

Aus dem
**Forschungsbereich Fortpflanzungsbiologie des Leibniz-Instituts für Nutztierbiologie
in Dummerstorf**
und der
Tierklinik für Fortpflanzung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Untersuchungen zur Follikeldynamik,
zum Ovulationsverhalten und zur Steuerung des
Ovulationszeitpunktes nach Anwendung von
Progesteron und PGF_{2α} bei Rindern**

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

vorgelegt von
Ines Mücke
aus Bobingen

Berlin 2011

Journal-Nr.: 3520

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. vet. W. Heuwieser
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. habil. Klaus-Peter Brüssow
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. vet. A. Sobiraj

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

progesterone, heifers, follicles, ovulation, LH, estradiol, prostaglandins

Tag der Promotion: 29.02.2012

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: 978-3-86387-249-6

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2011

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 2012

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	6
2	Physiologie der Reproduktion beim weiblichen Rind.....	8
2.1	Neuro- endokrine Regulation des Ovarialzyklus bei Rindern.....	9
2.1.1	GnRH.....	9
2.1.2	Gonadotropine	11
2.1.3	Die ovariellen Steroidhormone	12
2.1.4	Die ovariellen Peptidhormone	15
2.1.5	PGF _{2α} - Luteolyse.....	16
2.2	Follikelwachstum und Reifungswellen.....	20
2.2.1	Präantrale Follikelentwicklung.....	20
2.2.2	Follikelwachstum in Reifungswellen	21
2.2.3	Ovulation.....	25
2.3	Möglichkeiten der Brunst- und Ovulationssynchronisation	27
2.3.1	Das OvSynch-Programm	28
2.3.2	Brunstsynchronisation mit PGF _{2α} und Ovulationssynchronisation mit GnRH.....	31
2.3.3	Progesteron	34
3	Material und Methoden	42
3.1	Tiermaterial und Tiervorbereitung	42
3.2	Die Behandlungsregime.....	43
3.2.1	PRID und PGF _{2α}	43
3.2.2	PRID ohne Östradiol mit PGF _{2α}	43
3.2.3	PRID ohne Östradiol mit PGF _{2α} und Ovulationsinduktion und einmalig terminorientierter Besamung.....	44
3.3	Katheterisierung der Rinder, Haltung und Handling in diesem Zeitraum	45
3.4	Diagnostische Maßnahmen	46
3.4.1	Blutprobenentnahmen, Probenaufbereitung	46

3.4.2	Hormonanalytik	47
3.4.3	Ultraschalluntersuchung	48
3.5	Embryonengewinnung	49
3.6	Extraktion der Embryonen.....	49
3.7	Statistische Auswertung.....	49
4	Ergebnisse	52
4.1	Östrusraten.....	52
4.2	PRID und PGF _{2α}	52
4.2.1	Follikelanzahl während der PRID-Behandlung	52
4.2.2	Progesteronkonzentrationen während und nach PRID und PGF _{2α}	54
4.2.3	Östradiolkonzentrationen nach PRID und PGF _{2α}	57
4.2.4	Intervall PRID-Entnahme bis LH-Peak und Entnahme bis Ovulation	59
4.3	PRIDα und PGF _{2α}	60
4.3.1	Follikelanzahl während der PRIDα -Behandlung	60
4.3.2	Progesteronkonzentrationen während und nach PRIDα und PGF _{2α}	62
4.3.3	Östradiolkonzentrationen nach PRIDα und PGF _{2α}	64
4.3.4	Intervalle PRID-Entnahme bis LH-Peak und Entnahme bis Ovulation	66
4.4	Vergleichende Darstellung der Ergebnisse zwischen den Gruppen PRID mit PGF _{2α} und PRIDα mit PGF _{2α}	68
4.4.1	Follikelanzahl während der PRID-Behandlung	68
4.4.2	Progesteronkonzentrationen	70
4.4.3	Östradiolkonzentrationen	72
4.4.4	Intervalle PRID-Entnahme bis LH-Peak und Entnahme bis Ovulation	74
4.5	PRIDα und PGF _{2α} mit nachfolgender Ovulationsinduktion mit GnRH.....	75
4.5.1	Progesteronkonzentrationen während der Behandlung mit PRIDα unabhängig vom Zyklusstadium.....	76
4.5.2	Intervalle PRID-Entnahme bis LH-Peak und Entnahme bis Ovulation	77
4.5.3	Befruchtungserfolg nach Embryonengewinnung	78

5	Diskussion	79
5.1	Östrusrate	80
5.2	Follikelanzahl	81
5.3	Progesteronkonzentrationen	84
5.4	Östradiolkonzentrationen nach der PRID-Behandlung	86
5.5	Intervalle Entnahme bis LH-Peak bzw. bis zur Ovulation	88
5.6	Behandlung mit Ovulationsinduktion	92
5.6.1	Zeitpunkt der Ovulationsinduktion	93
5.6.2	Gelbkörperfunktion nach der Behandlung	95
5.6.3	Befruchtungserfolg nach Terminorientierter Besamung.....	96
6	Zusammenfassung	98
7	Summary	100
8	Abkürzungsverzeichnis	102
9	Literaturverzeichnis	104
10	Anhang	127

1 Einleitung

In milcherzeugenden Betrieben ist die Sicherung hoher Fruchtbarkeitsleistungen bei Rindern ein zentraler Aspekt der Wirtschaftlichkeit der Produktion. Neben den Einflussfaktoren Fütterung, Haltungs- und Klimabedingungen, Hygiene- und Gesundheitsstatus und dem Faktor der Erblichkeit, spielt vor allem das Fruchtbarkeitsmanagement die entscheidende Rolle für die Fruchtbarkeitsleistung einer Herde. Diese wird maßgeblich von der Brunsterkennungsrate und dem Konzeptionserfolg beeinflusst.

Idealerweise sollte eine Brunsterkennungsrate von 60 – 80 % in milcherzeugenden Betrieben erreicht werden. Im Regelfall werden aber in leistungsstarken Milchrindherden nur Brunsterkennungsrate von deutlich weniger als 60 % erreicht (**Kanitz, W., Becker, F. 2005**).

Für den Konzeptionserfolg ist u.a. die Wahl des Besamungszeitpunktes in Relation zur Ovulation von Bedeutung. Prinzipiell können zur Besamung von Rindern entweder die zeitlichen Zusammenhänge zwischen Brunstbeginn und Ovulation genutzt werden oder es kann nach einer Brunst- und Ovulationssynchronisation terminorientiert besamt werden. Bei einer brunstorientierten Besamung erschweren die Variabilität von Brunstdauer und Brunstintensität die Festlegung des optimalen Termins für die Künstliche Besamung (KB). Unter diesen Aspekten stellt die terminorientierte Besamung eine mögliche Alternative zur brunstorientierten Besamung dar.

Ein bekanntes Verfahren zur Brunst- und Ovulationssynchronisation ist das, Mitte der 90er Jahre, von Pursley entwickelte OvSynch-Verfahren. Die Trächtigkeitsergebnisse nach Anwendung des Verfahrens in seiner ursprünglichen Form, wie auch nach verschiedenen Modifizierungen, sind allerdings im Vergleich zu nicht synchronisierten Tieren niedriger. Eine alleinige Anwendung von $\text{PGF}_{2\alpha}$ zur Brunstsynchronisation ist aufgrund der hohen Variabilität des Brunst- und Ovulationseintritts für eine terminierte Besamung nicht geeignet. **Kanitz und Becker (2005)** untersuchten deshalb den Einfluss einer zusätzlichen GnRH-Injektion zur Ovulationssynchronisation nach $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Applikation. Hierbei konnten Trächtigkeitsergebnisse von 79 % bei Jungrindern und 43 % bei Kühen erzielt werden. Diese Möglichkeit der Brunst- und Ovulationssynchronisation ist allerdings nur zyklusabhängig erfolgreich anwendbar.

Eine Zyklussynchronisation auf der Grundlage der Anwendung von Gestagenen hätte den Vorteil, dass sie unabhängig vom Zyklusstadium angewendet werden kann. Im Schrifttum wird jedoch berichtet, dass nach längerer Behandlungsdauer zwar sehr gute Synchronisationseffekte erreicht wurden, die Fertilität, gemessen an der Trächtigkeitsrate, jedoch verringert war. Darüber hinaus sind im Schrifttum keine Angaben zu einer terminorientierten Besamung nach Anwendung von Gestagenen zu finden, die für die Terminierung der Besamung den Zeitraum der Freisetzung der Eizellen zu Grunde legen.

Ausgehend von dem Bedarf, einen optimalen Zeitpunkt für die Besamung von Rindern zu finden, sollten mit der eigenen Arbeit folgende Ziele verfolgt werden:

Untersuchung von Follikelwachstum und Ovulation nach Brunstsynchronisation mit vergleichsweise verkürzter Anwendung von Progesteron in Kombination mit Prostaglandin $F_{2\alpha}$ mit bzw. ohne Östradiol

Untersuchung der Möglichkeit, die Varianz des Parameters „*Ovulationszeitraum*“ durch eine Ovulationssynchronisation einzugrenzen, um damit Voraussetzungen für eine erfolgreiche terminorientierte Besamung zu erarbeiten.

2 Physiologie der Reproduktion beim weiblichen Rind

Der Ovarialzyklus der weiblichen Säugetiere hat die Aufgabe, in periodischen Abständen eine oder mehrere befruchtungsfähige Eizellen zur Verfügung zu stellen, zur gleichen Zeit die Paarungsbereitschaft zu gewährleisten und das Endometrium für die Aufnahme der Früchte vorzubereiten (**Döcke 1994**). Somit kommt es in regelmäßigen Zeitintervallen zum Auftreten von Brunsterscheinungen, zur Ovulation und den sie begleitenden Veränderungen an den Geschlechtsorganen, die eine mögliche Implantation der befruchteten Eizelle und die Entwicklung der Frucht gewährleisten sollen.

Beim Rind kann der Brunstzyklus anhand der unterschiedlichen Ausprägungen im Verhalten und der äußeren und inneren Veränderungen an den Geschlechtsorganen in die Phasen Östrus, Metöstrus, Interöstrus, Proöstrus eingeteilt werden (**Grunert 1999**).

Basierend auf dem Vorhandensein bestimmter Funktionsgebilde auf den Ovarien wird der Zyklus auch in eine Follikelphase und eine Lutealphase unterteilt, wobei erstere von der beginnenden Luteolyse bis zur Ovulation andauert, letztere die Anbildung und Blütezeit des Gelbkörpers bis zur nächsten Luteolyse beschreibt (**Garverick und Smith 1993**).

Das Rind ist asaisonal polyöstrisch und in der Regel monovulatorisch. Die Zykluslänge variiert zwischen 18 und 24 Tagen. Meist weisen Rinder aber eine Zykluslänge von 21 Tagen auf. Bei Färsen wird eine durchschnittliche Dauer von 20 Tagen beobachtet. (**Grunert 1999**).

In einer Studie von **Sartori et al. (2004)**, in der er die Ovarfunktion und die Steroidkonzentrationen im Blut bei Kühen und Jungrindern der Rasse Holstein vergleichend untersuchte, stellte er keine signifikanten Unterschiede bzgl. der Zykluslänge zwischen Kühen und Jungrindern fest (Kühe $22,9 \pm 0,7d$; Jungrinder $22,0 \pm 0,4d$). Im Gegensatz dazu werden sowohl von **Inbar et al. (2001)** als auch von **Wolfenson et al. (2004)** bei Jungrindern im Vergleich zu laktierenden Kühen kürzere Zyklen beschrieben. Sartori wählte für den Vergleich der Zykluslängen bei Kühen und Jungrindern nach intensivem Literaturstudium sieben Studien, die sich mit der Ovarfunktion bei Holstein Jungrindern beschäftigen (**Sirois und Fortune 1988; Ginther et al., 1989; Knopf et al., 1989; Ko et al., 1991; Lucy et al., 1992; Wilson et al., 1998; Ronchi et al. 2001**) und acht Studien, welche die Ovarfunktion bei laktierenden Holstein Kühen untersuchten (**Savio et al., 1990; Schemm et al., 1990; Taylor und Rajamahendran 1991; Pursley et al., 1993; Kirby et al., 1997; Trout et al., 1998; Roth et al., 2000; Townson et al., 2002**). Wurden die Ergebnisse bezüglich der Zykluslängen zusammengefasst, war die durchschnittliche Zykluslänge für Kühe 23,0 Tage und für Jungrinder 20,8 Tage. Dies macht deutlich, dass ein Unterschied bezüglich der

Zykluslänge zwischen Kühen und Jungrindern besteht, und dass die Zykluslänge v.a. für Kühe (um ca. zwei Tage) länger sein kann als die allgemein angenommenen 21 Tage.

Die für das Reproduktionsmanagement wichtige Phase des Östrus wird durch das Verhalten des Tieres definiert, indem es Paarungsbereitschaft zeigt. Das erstmalige Dulden des Besprungenwerdens zeigt den Beginn des Östrus. Die Brunst dauert durchschnittlich 15 -18 h und endet 6-12 h vor der Ovulation (**Grunert 1999**), da das Rind im Gegensatz zu anderen Spezies erst nach Abklingen äußerer Brunstsymptome ovuliert (**Garverick und Smith 1993**).

Nach erfolgter Ovulation formen sich die Theka- und Granulosazellen des Follikels in Luteinzellen um und bilden den Gelbkörper während des Metöstrus. Dieser produziert während des Interöstrus Progesteron, bis die Luteolyse von dem vom Uterus sezernierten $\text{PGF}_{2\alpha}$ am 16./17. Zyklustag eingeleitet wird und ein neuer Proöstrus folgt. Die Regulation dieser Vorgänge erfolgt durch negative und zum Teil auch positive Feedback-Mechanismen der Hormone, die vom Hypothalamus, der Hypophyse, den Ovarien und dem Uterus gebildet werden.

2.1 Neuro- endokrine Regulation des Ovarialzyklus bei Rindern

Die höchste Ebene des hierarchischen Systems bildet der Hypothalamus, darunter fungiert die Hypophyse und als unterste, endokrine Ebene wirken die Ovarien. Alle drei Ebenen kommunizieren miteinander und beeinflussen sich gegenseitig. Die bedeutendsten Wege sind die Rückkopplungen, bei denen der sezernierte Botenstoff über seine Blutkonzentration seine eigene Synthese hemmt oder (selten) fördert (**Sirois und Fortune 1988**).

2.1.1 GnRH

Im Hypothalamus wird bei weiblichen und männlichen Tieren ein spezifisches Neurohormon produziert, das auf den Hypophysenvorderlappen einwirkt und dort die Synthese, Speicherung und Sekretion der Gonadotropine LH (Luteinisierendes Hormon) und FSH (Follikelstimulierendes Hormon) kontrolliert. Dieses erstmals von **McCann et al. (1960)** nachgewiesene Hormon wird als Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) bezeichnet.

Bis zum heutigen Tag hat man 23 verschiedene, natürlich vorkommende GnRH-Analoga innerhalb der Wirbeltierspezies identifiziert, die multiple Variationen in der Aminosäuresequenz zeigen, wenn man sie mit dem Säuger-GnRH-Analogen (GnRH I) vergleicht (**Millar 2005, Pawson und McNeilly 2005, Schneider et al. 2006**). Die verschiedenen GnRH-Formen stammen nicht nur aus dem Hypothalamus, sondern werden auch in zahlreichen anderen Geweben gebildet, wie den Gonaden oder der Plazenta

(**Sherwood et al. 1993**). Sowohl GnRH-Analoga aus dem Hypothalamus, als auch die Formen anderen Ursprungs haben parakrine und autokrine Funktionen (**Webb et al. 1992**). Das Säuger-GnRH und seine Varianten haben neuroendokrine Funktionen, sollen aber auch Neurotransmitter- und neuromodulatorische Funktionen haben (**Millar et al. 2004, Pawson und McNeilly 2005**). Die neuroendokrine Funktion spielt die zentrale Rolle im Reproduktionsgeschehen. Hierbei werden sowohl äußere Einflüsse, wie z.B. die Tageslichtlänge oder die Anwesenheit eines männlichen Tieres, als auch die endogenen Signale der endokrinen Feedback-Mechanismen vom Hypothalamus verarbeitet (**Garverick und Smith 1993**).

GnRH ist ein Dekapeptid und weist eine geringe Halbwertszeit von zwei bis vier Minuten auf (**Obruka et al. 1998**). Es wird pulsatil in das hypothalamo-hypophysäre-Portalvenensystem abgegeben und erreicht die gonadotropen Zellen des Hypophysenvorderlappens. Dieses pulsatile Sekretionsmuster ist notwendig, um der Down-Regulation der spezifischen Rezeptoren im Hypophysenvorderlappen vorzubeugen, die bei dauernder Anwesenheit des Hormons von den gonadotropen Zellen in die Zellmembran internalisiert würden (**Roche et al. 1996**). Die GnRH-Sekretion wird durch GnRH selbst, durch die Gonadotropine und die Steroidhormone reguliert (ultra short/ short/ long feedback loop).

Beide Steroidhormone, Östradiol (E2) und Progesteron (P4), greifen in die Regulation der Gonadotropine entweder indirekt über die Beeinflussung der GnRH-Sekretion ein, oder sie üben einen direkten Einfluss auf Gonadotropin sezernierende Zellen im Hypophysenvorderlappen aus. Dabei vermutet man, dass der negative Feedback-Mechanismus des E2 sich in der Unterdrückung der GnRH-Puls-Amplitude manifestiert und das P4 vorrangig die GnRH-Puls-Frequenz beeinflusst (**Weesner et al. 1993**). Währenddessen haben die hohen präovulatorischen E2-Konzentrationen einen positiven Feedback-Mechanismus, der in der Freisetzung großer Mengen GnRH und einem Anstieg der Gonadotropine gipfelt. GnRH reguliert die Synthese und Sekretion von LH und FSH in den gonadotropen Zellen über die Ausbildung seines Rezeptors. Die Rezeptordichte variiert während des Brunstzyklus (**Rispoli und Nett 2005**) und soll bis zum 18. Zyklustag ansteigen, stimuliert durch das GnRH selbst und E2 (**Nett et al. 1987**). Es wurde beobachtet, dass ein Anstieg der Rezeptordichte dem präovulatorischem E2-Anstieg vorausgeht. Deshalb ist die erhöhte Empfindlichkeit der Hypophyse gegenüber dem GnRH vielleicht nicht nur ein Ergebnis erhöhter E2-Konzentrationen, sondern auch dem der verringerten P4-Konzentrationen (**Nett et al. 2002**).

Währenddessen es eine hohe Synchronität zwischen der pulsatilen Freisetzung des GnRH und dem LH gibt, wird die FSH-Freisetzung nur indirekt über die FSH-Synthese beeinflusst. GnRH trägt nur in geringem Maße zur Regulierung der Sekretion des FSH bei (**Roche et al. 1996, Pawson und McNeilly 2005, Schneider et al. 2006**).

2.1.2 Gonadotropine

Die Gonadotropine FSH und LH werden in den basophilen Zellen des Hypophysenvorderlappens gebildet und wirken auf die Theka- und Granulosazellen der Ovarfollikel. LH wirkt auch auf die Luteinzellen des Corpus luteum. Dadurch regulieren sie die Prozesse des Follikelwachstums, der Follikelreifung und der Ovulation, wie auch die der Gelbkörperentwicklung und Progesteronproduktion. Der Proteinanteil der Glykoproteine besteht aus einer α -Untereinheit und einer β -Untereinheit, wobei die α -Kette innerhalb einer Spezies für sämtliche Gonadotropine weitestgehend identisch ist, die β -Kette dagegen hormonspezifisch. Während die Aminosäuresequenz des Proteinanteils über die immunologische Aktivität des Hormons entscheidet, hängt seine biologische Aktivität überwiegend von den Kohlenhydratketten und Sulfatresten ab (**Wilson et al. 1990**).

Im Gegensatz zu den basalen Konzentrationen des LH während der Lutealphase zeigen die FSH-Konzentrationen ca. alle 7 - 10 Tage einen Konzentrationsanstieg während des Zyklus. Diese Änderungen der FSH-Konzentrationen gehen immer mit dem Auftreten einer neuen Follikelreifungswelle einher (**Adams et al. 1992a**). Trotz der Tatsache, dass beide Gonadotropine unter dem Einfluss eines einzigen Releasing-Hormons produziert werden, müssen die Konzentrationsverhältnisse während des Zyklus sich nicht gleichgerichtet verändern. Das liegt daran, dass die FSH-Synthese und -Sekretion stärker als die von LH von E2 und den Peptidhormonen Inhibin und Activin und dessen Bindungsprotein, Follistatin gesteuert wird (**Roche et al. 1996**). Die Pulsamplitude und Pulsfrequenz des LH unterliegen individuellen Schwankungen während des Zyklus und werden von dem sich ändernden Steroidhormonmilieu, vorwiegend von P4 modifiziert (**Rahe et al. 1980, Cupp et al. 1995**). Während der Lutealphase herrschen hohe P4-Konzentrationen vor und die Pulsfrequenz ist niedrig bei gleichzeitig relativ niedrigen E2-Konzentrationen im Vergleich zur frühen und späten Lutealphase. Während und nach der Luteolyse, also in der Follikelphase, steigen die LH-Konzentration im Blut und die Pulsfrequenz deutlich an bei gleichzeitig niedrigen P4-Konzentrationen. Die erhöhte Frequenz der LH-Pulse resultiert in höheren E2-Konzentrationen, einer höheren Pulsamplitude und letztendlich in der Ovulation (**Cupp et al. 1995**).

Die Gonadotropine wirken an Rezeptoren gonadotropinreaktiver Follikel. Während LH vorwiegend an den Thekazellen andockt, liegen die Rezeptoren des FSH auf den Granulosazellen. Beide wirken über eine Adenylatcyclase auf die Konzentration des second-messengers-cAMP. Dieser bewirkt über Proteinkinasen die Synthese und Aktivierung von Enzymen, die der Steroidsynthese dienen (**Hoffmann 1999**). Die von den Thekazellen aus Steroidhormonvorstufen gebildeten Androgene werden in den Granulosazellen über die FSH-abhängige Aromatase (P450arom) in Östrogene, vorwiegend

Östradiol-17 β , umgewandelt. Nach Bildung des Corpus luteum im Anschluss an die Ovulation und die Transformation der Theka- und Granulosazellen in die Luteinzellen ist beim Rind primär das LH als luteotroper Faktor für die Progesteronproduktion verantwortlich. Dabei besteht für die kleinen Luteinzellen eine größere Abhängigkeit gegenüber LH als für die großen Luteinzellen.

2.1.3 Die ovariellen Steroidhormone

2.1.3.1 Östrogen

Die Östrogene (v.a.Östradiol-17 β) werden in den Follikeln gebildet. Das, die Eizelle enthaltende Antrum wird von der Granulosazellschicht umgeben, beide werden durch die Basalmembran von der Thekazellschicht getrennt, die sich in eine innere und äußere Zellschicht unterteilt. Die Granulosazellen und Zellen der Theka interna synthetisieren und sezernieren Steroide, die Zellen der Theka externa haben keine steroidogene Funktion. In den Thekazellen werden LH-abhängig (**Austin et al. 2001**) die für die Konvertierung von Cholesterol zu Androgenen benötigten Enzyme exprimiert, in den Granulosazellen können FSH-abhängig (**Austin et al. 2001**) Androgene zu E2 umgewandelt werden (**Bao und Garverick 1998**). Abhängig vom Zyklusstadium können Östrogene ein negatives oder positives Feedback auf GnRH und die Gonadotropine haben. In der frühen Follikelphase übt das Östrogen einen negativen Effekt auf die FSH- und LH-Sekretion aus (negativer Feedback), gleichzeitig werden aber bei den noch geringen Östrogenkonzentrationen vermehrt FSH und LH in die intrazellulären Speicher eingelagert. Mit fortschreitender Follikelphase steigt die Östrogenkonzentration und sensibilisiert die gonadotropen Zellen für die eintreffenden GnRH-Pulse. Dadurch werden nicht nur die in Membrannähe vorhandenen Sekretgranula, sondern auch die intrazellulären Speicher von FSH und LH freigesetzt. Zusätzlich werden östrogenabhängig vermehrt GnRH-Rezeptoren gebildet (positives Feedback). Diese Mobilisierung der Gonadotropinspeicher und die zusätzliche Ausbildung der GnRH-Rezeptoren führen zur Freisetzung großer Mengen an LH. FSH wird durch das vom präovulatorischen Follikel gebildete Östrogen und Inhibin gehemmt (**Meinecke 2000**). Die E2-Konzentrationen korrelieren positiv mit dem präovulatorischen LH-Anstieg (**Wolfenson et al. 2004**), sodass ein geringer Anstieg des Östradiols unter bestimmten Umständen nur einen geringen Anstieg des LH auslöst und so für manche Fälle von Anovulation verantwortlich sein könnte (**Wiltbank et al. 2002**).

Durch die mitogene Eigenschaft des Östrogens können die Granulosazellzahl erhöht und somit indirekt auch die FSH-Rezeptoren eines Follikels erhöht werden. Zusätzlich fördert es das Einsprossen von Blutgefäßen in die Theka interna und somit erhalten östrogenreiche Follikel mehr Blut und im Gegensatz zu den anderen Follikeln noch mehr der immer geringer werdenden Mengen FSH. Die Mengen an Östrogen entscheiden also über das weitere

Schicksal eines Follikels, ob er atresiert oder zum dominanten Follikel wird (**Meinecke 2000**). Eine wichtige Rolle übernimmt das Östradiol-17 β im Östrusverhalten. Die Verhaltensänderungen zur Brunst werden durch das ovarielle E2 gesteuert und beruhen auf dem Alles – oder – Nichts - Prinzip. Wird eine bestimmte E2-Konzentration erreicht, kommt es zum typischen Brunstverhalten, welches auch nicht durch noch höhere Konzentrationen intensiviert werden kann. Allerdings nur in relativer Abwesenheit des Progesterons, das die Brunstausprägung hemmt und dabei größeren Einfluss hat als das Östradiol. Gleichfalls können hohe ACTH-Konzentrationen das Brunstverhalten hemmen oder vollständig unterdrücken, auch wenn die zur Brunstauslösung notwendige E2-Konzentration eigentlich erreicht wäre (**Allrich 1993**).

Präovulatorisch bewirkt das Östrogen eine Ausbildung der LH-Rezeptoren auf den Granulosazellen, die damit befähigt sind auf die hohen, ovulationsauslösenden LH-Konzentrationen zu reagieren. Das folliculäre Östrogen spielt eine zentrale Rolle im Ovulationsgeschehen (**Meinecke 2000**).

2.1.3.2 Progesteron

Nach erfolgter Ovulation findet unter Gefäßeinsprossung eine Differenzierung der Follikelwand zum Gelbkörper statt. Dabei bilden sich die kleinen Luteinzellen aus den folliculären Theka-interna-Zellen, die großen Luteinzellen zu Beginn des Zyklus aus den Granulosazellen, in späteren Phasen aber auch aus kleinen Luteinzellen. P4 wird hauptsächlich in den großen und kleinen Luteinzellen des Gelbkörpers gebildet (**Hansel et al. 1987**), wobei die großen Luteinzellen absolut mehr P4 produzieren können als kleine Luteinzellen, diese aber sensibler auf eine Stimulation durch LH reagieren. Dies hängt mit der unterschiedlichen Rezeptorverfügbarkeit großer und kleiner Luteinzellen zusammen. Kleine Luteinzellen verfügen über relativ mehr LH-Rezeptoren, große Luteinzellen über mehr Östradiol- und PGF_{2 α} -Rezeptoren (**Fitz et al. 1982, Wiltbank 1994**). Als Ausgangssubstanz für alle Steroide dient das Cholesterol, welches in der Leber gebildet und in Form von Lipoproteinen zu steroiden Geweben transportiert wird. Der Hauptanteil des Cholesterols wird als Low-density lipoprotein (LDL) und als High-density lipoprotein (HDL) zum Gelbkörper transportiert (**Bao et al. 1997**). Die Internalisierung des LDL erfolgt durch rezeptorvermittelte Endozytose, der Mechanismus der HDL- Aufnahme in die Zelle ist noch ungeklärt (**Lestavel und Fruchart 1994**). In den Zellen kann das Cholesterol entweder direkt zur Steroidgenese verwendet oder durch Fettsäuren verestert und gespeichert werden (**Johnson et al. 1997**). Die Hydrolisierung der Ester durch die Cholesterolesterase wird durch die Proteinkinase A (PKA) aktiviert. Dies ist einer der ersten Schritte der Steroidbiosynthese, der second-messenger vermittelt ist. Das freie Cholesterol wird zu den Mitochondrien transportiert und muss dort von der äußeren zur inneren Membran

transportiert werden, ein Schritt, der vom sogenannten StAR-Protein abhängig ist (steroidogenic acute regulatory protein). Die weiteren Syntheseschritte benötigen das Cytochrom P-450 side-chain cleavage enzym (P-450scc) um Pregnenolon zu synthetisieren. Dieses wird aus dem Mitochondrium ausgeschleust. Aus dem glatten Endoplasmatischen Retikulum stammt die 3 β -HSD, die letztlich zur Synthese des Progesterons führt.

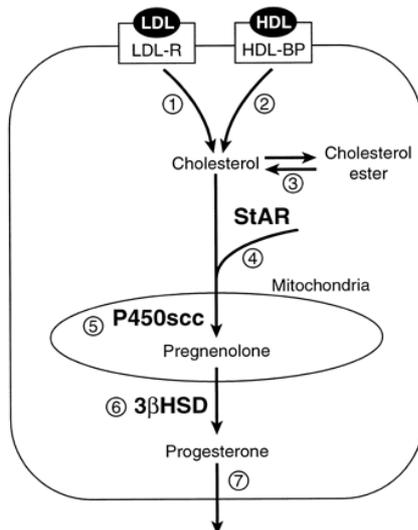


Abb. 1: Progesteronsynthese (Niswender et al. 2000)

Dieses diffundiert aus der Zelle und gelangt über den Blutstrom zu den Zielgeweben vornehmlich im Reproduktionstrakt und im Bereich der Hypothalamus-Hypophysen-Achse. Seine Wirkung entfaltet das P4 durch direkte Beeinflussung der Transkription der Gene durch einen speziellen Rezeptor, der Ligandeninduziert als Transkriptionsfaktor wirkt. Dieser Rezeptor beeinflusst die Expression bestimmter Gene durch die Bindung an spezielle Progesteron empfindlichen Elemente der DNA (**Moutsatsou und Sekeris 1997**). Für die Wirkung am Reproduktionstrakt wird eine vorherige Exposition mit Östrogenen benötigt, die die Rezeptoren für das P4 induzieren sollen (**Kaneko et al. 1993, Kraus und Katzenellenbogen 1993**). Im Gegenzug dazu hemmt P4 die Ausbildung der Östrogenrezeptoren und somit auch die Wirkungen der Östrogene (**Evans und Leavitt 1980**).

Durch seinen direkten negativen Feedback-Mechanismus auf GnRH reguliert P4 die Zykluslänge und das Einsetzen des Östrus, insbesondere durch die Regulierung der LH-Pulsatilität durch das GnRH (**Roche et al. 1996**). In der Hypophyse kann P4 die Rezeptoren für GnRH reduzieren, indem es die Expression der mRNA verhindert (**Bauer-Dantoin et al. 1995**). Zusätzlich entfällt der positive Effekt des Östrogens auf die Rezeptorausbildung. P4 hat eine direkte Wirkung auf die Expression der Gene, die die

β -Untereinheiten von FSH und LH kodieren sowie auf die gemeinsame α -Untereinheit der beiden Gonadotropine (**Brann et al. 1993**).

Kommt es zu einer Gravidität wird die Luteolyse durch das vom Embryo gebildete Interferon τ unterdrückt. Für die Aufrechterhaltung der Progesteronproduktion ab dem 30. Trächtigkeitstag ist wieder das hypophysäre LH verantwortlich. P4 stimuliert die unter der Wirkung von Östradiol-17 β proliferierten Uterindrüsen zur Sekretion der Uterinmilch, welche bis zur Implantation als Nährmedium für den frühen Embryo zur Verfügung steht.

2.1.4 Die ovariellen Peptidhormone

Inhibin und Activin sind Peptide, die zur Transforming-Growth-Factor- β -Familie gehören. Inhibine sind Dimere, bestehend aus einer konstanten α -Untereinheit und einer in verschiedenen Formen auftretenden β -Untereinheit. Je nach β -Untereinheit unterscheidet man ein Inhibin A und Inhibin B. Beim Rind wurde bisher nur Inhibin A nachgewiesen (**Knight 1996**). Syntheseort für die Inhibine sind die Granulosazellen der Follikelwand und das Corpus luteum, die Freisetzung erfolgt episodisch und ist unabhängig von der Freisetzung des FSH, LH oder Östradiol, weshalb eine lokale Regulation vermutet wird (**Döcke 1994**). Andererseits wird von anderen Autoren FSH als direkter Stimulator für die Bildung von Inhibin dargestellt, wodurch ein direkter negativer Rückkopplungsmechanismus entsteht (**Mather et al. 1997, deKretser et al. 2000**).

Inhibine hemmen die Synthese und Sekretion des FSH durch eine Unterdrückung des Gens, welches der Bildung der FSH- β -Untereinheit dient. Die LH-Ausschüttung wird nur unwesentlich vermindert (**Döcke 1994**). **Bleach et al. (2001)** und **Mihm et al. (2001)** beobachten zum Zeitpunkt maximaler FSH-Konzentrationen im Serum die geringsten Inhibin A-Konzentrationen. Daraus folgern sie, dass folliculäres Inhibin den bedeutendsten Faktor in der Regulation von FSH darstellt. An den Theca-Zellen bewirkt es eine Sensibilisierung gegenüber LH, was zu einer verstärkten Bildung von Androgenen führt (**Knight und Glister 2001**). Wie auch das Activin, Follistatin und andere Co-Faktoren ist Inhibin an der Follikulogenese beteiligt (**Webb et al. 1999**).

Activin wird ebenfalls von den Granulosazellen sezerniert, eine zusätzliche Bereitstellung erfolgt aber auch aus den Zellen der Hypophyse, die die Gonadotropine synthetisieren (**Meinecke 2000**). Das Activinmolekül besteht aus jeweils zwei β -Untereinheiten des Inhibins. Je nach Kombination der unterschiedlichen Formen Inhibin A oder B existieren prinzipiell drei Formen des Activins. Seine Hauptfunktion ist die Steigerung der Sekretion des FSH. Die zentrale Stimulation im Hypophysenvorderlappen (HVL), an dem es zu einem Anstieg der gonadotropen Zellen kommt, ist der lokalen auto- und parakrinen Funktion im Ovar untergeordnet (**Webb et al. 1999**). Dort kommt es zur Proliferation der

Granulosazellen, zur Erhöhung der FSH-Rezeptoren und somit zu einer gesteigerten Synthese von Östrogenen. In den Thekazellen hemmt es die Androgensynthese und damit verzögert sich die Luteinisierung am Follikel (**Knight und Glistler 2001**). In einigen In-vitro-Untersuchungen wurde deutlich, dass Activin auch modulierend auf die GnRH-Sekretion im Hypothalamus wirken kann (**Padmanabhan et al. 2002**).

Follistatin ist ein Peptid, das von zahlreichen Zellen der Hypophyse gebildet wird, aber auch in der Follikelflüssigkeit zu finden ist. Es hemmt die FSH-Synthese und -Sekretion in der Hypophyse und neutralisiert die Wirkung des Activins. Damit wird die stimulierende Wirkung dieses Peptids auf die FSH-Sekretion vermindert (**Meinecke 2000**). In dieser Funktion ist es allerdings deutlich weniger potent als das Inhibin.

2.1.5 PGF_{2α}- Luteolyse

Die größte Bedeutung des vom Gelbkörper gebildeten Progesterons liegt darin, eine bestehende Trächtigkeit aufrechtzuerhalten. Bei Nichtbestehen einer Trächtigkeit ist die Rückbildung des Corpus luteum wichtigste Grundlage für die Entwicklung eines neuen ovulatorischen Follikels und somit der Möglichkeit erneut eine Trächtigkeit zu erlangen (**McCracken et al. 1999**). Die Luteolyse ist definiert als der funktionelle und strukturelle Untergang des Gelbkörpers. Dabei treten zwei eng miteinander verbundene Ereignisse ein. Zunächst geht die Fähigkeit der Progesteronsynthese und -sekretion verloren, gefolgt vom Untergang der Zellen, die den Gelbkörper bilden (**Knickerbocker et al. 1988**). Das vom Endometrium sezernierte PGF_{2α} spielt bei den meisten Säugetieren die bedeutendste Rolle bei der Luteolyseinduktion (**McCracken et al. 1970**). PGF_{2α} gelangt aus dem Uterus über einen lokalen Austausch im Gegenstromprinzip unter Umgehung des Lungenkreislaufs aus der utero-ovariellen Dränage direkt in die A. ovarica des ipsilateralen Ovars (**Ginther 1974**), weil bei nur einem Lungendurchgang mehr als 90 % des PGF_{2α} inaktiviert werden (**Meinecke 2000**). Die Freisetzung der Arachidonsäure aus Phospholipiden durch die Phospholipase A2 wird als der limitierende Syntheseschritt für die Prostaglandinsynthese angesehen (**McCracken 1997**). Der erste Schritt in der PG-Synthese, die Umwandlung der Arachidonsäure in die instabile Form des PGG₂, wird von der Cyclooxygenase (COX) katalysiert. PGG₂ wird von der cytosolischen Peroxidase in eine ebenfalls instabile Form, das PGH₂ umgeformt. Vom PGH₂ ausgehend können mehrere Prostaglandine synthetisiert werden. PGH₂ kann über die PGF-Synthase (PGD 11-ketoreduktase) zu PGF_{2α} oder über die PGE-Synthase (PGH 9-,11-endoperoxidreduktase) zu PGE₂ konvertiert werden. Dieses kann mittels der PGE-9-keto-reduktase wiederum zu PGF_{2α} katalysiert werden (**Goff 2004**).

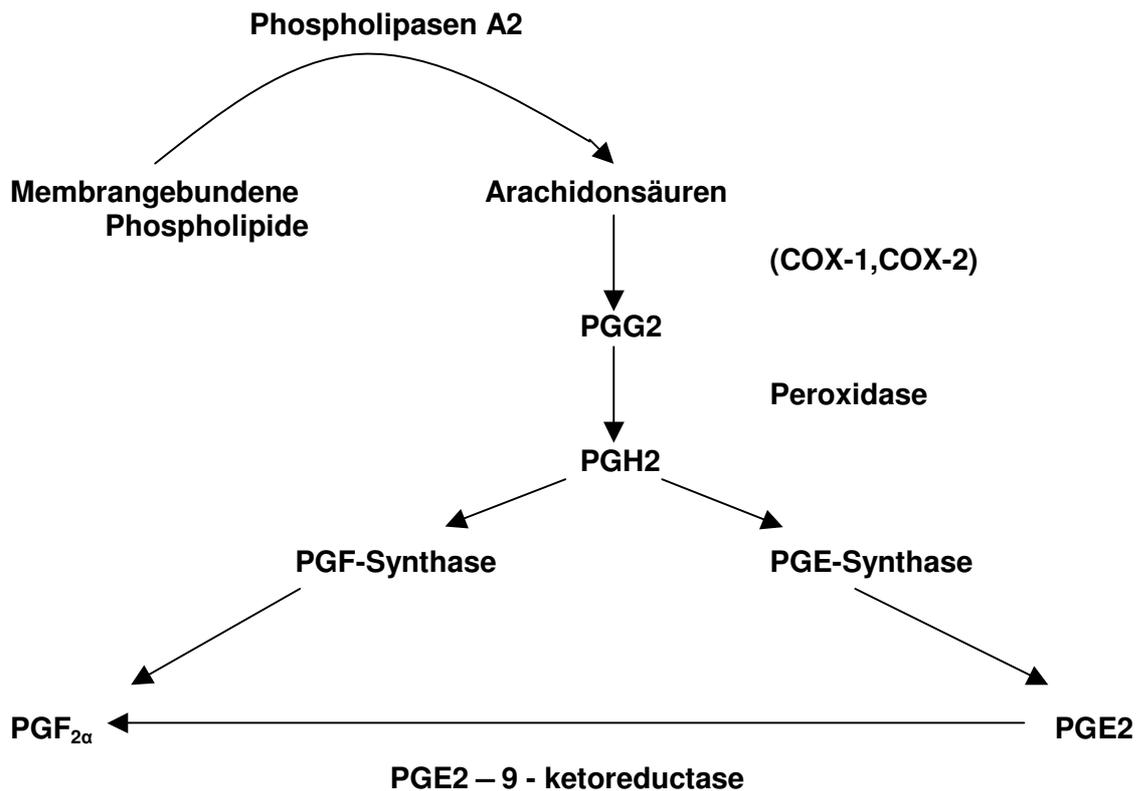


Abbildung 2: PGF_{2α}-Synthese (Goff 2004)

Die Sekretion des PGF_{2α} variiert während des Zyklus, dabei werden während der Follikelphase und des Östrus höchste Werte gemessen, die dann von der frühen Lutealphase bis zur Mitte der Lutealphase wieder abfallen. Während der Luteolyse wird PGF_{2α} über ca. 2 - 3 Tage in Pulsen von ca. 1 - 5 h Dauer abgegeben (**Kindahl et al. 1976, 1981, Mann und Lamming 2006**). Reguliert wird die uterine PGF_{2α}-Sekretion v.a. durch Oxytocin, P4 und Östradiol. Durch die Bindung des freien Oxytocins aus der Hypophyse und dem Gelbkörper an seine neu gebildeten Rezeptoren im Endometrium wird die PGF_{2α}-Freisetzung stimuliert (**Silvia et al. 1991**). Die Steroide können entweder direkt auf die PGF_{2α}-Sekretion aus dem Endometrium einwirken oder indirekt über die Ansprechbarkeit des Endometriums auf Oxytocin und die Ausbildung seiner Rezeptoren (OTR). P4 begünstigt die Akkumulation der Arachidonsäure und der COX im Endometrium, die zur PGF_{2α}-Produktion benötigt werden, aber es hemmt die Oxytocin-induzierte PGF_{2α}-Sekretion (**Skarzynski et al. 1999**). Die Wirkung des E2 scheint genau entgegengesetzt zu sein. Es hemmt die PGF_{2α}-Produktion, indem es die COX - mRNA herabreguliert und stimuliert die Oxytocin-abhängige PGF_{2α}-Produktion in bovinen Endometriumzellkulturen (**Asselin et al. 1996**). E2 scheint aber auch die stimulierenden Effekte des Progesterons und des Oxytocins

auf die $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Synthese und -Sekretion zu unterstützen, zumindest in der Mitte der Lutealphase oder nach Progesteronvorbehandlung. Dieses Progesteron-Priming scheint den Uterus erst für E2 und Oxytocin empfindlich zu machen. P4 beeinflusst die $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Produktion direkt, während E2 scheinbar nur einen modulierenden Effekt hat (**Skarzynski et al. 1999**).

Zu Beginn der Luteolyse müssen zwei voneinander unabhängige Ereignisse gegeben sein. Zum einen die initiale $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Produktion, zum anderen die Erhöhung der OTR-Anzahl (**Goff 2004**). Dabei scheint der Verfügbarkeit der OTR für das Einsetzen der Luteolyse eine größere Bedeutung zuzukommen. Die Ausbildung der OTR ist wiederum vom Zusammenspiel der Steroide abhängig. Dabei wird dem E2 prinzipiell eine fördernde, dem P4 eine hemmende Beeinflussung der OTR-Expression zugeschrieben. Mit ansteigenden E2-Konzentrationen und gleichzeitig sinkenden P4-Konzentrationen zu Beginn des Östrus oder aber auch am Ende der Trächtigkeit kommt es zu einer Erhöhung der Östrogenrezeptoren (ER), die wiederum einen Anstieg der OTR verursachen (**Spencer et al. 1996**). Bei bestehender Trächtigkeit werden genau diese ER gehemmt und somit eine Luteolyse verhindert (**Spencer et al. 1995**). **Fairclough und Lau (1992)** vermuten, dass es allein durch Absinken der Progesteronkonzentrationen am Ende der Lutealphase, und damit auch einer reduzierten P4-Rezeptorenanzahl (**Spencer et al. 1995**), zu einer Erhöhung der OTR kommt. Die Verfügbarkeit der OTR für Oxytocin könnte aber auch durch direkte Bindung des Progesterons an die Rezeptoren vermindert sein (**McCracken et al. 1999**).

Die initiale $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Freisetzung löst einen positiven Feedback-Mechanismus aus, woraufhin zusätzliches Oxytocin aus dem Gelbkörper und $\text{PGF}_{2\alpha}$ aus dem Gelbkörper und dem Uterus freigesetzt werden. Die luteale $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Freisetzung verstärkt das luteolytische Signal mittels auto- und parakriner Mechanismen (**Tsai und Wiltbank 1997**). Das $\text{PGF}_{2\alpha}$ scheint selbst eine Autoamplifizierung in den Lutealzellen auszulösen. Die intraluteale $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Produktion wird v.a. von den Cytokinen Interleukin- 1β und $\text{TNF}\alpha$ stimuliert, später auch von Interferon- γ (**Fairchild und Pate 1991**). Alle diese stimulierenden Effekte der Cytokine können durch P4 gehemmt werden (**Fairchild und Pate 1991, Townson und Pate 1996**).

Eine der bedeutendsten luteolytischen Wirkmechanismen des $\text{PGF}_{2\alpha}$ ist der schnelle Abfall des lutealen Blutflusses, sowohl bei spontaner als auch induzierter Luteolyse (**Knickerbocker et al. 1988**). $\text{PGF}_{2\alpha}$ führt zum einen zur Apoptose der die Gefäße umgebenden Endothelzellen (**O'Shea et al. 1977**), zum anderen stimuliert es die Bildung der vasoaktiven Peptide Angiotensin II und Endothelin-1 aus diesen (**Girsh et al. 1996**). Beiden Peptiden wird eine vasokonstriktorische Funktion zugeschrieben und möglicherweise fördern sie die Apoptosevorgänge (**Schams und Berisha 2004**). Endothelin-1 hemmt zudem die Progesteronproduktion und fördert die luteale $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Produktion und -Sekretion (**Girsh et al. 1996**). Mit steigender $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Konzentration, somit mangelnder Blutversorgung und mit

fortschreitenden Apoptosevorgängen erfolgt der strukturelle Untergang des Gelbkörpers. Während der Luteolyse nimmt vor allem die Zahl an Leukozyten, T-Lymphozyten und Makrophagen im C.I. zu (**Penny et al. 1999**). Die Involutionsmechanismen ähneln denen einer Entzündungsreaktion, bei der den Cytokinen nochmals eine entscheidende Rolle zukommt (**Pate 1995**). Der limitierende Schritt für die Luteolysevorgänge scheint in der Regulation der $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Synthese zu liegen, während der auslösende Mechanismus in der Ausbildung der OTR zu finden ist (**Goff 2004**).

2.2 Follikelwachstum und Reifungswellen

2.2.1 Präantrale Follikelentwicklung

Im Ovar läuft das Follikelwachstum als Kontinuum ab, d.h. es beginnt bereits während der Fetalentwicklung und endet erst, wenn die Mehrzahl der Eizellen durch Zelluntergang (Atresie) oder Ovulation verbraucht wurde (**van den Hurk und Zhao 2005, Adams et al. 2007**). Zur Geburt verfügt ein weibliches Kalb über ca. 210000 Oozyten (**Telfer 1996**). Diese werden von Vorläufern der Granulosazellen umgeben und so als Primordialfollikel bezeichnet. In den Eierstöcken von Rindern existieren zwei Follikelpopulationen, die entweder dem ruhenden oder dem wachsenden Pool angehören (**Kanitz et al. 2001**). Während der reproduktiven Phase gehen ruhende Follikel in den wachsenden Pool über. Dabei nehmen die bis dahin flachen und kubischen Granulosazellen nahezu vollständig kubische Gestalt an und die Oozyten unterliegen einer raschen Größenzunahme (**Fortune et al. 2000**). Der Follikel wird jetzt als Primärfollikel bezeichnet. Die weitere Entwicklung der Follikel hängt von der Vermehrung der Granulosazellen ab. Es bilden sich mehrere Schichten von Granulosazellen, es findet eine erste Versorgung mit Blutgefäßen statt und mit der Differenzierung zur Theka interna und Theka externa entstehen Sekundärfollikel. Mit der Differenzierung zu Thekazellen werden die Zellen epitheloid und in den Zellen der Theka interna beginnt die Expression verschiedener steroidogener Enzyme (**McNatty et al. 1999**). Es wird vermutet, dass das Follikelwachstum durch Zell-Zell-Interaktionen der Oozyte und der Granulosazellen ausgelöst wird und von der Sekretion verschiedener Faktoren, die zur Transforming-Growth-Factor- β Familie gehören, beeinflusst wird. Dazu gehören unter anderem der Growth-Differentiating-Factor 9 (GDF-9), Aktivin und Inhibin. Zudem sollen der Basic-Fibroblast-Growth-Factor (bFGF) und der Epidermal-Growth-Factor (EGF) eine Rolle spielen (**McNatty et al. 1999, Knight und Glister 2001**). Die Bedeutung der Gonadotropine in diesem frühen Entwicklungsstadium ist nicht eindeutig geklärt. Sie scheinen nicht für den Beginn des Wachstums verantwortlich zu sein (**McNatty et al. 1999, Campbell et al. 2000, Fortune et al. 2000**). Von **Bao und Garverick (1998)** wurde in Untersuchungen zur Genexpression bei präantralen Follikeln bereits mRNA für die FSH-Rezeptoren in Zellen mit einschichtiger bzw. zweischichtiger Granulosazellschicht nachgewiesen. In späteren Stadien der präantralen Follikelentwicklung konnte sowohl in vivo als auch in vitro nachgewiesen werden, dass FSH die Wachstumsrate von Follikeln erhöhen kann (**Campbell et al. 2000, Gutierrez et al. 2000**). Eine Beeinflussung durch LH konnte nicht nachgewiesen werden, auch wenn die erste mRNA für LH-Rezeptoren bereits in Stadien zur Theka interna - Differenzierung gefunden wurde (**Bao und Garverick 1998**). Neben den bereits genannten lokalen Faktoren zur Initiierung des Follikelwachstums spielt auch das IGF-System eine

wichtige Rolle bei der weiteren Entwicklung. Das System der IGF besteht aus dem IGF-I, dem IGF-II (**Spicer und Echterkamp 1995**), deren Rezeptoren und sechs verschiedenen, spezifischen IGF-Bindungsproteinen (IGFBP). IGF-I und EGF stimulieren das Follikelwachstum in vitro (**Gutierrez et al. 2000**). Die IGFBP regulieren die Bioverfügbarkeit der IGF und beeinflussen dadurch das terminale Wachstum oder Atresie der Follikel. Die Konzentrationen für IGF-I und IGF-II ändern sich nicht zwischen den im Wachstum befindlichen Follikeln und den atresierenden Follikeln. Demgegenüber werden Konzentrationsänderungen für die IGFBP-2, -4, -5 festgestellt, die im wachsenden Follikel abfallen, in den atretischen Follikeln ansteigen (**Monget et al. 2002**).

Die Entwicklung eines Primordialfollikels bis zum Erreichen des Stadiums eines Graaf'schen Follikels dauert mehrere Monate (**Campbell et al. 2000**). Die Antrumbildung beginnt bei ca. 0,3 mm und bis zum Erreichen einer Größe von 3 - 5 mm vergehen mindestens 30 Tage (**Lussier et al. 1987, Kanitz et al. 2001**). Zumindest ab einer Größe von 2 mm unterliegt das antrale Follikelwachstum der Kontrolle der Gonadotropine (**Campbell et al. 2000**) und ist gekennzeichnet durch das Heranreifen der Follikel in Follikelreifungswellen. Auch wenn das Follikelwachstum vor allem von Gonadotropinen und lokalen Faktoren kontrolliert wird, können auch Umweltfaktoren, wie z.B. die Fütterung, das Follikelwachstum und die Oozytenentwicklung und damit die Fruchtbarkeit wesentlich beeinflussen (**Webb et al. 2003**).

2.2.2 Follikelwachstum in Reifungswellen

Die antrale Follikelentwicklung kann in eine erste "langsame" und eine zweite "schnelle" Wachstumsphase unterteilt werden (**Lussier et al. 1987**). In der ersten Phase erreicht die Oozyte ihre endgültige Größe und vollständige Entwicklungskompetenz (**Fair et al. 1997**), in der zweiten Phase, die gewöhnlich nur 5 - 7 Tage andauert, kann ab einer Follikelgröße von ca. 2 - 3 mm die wellenartige Anbildung der Follikel mittels Ultraschall gut beobachtet werden (**Sunderland et al. 1994**). Die Follikelreifungswellen sind durch Prozesse der Rekrutierung, Selektion und Dominanz gekennzeichnet (**Kanitz 2003**). Innerhalb eines ovariellen Zyklus können in der Regel zwei oder drei Follikelreifungswellen beobachtet werden (**Adams 1999, Ireland et al. 2000**), es kommen aber auch Zyklen mit einer oder vier Follikelreifungswellen vor (**Sirois und Fortune 1988, Rhodes 1995**).

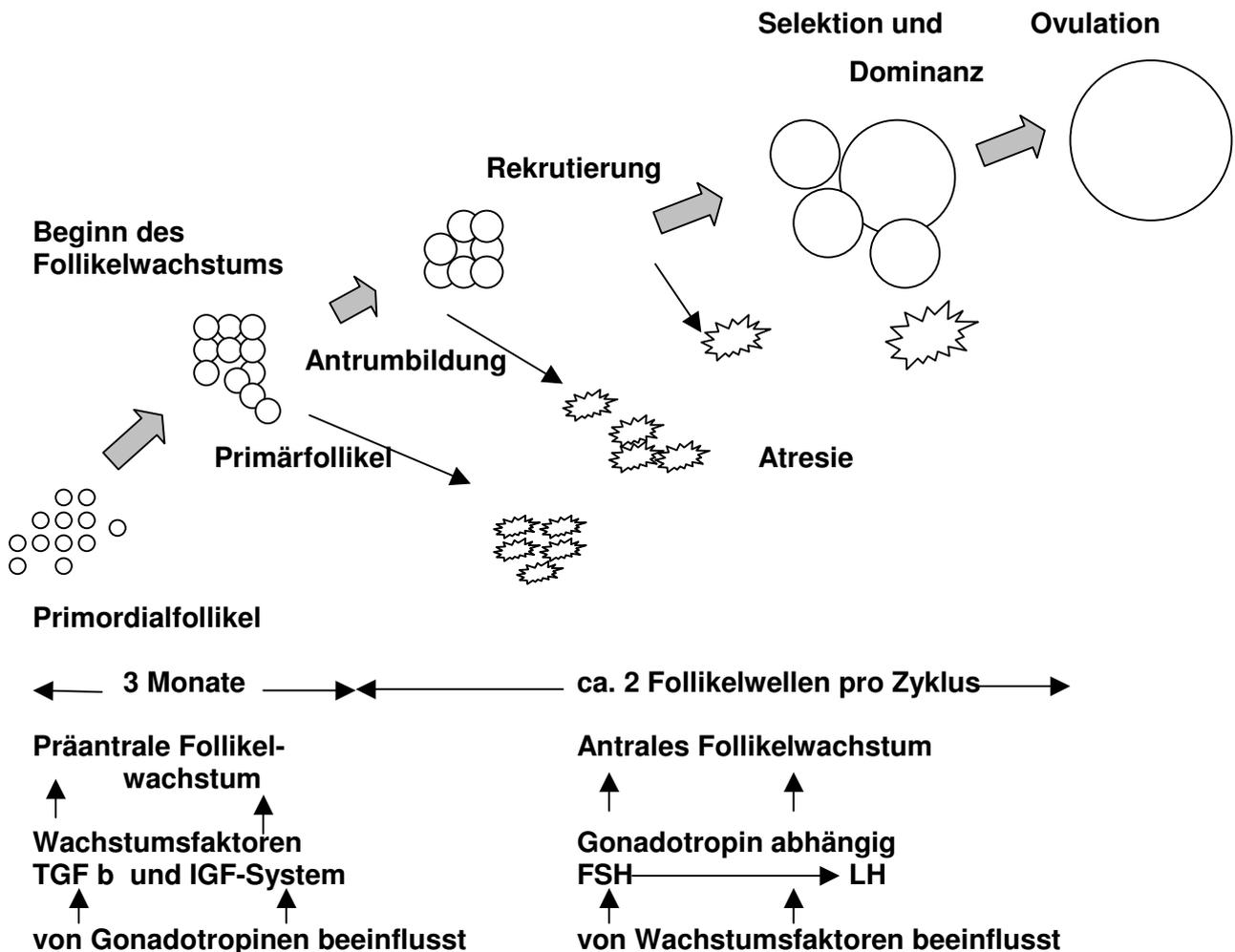


Abbildung 3: Follikelwachstum (Campbell et al. 2000)

Vor allem vor der ersten und zweiten Ovulation post partum wird bei Kühen nur eine Follikelreifungswelle beobachtet, nach der zweiten Ovulation reguliert sich das ovarielle Geschehen und der größte Teil der Tiere hat einen zwei- bzw. dreiwelligen Zyklus (**Sakaguchi et al. 2004**). Zyklen mit drei Follikelreifungswellen sind länger als Zyklen mit zweiwelligem Verlauf, sowohl bei Kühen als auch bei Jungrindern. Somit ist die Dauer der Dominanz der Follikel zweiwelliger Zyklen länger, die Follikel sind oft größer und die enthaltene Eizelle reifer als bei dreiwelligen Zyklen. Über die Häufigkeit des Vorkommens von Zyklen mit zweiwelligem oder dreiwelligem Verlauf sind die Angaben in der Literatur unterschiedlich. In Studien von **Ginther et al. (1989)** und **Townson et al. (2002)** kamen bei Kühen Zyklen mit zweiwelligem Verlauf häufiger vor, die Fruchtbarkeit war aber in Zyklen mit dreiwelligem Verlauf höher. In anderen Studien wiederum kamen dreiwellige Zyklen mit mehr als 80 % der untersuchten Jungrinder häufiger vor (**Sirois und Fortune 1988**). **Wolfenson et al. (2004)** fanden mit 70 bzw. knapp 80 % sowohl bei Jungrindern als auch bei Kühen häufiger Zyklen mit zweiwelligem Verlauf. Zu Beginn einer Follikelreifungswelle wächst eine

Follikelschar von drei bis sechs Follikeln heran (**Sirois und Fortune 1988, Sunderland et al. 1994**), von anderen Autoren werden aber wesentlich mehr Follikel (8 bis 41) zu Beginn der Follikelreifungswelle beobachtet (**Ginther et al. 1989, Adams 1999, Bellmann 2001**). Unterschiedede bezüglich der Anzahl der Follikel in den Literaturangaben resultieren aus variierenden Methoden der Zählung und Klassifizierung der Follikel (**Kanitz et al. 2002**). Insbesondere die Auflösung der sonographischen Bilder und der Einfluss des Untersuchers führen zu unterschiedlichen Ergebnissen. Entgegen der allgemein angenommenen Meinung, dass eine neue Follikelreifungswelle nur mit neu rekrutierten Follikeln startet, die kleiner als 3 mm sind, kamen **Hendriksen et al. (2003)** bei ihren Untersuchungen zu dem Schluss, dass die in den ersten Tagen einer neuen Follikelreifungswelle vorhandenen größeren Follikel hauptsächlich Follikel sind, die aus der vorhergehenden Follikelreifungswelle stammen. Die Rekrutierung einer neuen Follikelreifungswelle erfolgt unter der Kontrolle des FSH. Dem Auftreten einer neuen Follikelreifungswelle geht ein bis zwei Tage vorher ein Anstieg der FSH-Konzentration voraus (**Adams 1999**). Dabei haben Tiere mit zweiwelligem Verlauf zwei FSH-Peaks, Tiere mit dreiwelligem Verlauf drei FSH-Peaks (**Adams et al. 1992a**). Auch die peripheren Inhibin A- und FSH-Konzentrationen beeinflussen die Anzahl der Follikelreifungswellen innerhalb eines Zyklus (**Parker et al. 2003**). Zudem soll die FSH-Konzentration entscheidend sein für das Auftreten der jeweils neuen Follikelreifungswelle (**Ginther et al. 2002**). Zu den späteren Entwicklungsstadien des Follikelwachstums, zumindest ab einer Größe von ca. 2 mm, treten Änderungen in der Expression der jeweils benötigten mRNA für die Gonadotropinrezeptoren, der steroidogenen Enzyme und des IGF-Systems auf. Die Phase der Rekrutierung ist gekennzeichnet durch die Expression der steroiden Enzyme P450scc und P450arom in den Granulosazellen und mit dem weiteren Wachstum der Follikel steigt auch die Expression der mRNA für die Gonadotropinrezeptoren und der steroiden Enzyme (**Bao und Garverick 1998**).

Mit der Selektion wird die Anzahl der wachsenden Follikel einer Reifungswelle auf die Spezies-spezifische Ovulationsanzahl reduziert. Nach ihrer Rekrutierung vermindert sich die Anzahl wachsender Follikel bis zur Ausbildung eines dominanten Follikels. Die anderen Follikel unterliegen der Atresie (**Fortune 1994**). Mit dem Erscheinen der jeweils neuen Follikelreifungswelle kommt es zu einem Abfall der zirkulierenden FSH-Konzentrationen, die auch während der frühen Wachstums- und Plateauphase des zukünftigen dominanten Follikels niedrig bleiben (**Adams 1999**). Dieser Abfall der FSH-Konzentration scheint ein Schlüsselereignis für die Selektion des dominanten Follikels zu sein. Alle Follikel einer Follikelreifungswelle tragen zu dem initialen Abfall des FSH bei (**Gibbons et al. 1997**), doch der größte der Follikel spielt die bedeutendste Rolle, die FSH-Konzentrationen so gering zu halten, dass ein weiteres Wachstum der kleineren Follikel einer Kohorte nicht mehr möglich ist (**Ginther et al. 2001a**). Es wird vermutet, dass der künftige dominante Follikel gegenüber

den anderen Follikeln der Kohorte bereits ab der Phase der Rekrutierung einen Größenvorteil hat und somit Mechanismen entwickelt, die ihm ermöglichen, die immer geringer werdenden FSH-Mengen besser nutzen zu können als die kleineren Follikel. Dazu gehören zum einen die von ihm produzierten Produkte, wie v.a. das E2 und Inhibin und lokal produzierte Wachstumsfaktoren, wie auch Proteine, die seine eigene Sensitivität gegenüber FSH verbessern oder aber das Wachstum subordinater Follikel hemmen (**Ginther et al. 2000**). Es kommt zu einer raschen Größenabweichung zwischen dem künftigen dominanten und dem zweitgrößten Follikel, wenn diese eine Größe von $8,3 \pm 0,2$ und $7,8 \pm 0,2$ mm haben. Diese Selektion der zwei größten Follikel findet ca. $61,0 \pm 3,7$ h nach dem Erscheinen der Follikelreifungswelle statt (**Kulick 1999**). **Ginther et al. (1989)** stellten bereits 32 h bis 16 h vor der Follikelselektion bis mindestens 24 h nach Beginn der Selektion erhöhte LH-Konzentrationen und erniedrigte FSH-Konzentrationen fest. Die Erhöhung der Östradiolsekretion und die erhöhten Konzentrationen von E2 und IGF-I und die verringerten IGFBP-Konzentrationen in der Follikelflüssigkeit am Beginn der Selektion beruhen auf dem Anstieg der LH-Konzentration (**Ginther et al. 2001b**). Bei Jungrindern wurde die Ausbildung von LH-Rezeptoren in den Granulosazellen ca. 8 h vor Beginn der Selektion festgestellt, zudem war die Expression der mRNA für LH-Rezeptoren in den Granulosazellen auf die Follikel beschränkt, die auch mRNA für die steroiden Enzyme P450_{scc} und P450_{arom} exprimierten (**Bao und Garverick 1998**). LH stimuliert die Produktion von E2 und IGF-I im größten Follikel. Diese und andere intrafollikuläre Faktoren tragen dazu bei, dass der größte Follikel weniger sensibel für die verringerten FSH-Konzentrationen ist, als die kleineren Follikel. Letztere können sich unter den geringen FSH-Konzentrationen nicht weiter entwickeln (**Ginther et al. 2001a**). Der künftig dominante Follikel kann unter dem Einfluss des LH sein Wachstum fortsetzen, auch wenn die FSH-Konzentrationen sinken (**Campbell et al. 2000**).

2.2.3 Ovulation

Mit einer Größe von ca. 10 mm, ungefähr einen Tag nach Beginn der Selektion, hat der dominante Follikel die Fähigkeit zur Ovulation erlangt. Allerdings wird vermutet, dass diese Follikel zur Ovulation einen größeren LH-Peak benötigen als größere dominante Follikel. Mit dem Erreichen der Ovulationsfähigkeit wird eine gesteigerte Expression der LH-Rezeptoren in den Granulosazellen der dominanten Follikel in Zusammenhang gebracht, was evtl. auch für das weitere Wachstum der Follikel wichtig sein könnte (**Sartori et al. 2001**). Dominante Follikel werden größer als alle anderen Follikel und ab einer Größe von ungefähr 9 mm sind LH-Pulse essentiell für das weitere Wachstum. Bis zur Ovulation erreichen die Follikel 12 - 20 mm (**Gong et al. 1996, Kanitz et al. 2001**). **Wolfenson et al. (2004)** stellten bei Jungrindern kleinere ovulatorische Follikel als bei laktierenden Kühen fest. ($13,0 \pm 0,3$ mm bzw. $16,5 \pm 0,05$ mm). Demgegenüber fanden **Sartori et al. (2002)** weder bei einem Vergleich der Follikelgrößen zwischen Jungrindern und laktierenden Kühen (15,8 bzw. 16,5 mm) noch zwischen laktierenden und trockenstehenden Kühen (17,9 bzw. 17,2 mm) einen Unterschied bezüglich der mittleren Größe des ovulatorischen Follikels. Das weitere Schicksal des jetzt dominanten Follikels hängt von der Funktion des Corpus luteum und damit vom negativem Einfluss des Progesterons auf die LH-Pulsatilität ab. Bei hohen P4-Konzentrationen unterliegt der dominante Follikel aufgrund der niedrigen LH-Pulsatilität der Atresie (**Ireland et al. 2000**). Nach erfolgter Luteolyse und damit niedrigen P4-Konzentrationen kann der dominante Follikel zur Ovulation kommen. Die Ovulation wird durch den Anstieg der LH-Sekretion ausgelöst (**Kanitz et al. 2001**). Es kommt zum LH-Peak. In der Endphase der präovulatorischen Reifung induziert das Östrogen die Ausbildung von LH-Rezeptoren auf den Granulosazellen. Damit verfügt der präovulatorische Follikel über die Hormonbindungsstellen, die er benötigt, um auf die ovulationsauslösende LH-Ausschüttung aus dem HVL zu reagieren. Nach Bindung an den Granulosa- und Thekazellen kommt es zur Aktivierung einer Reihe von Enzymsystemen, die zur Luteinisierung und Ovulation führen (**Meinecke 2000**). So konnte bereits 14 h nach dem präovulatorischem LH-Anstieg eine Hemmung der Aromatisierung festgestellt werden, und auch der Anstieg der P4-Konzentration wurde bereits vor der Ovulation nachgewiesen (**Dieleman und Blankenstein 1985**). Zudem wird die Expression der mRNA für die Progesteronrezeptoren vor allem in der Granulosazellschicht präovulatorischer Follikel bereits kurz nach dem LH-Peak hochreguliert (**Cassar et al. 2002**). Bereits 25 h nach dem LH-Peak kann ein um mehr als 100-facher Anstieg der Prostaglandinkonzentrationen von PGE₂ und PGF_{2α} in der Follikelflüssigkeit festgestellt werden (**Algire et al. 1992**), der zu

einer Vasodilatation in den folliculären Gefäßen führt, die Permeabilität dieser erhöht und letztlich zur Auflösung des Kollagengerüsts und zur Ruptur der Follikelwand führt (**Murdoch et al. 1986**). In dieser vom LH induzierten biochemischen Kaskade scheint auch das Zusammenspiel von ET-1, PGE₂ und der Cytokine eine Schlüsselrolle einzunehmen (**Acosta et al. 2000**). In Untersuchungen über die zeitlichen Zusammenhänge zwischen Brunst, LH-Peak und Ovulation nach induzierter Luteolyse wurden die Ovulationen durchschnittlich 22 - 25 h nach dem LH-Peak festgestellt. Das Intervall von einer PGF_{2α}-Applikation bis zum LH-Peak variierte je nach Zyklusstand zu Beginn der Luteolyseinduktion von 57 bis 76 h. Dabei zeigten Tiere, die zwischen dem 5. und 8. Zyklustag behandelt wurden, ein kürzeres Intervall als Tiere, die später behandelt wurden. (**Kanitz et al. 1996, Becker et al. 2004**). **Bergfelt et al. (1997)** geben an, dass zwischen dem endogenen LH-Peak und der Ovulation etwa 24 – 36 h vergehen. **Roelofs et al. (2004)** stellten nach einer Brunstsynchronisation mit Norgestomet für 10 Tage und Östradiolvalerat zu Beginn der Behandlung ein Intervall von LH-Peak bis Ovulation von durchschnittlich $25,3 \pm 0,6$ h fest. Die Minimum-Maximum-Werte lagen zwischen 21,5 und 27,5 h. Zu einem ähnlichen Ergebnis gelangten **Saumande und Humblot (2005)**, in deren Arbeit o.g. Intervall durchschnittlich $29,4 \pm 1,5$ h betrug. In Bezug zum Brunstbeginn fanden die Ovulationen im Mittel $30,2 \pm 1,9$ h nach diesem statt (**Kanitz et al. 1996**). In den genannten Arbeiten ist die Variation des Intervalls LH-Peak bis Ovulation relativ gering, währenddessen das Intervall Brunstbeginn - Ovulation mit einer großen Varianz behaftet ist. In 80 % der Fälle konnte diese durch die Variation des Intervalls Brunstbeginn bis LH-Peak erklärt werden. Kürzere Intervalle bzgl. Brunstbeginn bis LH-Peak werden mit einem großen E2 produzierenden präovulatorischem Follikel und einer geringen Anzahl kleinerer, im Wachstum befindlicher Follikel in Zusammenhang gebracht. Die Tatsache, dass das Intervall Brunstbeginn bis LH-Peak der Hauptfaktor für die Variation des Intervalls Brunstbeginn bis Ovulation ist, sollte dazu anregen, Methoden zu suchen, die den LH-Peak synchronisieren und diesen als Anhaltspunkt für eine terminierte Besamung zu nutzen (**Pursley et al. 1995**).

Tab. 1: Zeitliche Zusammenhänge zwischen LH-Peak und Ovulation

Autoren, Jahr	Behandlung	LH-Peak bis Ovulation Means (h)	Brunst bis Ovulation Means (h)
Bernard et al. 1984	endogen	27 Beginn, 17 Ende	
Bergfelt et al. 1997	endogen	24 bis 36	
Kanitz et al. 1996/2004	PGF _{2α} -Luteolyse	21,5 ± 0 bis 23,5 ± 0 Zyklustag abhängig	
Roelofs et al. 2004	Norgestomet und Östradiol	25,3; (Range 21,5-27,5)	30,2 (Range 19-40)
Saumande und Humblot 2005	Crestar und Östradiolvalerat	29,4 ± 1,5	38,5 ± 3,0

2.3 Möglichkeiten der Brunst- und Ovulationssynchronisation

Unzureichende Brunsterkennung ist eine der bedeutsamsten Ursache für den Rückgang von Reproduktionsleistung, insbesondere dem Anstieg der Zwischentragezeit. Mit Verfahren zur Brunst- und Ovulationssynchronisation sowie anschließender terminorientierter Besamung können Rinder im optimalen Zeitraum der Besamung zugeführt werden. Erste Synchronisationsversuche wurden bereits ab 1960 durchgeführt. Dabei wurde P4 verabreicht, wodurch die Ovulation geblockt wurde. Die erreichten Östrusraten waren vergleichbar mit denen nicht synchronisierter Tiere, die Konzeptionsraten waren aber geringer (**Zimbelmann und Smith 1966, Roche und Crowley 1973**). Mit Entdeckung der luteolytischen Wirkung von PGF_{2α} in den 70er Jahren wurden neue Methoden der Brunstsynchronisation entwickelt (**Lauderdale et al. 1974, Roche 1974a, Cooper 1974**). Mit Zunahme der Kenntnisse über die Follikeldynamik beim Rind wurde klar, dass nicht nur die Gelbkörperfunktion, sondern auch das Follikelwachstum in Follikelreifungswellen in Synchronisationsprogrammen beachtet werden muss (**Lucy et al. 2004**). Mit den Verfahren zur Brunst- und Ovulationssynchronisation soll eine geringe Varianz bzgl. des Auftretens von Brunst und Ovulation innerhalb einer Gruppe erreicht werden. Gleichzeitig dürfen sich durch die angewandten Behandlungen aber keine Beeinträchtigungen für den Befruchtungserfolg ergeben. Aus arbeitsorganisatorischen Gründen sollten Verfahren der Brunst- und Ovulationssynchronisation unabhängig vom Zyklusstand anwendbar und möglichst leicht in ihrer Anwendung sein. Bisher konnte noch keines der angewandten Verfahren allen

Ansprüchen gerecht werden, weshalb noch immer nach neuen Möglichkeiten und Verbesserungen gesucht wird.

2.3.1 Das OvSynch-Programm

Ein bekanntes Verfahren zur Brunst- und Ovulationssynchronisation ist das von **Pursley et al. (1995, 1997)** entwickelte OvSynch-Verfahren. Das Programm umfasst drei aufeinander folgende Hormon-Injektionen (Abb. 4).

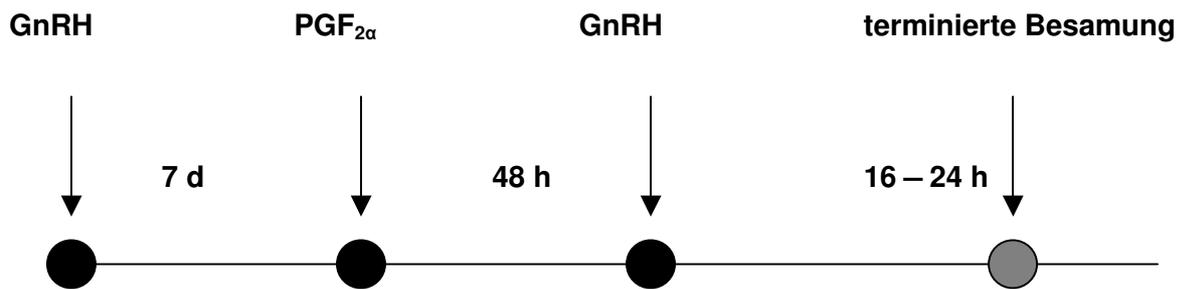


Abbildung 4: Zeitpunkte für die Injektionen und die terminierte Besamung des OvSynch-Verfahrens

Am ersten Behandlungstag erhalten die Tiere eine GnRH-Injektion, sieben Tage später PGF_{2α} und nochmals zwei Tage später eine zweite GnRH-Injektion. Im Abstand von 16 bis 24 h zur zweiten GnRH-Gabe wird ohne Brunstbeobachtung terminorientiert besamt. Die erste GnRH-Gabe wird unabhängig vom Zyklusstand gegeben und löst durch den Anstieg der LH-Konzentration entweder eine Ovulation oder die Luteinisierung des bestehenden dominanten Follikels aus. Durch den Verlust desselben soll eine neue Follikelreifungswelle induziert werden (**Pursley et al. 1995**). Dies setzt voraus, dass zum Zeitpunkt der Behandlung ein dominanter Follikel vorhanden ist. Follikelreifungswellen, die sich noch in der Phase der Rekrutierung oder frühen Phase der Selektion befinden, können nicht synchronisiert werden, da der dominante Follikel entweder noch nicht vorhanden ist oder noch nicht über genügend LH-Rezeptoren verfügt um nach der GnRH-Gabe zu ovulieren (**Lucy et al. 2004**). Kommt es zum Start einer neuen Follikelreifungswelle, ist diese innerhalb von zwei Tagen zu erkennen. Tiere, bei denen keine neue Follikelreifungswelle initiiert wurde, bilden innerhalb von 4 Tagen einen dominanten Follikel an (**Ryan et al. 1998**). Bis zur zweiten GnRH-Injektion sollte so in jedem Fall ein dominanter Follikel vorhanden sein, der auf den induzierten LH-Peak mit einer Ovulation reagieren können sollte (**Diskin et al. 2002**). Die PGF_{2α}-Gabe dient der Luteolyse sämtlicher Gelbkörper oder luteinierter Follikel, die sich nach der ersten GnRH-Gabe gebildet haben (akzessorische Gelbkörper) und/oder Gelbkörpern, die sich bereits früher nach spontaner Ovulation gebildet haben und noch

bestehen (zyklischer Gelbkörper). **Pursley et al. (1995, 1997)** stellten jedoch fest, dass das OvSynch-Verfahren v.a. bei Jungrindern zu einer ungenügenden Synchronisation führte. Daraus resultierten vergleichsweise niedrigere Trächtigkeitsraten als in Kontrollgruppen, in denen Rinder mit PG behandelt und brunstororientiert besamt wurden (35,1 % bzw. 74,4 %). Als problematisch muss auch eingeschätzt werden, dass bei 8 – 25 % der Tiere während der Behandlung oder vor der terminorientierten Besamung fertile Östren auftreten, und dass nach der Anwendung von OvSynch ein erhöhter Anteil der Tiere mit verkürzten Zyklen zu beobachten ist (**Roy und Twagiramungu 1999, Dejeanette et al. 2001, Peters und Pursley 2003, Moreira et al. 2000, Vasconcelos et al. 2001**).

Zum anderen scheint die vergleichsweise geringere Fruchtbarkeit nach Anwendung des OvSynch-Verfahrens auch auf einer ungenügenden Lutealfunktion zu beruhen. Ein vermehrtes Vorkommen embryonaler Mortalität nach der Besamung wurde bei Kühen festgestellt, die auf die Behandlung mit dem OvSynch-Verfahren kleine Follikel ovuliert hatten (**Perry et al. 2002**). Eine Zusammenfassung von Trächtigkeitsraten nach OvSynch zeigt Tabelle 2. Kontrolltiere zum OvSynch-Verfahren wurden meist ein- oder zweimalig mit $\text{PGF}_{2\alpha}$ synchronisiert und brunstororientiert besamt oder erhielten eine GnRH-Injektion und 7 d später $\text{PGF}_{2\alpha}$ mit anschließender brunstororientierter Besamung.

Die Trächtigkeitsraten lagen im Durchschnitt bei 30 – 40 % nach der Anwendung des OvSynch-Verfahrens mit terminorientierter Besamung.

Nachdem die Konzeptionsraten nach der Anwendung des OvSynch-Verfahrens mit terminorientierter Besamung stets niedriger waren als in Kontrollgruppen mit brunstororientierter Besamung, scheinen sich ökonomische Vorteile nur in Betrieben mit mangelhafter Brunsterkennung zu ergeben. Die z.T. unbefriedigenden Ergebnisse nach OvSynch haben zu verschiedenen Modifizierungsversuchen des Verfahrens geführt.

Die Synchronisation der Follikelreifungswellen mit anschließender terminorientierter Besamung resultiert in besseren Trächtigkeitsraten, wenn sich die Kühe zu Beginn der Behandlung zwischen dem 3. und 13. Zyklustag befinden (**Moreira et al. 2000, Vasconcelos et al. 1997**). Deshalb könnte eine Vorsynchronisation (Pre-Synch) mittels $\text{PGF}_{2\alpha}$ und/ oder GnRH mit dem OvSynch-Verfahren kombiniert werden (**Thatcher et al. 2002, LeBlanc und Leslie 2003, Dejeanette und Marshall 2003, Peters und Pursley 2003, El-Zarkouny et al. 2004**). Mit der zweimaligen Applikation von $\text{PGF}_{2\alpha}$ im Abstand von 14 Tagen und dem Beginn des OvSynch-Verfahrens nach weiteren 12 bis 14 Tagen konnten die Konzeptionsraten um ca. 10 % gesteigert werden. Um dem Auftreten fertiler Östren während der Behandlung und der unvollständigen Luteolyse vorzubeugen, inkorporierten **Cavestany et al. (2003), Kim et al. (2003)** und **Stevenson et al. (2004)** eine Gestagenbehandlung über 7 Tage in das OvSynch-Protokoll. Andere Modifikationen waren die Substitution der zweiten GnRH-Injektion durch E2 (**Stevenson et al. 2004**), der Ersatz

der ersten und zweiten GnRH-Applikation durch porcines LH oder die Verkürzung des zeitlichen Abstandes zwischen der ersten GnRH-Injektion und der PGF_{2α}-Gabe um 24 h (**Martinez et al. 2002**).

Die Trächtigkeitsergebnisse nach Anwendung verschiedener Modifizierungen sind sehr unterschiedlich. Offensichtlich ist aber, dass diese Modifizierungsversuche in unterschiedlichem Maße mit einer Aufwandserhöhung einhergehen (**Kanitz und Becker 2005**).

Macmillan et al. (2003) stellen die hohen Aufwendungen für die relativ geringe Effektivität der Synchronisationsprogramme in Frage.

Tab. 2: Trächtigkeitsraten nach OvSynch

Autoren	Konzeptionsraten			
	OvSynch		Kontrolle	
	Kühe	Jungrinder	Kühe	Jungrinder
Burke et al. 1996	26,5 % (TOB)		41,5 % (BOB)	
Pursley et al. 1997	37,8 %	35,1 %	38,9 %	74,4 %
Stevenson et al. 1996	35,3 %		47,1 %	
Nebel u. Jobst 1998 60–75 Tage post partum > 75 Tage p.p.	26,0 % 43,3 %			
Heuwieser et al. 1999		46,5 %		55,3 %
Stevenson et al. 1999	35,6 %		41,1 %	
Klindworth et al. 2001	39,8 %		54,4 %	
Cordoba u. Fricke 2002	27,3 % (TOB)		47,3 % (BOB)	
Gumen et al. 2003	32 %		35 %	
Tenhagen et al. 2003 (nach Milchleistung)	28,2 % (hoch) 34,0 % (mittel) 34,5 % (niedrig)			
Tenhagen et al. 2003 53-59 Tage p.p. 73-81 Tage p.p. 94-102 Tage p.p.	14,4 % 28,7 % 41,4 %			

TOB: Terminorientierte Besamung; BOB: Besamung nach Brunstfeststellung

2.3.2 Brunstsynchronisation mit PGF_{2α} und Ovulationssynchronisation mit GnRH nach Kanitz/Becker

Mit Entdeckung der luteolytischen Wirkung des PGF_{2α} bei Rindern und der Entwicklung zahlreicher synthetischer Analoga in den 70ern stand ein neues Mittel zur Synchronisation von Östren zur Verfügung (**Lauderdale et al. 1974, Roche 1974a, Cooper 1974**). Die Injektion von PGF_{2α} nach dem 5. bis 7. Zyklustag führt in der Regel zur Luteolyse des Gelbkörpers (**Lucy et al. 2004**), die P4-Konzentrationen fallen innerhalb von 24 h auf Basalwerte, die LH-Pulsfrequenz steigt an und somit auch die E2-Konzentrationen im dominanten Follikel. Die Brunst und Ovulation werden ausgelöst.

Das Zyklusstadium zum Zeitpunkt der Behandlung beeinflusst zum einen die Östrusrate, zum anderen das Intervall von einer Behandlung bis zum Brunsteintritt. **King et al. (1982)** beobachteten bei Tieren, die am 10. bis 15. Tag behandelt wurden, eine höhere Östrusrate als bei Tieren, die zwischen dem 5. bis 9. Tag behandelt wurden. Erstere hatten ein längeres Intervall bis zum Brunsteintritt. Ähnliche Ergebnisse wurden bei Milchkühen (**Macmillan und Henderson 1984**) und Jungrindern festgestellt (**Stevenson et al. 1984**). Die Variabilität des Intervalls Behandlung bis zum Brunsteintritt (2 bis 5 Tage) wird vom Zyklustag, an dem die Injektion erfolgt, beeinflusst und vom funktionellen Zustand des größten Follikels (**King et al. 1982, Lucy et al. 2004**). Das kürzeste Intervall von der PGF_{2α}-Applikation bis zum Brunsteintritt sowie die geringste Varianz für den Parameter sind dann zu beobachten, wenn die Applikation zwischen den Zyklustagen 7 - 9 bzw. 14 - 16 erfolgt. Wird PGF_{2α} zwischen den Tagen 10 - 12 appliziert, können 3 - 7 Tage bis zum Brunsteintritt vergehen. Tiere, die einen dominanten Follikel aufweisen, kommen innerhalb von 2 bis 3 Tagen in Brunst. Tiere mit Follikeln, die noch in früheren Entwicklungsstufen sind, benötigen zunächst 2 bis 4 Tage um einen dominanten Follikel heranzubilden und haben somit ein längeres und variables Intervall bis zum Östrus. Bei der Anwendung von PGF_{2α} nach dem 16. Zyklustag sind keine den Zyklus verkürzenden Effekte mehr zu beobachten. Darüber hinaus ist die Variabilität des Intervalls von der Anwendung des PGF_{2α} bis zum Brunsteintritt bei Kühen größer als bei Jungrindern (**Macmillan und Day 1982**).

Um die Phase des Refraktärstadiums zu umgehen und um bessere Synchronisationseffekte zu erreichen, wurden Doppelinjektionen mit PGF_{2α} im Abstand von 11 - 12 Tagen durchgeführt. Danach sollten ca. 70 % der Tiere auf die erste Injektion mit Brunstanzeichen reagieren. Diese Tiere und die restlichen Tiere mit zyklischer Aktivität sollten sich dann bei der zweiten Injektion ebenfalls in einem Zyklusstadium befinden, in dem sie auf eine PGF_{2α}-Injektion mit Brunsterscheinungen reagieren (**Odde 1990**). Die Trächtigkeitsergebnisse nach einmaliger PGF_{2α}-Injektion und brunstorientierter Besamung

waren im Vergleich zu Kontrolltieren ohne Synchronisation um ca. 9 % höher (**Macmillan und Day 1982**). Bei zweimaliger $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Gabe im Abstand von 13 Tagen wurden allerdings niedrigere Konzeptionsergebnisse festgestellt als bei nicht behandelten Kontrolltieren (61,1 % bzw. 70,5 %). Tiere, die nach der ersten $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Injektion erst spät in Brunst kommen, haben bis zur zweiten $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Injektion relativ niedrige P4-Konzentrationen. Durch Anwendung von P4 intravaginal vor der zweiten $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Injektion konnten die negativen Effekte auf die Trächtigkeitsrate beseitigt werden (**Xu et al. 1997**). Dies führte zur Besamung brünstiger Rinder nach der ersten oder nach der zweiten $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Injektion und zur Erhöhung des Abstands zwischen den Injektionen auf 14 Tage. Durch Vorsynchronisation der Follikelreifungswelle mit GnRH oder Östrogenen (**Diskin et al. 2002, Thatcher et al. 2002, Macmillan et al. 2003**) oder eine zusätzliche Anwendung dieser Hormone nach der letzten $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Injektion sollen bessere Synchronisationsergebnisse erreicht werden (**Martinez et al. 2004**). Trotz der verschiedenen Modifizierungen, die zum Teil mit hohen Behandlungskosten verbunden sind, wird eine terminorientierte Besamung aufgrund des variablen Brunsteintritts sowohl nach einmaliger und zweimaliger Anwendung von $\text{PGF}_{2\alpha}$ nicht empfohlen (**Kanitz und Becker 2005**). Mit Brunstbeobachtung und/oder Feststellung eines Gelbkörpers können unter Verringerung des Arzneimitteleinsatzes auch nach einmaliger $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Gabe gute Trächtigkeitsergebnisse erreicht werden.

Will man eine terminorientierte Besamung an eine Brunstsynchronisation nach Verkürzung der Lutealphase mit $\text{PGF}_{2\alpha}$ anschließen, sollte die Besamung nicht am Ereignis „Brunstbeginn“, sondern am Ovulationszeitraum ausgerichtet sein. Der Brunstbeginn ist im Hinblick auf eine terminorientierte Besamung kein geeignetes Kriterium, da die Feststellung desselben nicht exakt möglich ist. Darüber hinaus ist das Intervall vom Brunstbeginn bis zur Ovulation tierindividuell sehr verschieden. **Kanitz et al. (1996)** und **Becker et al. (2004)** führten deshalb Untersuchungen zum Ovulationsverhalten nach $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Gabe im Hinblick auf eine terminorientierte Besamung durch. Für eine erfolgreiche terminorientierte Besamung muss der Mittelwert für das Ereignis „Ovulation“ bekannt sein und die Varianz für diesen Parameter möglichst gering. Der Ovulationszeitraum kann entweder direkt mittels Ultraschall oder indirekt über die Bestimmung des LH-Peaks ermittelt werden.

Tiere, die am 5. oder 8. Zyklustag behandelt wurden, reagierten schneller und synchroner auf die Verabreichung von $\text{PGF}_{2\alpha}$ mit Brunstanzeichen als die am 11. und 14. Tag behandelten Tiere. Da aber bei den an Zyklustag 5 behandelten Tieren nur 40 % mit einer vollständigen Luteolyse und einem LH-Peak reagierten, ist dieses Zyklusstadium für eine Zyklussynchronisation mit $\text{PGF}_{2\alpha}$ ungeeignet. Der Anteil Tiere mit festgestelltem LH-Peak stieg mit steigendem Zyklustag, an dem die Luteolyse induziert wurde, an. Doch auch innerhalb dieser Tiergruppen ist das Auftreten des LH-Peaks und damit der nachfolgenden Ovulation nach alleiniger $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Gabe noch zu variabel, als dass es Grundlage für eine

terminorientierte Besamung sein könnte. Durch eine GnRH-Applikation 65 h nach Luteolyseinduktion wurde versucht, das Auftreten des LH-Peaks zu synchronisieren. Zur Festlegung des Zeitpunktes der GnRH-Applikation wurden die physiologischen Abläufe nach alleiniger PGF_{2α}-Gabe berücksichtigt. Bei 75 % der Tiere wurde der Peak innerhalb von 2 h nach einer GnRH-Applikation festgestellt. Bei Tieren, die bereits vor der GnRH-Applikation einen endogenen LH-Peak zeigten, lag dieser 2 h bis 6 h vor der GnRH-Behandlung. Erwartungsgemäß war der Anteil Tiere mit endogenem Peak bei den an Tag 8 behandelten Tieren am höchsten, jedoch noch immer in zeitlicher Nähe zum induzierten LH-Peak (58,0 h ± 6,8 h nach PG). Das Intervall zwischen dem Auftreten des LH-Peak bis zur Ovulation war relativ uniform (21 h bis 23 h) und unabhängig vom Tag, an dem die Luteolyse induziert wurde (**Becker 2004**).

Basierend auf diesen Ergebnissen wurden Besamungsversuche an Jungrindern (JR) und Kühen durchgeführt. Für die terminorientierte Besamung erhielten die Tiere 65 h nach der Luteolyseinduktion eine GnRH-Applikation. Die Besamung erfolgte 13 h nach GnRH-Applikation. Die Tiere wurden nach intensiver Brunstbeobachtung zwischen Zyklustag (ZT) 8 und 14 behandelt. Tiere der Kontrollgruppe wurden entweder nach Brunstsynchronisation mit PGF_{2α} (JR) oder spontaner Brunst (Kühe) besamt.

Dabei konnten nach terminorientierter Besamung sowohl bei Jungrindern als auch Kühen stets höhere Trächtigkeitsraten als nach brunstorientierter Besamung erzielt werden (JR 79,0 % bzw. 69,8 %, Kühe 42,7 % bzw. 30,3 %).

Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass mit dem unter Beachtung physiologischer Abläufe entwickeltem Verfahren unabhängig vom Beginn und der Ausprägung äußerer Brunstanzeichen hohe Trächtigkeitsraten realisierbar sind. Nachteilig ist allerdings, dass das Zyklusstadium zu Beginn der Behandlung bekannt sein muss und nicht alle Tiere einer Gruppe gleichzeitig behandelt werden können. Aufgrund der Beachtung reproduktionsphysiologischer Zeitabläufe bestehen noch arbeitsorganisatorische Nachteile, da entweder Behandlungs- oder Besamungszeiten außerhalb des normalen Arbeitsablaufs liegen. Durch Verkürzung des Intervalls von der PGF_{2α}-Gabe bis zur GnRH-Applikation auf 50 h kann die organisatorische Einordnung des Verfahrens in den täglichen Arbeitsablauf verbessert werden.

2.3.3 Progesteron

Synchronisationsregime, die auf der Gabe von P4 oder anderer gestagen wirkender Substanzen beruhen, haben den Vorteil, dass sie unabhängig vom Zyklusstadium eingesetzt werden können. Durch die Zufuhr von P4 oder synthetischen Gestagenen können die hormonellen Verhältnisse während der Lutealphase nachgeahmt werden. Dabei wird die Sekretion der Gonadotropine FSH und LH gehemmt und somit die Brunst und Ovulation erfolgreich unterdrückt. Die wellenförmige Follikelanbildung soll aber fortgesetzt werden. Nach Absetzen der Behandlung kommt es über den sogenannten Rebound-Effekt zum Anstieg der LH-Sekretion und letztendlich zur Brunst und zur Ovulation eines während der Behandlung herangewachsenen Follikels. Bei zyklischen Tieren kann so die Brunst synchronisiert werden und auch bei anöstrischen Tieren oder bei Tieren mit Ovarialzysten kann ein Wiedereinsetzen des Zyklus induziert werden.

Prinzipiell können die Gestagene durch tägliche Injektion über mehrere Tage, durch subkutane Implantate, bei den synthetischen Gestagenen oral, oder über Vaginalspiralen appliziert werden. In Deutschland sind derzeit die CIDR[®]-Spange (Fa. Pfizer) und die Vaginalspirale PRID[®] (Fa. CEVA), sowie das über die Fütterung zu verabreichende CAP (Chlormadinone acetate, anifertil[®], Fa. Animedica) zugelassen.

Die in Kanada und den USA angewandte CIDR-Spange (controlled internal drug release) ist eine T-geformte Nylonspange, welche mit einem Gemisch aus P4 und Silikon überzogen ist. CIDR enthält 1,9 g (Kanada) bzw. 1,38 g (USA) Progesteron. Die in Deutschland seit 2008 erhältliche Spange CIDR enthält ebenfalls 1,38 g Progesteron. Die in Europa zugelassene PRID-Spirale (Progesterone releasing intravaginal device) besteht aus einer Stahllamelle, die mit einem Silikon-Elastomer überzogen ist, welches 1,55 g Progesteron enthält. Am Ende der Spirale war eine Gelatine kapsel befestigt, die 10 mg Östradiolbenzoat enthielt, am anderen Ende eine Nylonschnur zum leichteren Entfernen des Implantats. In beiden Fällen wird das im Silikonmantel enthaltene P4 über die Verweildauer der Spiralen in der Vagina freigegeben. Dabei konnten bei ovariectomierten Rindern keine Unterschiede in den Plasmakonzentrationen von P4 zwischen PRID und CIDR festgestellt werden (**Uehlinger et al. 1995**). Das in der Gelatine kapsel enthaltene Östradiolbenzoat wurde nach Einsetzen der Spirale freigegeben und führte so zu einem Anstieg der E2-Konzentration im Plasma von Maximum 6-7 ng/ml Plasma innerhalb von 150 Minuten (**Uehlinger et al. 1995**). Nach dem Zulassungsverbot von E2 bei lebensmittelliefernden Tieren 2006 ist in Deutschland die Spirale als PRID[®] ohne Gelatine kapsel auf dem Markt. Bei Verwendung wird die Kombination mit einer Prostaglandin-Injektion empfohlen.

Wurden die gestagenen Wirkstoffe zunächst über eine Dauer von 14 bis 21 Tagen verabreicht, werden heute nur noch Behandlungsschemata von 7 - 9 Tagen Dauer in

Kombination mit einer luteolytischen Komponente empfohlen. Hintergrund für diese Entwicklung war, dass durch die vergleichsweise langen Progesteronbehandlungen zwar sehr gute Synchronisationseffekte, gleichzeitig aber niedrige Trächtigkeitsraten erreicht wurden (**Wiltbank et al. 1965; Roche 1974b**). So lagen die Trächtigkeitsraten nach Behandlungen mit P4 über 14 Tage oder länger um ca. 10 – 15 % unter denen von Rindern, die nur über 7 Tage in Kombination mit PGF_{2α} behandelt wurden. Von den Tieren, die 21 Tage behandelt wurden, waren innerhalb von 48 h 96 % in Brunst, während es bei den Tieren, die nur 7 Tage behandelt wurden, nur 52,6 % waren. In allen Gruppen waren aber nahezu alle Tiere innerhalb von 96 h in Brunst und konnten besamt werden (**Macmillan und Peterson 1993**).

Tab. 3: Östrusraten (ÖR) und Trächtigkeitsraten (TR) nach Progesteronbehandlung

Referenz	Behandlung	ÖR	TR
Deletang et al. 2004 (K)	PRID+EB für 10 Tage, PG bei Entnahme (n=94) PRID ohne EB für 10 Tage, PG bei Entnahme (n=89)		60,6 % 64,0 %
Deletang et al. 2004 (JR)	PRID+EB für 10 Tage, PG bei Entnahme (n=265) PRID ohne EB, für 10 Tage, PG bei Entnahme (n=267)		61,1 % 56,9 %
Peeler et al. 2004 (JR)	CIDR+ECP für 7 Tage, PG bei Entnahme und EB an Tag 8 (n=54) CIDR+ECP für 7 Tage, PG bei Entnahme und GnRH an Tag 9 (n=56) (TOB nach 48, 56 oder 72 h) CIDR+ECP für 7 Tage, PG bei Entnahme und EB an Tag 8 (n=54) CIDR+ECP für 7 Tage, PG bei Entnahme und GnRH an Tag 9 (n=56) (TOB nach 56 h)		63,0 % 57,1 % 81,8 % 60,0 %
Lucy 2001 (K; n=851)	CIDR für 7 Tage, PG an Tag 6 und 7 Kontrolltiere: PG	59 % 33 %	58 % 55 %
Lucy 2001 (JR; n=260)	CIDR für 7 Tage, PG an Tag 6 und 7 Kontrolltiere: PG	84 % 57 %	45 % 37 %
Martinez et al. 2000 (JR)	CIDR für 9 Tage, PG bei Entnahme und 12 h später CIDR + 5mg E17 β +100mg P für 8 Tage, PG bei Entnahme und 12 h später	94 % 87 %	78 % 80 %
Ryan et al. 1999 (K)	CIDR+GnRH für 8 Tage, PG an Tag 7 (n=335) CIDR+GnRH für 8 Tage, PG an Tag 7 und EB 12 h später (n=330) CIDR+EB für 8 Tage, PG an Tag 7 (n=347) CIDR+GnRH+EB+PG für 8 Tage, PG an Tag 7 (n=335) CIDR+EB für 12 Tage (n=332) CIDR+EB für 12 Tage, PG an Tag 11 (n=330)	87,5 % 95,7 % 86,7 % 90,1 % 74,4 % 76,4 %	56,0 % 60,4 % 49,8 % 59,3 % 53,8 % 46,0 %
Macmillan und Peterson 1993 (JR; n=745)	CIDR für 7 Tage, PG bei Entnahme CIDR für 14 Tage CIDR für 21 Tage	52,6 % 74,5 % 96,0 %	57,7 % 44,4 % 39,7 % ₍₁₎
Lourens 1988 (JR)	PRID+EB für 12 Tage	90 %	77,8 %
Smith et al. 1984 (JR; n=242)	PRID für 6 Tage, PG bei Entnahme PRID für 7 Tage, PG an Tag 6 PRID für 7 Tage, PG an Tag 6 (TOB 84 h nach PG)	99 % 99 % 94 %	72 % 82 % 66 %

(1) Abkalberaten

E17 β : Östradiol 17 β , EB: Östradiolbenzoat, ECP: Östradiolcypionat, EV:Östradiolvalerat, PG: Prostaglandin, P: Progesteron
(K) Kühe, (JR) Jungrinder

Mit neueren Erkenntnissen über die Follikeldynamik mittels Ultraschalldiagnostik konnte gezeigt werden, dass es, insbesondere beim Fehlen eines Gelbkörpers während der gesamten Progesteronbehandlung oder aber auch nur zeitweise, zur Ausbildung von persistierenden Follikeln kommen kann (**Kinder et al. 1996**). Bei der Behandlung mit Progesteron-freisetzenden Vaginalspiralen beträgt die Plasmaprogesteronkonzentration nur etwa ein Drittel der physiologischen Progesteronwerte in der Gelbkörperphase (**Stock und Fortune 1993, Aurich et al. 1995, Uehlinger et al. 1995**), gleichzeitig sind die Frequenz der LH-Pulsatilität und die E2-Konzentration jedoch erhöht. Der dominante Follikel bleibt bestehen, er wird länger mit Gonadotropinen versorgt als ein dominanter Follikel bei unbehandelten Tieren, der dann atresieren oder ovulieren würde (**Bridges und Fortune 2003**). Einer der ersten Versuche, das Auftreten persistierender Follikel während einer P4-Behandlung zu vermeiden, bestand darin, die P4-Konzentration zu erhöhen, um die Frequenz der LH-Pulse niedrig zu halten. Nach Einsetzen von zwei statt einer PRID-Spirale konnte gezeigt werden, dass die Plasmaprogesteronkonzentrationen signifikant erhöht waren. Es erfolgte eine wellenförmige Follikelanbildung, die sich nicht von der bei zyklischen Tieren unterschied und es wurden bessere Trächtigkeitsergebnisse als bei Behandlung mit nur einer Vaginalspirale erreicht (**Roberson et al. 1989, Savio et al. 1993, Stock und Fortune 1993**).

Bei Anwendung der verschiedenen Implantate, Vaginalspangen oder oraler Gestagene wurde eine Minimaldosis gewählt, die das Auftreten von Brunst und Ovulation erfolgreich unterdrückt. Diese Dosis war aber zu niedrig, um eine Erhöhung der LH-Pulse zu verhindern, v.a. dann, wenn die Progesteronbehandlung über die Lebensspanne des bestehenden Gelbkörpers hinweg andauerte und nur noch das exogen zugeführte P4 vorhanden war. Mit Verkürzung der Behandlungsdauer auf sieben oder neun Tage konnten bessere Trächtigkeitsergebnisse erreicht werden, u.a. weil ein geringerer Anteil Tiere während der Behandlungsphase der endogenen Luteolyse unterlag und somit seltener persistierende Follikel ausbildete. Die Ergebnisse waren jedoch schlechter, wenn die Behandlung am Ende des Zyklus in der späten Lutealphase begonnen wurde (**Ahmad et al. 1995; Revah und Butler 1996; Mihm et al. 1999**). Dies bestätigt die These, dass es mit Verlust des Gelbkörpers als endogener Progesteronquelle häufiger zur Ausbildung eines persistierenden Follikels kommt, der mit einer schlechteren Fruchtbarkeit verbunden ist (**Beal 1996**).

Nachdem die Follikelentwicklung unter Progesteronbehandlung in Abhängigkeit von der Behandlungsdauer und dem Beginn der Behandlung variierte, schien es naheliegend, die Follikelentwicklung direkt zu steuern. Um die Entwicklung persistierender Follikel unter Progesteronbehandlung zu vermeiden, auch wenn sich während der Behandlung der Gelbkörper zurückbildet, muss zu Beginn der Behandlung eine neue Follikelreifungswelle initiiert werden. Mit Synchronisation der Follikelreifungswellen zu Beginn der Behandlung

wurde sichergestellt, dass am Ende der Behandlung ein wachsender, dominanter Follikel mit vitaler Eizelle vorhanden ist.

Die Verkürzung der Behandlungsdauer und die Synchronisation der Follikelreifungswellen zu Beginn der Behandlung mit P4 führten zu einer guten Synchronisation und guten Fruchtbarkeitsergebnissen (**Martinez et al. 2000**). Die Steuerung der Follikelreifungswellen verbessert die Brunstsynchronisation, da am Ende der Behandlung der Entwicklungsstatus des dominanten Follikels innerhalb einer Gruppe einheitlicher ist (**Diskin et al. 2002, Macmillan et al. 2003**). Die wohl einfachste Möglichkeit, die Entwicklung eines dominanten Follikels zu steuern, ist die Anwendung von GnRH, dessen Wirkmechanismus bereits beim OvSynch-Verfahren beschrieben wurde. Ist ein auf GnRH sensibler Follikel vorhanden, kommt es nach ca. zwei Tagen zum Auftreten einer neuen Follikelreifungswelle. Tiere, bei denen keine neue Follikelreifungswelle initiiert wurde, bringen innerhalb von 4 Tagen einen dominanten Follikel hervor (**Ryan et al. 1998**).

Eine andere Möglichkeit besteht in der Anwendung von E2 oder eines seiner Derivate. E2 kann den dominanten Follikel und die Ovarfunktion auf verschiedenen Ebenen beeinflussen. Liegen hohe P4-Konzentrationen vor, hemmt das E2 die LH-Sekretion, induziert die Atresie des dominanten Follikels und initiiert eine neue Follikelreifungswelle. Mit direkter Wirkung auf den Follikel kann E2 ebenfalls eine Atresie bewirken und hemmt gleichzeitig die FSH-Synthese und -Sekretion. (**Diskin et al. 2002**). **Bo et al. (1995)** konnten zeigen, dass die Östradiolbehandlung das antrale Follikelwachstum hemmt, insbesondere in Kombination mit Progesteron. Die Mechanismen, die für diese Wachstumshemmung verantwortlich sind, scheinen eine systemische Beeinflussung des FSH mit einzuschließen. Ein FSH-Anstieg kann so zu definierten Zeiten erfolgen und eine neue Follikelreifungswelle induziert werden (**Bo et al. 1995, 2000**). Liegen niedrige P4-Konzentrationen vor, kommt es zur E2 vermittelten GnRH-Freisetzung, damit zu einem LH-Anstieg und so zur Ovulation oder Luteinisierung des dominanten Follikels. In diesem Fall wirkt das E2 indirekt über das GnRH. Bei Verwendung des Östradiol-17 β tritt eine neue Follikelreifungswelle innerhalb von drei bis fünf Tagen auf (**Bo et al. 1995**). Auch bei Verwendung des Östradiolbenzoats in Kombination mit einer Vaginalspirale tritt die neue Follikelreifungswelle im Durchschnitt nach vier Tagen auf (**Caccia und Bo 1998**). Östradiolvalerat (**Mapletoft et al. 1999**) und Östradiolcypionat (**Colazo et al. 2002**) resultieren in längeren und variableren Intervallen bis zum Auftreten der neuen Follikelreifungswelle, als es beim Östradiol-17 β der Fall ist. Die Unterschiede im Intervall vom Auftreten der neuen Follikelreifungswelle bis zum Entfernen des Progesterons führen zu unterschiedlich großen Follikeln am Ende einer Behandlung. Unter Beachtung der Kenntnisse über die Follikelentwicklung bei zyklischen Tieren hängt der Brunsteintritt vom funktionellen Zustand des dominanten Follikels bei der Luteolyse ab (**Sirois und Fortune 1988, Savio et al. 1988, 1993**). Demnach kann die Brunstsynchronität

nach Progesteronbehandlung zum einen von einer vollständigen Luteolyse, zum anderen von der synchronen Follikelentwicklung während der Behandlung beeinflusst werden. Neben den möglichen Einflussfaktoren Zyklustag zu Beginn der Behandlung und Behandlungsdauer auf die Brunst- und Ovulationssynchronität nach Progesteronbehandlung, wird diese zusätzlich durch die Kombination mit weiteren Hormonen zu Beginn (GnRH/Östradiol) oder am Ende der Behandlung (PGF_{2α}, EB, GnRH, eCG) beeinflusst. Ergebnisse bzgl. des Östrus- und Ovulationsverhaltens nach Progesteronbehandlung sind in Tabelle 4 und 5 zusammengestellt. Im Hinblick auf eine terminierte Besamung besteht eine große Variabilität bis zum Eintreten der Ovulation nach Brunstsynchronisation. Bei einer zusätzlichen Ovulationsinduktion wird dieses Intervall vom Medikament und Zeitpunkt der Anwendung beeinflusst.

Tab. 4: Gestagenbehandlung und Eintreten von Östrus und Ovulation

Referenz	Behandlung	Östrus (h nach Entn.)	Ovulation (h nach Entn.)
Hittinger et al. 2004	CIDR+100 μ g GnRH für 7 Tage PG bei Entfernen	49,3 \pm 6,2h	77,5 \pm 9,0h
	CIDR+100 μ g GnRH für 8 Tage PG bei Entfernen	49,3 \pm 6,2h	77,5 \pm 9,0h
	CIDR+100 μ g GnRH für 8 Tage PG an Tag 7	49,3 \pm 6,2h	77,5 \pm 9,0h
	Behandlungsbeginn Metöstrus	um 33,4h später	um 38,5h später
Utt et al. 2003	CIDR für 7 Tage	56,4h	
	CIDR für 9 Tage	48,8h	
	CIDR+GnRH für 7 bzw. 9 Tage	49,8h	
	CIDR+E17 β +P für 7 bzw. 9Tage	55,3h	
Colazo et al. 2003	CIDR+E17 β für 7Tage, PG bei Entnahme		98,4 \pm 5,6
Garcia und Salaheddine 2001	Crestar +norgestomate+EV für 9 Tage	55,2 \pm 12,3h	84,0 \pm 16,5h
	Crestar + E17 β für 9 Tage	45,6 \pm 2,4h	77,6 \pm 4,1h
	Crestar für 9 Tage, E17 β an Tag 2 und PG bei Entnahme	48,4 \pm 6,8h	73,6 \pm 4,1h
	CIDR für 9 Tage, E17 β an Tag 2 und PG bei Entnahme	39,6 \pm 5,2h	64,0 \pm 4,4h
Martinez et al. 2000	CIDR für 9 Tage, PG zweimalig im 12- h Abstand nach Entnahme	2,3d \pm 0,2d (56h)	3,5d \pm 0,2d (84h)
	CIDR+5mgE17 β +100mg P für 8 Tage PG zweimalig im 12- h Abstand nach Entnahme	2,2d \pm 0,2d (52,8h)	2,5d \pm 0,1d (60h)
Lemaster et al. 1999	PRID für 7 Tage, PG bei Entnahme	59,2h	93,5h
Ryan et al. 1999	CIDR+GnRH für 8 Tage, PG an Tag 7	56,9 \pm 1,5h	
	CIDR+GnRH für 8 Tage, PG an Tag 7 und EB12 h nach Entnahme	33,7 \pm 0,6h	
	CIDR+EB für 8 Tage, PG an Tag 7	54,2 \pm 1,7h	
	CIDR+GnRH+EB+PG für 8 Tage PG an Tag 7	51,4 \pm 1,5h	
	CIDR+EB für 12 Tage CIDR+EB für 12 Tage, PG an Tag 11	63,4 \pm 2,4h 58,4 \pm 2,1h	
Smith und Stevenson 1995	PRID für 7 Tage, PG an Tag 6	54,5 \pm 3,8h	
	Norgestomate für 7 Tage, PG an Tag 6 Beginn jeweils an Tag 4-5 des Zyklus	52,1 \pm 3,1h	
Smith et al.1984	PRID für 6 Tage, PG bei Entnahme	66 \pm 2h	
	PRID für 7 Tage, PG an Tag 6	51 \pm 2h	
	PRID für 7 Tage, PG an Tag 6 (exp.2)	49 \pm 1h	

Tab. 5: Gestagenbehandlung und Eintreten von Östrus und Ovulation mit Ovulationsinduktion am Ende der Behandlung

Referenz	Behandlung	Östrus (h nach Entn.)	Ovulation (h nach Entn.)
Martinez et al. 2005	CIDR+100mg P+E17 β /EB für 7 Tage PG bei Entnahme und E17 β /EB an Tag 8		76,6h nach Entfernen, R= 72-120h
Peeler et al. 2004	CIDR+ECP für 7 Tage, PG bei Entnahme ECP an Tag 8		63,8 \pm 3,0h Intervall ECP bis Ovulation: 39,8h
	CIDR+ECP+ für 7 Tage, PG bei Entnahme GnRH an Tag 9		71,6 \pm 2,3h Intervall GnRH bis Ovulation: 23,6h
Colazo et al. 2003	CIDR+ECP für 8 Tage, PG+ECP bei Entnahme		88,3 \pm 3,8h
	CIDR+ECP für 9 Tage, PG+ECP bei Entnahme		76,4 \pm 4,1h
	CIDR+P+ECP für 8 Tage, PG bei Entnahme ECP 24 h später		76,4 \pm 4,1h
	CIDR+E17 β für 7 Tage,PG+E17 β bei Entnahme		81,6 \pm 5,0h
Martinez et al. 2002	CIDR+GnRH/LH/EB u P für 7 Tage und PG bei Entnahme, GnRH/LH/EB u P 48 h später	47,8h	
Martinez, et al. 2000	CIDR+EB für 7 Tage und EB/E17 β 24 h nach Entnahme	44,2h	
Kastelic et al. 1999	Norgestomate+EV für 9 Tage, eCG bei Entnahme	48,0+/-4,4h	70,4 \pm 4,4h
Lemaster et al. 1999	PRID für 7 Tage, PG bei Entnahme, EB 24 h später	45,5h	74,5h
	PRID für 7 Tage, PG bei Entnahme, EB 48 h später	55,9h	78,9h

E17 β : Östradiol 17 β , EB: Östradiolbenzoat, ECP: Östradiolcypionat, EV:Östradiolvalerat,
eCG: equine Chorion Gonadotropin, PG: Prostaglandin, P: Progesteron
(K) Kühe, (JR) Jungrinder

3 Material und Methoden

3.1 Tiermaterial und Tiervorbereitung

Zur Durchführung der Versuche wurden insgesamt 22 Jungrinder der Rasse Fleckvieh aus den für den Embryotransfer gehaltenen Empfängertierherden des Besamungsvereins Neustadt/Aisch verwendet. Die Tiere wurden nach einer klinischen Allgemeinuntersuchung und einer speziellen gynäkologischen Untersuchung ausgesucht, wobei sich die gynäkologische Untersuchung auf die Adspektion des äußeren Genitales und einer rektalen Palpation der Gebärmutter und der Eierstöcke beschränkte. Dabei wurde v.a. auf eine altersentsprechende Ausbildung der Organe geachtet und anhand der Funktionsgebilde geprüft, ob die Tiere zyklisch waren. Alle Tiere wurden bei Einstallung mit dem Antiparasitikum Cydectin® pour on (Fa. Fort Dodge, Aachen) behandelt. Außerdem erhielten alle Tiere eine Impfung gegen BVD/MD (Vacoviron®, Fa. Merial, Halbergmos) und eine Impfung gegen Trichophytie (Permavax-Tricho/N®, Fa. Essex Tierarzt, München). Während der Versuchsphase waren die Tiere in Anbindehaltung aufgestellt. Die Fütterung bestand aus Grassilage, Heu und Stroh, ergänzt durch ein Mineral- und Vitaminergänzungsfutter.

Für die drei unterschiedlichen Behandlungsregime wurden nacheinander die selbsten Tiere verwendet, somit wurden die meisten Tiere dreimal behandelt. Zwei Jungrinder wurden wegen Entwicklung von Ovarialzysten und zwei wegen Widersetzlichkeit bei der Untersuchung aus dem Versuch herausgenommen und durch neue Jungrinder ersetzt. Zwischen den Behandlungen war bei den Tieren mindestens ein unbeeinflusster Zyklus festgestellt worden. Durch die wiederholte Behandlung derselben Tiere in den verschiedenen Behandlungsregimen waren die Tiere im Behandlungszeitraum zwischen 18 und 30 Monate alt.

Im Versuchsabschnitt 1 (PRID und PGF_{2α}) und 2 (PRID ohne Östradiol) wurden jeweils drei Gruppen mit sechs Tieren zu festgelegten Zyklusstadien behandelt. Dazu wurden die Rinder entweder mit einem PGF_{2α} - Analogon synchronisiert, oder es wurde die spontane Brunst genutzt. Der Tag der Brunst wurde als Tag 0 des neuen Zyklus definiert. Zur Synchronisation erhielten die Rinder 0,5 mg Cloprostenol (Estrumate®/ Fa. Essex Tierarzt, München) intramuskulär injiziert. Es wurden nur Tiere behandelt, die sich nach Brunstbeobachtung zwischen dem 8. und 14. Zyklustag befanden und bei rektaler Untersuchung einen Gelbkörper aufwiesen. Der Tag der Injektion von Cloprostenol entsprach dem Tag -3 bzw. -2 des Zyklus.

3.2 Die Behandlungsregime

Im ersten Abschnitt dieser Arbeit sollten die Intervalle von der Entnahme der PRID-Spirale und PGF_{2α}-Injektion bis zum LH-Peak bzw. bis zur Ovulation festgestellt werden. Dabei sollte eine mögliche Abhängigkeit der Intervalle vom Zyklusstadium zu Beginn der Behandlung untersucht werden. Dies erfolgte einmal mit PRID in unveränderter Form (Fa. CEVA Tiergesundheit GmbH, Düsseldorf) und einmal nach Entfernung der Östradiolkapsel, um einen Einfluss durch E2 auszuschließen. Anhand der Ergebnisse aus den ersten beiden Versuchsabschnitten wurden dann die Intervalle für die GnRH-Injektion zur Ovulationssynchronisation und die künstliche Besamung im dritten Versuchsabschnitt gewählt.

3.2.1 PRID und PGF_{2α}

Für die Versuche standen 18 Jungrinder zur Verfügung. Im ersten Versuchsabschnitt wurden jeweils sechs Tiere einer Gruppe nach Brunstsynchronisation mit PGF_{2α} oder nach spontaner Brunst zugeordnet. Die Behandlung mit der PRID-Spirale begann in Gruppe 1 an den Zyklustagen (ZT) 3 bzw. 4, in der zweiten Gruppe an den ZT 11 bzw. 12, und in der dritten Gruppe an den ZT 17 bzw. 18. Der Tag des Einsetzens der Spirale wurde als Versuchstag (VT) 1 definiert. Nach gründlicher Reinigung des äußeren Genitale mit Seife wurde die Spirale mit Hilfe eines Spekulum und etwas Gleitgel (Firma Selectavet) tief intravaginal eingeführt. Vor Behandlung des nächsten Tieres wurde das Spekulum mit heißem Wasser (ca. 70 °C) gereinigt und mit einer milden Jodlösung (Vetsept[®], Fa. Albrecht, Aulendorf) zwischendesinfiziert. Die Kordel zum Entfernen der Spirale wurde so kurz abgeschnitten, dass sich deren Ende noch innerhalb der Scham befand. Die Spirale verblieb für 9 Tage intravaginal. Bei Entnahme der Spirale am VT 10 erhielten alle Rinder 0,5 mg Cloprostenol (Estrumate) intramuskulär verabreicht. Nach Entnahme der Spirale wurde an den folgenden Tagen 2 x täglich eine intensive Brunstbeobachtung durchgeführt und dabei auf das Auftreten äußerlicher Brunstanzeichen wie die Ödematisierung der Labien, Farbe und Durchsftung der Vestibularschleimhäute, Schleimsekretion oder auf die Verhaltensänderungen zur Brunst geachtet.

3.2.2 PRID ohne Östradiol mit PGF_{2α}

Im zweiten Versuchsabschnitt wurden die Tiere zyklusabhängig wie in Abschnitt 1 in die Gruppen 4 bis 6 eingeteilt und gleichermaßen behandelt. Im Unterschied zu Abschnitt 1 wurde allerdings die Östradiolkapsel der Vaginalspirale entfernt. (Tab. 6).

3.2.3 PRID ohne Östradiol mit PGF_{2α} und Ovulationsinduktion und einmalig terminorientierter Besamung

Basierend auf den Ergebnissen aus den Versuchsabschnitten 1 und 2 erhielten im dritten Versuchsabschnitt alle Rinder unabhängig vom Zyklusstadium PRID ohne Östradiol. Die Behandlung erfolgte in zwei Gruppen mit jeweils 9 Tieren. Die Tiere wurden wie im Versuchsabschnitt 2 behandelt, erhielten jedoch zusätzlich eine intramuskuläre GnRH-Injektion (10 µg Buserelin, Receptal[®], Fa. Intervet, Unterschneidheim) zur Ovulationsinduktion und damit Ovulationssynchronisation. Die GnRH-Injektion erfolgte 50 h nach Entnahme der Spirale und der PGF_{2α}-Injektion. Weitere 13 h später wurden alle Tiere terminorientiert besamt. Dazu wurde TG-Sperma des Fleckviehbulle Veital (Herdbuchnummer 182781/10) verwendet. Alle Tiere wurden mit Samen aus demselben Ejakulat besamt. Um die Befruchtungsrate festzustellen, wurden alle Rinder am 7. Tag nach der Künstlichen Besamung einer Uterusspülung zur Embryonengewinnung unterzogen (Tab. 7).

3.3 Katheterisierung der Rinder, Haltung und Handling in diesem Zeitraum

Für die frequente Gewinnung von Blutproben für eine nachfolgende LH-Analytik wurde die V. jugularis externa aller Rinder katheterisiert. Dies erfolgte nach Fixierung der Tiere in einem Fressgitter. Der Kopf der Tiere wurde dabei nach oben und seitlich ausgebunden. Im Bereich der Punktionsstelle wurde zunächst gereinigt, rasiert, entfettet und desinfiziert. Zur Punktion wurde die Vene angestaut und der Kopf des Tieres zusätzlich von einem Helfer fixiert. Nachdem Sitz und Lage der Splittocan® Braunüle überprüft war, wurde nach Entfernen der Stahlkanüle über die verbleibende Kunststoffkanüle der 32 cm lange Katheterschlauch eingeführt. Danach wurde auch die Kunststoffkanüle entfernt. Der Katheter wurde über einen Fixierclip am Hals angenäht. Zur einfacheren Handhabung wurde eine 30 cm lange Infusionsverlängerung für die Blutentnahmen angebracht. Während der Zeit der frequenten Blutentnahmen waren die Rinder mit einem Halfter fixiert. Vor den Blutentnahmen wurde das System mit NaCl-Lösung 0,9 %ig auf Durchgängigkeit geprüft, danach wurden 10 ml Blut aspiriert und verworfen und erst dann die eigentliche Probe gezogen. Nach der Probenentnahme wurde das System nochmals mit NaCl-Lösung 0,9 %ig und zuletzt mit heparinierter NaCl-Lösung (50 IE Heparin pro 1 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung) gespült. Der Katheter wurde nach ultrasonographischer Feststellung der Ovulation entfernt.



**Abbildung 5: Venenverweilkatheter Cavafix Splittocan® (Fa. Braun)
in der V. jugularis externa**

3.4 Diagnostische Maßnahmen

3.4.1 Blutprobenentnahmen, Probenaufbereitung

3.4.1.1 Blutentnahmen und Probenaufbereitung zur Bestimmung von Progesteron- und Östradiolkonzentrationen

Bei allen Jungrindern wurden vor, während und nach der Behandlung Blutproben entnommen, um P4-Konzentrationen zu bestimmen. Im Versuchsabschnitt 1 und 2 wurden darüber hinaus im periöstrischen Zeitraum Blutproben für die Analytik von E2-Konzentrationen gewonnen. Die Blutentnahmen erfolgten aus der V. coccygea. Für die P4-Konzentrationsanalytik erfolgten die Entnahmen unmittelbar vor dem Setzen der Spirale (VT 1), am Tag danach (VT 2), in der Mitte der Behandlung (VT 6), am Tag der Entnahme (VT 10) und nach der Entnahme für weitere 3 Tage (VT 11, 12, 13). E2 wurde ebenfalls aus den drei Proben, die nach Entnahme der Spirale genommen wurden, untersucht. Diese Blutentnahmen fanden immer zwischen 8:00 und 9:00 Uhr statt. Detaillierte Übersichten über die Zeitpunkte der Blutentnahmen geben die Tabellen 6 und 7. Die Proben wurden in EDTA-Röhrchen (Monovette[®], Fa. Sarstedt, Nürnberg) aufgezogen und im Anschluss bei 3500 U/min 15 min lang zentrifugiert. (EBA 8 S, Fa. Hettich, Tuttlingen). Danach wurde mit Hilfe einer 1 ml Pipettierhilfe (Fa. Eppendorf, Hamburg) das Plasma in Eppendorf-Tubes (2 ml) überführt und auf – 20 °C heruntergekühlt. Zur Untersuchung wurden die Proben, auf Trockeneis gekühlt in die Laborräume des FBN-Dummerstorf transportiert.

3.4.1.2 Blutentnahmen zur Bestimmung der LH-Konzentrationen

Die indirekte Feststellung des Ovulationszeitpunktes erfolgte über die Bestimmung des LH-Peaks, der mit hoher Sicherheit 22 - 25,7 h vor der Ovulation stattfindet (**Kanitz et al. 1996, Karg et al. 1979**). Dazu wurden Blutproben, beginnend ab 44 h nach Entnahme der Spirale, über einen Zeitraum von 60 h bzw. bis zum Zeitpunkt der mit Ultraschalldiagnostik sicher festgestellten Ovulation im 2 h-Intervall über einen Venenverweilkatheter genommen. Das gewonnene Blut wurde ebenfalls in EDTA-Röhrchen (Monovette, Fa. Sarstedt, Nürnberg) aufgefangen und gleichermaßen wie unter Punkt 3.4.1.1 beschrieben abzentrifugiert und bis zur Untersuchung bei - 20°C gelagert.

Im dritten Abschnitt wurde, beginnend ab 40 h nach Entnahme der Spirale im Intervall von 2 h Blut bis zum Zeitpunkt der GnRH-Injektion entnommen. Nach dieser wurden zwei weitere Proben nach einer Stunde bzw. zwei Stunden gewonnen. Mit diesem Vorgehen (Tabelle 7) sollten sowohl endogene LH-Peaks als auch die induzierten LH-Konzentrationserhöhungen erfasst werden. Die dafür notwendigen 8 Blutproben wurden durch Punktion der V. jugularis externa gewonnen.

3.4.2 Hormonanalytik

3.4.2.1 Analyse von Progesteron

Progesteron-Konzentrationen wurden mit einem direkten kompetitiven ^3H -RIA bestimmt, der in der Arbeitsgruppe Biochemie des FBN-Dummerstorf ausgearbeitet und für die Untersuchungen beim Rind optimiert wurde. Als Tracer diente ein $[1,2,6,7\text{-}^3\text{H}]$ Progesteron (Amersham Pharmacia Biotech, Freiburg), während ein Antikörper durch Immunisierung von Kaninchen mit einem 11-OH-Progesteron-Konjugat erzeugt wurde. Die Trennung frei-gebunden wurde mit Dextran-Aktivkohle vorgenommen. Die Messung erfolgte in einem Flüssigszintillationszähler mit RIA-Kalkulation (Wallac, Finnland, Schweden). Die Variationskoeffizienten (VK) für den Intra-Assay und den Inter-Assay waren 8,0 bzw. 9,6 %.

3.4.2.2 Analyse von Östradiol-17 β

Die Analyse des Plasma-Östradiols erfolgte ebenfalls mit einem ^3H -RIA nach einer im FBN-Dummerstorf ausgearbeiteten Methode. Dem Test vorgeschaltet war eine Extraktion der Plasmaproben mit Diethylether. Der vierfach ^3H -markierte Tracer wurde ebenfalls von Amersham Pharmacia Biotech bezogen. Der in Kaninchen erzeugte polyklonale Antikörper wurde durch high performance liquid chromatography (HPLC) weiter gereinigt und in einer Verdünnung von 1:55000 eingesetzt. Die Trennung frei-gebunden, die Radionuklidmessung und die Kalkulation der RIA-Daten entsprachen denen beim P4 genannten Vorgehen. Die VK für den Intra - Assay und für den Inter-Assay betragen 6,9 bzw. 9,2 %.

3.4.2.3 Analyse von LH

Die Bestimmung der Plasma-LH-Konzentrationen erfolgte mit einem im Forschungsbereich Fortpflanzungsbiologie des FBN-Dummerstorf entwickelten Elektrochemilumineszenz-Immunoassay (ECLIA). Der ECLIA ist eine nicht-radioaktive Detektionsmethode, die für die praktische Nutzung viele Vorteile hat. Das Grundprinzip eines Immunoassays (IA), die hochspezifische Bindung eines Antigens (hier bovines LH, Biotrend, Köln) an einen Antikörper (hier: Kaninchen-anti-bovine LH; IWF 5026, Berlin) ist für alle IA identisch. Bei dem verwendeten ECLIA handelt es sich um eine Methode vom Sandwich-Typ, bei dem ein monoklonaler Antikörper (Maus-anti-bovine LH, Roser, USA) von einer, der genannte polyklonale Antikörper von der Rückseite das Antigen bindet. Der monoklonale Antikörper ist mit einer Ruthenium-Verbindung markiert und dient als Tracer. Nach Inkubation wird mit einem weiteren Antikörper (Schaf-Anti-Kaninchen), der mit magnetischen Beads (Dyna; Osol, Norwegen) gekoppelt ist, der gesamte Komplex gebunden, von ungebundenen Komponenten abgetrennt und zur Messung in einen speziellen Reader (ORIGEN 1.5TM; Igen, USA) gebracht. Der Variationskoeffizient für den Intra-Assay, der aus Vielfachbestimmungen ermittelt wurde, betrug 6,4 %, der für den Inter-Assay, der etwas zur Präzision bei wiederholter Analyse in mehreren Ansätzen aussagt, 8,9 %.

3.4.3 Ultraschalluntersuchung

In den Versuchsabschnitten 1 und 2 fanden vor, während und nach der Behandlung mit der PRID-Spirale sonographische Untersuchungen der Ovarien statt. Dazu wurde ein tragbares, mit Akku betriebenes Ultraschallgerät mit einem 5MHz-Linearschallkopf verwendet (AgroscanL, Fa. Hauptner u. Herberholz, Solingen). Nach vollständiger Entleerung des Rektums und Auffinden der Geschlechtsorgane wurden Größe und Kontraktilität des Uterus beurteilt, danach Größe der beiden Ovarien, ihre Funktionsgebilde nach Anzahl, Größe und deren Lage auf dem Eierstock in einem Protokoll festgehalten. Dabei wurde versucht, den jeweiligen Eierstock unter der Sonde digital zu fixieren und mehrfach abzufahren. Gelang dies aufgrund von Abwehrreaktionen der Tiere nicht, wurde versucht, die Eierstöcke ohne Fixierung in den Schallbereich der Sonde zu bringen.

Bei Implantation der Spirale zu den verschiedenen Zyklusstadien wurde vor allem auf das Vorhandensein eines Gelbkörpers geachtet. Bei Einsetzen und während der Behandlung wurde im Abstand von 72 h die Follikelentwicklung beobachtet und dokumentiert. Die Follikel wurden in drei Größenklassen eingeteilt:

kleine Follikel: < 5 mm

mittelgroße Follikel: 5 - 10 mm und

große Follikel: >10 mm

Die Follikel, die am Tag der Entnahme der PRID-Spirale aufgrund ihrer Größe als ovulationskompetent eingestuft wurden, wurden vermessen. Nachfolgend wurde ihre Größenentwicklung bei den weiteren Untersuchungen zur Ovulationskontrolle beobachtet. Diese Untersuchungen begannen 66 h nach der Entnahme der Spirale und wurden bis 96 h nach Entnahme im 6 h-Intervall durchgeführt. Wurde in diesem Zeitraum keine Ovulation festgestellt, wurden die Tiere weiter im 12 h-Intervall bis zur festgestellten Ovulation untersucht. War ein Follikel >10 mm zu einem Untersuchungstermin vorhanden, zum anderen jedoch nicht mehr sichtbar, so wurde dieser Befund als Ovulation interpretiert. Um einen solchen Befund zu bestätigen, wurden diese Ovarien auch am nächsten Ultraschalltermin untersucht. Im dritten Versuchsabschnitt fanden Ultraschalluntersuchungen zu Beginn der Behandlung, bei Entnahme der PRID-Spirale und anschließend zur Ovulationskontrolle nach der terminierten Besamung statt. Die Ultraschalldiagnostik begann 72 h nach Entnahme der Spiralen (Tabelle 7).

3.5 Embryonengewinnung

Zur Feststellung des Befruchtungsergebnisses wurden bei den terminorientiert besamten Jungrindern am Tag 7 des Zyklus eine Spülung des ipsilateralen Uterushorns vorgenommen. Zur Embryonengewinnung wurde die von **Hahn (1978)** beschriebene Methode unter Verwendung eines Spülkatheters Modell Neustadt/Aisch (Fa. Wörrlein, Ansbach) benutzt. Nach einer gründlichen Reinigung des äußeren Genitales, wurde der durch einen Mandrin versteifte Spülschlauch vaginal eingeführt. Nach Passage der Zervix und dem Erreichen der Krümmung des Uterushorns wurde der Mandrin zurückgezogen, um den flexiblen Spülschlauch weiter nach kranial schieben zu können. Durch Aufblasen des Ballons am vorderen Ende des Spülschlauchs mit 12 - 14 ml Luft waren die Abdichtung des Uterushorns und eine Fixation des Katheters in der gewünschten Position gegeben. Das Uterushorn wurde mit insgesamt ca. 360 ml auf 37°C temperierter Spülflüssigkeit (PBS-Dulbecco, Fa. Biochrom AG, Berlin) gespült. Dabei wurden zunächst 15 ml ins Uterushorn instilliert und unter transrektaler Massage wieder zurückgewonnen. Diese Teilmengen wurden bis zum Ende der Spülung stufenweise auf maximal 60 ml erhöht. Als Auffangbehältnis dienten temperierte (37°C) und silikonisierte Glasflaschen (Fa. Müller, Nürnberg) mit konisch zulaufendem Boden.

3.6 Extraktion der Embryonen

Nach einer Sedimentationszeit von ca. 15 min wurde die Spülflüssigkeit mittels eines Silikonschlauchs bis auf einen Bodensatz von 2 cm abgehebert. Der Bodensatz wurde auf mehrere silikonisierte Uhrglasschalen verteilt und anschließend bei 10- bis 20-facher Vergrößerung durch ein Stereomikroskop (Fa. Nikon, Japan) durchmustert. Wurde der Embryo oder andere Entwicklungsstadien der Eizelle im ersten Sediment nicht gefunden, wurde der Überstand der ersten Sedimentation nochmals abgehebert und untersucht. War auch in diesem Bodensatz nichts zu finden, wurde der Vorgang ein drittes Mal wiederholt. Die Beurteilung der Embryonen erfolgte nach morphologischen Kriterien. Die gewonnenen Embryonen wurden bis zum Abschluss dieser Arbeit in flüssigem Stickstoff gelagert.

3.7 Statistische Auswertung

Für die Statistische Auswertung wurde das Softwarepaket SAS (Release 8.2)-Prozedur mixed verwendet. Es wurde eine einfache Varianzanalyse mit Einflussfaktor „Gruppe“ durchgeführt. Durch den Repeated Factor *Tier* wurde berücksichtigt, dass Tiere mehrfach verwendet wurden. Zur Einhaltung eines multiplen Risikos 1. Art $\alpha = 0,05$ wurde für die posthoc t-Tests eine Tukey-Korrektur durchgeführt.

Für die Mittelwertdifferenzen wurden Konfidenzintervalle berechnet.

Tab. 6: Ablaufplan für den ersten und zweiten Versuchsabschnitt, Beginn der Behandlung an den ZT 3/4, 11/12 und 17/18

Versuchstag	Uhrzeit	Maßnahmen	Bemerkungen
1	16:00	Einsetzen der Spirale Blutprobe US-Diagnostik	Tiere mit CL für P4-Analytik CL und Follikelpopulationen
2	8:00-9:00	Blutprobe	für P4-Analytik
3			
4		US-Diagnostik	CL und Follikelpopulationen
5			
6	8:00-9:00	Blutprobe	für P4-Analytik
7		US-Diagnostik	CL und Follikelpopulationen
8			
9			
10	8:00-9:00 16:00	Blutprobe Entnahme der Spirale, PGF _{2α} US-Diagnostik	für P4-Analytik CL und Follikelpopulationen
11	8:00-9:00	Blutprobe	für P4- und E2-Analytik
12	8:00-9:00 8:00-9:00 12:00-24:00	Katheterisierung Blutprobe Blutproben	für P4- und E2-Analytik Entnahme im 2h-Intervall für LH
13	2:00-24:00 10:00-22:00 8:00-9:00	Blutproben US-Diagnostik Blutprobe	für LH-Analytik im 6h-Intervall bis zur Ovulation für P4- und E2-Analytik
14	2:00-24:00 4:00-16:00	Blutproben US-Diagnostik	für LH-Analytik im 6h-Intervall bis zur Ovulation
15	2:00-6:00	Blutproben US-Diagnostik	für LH-Analytik 2x im Abstand von 12h
16		US-Diagnostik	2x im Abstand von 12h
20	8:00-9:00	Blutprobe US-Diagnostik	für P4-Analytik Ovulationskontrolle

Tab. 7: Ablaufplan für den dritten Versuchsabschnitt, Beginn der Behandlung unabhängig vom Zyklusstadium

Versuchstag	Uhrzeit	Maßnahmen	Bemerkungen
1	16:00	Einsetzen der Spirale Blutprobe US-Diagnostik	für P4-Analytik CL und Follikelpopulationen
2	8:00-9:00	Blutprobe	für P4-Analytik
3			
4			
5			
6	8:00-9:00	Blutprobe	für P4-Analytik
7			
8			
9			
10	8:00-9:00 16:00	Blutprobe Entnahme der Spirale, PGF _{2α} US-Diagnostik	für P4-Analytik CL und Follikelpopulationen
11			
12=d0	8.00-18.00 18:00 18:00 19:00 20:00	Blutproben Blutprobe GnRH-Injektion Blutprobe Blutprobe	Entnahme im 2h-Intervall für LH-Analytik für P4-Analytik LH-Analytik LH-Analytik
13=d1	7:00 16:00 22:00	KB US-Diagnostik US-Diagnostik	Ovulationskontrolle
14=d2	4:00 10:00	US-Diagnostik US-Diagnostik	Ovulationskontrolle
15			
16			
17			
18			
19			
20=d8	7:00 8:00-9:00	CI-Kontrolle und Embryonengewinnung Blutprobe	für P4-Analytik

4 Ergebnisse

4.1 Östrusraten

Nach der Behandlung wurden bei 31 von insgesamt 36 behandelten Tieren äußerlich erkennbare Brunstanzeichen festgestellt (Östrusrate 86,1 %). Die Östrusraten für die Behandlungen mit PRID/PGF_{2α} und PRIDα/ PGF_{2α} unterschieden sich nicht signifikant (83,3 % bzw. 88,8 %). Die Brunst begann bei 28 Tieren innerhalb von 66 h nach Behandlungsende. Bei zwei Tieren aus Gruppe 1 und bei einem Tier aus Gruppe 5 wurde der Brunstbeginn später festgestellt. Im Einzelnen wurden nach der Behandlung mit PRID/PGF_{2α} bei 6/6, 5/6, 4/6 Tieren für die Gruppen 1 - 3 äußerlich erkennbare Brunstanzeichen festgestellt. Nach der Behandlung mit PRIDα/PGF_{2α} waren es 6/6, 6/6 und 4/6 Tiere in den Gruppen 4 - 6.

4.2 PRID und PGF_{2α}

4.2.1 Follikelanzahl während der PRID-Behandlung

Bei der Auswertung der Follikelentwicklung während der PRID-Behandlungen wurden ausschließlich Follikel >10 mm Durchmesser berücksichtigt.

Bei Einsetzen der Spirale hatten die Tiere aus Gruppe 1 durchschnittlich eine signifikant geringere Anzahl Follikel >10 mm als die Tiere in den beiden anderen Gruppen (Tab. 8). In der erstgenannten Gruppe stieg die Anzahl der Follikel >10 mm vom Beginn der Behandlung bis Tag 10 deutlich an ($p = 0,0649$). Dabei war die mittlere Follikelanzahl an Tag 4 signifikant geringer als an den Tagen 7 und 10. Auch in Gruppe 2 wurde während der Behandlung an Tag 7 eine signifikant geringere Anzahl Follikel >10 mm festgestellt als an Tag 10. In Gruppe 3 unterschieden sich die Mittelwerte für die Anzahl der Follikel >10 mm zu den verschiedenen Untersuchungszeiten nicht.

Am Tag der PRID-Entfernung unterschied sich die mittlere Anzahl Follikel >10 mm Durchmesser zwischen den Gruppen nicht signifikant.

Betrachtet man die Einzeltiere in den Gruppen, so hatte 1 von 6 Tieren in der Gruppe 1 einen großen Follikel zu Beginn der Behandlung. Bei drei Tieren dieser Gruppe wurde an Tag 7 ein großer Follikel festgestellt, bei zwei weiteren an Tag 10, die dann auch zur Ovulation gelangten. Ein Tier aus dieser Gruppe hatte bis zum 10. Tag keinen Follikel >10 mm. Bei diesem Tier wurde im Untersuchungszeitraum keine Ovulation festgestellt.

In Gruppe 2 hatten 5 von 6 Rindern zu Behandlungsbeginn bereits einen großen Follikel, entwickelten aber bis zum Tag 10 einen anderen (3 Tiere) oder einen weiteren (2 Tiere). Bei

einem Tier wurde erst an Tag 10 ein Follikel >10 mm diagnostiziert. Zu Behandlungsende wurden bei fünf Tieren ein Follikel >10 mm und bei einem Tier zwei Follikel >10 mm festgestellt.

In Gruppe 3 hatten 5 von 6 Tieren einen oder mehrere große Follikel zu Behandlungsbeginn. Davon hatten zwei Tiere zwei und ein Tier drei Follikel >10 mm. Bei diesem Tier und bei einem der Tiere mit zwei Follikeln änderte sich die Anzahl bis zum Behandlungsende nicht. Bei einem Tier, welches zu Beginn der Behandlung noch keinen Follikel >10 mm hatte, wurde ab Tag 4 ein solcher diagnostiziert, der bis Tag 10 beobachtet wurde.

Tab. 8: Mittlere Follikelanzahl >10 mm zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten während der Behandlung PRID und PGF_{2α}

Behandlungsbeginn	ZT 3/4	11/12	17/18
Tierzahl (n)	6	6	6
Untersuchungstag	Follikelanzahl (n) LSM ± SE	Follikelanzahl (n) LSM ± SE	Follikelanzahl (n) LSM ± SE
D1	0,17 ^{aA} ± 0,17	0,83 ^{aB} ± 0,17	1,50 ^{aB} ± 0,43
D4	0,00 ^{ab} ± 0,00	1,00 ^a ± 0,26	1,33 ^a ± 0,42
D7	0,50 ^{ac} ± 0,22	0,33 ^{ab} ± 0,21	1,50 ^a ± 0,43
D10	0,83 ^{acdA} ± 0,17	1,17 ^{acA} ± 0,17	1,50 ^{aA} ± 0,34

^{a,d} p=0,0649; ^{b,c} p<0,05; ^{A,B} p<0,05

4.2.2 Progesteronkonzentrationen während und nach PRID und PGF_{2α}

Die P4-Konzentrationen zu Beginn der Behandlung wurden signifikant vom ZT beeinflusst. Tiere der Gruppe 2 hatten signifikant höhere Konzentrationen als Tiere der beiden anderen Gruppen (Tab. 9).

In Gruppe 1 lagen die Anfangskonzentrationen zwischen 0,55 ng/ml und 1,97 ng/ml, in Gruppe 2 wurden zu Beginn P4-Konzentrationen zwischen 2,84 ng/ml und 4,00 ng/ml festgestellt. Die P4-Konzentrationen von Tieren aus der Gruppe 3 variierten zu Behandlungsbeginn am meisten. Die Ausgangskonzentrationen lagen zwischen 0,15 ng/ml und Maximalwerten von 4,18 ng/ml. Nach Einsetzen der Spirale stiegen die P4-Konzentration bei 17 von 18 Tieren um 1 – 2 ng/ml (Abb. 6 – 8).

Bei einem Tier mit der höchsten Ausgangskonzentration aus Gruppe 3 sank die P4-Konzentration trotz Einsetzen der Spirale von 4,18 ng/ml am Tag 1 auf 2,76 ng/ml am Tag 2 (Abb. 8).

Tiere der Gruppe 2 hatten während der Behandlung höhere P4-Konzentrationen als Tiere der Gruppen 1 und 3.

Vor Entnahme der Spirale hatten Tiere der Gruppe 1 signifikant höhere P4-Konzentrationen als in den anderen beiden Gruppen.

Nach Entnahme der Spirale wurde in allen Gruppen innerhalb von 16 h mittlere P4-Konzentrationen <1ng/ml erreicht (D11, 12, 13), die bis zum Untersuchungszeitpunkt sieben Tage nach der Behandlung wieder anstiegen.

Tab. 9: Mittleren Progesteronkonzentrationen der Gruppen 1 – 3 während der Behandlung PRID und PGF_{2α}

Behandlungsbeginn	3./4.	11./12.	17./18.
Tierzahl (n)	6	6	6
Untersuchungstag	(ng/ml) LSM ± SE	(ng/ml) LSM ± SE	(ng/ml) LSM ± SE
D1	1,16 ^A ± 0,40	3,49 ^B ± 0,40	1,56 ^A ± 0,40
D2	3,14 ^A ± 0,28	5,16 ^B ± 0,28	2,64 ^A ± 0,28
D6	2,98 ^C ± 0,28	3,91 ^B ± 0,28	1,81 ^A ± 0,28
D10	3,18 ^A ± 0,22	1,85 ^B ± 0,22	1,56 ^B ± 0,22
D11	0,91 ± 0,12	0,35 ± 0,12	0,41 ± 0,12
D12	0,55 ± 0,05	0,37 ± 0,05	0,41 ± 0,12
D13	0,34 ± 0,04	0,23 ± 0,037	0,36 ± 0,05
D20	1,70 ± 0,21	2,45 ± 0,21	

^{A:B} p < 0,05 ^{C:B} p = 0,2003

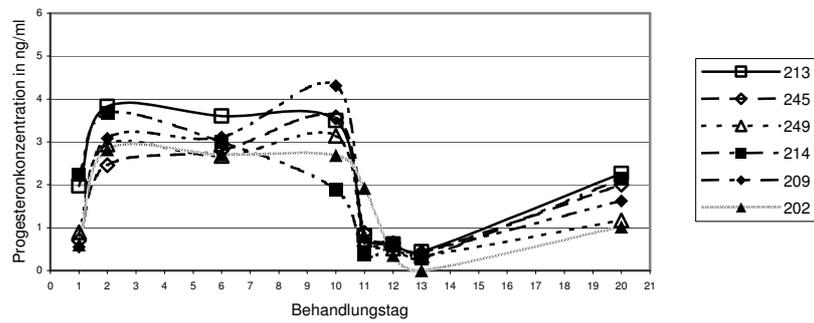


Abbildung 6: Progesteronkonzentrationen bei Rindern der Gruppe 1 nach PRID und PGF_{2α}

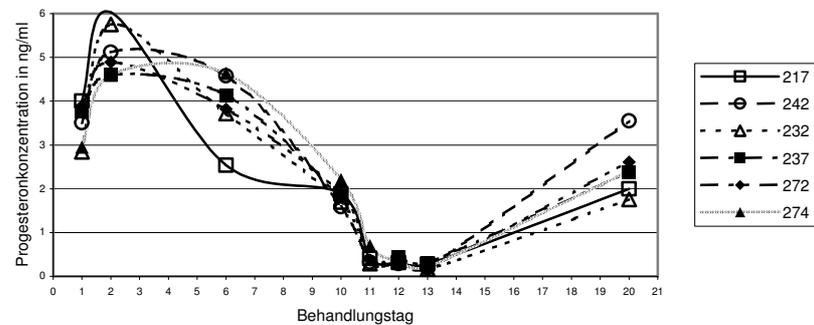


Abbildung 7: Progesteronkonzentrationen bei Rindern der Gruppe 2 nach PRID und PGF_{2α}

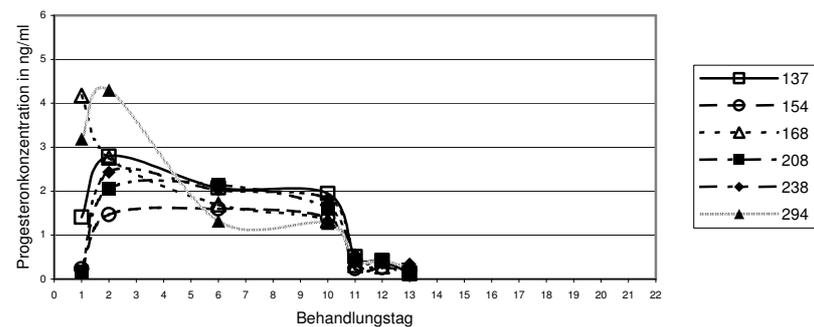


Abbildung 8: Progesteronkonzentrationen bei Rindern der Gruppe 3 nach PRID und PGF_{2α}

4.2.3 Östradiolkonzentrationen nach PRID und PGF_{2α}

Begleitend zur Feststellung äußerer Brunstanzeichen wurden Blutproben zur Bestimmung der E₂-Konzentrationen für die Versuchstage 11, 12 und 13 im 24 h Abstand entnommen. Die mittleren E₂-Konzentrationen an Tag 11 (16 h nach PRID-Entfernung und PGF_{2α}) in den Gruppen 1 - 3 variierten zwischen 10 und 14,3 pg/ml. Die Mittelwerte unterscheiden sich nicht signifikant zwischen den Gruppen.

Von Tag 11 auf Tag 12 wurde bei fast allen Tieren ein tendenzieller Anstieg der E₂-Konzentration beobachtet, welche zum Tag 13 wieder abfielen (Abb. 9 – 11).

Die Mittelwerte der E₂-Konzentrationen unterscheiden sich nicht signifikant zwischen verschiedenen Zeitpunkten innerhalb der Gruppen und zwischen den Gruppen zur selben Untersuchungszeit (Tab.10).

Tab. 10: Mittleren Östradiolkonzentrationen der Gruppen 1 – 3 nach der Behandlung PRID und PGF_{2α}

Behandlungsbeginn	ZT 3/4	11/12	17/18
Tierzahl (n)	6	6	6
Untersuchungstag	(pg/ml) LSM ± SE	(pg/ml) LSM ± SE	(pg/ml) LSM ± SE
D11	12,70 ± 1,93	14,30 ± 1,93	9,98 ± 1,93
D12	10,08 ± 1,93	16,57 ± 1,93	10,62 ± 1,93
D13	8,69 ± 1,93	11,55 ± 1,93	9,23 ± 1,93

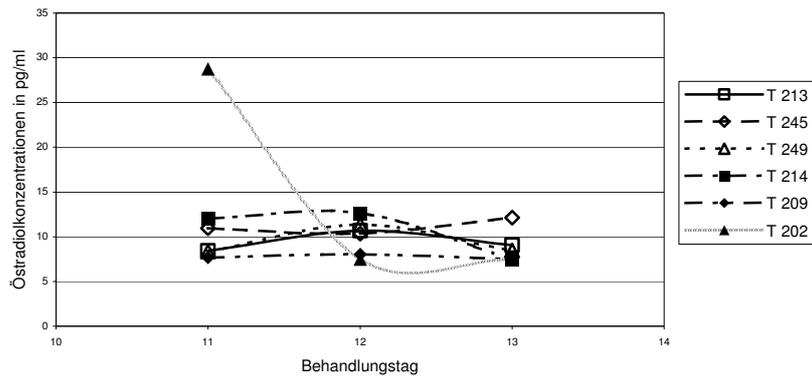


Abbildung 9: Östradiolkonzentrationen bei Rindern der Gruppe 1 nach PRID und $\text{PGF}_{2\alpha}$

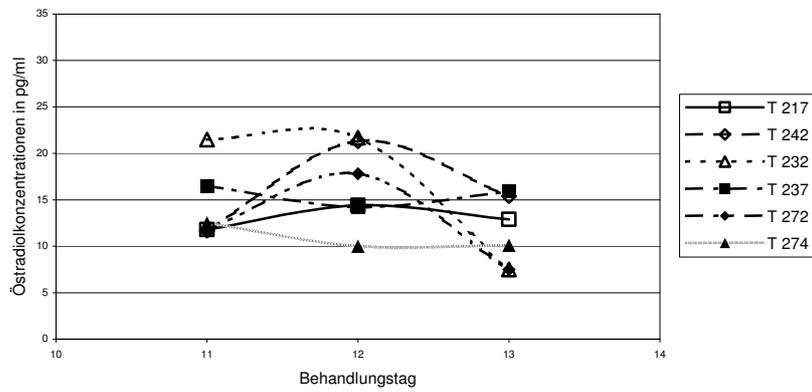


Abbildung 10: Östradiolkonzentrationen bei Rindern der Gruppe 2 nach PRID und $\text{PGF}_{2\alpha}$

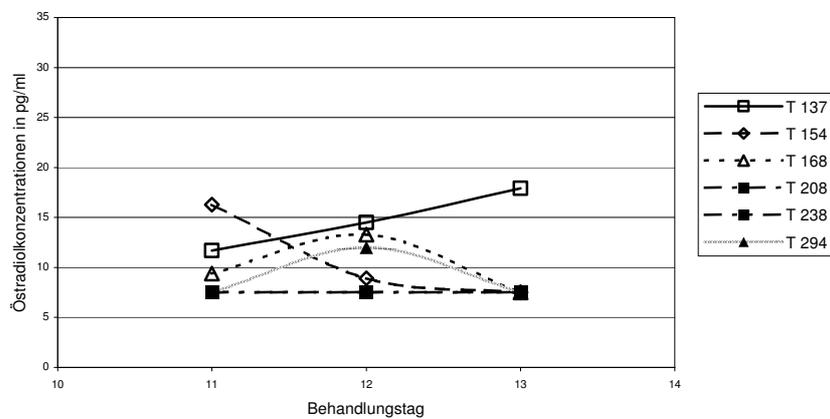


Abbildung 11: Östradiolkonzentrationen bei Rindern der Gruppe 3 nach PRID und $\text{PGF}_{2\alpha}$

4.2.4 Intervall PRID-Entnahme bis LH-Peak und Entnahme bis Ovulation

Von 18 untersuchten Jungrindern in den Gruppen 1 - 3 wurde bei 15 Tieren ein LH-Peak diagnostisch erfasst. Die Mittelwerte für das Intervall Entnahme der Spirale bis zum LH-Peak liegen im Bereich zwischen 55,3 bis 56,0 h (Tab. 13). Sie unterscheiden sich zwischen den Gruppen nicht signifikant.

Auffällig sind die großen Konfidenzintervalle für den Parameter. Daraus geht hervor, dass bei 95 % der Jungrinder der LH-Peak zwischen 39,4 und 71,3 h nach Entfernen der Spirale erwartet werden kann.

Die LH-Konzentrationen der Einzeltiere aus den Gruppen 1 - 3 sind im Anhang aus den Tabellen 31 - 33 ersichtlich.

Tab. 11: Intervall PRID-Entnahme bis LH-Peak nach der Behandlung PRID und PGF_{2α}

Behandlungsbeginn	ZT 3/4	11/12	17/18
Tierzahl (n)	3	6	6
Intervall (h) $\bar{x} \pm s$	55,33 \pm 7,76	56,33 \pm 5,49	56,00 \pm 5,49
Konfidenzintervall (h)	39,4 – 71,3	45,1 – 67,6	44,7 – 67,3

Das Intervall Entnahme der Spirale bis zur Ovulation wurde bei 16 von 18 untersuchten Tieren erfasst. Die Mittelwerte für die Gruppen 1 – 3 liegen im Bereich zwischen 79,0 h und 80,0 h. Sie unterscheiden sich nicht zwischen den Gruppen. Die Konfidenzintervalle für den Parameter liegen zwischen 65 h und 93 h.

Eine Darstellung der Ergebnisse für die Einzeltiere in den Gruppen 1 - 3 ist im Anhang in der Tabelle 37 aufgeführt.

Tab. 12: Intervall PRID-Entnahme bis Ovulation nach der Behandlung PRID und PGF_{2α}

Behandlungsbeginn	ZT 3/4	11/12	17/18
Tierzahl (n)	4	6	6
Intervall (h) $\bar{x} \pm s$	79,00 \pm 6,76	80,00 \pm 4,78	79,17 \pm 4,78
Konfidenzintervall (h)	65,1 – 92,9	70,2 – 89,8	69,3 – 89,0

Die Ovulationen traten in allen drei Gruppen im Mittel 23 h nach dem LH-Peak auf. Das kürzeste Intervall von 19 h trat bei einem Tier aus Gruppe 3, das längste Intervall von 27 h wurde bei jeweils zwei Tieren aus Gruppe 2 und 3 festgestellt. Aus den Konfidenzintervallen geht hervor, dass die Ovulationen zwischen 20 h und 27 h nach dem LH-Peak zu erwarten sind.

Tab. 13: Intervall LH-Peak bis Ovulation nach der Behandlung PRID und PGF_{2α}

Behandlungsbeginn	ZT 3/4	11/12	17/18
Tierzahl (n)	3	6	6
Intervall (h) $\bar{x} \pm s$	23,67 \pm 1,68	23,67 \pm 1,19	23,17 \pm 1,19
Konfidenzintervall (h)	20,2 – 27,1	21,2 – 26,1	20,7 – 25,6

4.3 PRID α und PGF_{2 α}

4.3.1 Follikelanzahl während der PRID α -Behandlung

Bei Einsetzen der Spirale am Tag 1 bestand kein signifikanter Unterschied bzgl. der Follikelanzahl >10 mm zwischen den Gruppen 4 bis 6. In der Gruppe 4 war von D1 bis D10 ein tendenzieller Anstieg der Follikel >10 mm zu erkennen. In Gruppe 5 war die Follikelanzahl an Tag 7 signifikant höher als am Tag 1. Am Ende der Behandlung (D10) bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen bzgl. der Follikelanzahl >10 mm Durchmesser (Tab. 14).

In Gruppe 4 hatten zu Beginn der Behandlung drei Tiere noch keinen großen Follikel ausgebildet, während zwei Tiere bereits einen und ein Tier sogar zwei Follikel >10 mm aufzeigten. Dieses Tier hatte bis zum Behandlungsende einen anderen Follikel herangebildet. Bei einem Tier mit einem Follikel zu Behandlungsbeginn blieb dieser bis Behandlungsende bestehen, das andere Jungrind bildete zwei weitere heran und hatte zu Behandlungsende drei Follikel >10 mm. Zwei der Tiere ohne großen Follikel zu Behandlungsbeginn bildeten bis Tag 7 einen Follikel an, ein Tier am Tag 4. Neben dem Tier mit drei Follikeln zu Behandlungsende wurde bei den restlichen 5 Tieren je ein großer Follikel diagnostiziert.

In Gruppe 5 hatten 4 von 6 Tieren zu Behandlungsbeginn einen Follikel >10 mm. Bei drei Rindern wurde ein weiterer großer Follikel während der Behandlung festgestellt, wovon nur bei einem Tier zu Behandlungsende zwei Follikel >10 mm gleichzeitig vorzufinden waren. Bei einem Tier blieb der Follikel bestehen. Bei den Tieren ohne großen Follikel zu

Behandlungsbeginn wurden am Tag 4 zwei große Follikel bei dem Tier 398 festgestellt, wovon nur einer bis zum Tag 10 verblieb. Bei dem letzten Tier dieser Gruppe wurde am Tag 7 ein Follikel >10 mm diagnostiziert, der auch am Tag 10 festgestellt wurde. Somit hatten 5 von 6 Tieren einen großen Follikel zu Behandlungsende, ein Tier zwei große Follikel.

In Gruppe 6 wurden bei vier Tieren ein Follikel und bei jeweils einem Tier zwei bzw. kein Follikel zu Behandlungsbeginn festgestellt. Bei zwei Tieren blieb der Follikel bestehen, wovon eines bis Tag 10 noch einen zusätzlichen Follikel entwickelte. Bei zwei Tieren erfolgte ein Wechsel des großen Follikels, ebenso wie bei dem Tier 137 mit zwei Follikeln zu Behandlungsbeginn. Das Tier 214 bildete bis Tag 7 zwei Follikel >10 mm heran, wovon am Tag 10 noch einer nachgewiesen wurde. In dieser Gruppe wurden zu Behandlungsende bei zwei Tieren zwei große Follikel festgestellt, bei den restlichen ein Follikel.

Tab. 14: Mittlere Follikelanzahl < 10 mm zu den verschiedenen Untersuchungszeiten während der Behandlung PRID α und PGF $_{2\alpha}$

Behandlungsbeginn	ZT 3/4	11/12	17/18
Tierzahl (n)	6	6	6
Untersuchungstag	Follikelanzahl (n) LSM \pm SE	Follikelanzahl (n) LSM \pm SE	Follikelanzahl (n) LSM \pm SE
D1	0,67 ^{abA} \pm 0,33	0,67 ^{abA} \pm 0,21	1,00 ^{aA} \pm 0,26
D4	0,83 ^a \pm 0,30	1,17 ^a \pm 0,31	1,00 ^a \pm 0,26
D7	1,33 ^a \pm 0,21	1,33 ^{ad} \pm 0,21	0,83 ^a \pm 0,31
D10	1,50 ^{acA} \pm 0,34	1,17 ^{aA} \pm 0,17	1,33 ^{aA} \pm 0,21

^{b:c} p = 0,1320; ^{b:d} p = 0,050

4.3.2 Progesteronkonzentrationen während und nach PRID α und PGF $_{2\alpha}$

Die P4-Konzentrationen zu Beginn der Behandlung wurden signifikant vom ZT beeinflusst. Tiere der Gruppe 4 hatten zu Beginn der Behandlung signifikant niedrigere Konzentrationen als Tiere der Gruppe 5. Der Mittelwert für die P4-Konzentration in Gruppe 6 war tendenziell niedriger als in Gruppe 5.

Nach Einsetzen der Spirale stiegen die P4-Konzentrationen bei den untersuchten Tieren am Tag 2 um 1 – 2 ng/ml an (Abb. 12 – 14).

Die mittleren P4-Konzentrationen für Tag 2 bis Tag 10 unterscheiden sich zwischen den Gruppen nicht.

Nach Entnahme der Spirale wurden in allen Gruppen P4-Konzentrationen <1ng/ml festgestellt (D11, 12, 13).

Sieben Tage nach der Behandlung wurde in allen Gruppen ein Anstieg der P4-Konzentrationen nachgewiesen.

Tab. 15: Mittleren Progesteronkonzentrationen der Gruppen 4 – 6 während der Behandlung PRID α und PGF $_{2\alpha}$

Behandlungsbeginn	ZT 3/4	11/12	17/18
Tierzahl (n)	6	6	6
Untersuchungstag	(ng/ml) LSM \pm SE	(ng/ml) LSM \pm SE	(ng/ml) LSM \pm SE
D1	1,14 ^A \pm 0,40	3,36 ^B \pm 0,40	2,42 \pm 0,40
D2	2,09 \pm 0,28	3,71 \pm 0,40	3,23 \pm 0,40
D6	1,885 \pm 0,28	2,60 \pm 0,28	1,60 \pm 0,28
D10	1,535 ^A \pm 0,22	2,16 ^A \pm 0,22	1,62 ^A \pm 0,22
D11	0,39 \pm 0,12	0,40 \pm 0,12	0,29 \pm 0,12
D12	0,32 \pm 0,05	0,32 \pm 0,05	0,22 \pm 0,05
D13	0,27 \pm 0,04	0,25 \pm 0,04	0,18 \pm 0,04
D20	1,48 \pm 0,25	1,16 \pm 0,25	1,73 \pm 0,21

^{A:B} p < 0,05

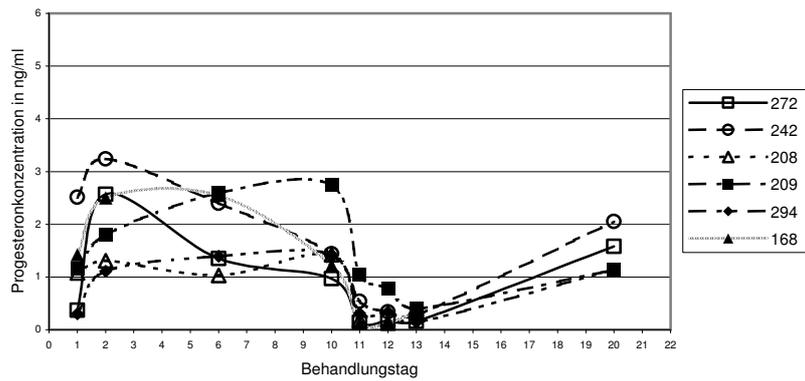


Abbildung 12: Progesteronkonzentrationen bei Rindern der Gruppe 4 nach PRID α +PGF $_{2\alpha}$

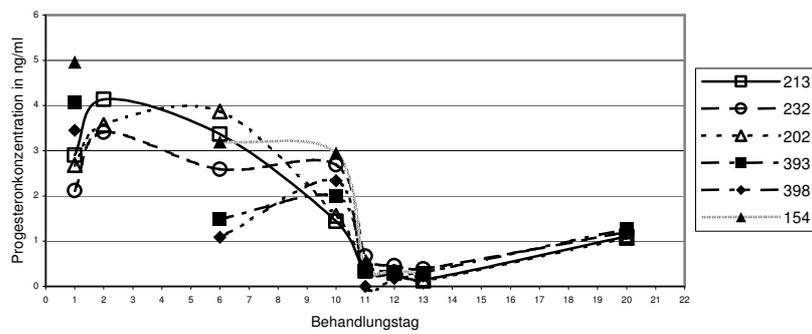


Abbildung 13: Progesteronkonzentrationen bei Rindern der Gruppe 5 nach PRID α +PGF $_{2\alpha}$

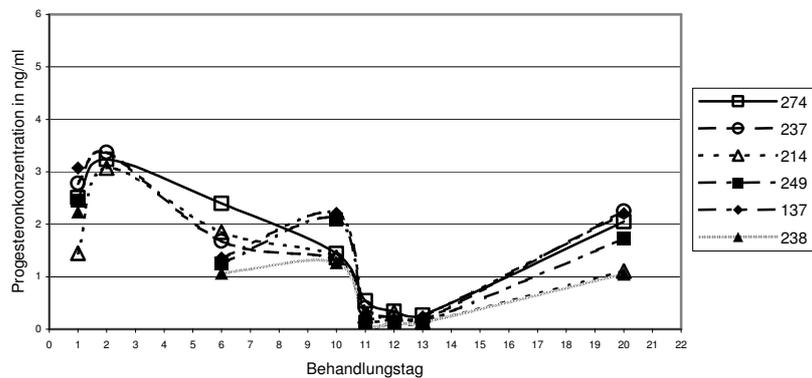


Abbildung 14: Progesteronkonzentrationen bei Rindern der Gruppe 6 nach PRID α +PGF $_{2\alpha}$

4.3.3 Östradiolkonzentrationen nach PRID α und PGF $_{2\alpha}$

Die Mittelwerte für die E2-Konzentrationen nach der Behandlung mit PRID α in den Gruppen 4 - 6 lagen an Tag 11 zwischen 14 pg/ml und 20 pg/ml. Wie nach der Behandlung mit PRID unterscheiden sich die Mittelwerte zwischen den Gruppen nicht signifikant. Am Tag 12 blieben die Mittelwerte innerhalb der Gruppen nahezu unverändert, bis Tag 13 fielen die mittleren E2-Konzentrationen in den Gruppen tendenziell ab. Die Konzentrationsverläufe der einzelnen Tiere in den Gruppen 4 - 6 sind in den Abbildungen 15 - 17 dargestellt.

In Gruppe 5 wurden bei dem Tier 154 die höchsten Werte von 25,8 pg/ml am Tag 11 und 27,9 pg/ml am Tag 12 gemessen (Abb. 16). Dies korreliert mit drei Follikeln >10 mm am Tag 10.

Nach Berechnung der Mittelwerte können innerhalb der Gruppen zu den drei Untersuchungszeitpunkten (Tag 11, 12 und 13) keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Die Mittelwerte der E2-Konzentrationen sind zum selben Zeitpunkt zwischen den Gruppen ebenfalls nicht signifikant verschieden.

Tab. 16: Mittleren Östradiolkonzentrationen der Gruppen 4 – 6 nach der Behandlung PRID α und PGF $_{2\alpha}$

Behandlungsbeginn	ZT 3/4	11/12	17/18
Tierzahl (n)	6	5	6
Untersuchungstag	(pg/ml) LSM \pm SE	(pg/ml) LSM \pm SE	(pg/ml) LSM \pm SE
D11	15,11 \pm 1,93	14,43 \pm 2,11	19,97 \pm 1,93
D12	16,14 \pm 1,93	14,49 \pm 2,11	18,64 \pm 1,93
D13	12,85 \pm 1,93	13,68 \pm 2,11	13,36 \pm 1,93

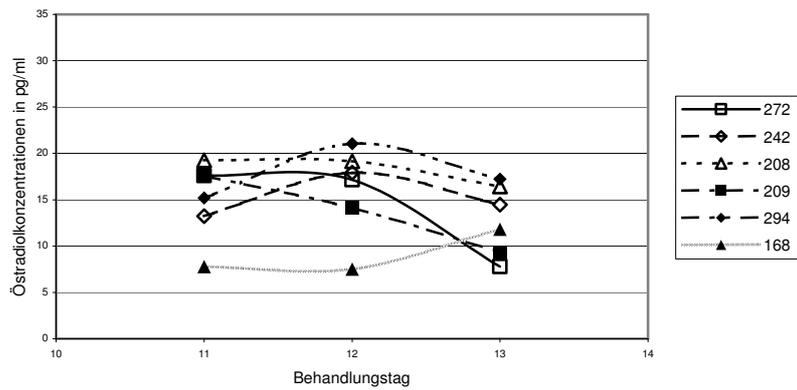


Abbildung 15: Östradiolkonzentrationen bei Rindern der Gruppe 4 nach PRID α und PGF $_{2\alpha}$

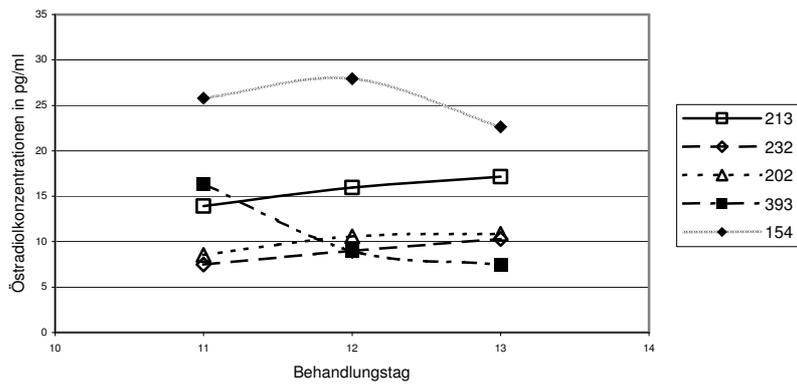


Abbildung 16: Östradiolkonzentrationen bei Rindern der Gruppe 5 nach PRID α und PGF $_{2\alpha}$

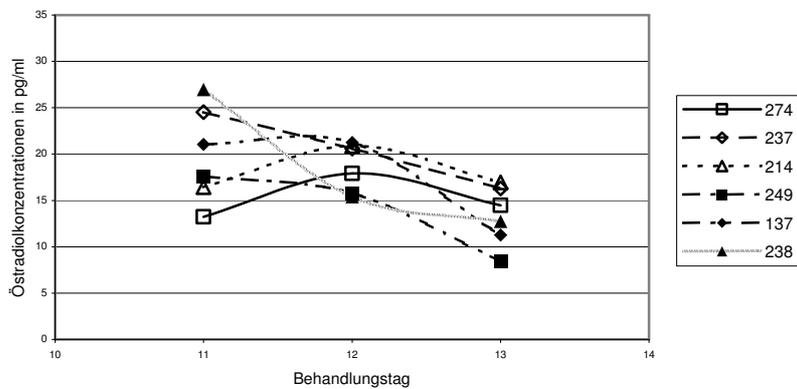


Abbildung 17: Östradiolkonzentrationen bei Rindern der Gruppe 6 nach PRID α und PGF $_{2\alpha}$

4.3.4 Intervalle PRID-Entnahme bis LH-Peak und Entnahme bis Ovulation

Das Intervall von der Entnahme der Spirale und der PGF_{2α}-Injektion bis zum Auftreten des LH-Peaks wurde in den Gruppen 4 – 6 bei allen Tieren diagnostisch erfasst. Die Mittelwerte liegen zwischen 50,7 h und 61,0 h (Tab. 17). Sie unterscheiden sich zwischen den Gruppen nicht signifikant. Auffällig sind auch hier die großen Konfidenzintervalle, die zwischen 39 h und 72 h nach Entfernen der Spirale liegen. Die LH-Konzentrationen der Einzeltiere sind der Tabelle 34 - 36 im Anhang zu entnehmen.

Tab. 17: Intervall PRID-Entnahme bis LH-Peak nach der Behandlung PRID α und PGF_{2 α}

Behandlungsbeginn	ZT 3/4	11/12	17/18
Tierzahl (n)	6	6	6
Intervall (h) $\bar{x} \pm s$	59,33 \pm 5,49	61,00 \pm 5,49	50,67 \pm 5,49
Konfidenzintervall (h)	48,1 – 70,6	49,7 – 72,3	39,4 – 61,9

Das Intervall von der Entnahme der Spirale bis zur Ovulation wurde bei 17 von 18 untersuchten Jungrindern in den Gruppen 4 – 6 im Untersuchungszeitraum erfasst. Die Mittelwerte liegen zwischen 74,0 h und 82,5 h. Sie unterscheiden sich zwischen den Gruppen nicht signifikant. Die Konfidenzintervalle liegen zwischen 64 h und 92 h.

Die Intervalle von der Entnahme der Spirale bis zur Ovulation sind für die Einzeltiere in den Gruppen im Anhang in Tabelle 37 aufgeführt.

Tab. 18: Intervall PRID-Entnahme bis Ovulation nach der Behandlung PRID α und PGF_{2 α}

Behandlungsbeginn	ZT 3/4	11/12	17/18
Tierzahl (n)	6	5	6
Intervall (h) $\bar{x} \pm s$	82,50 \pm 4,78	79,80 \pm 5,24	74,00 \pm 4,78
Konfidenzintervall (h)	72,7 – 92,3	69,0 – 90,6	64,2 – 83,8

Wie auch nach der Behandlung mit der PRID-Spirale ist das Intervall LH-Peak bis zur Ovulation in allen Gruppen konstant. Die Mittelwerte für die Gruppen liegen zwischen 23,2 h und 25,8 h. Sie unterscheiden sich zwischen den Gruppen nicht signifikant. Die Daten für die Einzeltiere sind in der Tabelle 37 im Anhang aufgeführt.

Tab. 19: Intervall LH-Peak bis Ovulation nach der Behandlung mit PRID α und PGF $_{2\alpha}$

Behandlungsbeginn	ZT 3/4	11/12	17/18
Tierzahl (n)	6	6	6
Intervall (h) $\bar{x} \pm s$	23,17 \pm 1,19	25,80 \pm 1,30	23,33 \pm 1,19
Konfidenzintervall (h)	20,7 – 25,6	23,1 – 28,5	20,9 – 25,8

4.4 Vergleichende Darstellung der Ergebnisse zwischen den Gruppen PRID mit PGF_{2α} und PRIDα mit PGF_{2α}

4.4.1 Follikelanzahl während der PRID-Behandlung

Die mittlere Anzahl Follikel mit einem Durchmesser >10 mm war zwischen den Behandlungsvarianten PRID mit PGF_{2α} bzw. PRIDα mit PGF_{2α} zum Behandlungsbeginn und zum Zeitpunkt der Entfernung der Spiralen nicht signifikant verschieden (Tab. 20 – 22). In der Behandlungsvariante PRID mit PGF_{2α} wurden in der Gruppen 1 zu den Zeitpunkten D 4 und D 7 signifikant niedrigere Follikelzahlen in der genannten Klasse als in der Gruppe 4 nach Anwendung der Behandlungsvariante PRIDα mit PGF_{2α} festgestellt. Darüber hinaus war die mittlere Follikelzahl in der Gruppe 2 zum Zeitpunkt D 7 signifikant niedriger als zum gleichen Zeitpunkt in der Gruppe 5. Am Ende der Behandlung wiesen alle Tiere mit Ovulation unabhängig von der Behandlung und unabhängig vom Zyklusstadium zu Beginn der Behandlung einen oder mehr Follikel >10 mm auf.

Tab. 20: Anzahl Follikel >10 mm bei Behandlungsbeginn 3./4. Zyklustag in Abhängigkeit von der Behandlung

Behandlungsbeginn	ZT 3/4 Gruppen 1 und 4		
Behandlung	PRID	PRIDα	
Tierzahl (n)	(6)	(6)	
Untersuchungstag	Follikelanzahl (n) LSM ± SE	Follikelanzahl (n) LSM ± SE	p - Werte
D1	0,17 ± 0,17	0,67 ± 0,33	p = 0,309
D4	0,00 ^A ± 0,00	0,83 ^B ± 0,30	p = 0,020
D7	0,50 ^C ± 0,22	1,33 ^D ± 0,21	p = 0,021
D10	0,83 ± 0,17	1,50 ± 0,34	p = 0,109

Tab. 21: Anzahl Follikel >10 mm bei Behandlungsbeginn 11./12. Zyklustag in Abhängigkeit von der Behandlung

Behandlungsbeginn	ZT 11/12 Gruppen 2 und 5		
Behandlung	PRID	PRID α	
Tierzahl (n)	(6)	(6)	
Untersuchungstag	Follikelanzahl (n) LSM \pm SE	Follikelanzahl (n) LSM \pm SE	p - Werte
D1	0,83 \pm 0,17	0,67 \pm 0,21	p = 0,699
D4	1,00 \pm 0,26	1,17 \pm 0,31	p = 0,328
D7	0,33 \pm 0,21	1,33 \pm 0,21	p = 0,007
D10	1,17 \pm 0,17	1,17 \pm 0,17	p = 1,000

Tab. 22: Anzahl Follikel >10 mm bei Behandlungsbeginn 17./18. Zyklustag in Abhängigkeit von der Behandlung

Behandlungsbeginn	ZT 17/18 Gruppen 3 und 6		
Behandlung	PRID	PRID α	
Tierzahl (n)	(6)	(6)	
Untersuchungstag	Follikelanzahl (n) LSM \pm SE	Follikelanzahl (n) LSM \pm SE	p - Werte
D1	1,50 ^A \pm 0,43	1,00 ^B \pm 0,26	p = 0,341
D4	1,33 \pm 0,42	1,00 \pm 0,26	p = 0,168
D7	1,50 \pm 0,43	0,83 \pm 0,31	p = 0,235
D10	1,50 ^C \pm 0,34	1,33 ^D \pm 0,21	p = 0,937

4.4.2 Progesteronkonzentrationen

Beim Einsetzen der Spiralen unterschieden sich die mittleren P4-Konzentrationen zwischen den Gruppen 1 und 4 nicht signifikant. Am Ende der Behandlung waren die P4-Konzentrationen in der Gruppe 1 signifikant höher als bei Tieren aus Gruppe 4. Nach Entnahme der Spiralen unterschieden sich die P4-Konzentrationen nicht signifikant zwischen den Gruppen (Tab. 23).

Tab. 23: Progesteronkonzentrationen bei Behandlungsbeginn 3./4. Zyklustag in Abhängigkeit von der Behandlung

Behandlungsbeginn	ZT 3/4 Gruppen 1 und 4		
Behandlung	PRID	PRID α	
Tierzahl (n)	6	6	
Untersuchungstag (Tierzahl n)	(ng/ml) x \pm s	(ng/ml) x \pm s	p - Werte
D1	1,16 \pm 0,40	1,14 \pm 0,40	1,0000
D2	3,14 \pm 0,28	2,09 \pm 0,28	0,1301
D6	2,98 \pm 0,28	1,885 \pm 0,28	0,0857
D10	3,18 ^A \pm 0,22	1,535 ^B \pm 0,22	0,0001
D11	0,91 \pm 0,12	0,39 \pm 0,12	0,0512
D12	0,55 \pm 0,05	0,32 \pm 0,05	0,0460
D13	0,34 \pm 0,04	0,27 \pm 0,04	0,8001
D20	1,70 \pm 0,21	1,48 \pm 0,25	0,9544

^{A:B}p<0,05

Beim Einsetzen der Spiralen unterschieden sich die mittlerer P4-Konzentrationen zwischen den Gruppen 2 und 5 nicht signifikant. Am Ende der Behandlung waren die P4-Konzentrationen in der Gruppe 2 nicht signifikant von denen in der Gruppe 5 verschieden. Nach Entnahme der Spiralen unterschieden sich die P4-Konzentrationen nicht signifikant zwischen den Gruppen (Tab. 24).

Tab. 24: Progesteronkonzentrationen bei Behandlungsbeginn 11./12. Zyklustag in Abhängigkeit von der Behandlung

Behandlungsbeginn	ZT 11/12 Gruppen 2 und 5		
Behandlung	PRID	PRID α	
Tierzahl (n)	6	6	
Untersuchungstag	(ng/ml) x \pm s	(ng/ml) x \pm s	p-Werte
D1	3,49 \pm 0,40	3,36 \pm 0,40	0,9999
D2	5,16 \pm 0,28	3,71 \pm 0,40	0,0634
D6	3,91 \pm 0,28	2,60 \pm 0,28	0,0253
D10	1,85 \pm 0,22	2,16 \pm 0,22	0,9102
D11	0,35 \pm 0,12	0,40 \pm 0,12	0,9997
D12	0,37 \pm 0,05	0,32 \pm 0,05	0,9809
D13	0,23 \pm 0,037	0,25 \pm 0,04	0,9983
D20	2,45 \pm 0,21	1,16 \pm 0,25	0,0057

Bei den Tieren, bei denen die Behandlung am 17./18. Zyklustag begonnen wurde (Gruppen 3 und 6), unterschieden sich die mittleren P4-Konzentrationen für keinen Zeitpunkt (Tab. 25).

Tab. 25: Progesteronkonzentrationen bei Behandlungsbeginn 17./18. Zyklustag in Abhängigkeit von der Behandlung

Behandlungsbeginn	ZT17/18 Gruppen 3 und 6		
Behandlung	PRID	PRID α	
Tierzahl (n)	6	6	
Untersuchungstag	(ng/ml) $\bar{x} \pm s$	(ng/ml) $\bar{x} \pm s$	p-Werte
D1	1,56 \pm 0,40	2,42 \pm 0,40	0,6608
D2	2,64 \pm 0,28	3,23 \pm 0,40	0,8274
D6	1,81 \pm 0,28	1,60 \pm 0,28	0,9946
D10	1,56 \pm 0,22	1,62 \pm 0,22	1,0000
D11	0,41 \pm 0,12	0,29 \pm 0,12	0,9791
D12	0,41 \pm 0,12	0,22 \pm 0,05	0,4685
D13	0,36 \pm 0,05	0,18 \pm 0,04	0,9941
D20		1,73 \pm 0,21	

4.4.3 Östradiolkonzentrationen

Die E2-Konzentrationen nach den Behandlungen PRID mit PGF_{2 α} bzw. PRID α mit PGF_{2 α} unterschieden sich in den Gruppen 1 und 3 bzw. 2 und 5 nicht signifikant. Die mittleren E2-Konzentrationen der Tiere in Gruppe 6 waren signifikant höher als die der Tiere in Gruppe 3 (Tab. 26 – 28).

Tab. 26: Östradiolkonzentrationen nach Behandlungsbeginn 3./4. Zyklustag in Abhängigkeit von der Behandlung

Behandlungsbeginn	ZT 3/4 Gruppen 1 und 3		
Behandlung	PRID	PRID α	
Tierzahl	6	6	
Untersuchungstag	(pg/ml) $x \pm s$	(pg/ml) $x \pm s$	p-Werte
D11	12,70 \pm 1,93	15,11 \pm 1,93	0,9738
D12	10,08 \pm 1,93	16,14 \pm 1,93	0,2078
D13	8,69 \pm 1,93	12,85 \pm 1,93	0,4673

Tab. 27: Östradiolkonzentrationen nach Behandlungsbeginn 11./12. Zyklustag in Abhängigkeit von der Behandlung

Behandlungsbeginn	ZT11/12 Gruppen 2 und 5		
Behandlung	PRID	PRID α	
Tierzahl	6	5	
Untersuchungstag	(pg/ml) $x \pm s$	(pg/ml) $x \pm s$	p-Werte
D11	14,30 \pm 1,93	14,43 \pm 2,11	1,0000
D12	16,57 \pm 1,93	14,49 \pm 2,11	0,9710
D13	11,55 \pm 1,93	13,68 \pm 2,11	0,9457

Tab. 28: Östradiolkonzentrationen nach Behandlungsbeginn 17./18. Zyklustag in Abhängigkeit von der Behandlung

Behandlungsbeginn	ZT 17/18 Gruppen 3 und 6		
Behandlung	PRID	PRID α	
Tierzahl	6	6	
Untersuchungstag	(pg/ml) $x \pm s$	(pg/ml) $x \pm s$	p-Werte
D11	9,98 \pm 1,93	19,97 \pm 1,93	0,0443
D12	10,62 \pm 1,93	18,64 \pm 1,93	0,0439
D13	9,23 \pm 1,93	13,36 \pm 1,93	0,4756

4.4.4 Intervalle PRID-Entnahme bis LH-Peak und Entnahme bis Ovulation

Die mittleren Intervalle von der Entnahme der Spiralen bis zu den LH-Peaks bzw. bis zu den Ovulationen unterscheiden sich zwischen den zwei Behandlungen PRID mit PGF_{2α} und PRIDα mit PGF_{2α} zu den jeweiligen Behandlungsterminen nicht signifikant (Tab. 29; 30).

Tab. 29: Intervall PRID-Entnahme bis LH-Peak in Abhängigkeit von der Behandlung

Behandlungsbeginn	ZT 3/4 Gruppen 1 und 4		
Behandlung	PRID	PRIDα	p-Wert
Tierzahl (n)	3	6	
Intervall (h) $\bar{x} \pm s$	55,33 ± 7,77	59,33 ± 5,49	0,9981
Behandlungsbeginn	ZT 11/12 Gruppen 2 und 5		
Behandlung	PRID	PRIDα	p-Wert
Tierzahl (n)	6	6	
Intervall (h) $\bar{x} \pm s$	56,33 ± 5,49	61,00 ± 5,49	0,9901
Behandlungsbeginn	ZT 17/18 Gruppen 3 und 6		
Behandlung	PRID	PRIDα	p- Wert
Tierzahl (n)	6	6	
Intervall (h) $\bar{x} \pm s$	56,00 ± 5,49	50,67 ± 5,49	0,9819

Tab. 30: Intervall PRID-Entnahme bis Ovulation in Abhängigkeit von der Behandlung

Behandlungsbeginn	ZT 3/4 Gruppen 1 und 4		
Behandlung	PRID	PRID α	p-Wert
Tierzahl (n)	4	6	
Intervall (h) $x \pm s$	79,00 \pm 6,76	82,50 \pm 4,78	0,9981
Behandlungsbeginn	ZT 11/12 Gruppen 2 und 5		
Behandlung	PRID	PRID α	p-Wert
Tierzahl (n)	6	5	
Intervall (h) $x \pm s$	(h) $x \pm s$	(h) $x \pm s$	
	80,00 \pm 4,78	79,80 \pm 5,24	1,0000
Behandlungsbeginn	ZT 17/18 Gruppen 3 und 6		
Behandlung	PRID	PRID α	p-Wert
Tierzahl (n)	6	6	
Intervall (h) $x \pm s$	(h) $x \pm s$	(h) $x \pm s$	
	79,17 \pm 4,78	74,00 \pm 4,78	0,9711

4.5 PRID α und PGF_{2 α} mit nachfolgender Ovulationsinduktion mit GnRH

Basierend auf den Ergebnissen aus den Untersuchungen zum Ovulationszeitraum nach PRID und PGF_{2 α} bzw. PRID α und PGF_{2 α} wurden im dritten Versuchsabschnitt alle Tiere erneut mit PRID α und PGF_{2 α} behandelt, um anschließend eine in Bezug auf die biologischen Prozesse von Follikelreifung und Ovulation optimierte Ovulationsinduktion mit GnRH durchzuführen. Das Ziel der Ovulationsinduktion bestand in der zeitlichen Komprimierung des Ovulationszeitraumes. Dazu erfolgte die Applikation von GnRH 50 h nach der Entfernung der Vaginalspiralen. Der Behandlungsbeginn mit PRID α erfolgte unabhängig vom Zyklusstadium der Rinder.

4.5.1 Progesteronkonzentrationen während der Behandlung mit PRID α , unabhängig vom Zyklusstadium

Im dritten Versuchsabschnitt wurden stichprobenartig von jedem zweiten Tier Blutproben zur Bestimmung der P4-Konzentrationen während und nach der Behandlung entnommen. Diese waren zu Beginn der Behandlung je nach Zyklusstadium der einzelnen Tiere entsprechend unterschiedlich. Bei acht von neun Tieren war ein Anstieg der P4-Konzentration nach Einsetzen der Spirale erkennbar. Die Konzentrationen lagen an Tag 6 und 10 zwischen 1,5 ng/ml und 3,5 ng/ml. Nach Entnahme der Spiralen sanken die P4-Konzentrationen am Tag 12 bei allen Tieren unter 1 ng/ml. Acht Tage nach Erreichen der tiefsten Konzentrationen wurden Werte zwischen 1,5 ng/ml und 3 ng/ml ermittelt.

Die P4-Konzentrationen sind in der Abbildung 18 dargestellt.

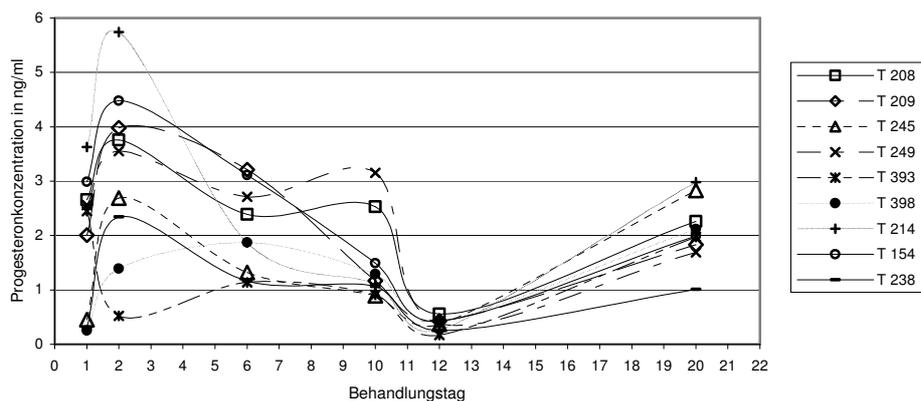


Abbildung 18: Progesteronkonzentrationen nach PRID α und PGF $_{2\alpha}$ mit Ovulationsinduktion

4.5.2 Intervalle PRID-Entnahme bis LH-Peak und Entnahme bis Ovulation

Die GnRH-Applikation führte bei allen Tieren zu einer erhöhten LH-Sekretion. Maximale LH-Konzentrationen wurden durchschnittlich 2 h nach der GnRH-Gabe erreicht. Sechs von 18 Rindern hatten bereits kurz vor der GnRH-Gabe (50 h nach der Entfernung der Spirale) erhöhte endogene LH-Konzentrationen. Bei diesen Tieren löste die GnRH-Applikation einen erneuten Anstieg der peripheren LH-Konzentrationen aus. Die LH-Konzentrationsverläufe sind in den Abbildungen 19 und 20 dargestellt.

Das mittlere Intervall von der Entnahme der Vaginalspirale bis zum LH-Peak betrug 53,0 h. Das Konfidenzintervall für den Parameter beträgt 52,4 h bis 53,6 h. Damit konnte dieses im Vergleich zu den entsprechenden Intervallen aus den Experimentalabschnitten I und II signifikant eingengt werden. Dementsprechend wirkte sich dies auch auf das Zeitintervall von der Entnahme der Spiralen bis zu den Ovulationen aus, das nach Ovulationssynchronisation im Mittel 77,7 h betrug und nur noch ein Konfidenzintervall von 75,2 h bis 80,0 h aufwies. Das mittlere Intervall vom LH-Peak bis zur Ovulation betrug 24,3 h mit einem Konfidenzintervall von 21,9 h bis 26,8 h.

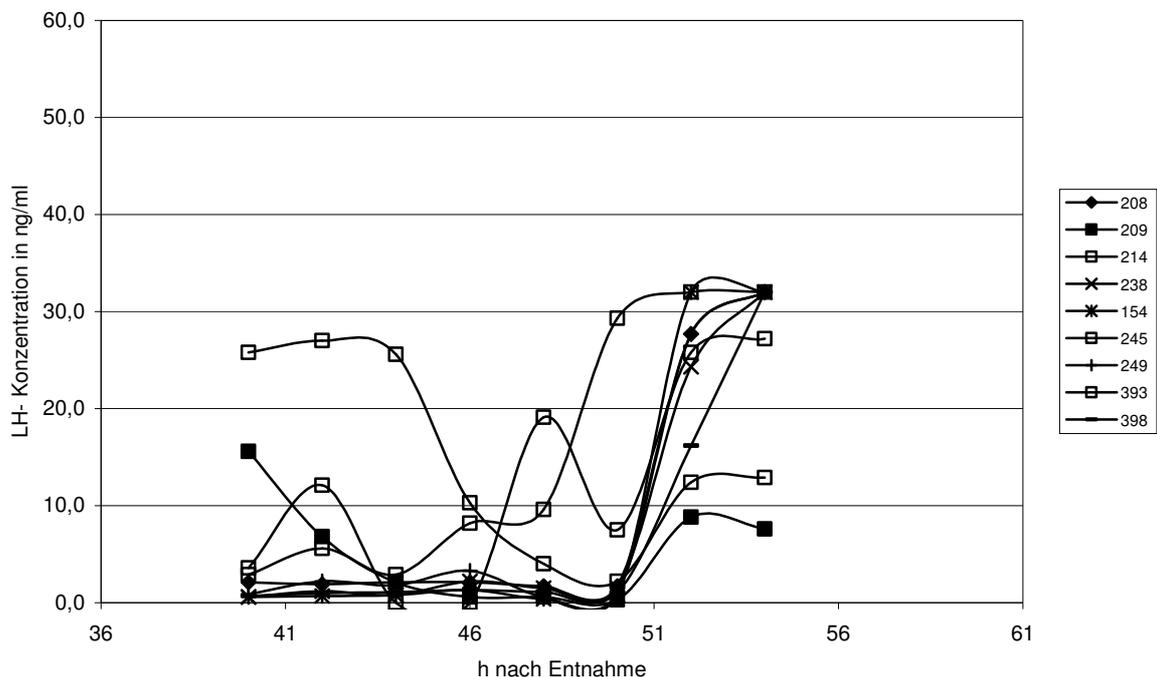


Abbildung 19: LH-Konzentrationen nach PRID α und PGF $_{2\alpha}$ und GnRH

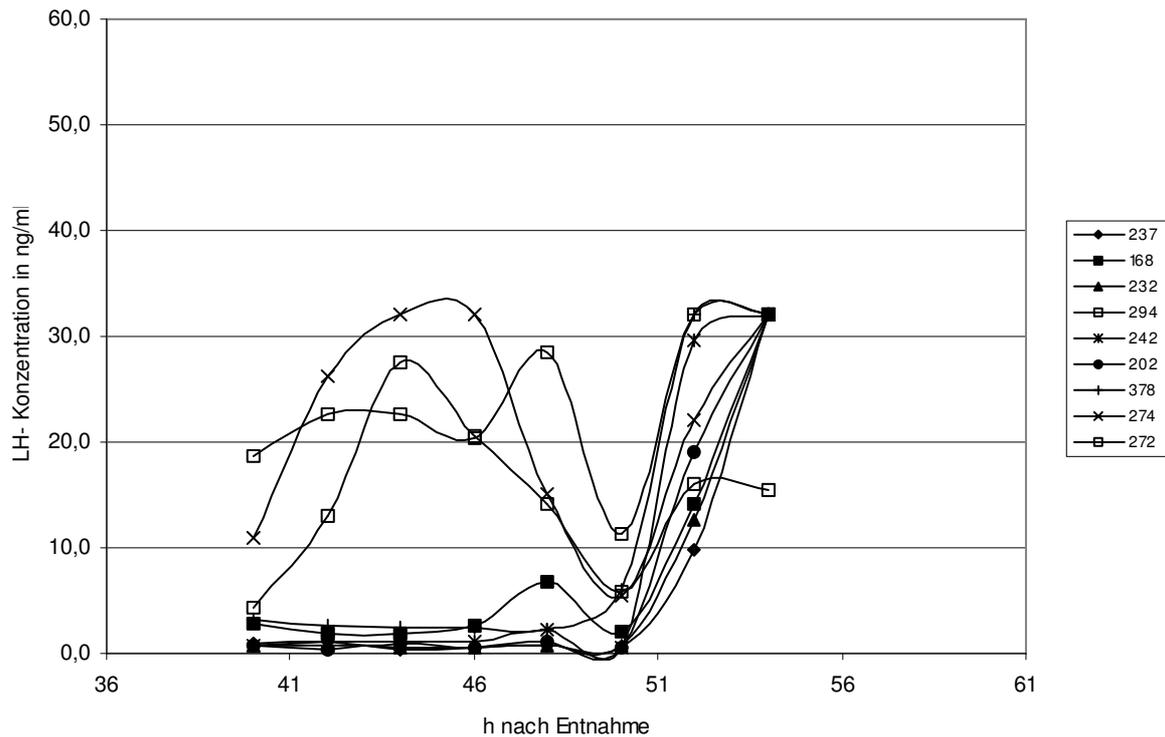


Abbildung 20: LH-Konzentrationen nach PRID α und PGF $_{2\alpha}$ und GnRH

4.5.3 Befruchtungserfolg nach Embryonengewinnung

Die brunst- und ovulationssynchronisierten Tiere wurden 13 h nach der Ovulationsinduktion terminorientiert einmalig besamt. Bei allen Tieren wurde sieben Tage später ein aus den Ovulationen resultierender Gelbkörper palpiert, in einem Fall (Tier 168) zwei. Um den Befruchtungserfolg zu kontrollieren, wurden die Tiere zur Embryonengewinnung einer Uterusspülung unterzogen. Dabei wurde von 11 Tieren ein Embryo und von einem Rind eine Eizelle gewonnen. Das entspricht einer Gewinnungsrate von 66,6 % und einer Befruchtungsrate von 91,6 %.

5 Diskussion

Gegenwärtig wird in Europa die Mehrzahl aller Rinder, die einer Besamung zugeführt werden, brunstororientiert besamt. Bei einer durchschnittlichen Brunsterkennungsrate von weniger als 60 % (**Olson 1993, Heuwieser und Mansfeld 1995, De Rensis und Peters 1999, Drillich 1999, Kanitz und Becker 2005**) in leistungsstarken Milchrindherden scheint es sowohl sinnvoll, nach alternativen Methoden der Brunsterkennung, als auch nach Möglichkeiten für die Festlegung des optimalen Zeitpunktes für die künstliche Besamung zu suchen.

Neben der konventionellen, visuellen Brunstbeobachtung werden zahlreiche Hilfsmittel zur Brunsterkennung eingesetzt, die aber bisher die Wünsche nach Realisierung einer hohen Brunsterkennungsrate und Festlegung des Besamungszeitpunktes nur bedingt erfüllen (**Diskin et al. 2002, Becker et al. 2004**). Die Besamung sollte optimalerweise 8 – 12 h nach Brunstbeginn durchgeführt werden. Da aber die Feststellung des Ereignisses „Brunstbeginn“ bereits mit Problemen behaftet ist und darüber hinaus interindividuelle Variationen für das Intervall Brunstbeginn bis Ovulation die Festsetzung des optimalen Besamungszeitpunktes erschweren, ist es sinnvoll, den Termin für die Durchführung der künstlichen Besamung nicht am Ereignis „Brunstbeginn“, sondern am Ereignis „Ovulation“ auszurichten.

Ein geeigneter Parameter, der die Ovulation voraussagt, ist der LH-Peak (**Pursley et al. 1995, Bage et al. 2002, Roelofs et al. 2004**). Methoden zum Nachweis des LH-Anstiegs sind jedoch mit hohem Aufwand verbunden und unter Produktionsbedingungen nicht praktikabel. Eine mögliche Alternative, den bestmöglichen Besamungstermin zu finden, kann deshalb die Induktion/Synchronisation des LH-Peaks und damit der Ovulation zum optimalen Zeitpunkt sein. Dabei sollten die physiologischen Abläufe von Brunst und Ovulation beachtet werden. Die aktuell zur Verfügung stehenden Verfahren zur Brunst- und Ovulationssynchronisation mit terminierter Besamung legen für die Terminierung der Besamung meist den Brunstbeginn und nicht das Ereignis Ovulation zu Grunde. **Kanitz et al. (1996)** untersuchten das Intervall von einer PGF_{2α}-Behandlung bis zum LH-Peak in Abhängigkeit vom Zyklusstadium zum Zeitpunkt der PGF_{2α}-Behandlung. Dabei traten signifikante Mittelwertdifferenzen für diesen Parameter auf. Gleichzeitig konnte aber auch gezeigt werden, dass eine GnRH-Applikation 65 h nach der PGF_{2α}-Behandlung zu einer sehr guten Synchronisation des LH-Peaks führte.

Auf der Basis der genannten Ergebnisse konnten **Kanitz und Becker (2005)** zeigen, dass nach Brunst- und Ovulationssynchronisation sowie terminierter Besamung vergleichsweise höhere Trächtigkeitsraten als in Kontrollgruppen erzielt wurden. Voraussetzung für die erfolgreiche Anwendung des Verfahrens ist jedoch ein aktives Corpus luteum.

Da P4 unabhängig vom Zyklusstadium zur Brunstsynchronisation eingesetzt werden kann, sollte in der eigenen Arbeit das Ovulationsverhalten nach Behandlung mit PRID bzw. PRID α untersucht werden.

5.1 Östrusrate

Nach der Anwendung von P4 oder anderen Gestagenen zur Brunst- und Ovulationssynchronisation können im Allgemeinen gute Synchronisationseffekte erreicht werden. Nach Anwendung von P4 enthaltenden Vaginalspiralen wurden bei 70 bis 95 % der Tiere innerhalb von 5 Tagen Brunstsymptome festgestellt. Die ersten Brunstanzeichen wurden 30 h bis 90 h nach Entnahme der Spirale gesehen. Die meisten Tiere zeigten erste Brunstsymptome nach 45 h bis 66 h (**Smith et al. 1984, Munro und Moore 1985, Tjondronegoro und Williamson 1987, Lourens 1988, Broadbent et al. 1993, Smith and Stevenson 1995, Kuroiwa et al. 2005**). Die Östrusrate der behandelten Tiere in der eigenen Arbeit betrug 86 %, wovon bei 28 von 31 Tieren erste Brunstanzeichen innerhalb von 66 h gesehen wurden. In Abhängigkeit von der Behandlungsdauer und der Kombination mit luteolytisch wirksamen Hormonen können die Östrusraten und der Brunstbeginn variieren. Die Jungrinder wurden, zu drei verschiedenen Zyklusstadien beginnend, über 9 Tage behandelt und erhielten am Tag der Entnahme PGF_{2 α} . Die Östrusraten zwischen den Behandlungen PRID (83,3 %) und PRID α (88,8 %) unterschieden sich nicht signifikant. Ähnliches stellten **Kuroiwa et al. (2005)** fest, die Jungrinder 12 Tage lang mit der PRID-Spirale (83,3 %; n=6) und der PRID-Spirale ohne E2 (80,0%; n=5) behandelt hatten.

5.2 Follikelanzahl

In den eigenen Untersuchungen wurden Jungrinder an verschiedenen Zyklustagen mit PRID oder PRID α (ohne Östradiol) behandelt. Erwartungsgemäß wurden in den Gruppen 1 und 4 mit Behandlungsbeginn 3./4. ZT bei Einsetzen der Spirale größtenteils noch keine Follikel >10 mm vorgefunden. In den Gruppen 2 und 5 mit Behandlungsbeginn 11./12. ZT war dagegen die Variation bzgl. des Vorhandensein großer Follikel zu Behandlungsbeginn größer, Jungrinder aus den Gruppen 3 und 6, die am Ende des Zyklus behandelt wurden, wiesen einen oder mehr Follikel >10 mm auf. Dies entspricht dem physiologischen Auftreten dominanter Follikel im Zyklusgeschehen wie es von **Ginther et al. (1989, 2001a)** beschrieben wurde. Demnach können bei Zyklen mit dreiwelligem Verlauf ab Tag 3/4 der dominante Follikel der ersten Follikelreifungswelle, an Tag 11/12 der zweite dominante Follikel und an Tag 17/18 der dominante Follikel der dritten Follikelreifungswelle erwartet werden. Die Selektion zwischen dem künftigen dominanten und dem zweitgrößten Follikel erfolgt, wenn diese eine Größe von $8,3 \pm 0,2$ und $7,8 \pm 0,2$ mm haben. Die dominanten Follikel setzen ihr Wachstum nach der Selektion fort und erreichen innerhalb von 3 – 4 Tagen eine Größe von 12 – 20 mm (**Kanitz et al. 2001**). So haben Follikel der Tiere aus Gruppe 1 und 4 am Behandlungstag 3/4 diese Größe noch nicht erreicht. Bei zweiwelligem Zyklusgeschehen wird der dominante Follikel der zweiten Follikelreifungswelle am Tag 12 erwartet. Dies erklärt die Variation im Auftreten großer Follikel in den Gruppen 2 und 5. Bei Tieren mit Behandlungsbeginn an den Tagen 17/18 kann der dominante Follikel der dritten oder zweiten Follikelreifungswelle erwartet werden. Es ist zu beachten, dass es sich bei Follikeln >10 mm nicht automatisch um einen dominanten Follikel handeln muss, sondern es ebenso der zweitgrößte Follikel einer Follikelanbildungswelle kurz vor oder nach der Selektion sein kann. Tiere, bei denen die Progesteronbehandlung am gleichen Zyklustag begonnen wurde, können sich trotzdem in ihrem ovariellen und endokrinen Status unterscheiden, v.a. in den Gruppen mit Behandlungsbeginn in der Mitte und am Ende des Zyklus, je nachdem, ob sie einem zweiwelligem oder dreiwelligen Zyklusgeschehen unterliegen.

Wird eine Brunstsynchronisation unter Verwendung von P4 durchgeführt, soll die Follikelentwicklung in Reifungswellen fortgesetzt werden (**Sirois und Fortune 1990, Adams et al. 1992b**). Andererseits ist bekannt, dass es insbesondere beim Fehlen des Gelbkörpers als endogener Progesteronquelle, oder wenn die Behandlungen gegen Ende des Zyklus begonnen werden, zum Persistieren von Follikeln kommen kann (**Savio et al. 1993, Stock und Fortune 1993, Custer et al. 1994, Kinder et al. 1996**). Eine Applikation von E2 zu Beginn der Behandlung soll eine neue Follikelreifungswelle induzieren und damit am Ende der Behandlung einen wachsenden dominanten Follikel mit vitaler Eizelle garantieren. In der

eigenen Arbeit wurde das Vorhandensein von Follikeln >10 mm zu verschiedenen Zeiten diagnostiziert. Dies ermöglicht keine vollständige Interpretation über das Auftreten und die Anzahl von Follikelreifungswellen, dennoch gibt es diesbezüglich Hinweise. Während in der Gruppe 1 (PRID) von Beginn der Behandlung bis zum Ende die mittlere Anzahl großer Follikel zunahm, wurde dies in der entsprechenden Gruppe 4 (PRID α) nicht beobachtet. Bei Tieren der Gruppe 4 wurde am Tag 4 und 7 eine signifikant höhere Anzahl von Follikeln >10 mm festgestellt als bei Tieren der Gruppe 1. Die Mehrheit der Tiere aus Gruppe 1 wies erst am Tag 7 oder 10 einen großen Follikel auf.

Der Einfluss von E2 und P4 in der frühen Wachstumsphase der ersten Follikelreifungswelle wurde von **Austin et al. (2002)** untersucht. Nach Behandlung von Tieren mit 0,75 mg Östradiolbenzoat und einer PRID-Spirale erreichten diese 12 h früher als Kontrolltiere tiefste FSH-Konzentrationen, die um mehr als das Doppelte gesunken waren als in der Kontrollgruppe. LH-Pulse wurden kaum mehr festgestellt. Dies führte zu einem verzögerten Wachstum kleiner Follikel, einem späteren Erreichen der Dominanz und einem kleineren dominanten Follikel im Vergleich zu unbehandelten Tieren. Bereits **Roche et al. (1999)** stellten eine verzögerte Selektion und einen kleineren dominanten Follikel nach E2- und P4-Behandlung zum Zeitpunkt des Auftretens der ersten Follikelreifungswelle fest. **O'Rourke et al. (1997)** untersuchten den Effekt verschiedener E2-Konzentrationen zu Beginn einer Progesteron-Behandlung in der frühen Zyklusphase. Dazu wurden Jungrinder entweder mit einer CIDR-Spange behandelt (Kontrolle) oder erhielten zusätzlich 0,75 mg oder 5 mg Östradiolbenzoat als Injektion oder 10 mg Östradiolbenzoat als Kapsel intravaginal. Nach der vaginalen Applikation wurden die niedrigsten E2-Konzentrationen im Plasma der Tiere festgestellt. Von den Tieren, die mit E2 behandelt wurden, entwickelte eine geringere Anzahl einen dominanten Follikel als unbehandelte Kontrolltiere. Bei Tieren, die E2 als Injektion bekamen, wurde häufiger das Auftreten einer neuen Follikelreifungswelle beobachtet als bei Tieren, die P4 allein oder in Kombination mit einer intravaginalen Applikation von E2 bekommen hatten.

Auch bei Tieren der Gruppe 2, die an ZT11/12 behandelt wurden, wurden unter der Behandlung mit PRID am Tag 7 ein niedriger Mittelwert für die Follikelanzahl >10 mm festgestellt als in der Gruppe 5 unter der PRID α - Behandlung. Zum Behandlungsende waren in beiden Gruppen jedoch wieder große Follikel vorhanden. In der Gruppe 5 waren die mittleren Follikelzahlen >10 mm während der Behandlung gleichbleibend. Dies könnte auf ein mögliches Follikel-Turn-over bei einem Teil der mit E2 behandelten Tiere hinweisen. **Sawyer et al. (1995)** beobachteten die Atresie und Anbildung einer neuen Follikelreifungswelle innerhalb von 6 – 8 Tagen unter der Behandlung mit PRID während der frühen und späten Lutealphase. Bei drei Tieren, die ohne E2 in der Mitte bzw. in der späten Lutealphase behandelt wurden, blieb der dominante Follikel bestehen oder zeigte ein

langsames Wachstum von 0,5 mm/Tag. Bei zwei Tieren, die in der frühen Lutealphase behandelt wurden, bildete sich der dominante Follikel langsam über 9 Tage zurück und ein neuer Follikel bildete sich mit einer Wachstumsgeschwindigkeit von 1,0 mm/Tag heran.

Burke et al. 1999 behandelten Jungrinder am 13. Zyklustag mit einer CIDR-Spange (1,9 g Progesteron) allein oder mit einer angefügten, 10 mg Östradiolbenzoat enthaltenden Kapsel. Tiere, die mit E2 behandelt wurden, zeigten eine Atresie des dominanten Follikels und entwickelten einen neuen dominanten Follikel am 17. Zyklustag. Grundsätzlich wird die Effektivität einer Östradiolbehandlung auf die Hemmung der Gonadotropine FSH und LH von dem verwendeten Östradiol, der Dosis und der Applikationsform beeinflusst. (**O'Rourke et al. 2000, Diskin et al. 2002, Martinez et al. 2005**).

O'Rourke et al. (2000) verglichen die Effektivität einer intramuskulären mit einer intravaginalen Applikation von Östradiolbenzoat und erreichten mit der intramuskulären Anwendung von 0,5 mg Östradiolbenzoat vergleichbare E2-Konzentrationen im Plasma wie mit 5 bzw. 10 mg Östradiolbenzoat intravaginal verabreicht. Möglicherweise bestehen auch interindividuelle Unterschiede im Hinblick auf die Effektivität einer vaginalen Östradiolapplikation. Nach **Diskin et al. 2002** ist eine zuverlässige Synchronisation einer neuen Follikelreifungswelle erst ab einer E2-Konzentration von 5 – 15 pg/ml im Plasma erfolgreich möglich. Die E2-Konzentrationen während einer PRID-Behandlung mit 10 mg Östradiol-17 β von ovariectomierten Jungrindern lagen 150 Minuten nach Einsetzen bei Höchstwerten von 6 – 7 pg/ml (**Uehlinger et al. 1995**). Möglicherweise ist auch bei intakten Tieren die erreichte E2-Konzentration nicht ausreichend, um die aktuelle Follikelreifungswelle zu beenden und eine neue zu starten. **Bo et al. (1996)** erreichten mit einer intramuskulären Injektion von E2 ein effektiveres und synchroneres Auftreten einer neuen Follikelreifungswelle als nach vaginaler Verabreichung.

Bei den am 17. Zyklustag behandelten Tieren wurde in der eigenen Arbeit kein Unterschied zwischen den Follikelzahlen zu den unterschiedlichen Untersuchungszeiten festgestellt. Dies würde dafür sprechen, dass der dominante Follikel unabhängig von einer Östradiolbehandlung bestehen geblieben ist. **Sirois und Fortune (1990)** behandelten Jungrinder mit einer CIDR-Spange am 14. Zyklustag über 14 Tage und beobachteten ebenfalls einen dominanten Follikel bis zum Ende der Behandlung. **Custer et al. (1994)** stellten hingegen bei 25 von 26 Tieren die Atresie des dominanten Follikels und die Anbildung eines neuen Follikels fest, nachdem Jungrinder an Tag 17 für 7 Tage mit einer PRID-Spirale ohne Östradiolkapsel (1,55 g Progesteron, Sanofi Animal Health) behandelt wurden. Eine mögliche Erklärung hierfür ist der Behandlungsbeginn zu unterschiedlichen Zyklustagen, an denen unterschiedliche P4-Konzentrationen vorliegen und Unterschiede im Follikelstatus bestehen können. In den Untersuchungen von **Sirois und Fortune (1990)** wurden am 14. Zyklustag wider Erwarten nur P4-Konzentrationen von 0,9 bis 2,1 ng/ml

festgestellt, während **Custer et al. (1994)** nach Einsetzen der Spirale am 17. Zyklustag Werte über 2,0 ng/ml für die nächsten drei Tage festgestellt hatten. Unter diesen geringen P4-Konzentrationen steigt die LH-Pulsfrequenz und dies führt zum Persistieren des Follikels. Dies wurde auch beobachtet, wenn bei Behandlungsbeginn bzw. innerhalb von 48 h nach Östradiolbenzoat bereits die endogene Luteolyse eingetreten war und somit nur noch die exogen zugeführte Progesteronquelle zur Verfügung stand (**Burke et al. 1997, Martinez et al. 2005**).

5.3 Progesteronkonzentrationen

In mehreren Arbeiten wurden die Plasmaprogesteronkonzentrationen während und nach einer PRID-Behandlung bei Jungrindern und Kühen bestimmt. Wurde in früheren Arbeiten von Konzentrationen über 6 ng/ml berichtet, werden in neueren Arbeiten nach Anwendung einer PRID-Spirale Konzentrationen zwischen 2 – 3 ng/ml angegeben (**Kojima et al. 1992, Wehrmann et al. 1993, Rathbone et al. 1998**). Ein Vergleich der absoluten P4-Konzentrationen aus früheren Arbeiten ist aufgrund zahlreicher anderer Faktoren nur bedingt möglich. Neben der Anwendung unterschiedlicher Analyseverfahren als Ursache für die unterschiedlichen Ergebnisse müssen auch andere äußere Faktoren bedacht werden. Die P4-Konzentration im Blut kann prinzipiell durch die P4-Synthese und –Sekretion, dessen Verstoffwechslung oder Ausscheidung beeinflusst werden. Dementsprechend haben auch Faktoren wie Alter, Rasse oder Nutzung, Leistung oder auch die Fütterung wesentlichen Einfluss auf die Steroidhormonkonzentrationen (**Royal 2000, Sartori et al. 2002, 2004**). Deswegen ist es generell schwierig die absoluten Hormonkonzentrationen zwischen mehreren Arbeiten zu vergleichen.

Entsprechend den P4-Konzentrationen im Zyklusgeschehen hatten Tiere in den Gruppen 1 und 4, die am Anfang des Zyklus behandelt wurden, und Tiere aus den Gruppen 3 und 6, die am Ende des Zyklus behandelt wurden, zu Behandlungsbeginn niedrigere Konzentrationen als Tiere in den Gruppen 2 und 5. Dementsprechend unterschieden sich auch die Konzentrationsverläufe während der Behandlung. Nach Einsetzen der Spiralen wurde in allen Gruppen ein Anstieg von 1 – 2 ng/ml beobachtet. Dies entspricht zahlreichen anderen Arbeiten (**Roche und Ireland 1981, Robinson et al. 1989, Kojima et al. 1992, Uehlinger et al. 1995, Martinez et al. 2002**). In den Gruppen 1 und 4 stiegen die Konzentrationen bis zu 3 ng/ml an und wurden beibehalten, während in den Gruppen 2 und 5 nach einem Anstieg bis zu 5 ng/ml die Werte bis Behandlungsende stetig gesunken sind. In den Gruppen 3 und 6 fielen die Konzentrationen von anfangs 3 ng/ml auf 1,5 ng/ml bis zum Ende der Behandlung. In der eigenen Arbeit waren die P4-Konzentrationen am Ende der Behandlung in Gruppe 1 höher als in Gruppe 2 und 3. In den Gruppen, die ohne E2 behandelt wurden, konnte kein

Einfluss des Zyklustages zu Beginn der Behandlung auf die Hormonkonzentration festgestellt werden.

Roche und Ireland (1981) behandelten Jungrinder mit der PRID-Spirale über sieben Tage und stellten höhere P4-Konzentrationen nach Behandlungsbeginn am Tag 8 – 10 fest als nach Behandlungsbeginn am Tag 17 – 18. Da sich die P4-Konzentrationen während einer Synchronisationsbehandlung aus dem vorhandenen Gelbkörper als endogener Progesteronquelle und der exogen zugeführten Progesteronquelle zusammensetzen, sind die niedrigeren Konzentrationen mit dem Verlust des Gelbkörpers als endogener Quelle zu erklären. In der eigenen Arbeit waren zwischen den Gruppen 2 und 3 keine zyklusabhängigen Unterschiede feststellbar, ebenso wenig zwischen den Gruppen 4 bis 6.

Roche und Ireland (1981) und Martinez et al. (2002) berichten, dass ab dem 7. Behandlungstag P4-Konzentrationen von 1 – 2 ng nachgewiesen wurden, die denen von ovariectomierten Tieren nach Anwendung von Spiralen entsprechen (**Uehlinger et al. 1995**). Das heißt, dass nach dieser Zeit die endogene Progesteronquelle weitestgehend inaktiv ist. Da in der eigenen Arbeit die Tiere über 9 Tage behandelt wurden, ist es möglich, dass P4-Konzentrationen ebenfalls nur noch aus der exogenen Quelle resultierten und deshalb in den Gruppen 2 bis 5 kein signifikanter Unterschied festgestellt wurde. Die P4-Konzentrationen der Gruppen, die am Zyklustag 11 behandelt wurden, sind am Untersuchungstag 6 in der eigenen Arbeit ebenfalls höher als bei Tieren, die am Zyklustag 17 behandelt wurden. Dies entspricht den Darstellungen bei **Roche und Ireland (1981)**. Die P4-Konzentrationen am Ende der Behandlung sind in Gruppe 1 mit Behandlungsbeginn am Zyklustag 3 dennoch höher als in allen anderen Gruppen. Darüber hinaus sind sie am Tag 10 auch höher als in der entsprechenden Gruppe 4, die ohne E2 behandelt wurde. Dies kann daran liegen, dass die Gelbkörperfunktion nicht nur durch die Progesteronapplikation, sondern auch durch weitere Hormone, wie z.B. das Östradiol-17 β beeinflusst werden kann.

Robinson et al. (1989) und **Kojima et al. (1992)** stellten bei Tieren, die mit einer PRID-Spirale behandelt wurden, niedrigere Konzentrationen fest als bei unbehandelten Kontrolltieren. **Robinson et al. (1989)** stellten fest, dass exogen zugeführtes P4 die endogene Produktion hemmt, v.a. dann, wenn es in der zweiten Hälfte des Zyklus angewendet wird. Die Hemmung der endogenen P4-Konzentration nach Anwendung in der frühen Zyklusphase sei nicht so effektiv, da weniger LH-Rezeptoren vorhanden sind, die die endogene P4-Konzentration regulieren. Damit ist auch die Zufuhr exogenen Progesterons nicht so effektiv. Tiere, die am Tag 11 bzw. 17 behandelt wurden, unterlagen während der Behandlungsdauer von 9 Tagen der endogenen Luteolyse und P4-Konzentrationen resultierten dann vor allem aus der exogenen Quelle, während die P4-Konzentrationen bei Tieren, die zu Beginn des Zyklus behandelt wurden, v.a. aus der endogenen P4-Quelle resultierten.

E2 soll vor allem bei Anwendung in der Lutealphase luteolytische Wirkung haben. **Burke et al. (1999)** berichten über niedrigere P4-Konzentrationen innerhalb von 2 Tagen nach CIDR-Behandlung mit Östradiolkapsel als nach alleiniger CIDR-Behandlung, wenn der Behandlungsbeginn am Zyklustag 13 war. **Munro und Moore (1985)** stellten diesen Effekt nach Behandlung mit einer PRID-Spirale (2,25 g) und einer intramuskulären Injektion von 5 mg Östradiolbenzoat aber erst nach 2 – 7 Tagen fest. Zuvor hatten Tiere, die am Zyklustag 3 und 10 behandelt wurden, zunächst höhere P4-Konzentrationen als Tiere, die zu den entsprechenden Zeiten ohne E2 behandelt wurden. Bei den am Tag 17 behandelten Tieren stellten **Munro und Moore (1985)** sofort nach Injektion von E2 geringere P4-Konzentrationen fest als bei Tieren, die nur mit der PRID-Spirale behandelt wurden. Dieser unterschiedliche Effekt des E2 auf die P4-Konzentrationen scheint vom Zyklusstadium zum Behandlungszeitpunkt beeinflusst zu werden. Möglicherweise lassen sich die höheren P4-Konzentrationen der Gruppe 1 am Ende der Behandlung dadurch erklären, dass der hemmende Effekt des exogenen Progesterons und Östradiols zu Zyklusbeginn nicht so effektiv ist.

Es muss allerdings beachtet werden, dass die Effektivität eines Östradiolesters nach Injektion größer ist als nach Applikation des Östradiols mittels einer an die Spirale angefügten Kapsel (**O'Rourke et al. 2000, Diskin et al. 2002**).

So verwendeten **Kuroiwa et al. (2005)** die PRID-Spirale (1,55 Progesteron) mit oder ohne Östradiolkapsel (10 mg Östradiolbenzoat) für 12 Tage mit Behandlungsbeginn am Tag 2 des Zyklus und stellten keinen Unterschied bzgl. der P4-Konzentration zwischen den Behandlungen fest.

Nach der Behandlung wurden in der eigenen Arbeit in allen Gruppen P4-Konzentrationen < 1 ng/ml festgestellt, die eine erfolgreiche Luteolyse belegen.

5.4 Östradiolkonzentrationen nach der PRID-Behandlung

Die E2-Konzentrationen nach der Behandlung unterschieden sich abhängig vom Zyklustag zu Beginn der Behandlung nicht. In den Gruppen 1 bis 5 wurden höchste E2-Konzentrationen von ca. 9 – 16 pg/ml an den Untersuchungstagen 11 und 12 festgestellt. Auch in Abhängigkeit von der Behandlung PRID und PRID α waren in den Gruppen 1 und 4 und 2 und 5 keine Unterschiede zwischen den E2-Konzentrationen nach der Behandlung festzustellen. In Gruppe 6 wurden signifikant höhere E2-Konzentrationen festgestellt als in Gruppe 3. Dabei wurde der höchste Mittelwert von 19 pg/ml am Tag 11 festgestellt. In allen Gruppen bestätigen die vorliegenden E2-Konzentrationen bei gleichzeitig niedrigen P4-Konzentrationen eine bestehende Brunst nach der Behandlung.

Der dominante Follikel im Proöstrus produziert Östradiol-17 β , welches im Blutplasma gemessen werden kann. Zum Brunstbeginn erfolgt ein Anstieg der E2-Konzentrationen, der dem Anstieg der LH-Konzentrationen zeitlich vorausgeht. Die E2-Konzentrationen korrelieren positiv mit dem präovulatorischen LH-Anstieg (**Rajamahendran und Taylor 1991, Wolfenson et al. 2004, Saumande und Humblot 2005**). So wiesen Tiere aus Gruppe 6 entsprechend höhere LH-Konzentrationen auf als Tiere aus den anderen Gruppen.

Die E2-Konzentrationen nach einer Progesteronbehandlung werden von den P4-Konzentrationen während der Behandlung beeinflusst. Die E2-Konzentrationen am Ende der Behandlung sind höher, wenn während der Behandlung niedrige P4-Konzentrationen vorliegen. Dies kann vom Zyklusstadium zu Beginn der Behandlung abhängen oder von der Dosis der exogen zugeführten Progesteronquelle. So waren die E2-Konzentrationen von Tieren, die in der Follikelphase behandelt wurden, höher als von Tieren, die in der Lutealphase behandelt wurden (**Roche und Ireland 1981, Rajamahendran und Taylor 1991**). Tiere, die in Abwesenheit eines Corpus luteum mit einer PRID-Spirale behandelt wurden, hatten höhere Konzentrationen als Tiere mit Corpus luteum. Erhielten Rinder am Zyklustag 4 – 6 eine PGF_{2 α} -Injektion mit der PRID-Spirale (1,55g Progesteron), waren die E2-Konzentrationen am Tag der Entnahme höher (8,4pg/ml) als bei Rindern, die nur die PRID-Spirale (7,7 pg/ml) für sieben Tage erhalten hatten (**Smith und Stevenson 1995**). Ebenso hatten Tiere, die nach einer Luteolyseinduktion mit nur einer PRID-Spirale behandelt wurden, höhere Konzentrationen als Tiere, die mit zwei Spiralen behandelt wurden (**Roberson et al. 1989, Kojima et al. 1992, Wehrmann et al. 1993**).

Die inverse Beziehung der Steroidkonzentrationen ist also unabhängig davon, ob P4 aus einer exogenen oder endogenen Quelle stammt (**Bergfeld et al. 1995**). In Gruppe 6 wurden nach der Behandlung signifikant höhere E2-Konzentrationen festgestellt als in Gruppe 3. Dennoch unterschieden sich die P4-Konzentrationen zum Ende der Behandlung nicht. Über die gesamte Behandlungsdauer betrachtet hatten aber Tiere mit Behandlungsbeginn am Zyklustag 17 tendenziell niedrigere P4-Konzentrationen als Tiere mit Behandlungsbeginn am Zyklustag 3 oder 11. Diese hatten entweder zum Ende der Behandlung (Behandlungsbeginn ZT 3) oder zu Beginn der Behandlung (Behandlungsbeginn ZT 11) aufgrund der endogenen P4-Quelle aus dem Gelbkörper zeitweise höhere P4-Konzentrationen. Es ist anzunehmen, dass sich unter der Behandlung mit PRID α am Zyklustag 17 unter den niedrigen P4-Konzentrationen über die gesamte Behandlungsdauer von 9 Tagen große Follikel entwickelt haben, die eine erhöhte steroidogene Kapazität haben und somit mehr E2 produzieren als Follikel am Ende der Behandlung in allen anderen Gruppen. Auch **Austin et al. (1999)** berichten über doppelt so hohe E2-Konzentrationen im Plasma, wenn die dominanten Follikel im Proöstrus über 4 – 8 Tage bestehen blieben.

5.5 Intervalle Entnahme bis LH-Peak bzw. bis zur Ovulation

Die Intervalle von der Entnahme der Spiralen bis zum LH-Peak bzw. bis zur Ovulation waren für die Gruppen 1 bis 3 sowie für die Gruppen 4 bis 6 gleich und damit unabhängig vom Zyklusstand zu Beginn der Behandlung. Auch zwischen den Behandlungen PRID und PRID α wurden keine Unterschiede bezüglich dieser Intervalle festgestellt. Für das Intervall Entnahme bis LH-Peak wurden Mittelwerte zwischen 50,6 h und 61,0 h festgestellt, für das Intervall Entnahme bis Ovulation Mittelwerte zwischen 74,0 h und 82,5 h. Auffällig sind die großen Konfidenzintervalle, die eine erfolgreiche terminorientierte Besamung nach alleiniger Progesteron- und PGF_{2 α} -Behandlung nicht zulassen. Für das Intervall Entnahme bis LH-Peak lagen diese zwischen 39 h und 72 h, für das Intervall bis zur Ovulation zwischen 64 h und 93 h.

Die zeitlichen Zusammenhänge über das Auftreten der Ovulation nach PRID-Behandlung entsprechen den Angaben aus anderen Arbeiten (vgl. Kapitel 2.3.3.; Tab. 4 und 5).

Das Intervall LH-Peak bis Ovulation ist mit Mittelwerten von 20 h bis 23 h vergleichbar mit den Werten aus zahlreichen anderen Arbeiten und sehr konstant (**Rajamahendran et al. 1989, Becker et al. 2004, Starbuck et al. 2006, Roelofs et al. 2004**). Allein **Saumande und Humblot (2005)** stellten ein etwas höheres mittleres Intervall von 29 h zwischen LH-Peak und Ovulation bei Kühen fest. Dies wird mit einem veränderten Leistungsanspruch und den sich daraus ergebenden Veränderungen im Steroidmetabolismus und den Ovarfunktionen erklärt.

Das Auftreten des LH-Peaks nach Progesteronbehandlung wurde bereits in früheren Arbeiten untersucht und zeigt eine große Variation. Das Einsetzen der Brunst oder das Auftreten des LH-Peaks nach Synchronisationsverfahren erfordert einen dominanten Follikel zum Ende der Behandlung und eine vollständige Luteolyse. Das zeitliche Auftreten des LH-Peaks kann durch den Entwicklungsstatus des dominanten Follikels zum Ende der Behandlung direkt beeinflusst werden (**Becker 1995**).

Die Wirksamkeit der verwendeten luteolytischen Komponenten E2 und PGF_{2 α} kann je nach Zyklustag zu Beginn der Behandlung und Behandlungsdauer variieren. Ein früheres und einheitlicheres Auftreten des LH-Peaks wurde von **Smith et al. (1984)** und **Fogwell et al. (1986)** beobachtet, wenn die PGF_{2 α} -Applikation bereits einen oder mehrere Tage vor Entnahme der Spirale erfolgte. **Fogwell et al. (1986)** erreichten ein früheres und einheitlicheres Auftreten des LH-Peaks nach PRID-Behandlung über 10 Tage mit einer PGF_{2 α} -Injektion am 7. Tag als nach PRID-Behandlung über 7 Tage und einer PGF_{2 α} -Injektion am 7. Tag bei Behandlungsbeginn zwischen dem 5. und 15. Zyklustag. Tiere, bei denen die Luteolyse bereits drei Tage vor Entnahme der Spirale ausgelöst wurde, hatten bereits im

Mittel 32 h nach Entnahme der Spirale einen LH-Peak, Tiere aus der anderen Gruppe nach 59 h.

Smith et al. (1984) stellten nach einer 7-tägigen Behandlung mit der PRID-Spirale und einer PGF_{2α}-Injektion an Tag 6 ebenfalls ein kürzeres und einheitlicheres Intervall fest als nach Kombination mit der PGF_{2α}-Injektion am Tag der Entnahme der Spirale (51 h ± 2 h bzw. 66 h ± 2 h). Durch die vorgezogene PGF_{2α}-Injektion kommt es zur früheren Luteolyse des evtl. noch bestehenden Gelbkörpers, sodass bei Entfernen der Spirale kein endogenes P4 mehr vorhanden ist. Eine große Variation im Auftreten des LH-Peaks trotz vorgezogener PGF_{2α}-Injektion stellten **Peters et al. (1981)** fest. Sie untersuchten das Auftreten des LH-Peaks bei Kühen nach PRID-Behandlung über 9 Tage mit einer PGF_{2α}-Injektion am 8. Tag unabhängig vom Zyklusstadium zu Beginn der Behandlung. Bei 4 Kühen wurde dieser zwischen 35 h und 68 h festgestellt. Bei einem Tier wurde er 123 h nach Entnahme festgestellt und bei einem Tier wurde kein LH-Peak festgestellt. **Hittinger et al. (2004)** stellten keinen Effekt auf das Auftreten der Brunst und Ovulation fest, wenn die PGF_{2α}-Injektion 24 h vor der Entnahme der Progesteronquelle oder gleichzeitig mit dieser erfolgte. In Gruppen mit einer PGF_{2α}-Injektion 24 h vor der Entnahme der CIDR-Spange waren die P4-Konzentrationen zwar unter 2,0 ng/ml gesunken, aber erst nach Entnahme der CIDR-Spange wurden Konzentrationen unter 1 ng/ml erreicht, vergleichbar mit anderen Gruppen, die PGF_{2α} bei Entnahme der CIDR-Spange erhielten.

Unter Beachtung der Kenntnisse über die Follikelentwicklung bei zyklischen Tieren hängt der Brunsteintritt vom funktionellen Zustand des dominanten Follikels bei der Luteolyse ab (**Sirois und Fortune 1988, Savio et al. 1993**). Ist am Ende der Behandlung eine vollständige Luteolyse gewährleistet, müssen sich die zeitlichen Variationen im Auftreten des LH-Peaks aus dem Entwicklungsstatus des dominanten Follikels ableiten.

Becker et al. (2004) untersuchten das Auftreten des LH-Peaks nach Luteolyseinduktion mit PGF_{2α} und stellten fest, dass der LH-Anstieg in Abhängigkeit vom Zyklusstadium zum Zeitpunkt der Luteolyse variierte.

Diese Variation im Auftreten von LH-Peak und Ovulation nach Behandlung zu verschiedenen Zyklustagen steht in direkter Beziehung zum Entwicklungsstatus des dominanten Follikels. Bei Luteolyse in einer frühen Zyklusphase werden dominante Follikel der ersten Follikelreifungswelle indirekt beeinflusst. Das Intervall von der PGF_{2α}-Applikation bis zum LH-Peak ist bei solchen Tieren kürzer. Die Kapazität zur Steroidsynthese der Follikel der ersten Follikelreifungswelle ist zu diesem Zeitpunkt hoch und über den positiven östrogenbedingten Feedbackmechanismus erfolgt innerhalb eines signifikant kürzeren Intervalls der LH-Peak. Luteolyseinduktion zwischen dem 11. bis 14. Zyklustag führt zu einem längeren Intervall von der PGF_{2α}-Applikation bis zum LH-Peak. In der Regel ist zu diesem Zeitpunkt ein Follikel der zweiten Follikelreifungswelle anzutreffen, der einen

längeren Zeitraum benötigt, die funktionelle Dominanz zu erlangen und somit das längere Intervall erklärt (**Becker 1995**). Diese Follikel benötigen eine vergleichsweise längere Zeit, um Östradiol-17 β in solchen Konzentrationen zu synthetisieren, die zur Auslösung des LH-Peaks erforderlich sind. Solche Follikel ovulieren im Regelfall später. Sind hingegen schon gereifte Follikel der zweiten Follikelreifungswelle vorhanden (Zyklustag 14), die bereits zu einer gesteigerten Steroidsynthese befähigt sind, wird auch der LH-Peak eher stattfinden. Bei alleiniger Progesteronbehandlung wird das Follikelwachstum durch die erreichten P4-Konzentrationen beeinflusst. Diese können je nach Zyklusstand zu Beginn der Behandlung, Behandlungsdauer und dem verwendeten exogenen P4 variieren. Unterschiede in den P4-Konzentrationen führten zu unterschiedlichem Auftreten des LH-Peaks.

Roche und Ireland (1981) untersuchten das Auftreten des LH-Peaks nach Anwenden der PRID-Spirale an den Zyklustagen 8 bis 10 oder 17 und 18. Diese enthielt entweder 2 % (entsprechen 1,16 g Progesteron; **Fogwell et al. 1986**) oder 6,75 % Progesteron. Die Behandlung erfolgte über 7 Tage mit einer PGF_{2 α} -Injektion am 6. Tag. Tiere, die in der Follikelphase (17./18. Zyklustag) behandelt wurden und die PRID-Spirale mit dem niedrigeren Progesterongehalt erhielten, hatten dementsprechend niedrigere P4-Konzentrationen im Blut. Bei diesen Tieren trat der präovulatorische LH-Peak im Mittel 24 h nach Entnahme der Spirale auf mit einer Variation von 20 h bis 38 h. Dies war deutlich früher als in den Gruppen, die in der Lutealphase behandelt wurden oder die die Spirale mit dem höheren Progesterongehalt erhalten hatten. In diesen Gruppen wurde der LH-Peak nach 45 h bis 51 h erreicht, mit einer Variation von 28 h bis 72 h nach Entnahme der Spirale. In einem zweiten Experiment untersuchten **Roche und Ireland (1981)** den Effekt verschiedener P4-Konzentrationen über eine Behandlungsdauer von 12 oder 14 Tagen. Dazu erhielten die Tiere zu Behandlungsbeginn eine PGF_{2 α} -Injektion, um die Beeinflussung durch die endogene Progesteronquelle auszuschließen. Das kleinste Intervall Entnahme bis LH-Peak wurde dann nach Anwendung der PRID-Spirale mit dem niedrigeren Progesterongehalt über 14 Tage festgestellt gegenüber der Behandlung mit der PRID-Spirale mit höherem Progesterongehalt (27 h und 39 h).

In einem weiteren Experiment erhielten acht Rinder eine PRID-Spirale (4 %) mit angefügter Östradiolkapsel. Die Behandlungsdauer betrug 12 Tage. Bei diesen Tieren wurde ein größeres Intervall (30h) bis zum LH-Peak festgestellt als in der Gruppe, die zu Beginn PGF_{2 α} erhalten hatte und für 14 Tage behandelt wurde.

Auch **Kojima et al. (1992)** stellten einen früheren Anstieg der LH-Konzentrationen nach Anwendung einer PRID-Spirale (51 h) fest als nach der Anwendung von zwei Spiralen (65 h), wenn zu Beginn der Behandlung eine Luteolyse durch PGF_{2 α} ausgelöst worden war.

Sanchez et al. (1995) stellten ebenfalls ein kürzeres Intervall nach Progesteronbehandlung

(Norgestomet) bis zum LH-Peak fest, wenn die P4-Konzentrationen vor Entnahme niedriger waren.

Roberson et al. (1989) stellten nach einer niedrig dosierten Progesteronbehandlung höhere E2-Konzentrationen fest, als nach einer höher dosierten Progesteronbehandlung. Diese höheren E2-Konzentrationen während und nach der Behandlung führten zu einem früheren Anstieg der präovulatorischen LH-Konzentration. Dies wurde von **Bergfeld et al. (1995)** bestätigt.

In der eigenen Arbeit wurden in Gruppe 1 zum Ende der Behandlung und in Gruppe 2 und 5 während der Behandlung höhere P4-Konzentrationen festgestellt. Dies hatte jedoch keinen signifikanten Einfluss auf die E2-Konzentrationen nach der Behandlung oder auf das Auftreten des LH-Peaks und der Ovulation. Auffällig sind allein die höheren E2-Konzentrationen in Gruppe 6 nach der Behandlung, die entsprechenden P4-Konzentrationen unterscheiden sich jedoch nicht signifikant von den anderen Gruppen. Auch die Intervalle von der Entnahme bis zum LH-Peak und der Ovulation unterschieden sich nicht signifikant von denen in den anderen Gruppen. Dennoch wurde in dieser Gruppe mit 50,67 h der geringste Mittelwert für das Intervall Entnahme bis LH-Peak festgestellt.

Saumande und Humblot (2005) vermuten, dass die präovulatorisch erreichten E2-Konzentrationen und die zeitlichen Ereignisse des Brunsteintritts und des LH-Peaks sowie der Ovulation positiv korrelieren. Hohe E2-Konzentrationen führen zu einem schnelleren Brunsteintritt und Erreichen des LH-Peaks als niedrige E2-Konzentrationen. Jungrinder, bei denen ein präovulatorischer Follikel über mehr als vier Tage beobachtet wurde, hatten am Ende einer Progesteronbehandlung höhere E2-Konzentrationen und einen um 6 – 12 h früheren Brunstbeginn als Jungrinder, bei denen die Dominanzphase des präovulatorische Follikels kürzer war (**Austin et al. 1999**). Unter der PRID α -Behandlung mit PGF $_{2\alpha}$ bei Entnahme der Spirale über neun Tage mit Behandlungsbeginn zu unterschiedlichen Zyklustagen unterschieden sich die Steroidhormonkonzentrationen nur geringfügig. Dies hatte keine Auswirkung auf die Intervalle Entnahme bis LH-Peak und Entnahme bis Ovulation.

Wurden in anderen Arbeiten die Progesteronbehandlungen an unterschiedlichen Zyklustagen begonnen, liegen meist nur Angaben über das Eintreten der Brunst und Ovulation vor, jedoch nicht über das Auftreten des LH-Peaks. **Munro und Moore (1985)** behandelten 19 Jungrinder an den Zyklustagen 3, 10 und 17 mit einer PRID-Spirale für 14 Tage, die Hälfte der Tiere erhielt E2 bei Einsetzen der Spirale. Davon zeigten 62 % der Tiere im Mittel 48 h nach Entfernen der Spirale Brunstanzeichen unabhängig vom Zyklusstand zu Beginn der Behandlung. Allerdings sind aufgrund der Behandlungsdauer von 14 Tagen keine Unterschiede zu erwarten, da eine unvollständige Luteolyse nach Behandlung ausgeschlossen werden kann. **Lane et al. (2001)** behandelten insgesamt

134 Jungrinder mit einer PRID-Spirale. Eine Gruppe erhielt GnRH zu Beginn der Behandlung, die beiden anderen Östradiolbenzoat. Die Behandlungsdauer betrug entweder 8 Tage mit einer PGF_{2α}-Injektion an Tag 7 oder 10 Tage ohne Luteolyseinduktion. Das mittlere Intervall von der Entnahme bis zum Brunsteintritt unterschied sich nicht für Tiere mit Behandlungsbeginn an den Zyklustagen 2, 10 und 13 in den Gruppen, die mit Östradiolbenzoat behandelt wurden (37 h bis 41 h für 10 Tage, 49 h für 8 Tage). Für Jungrinder, die am Zyklustag 5 behandelt wurden, war das Intervall signifikant länger, sowohl in der Gruppe mit 8 Tagen (57 h) als auch in der Gruppe mit 10 Tagen (69 h) Behandlungsdauer. Vermutlich wird durch die Östradiolbehandlung an Tag 5 das Follikelwachstum dahingehend beeinflusst, dass zum Ende der Behandlung ein noch junger präovulatorischer Follikel vorliegt. Des weiteren berichten **Cumming et al. (1982)**, dass die Brunst und Ovulation nach Progesteronbehandlung im Metöstrus 33 h später eintritt als nach Behandlung in späteren Zyklusstadien. Die Tiere wurden über 14 Tage mit einer PRID-Spirale ohne luteolytische Komponente behandelt. Hier kann eine unvollständige Luteolyse des endogenen Gelbkörpers vermutet werden. **Hittinger et al. (2004)** und **Stevenson (2008)** behandelten Tiere über sieben bzw. acht Tage mit einer CIDR-Spange und mit einer PGF_{2α}-Injektion 24 h vor bzw. gleichzeitig mit Entnahme der Progesteronquelle. Auch hier wurde die Brunst später festgestellt, wenn der Behandlungsbeginn im Metöstrus bzw. an Zyklustag 5 war. Die P4-Konzentrationen nach der Behandlung belegen eine vollständige Luteolyse, sodass sich Verzögerungen im Auftreten des Östrus möglicherweise vom Entwicklungsstatus des Follikels bei Entnahme der Spange ableiten lassen. Tiere, die an Zyklustag 5 ($11,7 \pm 0,4$ mm) behandelt wurden hatten 9 Tage später durchschnittlich kleinere Follikeldurchmesser als Tiere mit Behandlungsbeginn am Zyklustag 2 (13,5mm), 10 (13,3 mm) oder 18 (14,6 mm) (**Stevenson 2008**).

5.6 Behandlung mit Ovulationsinduktion

Eine terminorientierte Besamung innerhalb von Tiergruppen kann nur erfolgreich sein, wenn ein gezieltes synchrones Auslösen des LH-Peaks möglich ist, d.h. die Varianz bezüglich dieses Ereignisses möglichst gering ist. Die großen Konfidenzintervalle für die Parameter Entnahme bis LH-Peak und Entnahme bis Ovulation nach alleiniger Behandlung mit PRID/PGF_{2α} und PRIDα/PGF_{2α} lassen eine erfolgreiche terminorientierte Besamung nicht zu. Deshalb sollte im dritten Versuchsabschnitt durch eine GnRH-Applikation 50 h nach Entnahme der Spirale das Auftreten des LH-Peaks und damit der Ovulation eingegrenzt werden. Die Konfidenzintervalle nach PRIDα/PGF_{2α} und zusätzlicher Ovulationsinduktion betragen für den Parameter Entnahme bis LH-Peak 52,4 h bis 53,6 h und für den Parameter Entnahme bis Ovulation 75,2 h bis 80,0 h und konnten somit deutlich eingegrenzt werden.

5.6.1 Zeitpunkt der Ovulationsinduktion

GnRH oder Analoga induzieren 2 – 3 h nach Verabreichung einen LH-Anstieg (**Chenault et al. 1990**), der bei Präsenz eines präovulatorischen Follikels die Ovulation auslöst.

Mit Entwicklung des OvSynch-Verfahrens zählten **Pursley et al. (1995)** zu den ersten, die mit einer zusätzlichen GnRH-Applikation nach der PGF_{2α}-Injektion das Auftreten der Ovulationen nach Behandlungen zur Brunstsynchronisation auf ein 8 h - Intervall reduzierten. Bei Kühen erfolgte die zweite GnRH-Injektion 48 h nach der Luteolyse. Da Jungrinder bereits 36 h nach PGF_{2α}-Injektion erste Brunstanzeichen zeigten, erfolgte die GnRH-Applikation bei diesen bereits 24 h nach der PGF_{2α}-Injektion, um die Anzahl der Tiere mit vorzeitigem endogenem LH-Anstieg zu minimieren. Die Ovulationen erfolgten in beiden Fällen 24 h bis 32 h nach der GnRH-Applikation. In einem weiteren Experiment wurde GnRH 48 h, 24 h nach oder zeitgleich mit der Luteolyseinduktion verabreicht. Um einen möglichst einheitlichen Entwicklungsstatus des präovulatorischen Follikels zu gewährleisten, wurde die PGF_{2α}-Injektion entsprechend 7 Tage, 8 Tage bzw. 9 Tage nach der ersten GnRH-Applikation gegeben. Mit einer künstlichen Besamung 24 h nach PGF_{2α} waren die Konzeptionsraten nach Anwendung von GnRH 48 h und 24 h nach Luteolyse ähnlich (55 % und 46 %), aber deutlich höher als nach zeitgleicher Anwendung (11 %). Für Tiere, die PGF_{2α} und GnRH gleichzeitig bekommen hatten, erfolgte die Besamung in Relation zur Ovulation vermutlich zu spät.

Peters und Pursley (2003) stellten eine positive Korrelation zwischen dem Intervall PGF_{2α}/GnRH-Injektion und der Trächtigkeitsrate und eine positive Korrelation zwischen der Follikelgröße bei GnRH-Applikation und Trächtigkeitsrate fest. Dazu wurde Kühen die zweite GnRH-Injektion 36 h, 24 h, 12 h oder zeitgleich mit PGF_{2α} appliziert. Die erste GnRH-Injektion erfolgte für alle Tiere 7 Tage vor der Luteolyse. Alle Kühe wurden 16 h nach der letzten GnRH-Injektion besamt. Erfolgte die zweite GnRH-Applikation früher als 36 h nach PGF_{2α}, war dies mit verminderten Trächtigkeitserfolgen verbunden.

Zudem wurden bei Tieren mit GnRH-Applikation 36 h nach PGF_{2α} durchschnittlich größere Follikel vorgefunden. Erfolgt die GnRH-Applikation früher als 36 h nach PGF_{2α}, sind die dort anzutreffenden Follikel kleiner und noch „unreif“. Nach gehäuftem Auftreten verkürzter Zyklen bei Tieren mit kleinem Follikel wird von den Autoren eine ungenügende Gelbkörperfunktion vermutet.

Um einen guten Synchronisationserfolg der Ovulationen zu erreichen, muss der LH-Peak vor oder in zeitlicher Nähe zum endogenen LH-Peak induziert werden. Nach Luteolyseinduktion mittels PGF_{2α} wurden erste Brunstanzeichen frühestens nach 36 h, im Mittel nach 48 h beobachtet (**Walker et al. 1990, Twagiramungu et al. 1992**). Das Intervall von der PGF_{2α}-Applikation bis zur Brunst wurde auch durch eine vorherige GnRH-Injektion nicht

beeinflusst (51,3 h mit GnRH, 54,2 h ohne GnRH) (**Twagiramungu et al. 1992**). Durch eine vorherige GnRH-Applikation wurde aber eine bessere Brunstsynchronität erreicht (**Pursley et al. 1995, Wolfenson et al. 1994**). Damit schien der optimale Zeitpunkt für die zweite GnRH-Injektion zwischen 36 h bis 48 h nach PGF_{2α}-Gabe zu sein. Dagegen untersuchten **Peters et al. (1999)** den Synchronisationserfolg nach Anwendung von GnRH in einem Zeitraum zwischen 48 h bis 72 h. Die Autoren erreichten die besten Synchronisationsergebnisse mit einer GnRH-Injektion 56 h bis 60 h nach der Luteolyse. Allen Arbeiten ist gemeinsam, dass der Bezugspunkt zur Festlegung des Zeitpunktes für die Ovulationsinduktion bis dahin nicht der LH-Anstieg war, sondern der Brunstbeginn. **Becker et al. (2004)** stellten zyklusabhängig durchschnittliche Zeitintervalle von 57 h bis 76 h für das Intervall Luteolyseinduktion bis LH-Peak fest. Das kürzeste durchschnittliche Zeitintervall von 57 h wurde bei Tieren beobachtet, die am Zyklustag 5 behandelt wurden. Da in dieser Gruppe nur 40 % der Tiere mit einer vollständigen Luteolyse reagierten, ist dieses Zyklusstadium für eine Synchronisation mit alleiniger PGF_{2α}-Anwendung nicht geeignet. Tiere, die am Zyklustag 8 behandelt wurden, hatten durchschnittlich 62,7 h nach Luteolyseinduktion einen LH-Peak. Tiere, die an Tag 11 behandelt wurden hatten 76,3 h und Tiere, die an Tag 14 behandelt wurden, 69,5 h nach Luteolyseinduktion einen LH-Peak. In diesen Gruppen wurde der LH-Peak mit einer GnRH-Applikation 65 h nach PGF_{2α} innerhalb von 2 h induziert. Die Ovulationen traten 21 bis 23 h nach dem LH-Peak auf und die Trächtigkeitsraten mit künstlicher Besamung 13 h nach GnRH-Applikation waren tendenziell höher als bei Tieren, die nach Brunstbeobachtung besamt wurden. Synchronisationsprogramme auf der Grundlage von Progesteron, die eine einmalig terminorientierte Besamung beinhalten, beziehen sich bei der Festsetzung des Besamungszeitpunktes ebenfalls auf den Brunstbeginn und nicht auf den LH-Peak nach Behandlung. Besamungen im Zeitraum von 56 h bis 60 h nach Entnahme der Spirale in Kombination mit einer Luteolyse werden bei einer Behandlungsdauer von sieben bis neun Tagen in der Literatur empfohlen, ausgehend davon, dass Tiere 36 h bis 60 h nach Entnahme des Progesterons in Brunst kommen (**Roche 1976, Smith et al. 1984, Diskin et al. 2002, Deletang et al. 2006**). Synchronisationsprogramme auf der Grundlage von P4 mit anschließender Ovulationsinduktion verwenden GnRH, in Anlehnung an OvSynch, 48 h nach Entfernung der Progesteronquelle (**Peeler et al. 2004, Kim et al. 2005**). Häufiger wurde P4 lediglich in das OvSynch-Verfahren integriert, um das Auftreten fertiler Östren während der Behandlung zu verhindern. (**Lamb et al. 2001, Larson et al. 2006**).

Lamb et al. 2006 untersuchten an Jungrindern, ob mittels einer terminierten Besamung nach einer 7-tägigen Behandlung mit CIDR in Kombination mit PGF_{2α} gleiche Trächtigkeitsraten erreicht werden können wie mit brunstorientierter Besamung und ob eine GnRH-Injektion bei Einsetzen der Spange eine Verbesserung der Trächtigkeitsraten verursacht. Die

Ovulationsinduktion erfolgte zeitgleich mit der Besamung 60 h nach der Entnahme der CIDR-Spangen. Die Trächtigkeitsraten waren nach brunstorientierter Besamung höher als nach terminorientierter Besamung (56 % vs. 51 %), eine GnRH-Injektion bei Einsetzen der CIDR-Spangen verbesserte die Trächtigkeitsraten nicht (55 % vs. 52 %).

Es ist zu beachten, dass das Intervall von der Entnahme der Spirale bis zum LH-Peak bei Synchronisationsbehandlungen mit P4 und PGF_{2α} je nach Behandlungsdauer und Zeitpunkt der PGF_{2α}-Applikation aufgrund der unterschiedlichen Follikelreifung variieren kann (**Smith et al. 1984, Fogwell et al. 1986, Hittinger et al. 2004**). Dementsprechend variiert auch der bestmögliche Zeitpunkt für eine Ovulationsinduktion.

In der eigenen Arbeit wurden für das Auftreten des LH-Peaks durchschnittliche Mittelwerte von 50,7 h bis 61,0 h ermittelt, die sich zyklusabhängig nicht unterschieden. Mit einer GnRH-Applikation 50 h nach der Entnahme der Spirale und der PGF_{2α}-Injektion wurde der LH-Peak bei 2/3 der behandelten Tiere innerhalb von 2 h nach der GnRH-Injektion ausgelöst (52,4 h bis 53,6 h nach Entnahme). Sechs Tiere hatten vor der GnRH-Injektion bereits einen endogenen Peak, dieser wurde bei je zwei Tieren 10 h, 8 h und 6 h vor der Behandlung beobachtet und lag somit in zeitlicher Nähe zum induzierten LH-Peak der anderen Tiere.

Unter Berücksichtigung der physiologischen Abläufe der Ovulation sowie der Kapazitierungszeit der Spermien und Dauer der Befruchtungsfähigkeit der Spermien wurde 13 h nach der GnRH-Injektion eine Besamung durchgeführt. Demnach wird nach Anwendung dieses Behandlungsverfahrens eine Besamung 63 h nach Entnahme der Spirale vorgenommen.

5.6.2 Gelbkörperfunktion nach der Behandlung

Um die Gelbkörperaktivität nach Behandlung mit einer PRID-Spirale zu definieren, wurden die Plasmaprogesteronkonzentrationen vom 7. Tag nach dem Östrus bestimmt.

In Versuchsabschnitt I und II wurden in allen Gruppen mittlere P4-Konzentrationen >1ng/ml erreicht. Diese unterschieden sich unabhängig vom Zyklustag zu Beginn der Behandlung nicht signifikant. Auch zwischen den Behandlungsvarianten bestanden keine signifikanten Unterschiede. **Munro und Moore (1985)** stellten einen Anstieg der P4-Konzentrationen sechs Tage nach dem Ende einer PRID-Behandlung fest. Tiere, die am Zyklustag 3 mit der Spirale über 14 Tage behandelt wurden, hatten in den folgenden 20 Tagen durchschnittlich geringere P4-Konzentrationen als Tiere, die am Zyklustag 10 oder 17 behandelt wurden. **Kojima et al. (1992)** stellten in Abhängigkeit von der erreichten P4-Konzentration während einer 9-tägigen Behandlung unterschiedliche P4-Konzentrationen im darauffolgenden Zyklus fest. Dazu wurden nach der Behandlung täglich 26 Tage lang Proben zur

Progesteronanalyse entnommen. Kühe, die mit einer PRID-Spirale behandelt wurden, hatten im folgenden Zyklus durchschnittlich niedrigere Konzentrationen als Tiere, die am 5. Behandlungstag eine zweite Spirale bekommen hatten und niedrigere Konzentrationen als unbehandelte Kontrolltiere. Die Zykluslänge wurde durch die Progesteronbehandlung nicht beeinflusst. Demgegenüber stellten **Wehrmann et al. (1993)** fest, dass die Konzentrationen sechs Tage nach Behandlung mit einer PRID-Spirale höher als nach Behandlung mit zwei Spiralen waren. Die Konzentrationen wurden über die folgenden 16 Tage beibehalten. Die P4-Konzentrationen während der Behandlung lassen keine direkten Rückschlüsse auf die Lutealfunktion nach der Behandlung zu.

Aussagekräftiger für die Gelbkörperfunktion nach einer Synchronisationsbehandlung ist das Reifungsstadium der präovulatorischen Follikel zum Zeitpunkt der Ovulationsinduktion. Es wurde eine positive Korrelation zwischen der Follikelgröße und den P4-Konzentrationen nach der Ovulation nachgewiesen. Dies wurde sowohl nach Ovulationsinduktion mit E2 (**Burke et al. 2001, Cavalieri et al. 2002**) als auch nach Ovulationsinduktion mit GnRH (**Vasconcelos et al. 2001**) festgestellt. Wurden am Ende einer Synchronisationsbehandlung Follikel < 10 mm diagnostiziert, blieben die Ovulationen aus (**Vasconcelos et al. 2001, Cavaliere et al. 2002**).

In der eigenen Arbeit wurden am Tag der Entnahme der Spiralen in allen Gruppen Follikel >10 mm festgestellt und alle Tiere ovulierten.

Ein weiterer Einflussfaktor auf die Lutealfunktion nach Behandlung ist die GnRH-Injektion zur Ovulationsauslösung. Diesbezüglich wurden sowohl positive, negative oder keine Effekte auf die P4-Konzentrationen nach Behandlung beobachtet (**Mee et al. 1993, Ryan et al. 1994, Kaim et al. 2003**). Nach Progesteronbehandlung im Metöstrus wurden teilweise verkürzte Zyklen mit verminderten Konzeptionsraten nach Besamung beobachtet. Diese negativen Auswirkungen auf die Zykluslänge und die Trächtigkeitsraten konnten mit einer GnRH-Applikation 12 bis 13 Tage nach Entnahme des progesteronhaltigen Trägers bzw. gleichzeitig mit dieser verbessert werden (**Lynch et al. 1999**).

In der eigenen Arbeit unterschieden sich die P4-Konzentrationen sieben Tage nach der Brunst im Versuchsabschnitt III (Behandlung mit Ovulationsinduktion) nicht von denen aus Versuchsabschnitt I und II.

5.6.3 Befruchtungserfolg nach Terminorientierter Besamung

Um den Befruchtungserfolg zu kontrollieren, wurden die Tiere zur Embryonengewinnung einer Uterusspülung unterzogen. Dabei wurde von 11 Tieren ein Embryo und von einem Rind eine Eizelle gewonnen. Das entspricht einer Gewinnungsrate von 66,6 % und einer

Befruchtungsrates von 91,6 %. Dieses Ergebnis belegt, dass durch die Progesteronbehandlung mit anschließender Ovulationsinduktion das Auftreten der Ovulationen unabhängig vom Zyklusstadium zu Behandlungsbeginn erfolgreich auf ein enges Intervall konzentriert werden kann. In der Literatur sind bisher keine anderen Angaben zum Befruchtungserfolg nach Progesteronbehandlung mit Ovulationsinduktion vorhanden. Es bleibt offen, in welchem Maße die nicht aufgefundenen Embryonen das Befruchtungsergebnis beeinflusst hätten. Zudem bedarf es einer weiteren Klärung, ob dieser gute Befruchtungserfolg auch hohe Trächtigkeitsraten erwarten lassen darf. Die Trächtigkeitsrate kann durch eine ungenügende Gelbkörperfunktion nach der Besamung und/oder durch embryonale Mortalität negativ beeinflusst werden. Unter diesem Gesichtspunkt sollte der Entwicklungsstatus der Follikel zum Zeitpunkt der Ovulationsinduktion und deren Auswirkung auf die Lutealfunktion näher charakterisiert werden.

6 Zusammenfassung

In dieser Arbeit sollten die biologischen Vorgänge während und nach einer Progesteron- und PGF_{2α}-Behandlung mit oder ohne Östradiolkapsel in Abhängigkeit vom Zyklusstadium zu Beginn der Behandlung untersucht werden. Dabei wurden die Follikelentwicklung, die Steroidhormonkonzentrationen und die zeitlichen Zusammenhänge von der Entnahme bis zum Auftreten des LH-Peaks bzw. bis zur Ovulation berücksichtigt. Im Folgenden sollte geprüft werden, ob eine erfolgreiche Ovulationssynchronisation im Hinblick auf eine einmalig terminorientierte Besamung möglich ist.

In den Versuchsabschnitten I (Gruppe 1 – 3) und II (Gruppe 4 – 6) wurden je Gruppe 6 Jungrinder der Rasse Fleckvieh, beginnend an den Zyklustagen 3/4, 11/12 oder 17/18 mit einer PRID-Spirale für neun Tage behandelt. Bei Entnahme der Spirale wurde ein PGF_{2α}-Analogon verabreicht. Im Versuchsabschnitt II wurde anstelle der ursprünglichen PRID-Spirale PRIDα verwendet. Während der Behandlung erfolgten Blutentnahmen zur Bestimmung der P4-Konzentration, nach der Entnahme zur Bestimmung der P4- und E2-Konzentration.

Zur Ovardiagnostik wurden transrektale Ultraschalluntersuchungen durchgeführt. Die Blutentnahmen zur Bestimmung des LH-Peaks erfolgten ab 40 h nach Entnahme der Spiralen im 2 h-Intervall bis zur Ovulationsfeststellung. Die Untersuchungen zur Ovulationsdiagnostik begannen 66 h nach Entnahme der Spiralen und wurden im 6 h - Intervall bis zur Ovulationsfeststellung durchgeführt. Sieben Tage nach dem Östrus wurde eine Blutprobe zur Bestimmung der P4-Konzentration entnommen.

Im Versuchsabschnitt III wurden 18 Jungrinder unabhängig vom Zyklusstadium mit PRIDα und einem PGF_{2α}-Analogon behandelt und erhielten 50 h nach Entnahme der Spirale eine GnRH-Injektion. Weitere 13 h danach erfolgte die Künstliche Besamung. Proben zur Bestimmung der P4-Konzentrationen wurden wie in Abschnitt I und II entnommen. Probenentnahmen zur Bestimmung der LH-Konzentrationen begannen 40 h nach Entnahme der Spiralen bis 2 h nach der GnRH-Applikation. Die Ovulationsdiagnostik begann 72 h nach Entnahme der Spiralen bis zur Ovulationsfeststellung. Der Befruchtungserfolg wurde an Tag 7 des Zyklus durch eine Spülung des ipsilateralen Uterushorns kontrolliert.

Die Östrusraten unterschieden sich zwischen den Behandlungen nicht (83,3 % für PRID, 88,8 % für PRIDα).

Die Anzahl von Follikeln >10 mm war bei Einsetzen der Spirale für Tiere der Gruppe 1 niedriger als bei Tieren der Gruppe 2 und 3. In den Gruppen 4 bis 6 wurde zu Behandlungsbeginn kein Unterschied festgestellt. Tiere der Gruppe 1 hatten am Tag 4 eine signifikant geringere Anzahl Follikel >10 mm als am Tag 7 und 10, in Gruppe 2 war diese am

Tag 7 signifikant geringer als am Tag 10. In Gruppe 5 war die Follikelzahl am Tag 7 signifikant höher als am Tag 1. Ein Vergleich der Follikelzahlen >10 mm zwischen den Behandlungsvarianten zeigte, dass in der Gruppe 1 an den Tagen 4 und 7 eine signifikant geringere Follikelzahl als in der Gruppe 4 vorhanden war, in der Gruppe 2 am Tag 7 eine geringere Anzahl als in Gruppe 5 vorhanden war. Am Ende der Behandlung wiesen alle Tiere unabhängig vom Zyklusstadium zu Behandlungsbeginn und unabhängig von einer Östradiolbehandlung einen oder mehrere Follikel >10 mm auf.

Die P4-Konzentrationen bei Einsetzen der Spirale wurden signifikant vom Zyklustag zu Beginn der Behandlung beeinflusst. Tiere der Gruppe 2 hatten signifikant höhere Konzentrationen als Tiere der Gruppe 1 und 3, Tiere der Gruppe 5 signifikant höhere Konzentrationen als Jungrinder in Gruppe 4. Tiere der Gruppe 2 hatten während der Behandlung höhere P4-Konzentrationen als Tiere der Gruppen 1 und 3. Am Ende der Behandlung waren die P4-Konzentrationen der Tiere in Gruppe 1 höher als in den Gruppen 2 und 3. In Abhängigkeit von der Behandlungsvariante wurden am Tag 10 für Tiere der Gruppe 1 höhere P4-Konzentrationen als in Gruppe 4 ermittelt. Nach Entnahme der Spiralen wurden in allen Gruppen unabhängig von der Behandlung und vom Zyklusstadium zu Behandlungsbeginn P4-Konzentrationen <1,0 ng/ml erreicht. Für den siebten Tag nach der Behandlung wurde in allen Gruppen ein Anstieg der P4-Konzentrationen nachgewiesen.

Die E2-Konzentrationen deuten in allen Gruppen nach beiden Behandlungsverfahren auf eine bestehende Brunst nach Behandlungsende hin. Die E2-Konzentrationen in Gruppe 6 waren signifikant höher als in Gruppe 3.

Die Mittelwerte für das Intervall Entnahme der Spiralen bis LH-Peak lagen für die Gruppen 1 bis 6 zwischen 50,6 h und 61,0 h, die Konfidenzintervalle zwischen 39 h und 72 h. Für das Intervall Entnahme der Spiralen bis Ovulation wurden Mittelwerte zwischen 74,0 h und 82,5 h festgestellt. Die Konfidenzintervalle lagen zwischen 64 h und 93 h. Das Intervall LH-Peak bis Ovulation war in den Gruppen 1 bis 6 mit Mittelwerten zwischen 23 h bis 25 h sehr konstant. Im Versuchsabschnitt III betrug das mittlere Intervall von der Entnahme der Spiralen bis zum LH-Peak nach Ovulationsinduktion 53,0 h, mit einem Konfidenzintervall von 52,4 h bis 53,6 h. Das mittlere Intervall bis zur Ovulation betrug 77,7 h mit einem Konfidenzintervall von 75,2 h bis 80,0 h. Eine Besamung 13 h nach Ovulationsinduktion ergab nach Uterusspülung zur Embryonengewinnung eine Befruchtungsrate von 91 %.

7 Summary

Evaluation of follicular development, occurrence of ovulation and time of ovulation after progesterone and PGF_{2α} treatment to heifers.

The aim of this study was to evaluate the influence of the estrous cycle stage at the beginning of treatment with a progesterone releasing intravaginally device (PRID), with and without estradiol (PRID α), and PGF_{2 α} . To determine the effect of the treatment, different parameters were evaluated including follicle growth and serum steroid concentrations. In addition, the intervals between insert removal and LH-surge and insert removal and ovulation were measured. Finally, the efficacy of this treatment regime was evaluated in view of synchrony of ovulations and a successful single fixed-timed insemination.

In experiment I six Fleckvieh heifers per group were treated with the PRID insert on day 3/4 (group 1), day 11/12 (group 2) or day 17/18 (group 3) of the cycle. After 9 days the PRID was removed and PGF_{2 α} was administered. In experiment II heifers were used as in experiment I (group 4 – 6), but the PRID was used without the estradiol capsule (PRID α). In all groups blood samples were taken at the beginning, during and after the treatment to assess the serum progesterone concentrations. After this treatment the blood estradiol concentrations were determined. Ultrasonography was used for ovary diagnostic on day 1, 4, 7 and 10 of the experiment to determine the presence or absence of follicles and corpora lutea.

In order to detect the LH-surge, serum samples were taken in all groups every two hours starting 40 h after insert removal until the diagnosis of ovulation could be reached via ultrasonography, which was carried out every six hours starting 66 h after insert removal. Seven days following the estrous a blood sample to assess progesterone levels was taken.

In experiment III eighteen heifers were treated irrespectively of their stage of cycle with PRID α and PGF_{2 α} . 50 h after removal of PRID α , GnRH was injected intramuscularly and after 13 h artificial insemination was performed. Blood samples to assess progesterone levels were taken as in experiment I and II.

In order to detect the LH-surge serum samples were taken 40 h after removal of the PRID α until two hours after the GnRH-application. Ovary ultrasonography was performed 72 h after insert removal to determine the onset of ovulation. The success of conception was tested by flushing the ipsilateral uterus horn on day seven of the cycle.

There was no significant difference between the number of successfully induced estrous in experiment I (83.3 % PRID) and experiment II (88.8 % PRID α).

The numbers of follicles >10 mm at the start of treatment were smaller for heifers in group 1 compared with heifers in group 2 or 3. There was no difference regarding the numbers of

follicles >10 mm between groups 4 – 6. At day four of the treatment heifers in group 1 had a significant smaller number of follicles >10 mm than at day 7 and 10. In group 2, the number of follicles >10 mm were smaller on day 7 compared to day 10.

In group 5, the number of follicles was significant higher on day 7 than on day 1. The comparison of the number of follicles >10 mm between the treatments with PRID or PRID α showed fewer follicles on day 4 and 7 in group 1 compared to group 4. On day 7, there were fewer follicles in group 2 than in group 5. At the end of the treatment with PRID α , every heifer showed one or more follicles >10 mm regardless of the stage of cycle at treatment begin and regardless of using estradiol or not.

The progesterone (P4) concentrations, measured at the time of insert of the device were affected by the day of cycle when treatment was started. Heifers in group 2 had significantly higher concentrations of P4 than heifers in group 1 and 3, heifers in group 5 had significantly higher concentrations of P4 than heifers in group 4. Heifers in group 2 had higher concentrations of P4 during the treatment than heifers in group 1 and 3. At the end of the treatment the P4-concentrations were higher for group 1 than compared with group 2 and 3. Comparing PRID devices with or without estradiol, heifers in group 1 had higher P4-concentrations compared to heifers in group 4. After removal of the devices, the P4-concentrations were < 1 ng/ml regardless of the stage of the cycle at treatment begin and regardless of using estradiol or not. Seven days after the treatment with PRID/ PRID α and PGF_{2 α} the P4-concentrations started to rise in every group.

The concentrations of estradiol after the treatment with PRID/ PRID α and PGF_{2 α} confirmed the occurrence of estrous in all groups. The concentrations of estradiol in group 6 were higher compared to group 3.

The mean time intervalls between removal of the device and the LH-surge were between 50.6 h and 61.0 h for the six groups (Range 39 to 72 hours). The mean time intervalls between removal and ovulation were between 74.0 h and 82.5 h (Range 64 to 93 hours). The time intervall between LH-Peak and ovulation was similar in all the groups (mean 23 h to 25 h).

In experiment III the mean value between the intervall removal of the device and the LH-Peak was 53.0 hours (Range 52.4 - 53.6 hours) following induction of the ovulation. The mean time intervall between the removal and ovulation was 77.7 hours (Range 75.2 - 80.0 hours). Timed artificial insemination performed 13 h following the induction of ovulation with GnRH resulted in a conception rate of 91 %.

8 Abkürzungsverzeichnis

Abb.:	Abbildung
ACTH:	Adrenokortikotropes Hormon
bFGF:	basic Fibroblast Growth Factor
BOB:	Brunstorientierte Besamung
BVD/MD:	Bovine Virusdiarrhoe/Mucosal Disease
bzgl.	bezüglich
cAMP:	cyclisches Adenosinmonophosphat
CAP:	Chlormadinone acetate
CIDR:	controlled internal drug release
CL:	Corpus luteum
COX:	Cyclooxygenase
DNA:	Desoxyribonucleinsäure
E2 :	Östradiol
E17 β :	Estradiol-17- β
EB:	Estradiol benzoat
ecG:	equine chorionic Gonadotropin
ECLIA:	Elektrochemilumineszenz-Immunoassay
ECP:	Estradiol cypionate
EDTA:	Ethylendiamintetraacetat
EGF:	Epidermal Growth Factor
ER:	Östrogenrezeptoren
ET:	Endothelin
EV:	Estradiol valerate
evtl.	eventuell
FSH:	Follikelstimulierendes Hormon
GDF-9:	Growth Differentiating Factor 9
GnRH:	Gonadotropin-Releasing-Hormon
h	Stunden
hcG:	human Chorion Gonadotropin
HDL:	High-density lipoprotein
HPLC:	High performance liquid chromatography
3 β -HSD:	3 β -hydroxysteroid-dehydrogenase
HVL:	Hypophysenvorderlappen
IA:	Immunoassay

IGF:	Insulin like Growth-Factor
IGFBP:	Insulin like Growth-Factor-Binding protein
JR:	Jungrinder
K:	Kühe
LDL:	Low-density lipoprotein
LH:	Luteinisierendes Hormon
mRNA:	mitochondriale Ribonucleinsäure
NaCl:	Natriumchlorid
ÖR:	Östrusraten
OTR:	Oxytocinrezeptoren
P4:	Progesteron
P450arom:	Aromatase
P450scc:	Cytochrom P450 side-chain-cleavage
PGF _{2α} :	Prostaglandin F _{2α}
PGG ₂ :	Vorstufe des PGF _{2α}
PGH ₂ :	Vorstufe des PGF _{2α}
PGE ₂ :	Vorstufe des PGF _{2α}
PLA ₂ :	Phospholipase A ₂
PKA:	Proteinkinase A
PRID:	progesterone releasing intravaginal device
RIA:	Radioimmunoassay
StAR-Protein	steroidogenic acute regulatory protein
Tab.:	Tabelle
TNF:	Tumornekrosefaktor
TOB:	Terminorientierte Besamung
TR:	Trächtigkeitsraten
v.a.	vor allem
vgl.	vergleichend
VK:	Variationskoeffizient
VT:	Versuchstag
ZT:	Zyklustag

9 Literaturverzeichnis

ACOSTA, T.J., OZAWA, T., KOBAYASHI, S., HAYASHI, K., OHTANI, M., KRAETZL, W.D., SATO, K., SCHAMS, D., MIYAMOTO, A. (2000); Periovulatory changes in the local release of vasoactive peptides, PGF_{2α} and steroid hormones from bovine mature follicles in vivo. Biol. Reprod. 63: 1253-1261

ADAMS, G.P. (1999); Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. J. Reprod. Fertil. (Suppl.) 54: 17-32

ADAMS, G.P., JANISWAL, R., SINGH, J., MALHI, P. (2007); Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. Theriogenology 69: 72-80

ADAMS, G.P., MATTERI, R.L., KASTELIC, J.P., KO, J.C.H., GINTHER, O.J. (1992a); Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. J. Reprod. Fertil. 94: 177-188

ADAMS, G.P., MATTERI, R.L., GINTHER, O.J. (1992b); Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. J. Reprod. Fertil. 95: 627-640

AHMAD, N., SCHRICK, F.N., BUTCHER, R.L., INSKEEP, E.K. (1995); Effect of persistent follicle on early embryonic losses in beef cows. Biol. Reprod. 52: 1129-1135

ALGIRE, J., SRIKANDAKUMAR, A., GUILBAULT, L., DOWNEY, B. (1992); Preovulatory changes in follicular prostaglandin and their role in ovulation in cattle. Can. J. Vet. Res. 56: 67-69

ALLRICH, R.D. (1993); Endocrine and neural control of estrus in dairy cattle. J. Dairy Sci. 77: 2738-2744

ASSELIN, E., GOFF, A.K., BERGERON, H., FORTIER, M.A. (1996); Influence of sex steroids on the production of prostaglandin F_{2α} and E_{2α} and response to oxytocin in cultured epithelial and stromal cells of the bovine endometrium. Biol. Reprod. 54: 371-379

AURICH, J.E., SEGER, T., AURICH, C. (1995); Möglichkeiten der Gestagenbehandlung beim Rind. Prakt. Tierarzt 76: 1007-1010

AUSTIN, E.J., MIHM, M., RYAN, M.P., WILLIAMS, D.H., ROCHE, J.F. (1999); Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. J. Anim. Sci. 77: 2219-2226

AUSTIN, E.J., MIHM, M., EVANS, A.C.O., KNIGHT, P.G., IRELAND, J.L., IRELAND, J.J., ROCHE, J.F. (2001); Alterations in intrafollicular regulatory factors and apoptosis during selection of follicles in the first follicular wave of the bovine estrous cycle. Biol. Reprod. 64: 839-848

- AUSTIN, E.J., MIHM, M., EVANS, A.C.O., IRELAND, J.L.H., IRELAND, J.J., ROCHE, J.F. (2002);** Effects of oestradiol and progesterone on secretion of gonadotrophins and health of first wave follicles during the oestrous cycle of beef heifers.
Reproduction 124: 531-541
- BAGE, R., GUSTAFSSON, H., LARSSON, B., FORSBERG, M., RODRIGUEZ MARTINEZ, H. (2002);** Repeat breeding in dairy heifers: follicular dynamics and estrous cycle in relation to sexual hormone pattern.
Theriogenology 57: 2257-2269
- BAO, B., GARVERICK, H.A. (1998);** Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review.
J. Anim. Sci. 76: 1903-1921, 1998
- BAO, B., THOMAS, M.G., WILLIAMS, G.L. (1997);** Regulatory roles of high-density and low-density lipoproteins in cellular proliferation and secretion of progesterone and insulin-like growth factor I by enriched cultures of bovine small and large luteal cells.
J. Anim. Sci. 75: 3235-3245
- BAUER-DANTOIN, A.C., WEISS, J., JAMESON, J.L. (1995);** Roles of estrogen, progesterone, and gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in the control of pituitary GnRH receptor gene expression at the time of the preovulatory gonadotropin surges.
Endocrinology 136: 1014-1019,
- BEAL, W.E. (1996);** Application of knowledge about corpus luteum function in control of estrus and ovulation in cattle.
Theriogenology 45: 1399-1411
- BECKER, F. (1995);** Untersuchungen zur Follikelentwicklung und zur Luteolyse nach PGF_{2α}-Applikation an verschiedenen Zyklustagen beim Rind.
Vet. Med. Diss., FU Berlin
- BECKER, F., KANITZ, E., SCHNEIDER, F., NÜRNBERG, G., KANITZ, W. (2004)** Nutzung einer terminorientierten Besamung beim Rind auf der Grundlage einer Prostaglandin-GnRH-Behandlung.
Arch.Tierz., Dummerstorf
- BELLMANN, A. (2001);** Follikeldynamik und korrespondierende Hormonkonzentrationen beim Rind unter dem Einfluss eines GnRH-Agonisten in Depotformulierung (Decapeptyl Depot)
Vet. Med. Diss., Universität Leipzig
- BERGFELD, E.G., KOJIMA, F.N., WEHRMANN, M.E., CUPP, A.S., PETERS, K.E., MARISCAL, V., SANCHEZ, T., KITTOK, R.J., GARCIA-WINDER, M., KINDER, J.E.(1995);** Frequency of luteinizing hormone pulses and circulating estradiol -17β concentration in cows is related to concentration of progesterone in circulation when the progesterone comes from either an endogenous or exogenous source.
Anim. Reprod. Sci. 37: 257-265
- BERGFELT, D.R., SMITH, C.A., ADAMS, G.P., GINTHER, O.J.(1997);** Surges of FSH during the follicular and early luteal phases of the estrous cycles in heifers.
Theriogenology 48: 757-768

- BERNARD, C., VALET, J.P., BELAND, R., LAMBERT, R.D. (1984);** Ovulation prediction in cattle by rapid measurement of plasma LH and by laparoscopic observation.
Can.J.Comp.Med. 48(1): 97Abstract
- BLEACH, E.C.L., GLENCROSS, R.G., FEIST, S.A., GROOME, N.P., KNIGHT, P.G. (2001);** Plasma inhibin-A in heifers: relationship with follicle dynamics, gonadotropins;and steroids during the estrous cycle and after treatment with bovine follicular fluid.
Biol. Reprod. 64: 743-752
- BO, G.A., BERGFELT, D.R., BROGLIATTI, G.M., PIERSON, R.A., ADAMS, G.P., MAPLETOFT, R.J. (2000);** Local versus systemic effect of exogenous estradiol-17- β on follicular dynamics in heifers with progestin implants.
Anim. Reprod. Sci. 59: 141-157
- BO, G.A., CACCIA, M., MARTINEZ, M.F., MAPLETOFT, R.J. (1996);** Follicle wave emergence after treatment with oestradiol benzoate and CIDR- vaginal devices in beef cattle.
In: Proc.Int.Congr:Anim.Reprod.Sydney, Australia, p.22, Abstract
- BO, G.A., ADAMS, G.P., PIERSON, R.A., MAPLETOFT, R.J. (1995);** Exogenous control of follicular wave emergence in cattle.
Theriogenology 43: 31-40
- BRANN, D.W., O'CONNER, J.L., WADE, M.F., ZAMORANO, P.L., MAHESH, V.B. (1993);** Regulation of anterior pituitary gonadotropin subunit mRNA levels during the preovulatory gonadotropin surge: a physiological role of progesterone in regulating LH-beta and FSH-beta mRNA levels
J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 46: 427-437
- BRIDGES, P.J., FORTUNE, J.E. (2003);** Characteristics of developing prolonged dominant follicles in cattle.
Domest. Anim. Endocrinol. 25: 199-214
- BROADBENT, P.J., TREGASKES, L.D., DOLMAN, D.F., FRANKLIN, M.F., JONES, R.L. (1993);** Synchronization of estrus in embryo transfer recipients after using a combination of PRID or CIDR-B plus PGF_{2 α} .
Theriogenology 39: 1055-1065
- BURKE, J.M., DE LA SOTA, R.L., RISCO, C.A., STAPLES, C.R., SCHMITT, E.J-P., THATCHER, W.W. (1996);** Evaluation of timed insemination using a gonadotrophin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows.
J. Dairy Sci. 79: 1385-1393
- BURKE, C.R., DAY, M.L., CLARK, B., CRAIG, B., RATHBONE, M., MACMILLAN, K.L. (1997);** Effect of luteolysis on follicle wave control using a low dose of oestradiol benzoate in cattle.
Proc. New Zealand Soc. Anim. Prod. 40:134 (Abstract)
- BURKE, C.R., BOLAND, M.P, MACMILLAN, K.L. (1999);** Ovarian response to progesterone and oestradiol benzoate administered intravaginally during dioestrus in cattle.
Anim. Reprod. Sci. 55: 23-33
- BURKE, C.R., MUSSARD, M.L., GRUM, D.E., DAY, M.L. (2001);** Effects of maturity of the potential ovulatory follicle on induction of oestrus and ovulation in cattle with oestradiol benzoate.
Anim. Reprod. Sci. 66: 161-174

- CACCIA, M., BO, G.A. (1998);** Follicle wave emergence following treatment of CIDR-implanted beef heifers with estradiol benzoate and progesterone.
Theriogenology 49: 341Abstract
- CAMPBELL, B.K., TELFER, E.E., WEBB, R., BAIRD, D.T. (2000);** Ovarian autografts in sheep as a model for studying folliculogenesis.
Mol. Cell. Endocrinol. 163: 137-139
- CASSAR, C.A., DOW, M.P., PURSLEY, J.R., SMITH, G.W. (2002);** Effect of the preovulatory LH-surge on bovine follicular progesterone receptor mRNA expression.
Domest. Anim. Endocrinol. 22: 179-187
- CAVALIERI, J., COLEMAN, C., RODRIGUES, H., MacMILLAN, K.L., FITZPATRICK, L.A. (2002);** The effect of timing of administration of oestradiol benzoate on characteristics of oestrus, timing of ovulation and fertility in *Bos indicus* heifers synchronised with a progesterone releasing intravaginal insert.
Aust. Vet. J. 80: 217-223
- CAVESTANY, D., MEIKLE, A., KINDAHL, H., VAN LIER, E., MOREIRA, F., THACHER, W.W., FORSBERG, M. (2003);** Use of medroxyprogesterone acetate (MAP) in lactating holstein cows within an OvSynch protocol: follicular growth and hormonal patterns.
Theriogenology 59: 1187-1198
- CHENAULT, J.R., KRATZER, D.D., RZEPKOWSKI, R.A., GOODWIN, M.C. (1990);** LH and FSH response of Holstein heifers to fertirelin acetate, gonadorelin and buserelin.
Theriogenology 34(1): 81-98
- COLAZO, M.G., KASTELIC, J.P., MAPLETOFT, R.J. (2003);** Effects of estradiol cypionate(ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers.
Theriogenology 60(5): 855-865
- COLAZO, M.G., MARTINEZ, M.F., WHITTAKER, P.R., KASTELIC, J.P.,MAPLETOFT, R.J. (2002);** Estradiol cypionate in CIDR-B-based programs for fixed-time AI in beef heifers.
Theriogenology 57: 371 Abstract
- COOPER, M.J. (1974);** Control of oestrous cycles of heifers with a synthetic prostaglandin analogue.
Vet. Rec. 95: 200-203
- CORDOBA, M.C., FRICKE, P.M. (2002);** Initiation of the breeding season in a grazing-based dairy by synchronization of ovulation.
J. Dairy Sci. 85: 1752-1763
- CUMMING, I.A., McPHEE, S.R., CHAMLEY, W.A., FOLMAN, Y., DAVIS, I.F. (1982);** The time of oestrus and ovulation following various synchronisation techniques using progesterone impregnated intravaginal devices.
Aust. Vet. J. 59(1): 14-18
- CUPP, A.S., STUMPF, T.T., KOJIMA,N., WERTH, L.A., WOLFE, M.W., ROBERSON, M.S., KITOK, R.J., KINDER, J.E. (1995);** Secretion of gonadotrophins change during the luteal-phase of the bovine oestrous cycle in the absence of corresponding changes in progesterone or 17- β - estradiol
Anim. Reprod. Sci. 37: 109-119

- CUSTER, E.E., BEAL, W.E., WILSON, S.J., MEADOWS, A.W., BERARDINELLI, J.G., ADAIR, R. (1994);** Effect of Melengestrol Acetate (MGA) or Progesterone-Releasing Intravaginal Device (PRID) on Follicular Development, Concentrations of Estradiol-17 β and Progesterone, and Luteinizing Hormone Release During an Artificially Lengthened Bovine Estrous Cycle.
J. Anim. Sci. 72: 1282-1289
- DEJARNETTE, J.M., MARSHALL, C.E. (2003);** Effects of pre-synchronization using combinations PGF_{2 α} and/or GnRH on pregnancy rates of OvSynch- and CoSynch-treated lactating holstein cows.
Anim. Reprod. Sci. 77: 51-60
- DEJARNETTE, J.M., SALVERSON, R.R., MARSHALL, C.E. (2001);** Incidence of premature estrus in lactating dairy cows and conception rates to standing estrus or fixed-time inseminations after synchronization using GnRH and PGF_{2 α} .
Anim. Reprod. Sci. 67: 27-35
- DE KRETZER, D.M., MEINHARDT, A., MEEHAN, T., PHILIPS, D.J., O'BRYAN, M.K., LOVELAND, K.A. (2000);** The roles of inhibin and related peptides in gonadal function.
Mol. Cell. Endocrinol. 161: 43-46
- DELETANG, F., STAZZU, F., PAPELARD, A.L., REMMY, D. (2004);** Comment synchroniser chaleurs et ovulation sans oestradiol avec un dispositif intravaginal (PRID) impregne de progesterone?
Journées Nationales GTV – Tours 2004:883-888
- DELETANG, F., BERNAY, F., REMMY, D., FRERET, S., PONSART, C., HUMBLLOT, P. (2006);** Efficacy of an intravaginal progesterone device (PRID) with an injection of PGF_{2 α} for synchronizing oestrus in bovine females of dairy and beef french breeds.
Paris 31. Mai 2006, Meeting
- DE RENSIS, F., PETERS, A.R., (1999);**The control of follicular dynamics by PGF, GnRH, hcG and oestrus synchronisation in cattle.
Reprod. Domest. Anim. 34: 49-59
- DIELEMAN, S.J., BLANKENSTEIN, D.M. (1985);** Progesterone-synthesizing ability of preovulatory follicles of cows relative to the peak of LH.
J. Reprod. Fertil. 75: 609-615
- DISKIN, M.G., AUSTIN, E.J., ROCHE, J.F. (2002);** Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle.
Domest. Anim. Endocrinol. 23: 211-228
- DÖCKE, F. (1994)**
Veterinärmedizinische Endokrinologie
Gustav- Fischer- Verlag Jena
- DRILLICH, M. (1999);** Vergleich des strategischen Einsatzes von ProstaglandinF_{2 α} mit konventionellen Methoden des Fruchtbarkeitsmanagements in zwei Milchviehbetrieben.
Freie Universität Berlin, Fachbereich Veterinärmedizin, Dissertation
- EI-ZARKOUNY, S.Z., CARTMILL, J.A., HENSLEY, B.A., STEVENSON, J.S. (2004);** Pregnancy in dairy cows after synchronized ovulation regimens with or without presynchronisation and progesterone.
J. Dairy Sci. 87: 1024-1037

- EVANS, R. W., LEAVITT, W.W. (1980);** Progesterone inhibition of uterine nuclear estrogen receptor: dependence on RNA and protein synthesis.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 5856-5860,
- FAIR, T., HULSHOF, S.C.J., HYTTEL, P., GREVE, T., BOLAND, M. (1997);** Oocyte ultrastructure in bovine primordial to early tertiary follicles.
Anat. Embryo 195: 327-336
- FAIRCHILD, D.L., PATE, J.L. (1991);** Modulation of bovine luteal cell synthetic capacity by interferon-tau.
Biol. Reprod. 44:357-363
- FAIRCLOUGH, R.J., LAU, T.M. (1992);** Hormonal control of concentration of endometrial oxytocin receptors in the ewe.
Reprod. Fertil. Dev. 4: 313-320
- FITZ, T.A., MAYAN, M.H., SAWYER, H.R., NISWENDER, G.D (1982);** Characterization of two steroidogenic cell types in the bovine corpus luteum.
Biol. Reprod. 27: 703-711
- FOGWELL, R.L., KANYIMA, B.M., VILLA-GODOY, A., ENRIGHT, W.J., IRELAND, J.J. (1986);** Enhanced precision of estrus and luteinizing hormone after progesterone and prostaglandin in heifers.
J. Dairy Sci. 69:2179-2185
- FORTUNE, J.E. (1994);** Ovarian follicular growth and development in mammals.
Biol. Reprod. 50: 225-232
- FORTUNE, J.E., CUSHMAN, R.A., WAHL, C.M., KITO, S. (2000);** The primordial to primary follicle transition.
Mol. Cell Endocrinol. 163: 53-60
- GARCIA, A., SALAHEDDINE, M. (2001);** Effect of oestrous synchronization with estradiol-17 β and progesterone on follicular wave dynamics in dairy heifers.
Reprod. Domest. Anim. 36(6): 301-307
- GARVERICK, H.A., SMITH, M.F. (1993);** Female reproductive physiology and endocrinology of cattle.
Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice Vol. 9(2): 223-247
- GIBBONS, J.R., WILTBANK, M.C., GINTHER, O.R. (1997);** Functional inter-relationships between follicles greater than 4 mm and follicle-stimulating hormone surge in heifers.
Biol. Reprod. 57: 1066-1073
- GINTHER, O. J. (1974);** Internal regulation of physiological processes through venoarterial pathways: a review.
J. Anim. Sci. 39: 550-564
- GINTHER, O.J., BEG, M.A., BERGFELT, D.R., DONADEU, F.X., KOT, K. (2001a);** Follicle selection in monovular species
Biol. Reprod. 65: 638-647

- GINTHER, O.J., BERGFELT, D.R., BEG, M.A., KOT, K. (2001b)**; Effect of LH on circulating oestradiol and follicular fluid factor concentrations during follicular deviation in cattle.
Reproduction 122: 103-110
- GINTHER, O.J., BERGFELT, D.R., BEG, M.A., KOT, K. (2002)**; Role of low circulating FSH-concentrations in controlling the interval to emergence of the subsequent follicular wave in cattle.
Reproduction 124: 475-482
- GINTHER, O.J., BERGFELT, D.R., KULICK, L.J., KOT, K. (2000)**; Selection of the dominant follicle in cattle: role of two-way functional coupling between follicle-stimulating hormone and the follicles.
Biol. Reprod. 62: 920-927
- GINTHER, O.J., KNOPF, L., KASTELIC, J.P. (1989)**; Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two or three follicular waves.
J. Reprod. Fertil. 87:223-230
- GIRSH, E., MILVAE, R.A., WANG, W., MEIDAN, R. (1996)**; Effect of endothelin-1 on bovine luteal cell function: role in prostaglandin_{F_{2α}} - induced antisteroidogenic action.
Endocrinology 137: 1306-1312
- GOFF, A.K. (2004)**; Steroid hormone modulation of prostaglandin secretion in the ruminant endometrium during the estrous cycle.
Biol. Reprod. 71: 11-16
- GONG, J.G., CAMPBELL, B.K., BRAMLEY, T.A., GUTIERREZ, C.G., PETERS, A.R., WEBB, R. (1996)**; Suppression in the secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone and ovarian follicle development in heifers continuously infused with a gonadotropin-releasing hormone agonist.
Biol. Reprod. 55: 68-74
- GRUNERT, E. (1999)** Sexualzyklus
In: GRUNERT, E., BERCHTHOLD, M. (Hrsg.); Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind; 2. Auflage, Parey Buchverlag, Berlin, 159-181
- GUMEN, A., GUENTHER, J.N., WILTBANK, M.C. (2003)**; Follicular size and response to OvSynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows.
J. Dairy Sci. 86: 3184-3194
- GUTIERREZ, C.G., RALPH, J.H., TELFER, E.E., WILMUT, I., WEBB, R. (2000)**; Growth and antrum formation of bovine antral follicles in long-term culture in vitro.
Biol. Reprod. 62: 1322-11328
- HAHN, J. (1978)**; Die unblutige Eigewinnung beim Rind unter Berücksichtigung der Vorbereitung der Spendertiere und der Entwicklung der Eizellen in Eileiter und Gebärmutter.
Dtsch. Tierärztl. Wochenschrift 85: 420-424
- HANSEL, W., ALILA, H.W., DOWD, J.P., YANG, X. (1987)**; Control of steroidogenesis in small and large bovine luteal cells
Aust. J. Biol. Sci 40: 331-347
- HENDRIKSEN, P.J.M., GADELLA, B.M., VOS, P.L.A.M., MULLAART, E., KRUIP, T.A.M., DIELEMANN, S.J. (2003)**; Follicular dynamics around the recruitment of the first follicular wave in the cow.
Biol. Reprod. 69: 2036-2044

HEUWIESER, W., MANSFELD, R. (1995); Brunstbeobachtung beim Rind.
Milchpraxis 33: 75 – 79

HEUWIESER, W., PECKELHOFF, H., KUCHENBUCH, S. (1999); Möglichkeiten und Grenzen der Ovulationssynchronisation bei Färsen.
2. Gießener Konferenz über Fertilitätsprobleme beim Rind- Tierärztliche Betreuung von Milchrinderbeständen- Gießen, 23. April 1999: 45-50

HITTINGER, M.A., AMBROSE, J.D., KASTELIC, J.P. (2004); Luteolysis, onset of estrus, and ovulation in holstein heifers given prostaglandinF_{2α} concurrent with, or 24 hours prior to, removal of an intravaginal, progesterone- releasing device.
Can. J. Vet. Res. 68(4): 283-287

HOFFMANN, B. (1999); Regulation der Sexualfunktionen
In: GRUNERT, E., BERCHTHOLD, M.(Hrsg.); Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind;
2. Auflage, Parey Buchverlag, Berlin, 13-26

HURK, R. van den, ZHAO, J. (2005); Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles.
Theriogenology 63: 1717-1751

INBAR, G., WOLFENSON, ROTH, Z., KAIM, M., BLOCH, A., BRAW-TAL, R. (2001); Follicular dynamics and concentration of steroids and gonadotropins in lactating cows and nulliparous heifers.
J. Dairy Sci. 85(Suppl. 1): 465(Abstract)

IRELAND, J.J., MIHM, M., AUSTIN, E.J., DISKIN, M.G., ROCHE, J.F. (2000); Historical perspective of turnover of dominant follicles during the bovine estrous cycle: key concepts, studies, advancements and terms.
J Dairy Sci 83: 1648-1658

JOHNSON, W. J., PHILLIPS, M.C., ROTHBLAT, G.H. (1997);
Lipoproteins and cellular cholesterol homeostasis.
Subcell. Biochem. 28: 235-276

KAIM, M., BLOCH, A., WOLFENSON, D., BRAW-TAI, R., ROSENBERG, M., VOET, H., FOLMAN, Y. (2003); Effects of GnRH administered to cows at the onset of estrus on timing of ovulation, endocrine responses and conception.
J. Dairy Sci. 86: 2012-2021

KANEKO, K. J., C. GELINAS, GORSKI, J. (1993); Activation of the silent progesterone receptor gene by ectopic expression of estrogen receptors in a rat fibroblast cell line.
Biochemistry 32: 8348-8359,

KANITZ, W. (2003); Follikeldynamik und Ovulation beim Rind- eine Übersicht.
Arch. Tierz. 46(2): 187-198

KANITZ, W., BECKER, F. (2005); Sind Verfahren der Brunst- und Ovulationssteuerung praktikable und erfolgreiche Alternativen zur konventionellen Brunstfeststellung und Besamung?
Züchtungskunde 77(2/3): 128-139

- KANITZ, W., BECKER, F., SCHNEIDER, F., KANITZ, E., LEIDING, C., NOHNER, H.P., POHLAND, R. (2002);** Superovulation in cattle: practical aspects of gonadotropin treatment and insemination.
Reprod. Nutr. Dev. 42:587-599
- KANITZ, W., BRÜSSOW, K.P., BECKER, F., TORNER, H., SCHNEIDER, F., KUBELKA, M., TOMEK, W. (2001);** Vergleichende Aspekte der Follikelentwicklung, Follikel- und Oozytenreifung sowie Ovulation bei Rind und Schwein.
Arch. Tierz. 44: Special Issue, 9-23
- KANITZ, W., MILDNER, H., FREYMAN, U., KANITZ, E., SCHNEIDER, F., BECKER, F. (1996);** Untersuchungen zum Ovulationszeitraum nach induzierter Luteolyse beim Rind in Abhängigkeit vom Zyklusstadium.
Züchtungskunde 68: 268-279
- KARG, H., SCHAMS, D., HOFFMANN, B., CLAUS, R. (1979);** Neue Erkenntnisse der Endokrinologie der Fortpflanzung.
Prakt. Tierarzt 7: 561-578
- KASTELIC, J.P., OLSON, W.O., MARTINEZ, M., COOK, R.B., MAPLETOFT, R.J. (1999);** Synchronization of estrus in beef cattle with norgestomate and estradiol valerate.
Can. Vet. J. 40(3): 173-178
- KIM, U-H., SUH, G-H., NAM, H-W., KANG, G-H., KIM, I-H. (2005);** Follicular wave emergence, luteal function and synchrony of ovulation following GnRH or estradiol benzoate in a CIDR- treated, lactating Holstein cows.
Theriogenology 63: 260-268
- KIM, I-H., SUH, G-H., SON, D-S. (2003);** A progesterone- based timed AI protocol more effectively prevents premature estrus and incomplete luteal regression than an OvSynch protocol in lactating holstein cows.
Theriogenology 60: 809-817
- KINDAHL, H., ENDQUIST, L.E., GRANSTROM, E., BANE, A. (1976);** The release of prostaglandin $F_{2\alpha}$ as reflected by 15-keto-13,14-dihydroprostaglandin $F_{2\alpha}$ in the peripheral circulation during normal luteolysis in heifers.
Prostaglandins 11: 871-878
- KINDAHL, H., LINDELL, J.E., ENDQUIST, L.E. (1981);** Release of prostaglandin $F_{2\alpha}$ during the oestrous cycle.
Acta Vet Scand 77: 143-158
- KINDER, J.E., KOJIMA, F.N., BERGFELD, E.G.M., WEHRMANN, M.E., FIKE, K.E. (1996);** Progestin and estrogen regulation of pulsatile LH-release and development of persistent ovarian follicles in cattle.
J. Anim. Sci. 74: 1424-1440
- KING, M.E., KIRACOFE, G.H., STEVENSON, J.S., SCHALLES, R.R. (1982);** Effect of stage of the estrous cycle on interval to estrus after PGF $_{2\alpha}$ in beef cattle.
Theriogenology 18: 191
- KIRBY, C.J., SMITH, M. F., KEISLER, D.H., LUCY, M.C. (1997);** Follicular function in lactating dairy cows treated with sustained- release bovine somatotropin.
J. Dairy Sci. 80: 273-285

- KLINDWORTH, H.P., HOEDEMAKER, M., BURFEINDT, D., HEILKENBRINK, T. (2001);** Synchronization of ovulation (OvSynch) in high-producing dairy cattle herds. Fertility parameters, body condition score and plasma progesterone concentration. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 108: 11-19
- KNICKERBOCKER, J.J., WILTBANK, M.C., NISWENDER, G.D. (1988);** Mechanisms of luteolysis in domestic livestock. Domest. Anim. Endocrinol. 5: 91-107
- KNIGHT, P.G. (1996);** Roles of inhibins, activins, and follistatin in the female reproductive system. Front Neuroendocrinol. 17: 476-509
- KNIGHT, P.G., GLISTER, C. (2001);** Potential local regulatory functions of inhibins, activins and follistatin in the ovary. Reproduction 121: 503-512
- KNOFF, L., KASTELIC, J.P., SCHALLENBERGER, E., GINTHER, O.J. (1989);** Ovarian follicular dynamics in heifers: Test of two-wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles. Domest. Anim. Endocrinol. 6:111-119
- KO, J.C.H., KASTELIC, J.P., DEL CAMPO, M.R., GINTHER, O.J. (1991);** Effects of dominant follicle on ovarian follicular dynamics during the oestrous cycle in heifers. J. Reprod. Fertil. 91: 511-519
- KOJIMA, N., STUMPF, T.T., CUPP, A.S., WERTH, L.A., ROBERSON, M.S., WOLFE, M.W., KITTOK, R.J., KINDER, J.E. (1992);** Exogenous progesterone and progestins as used in estrous synchrony regimens do not mimic the corpus luteum in regulation of luteinizing hormone and estradiol-17 β in circulation of cows. Biol. Reprod. 47: 1009-1017
- KRAUS, W.L., KATZENELLENBOGEN, B.S. (1993);** Regulation of progesterone receptor gene expression and growth in the rat uterus: modulation of estrogen actions by progesterone and sex steroid hormone antagonists. Endocrinology 132: 2371-2379,
- KULICK, L.J., KOT, K., WILTBANK, M.C., GINTHER, O.J. (1999);** Follicular and hormonal dynamics during the first follicular wave in heifers. Theriogenology 52: 913-921
- KUROIWA, T., ISHIBASHI, A., FUKUDA, M., KIM, S., TANAKA, T., KAMOMAE, H. (2005);** Estrus Synchronization and Conception Rate after a Progesterone Releasing Intravaginal Device (PRID) Treatment from the Early Luteal Phase. J. Reprod. Dev. 51:669-673
- LAMB, G.C., LARSON, J.E., GEARY, T.W., STEVENSON, J.S., JOHNSON, S.K., DAY, M.L., ANSOTEGUI, R.P., KESLER, D.J., DeJARNETTE, J.M., LANDBLOM, D.G. (2006),** Synchronization of estrus and artificial insemination in replacement beef heifers using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandinF_{2 α} and progesterone. J. Anim. Sci. 84: 3000-3009

- LAMB, G.C., STEVENSON, J.S., KESLER, D.J., GARVERICK, H.A., BROWN, D.R., SALFEN, B.E. (2001);** Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandinF_{2α} for ovulation control in postpartum suckled beef cows.
J. Anim. Sci. 79: 2253-2259
- LANE, E.A., AUSTIN, E.J., ROCHE, J.F., CROWE, M.A. (2001);** The effect of estradiol benzoate or a synthetic gonadotropin-releasing hormone used at the start of a progesterone treatment on estrous response in cattle.
Theriogenology 56: 79-90
- LARSON, J. E., LAMB, G.C., STEVENSON, J.S., JOHNSON, S.K., DAY, M.L., GEARY, T.W., KESLER, D.J., DeJARNETTE, J.M., SCHRICK, F.N., DiCOSTANZO, A., ARSENEAU, J.D. (2006);**Synchronization of estrus in suckled beef cows for detected estrus and artificial insemination and timed artificial insemination using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandinF_{2α} and progesterone.
J. Anim. Sci. 84: 332-342
- LAUDERDALE, J.W., SEGUIN, B.E., STELLFLUG, J.N., CHENAULT, J.R., THATCHER, W.W., VINCENT, C.K., LOYANCANO, A.F. (1974);** Fertility of cattle following PGF_{2α}-injection.
J. Anim. Sci. 38: 964-967
- LeBLANC, S.J., LESLIE, K.E. (2003);** Short communication: presynchronization using a single injection of PGF_{2α} before synchronized ovulation and first timed artificial insemination in dairy cows.
J. Dairy Sci. 86: 3215-3217
- LEMASTER, J.W., YELICH, J.V., KEMPFER, J.R., SCHRICK, F.N. (1999);** Ovulation and estrus characteristics in crossbred brahman heifers treated with an intravaginal progesterone-releasing insert in combination with PGF_{2α} and estradiol benzoate.
J. Anim.Sci: 77(7): 1860-1868
- LESTAVEL, S., FRUCHART, J.C. (1994);** Lipoprotein receptors.
Cell. Mol. Biol. 40: 4461-4481
- LOURENS, D.C. (1988);** Oestrus synchronization in dairy heifers using a progesterone releasing intravaginal device.
J. S. Afr. Vet. Assoc. 59:41-43
- LUCY, M.C. (2001);** Reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end?
J. Dairy Sci. 84: 1277-1293
- LUCY, M.C., McDOUGALL, S., NATION, D.P. (2004);** The use of hormonal treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture-based management systems.
Anim. Reprod. Sci. 82-83: 495-512
- LUCY, M.C., SAVIO, J.D., BADINGA, L., DE LA SOTA, R.L., THATHER, W.W.(1992);** Factors that effect ovarian follicular dynamics in cattle.
J. Anim. Sci:70: 3615-3626
- LUSSIER, J.G., MATTON, P., DUFOUR, J.J. (1987);** Growth rates of follicles in the ovary of the cow.
J. Reprod. Fertil. 81: 301-307

- LYNCH, P.R., MACMILLAN, K.L., TAUFU, V.K. (1999);** Treating cattle with progesterone as well as a GnRH analogue affects oestrus cycle length and fertility.
Anim. Reprod. Sci. 56: 189-200
- MACMILLAN, K.L., DAY, A.M. (1982);** Prostaglandin $F_{2\alpha}$ – A fertility drug in dairy cattle?
Theriogenology 18: 245-253
- MACMILLAN, K.L., HENDERSON, H.V. (1984);** Analyses of the variation in the interval from an injection of prostaglandin $F_{2\alpha}$ to oestrus as a method of studying patterns of follicle development during dioestrus in dairy cows.
Anim. Reprod. Sci. 6: 245
- MACMILLAN, K.L., PETERSON, A.J. (1993);** A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for oestrous synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment of postpartum anestrus.
Anim. Reprod. Sci. 33: 1-25
- MACMILLAN, K.L., SEGWAGWE, B.V., PINO, C.S. (2003);** Association between the manipulation of patterns of follicular development and fertility in cattle.
Anim. Reprod. Sci. 78: 327-344
- MANN, G.E., LAMMING, G.E (2006);** Timing of prostaglandin $F_{2\alpha}$ release episodes and oxytocin receptor development during luteolysis in the cow.
Anim. Reprod. Sci. 93: 328-336
- MAPLETOFT, R.J., MARTINEZ, M.F., ADAMS, G.P., KASTELIC, J.P., BURNLEY, A. (1999);** The effect of estradiol preparation on follicular wave emergence and superovulatory response in norgestomet implanted cattle.
Theriogenology 51: 411(Abstract)
- MARTINEZ, M.F., ADAMS, G.P., KASTELIC, J.P., BERGFELT, D.R., MAPLETOFT, R.J. (2000);** Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers.
Theriogenology 54: 757-769
- MARTINEZ, M.F., KASTELIC, J.P., ADAMS, G.P., MAPLETOFT, R.J. (2002);** The use of a progesterone-releasing device (CIDR-B) or melengestrol-acetate with GnRH, LH or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers.
J. Anim. Sci. 80: 1746-1751
- MARTINEZ, M.F., KASTELIC, J.P., BO, G.A., CACCIA, M., MAPLETOFT, R.J. (2005);** Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR- treated beef cattle.
Anim. Reprod. Sci. 86: 37-52
- MARTINEZ, M.F., KASTELIC, J.P., MAPLETOFT, R.J. (2004);** The use of estradiol and/or GnRH in a two-dose PGF $_{2\alpha}$ -protocol for breeding management of beef heifers.
Theriogenology 62: 363-372
- MATHER, J.P., MOORE, A., LI, R.H. (1997);** Activins, inhibins, and follistatins: further thoughts on a growing family of regulators.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 215: 209-222

- McCANN, S.M.; TALEISNIK, S., FRIEDMANN, H.M. (1960);** LH releasing activity in hypothalamic extracts.
Exp. Biol. Med. 104, 432-434
- McCRACKEN, J.A., CUSTER, E.E., LAMSA, J.C. (1999);** Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event.
Physiol Rev. 79: 263-323
- McCRACKEN, J.A., GLEW, M.E., SCARAMUZZI, R.J. (1970);** Corpus luteum regression induced by prostaglandin $F_{2\alpha}$.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 30: 544-547
- McCRACKEN, J. A. (1997);** Prostaglandins and leukotrienes.
In: Endocrinology: Basic and Clinical Principles, edited by P. M. Conn, and S. Melmed. Clifton, NJ: Humana, p. 101-114.
- McNATTY, K.P., HEALTH, D.A., LINDY, F., FIDLER, A.E., QUIRKE, L., O`CONNEL, A., SMITH, P., GROOME, N., TISDALL, D.J. (1999);** Control of early ovarian follicular development.
J. Reprod. Fertil. 54 (Suppl.): 3-16
- MEE, M.O., STEVENSON, J.S., ALEXANDER, B.M., SASSER, R.G. (1993);** Administration of GnRH at estrus influences pregnancy rates, serum concentrations of LH, FSH, estradiol-17 beta, pregnancy-specific protein B, and progesterone, proportion of luteal cell types, and in vitro production of progesterone in dairy cows.
J. Anim. Sci. 71:185-198
- MEINECKE, B. (2000);** Reproduktion beim weiblichen Tier
In: ENGELHARDT, W. von, BREVES, G. (Hrsg.); Physiologie der Haussäugetiere
Enke im Hippokrates Verlag GmbH, Stuttgart
- MIALOT, J.P., CONSTANT, F., DEZAUX, P., GRIMARD, B., DELETANG, F., PONTER, A. (2003);** Estrus synchronization in beef cows: comparison between GnRH + PGF $_{2\alpha}$ + GnRH and PRID + PGF $_{2\alpha}$ + eCG.
Theriogenology 60: 319-330
- MIHM, M., CURRAN, N., HYTTEL, P., KNIGHT, P.G., BOLAND, M.P., ROCHE, J.F. (1999);** Effect of dominant follicle persistence on follicular fluid oestradiol and inhibin and on oocyte maturation in heifers.
J. Reprod. Fertil. 116: 293-304
- MIHM, M., KHAN, A., BLEACH, E., KNIGHT, P.G. (2001);** Health and atresia in first wave follicles is reflected in changing serum dimeric- inhibin A concentrations in dairy heifers.
Mol. Cell. Endocr. 180: 200(Abstract)
- MILLAR, R.P. (2005);** GnRHs and GnRH receptors.
Anim. Reprod. Sci 88:5-28
- MILLAR, R., LU, Z-L., PAWSON, A.J., FLANAGAN, C.A., MORGAN, K., MAUDSLEY; S.R. (2004);** Gonadotropin- releasing hormone receptors.
Endocr. Rev. 25: 235-275

- MONGET, P., FABRE, S., MUSANT, P., LECERF, F., ELSEN, J.M., MAZERBOURG, S., PISSELET, C., MONNIAUX, D. (2002);** Regulation of the ovarian folliculogenesis by IGF and BMP system in domestic animals.
Dom. Anim. Endocrinol. 23: 139-154
- MOREIRA, F., DE LA SOTA, R.L., DIAZ, T., THATHER, W.W. (2000);** Effect of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers.
J. Anim. Sci. 78(6): 1568-1576
- MOUTSATSOU, P., SEKERIS, C.E. (1997);** Estrogen and progesterone receptors in the endometrium.
Ann. NY Acad. Sci. 816: 99-115
- MUNRO, R.K., MOORE, N.W. (1985);** Effects of progesterone, oestradiol benzoate and cloprostenol on luteal function in the heifer.
J. Reprod. Fertility 73: 353-359
- MURDOCH, W., PETERSON, T., van KIRK, E., VINCENT, D., INSKEEP, E. (1986);** Interactive roles of progesterone, prostaglandins and collagenase in the ovulatory mechanism of the ewe.
Biol. Reprod. 35: 1187-1194
- NEBEL, R.L., JOBST, S.M. (1998);** Symposium: Gonadotropin- Releasing Hormone and Prostaglandin for estrus detection. Evaluation of systematic breeding programs for lactating dairy cows: a review
J. Dairy Sci. 81: 1169-1174
- NETT, T.M., CERMAK, D., BRADEN, T., MANNS, J., NISWENDER, G.D. (1987);** Receptors for GnRH and estradiol and pituitary content of gonadotropins in beef cows: Changes during the estrous cycle.
Domest. Anim. Endocrinol. 4: 123-132
- NETT, T.M., TURZILLO, A.M., BARATTA, M., RISPOLI, L.A. (2002);** Pituitary effects of steroid hormones on secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone.
Domest. Anim. Endocrinol. 23: 33-42
- NISWENDER, G.D., JUENGEL, J.L., SILVA, P.J., ROLLYSON, M.K., McINTUSH; E.W. (2000);** Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum.
Physiol. Rev. 80: 1-29
- OBRUKA, A., FISCHL, F., HUBER, J.C. (1998);** GnRH-Mechanismen und Therapeutische Anwendung in der assistierten Reproduktion.
J. Fertil. Reprod. 8 (2): 28-33
- ODDE, K.G. (1990);** A review of synchronization of estrus in postpartum cattle.
J. Anim. Sci. 68: 817-830
- OLSON, J.D. (1993);** Tools to improve reproductive performance of dairy cattle.
Bov. Pract. 27: 61 - 63
- O`ROURKE, M., DISKIN, M.G., SREENAN, J.M., ROCHE, J.F. (1997);** The effect of different concentrations of oestradiol administered during the first follicle wave in association with PRID insertion on follicle wave dynamics and oestrous response in beef heifers.
J. Reprod. Fertil. Ser.19: 12 (Abstract)

- O'ROURKE, M., DISKIN, M.G., SREENAN, J.M., ROCHE, J.F. (2000);** The effect of dose and method of oestradiol administration on plasma concentration of oestradiol and FSH in long-term ovariectomised heifers.
Anim. Reprod.Sci. 59: 1-12
- O'SHEA, J.D., NIGHTINGALE, M.G., CHAMLEY. W.A. (1977);** Changes in small blood vessels during cyclical regression in sheep.
Biol. Reprod. 17: 162-177, 1977 Abstract
- PADMANABHAN, V., BATTAGLIA, D., BROWN, M.B., KARSCH, F.J., LEE, J.S., PAN, W., PHILLIPS, D.J., van CLEFF, J. (2002);** Neuroendocrine control of follicle-stimulating-hormone (FSH) secretion: Is follistatin-induced suppression of FSH-secretion mediated via changes in activin availability and does it involve changes in gonadotropin-releasing hormone secretion?
Biol. Reprod. 66: 1395-1402
- PARKER, K.I., ROBERTSON, D.M., GROOME, N.P., MACMILLAN, K.L. (2003);** Plasma concentration of inhibin A and follicle stimulating hormone differ between cows and two or three waves of ovarian follicular development in a single estrous cycle.
Biol. Reprod. 68: 822-828
- PATE, J.L. (1995);** Involvement of immune cells in regulation of ovarian function in
J. Reprod. Fertil. Suppl.49: 365-377
- PAWSON, A.J., McNEILLY, A.S. (2005);** The pituitary effects of GnRH.
Anim. Reprod. Sci. 88:75-94
- PEELER, I.D., NEBEL, R.L., PEARSON, R.E., SWECKER, W.S., GARCIA, A. (2004);** Pregnancy rates after timed AI of heifers following removal of intravaginal progesterone inserts.
J. Dairy Sci. 87:2868-2873
- PENNY, L.A., ARMSTRONG, D., BRAMLEY, T.A., WEBB, R., COLLINS, R., WATSON, E.D. (1999);** Immune cells and cytokine production in the bovine corpus luteum throughout the oestrous cycle and after induced luteolysis.
J.Reprod. Fertil. 115: 87-96
- PERRY, G.A., GEARY, T.W., LUCY, M.C., SMITH, M.F. (2002);** Effect of follicle size at time of GnRH-induced ovulation on luteal function and fertility.
J. Anim. Sci. 80 (Suppl.2), 114-115 (Abstract)
- PETERS, A.R., BENBOULAI, M. (1998);** Studies on the timing of ovulation after synchronisation treatments in cattle.
Reprod. Domest. Anim. 33: 313-315
- PETERS, A.R., KINGSLEY, S.R., RILEY, G.M. (1981);** Plasma gonadotrophin responses in beef cows to progesterone plus prostaglandin treatment.
Theriogenology 16(3):259-269
- PETERS, A.R., MAWHINNEY, I., DREW, S.B., WARD, S.J., WARREN, M.J., GORDON, P.J. (1999);** Development of a gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin regimen for the planned breeding of dairy cows.
Vet. Rec. 145(18): 516-521

- PETERS, M.W., PURSLEY, J.R. (2003);** Timing of final GnRH of the OvSynch protocol affects ovulatory follicle size, subsequent luteal function and fertility in dairy cows. *Theriogenology* 60: 1197-1204
- PURSLEY, J.R., KOSOROK, M.R., WILTBANK, M.C. (1997);** Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J. Dairy Sci.* 80: 301-306
- PURSLEY, J.R., MEE, M.O., WILTBANK, M.C. (1995);** Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH. *Theriogenology* 44: 915-923
- PURSLEY, J.R., STEVENSON, J.S., MINTON, J.E. (1993);** Ovarian follicular waves in dairy cows after administration of gonadotropin-releasing-hormone at estrus. *J. Dairy Sci.* 76:2548-2560
- RAHE, C.H., OWENS, R.E., FLEEGER, J.L., NEWTON, H.J., HARMS, P.G. (1980);** Pattern of plasma luteinizing in the cyclic cow: dependence upon the period of the cycle. *Endocrinology* 107: 498-503
- RAJAMAHENDRAN, R., ROBINSON, J., DESBOTTES, S., WALTON, J.S. (1989);** Temporal relationship among estrus, body temperature, milk yield, progesterone and luteinizing hormone levels and ovulation in dairy cows. *Theriogenology* 31: 1173-1182
- RAJAMAHENDRAN, R., TAYLOR, C. (1991);** Follicular dynamics and temporal relationships among body temperature, oestrus, the surge of luteinizing hormone and ovulation in holstein heifers treated with norgestomet. *J. Reprod. Fertil.* 92: 461-467
- RATHBONE, M.J., MACMILLAN, K.L., INSKEEP, K., BURGGRAAF, S., BUNT, C.R. (1998);** Fertility regulation in cattle. *Journal of Controlled Release* 54: 117-148
- REVAH, I., BUTLER, W.R. (1996);** Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. *J. Reprod. Fertil.* 106: 39-47
- RHODES, F.M., DEATH, G., ENWISTLE, K.W. (1995);** Animal and temporal effect on ovarian follicular dynamics in brahman heifer. *Anim. Reprod. Sci.* 38:265-277
- RISPOLI, L.A., NETT, T.M. (2005);** Pituitary gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor: Structure, distribution and regulation of expression. *Anim. Reprod. Sci.* 88: 57-74
- ROBERSON, M.S., WOLFE, M.W., STUMPF, T.T., KITOK, R.J., KINDER, J.E. (1989);** Luteinizing hormone secretion and corpus luteum function in cows receiving two levels of progesterone. *Biol. Reprod.* 41: 997-1003
- ROBINSON, N.A., LESLIE, K.E., WALTON, J.S. (1989);** Effect of treatment with progesterone on pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in holstein cows. *J. Dairy Sci.* 72(1): 202-207

- ROCHE, J.F. (1974a)**; Synchronization of oestrus and fertility following artificial insemination in heifers given prostaglandin $F_{2\alpha}$.
J. Reprod. Fertil. 37: 135-138
- ROCHE, J.F.(1974b)**; Effect of short term progesterone treatment on estrous response and fertility in heifers.
J. Reprod. Fertil. 40: 433-440
- ROCHE, J.F. (1976)**; Calving rate of cows following insemination of a 12-day treatment with silastic coils impregnated with progesterone.
J. Anim. Sci. 43:164-169
- ROCHE, J.F., AUSTIN, E.J., RYAN, M., O`ROURKE, M., MIHM, M., DISKIN, M.G. (1999)**; Regulation of follicle waves to maximize fertility in cattle.
J. Reprod. Fertil. 54(Suppl.): 61-71
- ROCHE, J.F., CROWLEY, J.P. (1973)**; The fertility of heifers inseminated at predetermined intervals following treatment with MGA and hcG to control ovulation.
J. Reprod. Fertil. 35: 211-216
- ROCHE, J.F., IRELAND, J.J. (1981)**; Effect of exogenous progesterone on time of occurrence of the LH-surge in heifers.
J. Anim. Sci. 52:580-586
- ROCHE, J.F., MIHM, M., DISKIN, M.G.; (1996)** Physiology and practice of induction and control of oestrus in cattle.
Bov.Pract. 31.2: 4-10
- ROELOFS, J.B., BOUWMAN, E.G., DIELEMAN, S.J., van ERDENBURG, F., KAAL-LANSBERGEN, L., SOEDE, N.M., KEMP, B. (2004)**; Influence of repeated rectal ultrasound examinations on hormone profiles and behaviour around oestrus and ovulation in dairy cattle.
Theriogenology 62: 1337-1352
- RONCHI, B., STRADAIOLI, G., VERINI SUPPLIZI, A., BERNABUCCI, U., LACETERA, N., ACCORSI, P.A., NARDONE, A., SEREN, E. (2001)**; Influence of heat stress or feed restriction on plasma progesterone, oestradiol 17β , LH, FSH, prolactin and cortisol in Holstein heifers.
Livest. Prod. Sci. 68:231-241
- ROTH, Z., MEIDAN, R., BRAW-TAL, R., WOLFENSON, D. (2000)**; Immediate and delayed effects of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows.
J. Reprod. Fertil. 120: 83-90
- ROY, G.L., TWAGIRAMUNGU, H. (1999)**; Time intervall between GnRH and prostaglandin injections influences the precision of estrus in synchronized cattle.
Theriogenology 51: 413 Abstract
- ROYAL, M.D., DARWASH, A.O., FLINT, A.P.F., WEBB, R., WOOLIAMs, J.A., LAMMING, G.E. (2000)**; Declining fertility in dairy cattle: changes in tradional and endocrine parameters of fertility.
Anim. Sci. 70:487-501

- RYAN, M., GALVIN, J.A., O'FARREL, K.J. (1999);** Comparison of oestrous synchronization regimens for lactating dairy cows.
Anim. Reprod. Sci. 56: 153-168
- RYAN, M., MIHM, M., ROCHE, J.F. (1998);** Effect of GnRH given before or after a dominance on gonadotrophin response and fate of that follicle wave in postpartum cows.
J. Reprod. Fertil. (Abstract) 21: 61
- RYAN, D.P., SNIJDERS, T., CONDON, M., GREALY, M., SREENAN, J., O'FARREL, K.J. (1994);** Endocrine and ovarian responses and pregnancy rates in dairy cows following the administration of a gonadotrophin releasing hormone analog at the time of artificial insemination or at mid-cycle post insemination.
Anim.Reprod. Sci. 34(3-4):179-191
- SAKAGUCHI, M., SASAMOTO, Y., SUZUKI, T., TAKAHASHI, Y., YAMADA, Y. (2004);** Postpartum ovarian follicular dynamics and estrous activity in lactating dairy cows.
J. Dairy Sci: 87: 2114-2121
- SANCHEZ, T., WEHRMAN, M.E., KOJIMA, F.N., CUPP, A.S., BERFELD, E.G., PETERS, K.E., MARISCAL, V., KITOK, R.J., KINDER, J.E. (1995);** Dosage of the synthetic progestin, norgestomate, influences luteinizing hormone pulse frequency and endogenous secretion of estradiol 17 β in heifers.
Biol. Reprod. 52:464-469
- SARTORI, R., FRICKE, P.M., FERREIRA, J.C., GINTHER, O.J., WILTBANK, M.C. (2001);** Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles.
Biol. Reprod. 65: 1403-1409
- SARTORI, R., HAUGHIAN, J.M., ROSA, G.J.M., SHAVER, R.D., WILTBANK, M.C. (2004);** Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of holstein heifers and lactating cows.
J. Dairy.Sci. 87:905-920
- SARTORI, R., ROSA, G.J.M., WILTBANK, M.C. (2002);** Ovarian structures and circulating steroids in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter.
J. Dairy Sci. 85:2813-2822
- SAUMANDE, J., HUMBLLOT, P. (2005);** The variability in the interval between estrus and ovulation in cattle and its determinants.
Anim. Reprod. Sci. 85: 171-182
- SAVIO, J.D., BOLAND, M.P., ROCHE, J.F. (1990);** Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in postpartum dairy cows.
J. Reprod. Fertil. 88: 581-591
- SAVIO, J.D., KEENAN, L., BOLAND, M.P., ROCHE, J.F. (1988);** Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers.
J. Reprod. Fertil. 83: 663-671
- SAVIO, J.D., THATCHER, W.W., BADINGA, L., DE LA SOTA, R.L., WOLFENSON, D. (1993);** Regulation of dominant follicle turnover during the oestrous cycle in cows.
J. Reprod. Fertil. 97: 197-203

- SAWYER, G.J., BROADPENT, P.J., DOLMAN, D.F. (1995);** Ultrasound- monitored ovarian response in normal and superovulated cattle given exogenous progesterone at different stages of the oestrous cycle.
Anim. Reprod. Sci. 38: 187-201
- SCHAMS, D., BERISHA, B. (2004);** Regulation of corpus luteum function in cattle- an overview.
Reprod. Dom. Anim. 39: 241-251
- SCHEMM, S.R., DEEVER, D.R., GRIEL, L.C. Jr., MULLER, L.D. (1990);** Effects of recombinant bovine somatotropin on luteinizing hormone and ovarian function in lactating dairy cows.
Biol. Reprod. 42:815-821
- SCHNEIDER, F., BRÜSSOW, K.P., KANITZ, W. (2006);** Gonadotropin Releasing-hormone and its natural analogues. A review
Theriogenology 66(4): 691-709
- SHERWOOD, N.M., LOVEJOY, D.A., COE, I.R. (1993);** Origin of the mammalian gonadotropin-releasing hormones.
Endocr. Rev. 14: 241-254
- SILVIA, W.J., LEWIS, G.S., McKRACKEN, J.A., THATCHER, W.W., WILSON, L.Jr. (1991);** Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin $F_{2\alpha}$ during luteolysis in ruminants.
Biol. Reprod. 45: 655-663
- SIROIS, J., FORTUNE, J.E. (1988);** Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography.
Biol. Reprod. 39: 308-317
- SIROIS, J., FORTUNE, J.E. (1990);** Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance.
Endocrinology 127: 916-925
- SKARZYNSKI, D.J., BOGACKI, M., KOTWICA, J. (1999);** Involvement of ovarian steroids in basal and oxytocin-stimulated PGF $_{2\alpha}$ secretion by the bovine endometrium.
Theriogenology 52: 385-397
- SMITH, M.W. und STEVENSON, J.S. (1995);** Fate of the dominant follicle, embryonal survival and pregnancy rates in dairy cattle treated with prostaglandin $F_{2\alpha}$ and progestins in the absence or presence of a functional corpus luteum.
J. Anim. Sci. 73(12): 3743-3751
- SMITH, R.D., POMERANTZ, A.J., BEAL, W.E., McCANN, J.P., PILBEAM, T.E., HANSEL, W. (1984);** Insemination of holstein heifers at a preset time after estrous cycle synchronization using progesterone and prostaglandin.
J. Anim. Sci. 58: 792-800
- SPENCER, T.E., BECKER, W.C., GEORGE, P., MIRANDO, M.A., OGLE, T.F., BAZER, F.W. (1996);** Ovine interferon-tau inhibits estrogen receptor up-regulation and estrogen-induced luteolysis in cyclic ewes.
Endocrinology 136: 4932-4944

- SPENCER, T.E., MIRANDO, M.A., MAYES, J.S., WATSON, G.H., OTT, T.L., BAZER, F.W. (1995);** Effects of interferon-tau and progesterone on oestrogen-stimulated expression of receptors for oestrogen, progesterone and oxytocin in the endometrium of ovariectomized ewes.
Reprod. Fertil. Dev. 8: 843-853
- SPICER, L.J., ECHTERNKAMP, S.E. (1995);** The ovarian insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals.
Domest. Anim. Endocrinol. 12: 223-245
- STARBUCK, G.R., GUTIERREZ, C.G., PETERS, A.R., MANN, G.E. (2006);** Timing of follicular phase events and the postovulatory progesterone rise following synchronisation of oestrus in cows.
Vet. J. 172:103-108
- STEVENSON, J.S. (2008);** Progesterone, follicular and estrual responses to progesterone-based estrus and ovulation synchronization protocols at five stages of the estrous cycle.
J. Dairy Sci. 91: 4640-4650
- STEVENSON, J.S., KOBAYASHI, Y., SHIPKA, M.P., RAUCHHOLZ, K.C. (1996);** Altering conception of dairy cattle by gonadotropin-releasing hormone preceding luteolysis induced by prostaglandin F_{2α}.
J. Dairy Sci. 79: 402-410
- STEVENSON, J.S., KOBAYASHI, THOMPSON, K.E. (1999);** Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including Ov'Synch and combinations of Gonadotropin-Releasing Hormone and Prostaglandin F_{2α}.
J. Dairy Sci. 82: 506-515
- STEVENSON, J.S., SCHMIDT, M.K., CALL, E.P. (1984);** Stage of estrous cycle, time of insemination, and seasonal effects on estrus and fertility of Holstein heifers after prostaglandin F_{2α}.
J. Dairy Sci. 67: 1798
- STEVENSON, J.S., TIFFANY, S.M., LUCY, M.C. (2004);** Use of estradiol cypionate as a substitute for GnRH- protocols for synchronizing ovulation in dairy cattle.
J. Dairy Sci. 87: 3298-3305
- STOCK, A.E., FORTUNE, J.E. (1993);** Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters.
Endocrinology 132: 1108-1114
- SUNDERLAND, S.J., CROWE, M.A., BOLAND, M.P., ROCHE, J.F., IRELAND, J.J. (1994);** Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrous cycle of heifers.
J. Reprod. Fertil. 101: 547-555
- TAYLOR, C., RAJAMAHENDRAN, R. (1991);** Follicular dynamics, corpus luteum growth and regression in lactating dairy cattle.
Can. J. Anim. Sci. 71: 61-68
- TELFER, E.E. (1996);** The development of methods for isolation and culture of preantral follicles from bovine and porcine ovaries.
Theriogenology 45: 101-110

- TENHAGEN, B.A., VOGEL, C., DRILLICH, M., THIELE, G., HEUWIESER, W. (2003);** Influence of stage of lactation and milk production on conception rates after timed artificial insemination following OvSynch.
Theriogenology 60: 1527-1537
- THATCHER, W.W., MOREIRA, F., PANCARI, S.M., BARTOLOME, J.A., SANTOS, J.E. (2002);** Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function.
Domest. Anim. Endocrinol. 23: 243-254
- TJONDRONEGORO, S., WILLIAMSON, P.(1987);** Effects of progesterone intravaginal devices on synchronization of estrus in postpartum dairy cows.
J. Dairy Sci. 70: 2162-2167
- TOWNSON, D.H., PATE, J.L. (1996);** Mechanisms of action of TNF- α stimulated prostaglandin production in cultured bovine luteal cells.
Prostaglandins 52: 361-373
- TOWNSON, D.H., TSANG, P.C.W., BUTLER, W.R., FRAJBLAT, M., GRIEL, L.C. Jr., JOHNSON, C.J., MIVAE, R.A., NIKSIC, G.M., PATE, J.L. (2002);** Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows.
J. Anim. Sci. 80: 1053-1058
- TROUT, J.P., McDOWELL, L.R., HANSEN, P.J. (1998);** Characteristics of the estrous cycle and antioxidant status of lactating Holstein cows exposed to heat stress.
J. Dairy Sci. 81:1244-1250
- TSAI, S.J., WILTBANK, M.C. (1997);** Prostaglandin F_{2 α} induces expression of prostaglandin G/H synthase-2 in the ovine corpus luteum: a potential positive feedback loop during luteolysis.
Biol. Reprod. 57: 1016-1022
- TWAGIRAMUNGU, H., GUILBAULT, L.A., PROULX, J., VILLENEUVE, P., DUFFOUR, J.J. (1992);** Influence of an agonist of gonadotropin-releasing-hormone(buserelin) on estrus synchronization and fertility in beef cows.
J. Anim. Sci. 70: 1904-1910
- UEHLINGER, H., BINDER, H., HAUSER, B., RUSCH, P., ZEROBIN, K. (1995);** Hormonanalytischer Vergleich der Vaginaleinlagen CIDR und PRID bei ovariectomierten Kühen.
Schw. Arch. Tierheilkd. 137(3): 81-86
- UTT, M.D., JOUSAN, F.D., BEAL, W.E. (2003);** The effects of varying the intervall from follicular wave emergence to progestin withdrawal on follicular dynamics and the synchrony of estrus in beef cattle.
J. Anim. Sci. 81:1562-1567
- VASCONSCELOS, J.L.M., SARTORI, R., OLIVEIRA, H.N., GUENTHER, J.G., WILTBANK, M.C. (2001);** Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rates.
Theriogenology 56: 307-314
- VASCONSCELOS, J.L.M., SILCOX, R.W., PURSLEY, J.R., WILTBANK, M.C. (1997);** Effect of day of estrous cycle on synchronization of ovulation using GnRH.
J. Anim. Sci. 75(Suppl.1): 89 Abstract

- WALKER, W.L., NEBEL, R.L., MCGILLIARD, M.L. (1990);** Time of ovulation relative to mounting activity in dairy cattle.
J. Dairy Sci. 79: 1555-1561
- WEBB, R., GONG, J.G., LAW, A.S., RUSBRIDGE, S.M. (1992);** Control of the ovarian function in cattle.
J. Reprod. Fertil. Suppl. 45: 141-156
- WEBB, R., GOSDEN, R.G., TELFER, E.E., MOORE, R.M. (1999);** Factors affecting folliculogenesis in ruminants.
Anim. Science 68: 257-284
- WEBB, R., NICHOLAS, B., GONG, J.G., CAMPBELL, B.K., GUTIERREZ, C.G., GARVERICK, H.A., ARMSTRONG, D.G. (2003);** Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle.
Reproduction Supplement 61: 71-90
- WEESNER, G.D., HARMS, P.G., McARTHUR, N.H., WILSON, J., FORREST, D.W., WU, T.J. (1993);** Luteinizing hormone-releasing hormone gene expression in the bovine brain: anatomical localization and regulation by ovarian state.
Biol. Reprod. 49: 431-436
- WEHRMANN, M.E., ROBERSON, M.S., CUPP, A.S., KOJIMA, F.N., STUMPF, T.T., WERTH, L.A., WOLFE, M.W., KITOK, R.J., KINDER, J.E. (1993);** Increasing exogenous progesterone during synchronization of estrus decreases endogenous 17- β -estradiol and increases conception in cows.
Biol. Reprod. 49: 214-220
- WILSON, C.A., LEIGH, A.J., CHAPMAN, A.J. (1990);**
Gonadotropin glykosylation and function.
J. Endocrin. 125: 3-14
- WILSON, S.J., KIRBY, C.J., KOENIGSFELD, A.T., KEISLER, D.H., LUCY, M.C. (1998);**
Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 2. heifers.
J. Dairy Sci. 81:2132-2138
- WILTBANK, J.N., ZIMMERMANN, D.R., INGALLS, J.E., ROWDEN, W.W. (1965);** Use of progestational compounds alone or in combination with estrogen for synchronization of estrus.
J. Anim. Sci. 24: 990-994
- WILTBANK, M.C. (1994);** Cell types and hormonal mechanisms associated with mid-cycle corpus luteum function.
J. Anim. Sci. 72: 1873-1883.
- WILTBANK, M.C., GÜMEN, A., SARTORI, R. (2002);** Physiological classification of anovulatory conditions in cattle.
Theriogenology 57: 21-52
- WOLFENSON, D., INBAR, G., KAIM, M., BLOCH, A., BRAW-TAL, R. (2004);** Follicular dynamics and concentration of steroids and gonadotropins in lactating cows and nulliparous heifers.
Theriogenology 62(6): 1042-1055

WOLFENSON, D., THATCHER, W.W., SAVIO, J.D., BADINGA, L., LUCY, M.C. (1994); The effect of a GnRH analogue on the dynamics of follicular development and synchronization of estrus in lactating cyclic dairy cows.
Theriogenology 42(4): 633-644

XU, Z.Z., BURTON, L.J., MACMILLAN, K.L. (1997); Reproductive performance of lactating dairy cows following estrus synchronization regimens with PGF_{2α} and progesterone.
Theriogenology 47: 687-701

ZIMBELMANN, R.G. und SMITH, L.W. (1966); Control of ovulation in cattle with melengestrol acetate. Effect of dosage and route of administration.
J. Reprod. Fertil. 11: 185

10 Anhang

Tab. 31: LH-Konzentrationen in ng/ml der Einzeltiere in Gruppe 1

Zeit	h nach Entf	Tier 213	Tier 245	Tier 249	Tier 214	Tier 209	Tier 202
06:00	38	0,96	1,82	1,7	2,18	2,09	0,86
08:00	40	0,74	1,11	2,37	1,33	1,62	0,53
10:00	42	2,44	2,28	1,36	1,96	1,71	1,08
12:00	44	1,58	1,36	2,6	1,77	1,75	0,92
14:00	46	1,42	0,81	1,5	1,95	1,37	0,63
16:00	48	0,51	2,06	2,75	9,04	2	1,03
18:00	50	0,12	1,32	1,58	15,25	1,43	0,52
20:00	52	1,46	2,53	2,35	13,75	2,14	1,08
22:00	54	0,63	1,24	2,9	8,26	3,96	1,22
00:00	56	5,2	1,82	2,67	4,25	23	1,63
02:00	58	13,03	2,28	1,66	1,66	21,4	0,82
04:00	60	14,6	2,22	3,04	0,55	8,79	0,44
06:00	62	7,4	2,18	1,9	0,06	2,52	0,5
08:00	64	2,56	2,39	1,74	0,06	1,55	1,07
10:00	66	1,09	1,93	2,18	0,06	0,66	0,24
12:00	68	0,13	2,68	2,13	0,06	0,21	0,69

Tab. 32: LH-Konzentrationen in ng/ml der Einzeltiere in Gruppe 2

Zeit	h nach Entf	Tier 232	Tier 237	Tier 242	Tier 272	Tier 274	Tier 217
08:00	40						
10:00	42						
12:00	44	1,48	0,55	0,91	0,36	1,46	0,98
14:00	46	9,94	0,97	4,91	1,28	1,78	2,48
16:00	48	13,03	1,67	27,89	2,7	1,85	2,33
18:00	50	12,05	1,57	26,28	8,77	19,52	1,38
20:00	52	4,16	2,4	24,87	11,54	25,95	1,23
22:00	54	1,24	1,59	13,83	11,29	27,4	1,47
00:00	56	0,55	2,81	3,36	9,51	21,82	1,83
02:00	58	0,24	2,81	0,88	2,15	5,75	1,11
04:00	60	0,12	0,92	0,41	0,51	1,36	3,28
06:00	62	0,07	1,32	0,27	0,2	0,53	13,76
08:00	64	0,06	1,92	0,24	0,13	0,23	19,91
10:00	66	0,04	2,08	0,09	0,08	0,11	18,27
12:00	68	0,03	11	0,03	0,02	0,07	11,24
14:00	70	0,05	16,97	0,03	0,04	0,03	3,49
16:00	72	0,03	19,09	0,02	0,04	0,08	1,73
18:00	74		18,9	0,04	0,02	0,06	0,94
20:00	76		9,67	0,02	0,02	0,06	0,41
22:00	78		3,24	0,04	0,02	0,06	0,34
00:00	80		1,34				0,59

Tab. 33: LH-Konzentrationen in ng/ml der Einzeltiere in Gruppe 3

Zeit	h nach Entf	Tier 154	Tier 137	Tier 294	Tier 208	Tier 168	Tier 238
08:00	40						
10:00	42						
12:00	44	13,14	0,3	0,41	1,15	2,74	1,38
14:00	46	4,67	0,56	4,75	0,73	0,51	1,03
16:00	48	1,04	0,48	35,01	1,69	1,48	1,16
18:00	50	0,8	1,22	33,1	1,27	0,38	0,72
20:00	52	0,81	1,39	32,18	3,26	5,1	3,34
22:00	54	0,21	0,66	12,96	6,62	4,77	2,27
00:00	56	0,26	0,88	2,77	9,06	6,82	4,43
02:00	58	0,12	1,38	0,86	5	2,9	6,86
04:00	60	0,05	0,35	0,75	1,47	3,08	28,26
06:00	62	0,04	0,43	0,31	0,37	2,23	26,34
08:00	64	0,09	1,15	0,34	0,42	1,19	10,01
10:00	66	0,03	0,45	0,12	0,31	1,31	3,78
12:00	68	0,02	1,49	0,22	0,09	1	0,73
14:00	70	0,02	8,57	0,04	0,09	0,93	0,32
16:00	72	0,02	18,61	0,03	0,29	1,85	0,25
18:00	74	0,04	19,21	0,09	0,04	1,17	0,2
20:00	76	0,35	14,42	0,04	0,05	1,21	0,07
22:00	78	0,05	5,06	0,02	0,07	0,85	0,1
00:00	80		1,12	0,02	0,08	9,15	0,19

Tab. 34: LH-Konzentration in ng/ml der Einzeltiere in Gruppe 4

Zeit	h nach Entf	Tier 208	Tier 209	Tier 294	Tier 168	Tier 242	Tier 272
08:00	40	11,6		11,8			
12:00	44	4,1		9,6		1,55	2,14
14:00	46	1,2		16,9		3,59	0,73
16:00	48	0,9		12,2		1,98	0,24
18:00	50	0,6		6,5		1,79	0,13
20:00	52	0,2		3,0	3,1	1,5	0,12
22:00	54	0,02		1,5	5,3	1,75	0,06
00:00	56	0,04		1,0	3,4	1,83	0,06
02:00	58	0,04	1,7	0,8	5,0	2,61	0,06
04:00	60		1,8		7,4	1,16	0,06
06:00	62		0,8		29,6	0,89	0,06
08:00	64		2,4		28,3	6,25	0,06
10:00	66		3,6		14,6	2,02	0,06
12:00	68		9,5		6,5	1,08	0,06
14:00	70		11,2		1,8	3,6	0,06
16:00	72		9,5			2,28	0,06
18:00	74		4,6			1,47	0,06
20:00	76		1,8			2,09	0,06
22:00	78					0,88	
00:00	80						
02:00	82					0,73	
04:00	84					0,86	
06:00	86					0,78	
08:00	88					2,58	
10:00	90					5,68	
12:00	92					12,03	
14:00	94					14,72	
16:00	96					9,89	
18:00	98					4,51	
20:00	100					1,77	

Tab. 35: LH-Konzentrationen in ng/ml der Einzeltiere in Gruppe 5

Zeit	h nach Entf	Tier 393	Tier 398	Tier 202	Tier 213	Tier 232	Tier 154
08:00	40	2,2					
12:00	44	2,3		0,06	0,06	0,26	
14:00	46	2,2	1,2	0,06	0,23	0,78	
16:00	48	4,2	2,1	11,54	16,31	0,72	
18:00	50	24,7	2,8	23,8	32,05	0,07	
20:00	52	47,4	3,6	17	15,04	0,22	0,2
22:00	54	33,0	9,9	8,2	5,56	0,55	0,9
00:00	56	14,4	22,7	2,78	1,45	0,77	1,3
02:00	58	4,7	16,6	1,04	0,27	0,85	1,0
04:00	60		6,6	0,15	0,08	0,67	10,7
06:00	62		2,2	0,06	0,06	0,1	25,2
08:00	64		0,6			0,15	16,2
10:00	66					1,21	8,0
12:00	68					0,51	2,4
14:00	70					0,2	1,8
16:00	72					0,73	
18:00	74					1,18	
20:00	76					1,19	
22:00	78					0,38	
	80					0,39	
	82					0,91	
	84					0,53	
	86					0,45	
	88					0,94	
	90					2,89	
	92					2,04	
	94					3,8	
	96					10,1	
	98					7,56	
	100					5,65	
	102					2,71	

Tab. 36: LH-Konzentrationen in ng/ml der Einzeltiere in Gruppe 6

Zeit	h nach Entf	Tier 249	Tier 137	Tier 238	Tier 214	Tier 237	Tier 274
08:00	40	1,5	1,6	3,1			
12:00	44	13,0	1,4	13,3	1,48	0,42	1,65
14:00	46	52,3	2,1	41,6	1,63	0,98	2,93
16:00	48	22,3	3,7	28,9	1,56	4,08	32,75
18:00	50	8,8	3,0	13,5	3,57	32,5	30,36
20:00	52	2,8	17,4	4,0	2,43	19,3	23,99
22:00	54	0,6	48,5	1,4	4,7	10,31	12,84
00:00	56	0,4	53,9	0,7	19,7	3,4	4,11
02:00	58	0,08	20,0	0,6	23,3	1,58	0,67
04:00	60				20,4	0,55	0,41
06:00	62				9,34	0,15	0,19
08:00	64				3,81	0,06	0,06

Tab. 37: Darstellung der verschiedenen Intervalle für die Einzeltiere in den Gruppen

Gruppe 1 PRID		Behandlungsbeginn ZT 3/4					
Tier Nr.		202	249	214	209	213	245
PRID – LH-Peak	(h) ± 1			50	56	60	
PRID – Ovulation	(h) ± 3	130	130	75	81	81	104
LH-Peak bis Ovulation	(h)			25	25	21	
Gruppe 2 PRID		Behandlungsbeginn ZT 11/12					
Tier Nr.		232	237	242	217	272	274
PRID – LH-Peak	(h) ± 1	48	72	48	64	52	54
PRID – Ovulation	(h) ± 3	69	99	75	87	75	75
LH-Peak bis Ovulation	(h)	21	27	27	23	23	21
Gruppe 3 PRID		Behandlungsbeginn ZT 17/18					
Tier Nr.		154	238	294	168	137	208
PRID – LH-Peak	(h) ± 1	<44	60	48	54	74	56
PRID – Ovulation	(h) ± 3	69	81	75	75	100	75
LH-Peak bis Ovulation	(h)	25	21	27	21	27	19
Gruppe 4 PRIDα		Behandlungsbeginn ZT 3/4					
Tier Nr.		272	242	208	209	294	168
PRID – LH-Peak	(h) ± 1	44	94	<40	70	46	62
PRID - Ovulation	(h) ± 3	<66	117	<66	93	<66	87
LH-Peak bis Ovulation	(h)	22	23	26	23	20	25
Gruppe 5 PRIDα		Behandlungsbeginn ZT 11/12					
Tier Nr.		213	232	202	393	398	154
PRID – LH-Peak	(h) ± 1	50	96	50	52	56	62
PRID - Ovulation	(h) ± 3	81	142(\pm 6)	75	75	81	87
LH-Peak bis Ovulation	(h)	31		25	23	25	25
Gruppe 6 PRIDα		Behandlungsbeginn ZT 17/18					
Tier Nr.		274	237	214	249	137	238
PRID – LH-Peak	(h) ± 1	48	50	58	46	56	46
PRID - Ovulation	(h) ± 3	69	75	81	75	75	69
LH-Peak bis Ovulation	(h)	21	25	23	29	19	23

Danksagung

Mein aufrichtiger Dank für die Überlassung des Themas sowie die Unterstützung und die gute Betreuung bei der Erstellung dieser Arbeit gilt Herrn Prof. Dr. Wilhelm Kanitz.

Ebenfalls danke ich Herrn Dr. Frank Becker für die wissenschaftliche Betreuung und die fachkundige Einführung in die sonographische Ovardiagnostik.

Dem Besamungsverein Neustadt a.d. Aisch e.V. mit den leitenden Direktoren Dr. Claus Leiding und Herrn Dr. Jörg Aumann möchte ich für die im Rahmen der Dr. Dr. h.c. Karl-Eibl-Stiftung gewährte, finanzielle Unterstützung herzlich danken. Herrn Dr. Claus Leiding möchte ich besonders für sein offenes Ohr bei allen Problemen und Schwierigkeiten bezüglich der Durchführung des experimentellen Teils dieser Arbeit danken und darüber hinaus für die stets schnelle und unkomplizierte Hilfe.

Dem ET-Team des Besamungsvereins Neustadt a. d. Aisch e.V., insbesondere Herrn Dr. Hans-Peter Nohner, Herrn Gerhard Ernst, Herrn Udo Heller sowie Herrn Vladimir Walter und Herrn Gerhard Rückel danke ich für die freundliche und gute Zusammenarbeit sowie für die Hilfe bei der Planung und Durchführung der Versuche.

Meinen Mitdoktoranden beim BVN Frau Christina Ambross, Frau Corinna Wimmer, Herrn Michai Griga sowie Herrn Cord Lellbach danke ich für Ihre Hilfsbereitschaft bei der Durchführung des praktischen Teils. Ebenfalls möchte ich mich bei den Mitdoktoranden des FBN Dummerstorf Herrn Andreas Vernunft und Guido Stürmer bedanken, die mich stets mit guten und konstruktiven Anregungen während meiner Besuche in Dummerstorf unterstützten.

Für die Durchführung der Hormonanalysen und die stets freundliche Beratung in allen Fragen der Endokrinologie beim FBN Dummerstorf bin ich Herrn Dr. Falk Schneider und seinen Mitarbeiterinnen zu großem Dank verpflichtet.

Bei Herrn Dr. Gerd Nürnberg möchte ich mich herzlich für seine Hilfe bei der statistischen Auswertung der Versuchsdaten bedanken.

Bei allen bereits genannten Mitarbeitern des FBN Dummerstorf sowie Herrn PD Dr. Helmut Torner und Frau Dr. Hannelore Alm möchte ich mich für die freundliche Aufnahme und Gastfreundlichkeit während meiner Hospitanzen in Dummerstorf bedanken.

Einen großen Dank auch an Herrn Georg Studrucker und seinem Team, Sabine und Hans-Herman Nöhring und Familie Heller, die mich bei den Untersuchungen der Tiere und allem Organisatorischem rund um die Rinderhaltung unterstützten.

Meinen Arbeitgebern Herrn Dr. Thomas Berlet, Frau Dr. Silvia Krauss-Müller und Herrn Dr. Hubert Müller danke ich für die Gewährung von Freiräumen, die zur Fertigstellung dieser Arbeit nötig waren.

Selbständigkeitserklärung

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

Zusmarshausen, den 27.07.11

Ines Mücke