 Tagen ausgewählt. Der untersuchungszeitraum erstreckte sich vom Tag des Trockenstellens in der achten Woche vor der Abkalbung bis zur zwölften Woche in der dritten Laktation. Die Tiere wurden unter gleichen Bedingungen gehalten und gefüttert. Allen Kühen wurde die gleiche Mischration *ad libitum* während des Trockenstehens und der Laktation angeboten. Zootechnische Parameter wie die Rückenfettdicke (RFD) und die Trockensubstanzaufnahme (TSA) wurden wöchentlich erhoben. Blutproben zur Analyse von Stoffwechselmetaboliten (Glucose und freie nicht veresterte Fettsäuren (NEFA)) und des Hormons Progesteron wurden an Tag -56, -28, -15, -8, -5 und nach der Abkalbung wöchentlich gewonnen. Milchleistungsdaten wurden täglich erhoben. Milchproben wurden zweimal die Woche zur Bestimmung der Milchprogesteronwerte und wöchentlich zur Bestimmung der Milchinhaltsstoffe genommen. Leberbiopsien wurden an Tag 56 und 15 vor der Abkalbung und an Tag 1, 14, 28, 49 p.p. durchgeführt. Nach der Abkalbung wurden die Kühe zweimal pro Woche reproduktionsphysiologisch untersucht und befundet. Die Brunstbeobachtungen wurden dreimal täglich durchgeführt. Die Tiere wurden synchronisiert, künstlich und zufällig in eine Gruppe (**ZT0** Schlachtung am Tag der Ovulation, **ZT4** bzw. **ZT12** Schlachtung am vierten bzw. 12 Tag nach der Besamung) eingeteilt. Die gewonnenen Oozyten wurden auf ihre präimplantativen Entwicklungsfähigkeit untersucht, dazu wurden die Befruchtungs-, die Furchungs- und die Blastozystenrate ermittelt.

Die während der Früh-laktation auftretende negative Energiebilanz erfordert bei Hochleistungskühen eine Mobilisierung von Körperreserven und bewirkt temporär einen erhöhten Stoffwechsel in der Leber. Das Ausmaß der Fettmobilisierung bezogen auf den unterschiedlichen Leberfettgehalt der Tiere zeigt große individuelle Unterschiede zwischen Hochleistungskühen. Diese unterschiedlichen Stoffwechselbelastungen beeinflussen auch das Reproduktionsgeschehen.

Die Tiere wurden in dieser Studie nach zwei Gesichtspunkten untergliedert:

1.) nach ihrer RFD in mm eine Woche vor der Abkalbung (*ante partum* (a.p.)) Gruppe **RFD < 20**, **RFD 20-30** und **RFD > 30**.

2.) nach dem zeitlichen Einsetzen der ersten lutealen Aktivität p.p.- vor dem 24 Tag p.p. Gruppe **CL < 24** und nach dem 58 Tag p.p. Gruppe **CL > 58**.

Alle Tiere zeigten unter Berücksichtigung der verschiedenen Gruppen eine ähnliche hohe Milchleistung. Die Tiere der Gruppe **RFD 20-30** hatte vergleichbare Werte für die Stoffwechsel- und zootecnischen Parameter wie die Tiere der Gruppe **RFD > 30**. Im Vergleich zur den Tieren der Gruppe **RFD < 20** zeigten die Tiere um die Kalbung und p.p. niedrigere NEB, hatten eine signifikant niedrigere TSA und zeigten am 28 Tag p.p. signifikant höhere Leberfettgehalte. Die Tiere der Gruppe **RFD 20-30** wies ein signifikant kürzeres Intervall von der Abkalbung bis zur ersten lutealen Aktivität auf und zeigte deutlichere Brunstsymptome.

Die metabolischen und zootecnischen Parameter von den Tieren der Gruppe **CL < 24** und **CL > 58** zeigten in den ersten sechs Wochen p.p. keine Unterschiede. Ab der siebten Woche p.p. wies Gruppe **CL < 24** signifikant geringere TSA auf und hatten ab der achten Woche p.p. signifikant negativere Energiebilanzen.

Die phänotypischen Unterschiede beeinflussten nicht die Qualität der präovulatorischen Oozyten. Ebenso schien die Qualität präovulatorischer COK (Cumulus-Oozyten-Komplexe) hochleistender Milchkühe nicht durch die negative Energiebilanz beeinträchtigt. Die Embryonengewinnungsrate von den Tieren am **ZT12** ist im Vergleich mit der von den Tieren am **ZT4** tendenziell niedriger. Insgesamt sind die Ergebnisse der Gewinnungsraten der Embryonen an den **ZT4** und **ZT12** gut. Allerdings sollten aufgrund der niedrigen Probenanzahl weitere Untersuchungen zum Thema embryonale Mortalität veranlasst werden. Die Befruchtungsrate und die Entwicklungskompetenz von COK nach *in-vitro*-Kultivierung (IVK) kann auch unter Bedingungen von Hochleistung gut sein.

Kühe mit einer optimalen RFD von 20-30 mm eine Woche a.p. haben die besten Voraussetzungen für eine hohe Milchleistung und eine gute Fruchtbarkeit mit kurzen Zwischenkalbezeiten (ZKZ) und deutliche sichtbare Brunstanzeichen. Somit sind gut konditionierte Milchkühe zur Abkalbung für den Milcherzeuger am wirtschaftlichsten.

8 Summary

Correlations of metabolic and endocrine parameters, energy balance and ovarian function in high-yielding dairy cows

A good fertility in dairy herds creates the basis for economic success in dairy farming, but fertility declined in the last decades worldwide in dairy cows. But, besides a high milk production, dairy cows have to achieve a significant reproductive performance, and in this regard existing great individual differences between dairy cows. Therefore, the objective of the study was to clarify relationships between metabolic and endocrine parameters, energy balance and ovarian function in high-yielding dairy cows.

For this study we selected 30 pure-bred German Holstein cows in the second lactation with an expected milk yield of >10,000 kg within 305 days. During the observation period, from dry off in week 8 before calving up until week 12 in their third lactation, cows were held under equal feeding and housing conditions. All cows were fed the same total mixed rations *ad libitum* during dry period and lactation. Back fat thickness (**BFT**) and dry matter intake (**DMI**) were measured weekly. Blood samples were taken [on day (**d**) -56, -28, -15, -8, -5 and weekly after calving] to measure plasma metabolites as glucose and not esterified fatty acids (**NEFA**) and the hormone progesterone. Milk yield was recorded daily and milk samples were taken twice per week to determine progesterone concentrations and weekly for analysis of milk composition. Liver biopsies were taken [on d 56 and 15 before calving, and on d 1, 14, 28 and 49 p.p.] to measure liver fat concentration. Estrus observations were monitored three times a day, ultrasound of the ovarian were carried twice per week. Cows were synchronized and inseminated. For the examinations of the oocytes, the animals were randomly selected on three days of the estrous cycle [**D0**- day-0 – slaughter on the day of ovulation, **D4** – slaughter on day 4 of following insemination, and **D12**]. The cows were slaughtered to obtain oocytes for the examination of their capacity for preimplantative viability by analysis of the fertilization, cleavage and blastocyst levels.

The negative energy balance during the early lactation requires mobilization of body reserves in high-performance dairy cows and temporarily causes an increased metabolism in the liver. The extent of fat mobilization based on the different liver fat content of the animals, this shows large individual differences between high performance dairy cows. These different metabolic loads also influence the reproduction process.

Cows in this study were classified in 2 different approaches: 1) cows were grouped according to their BFT 1 week before calving in **BFT < 20**, **BFT 20-30**, and **BFT > 30** . 2) In addition, those cows were selected that were showing their first luteal activity p.p. indicated by milk and blood progesterone concentration (> 5ng/ml and > 1ng/ml, respectively) until d 24 pp (group: corpus luteum **CL < 24**) and after d 58 pp (group: **CL > 58**).

All cows had similar milk yield considering the different groups. The cows of group **BFT 20-30** and **BFT > 30** revealed on the 28 day p.p. higher liver fat contents, around calving as well as poorer negative energy balance (NEB) and significantly lower DMI than group **BFT < 20**. Cows in group **BFT 20-30** revealed a significantly shorter interval to the first luteal activity and showed distinct estrus symptoms than cows in **BFT <20** and **BFT >30**.

Zootechnical and metabolic parameters were not different between cows in **CL < 24** and **CL > 58**. From week seven p.p. cows of group **CL < 24** revealed a significantly poorer DMI, a lower NEB and a higher NEFA concentration than group **CL > 58**.

The quality of pre-ovulatory cumulus-oozyte-complex (COK) of high-yielding dairy cows did not seem to be affected by the negative energy balance. The animals' embryo recovery rate of animals on **D12** showed a decreasing tendency in comparison with the animals of **D4**. Based on the recovery rates on **D4** and **D12**, further research should to be done on the topic embryonic mortality. The fertilization rate and development of COK and *in-vitro* *cultivierung* (IPC) may also be good in high-performance conditions.

Cows with an optimum BFT between 20-30 mm one week *ante partum* provide the best basis for high milk yield, while showing a as well as good fertility with short calving interval and clearly visible rutting estrus. In conclusion, well-conditioned dairy cows for calving are the most economic option for dairy farming.

9 Anhang

9.1 Verzeichnis der Abbildungen

- Abb. 1..... Strukturwandel in der Milcherzeugung
- Abb. 2..... Überblick über den Energiebedarf einer Milchkuh p.p. bis zur nächsten Abkalbung
- Abb. 3..... Messpunkt der RFD
- Abb. 4..... RFD-Parabel einer Milchkuh zur Abkalbung
- Abb. 5..... Grundzüge der neuro-endokrinen Regulation der Ovarfunktion
- Abb. 6..... Schematische Darstellung von Prozessen in Follikelreifungswellen
- Abb. 7..... Schematische Darstellung von Beziehungen zwischen Energiemangel und Ovarfunktionen
- Abb. 8..... Zeitlicher Ablauf der Beprobung
- Abb. 9..... Ultraschallbild von der RFD-Messung mit dem Schichtenaufbau
- Abb. 10..... Topographie der Punktionsstelle
- Abb. 11..... Versuchsschema für die Aufarbeitung der Follikel und Oozyten
- Abb. 12..... Aggregationsmuster von Mitochondrien in Oozyten
- Abb. 13..... Fluoreszenzmikroskopische Darstellung der Chromatinkonfigurationen in Oozyten
- Abb. 14..... 60-Tage Milchleistung in der dritten Laktation
- Abb. 15..... Verteilung des Einsetzens der ersten lutealen Aktivität p.p.
- Abb. 16..... Verteilung des Einsetzens der ersten lutealen Aktivität p.p. in Abhängigkeit der RFD 1 Woche a.p.
- Abb. 17..... Rückenfettdickeentwicklung über den Untersuchungszeitraum von der achten Woche a.p. bis zur neunten Woche p.p.
- Abb. 18..... Rückenfettdicke in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p. im Zeitraum von der achten Wochen a.p. bis zur neunten Wochen p.p.
- Abb. 19..... Abnahme der RFD in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p. im Zeitraum von der ersten bis zur neunten Woche p.p.
- Abb. 20..... Energiebilanz in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p. im Zeitraum von der achten Woche a.p. bis zur neunten Woche p.p.
- Abb. 21..... Energiebilanz in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p. über den Untersuchungszeitraum von der achten Woche a.p. bis zur neunten Woche p.p.
- Abb. 22..... Milchmengenleistung in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p. im Zeitraum von der zweiten bis zur neunten Woche p.p.

- Abb. 23.....Milchmengenleistung in Abhängigkeit von der lutealen Aktivität p.p. von der zweiten Woche a.p. bis zur neunten Woche p.p.
- Abb. 24.....ECM in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p. im Zeitraum von der zweiten bis zur neunten Woche p.p.
- Abb. 25.....ECM in Abhängigkeit von der lutealen Aktivität p.p. über den Untersuchungszeitraum von der achten Woche a.p. bis zur neunten Woche p.p.
- Abb. 26.....TSA in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p. im Zeitraum von der achten Wochen a.p. bis zur neunten Woche p.p.
- Abb. 27.....TSA in Abhängigkeit von der lutealen Aktivität p.p. über den Untersuchungszeitraum von der achten Woche a.p. bis zur neunten Woche p.p.
- Abb. 28.....Leberfettgehalt in der TS in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p. im Zeitraum von der zweiten bis zur neunten Woche p.p.
- Abb. 29.....Leberfettgehalt in der TS in Abhängigkeit von der lutealen Aktivität p.p. über den Untersuchungszeitraum von der achten Woche a.p. bis zur neunten Woche p.p.
- Abb. 30.....NEFA-Konzentrationim Blut in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p. über den Untersuchungszeitraum
- Abb. 31.....NEFA Konzentration im Blut in Abhängigkeit von der lutealen Aktivität p.p. über den Untersuchungszeitraum
- Abb. 32.....Blut-Glucosekonzentration in Abhängigkeit von der RFD 1 Woche a.p. über den Untersuchungszeitraum
- Abb. 33.....Blut-Glucosekonzentration in Abhängigkeit von der lutealen Aktivität p.p. über den Untersuchungszeitraum
- Abb. 34.....Brunsterkennungsmerkmale
- Abb. 35.....Zusammenfassungen der Brunsterkennung bezogen auf die Gruppeneinteilungen
- Abb. 36.....Milch- und Blutprogesteronkonzentrationen von Kuh-Nr. 26 im Zeitraum von der zweiten bis zur zwölften Woche p.p.
- Abb. 37.....Furchungsrate nach 48 Stunden *post fertilisationem* und die in Blastozystenrate *post fertilisationem* nach 8 Tagen in Abhängigkeit vom ZT.

9.2 Verzeichnis der Tabellen

- Tab. 1..... Futterkomponenten
- Tab. 2..... Pipettierschema RIA für Progesteronmessung und Eichkurvenerstellung
- Tab. 3 Palpationsbefund von der rektalen gynäkologischen Untersuchung
- Tab. 4..... Klassifizierung der Cumulus-Oozyten-Komplexe
- Tab. 5..... Anzahl der präovulatorischen Follikel und COK in Abhängigkeit vom **ZT0**
- Tab. 6..... Anzahl und Anteil der Chromatinkonfigurationen und der Mitochondrienaggregationen am **ZT0**
- Tab. 7 Anzahl und Größe der Follikel auf den Ovarien in Abhängigkeit vom Zyklustag
- Tab. 8..... Anzahl und Morphologie der gewonnenen COK in Abhängigkeit vom Zyklustag
- Tab. 9..... Anzahl der Ovulationen und Embryonen in Abhängigkeit vom Zyklustag
- Tab.10..... Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der vorliegenden Studie nach Gruppeneinteilung nach der RFD 1 Woche a.p.
- Tab. 11..... Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der vorliegenden Studie nach Gruppeneinteilung nach dem Einsetzen der ersten lutealen Aktivität p.p.

10 Literaturverzeichnis

ADR- ARBEITSGEMEINSCHAFT DEUTSCHER RINDERZÜCHTER E. V. (HRSG.) (2015)

Rinderproduktion Zucht Besamung Leistungsprüfung in Deutschland 2014.
Seite 56, Tabelle 4.15.

ADR- ARBEITSGEMEINSCHAFT DEUTSCHER RINDERZÜCHTER E. V. (HRSG.) (2010)

Rinderproduktion Zucht Besamung Leistungsprüfung in Deutschland 2009.
ISSN 1439-8745: Seite 11-54.

ADR- ARBEITSGEMEINSCHAFT DEUTSCHER RINDERZÜCHTER E. V. (HRSG.) (2001)

Rinderproduktion Zucht Besamung Leistungsprüfung in Deutschland 2000.
Seite 84, Abbildung 54.

ALM H, TORNER H, LÖHRKE B, VIERGUTZ T, GHONEIM IM UND KANITZ W (2005)

Bovine blastocyst development rate in vitro is influenced by selection of oocytes by brilliantcresyl blue staining before IVM as indicator for glucose-6-phosphate dehydrogenase activity.

Theriogenology **63**: 2194-2205.

BEAM SW UND BUTLER WR (1999)

Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows.

Journal of Reproduction Fertility Suppl. **54**: 411-424.

BECKER F, KANITZ W UND HEUWIESER W (2005)

Vor- und Nachteile einzelner Methoden der Brunsterkennung beim Rind.
Züchtungskunde **77(2/3)**: 140-150.

BECKER F, KANITZ E, SCHNEIDER F, NÜRNBERG G UND KANITZ W (2004)

Nutzung einer terminorientierten Besamung beim Rind auf der Grundlage einer Prostaglandin - GnRH-Behandlung.

Archiv Tierzucht, Dummerstorf **47**: 27-36.

BERGHORG KA, ALLRICH RD UND NOLLER CH (1988)

Energy balance and reproductive traits of postpartum dairy cattle.

Journal of Dairy Science Suppl. **1**: 171.

BELL AW (1995)

Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation.

Journal of Animal Science **73**: 2804-2819.

BILBY TR, BLOCK J, DO AMARAL CD, SA FILHO O, SILVESTRE FT, HANSEN PJ, STAPLES CR UND THATCHER WW (2006)

Effects of dietary unsaturated fatty acids on oocytes quality and follicular development in lactating dairy cows in summer.

Journal of Dairy Science **89**: 3891-3903.

BLÖDOW G, GÖTZE M, KITZIG M, BRÜSSOW KP UND DUSCHINSKI U (1988)

Radioimmunologische Steroidhormonbestimmung in der Follikelflüssigkeit bei Rind und Schwein.

Isotopenpraxis **24**: 151-155.

BOISCLAIR Y, GRIEVE DG, STONE JB, ALLEN OB UND MACLEOD GK(1986)

Effect of prepartum energy, body condition and sodium bicarbonate on production of cow in early lactation.

Journal of Dairy Science **69**: 2636-2647.

BOLLWEIN H (2009)

Sind Fruchtbarkeit bei unseren Hochleistungsrindern vorprogrammiert?
Auf: 18. Milchrindtag 2009 in Mecklenburg-Vorpommern. Landesforschungsanstalt für Landwirtschaft und Fischerei MV.

URL:http://www.landwirtschaft-mv.de/cms2/LFA_prod/LFA/content/de/Fachinformation
(Stand: 13.11.2015)

BOLLWEIN H (2007)

Embryonale Mortalität- Hauptursache für Fertilitätsstörungen bei Hochleistungsrindern
Tierwissenschaftliches Seminar 2007 Weihenstephan

URL:<http://www.physio.wzw.tum.de/fileadmin/1.Seite/GemSemTierwissenschaft/2007-2008/Bollwein-SS2007.pdf> (Stand: 01.07.2017)

BOSTEDT H UND MAURER G (1990)

Beziehungen zwischen gynäkologischer Überwachungsintensität in der Post-partum-Periode und Fertilitätsresultat in Milchkuhbeständen.

Tierärztliche Praxis **18**: 449-457.

BREVES G (2007)

Züchtung und Stoffwechselstabilität beim Rind - Empfehlung für die Zucht und Haltung.

Züchtungskunde **79**: 52-58.

BRITT JH (1995A)

An update on current concepts of reproductive physiology and endocrinology.

Cattle Practice **3**: 71-78.

BRITT JH (1995B)

The relationship between postpartum estrous cycles, estrus cycle length, and early embryonic death.

Cattle Practice **3**: 85-88.

BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT UND VERBRAUCHERSCHUTZ (HRSG.) (2011)

Agrarpolitischer Bericht der Bundesregierung 2011.

BURKE JM, HAMPTON JH, STAPLES CR UND THATCHER WW (1998)

Body condition influences maintenance of a persistent first wave dominant follicle in dairy cattle.

Theriogenology **49**: 751-760.

BUTLER ST, PELTON SH UND BUTLER WR (2006)

Energy balance, metabolic status and the first postpartum ovarian follicle wave in cows administered propylene glycol.

Journal of Dairy Science **89**: 2938-2951.

BUTLER WR (2003)

Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows.

Livestock Production Science **83**: 211-218.

BUTLER WR (2000)

Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle.
Animal Reproduction Science **60-61**: 449-457.

BUTLER WR (1998)

Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle.
Journal of Dairy Science **81**: 2533-2539.

BUTLER WR UND SMITH RD (1989)

Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle.
Journal of Dairy Science **72**: 767-783.

BUTLER WR, ELROD CC (1992)

Reproduction in high-yielding dairy cows as related to energy balance and protein intake.
Proc. 8th International Conference Prod. Diseases Farm Animal, Bern, Schweiz: 240-252.

CANFIELD RW UND BUTLER WR (1990)

Energy balance and pulsatile LH secretion in early postpartum dairy cattle.
Domestic Animal Endocrinology **7**: 323-330.

DISKIN MG, MACKEY DR, ROCHE JF UND SREENAN JM (2003)

Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle.
Animal Reproduction Science **78**: 345-370.

DEVRIES MJ UND VEERKAMP RF (2000)

Energy balance of dairy cattle in relation to milk production variables and fertility.
Journal of Dairy Science **83**: 62-69.

DÖCKE F (1994)

Veterinärmedizinische Endokrinologie. 3. Auflage Gustav Fischer Verlag, Jena Stuttgart.

DOMECQ JJ, SKIDMORE AL, LLOYD JW UND KANEENE JB (1997)

Relationship between body condition scores and conception at first artificial insemination in a large dairy herd of high yielding Holstein cows.
Journal of Dairy Science **80**: 113-120.

DOMECQ JJ, SKIDMORE AL, LLOYD JW UND KANEENE JB (1995)

Validation of body condition score with ultrasound measurements of subcutaneous fat of dairy cows.

Journal of Dairy Science **78**: 2308-2313.

DRACKLEY JK (2002)

Die Rolle von Ernährung und Management für die Prävention von Stoffwechselerkrankungen der Milchkuh im peripartalen Zeitraum.

Auf: BPT-Kongress 2002 Nürnberg: Seite 46-60.

DRACKLEY JK (1999)

ADSA Foundation scholar award. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier?

Journal of Dairy Science **82**: 2259-2273.

DUSKE K, HAMMON HM, LANGHOF A-K, BELLMANN O, LOSAND B, NÜRNBERG K, NÜRNBERG G, SAUERWEIN H, SEYFERT HM UND METGES CC (2009)

Metabolism and lactation performance in dairy cow fed a diet containing rumen-protected fat during the last twelve weeks of gestation.

Journal of Dairy Science **92**: 1670-1684.

EDMONSON A, LEAN IJ, WEAVER LD, FARVER T UND WEBSTER G (1989)

A body condition scoring chart for holstein dairy cows.

Journal of Dairy Science **72**: 68-78.

ESPOSITO G, IRONS PC, WEBB EC UND CHAPWANYA A (2014)

Interaction between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows.

Animal Reproduction Science **144**: 60-71.

FARIN PW, CROSIER AE UND FARIN CE (2001)

Influence of in vitro systems on embryo survival and fetal development in cattle.

Theriogenology **55**:151-70.

FENWICK MA, LLEWELLYN S, FITZPATRICK R, KENNY DA, MURPHY JJ, PATTON J, WATHES DC (2008)

Negative energy balance in dairy cows is associated with specific change in IGF-binding protein expression in the oviduct.

Reproduction **135**: 63-75.

FERNANDEZ-GONZALEZ R, M.A. RAMIREZ MA, A. BILBAO A, F.R. DE FONSECA FR UND GUTIERREZ-ADAN A (2007)

Suboptimal in vitro culture conditions: an epigenetic origin of long-term health effects.

Mol Reprod Dev. **74**:1149-56.

FRENCH PD (2006)

Dry matter intake and blood parameters of non lactating Holstein and Jersey cows in late gestation.

Journal of Dairy Science **89**: 1057-1061.

FÜRLI M (2005)

Spezielle Untersuchungen beim Wiederkäuer.

In: Kraft, W., Dürr, U.M. (Hrsg.): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin, 6. Auflage, Verlag Schattauer GmbH, Stuttgart, Seite 444-474.

GARCIA-GARCIA RM (2012)

Integrative control of energy balance and reproduction in females.

ISRN Veterinary Science: 121389.

GASTEINER J (2014)

Methoden der Brunsterkennung beim Rind

Tierärztetagung Raumberg-Gumpenstein Österreich.

GFE (GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNGSPHYSIOLOGIE - AUSSCHUSS FÜR BEDARFSNORMEN) (2001)

Energie und Nährstoffbedarf landwirtschaftlicher Nutztiere,

In: Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchttrinder Nr. 8; Frankfurt am Main, DLG-Verlag, Seite 135.

GILLUND P, REKSEN O, GRÖHN YT UND KARLBERG K (2001)

Body condition related to ketosis and reproductive performance in Norwegian dairy cows. Journal of Dairy Science **84**: 1390-1396.

GINTHER OJ, KASTELIC JP UND KNOPF L (1989)

Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves.

Journal of Reproduction and Fertility **87**: 223-230.

GÖLLNITZ S (2007)

Untersuchung von Beziehungen zwischen Indikatoren der Energiebilanz und dem Wiederbeginn der zyklischen Ovarfunktion bei Hochleistungskühen post partum. Dissertation, FU-Berlin, Journal-Nr.: 3165.

GRUMMER RR (1995)

Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. Journal of Animal Science **73**: 2820-2833.

GRUMMER RR (1993)

Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. Journal of Dairy Science **76**: 3882-3896.

GRUNERT E UND BERCHTOLD M (1999)

Fertilitätsstörung beim weiblichen Rind.

3. Auflage, Parey Verlag, Stuttgart.

HEUWIESER W (1997)

Strategische Anwendungen von Prostaglandin F₂-Grundlage und Ziele von Prostaglandinprogrammen.

Praktischer Tierarzt **78**: 141-149.

HERDT TH (2000)

Ruminant adaptation to negative energy balance - Influences on the etiology of ketosis and fatty liver.

Veterinary Clinics of North America-Food Animal Practice **16**: 215-220.

HOEDEMAKER M UND HELD T (1985)

Progesteronbestimmung in der Milch und im Blutserum von Kühen mit einem Enzymimmuntest ohne vorherige Extraktion auf Mikrotiterplatten und –teststreifen. Praktischer Tierarzt **66**: 878-884.

HÖFFMANN K, HANSTEDT A, STINSHOFF H, ONNEN-LÜBBEN E, WILKENING-KRASS S, BOLLWEIN H UND WRENZYCKI C (2008)

Einfluss der Fütterung unterschiedlicher Konzentrationen an konjugierten Linolsäuren (CLA) auf die Entwicklungskompetenz der Eizellen laktierender Milchkühe. In: Gehring, M. (Hrsg.): 35. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft Embryotransfer deutschsprachiger Länder (AET-d) am 19./20. Juni 2008 in Dipperz/Friesenhausen: Seite 31.

INGVARTSEN KL UND ANDERSEN JB (2000)

Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. Journal of Dairy Science **83**: 1573-1597.

JACKSON RA, WILLS JR, KENDALL NR, GREEN MJ, MURRAY RD, DOBSON H (2011)

Energy metabolites in pre- and postpartum dairy cattle as predictors of reproductive disorders.

Vet Rec. **168**: 562.

KANITZ W (2003A)

Follicular dynamic and ovulation in cattle.

Archiv Tierzucht Dummerstorf **46**: 187-198.

KANITZ W (2003B)

Beziehung zwischen Milchleistung, Energieversorgung und Fruchtbarkeit unter den Beziehungen von Hochleistung beim Rind.

Züchtungskunde **75**: 489-498.

KAWASHIMA C, MONTOYA CA, MASUDA Y, KANEKO E, MATSUI M, SHIMIZU T, MATSUNAGA N, KIDA K, MIYAKE Y-I, SUZUKI M UND MIYAMOTO A (2007A)

A positive relationship between the first ovulation postpartum and the increasing ratio of milk yield in the first part of lactation in dairy cows.

Journal of Dairy Science **90**: 2279-2282.

KAWASHIMA C, SAKAGUCHI M, SUZUKI T, SASAMOTO Y, TAKAHASHI Y, MATSUI M UND MIYAMOTO A (2007B)

Metabolic profiles in ovulatory and anovulatoryprimiparous dairy cows during the first follicular wave postpartum.

Journal of Reproduction and Development **58**: 113-120.

KAWASHIMA C, KANEKO E, AMAYA MONTOYA C, MATSUI M, YAMAGISHI N, MATSUNAGA N, ISHII M, KIDA K, MIYAKE Y UND MIYAMOTO A (2006)

Relationship between the first ovulation within three weeks postpartum and subsequent ovarian cycles and fertility in high producing dairy cows.

Journal of Reproduction and Development **52**: 479-486.

KENDRICK KW, BAILEY TL, GARST AS, PRYOR AW, AHMADZADEH A, AKERS RM, EYESTONE WE, PEARSON RE UND GWAZDAUSKAS FC (1999)

Effects of energy balance on hormones, ovarian activity and recovered oocytes in lactating Holstein cows using transvaginal follicular aspiration.

Journal of Dairy Science **82**: 1731-1740.

KIM IH UND SUH GH (2003)

Effect of the amount of body condition loss from the dry to near calving periods on the subsequent body condition change, occurrence of postpartum diseases, metabolic parameters and reproductive performance in Holstein dairy cows.

Theriogenology **60**: 1445-1456.

KOCH C UND LANDFRIED K (2003)

Bevor der Körper kollabiert

BWagrar **33**: 24-26

KOCILA P, SAMARDZIJA M, DOBRANIC T, GRACNER D, DOBRANIC V, PRVANOVIC N, ROMIC Z, FILIPOVIC N, VUKOVIC N UND DURICIC D (2009)

Einfluss der Energiebilanz auf die Reproduktionsfähigkeit von Holsteiner Kühen im Puerperium.

Tierärztliche Umschau **64**: 471-477.

KROPP J, CARRILLO JA, NAMOUS H, DANIELS A, SALIH SM, SONG J, KHATIB H (2017)

Male fertility status is associated with DNA methylation signatures in sperm and transcriptomic profiles of bovine preimplantation embryos.

BMC Genomics **18**: 280.

KUHLA B, METGES CC, HAMMON HM (2016)

Endogenous and dietary lipids influencing feed intake and energy metabolism of periparturient dairy cows.

Domest Animal Endocrinolo **56** Suppl: 2-10.

KUHLA S, KLEIN M, RENNE U, JENTSCH W, RUDOLPH PE UND SOUFFANT WB (2004)

Carbon and nitrogen content based estimation of the fat content of animal carcasses in various species.

Archiv Animal Nutrition **58**: 37-46.

LEBLANC SJ (2014)

Reproductive tract inflammatory disease in postpartum dairy cows.

Animal Suppl **1**: 54-63.

LEIBFRIED L UND FIRST NL (1979)

Characterization of bovine follicular oocytes and their ability to mature in vitro.

Journal of Animal Sci **48**: 76-86.

LEIDENFROST S (2010)

Zellentwicklung, Zelltod und die Expression Apoptose-assoziiierter Gene in der frühen Embryogenese beim Rind.

Dissertation an der Fakultät für Biologie der Ludwig-Maximilians-Universität München.

LOEFFLER G, PETRIEDES PE UND HEINRICH PC (2007)

Biochemie und Pathobiochemie. 8. Auflage, Springer-Verlag.

LUCY MC (2001)

Reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end?

Journal of Dairy Science **84**: 1277-1293.

LÜHMANN B (2013)

Das bringt eine kürzere Zwischenkalbezeit bei der Milchkuh.

Der fortschrittliche Landwirt **8**: 5-8.

MCART JA, NYDAM DV, OETZEL GR (2012)

Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle.

Journal of Dairy Science **95**: 5056-5066.

MCNAMARA S, O'MARA FP, RATH M UND MURPHY JJ (2003)

Effects of different transition diets on dry matter intake, milk production and milk composition in dairy cows.

Journal of Dairy Science **86**: 2397-2408.

MEINECKE B (2005)

Reproduktion beim weiblichen Haustieren.

In: VON ENGELHARDT W, BREVES G (Hrsg.): Physiologie der Haustiere. 2. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart, Seiten: 495-516.

MENN F (2017)

Primat der Milchleistung – Können Tierernährung und Tiergesundheit noch mithalten?

44. Viehwirtschaftliche Fachtagung 2017 Raumberg-Gumpenstein: 41-74

ISBN: 978-3-902849-48-9

MIV- MILCHINDUSTRIE-VERBAND E.V. (HRSG.) (2015)

Milch und mehr - die deutsche Milchwirtschaft auf einem Blick.

MIV Journalistische Verlagsbeilage: Seite 5-16.

NAFIKOV RA UND BEITZ DC (2007)

Carbohydrate and lipid metabolism in farm animals.

The Journal of Nutrition **137**: 702-705.

NEBEL RL UND MC GILLIARD ML (1993)

Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows.

Journal of Dairy Science **76**: 3257-3268.

OCYLOK A (2007)

Futteraufnahme und endokrinologische Leitparameter hochleistender Milchkühe in aufeinander folgenden Laktationen.

Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.

OPIELA J, LIPINSKI D, SLOMSKI R UND KATSKA-KSIAZKIEWICZ L (2010)

Transcript expression of mitochondria related genes is correlated with bovine oocyte selection by BCB test.

Animal Reproduction Science **118**: 188-193.

OTZDORFF C (2006)

Untersuchungen zur Aggregation und Aktivität von Mitochondrien im Ooplasma von Cumulus-Oozyten-Komplexen des Rindes während der In-vitro-Reifung.

Dissertation, FU-Berlin, Journal-Nr.: 3177.

PARRISH JJ, SUSKO-PARRISH JL, LEIBFRIED-RUTLEDGE ML, CRITSER ES, EYESTONE WH UND FIRST NL (1986)

Bovine in vitro fertilization with frozen-thawed semen.

Theriogenology **25**: 591-600.

PATTON J, KENNY DA, MEE JE, O'MARA FP, WATHES DC, COOK M UND MURPHY JJ (2006)

Effect of milking frequency and diet on milk production, energy balance, and reproduction in dairy cows.

Journal of Dairy Science **89**: 1478-1487.

PEDRON O, CHELI F, SENATORE E, BAROLI D UND RIZZI R (1993)

Effect of body condition score at calving on performance, some blood parameters, and milk fatty acid composition in dairy cows.

Journal of Dairy Science **76**: 2528-2535.

PETERSON AB, ORTH MW, GOFF JP UND BEEDE DK (2005)

Periparturient responses of multiparous Holstein cows fed different dietary phosphorus concentrations prepartum.

Journal of Dairy Science **88**: 3582-3594.

PRYCE JE, COFFEY MP UND SIMM G (2001)

The relationship between body condition score and reproductive performance. Journal of Dairy Science **84**: 1508-1515.

RANASINGHE RM, NAKAO T, YAMADA K, KOIKE K, HAYASHI A, DEMATAWEWA CM (2011)

Characteristics of prolonged luteal phase identified by milk progesterone concentrations and its effects on reproductive performance in Holstein cows. Journal of Dairy Science **94**:116-27.

REIST M, ERDIN D, VON EUW D, TSCHUEMPERLIN K, LEUENBERGER H, CHILLIARD Y, HAMMON HM, MOREL C, PHILIPONA C, ZBINDEN Y, KUENZI N UND BLUM JM (2002)

Estimation of energy balance at the individual and herd level using blood and milk traits in high-yielding dairy cows. Journal of Dairy Science **85**: 3314-3327.

REIST M, ERDIN DK, VON EUW D, TSCHUMPERLIN KM, LEUENBERGER H, HAMMON HM, MOREL C, PHILIPONA C, ZBINDEN Y, KUNZI N UND BLUM EW (2003)

Postpartum reproductive function: association with energy, metabolic and endocrine status in high yielding dairy cows. Theriogenology **59**: 1707-1723.

RIESTER R, HARTL M UND DICK J(2010)

Milch

Agrarmärkte (**25**): 202-234.

ROCHE JF, MACKEY D UND DISKIN MD (2000)

Reproductive management of postpartum cows. Animal Reproduction Science **60-61**: 703-712.

SALLMANN HP UND FUHRMANN H (2005)

Physiologische Aspekte der Leberfunktion.

In: VON ENGELHARDT W, BREVES G (Hrsg.): Physiologie der Haustiere. 2. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart, Seiten: 423-434.

SAMARÜTEL J, WALDMANN A, LING K, JAAKSON H, KAART T, LEESMÄE A, KÄRT O (2008)

Relationships between luteal activity, fertility, blood metabolites and body condition score in multiparous Estonian Holstein dairy cows under different management. *Journal of Dairy Research* **75**: 485-490.

SCHOLZ H (1990)

Stoffwechselkontrolle in der Milchkuhherde an Hand von Blut- und Milchparametern. *Praktische Tierarzt* **21**: 32-35.

SCHOPPER D, SCHEMER R, WEILER U UND CLAUS R (1993)

Einfluß der Milchleistung auf Fruchtbarkeitskriterien der Milchkuh post partum: Auswertung von Progesteronprofilen.

Reproduction in Domestic Animals **28**: 225-235.

SCHRÖDER UJ (2000)

Untersuchungen zur Konditionsbeurteilung mittels ultrasonografischer Messung der Rückenfettdicke als Grundlage zur Anwendung in der Bestandsbetreuung von Milchviehherden.

Vet.-Med. Diss., Fachbereich Veterinärmedizin, Klinik für Klautiere, Freie Universität Berlin, Berlin.

SCHRÖDER UJ UND STAUFENBIEL R (2002)

Konditionsbeurteilung per Ultraschall in der Herdenbetreuung: Teil 1: Rückenfettdicke und Milchleistung.

Tierärztliche Praxis **30**: 362-368.

SCHRÖDER UJ UND STAUFENBIEL R (2006)

Methods to determine body fat reserves in the dairy cow with special regard to ultrasonographic measurement of backfat thickness.

Journal of Dairy Science **89**: 1-14.

SCORRANO L, PETRONILLI V, COLONNA R, DI LISA F UND BERNARDI P (1999)

Chloromethyltetramethylrosamine (Mitotracker Orange TM) induces the mitochondrial permeability transition and inhibits respiratory complex I.

The Journal of Biological Chemistry **274**: 24657-24663.

SEPÚLVERDE-VARAS P, WEARY DM, NORO M UND VON KEYSERLINGK MAG (2015)

Transition diseases in grazing dairy cows are related to serum cholesterol and other analyses.

PLoSOne **10**: e0122317.

SHRESTHA HK, NAKAO T, SUZUKI T, HIGAKI T UND AKITA M (2004)

Effects of abnormal ovarian cycles during pre-service period postpartum on subsequent reproductive performance of high-producing Holstein cows.

Theriogenology **61**: 1559-1571.

SNIJDERS SEM, DILLON P, O'CALLAGHAN D UND BOLAND MP (2000)

Effect of genetic merit, milk yield, body condition and lactation number on in vitro oocyte development in dairy cows.

Theriogenology **53**: 981-989.

SOMINSKY L, ZIKO I, NGUYEN TX, QUACH J, SPENCER SJ (2017)

Hypothalamic effects of neonatal diet: reversible and only partially leptin-dependent. Journal Endocrinologie JOE 16-0631.

SØRENSEN, AC, LAWLOR T UND RUIZ F (2007)

A survey on fertility in Holstein populations of the world.

Proc Fertility in Dairy Cows – Bridging the Gaps: Seite 30-31.

SPICER LJ, TUCKER WB UND ADAMS GD (1990)

Insulin-like growth factor-I in dairy cows: relationships among energy balance body condition, ovarian activity and estrous behavior.

Journal of Dairy Science **73**: 929-937.

STAPLES CR, THATCHER WW UND CLARK JH (1990)

Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows.

Journal of Dairy Science **73**: 938-947.

STAUFENBIEL R, ARNDT G, SCHRODER U UND GELFERT CC (2004)

Body condition and metabolic stability as the basis for high milk yield and undisturbed fertility in dairy cows - a contribution for deduction of reference values.

Deutsche Tierärztliche Wochenschrift **111**: 214-220.

STAUFENBIEL R, SCHRODER U UND GELFERT CC UND PANICKE L (2003)

Körperkondition und Stoffwechselstabilität als Grundlage für eine hohe Milchleistung bei ungestörter Fruchtbarkeit und allgemeiner Gesundheit von Milchkühen. Archiv Tierzucht, Dummerstorf **46**: 513-526.

STAUFENBIEL R (1997)

Konditionsbeurteilung von Milchkühen mit Hilfe der sonographischen Rückenfettdickenmessung.

Praktische Tierarzt **78**: 87-92.

STAUFENBIEL R, RISCHK U, SCHUMACHER B UND BECKER W (1992)

Estimation of insulin and glucose regulation in the dairy cow using daily profiles, simple and modified glucose tolerance test.

Deutsche Tierärztliche Wochenschrift **99**: 69-75.

STAUFENBIEL R, STAUFENBIEL B, LACHMANN I UND KLUKAS H (1991)

Fettstoffwechsel und Fruchtbarkeit der Milchkuh.

Praktische Tierarzt Sonderheft Coll. Vet **22**: Seite 18-25.

STAUFENBIEL R, LANGHANS J, BAUER J, DARGEL D, ROSSOW N UND LEUTHOLD G (1989)

Untersuchungen zur Beurteilung der postpartalen Energiebilanz der Milchkuh. Mh. Veterinärmedizin. **44**: 594-598.

STÜRMER G (2009)

Untersuchung von Zusammenhängen zwischen peripartalen Stoffwechselbelastungen und regulatorischen Aspekten des Glucosestoffwechsels sowie Milchleistung und Ovarfunktion bei Hochleistungskühen.

Dissertation der Agrar- und Umweltwissenschaftlichen Fakultät der Universität Rostock.

TAMADON A, KAFI M, MIRZAEI A UND SAEB S (2011)

Relationships between insulin-like growth factor-I, milk yield, body condition score and postpartum luteal activity in high-producing dairy cows.

Trop Animal Health Production **43**: 29-34.

TORNER H, ALM H, KANITZ W, GOELLNITZ K, BECKER F, POEHLAND R, BRUESSOW K-P UND TUCHSCHERER A (2007)

Effect of initial cumulus morphology on meiotic dynamic and status of mitochondria in horse oocytes during IVM.

Reproduction Domestic Animals **42**: 176-183.

TROUNSON AO, WILLADSEN SM UND ROWSON LEA (1977)

Fertilization and development capability of bovine follicular oocytes matured in vitro and in vivo and transferred to the oviducts of rabbits and cows. Journal of Reproduction and Fertility **51**: 321-327.

VILLA-GODOY A, HUGHES TL, EMERY RS, CHAPIN LT UND FOGWELL RL (1988)

Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science **71**: 1063-1072.

VIT (VEREINIGTE INFORMATIONSSYSTEME TIERHALTUNG W.V.) VERDEN (2015)

Jahresabschlußbericht der Milchleistungsprüfungen 2015.

VON LEESEN R, TETENS J, STAMER E, JUNGE W, THALLER G, KRATTENMACHER N (2014)

Effect of genetic merit for energy balance on luteal activity and subsequent reproductive performance in primiparous Holstein-Friesian cows.

Journal of Dairy Science **97**: 1128-1138

WALTERS AH, PRYOR AW, BAILEY TL, PEARSON RE UND GWAZDAUSKAS FC (2002)

Milk yield, energy balance, hormone, follicular and oocyte measures in early and mid-lactation Holstein cows.

Theriogenology **57**: 949-961.

WATHES DC, CHENG Z, BOURNE N, TAYLOR VJ, COFFEY MP, BROTHERSTONE S (2007)

Differences between primiparous and multiparous dairy cows in the interrelationship between metabolic traits, milk production and body condition score in the periparturient period.

Domestic Animal Endocrinologie **33**: 203-225.

WATHES DC, CLEMPSONAM UND POLLOTT GE (2012)

Associations between lipid metabolism and fertility in the dairy cow. *Reproduction and Fertility Dev.* **25**: 48-61.

WATHES DC. (2012)

Mechanisms linking metabolic status and disease with reproductive outcome in the dairy cow.

Reproduction Domestic Animals **47 Suppl 4**: 304-312.

WEBER C, HAMETNER C, TUCHSCHERER A, LOSAND B, KANITZ E, OTTEN W, SINGH SP, BRUCKMAIER RM, BECKER F, KANITZ W UND HAMMON HM (2013A)

Variation in fat mobilization during early lactation differently affects feed intake, body condition, and lipid and glucose metabolism in high-yielding dairy cows. *Journal of Dairy Science* **96**: 165-180.

WEBER C, HAMETNER C, TUSCHERER A, LOSAND B, KANITZ E, OTTEN W, SAUERWEIN H, BRUCKMAIER RM, BECKER F, KANITZ W, HAMMON HM (2013B)

Hepatic gene expression involved in glucose and lipid metabolism in transition cows: effects off at mobilization during early lactation in relation to milk performance and metabolic changes.

Journal of Dairy Science **96**: 5670-5681.

WILTBANK M, LOPEZ H, SARTORI R, SANGSRITAVONG S UND GUMEN A (2006)

Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism.

Theriogenology **65**: 17-29.

WINDIG JJ, BEERDA B UND VEERKAMP RF (2008)

Relationship between milk progesterone profiles and genetic merit for milk production, milking frequency, and feeding regimen in dairy cattle.

Journal of Dairy Science **91**: 2874-2884.

WOLFENSON D, THATCHER WW, BADINGA L, SAVIO JD, MEIDAN R, LEW BJ, BRAW-TAL R UND BERMAN A (1995)

Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle.

Biology of Reproduction **52**: 1106-1113.

WOLGAST T, DETTERER J, REUSS W, SCHMIDT T, MEINECKE-TILLMANN S (2008)

Verbesserung der Embryonengewinnungsraten durch modifizierte Gewinnungsverfahren bei Holstein Kühen an einer kommerziellen Embryotransferstation. 35. Jahrestagung der AET-d am 19./20. Juni 2008 in Dipperz/Friesenhausen.

WRENZYCKI C UND BOLLWEIN H (2008)

Einfluss der Fütterung diätetischer Fette auf die Reproduktion von Hochleistungskühen. Vorlesung an der Tierärztlichen Hochschule Hannover.

WRENZYCKI C UND BOLLWEIN H (2009)

Einfluss von Leistungshöhe und Ernährung auf das Reproduktionsgeschehen. Züchtungskunde **81**: 461-467.

WURM K (2010)

Grundlagen zur Rationsberechnung für Milchkühe.

Auf: Tierärztetagung Raumberg-Gumpenstein (Österreich): Seite 41-45

ZUCHTREPORT MECKLENBURG-VORPOMMERN (1998)

Land Mecklenburg Vorpommern, Zuchtreport 1997.

In: Landesforschungsanstalt Mecklenburg Vorpommern.

ZUCHTREPORT MECKLENBURG-VORPOMMERN (2010)

Land Mecklenburg Vorpommern, Zuchtreport 2009.

In: Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Mecklenburg Vorpommern.

ZUREK E, FOXCROFT GR UND KENNELLY JJ (1995)

Metabolic status and interval to first ovulation in postpartum dairy cows. Journal of Dairy Science **78**: 1909-1920.

11 Publikationsliste

PAPER

Hepatic gene expression involved in glucose and lipid metabolism in transition cows: Effects of fat mobilization during early lactation in relation to milk performance and metabolic changes. Weber C, Hametner C, Tuchscherer A, Losand B, Kanitz E, Otten W, Sauerwein H, Bruckmaier RM, Becker F, Kanitz W, Hammon HM (Sep 2013)
Journal of Dairy Science **96**: 5670-5681.

Variation in fat mobilization during early lactation differently affects feed intake, body condition, and lipid and glucose metabolism in high-yielding dairy cows. Weber C, Hametner C, Tuchscherer A, Losand B, Kanitz E, Otten W, Singh SP, Bruckmaier RM, Becker F, Kanitz W, Hammon H (Jan 2013)
Journal of Dairy Science Volume **96**: 165-180.

ABSTRACT, POSTER

Characterization of the corpus luteum in high producing dairy cows in relation to their metabolic and energetic status in the early lactation. Becker F, Hametner C, Weber C, Boldt A, Hammon H (Feb 2015)
Reproduction in Domestic Animals **50**: 66-67, Poster 102.

Expression of selected genes in dominant ovarian follicles of high yielding dairy cows during transition period. Becker F, Weber C, Hametner C, Hammon H, Kanitz W, Wimmers K (Mar 2014)
Reproduction in Domestic Animals **49**: 10.

mRNA expression of matrix metalloproteases and antimicrobial peptides in the bovine endometrium is affected by estrous cycle stage, first luteal activity and energy balance. Hahn A, Weber C, Hametner C, Hammon H, Becker F, Kanitz W, Gabler C, Einspanier R (Mar 2014)
Reproduction in Domestic Animals **49**: 22.

Negative energy balance influences mRNA expression of selected candidate genes in the endometrium of high yielding multiparous cows. Gabler C, Hahn A, Haase K, Hametner C, Weber C, Hammon H, Becker F, Kanitz W, Einspanier R (Sep 2013)
Reproduction in Domestic Animals **48**: 66-67.

Different patterns in peri-partus fat mobilization and commencement of luteal activity in high producing dairy cows. Becker F, Hametner C, Weber C, Hammon H (Aug 2012)
Reproduction in Domestic Animals **47**: 76.

Investigation on first luteal activity in high producing dairy cows in relation to their metabolic and energetic status. Becker F, Hametner C, Weber C, Hammon H, Kanitz W (Mar 2012)
Reproduction In Domestic Animals **47**: 13.

Long-term effects of negative energy balance on gene expression in the bovine oviduct. Haase K, Gabler C, Weber C, Hametner C, Holder C, Hammon H, Kanitz W, Einspanier R (Mar 2012)
Reproduction In Domestic Animals **47**: 26.

12 Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich herzlich bei Herrn PD Dr. Christoph Gabler aus dem Institut für Veterinär Biochemie der Freien Universität Berlin für die Übernahme meiner Dissertation bedanken. Für seine exzellente fachliche Unterstützung bei der Korrektur der Arbeit und die wertvollen Ratschläge bei der Erstellung der graphischen Elemente.

Ein Dank geht an Herrn Prof. Dr. habil. W. Kanitz vom Forschungsbereich (FB) Fortpflanzungsbiologie des Leibniz Institut (FBN) in Dummerstorf für die Überlassung des praxisorientierten, aktuellen und spannenden Themas.

Meinem Betreuer Herrn Dr. Becker vom FBN vom FB Fortpflanzungsbiologie möchte ich danken für die hervorragende fachliche Unterstützung, die wertvollen Anregungen im Verlauf der experimentellen Arbeiten und bei der Abfassung der Dissertation, sowie die jederzeit offenen Diskussionen und der geduldigen Bereitschaft, mir sein großes Wissen auf dem Gebiet der Fortpflanzung weiterzugeben.

Herrn Dr. G. Nürnberg vom FB Genetik und Biometrie des FBN danke ich recht herzlich für die große Hilfe bei der statistischen Auswertung des Datenmaterials.

Ein weiterer Dank geht an das Laborteam „Zellphysiologie“ des FBN, insbesondere an Frau Dr. H. Alm, Frau Dr. D. Janowski, Frau Friedrich, Frau Drawert und Frau Meyer für die professionelle Einführung in die Laborpraxis der IVP und die verwendeten Färbetechniken. Vielen Dank für die tatkräftige Unterstützung und die gute Arbeitsatmosphäre in FB Fortpflanzungsbiologie Biochemie des FBN, dort vor allem ein Dank an Frau Rodewald.

Ein weiterer Dank geht im Fachbereich Ernährungsphysiologie des FBN an die Arbeitsgruppe um Herrn PD Dr. H. Hammon und seinem Labor.

Meiner Mit-Doktorandin Claudia Kröger-Koch danke ich sehr herzlich für die hervorragende Teamarbeit bei der praktischen Versuchsdurchführung, für die konstruktiven Diskussionen, das gutes Arbeitsklima und dass sie mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite standen.

Mein herzlicher Dank gilt ebenfalls den zahlreichen Mitarbeitern des Stalls im FBN und den Mitarbeitern der Schlachthalle des FBN mit ihrer tatkräftigen Unterstützung.

Für ein schnelles Korrekturlesen, stetige konstruktive Kritik sowie motivierende Worte danke ich ganz besonders Anna Schröer. Ein weiter großer Dank geht an Viola Broll für die Unterstützung bei den graphischen Darstellungen.

Mein größter Dank gilt meinem Mann und meinen Eltern, die mich fortwährend moralisch unterstützt haben, für ihr Verständnis während dieser Zeit und die aufbauenden Worte.

13 Selbständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 21.07.2017

Cornelia Martens