

Aus dem Zentrum für klinische Tiermedizin  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Betreuer: Univ.-Prof. Joachim Braun

## **Neue Entwicklungen in der Besamung beim Rind**

---

### **Eine Literaturstudie und zwei CASUS-Lernfälle**

Inauguraldissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Matthias Schmitz

aus Trier

München 2010

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Joachim Braun  
Berichterstatter: Univ.-Prof. Joachim Braun  
Korreferent: Prof. Dr. med. vet. Holm Zerbe

Tag der Promotion: 24. Juli 2010

# Inhaltsverzeichnis

<b><u>Inhaltsverzeichnis</u></b>	<b><u>II</u></b>
----------------------------------	------------------

<b><u>Abkürzungsverzeichnis</u></b>	<b><u>VI</u></b>
-------------------------------------	------------------

<b><u>1</u></b>	<b><u>Einleitung</u></b>	<b><u>1</u></b>
-----------------	--------------------------	-----------------

<b><u>2</u></b>	<b><u>Literatur</u></b>	<b><u>2</u></b>
-----------------	-------------------------	-----------------

<b>2.1</b>	<b>Anatomische und physiologische Grundlagen</b>	<b>2</b>
------------	--	----------

2.1.1	Keimbereitende Organe	2
-------	-----------------------	---

2.1.2	Keimleitende Organe	2
-------	---------------------	---

2.1.3	Begattungsorgane	3
-------	------------------	---

2.1.4	Keimbewahrendes Organ	3
-------	-----------------------	---

2.1.5	Hormonelle Regulation des Zyklus	4
-------	----------------------------------	---

<b>2.2</b>	<b>Brunsterkennung</b>	<b>5</b>
------------	------------------------	----------

2.2.1	Visuelle Brunsterkennung	6
-------	--------------------------	---

2.2.1.1	Punktesystem nach Van Eerdenburg	7
---------	----------------------------------	---

2.2.2	Suchtiere	8
-------	-----------	---

2.2.3	Tailpainting	9
-------	--------------	---

2.2.4	Aufsprungdetektoren	10
-------	---------------------	----

2.2.5	Pedometrie	11
-------	------------	----

2.2.6	Rektale Untersuchung	12
-------	----------------------	----

2.2.7	Hormonbestimmung	13
-------	------------------	----

2.2.7.1	Integrierte Hormonbestimmung	15
---------	------------------------------	----

2.2.7.2	Dynamische deterministische Modelle	17
---------	-------------------------------------	----

2.2.8	Körpertemperaturmessungen	17
-------	---------------------------	----

2.2.9	Veränderungen im vaginalen Milieu	18
-------	-----------------------------------	----

2.2.10	Weitere Ansätze	19
--------	-----------------	----

<b>2.3</b>	<b>Bestimmung des optimalen Besamungszeitpunktes</b>	<b>20</b>
<b>2.4</b>	<b>Ovulationssynchronisation</b>	<b>22</b>
2.4.1	PGF <sub>2α</sub> -basierte Synchronisation	22
2.4.1.1	Fruchtbarkeit bei brunstabhängiger Besamung	24
2.4.1.2	Fruchtbarkeit bei terminierter Besamung	24
2.4.2	Gestagenbasierte Synchronisation	25
2.4.2.1	Gestagenprogramme	26
2.4.2.2	Gestagene und Östrogene	27
2.4.2.3	Gestagene und PGF <sub>2α</sub>	28
2.4.3	GnRH-basierte Synchronisation	30
2.4.3.1	SelectSynch	31
2.4.3.2	OvSynch	32
2.4.3.3	PreSynch	34
2.4.3.4	OvSynch und Gestagene	35
2.4.3.5	ReSynch	35
2.4.3.6	HeatSynch	36
<b>2.5</b>	<b>Samenaufbereitung für die KB</b>	<b>36</b>
2.5.1	Konservierungsmethode	36
2.5.2	Samendosis	38
2.5.3	Gesexter Samen	39
<b>2.6</b>	<b>Inseminationsort</b>	<b>41</b>
2.6.1	Intrazervikale vs. intrauterine Besamung	42
2.6.2	Intrauterine vs. intracornuale Insemination	42
2.6.3	Intraperitoneale Insemination	44
<b><u>3</u></b>	<b><u>Die CASUS-Lernfälle</u></b>	<b><u>45</u></b>
<b>3.1</b>	<b>Fall 1: Besamung beim Rind</b>	<b>47</b>
3.1.1	Karte 1: Einleitung	47

3.1.2	Erläuterungen zu Karte 1	49
3.1.3	Karte 2: Wichtig!	49
3.1.4	Karte 3: Funktionelle Lebensdauer	50
3.1.5	Erläuterungen zu den Karten 2 und 3	51
3.1.6	Karte 4: Vorbericht	52
3.1.7	Karte 5: Im Stall	53
3.1.8	Karte 6: Äußeres Genitale	55
3.1.9	Karte 7: Rektale Untersuchung	56
3.1.10	Erläuterungen zu den Karten 4 bis 7	57
3.1.11	Karte 8: Bullenauswahl	59
3.1.12	Erläuterungen zu Karte 8	61
3.1.13	Karte 9: Spermaentnahme	61
3.1.14	Karte 10: Auftauen	62
3.1.15	Karte 11: Die Paillette	63
3.1.16	Erläuterungen zu den Karten 9 bis 11	64
3.1.17	Karte 12: Wieder an der Kuh	65
3.1.18	Karte 13: Letzte Aufgabe	67
3.1.19	Erläuterungen zu den Karten 12 und 13	68
<b>3.2</b>	<b>Fall 2: Fruchtbarkeitsprogramme</b>	<b>68</b>
3.2.1	Karte 1: Brunstbeobachtung	68
3.2.2	Erläuterungen zu Karte 1	70
3.2.3	Karte 2: Fruchtbarkeitskennzahlen	70
3.2.4	Erläuterungen zu Karte 2	72
3.2.5	Karte 3: Hilfsmittel zur Brunsterkennung	72
3.2.6	Erläuterungen zu Karte 3	75
3.2.7	Karte 4: Hormone	75
3.2.8	Erläuterungen zu Karte 4	77

3.2.9	Karte 5: Prostaglandinprogramm	78
3.2.10	Karte 6: GnRH	79
3.2.11	Erläuterungen zu den Karten 5 und 6	80
3.2.12	Karte 7: OvSynch	80
3.2.13	Karte 8: Besamungszeitpunkt	81
3.2.14	Erläuterungen zu den Karten 7 und 8	82
3.2.15	Karte 9: PreSynch	82
3.2.16	Erläuterungen zu Karte 9	83
<b><u>4</u></b>	<b><u>Diskussion</u></b>	<b><u>84</u></b>
<b><u>5</u></b>	<b><u>Zusammenfassung</u></b>	<b><u>90</u></b>
<b><u>6</u></b>	<b><u>Summary</u></b>	<b><u>91</u></b>
<b><u>7</u></b>	<b><u>Literaturverzeichnis</u></b>	<b><u>92</u></b>

## Abkürzungsverzeichnis

CAP	6-chloro- $\Delta^6$ -dehydro-17-acetoxyprogesteron; Chlormadinonacetat
CIDR	controlled internal drug release
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assays
FSH	Follikel stimulierendes Hormon
FWZ	Freiwillige Wartezeit
GnRH	gonadotropine releasing hormone
KB	Künstliche Besamung
LH	luteinisierendes Hormon
MAP	6-Methyl-17-Acetoxyprogesteron
MGA	Melengestrolacetat
NRR 75	Non-Return-Rate, am 75. Tag nach der Besamung
p.i.	post inseminationem
PPW	positiver prädiktiver Wert
PRID	progesterone releasing intravaginal device
RIA	Radioimmunoassay
SD	Standardabweichung
TG-Sperma	Tiefgefriersperma
TIRF	total internal reflectance fluorescence, Interne-Totalreflektions-Fluoreszenz
TR	Trächtigkeitsrate
ZKZ	Zwischenkalbezeit

## 1 Einleitung

Die Künstliche Besamung ist das älteste und erfolgreichste biotechnische Verfahren in der Reproduktionsmedizin der Nutztiere. Ursprünglich vor allem zur Eindämmung verheerender Deckseuchen eingesetzt, liegt der Schwerpunkt heute in der Anwendung als Zuchtinstrument, denn die Künstliche Besamung (KB) bietet die Möglichkeit, die Nachkommenzahl von wertvollen Vatertieren bedeutend zu erhöhen. Damit wird eine breite Selektionsgrundlage geschaffen und eine verbesserte Basis für die Zuchtwertschätzung. Daneben weist der flächendeckende Einsatz der Künstlichen Besamung einige wirtschaftliche Vorteile auf durch die Einsparung von männlichen Zuchttieren oder die räumlich und zeitlich unabhängige Verpaarung von Tieren. Schließlich ist die intensive Nutzung von biotechnischen Verfahren (Embryotransfer, In-Vitro-Fertilisation, Geschlechtsdetermination der Nachkommen) erst durch die Besamung erfolgreich möglich.

2005 wurden in Deutschland 81.9 % der Rinder künstlich besamt. Etwas mehr als die Hälfte dieser Besamungen wurde von Besamungstechnikern durchgeführt, aber auch die Tierärzteschaft hat mit 27 % einen wesentlichen Anteil daran (Busch und Waberski, 2007). Gleichzeitig ist eine korrekte Besamungsarbeit ein Grundpfeiler der Herdenfruchtbarkeit und daher von nicht unerheblicher Bedeutung für erfolgreiche Milchproduktion.

Die vorliegende Arbeit soll einerseits eine Literaturübersicht zum Stand der KB beim Rind liefern. Zusätzlich wurden zwei CASUS-Lernfälle zur Künstlichen Besamung des Rindes erstellt, um aktuelles Wissen in einer Weise zu präsentieren, die überschaubar bleibt, ohne auf wichtige Details zu verzichten, und dabei den Benutzer nicht überfordert. Als Zielgruppe sind Tiermedizinstudentinnen und –studenten der klinischen Semester vorgesehen, sodass auf die Vermittlung detaillierter Kenntnisse der Anatomie und Physiologie des weiblichen Geschlechtsapparates verzichtet werden kann.



## **2 Literatur**

### **2.1 Anatomische und physiologische Grundlagen**

#### **2.1.1 Keimbereitende Organe**

Das Ovar der Kuh ist ein paariges Organ, das eine ovale und seitlich leicht abgeplattete Gestalt hat. Es ist etwa 25 bis 50 mm lang, 15 bis 40 mm hoch und 15 bis 30 mm dick (Hanzen et al., 2000). Seine Oberfläche wird größtenteils aus Keimdrüsenepithel gebildet. Heranreifende oder reife Follikel und Gelbkörper verschiedener Entwicklungsstadien lassen den Eierstock uneben und höckerig erscheinen. Die unterschiedlichen Funktionsgebilde lassen sich durch manuelle rektale Untersuchung mit einer gewissen Sicherheit differenzieren (Hanzen et al., 2000). Das Gekröse des Eileiters, die Mesosalpinx, welche eine Abspaltung des Mesovars darstellt, bildet die Bursa ovarica, die das Ovar vollständig umhüllt (Schummer und Vollmerhaus, 1987). Es besteht eine Anastomose zwischen dem uterinen Ast der Arteria ovarica und der Arteria uterina. Dadurch ist eine zusätzliche Blutversorgung des Ovars gegeben (Ford und Chenault, 1981). Der Ast der Arteria ovarica nimmt zudem engen Kontakt mit der Vena uterina auf. An dieser Stelle können Botenstoffe wie Prostaglandine auf direktem Weg vom Endometrium zum Ovar gelangen und hier ihre Funktion erfüllen, bevor sie im Körperkreislauf metabolisiert werden (Ginther, 1974).

#### **2.1.2 Keimleitende Organe**

Die Eileiter sind enge häutig-muskuläre Schläuche und ebenfalls paarig. Ovarseitig münden die Salpingen in das Infundibulum, den Eileitertrichter, der zahlreiche Fimbrien auf seiner Oberfläche trägt. Diese Fimbrienplatte legt sich dem Ovar nur an, daher besteht an dieser Stelle eine offene Verbindung zwischen dem Eileiterlumen und der Bauchhöhle (Schummer und Vollmerhaus, 1987). Der Eileitertrichter mündet in den erweiterten Anfangsteil, die Ampulla tubae uterinae. Hier findet die Befruchtung des Ovums statt. Der anschließende engere, für die Eizelle eben passierbare Isthmus tubae uterinae verläuft in vielen größeren und kleineren Windungen und erstreckt sich so über eine Länge von 20 bis 28 cm. Seine Schleimhaut besitzt tiefe Falten und drüsige Recessus mit ziliotragendem Epithel. Die Tuba uterina mündet an der Uterushornspitze ohne besondere anatomische Barriere (Hunter, 1995b).

### **2.1.3 Begattungsorgane**

Vagina, Vestibulum, Vulva und Klitoris können als Begattungsorgane zusammengefasst werden. Den äußeren Verschluss der weiblichen Geschlechtsorgane bildet die Vulva mit ihren beiden Labien, die die Schamspalte umschließen und in ihrem ventralen Winkel die Klitoris beherbergen. An die Vulva schließt sich das relativ kurze Vestibulum vaginae an, welches von der Vagina nur durch die Mündung der Harnröhre am Scheidenboden abgegrenzt wird. Hier münden die beiden Ausführungsgänge der Glandulae vestibulares majores sowie mehrerer Glandulae vestibulares minores (König und Liebich, 1999). Die Vagina ist ein dickwandiges muskelstarkes Hohlorgan und etwa 30 cm lang. An ihrem kranialen Ende findet man den äußeren Muttermund, der zapfenartig in das Scheidengewölbe ragt. Der Fornix vaginae überragt dadurch die Portio vaginalis cervicis dorsal und ist bauchhöhlenwärts nur von Peritoneum bedeckt. Somit kann man durch Perforation des Scheidendaches die Bauchhöhle erreichen, was zuweilen für diagnostische oder therapeutische Zwecke genutzt wird. Die Scheide dient bei der Bedeckung zur Aufnahme des Penis des Bullen und zur Deponierung des Spermas (Schummer und Vollmerhaus, 1987).

### **2.1.4 Keimbewahrendes Organ**

Die Gebärmutter besteht aus der Cervix uteri, dem Corpus uteri und den beiden Cornua uteri. Die Zervix ist ein enger muskulöser Kanal, der vom äußerem zum inneren Muttermund reicht und beim jungen Rind eine Länge von 60 bis 70 mm besitzt. Bei älteren Kühen erstreckt sie sich über 10 bis 15 cm. Der Zervikalkanal besitzt zahlreiche tiefe Krypten und drei bis vier ringförmige Querfalten, wodurch er einen mitunter recht komplizierten zickzackförmigen Verlauf nimmt. Dieser Verschluss gegen eindringende Keime wird durch Kontraktionen des Sphinkters und die Sekretion eines zähen Schleimpfropfes vervollständigt (König und Liebich, 1999). Der Gebärmutterhals ist so außer in der Brunst sowie während und kurz nach der Geburt fest verschlossen.

An die Zervix schließt sich der 3-5 cm lange Uteruskörper an, der sich in die beiden Cornua uteri aufteilt. Diese laufen noch eine Strecke weit parallel und machen durch den gemeinsamen Bauchfellüberzug den Eindruck eines einheitlichen Körpers. Im weiteren Verlauf rollen sie sich widerhornartig nach ventral ein. Die nichtträchtigen Cornua haben eine Länge von 35-45 cm und gehen an ihrem Ende ohne eigene anatomische Barriere in den

Eileiter über. Die Schleimhaut des Uterus trägt Längsfalten und die Karunkelanlagen, die in der Trächtigkeit mit dem fetalen Teil der Plazenta, den Kotyledonen, verwachsen. Der Uterus ist extrem variabel in seiner Größe, er liegt im Östrus vollständig in der Beckenhöhle oder reicht gegen Ende der Trächtigkeit tief in die Bauchhöhle (Schummer und Vollmerhaus, 1987).

### **2.1.5 Hormonelle Regulation des Zyklus**

Der Zyklus des Rindes dauert im Mittel 21 Tage (18 bis 24 Tage), bei Färsen nur 20 Tage (Grunert, 1999b; Meinecke, 2000). Er ist in vier Abschnitte unterteilt, Östrus oder Brunst, in dem Deckbereitschaft besteht, Postöstrus, in dem die äußeren und inneren Brunstsymptome langsam nachlassen, Interöstrus oder Diöstrus, die Phase der sexuellen Ruhe, sowie Präöstrus, in dem erste Brunsterscheinungen auftreten. Außer dem Östrus sind diese Phasen nicht genau gegeneinander abgrenzbar (Grunert, 1999b).

Der größte Teil des Zyklus, der Interöstrus, steht unter dem Einfluss von Progesteron, das von den Zellen des Corpus luteum sezerniert wird. Nach der Ovulation des reifen Follikels entwickeln sich Granulosa- und Theka-interna-Zellen des Follikels zu den Lutealzellen des jungen Gelbkörpers. Nach 3 bis 4 Tagen produzieren diese nachweisbare Mengen an Progesteron (Wise et al., 1982). Der Serumprogesteronspiegel erreicht etwa am 8. Tag des Zyklus seinen höchsten Punkt und bleibt dann weitgehend konstant. Parallel dazu wachsen auf dem Ovar jeweils mehrere Follikel heran, von denen einer Dominanz erlangt und sich weiter vergrößert, während die anderen der Atresie anheimfallen. Während der Lutealphase kommt der dominante Follikel nicht zur Ovulation, sondern atresiert ebenfalls, weil Progesteron durch sein indirektes negatives Feedback auf LH die Ovulation verhindert (Valdez et al., 2005). Daraufhin reift eine neue Welle antraler Follikel heran. Der Zyklus des Rindes weist zwei oder drei solcher Follikelwellen auf (Sirois und Fortune, 1988), selten auch einmal nur eine oder gar vier (Gordon, 2003).

Neuroendokrine Zellen des Hypothalamus setzen periodisch GnRH frei, das durch ein Pfortadersystem direkt zur Hypophyse gelangt, wo es die Sekretion von LH und FSH bewirkt. Der Follikel steht unter dem Einfluss dieser beiden Hormone (Lucy, 2007). FSH stimuliert das Wachstum des Follikels, wohingegen LH in der folliculären Phase des Zyklus, also in Abwesenheit von Progesteron, die Ovulation auslöst und die anschließende Differenzierung der Granulosa- und Thekazellen zu großen und kleinen Luteinzellen des Gelbkörpers. Beide

Hormone sind gemeinsam notwendig für die Synthese von Östradiol durch den Follikel. Durch ein negatives Feedback reduziert Östradiol die Ausschüttung der Gonadotropine. Auf die Granulosazellen des Follikels wirkt es mitogen und veranlasst das Einsprossen von Blutgefäßen. Dadurch kann ein Follikel mit einem anfänglichen Wachstumsvorteil mehr FSH binden als die anderen seiner Welle, denen eine ausreichende Anzahl FSH-Rezeptoren fehlt. Sie können kein Östrogen produzieren und atresieren daher (Lucy, 2007). Der dominante Follikel wächst unter FSH-Einfluss weiter und erreicht dabei Durchmesser bis 15 mm in der Lutealphase und bis 25 mm als präovulatorischer, „Graafscher Follikel“ (Grunert, 1999a).

Etwa 1 – 4 Tage vor dem nachfolgenden Östrus kommt es zur Rückbildung des Corpus luteum durch die Wirkung von Prostaglandin  $F_{2\alpha}$ , das aus dem Endometrium stammt. Die Synthese und Sekretion des PGF wird durch Oxytocin aus der Hypophyse stimuliert und durch Oxytocin lutealen Ursprungs verstärkt, das an spezifische Rezeptoren an der Endometrialzelle bindet (McCracken et al., 1999). Die Bildung der Oxytocinrezeptoren ist von Östradiol abhängig, das im Follikel unter FSH- und LH-Einfluss gebildet wird. Die Zeit zwischen dem Absinken des Progesteronspiegels und der Ovulation ist von verschiedenen Faktoren abhängig, wie dem Vorhandensein eines präovulatorischen Follikels, der Körperkondition, Stress, der Jahreszeit und möglicherweise Laktationszahl und Fütterung (Gordon, 2003). Nachdem der Progesteronspiegel abgesunken ist, kommt das positive Feedback von Östrogen auf GnRH zum Tragen. Indirekt stimuliert Östrogen so die Sekretion von LH, was wiederum seine eigene Syntheserate erhöht. Das System schaukelt sich auf, es kommt schließlich zu einem LH-Peak (Dobson, 1978), der die Ovulation des Follikels zur Folge hat (Lucy, 2007). Der erhöhte Östrogenspiegel ist zugleich auch für die klinische Ausprägung der äußeren Brunsterscheinungen verantwortlich.

## **2.2 Brunsterkennung**

Um eine Künstliche Besamung erfolgreich durchzuführen, ist es von essentieller Bedeutung, den Ovulationszeitpunkt möglichst genau vorherzubestimmen. Mangelhafte Brunsterkennung trägt den größten Teil zu schlechter Fruchtbarkeit bei (Reimers et al., 1985). Das optimale System zur Brunsterkennung erfüllt folgende Voraussetzungen: Kontinuierliche Überwachung (24 h/Tag), akkurate und automatische Identifikation der brünstigen Kuh, Funktionsfähigkeit über die gesamte produktive Lebensspanne, minimaler Arbeitsaufwand, hohe Präzision bei der Erkennung geeigneter physiologischer oder

ethologischer Ereignisse, die eng mit der Ovulation korrelieren (Senger, 1994). Bis heute sind viele Methoden der Brunsterkennung entwickelt worden, die einige, aber nicht alle diese Forderungen erfüllen.

### **2.2.1 Visuelle Brunsterkennung**

Der Zyklus des Rindes ist durch verschiedene Verhaltensweisen sowie physiologisch-anatomische Veränderungen charakterisiert, die es erlauben, Rückschlüsse auf den Zyklusstand zu ziehen. Dabei ist die Hoch- oder Hauptbrunst, die in engem Zusammenhang mit der Ovulation steht, von besonderem Interesse. Sie wird meist als die Zeit der Duldung des Aufspringens durch andere Tiere (Duldungsstarre) definiert. Ihre durchschnittliche Dauer beträgt zwischen 6,2 und 15,7 Stunden (Hurnik et al., 1975; Pennington et al., 1986; Dransfield et al., 1998; Stevenson et al., 1998; Xu et al., 1998; Lopez et al., 2004) mit einer Variation von 0 bis 26,8 Stunden. Das prominenteste Merkmal der Brunst, die Duldung, wird jedoch nicht in jeder Brunst beobachtet. Die Angaben reichen von 43 % bis 79 % (Williamson et al., 1972; Fonseca et al., 1983) bei kontinuierlicher Beobachtung. Bei 30minütiger Überwachung alle zwei Stunden wurde sogar nur bei 37 % der brünstigen Tiere die Duldung gesehen (Van Vliet und Van Eerdenburg, 1996), und 46 % der Kühe in Östrus wurden überhaupt nicht besprungen. In Anbindehaltung oder kleinen Herden kann es durchaus hilfreich sein, bei brunstverdächtigen Tieren den Duldungsreflex durch Druckausüben auf Rücken oder Lende zu überprüfen. Brünstige Kühe biegen dann die Lende durch und richten den Schwanz zur Seite. Weitere Hinweise auf die Brunst, die jedoch auch im Pro- und Metöstrus gezeigt werden, (Reimers et al., 1985), sind das Bespringen anderer Kühe, der Abgang von klarem vaginalen Brunstschleim, Schwellung und Rötung der Vulva sowie investigative Verhaltensweisen wie das Auflegen des Kinns auf den Rücken anderer Kühe, Flehmen und Beschnupern anderer Tiere. Hinzu kommen eine Steigerung der Bewegungsaktivität, Vernachlässigung des Komfortverhaltens, verringerte Futteraufnahme und vermehrter Harn- und Kotabsatz, häufiges Brummen oder Brüllen, Vernachlässigung der Individualdistanz und ein suchender Blick ("Brunstgesicht")(Esslemont et al., 1980; Holtz und Meinhardt, 1993; Busch, 2007). Blutiger Vaginalausfluss tritt meist erst nach der Ovulation auf. Viele Autoren berichten von einer Häufung der Brunstsymptome während der Nacht (Hurnik et al., 1975; Esslemont und Bryant, 1976; Gwazdauskas et al., 1983; Van Vliet und Van Eerdenburg, 1996). Es wird jedoch auch vermutet, dass diese Häufung nicht von der Tageszeit abhängt, sondern von Stallarbeiten wie Füttern, Melken oder Misten, die die

Aufmerksamkeit der Tiere beanspruchen und sie von den brunsttypischen Verhaltensweisen abhalten (Helmer und Britt, 1985; Pennington et al., 1986). Abgesehen von großen individuellen Unterschieden ist die Ausprägung der Brunstsymptome abhängig von Rasse (Hurnik und King, 1987; Augusto et al., 1997; Xu et al., 1998), Alter (Stevenson et al., 1983), Anzahl der Kühe, die zugleich brünstig sind (Hurnik et al., 1975; Esslemont et al., 1980; Helmer und Britt, 1985; Van Vliet und Van Eerdenburg, 1996; Floyd et al., 2009), Milchleistung (Fonseca et al., 1983; Lopez et al., 2004; Cutullic et al., 2009), Haltungssystem und Bodenbeschaffenheit (Gwazdauskas et al., 1983; Hackett et al., 1984; Britt et al., 1986; Floyd et al., 2009), Platzangebot (Metz und Mekking, 1984), und der Umwelttemperatur (Gangwar et al., 1965; Bond und McDowell, 1972; Gwazdauskas et al., 1983; Stevenson et al., 1983). Auch chronischer Stress, repräsentiert durch Lahmheit verschiedener Grade, reduziert die Intensität des Brunstverhaltens (Walker et al., 2008; Walker et al., 2010). Die erste Ovulation post partum ist oft nicht von Brunstverhalten begleitet (Menge et al., 1962; Marion und Gier, 1968; Peter und Bosu, 1986; Allrich, 1994), die Häufigkeit der Brunstsymptome steigt aber mit jedem weiteren Zyklus an (Hurnik et al., 1975).

### 2.2.1.1 Punktesystem nach Van Eerdenburg

Rinder zeigen die verschiedenen Symptome des Östrus nicht kontinuierlich. Verlässt man sich auf das sicherste Anzeichen der Brunst, die Duldung, so erkennt man selbst bei permanenter Überwachung nur 43 bis 79 % der Brünste (Williamson et al., 1972; Fonseca et al., 1983). Die fehlerhafte Interpretation sekundärer Brunstsymptome kann aber zu einer bedeutenden Fehlerquote führen (Ranasinghe et al., 2008). Esslemont et al. (1980) beschrieben 11 Verhaltensweisen, die in der präovulatorischen „Periode intensivierten Verhaltens“ gehäuft auftraten: Bespringen mit und ohne Duldung, Aufstellen hinter einem anderen Tier wie zum Aufreiten, Aufsprung von vorn oder von der Seite, Kinnauflegen, Beriechen der Anogenitalregion

Verhalten	Punkte
Abgang von Brunstschleim	3
Flehmen	3
Ruhelosigkeit	4
Besprungenwerden ohne Duldung	10
Beriechen der Vagina anderer Kühe	10
Kinnauflegen	15
Aufreiten (oder Versuch)	35
Aufreiten von vorn	45
Duldung	100

*Tab. 1, nach Van Eerdenburg et al. (1996)*

anderer Tiere, Belecken anderer Tiere, Reiben oder Anstoßen von Herdengenossen mit dem Kopf, Flehmen sowie das gegenseitige Umkreisen zweier Tiere mit gesenktem Kopf (vgl. Kerbrat und Disenhaus, 2004). Daher entwickelten Van Eerdenburg et al. (1996) ein System, das diverse Brunstsymptome quantifiziert und je nach ihrer Häufigkeit und Verteilung in Östrus und Diöstrus mit Punkten bewertet (Tabelle 1). Überschreitet eine Kuh innerhalb von 24 Stunden einen Schwellenwert, der von der Beobachtungshäufigkeit abhängt, gilt sie als brünstig. In der Studie wurden die Tiere alle 2 Stunden für 30 Minuten beobachtet. Für dieses Schema betrug der Schwellenwert 100 Punkte. Damit wurden 100% der Tiere richtig als brünstig erkannt. Führt man die Brunstbeobachtung nur zwei- oder dreimal täglich durch, sollte der Schwellenwert auf 50 Punkte gesenkt werden, um falsch negative Ergebnisse zu vermeiden. Bei zwei 30minütigen Beobachtungsperioden pro Tag wurden 74 % der Brünste korrekt erkannt. In beiden Schemata ovulierten ausnahmslos alle Kühe die als brünstig erkannt wurden. Zur erfolgreichen Brunsterkennung empfehlen Van Eerdenburg et al. (1996), mindestens 20 Minuten zweimal täglich aufzuwenden. Van Eerdenburg et al. (2002) zeigten, dass die Verkürzung der Beobachtung von 30 auf 20 Minuten zweimal täglich die BER um 22 % reduzierte. Das System von Van Eerdenburg et al. wurde später von Lyimo et al. (2000) evaluiert und für geeignet befunden. Heres et al. (2000) ließen das Scoring-System von 21 Landwirten testen. Dabei wurde, möglicherweise wegen mangelnder Einführung der Betriebsleiter, lediglich eine BER von 47 % erreicht. Der positive prädiktive Wert lag in dieser Studie bei 98 %. Auch Van Eerdenburg et al. (2002) erzielten mit dem Verhaltensscoring zufriedenstellende Ergebnisse.

### **2.2.2 Suchtiere**

Da die Duldung als bezeichnendes Merkmal des Östrus umso häufiger gezeigt wird, je mehr brünstige Rinder sich in der Herde befinden, suchte man den Anteil sexuell aktiver Tiere dauerhaft zu erhöhen. Am besten eignen sich hierfür geschlechtsreife Bullen. Sie helfen durch ihr Verhalten und den stimulierenden Einfluss auf brünstige Kühe, diese in der Herde aufzuspüren (Foote, 1975). Dies geschieht auf der Basis von Pheromonen (Kiddy und Mitchell, 1981; Rameshkumar et al., 2008), die sich in diversen Körperflüssigkeiten und -sekreten befinden (Kiddy et al., 1984). Suchbullen sollen in der Regel nicht decken bzw. befruchten. Sterilisation unterbindet zwar die Befruchtung, aber zur Verhütung der Übertragung von Deckseuchen und um die Bullen ständig aktiv zu halten, kann das Einführen des Penis durch verschiedene Eingriffe unterbunden werden: Penektomie, seitliche

Ablenkung des Penis durch operative Verlagerung des Präputiums, Fixierung der kaudalen Flexura sigmoidea an der Haut (reversibel) oder Verengung des Ostium praputiale (Holtz und Meinhardt, 1993). Das Verhältnis zwischen Suchbullen und potentiell östrischen Kühen sollte 1:30-40 nicht überschreiten (Foote, 1975), da sonst die Decklust des Bullen nachlässt. In größeren Herden wäre der Einsatz mehrerer Suchbullen notwendig, was allerdings aus Gründen der Arbeitssicherheit bedenklich ist. Alternativ können Kühe mit Ovarzysten (Foote, 1975) oder virilisierte weibliche Tiere (Kiser et al., 1977; Gwazdauskas et al., 1990) oder Kastraten (Sawyer und Fulkerson, 1981; Sawyer et al., 1986) als Suchtiere zum Einsatz kommen. Die Brunsterkennung mit Hilfe von Suchtieren ist effektiver als die Beobachtung allein, und erbringt kaum falsch positive Ergebnisse (Fulkerson et al., 1983). Mortimer et al. (1990) zeigten, dass virilisierte Färsen selektiver brünstige Tiere bespringen als es unbehandelte weibliche Rinder tun.

Als zusätzliche Hilfestellung kann man solche Suchtiere mit Halftern ausstatten, die an der Unterseite ein Farbkissen oder einen Kugelschreiber-ähnlichen Farbball tragen. Dadurch wird beim Aufreiten dem östrischen Tier eine Farbmarkierung beigebracht, anhand derer man auch später noch die Duldungsbereitschaft ablesen kann (Foote, 1975).

Eher von wissenschaftlichem Interesse ist der Einsatz trainierter Hunde zur Östruserkennung (Kiddy und Mitchell, 1981; Kiddy et al., 1984). An Schleimhautabstrichen verschiedener Kühe erkannten die Hunde in 5 von 6 Testreihen etwa 80 % der brünstigen Kühe, direkt im Stall erreichten sie sogar eine Sensitivität von 87,3 % (Kiddy et al., 1978). Mäuseböcke sind ebenfalls in der Lage, Sekrete östrischer Kühe zu erkennen (Rameshkumar et al., 2008).

### **2.2.3 Tailpainting**

Statt die Farbe unter dem Kinn eines Suchtieres anzubringen, kann man auch den Schwanzansatz der zu untersuchenden Tiere anfärben oder einkreiden. Aufreitende Tiere verwischen diese Markierung und geben auf diese Weise einen Hinweis auf die Brunst (Macmillan et al., 1988). Die Verwendung der sogenannten Schwanzpaste, auch Tailpainting genannt, hat den Nachteil, dass man genaue Aufzeichnungen führen muss, welche Tiere markiert waren. Bei konsequenter Durchführung erzielt man auch mit dieser Methode zufriedenstellende Resultate. Kerr und McCaughey (1984) erkannten mittels Tailpainting 88,1 % der Brünste, bei einem PPW von 69,9 %. In der Studie von Sawyer et al. (1986) erkannten die Landwirte mit Tailpainting genauso viele Brünste wie mit visueller



Brunstkontrolle allein. Das Tailpainting zeigte jedoch in verschiedenen Herden bis zu 37 % falsch positive Ergebnisse (Sawyer et al., 1986). Eine andere Studie ermittelte eine Sensitivität und einen PPW von 98,4 % bzw. 97,6 % in zwei Herden mit insgesamt 98 Milchkühen. Das Bestreichen der Kruppe mit Kreide erzeugte in der Arbeit von Pennington und Callahan (1986) über 50 % falsch positive Resultate. Die schlechte Reproduzierbarkeit deutet auf große Fehlerquellen, z. B. durch Abwischen der Kreide an Gebäudeeinrichtungen, hin.

#### **2.2.4 Aufsprungdetektoren**

Die nächste Weiterentwicklung betraf die Anbringung des Farbstoffes. Mit der Einführung von Drucksensoren, die am Schwanzansatz aufgeklebt werden, und die nach Art einer Alles-oder-nichts-Reaktion weniger Spielraum für Interpretationen lassen, wurde die Überwachung der Duldung nochmals vereinfacht. Einfache Modelle wie der KAMAR® Heat Mount Detector, Hotflash® oder Bovine Beacon® ändern aufgrund des Druckes beim Aufsprung ihre Farbe, was dann schon von weitem erkennbar ist. Dieses System ist etwa so sensitiv wie eine zweimal täglich durchgeführte Brunstbeobachtung von je einer halben Stunde. Von den Tieren mit aktiviertem Heat Mount Detector waren allerdings nur 29 % tatsächlich brünstig (Williams et al., 1981). Gwazdauskas et al. (1990) fanden bei den durch KAMAR® oder Hot Flash® angezeigten Brunsten 12,9 % bzw. 21,6 % falsch positive Ergebnisse, auf dem Progesterongehalt der Milch basierend. Auch in der Studie von Pennington und Callahan (1986) war KAMAR® der mehrmaligen täglichen Beobachtung überlegen in der Sensitivität, erbrachte jedoch etliche (47,5 %) falsch positive Ergebnisse. In der Übersichtsarbeit von Stevenson (2001) variiert die Sensitivität solcher Aufsprungdetektoren in der Brunsterkennung zwischen 56 und 94 %, der PPW wird mit 36 bis 80 % angegeben. Der Anwendung von Kreide ist der Heat Mount Detector aber überlegen (Pennington und Callahan, 1986).

Schließlich wurden die Aufsprungdetektoren digitalisiert. Es sind verschiedene Modelle am Markt, die Häufigkeit und Dauer des Aufsprungs registrieren und den Östrus durch Lichtsignale (Tattle Tale®, MountCount®) anzeigen oder die Daten per Funk an einen Rechner übermitteln (Heatwatch®), der die Auswertung übernimmt. Die verschiedenen Systeme erreichen BER von etwa 92 % (Xu et al., 1998; VanEtten et al., 2006) bis 100 %

(Rorie et al., 2002). Sie sind den mechanischen Aufsprungdetektoren überlegen (Peralta et al., 2005; VanEtten et al., 2006).

Seit einiger Zeit sind Aufkleber erhältlich, die nach Art eines Rubbelfeldes beschichtet sind. Durch Aufreiten wird die reflektierende Oberfläche abgerieben, und eine gut erkennbare Signalfarbe kommt zum Vorschein. Dabei soll man unterscheiden können, ob die Kratzspuren vom Aufsprung herrühren oder sich das Tier nur an der Stalleinrichtung gescheuert hat.

### **2.2.5 Pedometrie**

Die Laufaktivität von Kühen ist im Östrus signifikant höher als während des Diöstrus (Hurnik et al., 1975; Lewis und Newman, 1984; Hurnik und King, 1987). Kiddy et al. (1977) ermittelten mit Schrittzählern (Pedometern) einen Anstieg auf das 2,75fache im Anbindestall und auf das 4fache im Laufstall. Die einzelnen Kühe unterschieden sich deutlich in der gezeigten Aktivität unter gleichen Bedingungen. Mittels kontinuierlicher Videoüberwachung untersuchten Hurnik et al. (1975) und Hurnik und King (1987) die Lokomotion von 78 Kühen in verschiedenen Haltungssystemen. Sie registrierten einen hochsignifikanten Anstieg der Zeit, die für die Fortbewegung aufgewendet wurde während des Östrus im Vergleich zum Mittel der 4 Tage vor bzw. nach der Brunst. Aus diesem Grund ist die Pedometrie als Hilfsmittel der Brunsterkennung gut geeignet (Pennington et al., 1986; Van Vliet und Van Eerdenburg, 1996). Ob das Pedometer an der Vorder- oder Hintergliedmaße befestigt wird, ist unerheblich (Liu und Spahr, 1993). Von größerer Bedeutung ist, die Geräte mehrmals täglich abzulesen und auszuwerten, um Änderungen im Laufverhalten kurzfristig zu erkennen. (Lyimo et al., 2000).

Arney et al. (1994) charakterisierten den Verlauf der Laufaktivität, gemessen als Schritte pro Stunde, folgendermaßen: Von 80 bis 16 Stunden vor Östrusbeginn wächst sie langsam an, um in den folgenden 16 Stunden ebenfalls linear, aber deutlich schneller zu steigen. Nach dem Erreichen des Höhepunktes reduziert sich die Lokomotion exponentiell. Die Schrittfrequenz ist am Nachmittag und Abend höher als am Morgen, korreliert aber nicht oder nur tendenziell mit Milchleistung, Alter, Laktationsstadium und -zahl. Die Effektivität, d.h. die Brunsterkennungsrate (Sensitivität), wird mit 76 bis 92% angegeben (Peter und Bosu, 1986; Liu und Spahr, 1993). In beiden Studien zeigte das Pedometer auch Kühe an, die kein Brunstverhalten zeigten. Sensitivität und Spezifität der Aktivitätsmessung mittels

Pedometer sind von dem vorgegebenen oder individuell berechneten Grenzwert und dem gewählten Referenzzeitraum abhängig. Mögliche Referenzperioden sind der Diöstrus derselben Kuh, ein oder mehrere Tage, die der Messung vorausgehen, der Diöstrus aller Kühe oder der Östrus aller Kühe (Kiddy, 1977; Lewis und Newman, 1984; Schofield et al., 1991; At-Taras und Spahr, 2001). Die Östrusdiagnose muss sich an einem Grenzwert orientieren. Dies kann die ein- oder zweifache Standardabweichung sein (Williams et al., 1981; Schofield et al., 1991) oder ein festgelegter Wert. Für die Datenanalyse stehen viele verschiedene Modelle zur Verfügung (Firk et al., 2002). De Mol (1997) beschreibt anhand der Daten von 96 Kühen aus zwei Jahren ein multivariates Modell zur Auswertung der Daten aufgrund des individuellen Musters jeder Kuh. Für Konfidenzintervalle von 95 % bis 99,9 % wird dabei eine Sensitivität von 94 % bis 83 % sowie eine Spezifität von 95 % bis 98 % erreicht. McGowan et al. (2007) testeten ein Gerät, das neben der Schrittzahl auch die Liege-, Steh- und Laufzeiten misst. In der Brunsterkennung war dieses anderen Pedometern ebenbürtig. Zusätzliche Einsatzgebiete dieser Technik wären die Überwachung der Tiere im Hinblick auf Klauenerkrankungen und andere Krankheitszustände, die mit vermehrter Liegezeit einhergehen, sowie die Überprüfung der Stalleinrichtung und des Kuhkomforts. 59 niederländische Betriebe hatten nach der Einführung der Messung der Kuhaktivität eine um 5,7 Tage kürzere ZKZ (Van Asseldonk et al., 1998).

### **2.2.6 Rektale Untersuchung**

Die rektale Palpation der Geschlechtsorgane ist mit einiger Übung leicht möglich und erfordert keinerlei technische Hilfsmittel. Im Östrus sind dabei folgende Befunde zu erheben: Der Uterus ist unter Östrogeneinfluss ödematisiert und vergrößert und weist eine starke Kontraktionsbereitschaft auf (Bonafos et al., 1995). Der Gelbkörper des vorangegangenen Zyklus ist kleiner als 10 mm und derb. Der sprungbereite Follikel in schlaffer Fluktuation besitzt einen Durchmesser von 15 bis 25 mm (Grunert, 1999a). Nach Pieterse et al. (1990) werden mit der rektalen Palpation 83,3 % der Corpora lutea zwischen Tag 5 und 16 des Zyklus erkannt, bei einem PPW von 73,2 %, nach Ribadu et al. (1994) beträgt die Sensitivität 85 % und der PPW 89,5%. Die zwei Untersucher in der Studie von Grygar et al. (1992) erkannten 64,3 % bzw. 34,7 % der CL mit einem Durchmesser unter 10 mm und 92 % bzw. 73 % derer über 10 mm. Die fünf Tierärzte in der Studie von Bicalho et al. (2008) erzielten in der Diagnose eines funktionellen Corpus luteum eine Sensitivität von 33 % bis 68 % und eine Spezifität zwischen 73 % und 93 %. Eine Gruppe von neun Tierärzten erreichte bei der

Gelbkörpererkennung bei stillbrünstigen Kühen eine Sensitivität von 82,6 % und eine Spezifität von 52,6 % (Kelton et al., 1991). Für die Diagnose von Follikeln über 10 mm Durchmesser wurde eine Sensitivität von 71 % (Pieterse et al., 1990) bzw. 44,4 % und 41,7 % (Grygar et al., 1992) ermittelt. Die Resultate variieren zum Teil sehr stark und geben Anlass zur kritischen Überprüfung der Untersuchungsergebnisse.

Infolge der individuellen Unterschiede in Größe, Beschaffenheit und Lage relativ zur Ovaroberfläche des dominanten Follikels ist eine zuverlässige Vorhersage des Ovulationszeitpunktes durch die Rektalisierung nicht möglich (Holtz und Meinhardt, 1993). Des Weiteren besteht die Gefahr, durch die Manipulation eine Ruptur des Follikels herbeizuführen oder die Fimbrien abzustreifen und dadurch die Fruchtbarkeit zu beeinträchtigen.

Größere Sicherheit in der Diagnose des Zyklusstandes lässt sich anhand der transrektalen Ultrasonografie erzielen (Pierson und Ginther, 1984; Kähn und Leidl, 1986). Hierbei liegen Sensitivität, Spezifität und PPW in vielen Studien über den Werten die mit der Palpation erreicht werden (Beal et al., 1992; Grygar et al., 1992; Ribadu et al., 1994). Bicalho et al. (2008) berichten jedoch von einer Spezifität zwischen 38,1 % und 51 % für die Gelbkörperdiagnose per Ultraschall. Insbesondere in der Follikeldiagnostik zeigt sich der Vorteil des Ultraschalls, mithilfe dessen beinahe doppelt so viele Follikel zwischen 5 und 10 mm gefunden wurden. Von den über 10 mm großen Follikeln wurden 100 % entdeckt (Grygar et al., 1992). Pierson und Ginther (1987) zählten die Follikel auf den Ovarien von 23 Färsen im Ultraschall und nach der Schlachtung. Sie errechneten einen Korrelationskoeffizienten für Follikel über 2 mm Durchmesser von 0,92. Ribadu et al. (1994) spürten mit Ultraschall 95 % der Gelbkörper auf, ohne falsch positive Ergebnisse zu erzeugen. Dennoch bietet die Palpation der Geschlechtsorgane wertvolle Informationen, die mit Ultrasonografie nicht erfasst werden, nämlich Konsistenz der Follikel sowie Tonus und Kontraktilität des Uterus, die Aufschluss über den Funktionszustand der Organe geben (Fricke, 2002).

### **2.2.7 Hormonbestimmung**

Mehrere Hormone zeigen rund um den Östrus deutliche Veränderungen. Als Indikator der Brunst naheliegend wären die Östrogene, die ja maßgeblich verantwortlich für die

Ausprägung des Brunstverhaltens sind (Glencross et al., 1981). Auch LH oder  $\text{PGF}_{2\alpha}$  sind eng mit der Ovulation korreliert.

Zur Brunsterkennung sind wiederholte und daher vorzugsweise nichtinvasive Beprobungen vorzunehmen. Hierzu eignet sich besonders die Milch. Obwohl auch einige Arbeiten zur Östradiolbestimmung in der Milch durchgeführt wurden (Meisterling und Dailey, 1987), konzentriert sich das Interesse größtenteils auf die Progesteronbestimmung. Bei beiden Hormonen sind der Plasma- und Milchspiegel sehr eng korreliert (Hoffmann und Hamburger, 1973; Monk et al., 1975; Meisterling und Dailey, 1987).

Der Progesterongehalt des Blutes und besonders der Milch ist relativ einfach zu bestimmen. 3 bis 4 Tage vor dem Östrus fällt die Progesteronkonzentration ab, um in den ersten 8 Tagen des folgenden Zyklus wieder anzusteigen (Walton und King, 1986). Die Brunst fällt daher stets in ein Minimum im Progesteronverlauf (King et al., 1976; Rajamahendran et al., 1989). Bei der Interpretation der Messergebnisse muss beachtet werden, dass der Progesterongehalt im Serum sich nur langsam ändert, während der Progesteronspiegel in der Milch stark mit dem Fettgehalt korreliert ist (Hoffmann und Hamburger, 1973). Aufgrund seiner Lipophilie beträgt die Konzentration von Progesteron im Milchfett etwa das 147-fache der Konzentration in entrahmter Milch (Waldmann et al., 1999). Der Milchfettgehalt ist wiederum abhängig von Melkintervall, Ausmelkgrad, und Zeitpunkt der Probenahme während des Melkens (Friggens und Rasmussen, 2001; Vangroenweghe et al., 2002; Ontsouka et al., 2003; Nielsen et al., 2005). Daher ist der Milchprogesterongehalt unmittelbar vor dem Melken relativ niedrig, kann aber direkt nach dem Melken um das Doppelte und mehr erhöht sein (Ginther et al., 1976). Bis zur nächsten Melkzeit fällt die Progesteronkonzentration in der Milch wieder. Möglicherweise ist der Progesterongehalt der Milch auch davon abhängig, ob die Milchprobe aus der Zisterne oder aus den Alveolen stammt (Waldmann et al., 1999). Aus diesen Gründen muss die Zeit der Probennahme innerhalb des Melkvorgangs und in Relation zur letzten Melkzeit berücksichtigt werden. Die erhältlichen Testsysteme basieren meist auf dem ELISA-Verfahren und sind mit wenig Aufwand durchführbar (Chang und Estergreen, 1983; Nebel et al., 1987; Sprecher et al., 1988; Kelton et al., 1991; Simersky et al., 2007; Colazo et al., 2008). Die Korrelation zwischen den ELISA-Tests und validierten Testmethoden, meist Radioimmunassays (RIA), beträgt etwa 90 % (Arnstadt und Cleere, 1981; Chang und Estergreen, 1983; Boland et al., 1985; van de Wiel und Koops, 1986). Sprecher et al. (1988) ermittelten für ihr Testkit im Vergleich zu

einem validierten RIA eine Sensitivität und Spezifität von 88,2 %. Da die verschiedenen Testkits sich alle ein wenig unterscheiden, sollte man sich strikt an die Anweisungen der Hersteller halten, um möglichst aussagekräftige Resultate zu erzielen (Nebel, 1988). Für quantitative Tests wurde als Grenzwert zur Unterscheidung zwischen Luteal- und Follikelphase Werte von 1 ng/ml (Delwiche et al., 2001), 3 ng/ml (Darwash et al., 1997) oder 4 ng/ml (Friggens und Chagunda, 2005) definiert.

### **2.2.7.1 Integrierte Hormonbestimmung**

Claycomb et al. (Claycomb und Delwiche, 1998; Claycomb et al., 1998) modifizierten einen ELISA zur automatischen Progesteronmessung online, d. h. während des Melkvorgangs. Die Regeneration der Antikörper mittels Thiocyanat erlaubte zwar die Durchführung von 15 bis 20 Messvorgängen, jedoch litt dann die Genauigkeit durch verbleibende Enzymaktivität auf dem Sensor zu sehr.

Einen anderen Ansatz stellt die Entwicklung eines chronoamperometrischen Immunosensors für Progesteron dar, der anhand eines Dreielektrodensystems und kompetitiver Bindung des Milchprogesterons arbeitet (Pemberton et al., 1998; Pemberton et al., 1999) und ebenfalls für den Online-Einsatz modifiziert wurde (Pemberton et al., 2001; Mottram et al., 2002). Dieses System misst Progesteron in Konzentrationen zwischen 3 und 20 ng/ml mit einer guten Korrelation ( $r^2 > 0,95$ ; Mottram et al., 2002), benötigt aber über 30 Minuten pro Messvorgang, und die antikörpertragende Elektrode muss vor jeder Messung ausgewechselt werden.

Biomolecular interaction analysis (BIAcore Ab, Uppsala, Schweden) verwendet SPR (surface plasmon resonance)-Messungen und wurde zur Bestimmung von Progesteron modifiziert (Gillis et al., 2002). Dabei wird das Progesteron in der Probe durch Antikörper, die im Überschuss zugegeben werden, gebunden, die übrigen freien Antikörper binden an sensorfixiertes Progesteron. Ihre Menge kann dann gemessen werden, der Progesterongehalt der Probe wird rechnerisch ermittelt. Das System ist zwar nicht so sensitiv wie das elektrochemische von Pemberton et al. (2001), dafür ist die Präzision größer (Variationskoeffizient 7 % bzw. 12,5 %) und BIAcore weist für Werte unter 15 ng/ml eine gute Korrelation mit dem etablierten Ridgeway ELISA auf ( $r^2 = 0,93$ ). Durch weitere Modifikationen konnte die Sensitivität noch gesteigert werden (Gillis et al., 2006). Dieses System führt eine Messung und die notwendige Reinigung des Sensors innerhalb von 5

Minuten durch und durchläuft 3600 Messzyklen bevor die Sensitivität des Sensors beeinträchtigt wird.

Tschmelak et al. (2005) entwarfen einen TIRF-basierten Biosensor (total internal reflectance fluorescence) für die Progesteronmessung in Wasserproben. Motiviert von den exzellenten Ergebnissen modifizierten sie den Sensor für die Messung in Milch. Die Bestimmung der mit einem fluoreszierenden Farbstoff markierten Antikörper (analog zum BIACORE) erfolgt durch photometrische Messung des Fluoreszenzlichts, das der Farbstoff emittiert, wenn er durch ein laserinduziertes elektrisches Feld angeregt wird. Da Milch im Gegensatz zu Wasser einen großen Teil des Fluoreszenzlichts absorbiert, musste die Probe 1 : 10 verdünnt werden. Dennoch lag die Nachweisgrenze bei nur 45,5 bis 56,1 pg/ml, je nach Probenart (Rohmilch, Frischmilch oder ultrahocherhitzte Milch). Weitere Verbesserungen reduzierten die Zeit die für einen Messzyklus benötigt wird auf 5 Minuten, ohne die Sensitivität maßgeblich zu verändern. Der Sensor übersteht mindestens 400 Messungen ohne Beeinträchtigung (Tschmelak et al., 2004). Er stellt damit ein einfaches, kostengünstiges Messinstrument dar, das das Potential zur vollautomatischen Online-Messung besitzt (Tschmelak et al., 2005; Käppel et al., 2007) und gleichzeitig genauer arbeitet als die oben beschriebenen Systeme.

Ob die KB auf der ausschließlichen Basis von Milchprogesteronmessungen mit ausreichendem Erfolg durchgeführt werden kann, ist noch wenig erforscht. Die einzige Studie zu dieser Fragestellung (Foulkes et al., 1982) wurde an 164 Kühen durchgeführt. Vollmilchproben wurden jeden Morgen gezogen und per ELISA auf Progesteron untersucht. Lag der Wert bei zwei Messungen in Folge unter 5 ng/ml, so wurde die Kuh am nächsten Morgen besamt. Tiere der Kontrollgruppe wurden entsprechend der Brunstbeobachtung der Landwirte belegt. Aufgrund der nicht kontrollierten Referenzmethode ist die Aussagekraft dieser Studie beschränkt, obwohl die Konzeptionsraten in der Versuchsgruppe (63,8 %) und in der Kontrollgruppe (67,2 %) sich nicht signifikant unterschieden. Allerdings wurden nach der Progesteronmessung deutlich mehr Kühe besamt als in der Kontrollgruppe (97,6 % bzw. 70,7 %). Roelofs et al. (2006b) kommen dagegen in einer Untersuchung von 20 Kühen zu dem Schluss, dass der Progesteronrückgang in der Milch eine zu große Variation aufweist, um einen brauchbaren Hinweis auf den Ovulationszeitpunkt zu geben.

### **2.2.7.2 Dynamische deterministische Modelle**

Friggens und Chagunda (2005) entwickelten auf der Basis von Milchprogesteronmessungen unter Einbeziehung weiterer Parameter (Zeit seit der letzten Kalbung, Rasse, Parität, Östrusverhalten, Besamungsdaten, Trächtigkeitsdiagnosen, Energiestatus, Körperfettstatus, Milchwahrscheinlichkeit, puerperale Krankheiten der Geschlechtsorgane) ein biologisches Modell, das den reproduktiven Status des Tieres bestimmt (postpartaler Anöstrus, Zyklusaktivität oder potentielle Gravidität). Daneben gibt das Modell weitere Parameter aus: Wahrscheinlichkeit eines verlängerten postpartalen Anöstrus, Wahrscheinlichkeit und Typ ovarieller Zysten, Brunstbeginn, Konzeptionschance bei erfolgreicher KB, Wahrscheinlichkeit der Trächtigkeit nach bevorstehender Brunst. Das Modell wurde mit den Daten von 55036 Progesteronmessungen bei 380 Kühen getestet (Friggens et al., 2008). Es erkannte 99,2 % der bestätigten Brunsten (bei denen die Besamung zur Trächtigkeit führte), wobei auch einige dabei waren, bei denen die geglättete Progesteronkurve nicht unter den Schwellenwert von 4 ng/ml fiel. Die Autoren werteten dies als Hinweis auf eine Kuh-zu-Kuh-Variation der absoluten Progesteronwerte. Für Brunsten, deren Progesteronprofil dem der bestätigten Brunsten gleich, betrug die Sensitivität des Modells 93,3 % und die Spezifität 93,7 %. Der Median der Zeit zwischen Besamung und Feststellung der Nichtträchtigkeit durch das Modell lag bei 22 Tagen.

Der Einsatz spezieller Software ermöglicht die kombinierte Auswertung einer Vielzahl von Einzelparametern, die zusammengefasst präsentiert werden. Die dabei erreichte Sensitivität und Spezifität liegen über denen der Einzelwerte (de Mol et al., 1997). Es können auch Tiere als brünstig erkannt werden, bei denen nur geringe Veränderungen des einzelnen Messwertes vorliegen (Firk et al., 2003). Ein solches System, das in ein automatisches Melksystem eingebunden werden kann und selbsttätig Analysen der Milch vornimmt, befindet sich bereits im Handel (Lattec, 2007). Das biologische Modell von Friggens und Chagunda (2005) findet hierin Verwendung (Blom, 2009). Neben Brunsterkennung und Trächtigkeitsdiagnose umfasst der Leistungsumfang auch die Überwachung des Gesundheits- und Ernährungszustands der Tiere.

### **2.2.8 Körpertemperaturmessungen**

Die Körperkerntemperatur des Rindes zeigt neben einem zirkadianen Rhythmus eine periodische Erhöhung, die mit dem Östrus assoziiert ist (Redden et al., 1993; Piccione et al.,



2003). Diese Temperaturerhöhung beträgt in den diversen Studien 0,4 bis 1,3 °C (Redden et al., 1993; Kyle et al., 1998; Piccione et al., 2003; Fisher et al., 2008). Die meisten dieser Studien untersuchten nur eine kleine Stichprobe und kamen dabei zu unterschiedlichen Ergebnissen (Walton und King, 1986; Redden et al., 1993; Fisher et al., 2008). Die Untersuchung von Kyle et al. (1998) umfasste die im Abstand von 4 Minuten gemessene Vaginaltemperatur von 47 Brunstzyklen und ermittelte für diese Methode der Brunsterkennung eine Sensitivität von 89,4 %. In anderen Studien war der Einfluss der Umgebungstemperatur zu groß, als dass man eine Aussage bezüglich des Zyklusstandes hätte treffen können (Lewis und Newman, 1984; Walton und King, 1986). Lehrer et al. (1992) berichten in ihrer Literaturübersicht von Erhöhungen der Milchtemperatur im Östrus. Diese sollen 0,2 bis 0,4°C betragen und eine Sensitivität von lediglich 50 % erreichen.

### **2.2.9 Veränderungen im vaginalen Milieu**

Im Östrus enthält das genitale Gewebe vermehrt Wasser. Gleichzeitig steigt der Gehalt an Chlorid- und Natriumionen im Vaginalschleim (Aboul-Ela et al., 1983; Lewis und Newman, 1984). Dadurch verringert sich der elektrische Widerstand im Vaginalmucus und im umgebenden Gewebe (Metzger et al., 1972; Gartland et al., 1976; Smith et al., 1989). Die Veränderungen der Ionenkonzentration und der Impedanz sind eng mit dem Serumöstrogenspiegel korreliert (Metzger et al., 1972; Aboul-Ela et al., 1983), weshalb der Widerstand zu Beginn des Proöstrus abfällt und etwa zum Zeitpunkt der höchsten LH-Konzentration seinen Tiefpunkt erreicht (Holtz und Meinhardt, 1993). Dabei sind die Unterschiede zwischen verschiedenen Tieren sowie verschiedenen Zyklen des gleichen Tieres so groß, dass einmalige Messungen keine verlässliche Aussage über den Zyklusstand erlauben (Gartland et al., 1976). Unterschiedliche Messwerte ergeben sich auch bei veränderter Position des Instrumentes in der Vagina oder bei unterschiedlich starkem Andrücken desselben an die Schleimhaut (Leidl und Stolla, 1976; Aboul-Ela et al., 1983; Kitwood et al., 1993). Ähnliche Werte wie im Östrus werden auch bei pathologischen Prozessen am Genitale und im Frühpuerperium gemessen (Krieger und Leidl, 1974). Leidl und Stolla (1976) kommen in ihrer Übersichtsarbeit ebenso wie Heckman et al. (1979) zu dem Schluss, dass die Messung des elektrischen Widerstandes im Vaginalmucus ein brauchbares Hilfsmittel zur Erkennung des optimalen Besamungszeitpunktes sein kann, wenn man wiederholt misst. Kitwood et al. (1993) identifizierten mit dieser Methode um 12 % mehr undeutlich rindernde Kühe als durch reine Brunstbeobachtung erkannt wurden.

Auch Schofield et al. (1991) und Fisher et al. (2008) bestätigen ein Absinken des Widerstandes im Östrus. Beide Autorentteams konnten jedoch trotz Messung im Abstand von 12 Stunden bzw. einer Sekunde keinen Algorithmus entwickeln, der zuverlässig den optimalen Inseminationszeitpunkt ankündigt. Morais et al. (2006) entwickelten ein implantierbares Gerät zur Bestimmung der Vaginaltemperatur und des elektrischen Widerstandes im umliegenden Gewebe, welches genaue Messwerte liefert, die es per Funk an einen Rechner übermittelt und sich zudem für die Massenproduktion eignet. Ob die kombinierte Auswertung der beiden Parameter zu größerem Erfolg führt, kann bisher nur vermutet werden.

Analog zu den Veränderungen der Impedanz kann auch ein Absinken des intravaginalen pH-Wertes beobachtet werden (Lewis und Newman, 1984). Hierbei ist die Position der Messsonde in der Vagina zu beachten, da auch innerhalb der Scheide ein deutliches pH-Gefälle existiert (Schilling und Zust, 1968). Die Differenz zwischen dem pH während des Östrus und dem pH des Diöstrus beträgt im Mittel zwischen 0,1 und 0,5 Einheiten, wird von krankhaften Zuständen des Genitales beeinflusst (Schilling und Zust, 1968), muss regelmäßig bestimmt werden und hat sich daher in der Praxis nicht durchgesetzt.

Weitere zyklische Veränderungen des Vaginalschleims findet man unter dem Mikroskop. Auf einem Objektträger angetrockneter Schleim bildet zur Zeit des Östrus charakteristische farnähnliche Muster (Alliston et al., 1958). Die Veränderungen sind aber nicht ausreichend mit der Brunst korreliert, als dass eine verlässliche Östrusdiagnose gestellt werden könnte (Noonan et al., 1975; Aboul-Ela et al., 1983).

### **2.2.10 Weitere Ansätze**

Es wird berichtet, dass die Milchleistung am Tag der Brunst zurückgeht (Lewis und Newman, 1984; Walton und King, 1986). Dies betrifft allerdings nur einen Teil der Tiere (Schofield et al., 1991). Es handelt sich wahrscheinlich um eine Veränderung der Milchsekretion, da die Kühe zu Beginn des Östrus eine Verminderung der Milchleistung zeigen und zur folgenden Melkzeit eine kompensatorische Steigerung (Horrell et al., 1984; Walton und King, 1986). Die Analyse der Daten von 295 niederländischen Milchviehbetrieben über 10 Jahre ergab, dass die Nutzung der automatischen Milchmengenmessung die ZKZ nicht beeinflusste (Van Asseldonk et al., 1998).

Schon et al. (2007) berichten von Änderungen der Frequenz und des Harmoniemusters der Vokalisation im Zusammenhang mit dem Östrus, die mit einer Methode kontinuierlicher automatischer Überwachung festgestellt wurden. Die Untersuchung wurde an nur 10 Färsen durchgeführt und bedarf weiterer Forschungen, bevor dieses Verfahren Praxisreife erlangt.

Welche Möglichkeiten der Brunsterkennung auch immer genutzt werden, so ist das Ergebnis meist umso besser, je mehr Brunsterkennungshilfen angewandt werden (Xu et al., 1998; Rorie et al., 2002; Peralta et al., 2005).

### **2.3 Bestimmung des optimalen Besamungszeitpunktes**

Nach der Besamung dauert es mindestens 6 Stunden, bis sich eine fertile Spermienpopulation im Isthmus salpingis etabliert hat (Hunter und Wilmut, 1983; Grunert, 1999b). Diese Zeit wird für den Transport der Spermien durch das weibliche Genitale benötigt. Außerdem durchlaufen die Spermien einen Reifungsvorgang, die Kapazitation, ohne die sie nicht in der Lage sind, die Eizelle zu penetrieren (Hunter, 1995a). Frische Spermien bleiben dann 24 bis 48 Stunden lang befruchtungsfähig (Sinowatz, 1991). TG-Sperma ist durch das Einfrieren und Auftauen insofern verändert, dass die fertile Zeitspanne unter 30 Stunden beträgt. Die Chance, dass sich die Eizelle zu einem Embryo guter Qualität entwickelt, ist jedoch höher, wenn die Besamung zwischen 12 und 24 Stunden vor der Ovulation erfolgt statt nach der Ovulation (Roelofs et al., 2006a). Auch die Eizelle unterliegt nach der Ovulation gewissen Veränderungen des Alterns, die ihre Lebensdauer stark beschränken. Bereits 6 Stunden nach der Ovulation sinkt die Fruchtbarkeit der Oozyte beträchtlich (Grunert, 1999b). Nach Hunter und Greve (1997) sind gealterte Eizellen nicht mehr zuverlässig in der Lage, die Befruchtung durch mehrere Spermien (Polyspermie) zu verhindern. Außerdem treten Schäden am Spindelapparat auf, die zu Aneuploidie führen können und in der Folge zum Absterben des Embryos. Die Gefahr der Eizellalterung ist umso bedeutender, da jeweils nur eine Oozyte ovuliert wird, während die Zahl der inseminierten Spermien in die Millionen geht. Wegen dieser Verhältnisse sollte die KB in der Zeitspanne der 24 Stunden vor der Ovulation erfolgen. Der Zeitpunkt der Ovulation kann nicht genau vorhergesagt werden, sondern nur anhand des Ablaufs der Brunst abgeschätzt werden. Praktische Empfehlungen orientieren sich meist am Beginn des Östrus. Hier wird deutlich, wie wichtig eine erfolgreiche Brunsterkennung für die Fertilität der Herde ist. Generell kann gesagt werden, dass frühe Besamungen zu einer geringeren Befruchtungsrate führen, aber vorwiegend Embryonen

guter Qualität entstehen, während bei späten Besamungen zwar ein größerer Anteil der Eizellen befruchtet wird, diese Embryonen jedoch eine schlechtere Qualität aufweisen und es zu einer erhöhten embryonalen Mortalität kommt (Saacke et al., 2000; Dalton et al., 2001). Die Ovulation erfolgt im Mittel zwischen 27,6 und 31,1 Stunden nach Brunstbeginn mit einer SD zwischen 1,9 und 5,4 (Walker et al., 1996; White et al., 2002; Roelofs et al., 2004; Roelofs et al., 2005b; Roelofs et al., 2005a). Aufgrund dieser Variationen im Intervall Östrusbeginn zu Ovulation (19 bis 50 Stunden, Roelofs et al., 2004; Bloch et al., 2006) muss sich die Empfehlung für den optimalen Besamungszeitraum auf eine Zeitspanne reduzieren, die deutlich kürzer ist als die wahre fertile Periode. Zudem können bei der reinen visuellen Brunstbeobachtung mehrere Stunden zwischen beobachtetem und wahren Östrusbeginn liegen. Die klassische Regel zur Bestimmung des Besamungszeitraum ist die von Trimberger (1948) formulierte Vormittags/Nachmittags-Regel. Sie besagt, dass Kühe, die zum ersten Mal am Vormittag in Brunst gesehen werden, am selben Nachmittag besamt werden sollen, während Kühe, die erst am Nachmittag Zeichen des Östrus zeigen, am darauffolgenden Vormittag zur Besamung vorgestellt werden sollten. In einer Feldstudie über mehr als 44.000 Besamungen mit Frischsperma bestätigte Foote (1979) diese Empfehlung. Nach seinen Ergebnissen könnte aber die einmal täglich zu Mittag durchgeführte Besamung aller Tiere, die in den letzten 24 Stunden in Brunst kamen, auch noch gute Resultate erzielen. Eine andere Studie an über 7000 Tieren, die mit TG-Sperma besamt wurden, ergab ebenfalls keinen Unterschied zwischen der Insemination nach der Vormittags/Nachmittags-Regel oder der einmal täglich durchgeführten Besamung (Nebel et al., 1994). In der letzteren Gruppe erbrachte die Insemination bis zu 12 Stunden nach beobachtetem Brunstbeginn die höchste NRR 75. Lagen mehr als 24 Stunden zwischen Brunstbeginn und KB, so sank die NRR 75 deutlich ab. Diese beiden Arbeiten sind allerdings kritisch zu bewerten, da die Brunstbeobachtung durch die Betriebsleiter erfolgte und daher nicht permanent durchgeführt wurde. Eine von zwei Studien, die eine permanente Überwachung beinhalten, setzte Pedometer zur Brunsterkennung ein. Diese produzierten einen Alarm, sobald die durchschnittliche Schrittaktivität der letzten sechs 2-Stundenzeiträume mehr als das Doppelte des Mittelwertes der entsprechenden Phasen der beiden vorhergehenden Tage betrug. Als optimalen Besamungszeitraum eruierten die Autoren die Zeit zwischen 6 und 17 Stunden nach dem Auslösen dieses Alarms, mit einem kalkulierten Optimum bei 11,8 Stunden (Maatje et al., 1997). Die zweite Studie mit dauernder Überwachung der Östrusaktivität benutzte digitale Aufsprungdetektoren (HeatWatch®). 2661 Tiere wurden mit

TG-Sperma besamt. Die beste Zeit zur KB lag zwischen 4 und 14 Stunden nach der ersten Duldung. Von 4 bis 12 Stunden nach Östrusbeginn wurde eine Konzeptionsrate von etwa 50 % erreicht. Bei der KB zwischen 16 und 20 Stunden nach der Duldung nahmen nur noch 28,1 % der Tiere auf (Dransfield et al., 1998). Im Gegensatz dazu empfehlen Xu et al. (1998) die Zeit von 12 bis 18 Stunden nach dem ersten geduldeten Aufreiten, ebenfalls mit HeatWatch® bestimmt, als beste Zeit zur Besamung. Diese Studie hatte allerdings einen deutlich geringeren Stichprobenumfang (196 Tiere). Andere Arbeiten zu diesem Thema ohne permanente Tierbeobachtung empfehlen, die KB 13,5 Stunden nach Östrusbeginn durchzuführen (Rankin et al., 1992) oder stellen gar keinen vorzuziehenden Zeitraum fest (Gwazdauskas et al., 1986).

## **2.4 Ovulationssynchronisation**

Die Steuerung des Brunst- und/oder Ovulationszeitpunktes hat mit der Entwicklung neuer Biotechnologien an Bedeutung gewonnen. Mit zunehmender Herdengröße wird die Brunsterkennung für die reduzierte Zahl der Arbeitskräfte immer schwieriger. Deshalb ist es von Vorteil, wenn bestimmte Kuhgruppen nur über eine kurze Zeit auf Brünstigkeit überprüft werden müssen oder schon vorher feststeht, wann eine Kuh besamt werden muss. Auch beim Embryotransfer ist es wichtig, dass mehrere Tiere zu gleicher Zeit in Brunst kommen, damit die Embryonen, falls sie nicht kryokonserviert werden, bei der Übertragung ein optimales Uterusmilieu vorfinden (Seidel, 1981).

### **2.4.1 PGF<sub>2α</sub>-basierte Synchronisation**

Prostaglandin F<sub>2α</sub> und seine Analoga besitzen neben einer begrenzten kontraktionsfördernden Wirkung auf glatte Muskulatur einen starken luteolytischen Effekt, auf dem ihr breiter Einsatz in der Rinderpraxis beruht (Louis et al., 1973; Stevenson et al., 1987; Cairoli et al., 2006; Meira et al., 2006). Natürlich muss bei dieser Indikation zum Zeitpunkt der Applikation ein Corpus luteum vorhanden sein. Prostaglandinresponsiv sind Corpora lutea cyclica nur, wenn sie zwischen 5 und 16 Tagen alt sind (Lauderdale, 1972; Hill et al., 1973; Louis et al., 1975). Die physiologischen Ereignisse bei der PGF-induzierten Luteolyse unterscheiden sich nicht von denen nach natürlicher Luteolyse (Louis et al., 1973; Louis et al., 1974; Louis et al., 1975), ebenso wenig die Fruchtbarkeit (Roche, 1974b; Jackson et al., 1983). Mit der intrauterinen Gabe von 5 mg PGF<sub>2α</sub> an verschiedenen Tagen des Zyklus

(7, 11 und 15) erzeugten Louis et al. (1974) in allen 23 Fällen eine Luteolyse. Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  führt jedoch nicht in allen Fällen zur Luteolyse (Stevenson et al., 1987).

Der Östrus nach einer  $PGF_{2\alpha}$ -Gabe erfolgt innerhalb eines bis sieben Tagen, bei den meisten Tieren jedoch nach 2 bis 4 Tagen (Lauderdale, 1972; Louis et al., 1974; Hafs et al., 1975; Louis et al., 1975; Tanabe und Hann, 1984). Eine Verkürzung der Zeit zwischen Prostaglandingabe und Östrus durch die Erhöhung der Dosis von 25 auf 30 mg (Repasi et al., 2003) bzw. von 30 auf 60 mg (Stellflug, 1973) wird beschrieben. Die Zeit bis zum Eintreten der Brunst hängt auch von dem Zeitpunkt der  $PGF_{2\alpha}$ -Applikation innerhalb des Zyklus ab (Jackson et al., 1979; Macmillan et al., 1980; Stevenson et al., 1984). So ist die Zeit zwischen Behandlung und Brunst bei Färsen, die an Tag 7 des Zyklus  $PGF_{2\alpha}$  bekommen, kürzer und weniger variabel als bei solchen die an Tag 11 oder 15 behandelt werden (Macmillan und Henderson, 1984; Tanabe und Hann, 1984). Färsen (Stevenson et al., 1984) und Kühe (King et al., 1982) kommen schneller in Brunst, wenn sie an Tag 5 bis 8 des Zyklus mit  $PGF_{2\alpha}$  behandelt werden im Vergleich zu einer Behandlung an Tag 14 bis 16. Diese Unterschiede erklären sich wahrscheinlich aus der folliculären Dynamik im Diöstrus. Bei Kühen mit 2 Follikelwellen pro Zyklus ist die Wahrscheinlichkeit, einen weniger weit entwickelten Follikel anzutreffen etwa in der Hälfte des Diöstrus am größten (Jackson et al., 1979; Macmillan und Henderson, 1984). Der dominante Follikel der ersten Welle befindet sich dann in Atresie, während der dominante Follikel der zweiten Welle noch einige Tage braucht, um heranzureifen und zu ovulieren (Kastelic und Ginther, 1991). Diese Verhältnisse werden bei der Ovulationssynchronisation mit zweimaliger  $PGF_{2\alpha}$ -Injektion im Abstand von 11 bis 14 Tagen genutzt, weil sich dann zum Zeitpunkt der zweiten Injektion ein größerer Anteil der Tiere an Tag 7 oder 8 des Zyklus befindet und somit ein höherer Grad der Synchronisation erreicht wird (Refsal und Seguin, 1980). Verglichen mit einer  $PGF_{2\alpha}$ -Injektion zu einem beliebigen Zeitpunkt erzielt eine zweite Injektion 11 Tage später eine exaktere und schnellere Ovulationssynchronisation, ähnlich der nach einmaliger Behandlung an Tag 8 des Zyklus (Johnson, 1978). Dabei erreicht man bei Färsen ein bessere Synchronisation als bei Kühen (Hafs et al., 1975). Die zweimalige Behandlung im Abstand von 14 Tagen führt dabei zu einer höheren Konzeptionsrate als mit 11tägigem Abstand durchgeführte Injektionen (Folman et al., 1990). Der Zyklus, der auf die Applikation von  $PGF_{2\alpha}$  folgt, ist etwas länger als bei unbehandelten Tieren (Cardenas et al., 1991; Morbeck et al., 1991). Morrell et al. (1991) vermuten, dass die längerfristige Anwendung von  $PGF_{2\alpha}$  zu reduzierter Fruchtbarkeit führt.

Jackson et al. (1983) kommen jedoch nach 6 Versuchen mit einmaliger oder doppelter Cloprostenolanwendung zu dem Schluss, dass sich die Fruchtbarkeit in der zweiten Brunst nach der Behandlung nicht wesentlich von der natürlichen Fertilität in der gleichen Herde unterscheidet.

#### **2.4.1.1 Fruchtbarkeit bei brunstabhängiger Besamung**

Die Fruchtbarkeit wird durch die Anwendung von Prostaglandinen zur Brunstsynchronisation von Rindern nicht beeinträchtigt. McIntosh et al. (1984) erstellten eine Metaanalyse von 17 Versuchen, in denen mit  $\text{PGF}_{2\alpha}$  behandelte Tiere nach beobachteter Brunst besamt wurden. Obwohl die zugrundeliegenden Studien widersprüchliche Resultate präsentierten, kamen McIntosh et al. nach statistischer Analyse zu dem Schluss, dass die Anwendung von Prostaglandin  $\text{F}_{2\alpha}$  die Konzeptionsrate um 4 bis 10 Prozentpunkte anhebt. Die Ursachen für dieses Ergebnis vermuten die Autoren einerseits in arbeitstechnischen Vorteilen, die sich aus der Beschränkung der Brunstbeobachtung auf einen kurzen Zeitraum und eine bekannte Tiergruppe ergibt. Durch entsprechend intensiviertere Brunstbeobachtung kann die Brunstnutzungsrate angehoben werden. Andererseits könnten sich mehrere Tiere, die gleichzeitig in Brunst kommen, gegenseitig durch Ausscheidung von Pheromonen beeinflussen und stärkere Brunstsymptome zeigen. Dass die Anwendung von Cloprostenol die Fruchtbarkeit nicht nachteilig beeinflusst, stellten Cairoli et al. (2006) beim Vergleich unbehandelter Rinder mit Kühen, die mit Cloprostenol behandelt wurden fest. Die 525 Tiere wurden jeweils nach Brunstbeobachtung besamt und erzielten Konzeptions- und Abkalberaten, die sich nicht signifikant unterschieden.

#### **2.4.1.2 Fruchtbarkeit bei terminierter Besamung**

Der Zeitpunkt der Ovulation nach zweimaliger  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Gabe ist nicht ausreichend synchronisiert um terminierte Besamungen erfolgreich durchzuführen (Lucy et al., 1986; Stevenson et al., 1987; Kaim et al., 1990). Erstere besamten 88 HF-Kühe 40 Tage post partum nach Brunstbeobachtung. Zwei andere Gruppen mit 86 bzw. 88 Tieren erhielten zweimalig  $\text{PGF}_{2\alpha}$  im Abstand von 11 Tagen und wurden nach 80 Stunden bzw. nach 72 und 96 Stunden besamt. Obwohl die Zwischenkalbezeit in allen Gruppen etwa gleich war, benötigte die Kontrollgruppe weniger Besamungen pro Kuh, was auf die höhere First-Service-Konzeptionsrate in dieser Gruppe zurückzuführen ist. Stevenson et al. (1987) erreichten in

einer Anordnung mit den gleichen drei Versuchsgruppen (Kontrolle, zweimalig PGF<sub>2α</sub> mit Besamung nach 80 bzw. 72 und 96 Stunden) Konzeptionsraten von 54 % (Kontrolle), 23 % (Besamung nach 80 Stunden) und 30 % (Besamung nach 72 und 96 Stunden). Beide Autorengruppen bestimmten die Konzeptionsrate der Tiere, die mit PGF<sub>2α</sub> behandelt worden waren und daraufhin Brunstsymptome zeigten und stellten fest, dass diese sich kaum von der der Kontrollgruppe unterschied bzw. sich ihr annäherte. Bei Macmillan et al. (1977) wies diese Tiergruppe sogar eine höhere Konzeptionsrate als die Kontrollgruppe auf. Die Unterlegenheit zeitlich festgelegter Besamung nach Prostaglandinanwendung infolge zu großer Diskrepanz zwischen Besamung und Ovulation war auch das Ergebnis der Metaanalysen von Macmillan und Day (1982) sowie Macmillan (1983). Innerhalb der verschiedenen Protokolle mit terminierter Besamung zeigt sich jedoch die Überlegenheit zweimaliger Insemination nach 72 und 90 Stunden oder nach 72 und 96 Stunden (Lauderdale et al., 1974; Hafs et al., 1975; Stevenson et al., 1984; Stevenson et al., 1987). Einen positiven Effekt behandlungsorientierter Doppelbesamung auf die Rast- und Günstzeit fanden Tenhagen et al. (2000). Sie vermuteten den Erfolg ihrer Arbeit in einem Anteil von Kühen, die aufgrund geringgradiger Endometritis keine Brunsterscheinungen aufwiesen und daher in der Kontrollgruppe nicht besamt wurden, in der PGF<sub>2α</sub>-Gruppe jedoch konzipierten.

#### **2.4.2 Gestagenbasierte Synchronisation**

Nach wenigen frühen Erfolgen mit der Zyklusverkürzung durch Oxytocin (Armstrong und Hansel, 1959; Hansel und Wagner, 1960), Dilatation des Uterus, Infusion mit Rohsperma oder Spermazentrifugat (Hansel und Wagner, 1960), intrauterine Infusion jodhaltiger Lösungen (Nakahara et al., 1971) und Östrogene (Wiltbank et al., 1961) fiel dem Progesteron mit seiner zyklusverlängernden Wirkung die Rolle des ersten bedeutenden Medikaments zur Zyklussteuerung zu. Progesteron und seine Analoga verhindern sehr effektiv das Auftreten der Brunst (Hansel et al., 1961; VanBlake et al., 1963; Hansel et al., 1966; Dhindsa et al., 1967; Grunert, 1975). Bei keiner von 337 mit Progesteron behandelten Färsen wurden während der Behandlung Brunsterscheinungen beobachtet (Ulberg und Lindley, 1960).



### 2.4.2.1 Gestagenprogramme

Zeitpunkt und Synchronisation von Östrus und Ovulation nach dem Absetzen einer langfristigen Therapie hängt von dem verwendeten Gestagen ab. Nach MAP beträgt die Zeit bis zum Östrus 3-4 Tage (Hansel et al., 1966), während sich der Brunstbeginn bei CAP-synchronisierten Tieren über mehr als drei Tage hinzieht (VanBlake et al., 1963; Hansel et al., 1966; Grunert, 1975). Ulberg und Lindley (1960) injizierten Progesteron täglich über 14 Tage. Der nachfolgende Östrus begann nach 2,5 bis 9,5 Tagen bei 86 % der Färsen. Roche et al. (1977) synchronisierten 40 Färsen mit einer intravaginalen Spirale, die kontinuierlich Progesteron freisetzt (PRID – progesterone releasing intravaginal device). Nachdem die Spirale nach 7 Tagen entfernt wurde, kam es bei den Tieren innerhalb von 24 bis 51 Stunden (Mittelwerte verschiedener Versuchsgruppen) zum präovulatorischen LH-Anstieg. Die Autoren vermuteten eine Abhängigkeit dieser Zeitspanne von der folliculären Dynamik zum Zeitpunkt der Entfernung der PRID, da diejenigen Tiere, bei denen der LH-Peak relativ früh erfolgte, gegen Ende der Progesteronverabreichung eine höhere Östradiolkonzentration aufwiesen, als Folge der verstärkten Produktion durch einen präovulatorischen Follikel. Mögliche Nebenwirkungen einer Progesterontherapie sind übergroße oder zystische Corpora lutea sowie Ovarialzysten (Trimberger und Hansel, 1955). Einen erhöhten Anteil stillbrünstiger Tiere fanden Hansel (1961), Trimberger (1955) und Dhindsa (1967).

Da eine Progesteronbehandlung die Lebensdauer eines Corpus luteum nicht beeinflusst (Wiltbank et al., 1965), muss die Behandlung über das Ende der Lutealphase aller Tiere der Gruppe hinaus durchgeführt werden, um eine gute Synchronisation zu erreichen, also mindestens 18 bis 21 Tage lang. Bei einer solchen langfristigen Exposition ist die Fruchtbarkeit im Vergleich zu unbehandelten Kühen oder Färsen herabgesetzt (Trimberger und Hansel, 1955; Hansel et al., 1961; Wiltbank et al., 1965; Hansel et al., 1966; Wagner et al., 1968; Roche, 1974a; Sreenan, 1975; Sreenan und Mulvehill, 1975). Zimbelman et al. (1970) fassten die Ergebnisse von 24 Studien über die orale Anwendung von Melengestrolacetat zusammen, in denen insgesamt 1853 Tiere behandelt wurden und weitere 537 als Kontrollgruppe fungierten. Danach war die kumulierte Konzeptionsrate der Versuchsgruppen für die erste Besamung um etwa 30 % geringer als die Konzeptionsrate der Kontrollgruppen. Bei der zweiten Besamung nach der Behandlung dagegen war die Konzeptionsrate der mit Gestagen synchronisierten Gruppe geringfügig höher als die der Kontrolle. Auch andere Gestagene beeinflussen die Fruchtbarkeit des zweiten Östrus nach der Synchronisation nicht negativ (Hansel et al., 1966). Grund für die reduzierte

Fruchtbarkeit nach der Anwendung von Gestagenen könnte ein abnormales Östrogenmuster unmittelbar nach dem Absetzen der Medikation sein (Hill et al., 1971; Hackett et al., 1972; Rodetter et al., 1972). Bleach (2004) konnte eine negative Korrelation zwischen der Zeit vom Erscheinen eines Follikels bis zur Ovulation und der Konzeptionsrate nachweisen. Da eine verlängerte Lutealphase nicht immer eine zusätzliche Follikelwelle rekrutiert, sondern der dominante Follikel erhalten wird (Stock und Fortune, 1993), muss dieser Follikel somit eine geringere Fruchtbarkeit besitzen.

Auch bei der Synchronisation für die zweite Besamung nach dem Abkalben erweisen sich Progesteronpräparate als vorteilhaft. Chenault (2003) behandelte seine Versuchstiere mit einem CIDR-Implantat von Tag 14 bis 21 nach der ersten Belegung. Dadurch erhöhte sich der Anteil der Kühe in Brunst innerhalb von drei Tagen nach Entfernen des Implantates von 19,3 % in der Kontrollgruppe auf 34,1 %. 36 % der Kontrolltiere wurden innerhalb von 9 Tagen in Brunst gesehen, im Vergleich zu 43 % der Versuchstiere, die in nur 4 Tagen als brünstig beurteilt wurden. Allerdings wurde durch diese Behandlung die Trächtigkeitsrate für die erste Besamung leicht reduziert. Konzeptions- und Trächtigkeitsrate der nachfolgenden Besamungen wurden dagegen nicht beeinflusst. El-Zarkouny (2004) konnten mit einer CIDR-Behandlung von Tag 13 bis 20 nach Künstlicher Besamung die Synchronisation verbessern, brachten damit aber auch nicht mehr nichtträchtige Tiere in Brunst als in der Kontrollgruppe spontan empfängnisbereit wurden.

#### **2.4.2.2 Gestagene und Östrogene**

Dem Problem der reduzierten Fruchtbarkeit nach alleiniger Anwendung von Gestagenen begegnete man zunächst mit der zusätzlichen Applikation von Östrogenen. Diese haben während der Lutealphase einen luteolytischen Effekt (Lemon, 1975; Araujo et al., 2009). Dadurch wird ein eventuell vorhandenes Corpus luteum zur Regression gebracht, während die Langzeitmedikation mit einem Gestagen das Tier in einer künstlichen Lutealphase hält. Somit existiert bei Absetzen des Gestagens kein funktioneller Gelbkörper mehr, der eine erfolgreiche Brunstsynchronisation verhindern würde. Außerdem hat Östradiol eine Wirkung auf die Follikelentwicklung. Es induziert während der Lutealphase die Atresie des dominanten Follikels (Burke et al., 1999) und führt so zu einer gewissen Synchronisierung der Follikelpopulation (Caccia und Bó, 1998; Lane et al., 2001). So konnten Ulberg und Lindley (1960) an 458 Tieren zeigen, dass die Injektion von Östradiol während der 14tägigen

Progesteronanwendung die Standardabweichung der Zeit zwischen Behandlungsende und nachfolgendem Östrus von 0,72 auf 0,17 Tage reduzieren kann. Nach 9- bzw. 12tägiger Gestagentherapie mit Injektion von 5 mg Östradiol kommen innerhalb von 4 Tagen 77 % der Kühe in Östrus, bei zusätzlicher Injektion von 200 mg Progesteron sogar 88 % (Spratt et al., 1984). In einer anderen Studie waren sogar 95 % der Tiere innerhalb von 4 Tagen in Brunst (Wiltbank und Kasson, 1968). Im Vergleich dazu werden nur 38 % bzw. 36 % der Tiere ohne Östradiol brünstig gesehen. Von 340 Kühen fand Roche (1975) innerhalb von 6 Tagen 91 % im Östrus, Fulton et al. (1978) gar 98 % in 5 Tagen. Dafür war bei letzteren die Konzeptionsrate der Versuchsgruppe mit 46 % deutlich niedriger als die der Kontrollgruppe (80 %). Kein signifikanter Unterschied in der Konzeptionsrate findet sich bei mehreren anderen Autoren (Wiltbank und Kasson, 1968; Roche, 1974a, 1975; Wiltbank und Gonzalez-Padilla, 1975; Roche, 1976; Spitzer et al., 1976). Andere Studien zeigen eine reduzierte Fruchtbarkeit nach der Synchronisation mit Gestagenen und Östrogenen (Wiltbank und Kasson, 1968; Wiltbank et al., 1971). Bei Wiltbank und Kasson (1968) fanden sich einige Tiere, die trotz der Progesteronmedikation als Folge der Östrogenverabreichung ovulierten und daher nach Absetzen des Progesterons im Diöstrus waren. Roche (1974a), der dieses Phänomen ebenfalls beobachtete, konnte diese Ovulation durch eine zusätzliche Injektion von 50 mg Progesteron verhindern und so die Synchronisationsrate erhöhen.

Die terminierte Besamung nach einem solchen Synchronisationsschema ist ebenso erfolgreich möglich. Mit der Insemination 56 Stunden nach Progesteron (Roche, 1976) oder nach 56 und 74 Stunden (Roche et al., 1977) konnte eine Konzeptionsrate erreicht werden, die sich statistisch nicht von der einer unbehandelten Kontrolle unterschied. Ein weiteres Synchronisationsregime beinhaltet die Injektion von GnRH 36 nach Entfernung der Gestageneinlage und die Besamung nach weiteren 12 bzw. 20 Stunden (Roche, 1976 bzw. Roche et al., 1977). Auch damit sind vergleichbare Reproduktionsleistungen möglich. Die Fertilität des Folgezyklus wird dabei nicht beeinträchtigt.

#### **2.4.2.3 Gestagene und PGF<sub>2α</sub>**

Wie schon bei der Kombination der Wirkstoffgruppen Gestagene und Östrogene war man bei der gemeinsamen Anwendung von Progesteronen und Prostaglandin F<sub>2α</sub> bemüht, die jeweiligen Nachteile auszugleichen, um eine präzise Synchronisation mit guten Fruchtbarkeitsleistungen zu vereinen. Folman et al. (1984) verglichen eine Gruppe

unbehandelter Kühe mit Tieren, die eine PRID-Spirale für 7 Tage erhielten und eine Injektion mit 0,5 mg Cloprostenol am Tag bevor die PRID entfernt wurde. Eine zweite Versuchsgruppe erhielt eine Cloprostenolinjektion und 13 Tage später ein PRID-Implantat, das für 9 Tage belassen wurde. Nachfolgend wurden terminierte Doppelbesamungen durchgeführt, und zwar 49 und 56 Stunden nach der Entfernung der Progesteronspirale oder nach 56 und 72 Stunden, abhängig davon, ob der Östrus früher oder später als 40 Stunden nach Behandlungsende auftrat. Tiere die zwischen dem 3. und 6. Tag danach brünstig waren, wurden erneut besamt. Die Konzeptionsraten der drei Gruppen wiesen statistisch keine Unterschiede auf. Innerhalb der beiden Versuchsgruppen konzipierten jedoch von den Kühen, bei denen die Behandlung in der ersten Zyklushälfte begann 62 %, während von den übrigen nur 42 % trächtig wurden. Gemessen an der Trächtigkeitsrate am 25. Tag nach der Besamung war die Behandlung mit PRID und Cloprostenol deutlich erfolgreicher. Nach insgesamt 100 Tagen betrug der Unterschied zur Kontrollgruppe allerdings unter 10 Prozentpunkten und war damit nicht mehr statistisch signifikant.

Erhalten die Tiere das Luteolytikum einen oder mehrere Tage vor dem Ende der Progesteronapplikation, so weist die Zeit zwischen der Prostaglandinbehandlung und der Brunst eine geringere Varianz auf (Smith et al., 1984; Fogwell et al., 1986), als bei der Injektion zum Ende der Progesteronphase. Die Fruchtbarkeit wird dadurch nicht beeinträchtigt. In einem zweiten Experiment mit 274 Holsteinfärsen, das die Progesterontherapie über 7 Tage mit  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Injektion am 6. Tag einerseits mit der zweimaligen  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Injektion im Abstand von 11 Tagen andererseits vergleicht, führten Smith et al. (1984) terminierte Inseminationen 80 (zweimal  $\text{PGF}_{2\alpha}$ ) bzw. 84 (PRID plus  $\text{PGF}_{2\alpha}$ ) Stunden nach  $\text{PGF}_{2\alpha}$  durch. Dabei erreichte die reine  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Gruppe eine Konzeptionsrate von 52 % gegenüber 66 % in der anderen Versuchsgruppe und 73 % in der unbehandelten Kontrollgruppe. Als Ursache dieses Befundes führen die Autoren an, dass in der  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Gruppe die Synchronisation des Östrus schlechter gelang, dass 16 % der Tiere dieser Gruppe nicht auf die zweite Injektion reagierten und dass die Besamungen nicht zum optimalen Zeitpunkt erfolgten.

Xu et al. (1997) synchronisierten den Zyklus von 1201 laktierenden Kühen mit zwei Prostaglandin  $\text{F}_{2\alpha}$ -Injektionen im Abstand von 13 Tagen. Die Hälfte erhielt zusätzlich eine CIDR-Spange während der 5 Tage vor der zweiten Injektion. Von diesen Tieren kamen 89,6 % in Brunst, 7 % mehr als von den Kühen mit reiner Prostaglandintherapie. Die

Gestagenbehandlung erhöhte auch die Konzeptionsrate von 59,7 auf 65,1 % und steigerte die Trächtigkeitsrate von 49 auf 59,3 %. Darüber hinaus konnte damit die Zeit zwischen Synchronisation und Konzeption verringert werden. Der Vorteil des zusätzlichen Gestageneinsatzes wird durch die Ergebnisse von Folman et al. (1990) bestätigt. Wehrman et al. (1993) sowie Smith und Stevenson (1995) fanden heraus, dass die Konzeptionsrate auch mit dem Serumprogesteronspiegel vor der zweiten Prostaglandinanwendung korreliert bzw. vom Vorhandensein eines Corpus luteum abhängt. Ist das der Fall oder wird nach der Hälfte der Zeit die PRID durch eine neue Spirale ersetzt, erzielt man eine erhöhte Konzeptionsrate. In dem Versuch von Sanchez et al. (1993) stieg der Besamungserfolg bei Kühen durch das Vorhandensein eines Gelbkörpers während der Gestagenphase sogar annähernd auf das Doppelte. Bei Färsen war der Unterschied nicht so groß, aber auch in dieser Gruppe konzipierten mehr Tiere mit einem Corpus luteum.

Im Widerspruch dazu stehen die Studien von Stevenson et al. (1989) und von Fahey und Macmillan (2003). Letztere verwendeten ein ähnliches Protokoll wie Xu et al. (1997), mit dem Unterschied dass die  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Injektion nach nur 11 Tagen wiederholt wurde. Als Versuchstiere dienten 840 Färsen aus 4 Herden. Von den Tieren die eine CIDR erhalten hatten, wurden 88 % zur Besamung vorgestellt, von den übrigen nur 80 %. Konzeptions- und Trächtigkeitsrate wurden durch das Progesteron aber nicht signifikant beeinflusst.

Eine andere Eigenschaft der kombinierten Progesteron/Prostaglandin-Synchronisation gewinnt besonders in Herden mit unzureichender Brunstbeobachtung an Bedeutung. Bei diesem Protokoll kommen mehr Tiere in den Östrus (Fahey und Macmillan, 2003), und die Ausprägung der Brunstsymptome ist deutlicher (Stevenson et al., 1989) als bei reinen  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Programmen.

### **2.4.3 GnRH-basierte Synchronisation**

Die Applikation von GnRH (Gonadorelin) oder eines seiner Analoga (Fertirelin, Buserelin, Lecirelin, Peforelin) hat verschiedene Auswirkungen auf die Funktionsgebilde des Ovars und den Zyklusablauf. In den 6 Tagen nach GnRH-Injektion ist das Auftreten eines spontanen Östrus stark reduziert (Thatcher et al., 1989; Twagiramungu et al., 1992b). Histologische und Ultraschalluntersuchungen zeigen, dass dies durch die funktionelle Veränderung der großen Follikel durch den GnRH-Agonisten zustande kommt. GnRH-Agonisten induzieren die Ovulation des dominanten Follikels (Twagiramungu et al., 1994a; Twagiramungu et al.,

1994b). Hat jedoch die Atresie des Follikels schon begonnen, so sinkt die Anzahl der LH-Rezeptoren. Solche Follikel ovulieren nicht, sondern atresieren weiter. Auch bei erhöhtem Progesteronspiegel (Mitte bis Ende der Lutealphase) ovuliert der dominante Follikel nicht, sondern atresiert (Twagiramungu et al., 1994b), weil die LH-Pulsfrequenz nachlässt (Roberson et al., 1989; Stock und Fortune, 1993) und die Anzahl der LH-Rezeptoren des Follikels abnimmt (Ireland und Roche, 1983). Dadurch reduziert sich die Anzahl großer Follikel nach GnRH-Anwendung (Thatcher et al., 1989; Guilbault et al., 1990; Macmillan und Thatcher, 1991; Wolfenson et al., 1994). Daneben hat GnRH auch einen Einfluss auf die Follikel geringer und mittlerer Größe. Die kleineren Follikel werden zum Wachstum angeregt, daher steigt die Zahl der mittleren Follikel, während die Anzahl der kleineren Follikel sinkt (Twagiramungu et al., 1994a). Grund dafür ist der GnRH-induzierte FSH-Anstieg (Chenault et al., 2003) und der Wegfall der Inhibinausschüttung durch den dominanten Follikel (Ko et al., 1991; Adams et al., 1992). Alle diese Vorgänge führen dazu, dass 3 bis 4 Tage nach der Gonadorelinapplikation eine neue folliculäre Welle entsteht. Dabei spielt es keine Rolle ob ein Corpus luteum vorhanden ist oder ob die Ovulation des dominanten Follikels ausgelöst wird (Twagiramungu et al., 1994a). Eine derart behandelte Tiergruppe zeichnet sich daher durch eine große Homogenität des folliculären Bestandes aus.

#### **2.4.3.1 SelectSynch**

Bei der Zyklussynchronisation mittels  $\text{PGF}_{2\alpha}$  kann man durch das Anpassen der folliculären Dynamik 6 bis 7 Tage vorher den präovulatorischen LH-Peak und die Brunst der Tiere besser aufeinander abstimmen (Twagiramungu et al., 1992a; Twagiramungu et al., 1992b). Nach dieser Behandlung kommen 83 % der Tiere in einer Zeitspanne von 4 Tagen in Brunst (Thatcher et al., 1989; Twagiramungu et al., 1992b), im Vergleich zu 76 % bzw. 50 % der Tiere, die nur  $\text{PGF}_{2\alpha}$  erhielten. Analog dazu ist der Östradiolpeak vor der Ovulation nach Buserelin und  $\text{PGF}_{2\alpha}$  besser synchronisiert (Wolfenson et al., 1994). Das Schicksal des neuformierten dominanten Follikels hängt von der Vollständigkeit der Luteolyse ab. Wird der Gelbkörper komplett inaktiv, was meistens der Fall ist, so kann der Follikel ovulieren. Wenn die Luteolyse jedoch unvollständig bleibt, persistiert der Follikel (Roberson et al., 1989; Stock und Fortune, 1993). Die Anwendung eines GnRH-Agonisten und eines Luteolytikums im Abstand von 6 bis 7 Tagen ist aber nicht effektiv genug, um eine terminierte Besamung ohne Einbußen in der Fruchtbarkeit durchzuführen (Twagiramungu et al., 1995), da lediglich 56 bis 76 % der Kühe zwischen 24 und 72 Stunden nach  $\text{PGF}_{2\alpha}$  in Östrus kommen (Twagiramungu et

al., 1992a; Twagiramungu et al., 1992b). Deshalb versuchte man, mit einer zweiten GnRH-Injektion nach PGF<sub>2α</sub> die Ovulation auf ein kleineres Zeitfenster zu beschränken.

### 2.4.3.2 OvSynch

Pursley et al. (1995) verabreichten einigen Kühen 100 µg GnRH an einem beliebigen Tag (Tag 1), 25 mg PGF<sub>2α</sub> an Tag 8 und erneut 100 µg GnRH an Tag 10. Dieses Programm erhielt den Namen „OvSynch“. Damit erreichten sie, dass alle 20 Kühe in dem Zeitraum von 24 bis 32 Stunden nach der letzten Medikation ovulierten. Von den 24 Färsen, deren Behandlung sich darin unterschied, dass sie die letzte Injektion einen Tag früher erhielten, ovulierten nur 18 in dem angegebenen Zeitrahmen, weil die übrigen sechs an Tag 8 ein frisches Corpus luteum anbildeten, das nicht auf das PGF<sub>2α</sub> reagierte. Silcox et al. (1995) verglichen OvSynch mit einem analogen Behandlungsschema, bei dem die zweite GnRH-Injektion durch eine Salzlösung ersetzt wurde. Damit wiesen sie nach, dass die zweite GnRH-Applikation bei Kühen die Zeit bis zur Ovulation und die Streuung dieses Intervalls in der Herde reduziert ( $26 \pm 1$  h nach OvSynch im Vergleich zu  $49 \pm 4$  h in der Kontrollgruppe). Bei Färsen konnte dieser Effekt nicht bestätigt werden. In einer Kuhherde werden etwa 83 % bis 87 % der Tiere synchronisiert ovulieren, wenn OvSynch an einem beliebigen Tag des Zyklus initiiert wird (Pursley et al., 1995; Fricke et al., 1998; Vasconcelos et al., 1999). Auch die Halbierung der GnRH-Dosis hat keinen Einfluss auf dieses Ergebnis (Fricke et al., 1998), bedeutet aber einen deutlichen Kostenvorteil. Der Zeitpunkt der zweiten GnRH-Injektion ist jedoch von Bedeutung für die Fruchtbarkeit. Tiere mit einem kurzen Proöstrus (GnRH 30 Stunden nach PGF<sub>2α</sub>) haben eine niedrigere Trächtigkeitsrate (2,6 %) als Tiere mit einem langen Proöstrus (54 Stunden; 50 %) und eine höhere Inzidenz kurzer Lutealphasen im folgenden Zyklus (Bridges et al., ).

Um den besten Zeitpunkt für eine terminierte Besamung nach OvSynch zu finden, teilten Pursley et al. (1998) 732 Kühe in 5 Gruppen ein und besamten sie 0, 8, 16, 24 bzw. 32 Stunden nach der letzten GnRH-Gabe. Die Konzeptionsraten betragen 37, 41, 45, 41 bzw. 32 %. Statistisch unterscheidet sich nur der letzte Wert von den übrigen, aber tendenziell ergibt sich die beste Fruchtbarkeit bei Besamung 16 Stunden nach GnRH. Die 0-Stunden-Gruppe dieses Experiments wurde später als CoSynch bekannt, weil die Belegung mit der letzten Injektion zusammenfällt und daher besonders in großen Herden eine spürbare Arbeitserleichterung bedeutet.

Im Vergleich mit herkömmlicher Besamung nach Brunstbeobachtung erzielen OvSynch oder ein abgewandeltes OvSynch, bei dem GnRH bereits 30 bis 36 Stunden nach PGF gegeben wird, in Kombination mit der Besamung nach 16 bis 20 Stunden meist ähnliche Konzeptions- und Trächtigkeitsraten (Burke et al., 1996; Stevenson et al., 1996; Pursley et al., 1997a; Pursley et al., 1997b; Gumen et al., 2003), wobei primipare Kühe oft leichter konzipierten als multipare (Stevenson et al., 1996; Cartmill et al., 2001; Tenhagen et al., 2001; Peters und Pursley, 2002; Tenhagen et al., 2004a). Gleichzeitig verkürzen sich Rast- und Gützeit in einer Herde die mit OvSynch synchronisiert wird (Pursley et al., 1997a). In dieser Studie war die Gützeit nach OvSynch 19 Tage kürzer als in der Kontrollgruppe. Einige Autoren berichten aber auch von reduzierten Fruchtbarkeitsleistungen nach OvSynch (Burke et al., 1996; Stevenson et al., 1999). Ob ein Betrieb von OvSynch profitieren kann, hängt aber wesentlich von seiner Brunsterkennungsrate ab. Ist diese niedrig, so werden mit OvSynch viele Kühe belegt, die sonst nicht als brünstig erkannt worden wären (Britt und Gaska, 1998). Umgekehrt schwindet der Vorteil von OvSynch bei steigender Brunsterkennungsrate (Tenhagen et al., 2004b). Weiterhin hängt die Fruchtbarkeit nach OvSynch von der Rastzeit ab. Bei einer Rastzeit zwischen 60 und 75 Tagen betrug die Trächtigkeitsrate 26 % gegenüber 43,4 % bei einer längeren Rastzeit (Pursley et al., 1997b). OvSynch ist in der Lage, einen beträchtlichen Anteil azyklischer Kühe (74,5 % bei Moreira et al., 2001; 94 % bei Gumen et al., 2003) wieder in Zyklus zu bringen. In der Studie von El-Zarkouny et al. (2004) kamen aus der OvSynch-Gruppe 56,4 % der azyklischen Kühe in Brunst, während in der unbehandelten Kontrollgruppe lediglich 12,2 % spontan die Zyklusaktivität wieder aufnahmen.

Für Färsen ist OvSynch nicht geeignet (Silcox et al., 1995; Pursley et al., 1997b), weil diese nicht genügend auf GnRH ansprechen, sodass zum Zeitpunkt der PGF<sub>2α</sub>-Gabe zu wenige Tiere ein ansprechbares Corpus luteum besitzen. Die Synchronisierung des Follikelwachstums ist bei Färsen unzureichend für eine terminierte Insemination (Pursley et al., 1997b).

In einer Metaanalyse von 71 Versuchen kommen Rabiee et al. (2005) zu dem Schluss, dass OvSynch im Vergleich zur Belegung ohne Synchronisation, PGF-Programmen, SelectSynch und PreSynch (siehe unten) keine signifikant veränderten Konzeptions- und Trächtigkeitsraten erzielt.



### 2.4.3.3 PreSynch

Obwohl OvSynch bisher das einzige Protokoll ist, das akzeptable Ergebnisse nach terminierter Insemination erbringt, lassen sich doch einige Nachteile erkennen. So berichten Vasconcelos et al. (1999) von einer besseren Synchronisation wenn OvSynch in der ersten Zyklushälfte begonnen wird. Diese Tiere ovulieren zu 91 % nach GnRH, von den übrigen nur 80 %. Entsprechend ist auch die Fruchtbarkeit vom Zyklusstand zu Beginn von OvSynch abhängig (Keister et al., 1999; Moreira et al., 2000a). Die Tiere, die nach der zweiten GnRH-Injektion nicht ovulieren, können in zwei Gruppen geteilt werden (Vasconcelos et al., 1999): Tiere, die auf die erste GnRH-Gabe reagieren und eine neue Follikelwelle entwickeln, deren dominanter Follikel zu atresieren beginnt, bevor seine Ovulation medikamentell ausgelöst werden kann, und Tiere, die nicht auf die erste Injektion reagieren und folglich zwischen den beiden GnRH-Applikationen spontan in Östrus kommen. In beiden Fällen ist GnRH nicht in der Lage, zum gewünschten Zeitpunkt eine Ovulation hervorzurufen. Die Analyse der Ergebnisse in Relation zum Zyklusstand erlaubte Vasconcelos et al. die Schlussfolgerung, dass OvSynch die besten Resultate erbringt, wenn es etwa in der Mitte des Zyklus begonnen wird. Auch Keith et al. (2005) erhielten die besten Trächtigkeitsraten wenn sie OvSynch von Tag 5 bis 9 des Zyklus begannen. Mit einer PGF<sub>2α</sub>-Injektion 12 Tage vor OvSynch kann der Anteil der Kühe, die sich zu Beginn von OvSynch im frühen Diöstrus befinden, von 19 % auf 36 % nahezu verdoppelt werden (Cartmill et al., 2001). Damit wird auch die Trächtigkeitsrate verbessert. Sie stieg im Großversuch bei multiparen Kühen von 28 % nach OvSynch auf 42 % nach PGF<sub>2α</sub> + OvSynch. Primipara profitierten jedoch nicht von diesem Protokoll. Eine weitere deutliche Verbesserung der Fruchtbarkeit erreichten Moreira et al. (2001) durch eine dritte PGF-Gabe 14 Tage zuvor. Ihr Protokoll bestand also aus zwei PGF<sub>2α</sub>-Injektionen im Abstand von 14 Tagen, gefolgt von OvSynch nach weiteren 12 Tagen. Dieses Protokoll erhielt die Bezeichnung „PreSynch“ und erzielte eine Trächtigkeitsrate von 58,9 %, während OvSynch nur auf 41,4 % kam. Auch El-Zarkouny et al. (2004) konnten in einem Experiment an 614 Kühen durch PreSynch den Anteil der Tiere, die zu sich Beginn von OvSynch im frühen Diöstrus befanden, erhöhen und somit die Trächtigkeitsrate von 37,5 % auf 46,8 % steigern. Navanukraw et al. (2004) erzielten ähnliche Trächtigkeitsraten (37,3 % bzw. 49,6 %) mit einem modifizierten PreSynch/OvSynch-Protokoll. Sie verlängerten den Abstand zwischen der zweiten PGF<sub>2α</sub>-Injektion und OvSynch auf 14 Tage. Dadurch fielen die ersten vier Behandlungen jeweils auf den gleichen Wochentag, was für die Planung und Durchführung der Synchronisation von Vorteil ist, ohne die Fruchtbarkeit zu kompromittieren.

#### 2.4.3.4 OvSynch und Gestagene

Wie schon erwähnt ist der Erfolg einer Besamung unter anderem vom Serumprogesteronspiegel vor der Luteolyse abhängig (Folman et al., 1990; Sanchez et al., 1993; Wehrman et al., 1993; Smith und Stevenson, 1995). Dies trifft auch für die terminierte Besamung nach Ovulationssynchronisation zu. El-Zarkouny et al. (2004) verglichen OvSynch mit und ohne CIDR zwischen der ersten GnRH-Injektion und PGF<sub>2α</sub> mit einer unbehandelten Kontrollgruppe. Versuchstiere waren 262 laktierende Kühe aus einer Herde. Die zusätzliche Progesteronanwendung erhöhte die Trächtigkeitsrate 29 Tage nach der Belegung von 36,3 % auf 59,3 %. Außerdem war in der OvSynch + CIDR-Gruppe die embryonale Mortalität signifikant niedriger als in der OvSynch-Gruppe. Dieses Ergebnis bestätigt die Resultate einer kleineren Studie von Thompson et al. (1999). Auch bei CoSynch kann die Supplementation von Progesteron die Trächtigkeitsrate erhöhen (Lamb et al., 2001, 58 % vs 48 %). Von den azyklischen Kühen wurden sogar 59 % nach CoSynch + CIDR tragend, während in der CoSynch-Gruppe nur 39 % der Kühe ohne Ovaritätigkeit erfolgreich besamt wurden. Zu ähnlichen Erkenntnissen die Anwendung von CoSynch und CIDR betreffend kommen auch Stevenson et al. (2003b). In einer Untersuchung an 217 Färsen verglichen Busch et al. (2007) CoSynch + CIDR mit einem Protokoll, bei dem eine 14tägige CIDR-Applikation nach 9 Tagen von Cosynch gefolgt wurde. Die Besamung und letzte GnRH-Injektion erfolgte dabei 72 h nach PGF<sub>2α</sub>. Dieses Protokoll führte zu deutlich erhöhten Konzeptionsraten (62 % vs. 47 %) und einer besseren Synchronisation des Östrus. Verzicht auf die erste GnRH-Anwendung und Verschieben der CIDR-Phase um 2 Tage hatten keinen Einfluss auf die Trächtigkeitsrate (Leitman et al., 2009). Bessere Ergebnisse lassen sich erzielen, wenn die Besamung beim Cosynch + CIDR-Programm 56 h oder später (64 oder 72 h) nach PGF erfolgt im Vergleich zur Besamung nach 48 h (Dobbins et al., 2009).

#### 2.4.3.5 ReSynch

Auch als Resynchronisation bei Tieren, die bei der Erstbesamung nicht tragend geworden sind, kann man OvSynch erfolgreich anwenden. Da die GnRH-Injektion zu Beginn von OvSynch keinen Einfluss auf eine eventuelle (Früh-)Trächtigkeit hat (Chebel et al., 2003), können alle Tiere bereits vor der Trächtigkeitsuntersuchung der Resynchronisation unterzogen werden. Somit vergehen von der Trächtigkeitsuntersuchung, die unmittelbar vor der PGF-Injektion erfolgt, bis zur erneuten Besamung nicht trächtiger Tiere nur drei Tage. Startet man OvSynch an Tag 20 bis 21 oder an Tag 27 bis 29 nach der Erstbesamung, so

erzielt man bei der anschließenden Zweitbesamung vergleichbare Konzeptionsraten wie bei der Besamung nach Brunstbeobachtung (Moreira et al., 2000b; Chebel et al., 2003). Andere Quellen berichten jedoch von einer reduzierten Konzeptionsrate, wenn OvSynch an Tag 19 p.i. initiiert wird (23 %) statt an Tag 26 oder 33 (34 % bzw. 38 %, Fricke et al., 2003). Die Fruchtbarkeit nach Resynchronisation mit OvSynch an Tag 26 oder 33 p.i. unterschied sich auch bei Sterry et al. (2006). Die höhere Konzeptionsrate nach der späteren Resynchronisation führen die Autoren jedoch zum größeren Teil auf die Gruppe der primiparen Kühen zurück, wo dieser Effekt besonders deutlich ausgeprägt war. Analog zur Resynchronisation mit OvSynch sind auch ein verkürztes OvSynch, bei dem auf die erste Injektion verzichtet wird (Stevenson et al., 2003a) oder CoSynch mit Insemination und GnRH-Applikation 48 oder 72 Stunden nach  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (Sterry et al., 2007) ohne Fruchtbarkeitseinbußen durchführbar.

#### **2.4.3.6 HeatSynch**

Ein weiteres Programm zur Synchronisation von Brunst und Ovulation ist das HeatSynch-Programm, das ähnlich durchgeführt wird wie OvSynch. Lediglich die zweite GnRH-Applikation wird bei HeatSynch durch eine Östradiolgabe 24 Stunden nach  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ersetzt. Die Insemination erfolgt dann weitere 48 Stunden später. Pancarci et al. (2002) verglichen OvSynch und HeatSynch, jeweils nach Vorsynchronisation mittels PreSynch. Dabei konnten sie keine signifikanten Unterschiede in der Fruchtbarkeit durch eines der beiden Protokolle feststellen. Allerdings war OvSynch besser geeignet, anöstrische Kühe zur Ovulation zu bringen als HeatSynch. In einer anderen Studie war PreSynch + HeatSynch sogar der Kontrollgruppe, in der anstelle der Östradiolinjektion die Besamung nach beobachteter Brunst erfolgte, überlegen (Cerri et al., 2004). Bei dem HeatSynch-Programm ist eine zusätzliche Progesterongabe zwischen GnRH und PGF nicht in der Lage, das Besamungsergebnis zu beeinflussen (Lima et al., 2009).

## **2.5 Samenaufbereitung für die KB**

### **2.5.1 Konservierungsmethode**

Als Samenkonservierung bezeichnet man ein Verfahren, das eine begrenzte oder (nahezu) unbegrenzte Aufbewahrung des gewonnenen Spermias ermöglicht, indem Viabilität,

Motilität und Befruchtungsfähigkeit der Spermien erhalten werden und unerwünschtes Keimwachstum verhindert wird. Man nimmt an, dass sich die Lebensdauer eines Spermatozoons gegenläufig zu seiner metabolischen Aktivität verhält (Vishwanath und Shannon, 2000). Die Senkung der Stoffwechselaktivität kann durch Absenkung der Temperatur erreicht werden oder durch Verdünnung des Spermas in speziellen Verdünnern, die für die Lagerung bei Zimmertemperatur geeignet sind. Daraus ergeben sich als Konservierungsmethoden die Flüssigkonservierung bei Zimmertemperatur oder bei Kühlschranktemperatur sowie die Tiefgefrierkonservierung in flüssigem Stickstoff.

Die Vorteile der Flüssigkonservierung liegen in der größeren Überlebensrate der Spermien, sodass kleinere Inseminationsdosen zum gleichen Besamungserfolg führen und eine bessere Ausnutzung hochwertiger Vartiere ermöglicht wird. Außerdem ist die Lagerung von Flüssigsperma einfach und kostengünstig. Eine annehmbare Befruchtungsrate wird mit Flüssigsperma nur innerhalb von 3 bis 5 Tagen erzielt (Vishwanath und Shannon, 1997). Verdünner der Wahl für Flüssigsperma ist derzeit der CAPROGEN®-Verdünner (Leiding, 2007), der bei 15 – 27 °C bessere Befruchtungsergebnisse erzielt als bei 5 °C (Shannon und Curson, 1984). Deshalb hat die Lagerung von Sperma bei Kühlschranktemperatur an Bedeutung verloren.

Die Tiefgefrierkonservierung (Kryokonservierung) bei -196 °C bietet vermutlich Lagerfähigkeit über einen Zeitraum von 3.000 bis 10.000 Jahren (Mazur, 1980), die Befruchtungsfähigkeit nach 49 Jahren Lagerung ist gesichert (Carwell et al., 2009). Dadurch kann das Sperma räumlich und zeitlich äußerst flexibel eingesetzt werden kann. Die bisher unvermeidliche Schädigung der Spermien beim Einfrieren und Auftauen muss allerdings durch höhere Spermienzahlen pro Inseminationsdosis ausgeglichen werden. Außerdem ist bei der Verwendung von Tiefgefriersperma der Zeitpunkt der Besamung für den Besamungserfolg von erheblicher Bedeutung, da die Überlebenszeit im weiblichen Genitale nur halb so lang ist wie die von Frischsperma (Weitze und Petrunkina, 2007). Weitere Nachteile der Kryokonservierung sind der nicht unerhebliche Aufwand und die Kosten bei der Lagerung und beim Auftauen der Spermaportionen. Bei der großen Flexibilität, die kryokonserviertes Sperma bietet, überrascht es nicht, dass dieses Verfahren weltweit dominiert (Busch und Waberski, 2007).

Eine Variante der herkömmlichen Tiefgefrierkonservierung ist die sogenannte Vitrifikation. Dieser Begriff bezeichnet eine „Verglasung“ des Materials, wobei die Viskosität des Spermas

erhöht wird, bis die Probe in einen festen Zustand übergeht, ohne dass eine Kristallbildung stattfindet. Erreicht wird dies durch enorm schnelle Abkühlung. Obwohl in der Humanmedizin inzwischen erfolgreich Sperma vitrifiziert wurde (Isachenko et al., 2004; Isachenko et al., 2005), ist dieses Verfahren bisher noch nicht bei Rindersperma angewendet worden.

### **2.5.2 Samendosis**

In der Regel beinhalten die Besamungsportionen 10 bis 20 Mio. Spermien bei Tiefgefriersperma (Vishwanath, 2003) und 5 Mio. Spermien bei Flüssigkonservierung (Leiding, 2007). Den Daas et al. (1998) führten mit Dosen von 2,1 bis 17,3 Mio. TG-Spermien von 20 Bullen jeweils zwischen 2430 und 5330 Inseminationen durch und bestimmten die entsprechenden Konzeptionsraten. Die Bullen erreichten 95 % der maximalen Konzeptionsrate bereits bei einer Dosis zwischen 1 und 11 Mio. Spermien. Weitere Dosiserhöhungen brachten nur geringe Verbesserungen der Fruchtbarkeit. Nadir et al. (1993) konnten durch die Erhöhung der Spermiendosis von 20 auf 100 Mio. eine verbesserte Embryoqualität erreichen. Außerdem fanden sich mehr akzessorische Spermien in der Zona pellucida der befruchteten Eizelle, was auf eine größere Anzahl motiler Spermien im Eileiter hindeutet (DeJarnette et al., 1992). Foote und Kaproth (1997) führten drei Experimente mit insgesamt 88486 Erstbesamungen durch und verwendeten dabei Spermiendosen zwischen 10 und 40 Mio. Die NRR 59 Tage p.i. bewegte sich in dem engen Bereich zwischen 69,8 % und 73,1 %. Die Reduktion der Spermiendosis auf 2 Mio. führt allerdings zu Einbußen in der Fruchtbarkeit (Andersson et al., 2004). Die Trächtigkeitsrate lag bei der geringen Dosis bei 31,3 %, während mit 15 Mio. Spermien pro Besamung 44,9 % der Kühe konzipierten. Da ein gemeinsamer Effekt von Bulle und Besamungstechniker auf die Trächtigkeitsrate festgestellt wurde, empfehlen die Autoren die Insemination mit nur 2 Mio. Spermien für die meisten Bullen nicht. Gérard und Humblot (1991) stellten bei der Besamung mit 8 oder 12 Mio. Spermien statt mit 16 Mio. gleichfalls einen negativen Effekt auf die NRR fest. Der Unterschied war zwar nicht groß (65,7 %, 66,8 % bzw. 69,2 %), aber dennoch signifikant. Wird das Sperma tiefer im Genitale, nämlich etwa in der Mitte des Uterushornes deponiert, so führt erst die Reduktion unter 200.000 Spermien zu signifikant geringeren Konzeptions- und Trächtigkeitsraten (Seidel et al., 1997; Seidel et al., 1998; Kurykin et al., 2003; Verberckmoes et al., 2005; Kurykin et al., 2006).

Auch das Volumen des Inseminates ist Gegenstand vieler Studien. Meist wurden dabei Dosen von 0,25 ml und von 0,5 ml verglichen. Eine Metaanalyse von Stevenson et al. (2009), der über 780.000 Besamungen zugrunde liegen, kommt zu dem Ergebnis, dass die Verwendung von 0,25 ml (verdünnten) Spermias pro Besamung einen Vorteil von 0,74 % gegenüber der doppelten Menge bedeuten würde.

### **2.5.3 Gesexter Samen**

Schon zu Zeiten von Hippokrates gab es ein Interesse an der Determination des Geschlechtes von Nachkommen. Im letzten Jahrhundert wurden zahlreiche Versuche gemacht, das Geschlechterverhältnis bei der Geburt in der einen oder anderen Richtung zu beeinflussen. (Amann, 1989). Jedoch wurde keine zuverlässige Technik für diese Fragestellung entwickelt, bis es Johnson et al. (1989) gelang, Kaninchen zu züchten, die zu 81 % (männliche) oder 94 % (weibliche) das gewünschte Geschlecht besaßen. Die Forscher nutzten dabei den unterschiedlichen DNA-Gehalt der X- bzw. Y-Chromosomtragenden Spermien. Zunächst wurde die DNA mit einem speziellen Farbstoff (Hoechst 33342, Johnson et al., 1989) angefärbt. Anschließend ließ man die Zellen einzeln in winzigen Tröpfchen durch einen Laserstrahl fallen, der den DNA-Farbstoff fluoreszieren ließ. Anhand dieser Fluoreszenz wurde der DNA-Gehalt der Zelle bestimmt. Eine nachgeschaltete Ladelektrode lud den Tropfen positiv oder negativ auf, damit die Spermien anschließend durch ein elektrisches Feld in verschiedene Gefäße abgelenkt werden konnten (Johnson, 1992). Das 1989 verwendete Gerät war in der Lage, 350.000 Spermien pro Stunde zu sortieren (Johnson et al., 1989). In den folgenden Jahren wurden etliche Modifikationen der Technik vorgenommen, die durch erhöhte Flußrate die Sortiergeschwindigkeit und durch eine bestimmte Orientierung des Spermienkopfes im Laserstrahl die Sortiergenauigkeit steigerten. Durch eine zusätzliche Färbung wurden tote Spermien eliminiert (Johnson und Welch, 1999), wodurch der Anteil lebender Spermien nach dem Tiefgefrieren höher war als bei nicht sortiertem Sperma (Mocé et al., 2006). Dadurch konnten im Routinebetrieb pro Stunde 6 Mio. Spermien jedes Geschlechts aussortiert werden mit einer Reinheit von etwa 90 %. Mit einer Reinheit von nur 75 % waren es gar bis zu 20 Mio. Spermien pro Stunde (Johnson und Welch, 1999; Johnson et al., 1999). Durch weitere Verbesserungen wurde die Arbeitsgeschwindigkeit auf etwa 11 Mio. Spermien pro Stunde gesteigert (Johnson und Welch, 1999; Seidel Jr und Garner, 2002). Das gewünschte Geschlecht wird dann zur Geburt zu etwa 87 - 93 % erreicht (Seidel et al., 1999; Tubman et al., 2004; Borchersen und Peacock,

2009; Frijters et al., 2009). Andersson et al. (2006) berichten von einer Reinheit des sortierten Spermias von lediglich 82 %.

Der Prozess des Sortierens geht nicht spurlos an den Spermien vorüber, sondern erhöht den Anteil immotiler Spermien (Schenk et al., 1999) und schädigt die Zellmembran derart, dass die Akrosomreaktion beschleunigt abläuft (Mocé et al., 2006). Daher betrug die Trächtigkeitsrate für gesextes Sperma einer Reihe von 11 Feldversuchen an 1370 Färsen zwischen 70 und 90 % der TR von nicht gesextem Sperma (Seidel et al., 1999), obwohl für die Kontrollinseminationen jeweils 20 Mio. Spermien verwendet wurden und für Besamungen mit gesextem Sperma nur 1 bis 3 Mio. Ähnliche Ergebnisse erzielten auch Borchersen und Peacock (2009) und Frijters et al. (2009). Letztere fanden in einer Versuchsreihe heraus, dass die Fruchtbarkeitseinbußen beim Einsatz von gesextem Sperma zu knapp zwei Dritteln (8,6 Prozentpunkte) durch die reduzierte Dosis verursacht werden und zu einem weiteren Drittel (5 Prozentpunkte) durch die Schädigung der Spermien beim Sortieren. Auch andere Autoren finden dass die Fruchtbarkeit im Wesentlichen durch die reduzierte Spermienanzahl zustande kommt (Bodmer et al., 2005). Als Hinweis auf die geringe genetische Schädigung der Spermien beim Sortiervorgang werteten Seidel et al. (1999) die Embryonensterblichkeit im zweiten Monat der Trächtigkeit, die sich nach Besamung mit gesextem Sperma nicht von der nach konventioneller Insemination unterschied. Anders lautende Ergebnisse erzielten Bodmer et al. (2005), die im zweiten bis dritten Monat der Gestation eine Embryonensterblichkeit von 11 % nach Besamung mit gesextem Sperma feststellten, während die der Kontrollgruppe bei 0 % lag. Die Verwendung gesexten Spermias hat jedoch keine Auswirkungen auf Trächtigkeitsdauer, Geburtsgewicht, Häufigkeit von Schwereburten, Absetzgewicht und Vitalität des Kalbes, Totgeburtenrate sowie neonatale Sterblichkeit (Tubman et al., 2004).

Für pluripare Rinder eignet sich der Einsatz geschlechtsspezifischen Spermias nicht, da die Konzeptionsrate hier gegenüber der nach Besamung mit ungesextem Sperma um etwa die Hälfte reduziert ist (Andersson et al., 2006). Ein weiterer Nachteil des „sperm sexings“ ist die hohe Verlustrate. Von den Spermien, die zum Sortieren gegeben werden, gehen die meisten aus vielfältigen technologischen Gründen verloren, sodass nach dem Einfrieren und Wiederauftauen nur noch etwa 22 % der ursprünglich eingesetzten Spermien (je Geschlecht 11 %) zur Besamung zur Verfügung stehen (Seidel Jr und Garner, 2002). Die geringe Verbreitung der Sortieranlagen bedingen zum Teil erhebliche Transportstrecken zwischen dem Ort der Spermagewinnung und der Sortiereinrichtung. Es gibt allerdings Hinweise, dass

die Kombination aus Einfrieren, Auftauen, Sexing und erneutem Einfrieren die Qualität des Spermas zu sehr beeinträchtigt (Underwood et al., 2009; Underwood et al., 2010) und daher keine Alternative zu einem möglichst schnellen Transport darstellt, obwohl Sperma, das in größeren Volumina eingefroren, wieder aufgetaut und nach der Portionierung wieder eingefroren wird, nicht zu signifikant erniedrigten Konzeptionsraten führt im Vergleich zu herkömmlichem TG-Sperma (Saragusty et al., 2009).

Selbstverständlich ist gesextes Sperma deutlich teurer als herkömmliches TG-Sperma. Für einige Bullen der Rasse HF muss man beispielsweise zwischen 20 und 37 € mehr pro Samenportion einkalkulieren (<http://www.absdeutschland.com>, am 30.03.2010).

Weitere Versuche, das Geschlecht des Kalbes bereits vor der Konzeption zu bestimmen, betreffen den Besamungszeitpunkt in Relation zum Brunstbeginn (Martinez et al., 2004; Demiral et al., 2007), das Schwimmverhalten der Spermien, verschiedene immunologische Ansätze (Blecher et al., 1999; Hendriksen, 1999), Elektrophorese, Volumetrie (van Munster et al., 1999), wiederholte Zentrifugation (Ollero et al., 2000) und genetische Beeinflussung. Keiner dieser Ansätze brachte es zur Praxisreife, obwohl sich einige vielversprechende Methoden darunter befinden (Seidel Jr und Garner, 2002).

Die Firma Emlab Genetics (Arcola, IL) postuliert, dass ihr Produkt HEIFERPLUS™ durch Inkubation mit dem Sperma eines beliebigen Bullen unmittelbar vor der Besamung die Geschlechterverteilung der Kälber deutlich zugunsten der weiblichen Kälber beeinflussen kann (<http://emlabgenetics.com/default.aspx>, am 20.02.2010). Die zugrundeliegenden Studien fanden jedoch mit begrenzten Tierzahlen und ohne Kontrollgruppen statt. Eine unabhängige Studie konnte die beschriebene Wirkung von HEIFERPLUS™ nicht bestätigen (Curry et al., 2009).

## **2.6 Inseminationsort**

In den Anfängen der Künstlichen Besamung wurde in Anlehnung an die Verhältnisse beim Natursprung der Samen mittels Vaginalsekulum in der Vagina nahe der Zervix deponiert. Da aber die Zervix ein bedeutendes Hindernis für die Spermien auf ihrem Weg zum Eileiter darstellt, ging man in den 40er Jahren des letzten Jahrhunderts dazu über, tief intrazervikal oder in den Uteruskörper zu besamen, indem man die Zervix transrektal fixierte und den Katheter blind durch den Gebärmutterhals manövrierte (Lopez-Gatius, 2000). Diese Technik



erwies sich bald als erfolgreicher und wurde zur Standardmethode der Künstlichen Besamung des Rindes.

### **2.6.1 Intrazervikale vs. intrauterine Besamung**

Mehrere Autoren widmeten sich daraufhin der Fragestellung, ob mit der Deponierung des Inseminates näher am Ort der Befruchtung eine höhere Trächtigkeitsrate zu erzielen sei. Dabei konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Non-Return-Raten (NRR) nach intrazervikaler, intrauteriner oder intracornuärer Besamung festgestellt werden (Knight et al., 1951; Salisbury und Vandemark, 1951; Weeth und Herman, 1951); Stewart und Melrose, 1952; Olds et al., 1953), sondern nur die tendenzielle Überlegenheit tieferer Inseminationen. Alle diese Studien wurden allerdings mit großen Mengen an Frischsperma durchgeführt, was möglicherweise den Einfluss verschiedener Inseminationsorte auf die NRR maskierte.

Moller et al. (1972) führten aufgrund eben dieser Annahme eine Studie mit geringen Samendosen von 2 bis 2,5 Mio. Spermien durch. Den 87 Besamungstechnikern standen dabei drei Methoden zur Auswahl: 1. Platzierung des Spermas im Uteruskörper, 2. Platzierung tief intrazervikal, und 3. Einführen der Besamungspipette tief in den Uterus und anschließend Deponierung des Inseminates im Uteruskörper. Jeder Techniker verwendete diese Methoden zu etwa gleichen Teilen, und auch die Einzelejakulate der Bullen wurden gleichmäßig auf die drei Techniken verteilt. Die Auswertung des Besamungserfolges anhand der 49-Tage-NRR ergab einen signifikanten Vorteil der direkten intrauterinen Besamung (67,9 % oder 67,0 %) gegenüber Methode 2 (63,1 % oder 57,1 %) und Methode 3 (65,3 % oder 61,2 %), jeweils bei Erst- und Zweitbesamungen. Auch Macpherson (1968) bewies, bei Besamungen mit je 50 Mio. aufgetauten Tiefgefrierspermien, die Überlegenheit der intrauterinen Besamung über die intrazervikale Samenplatzierung. Auf diesen beiden Studien basierend gewann die intrauterine Besamung den Vorrang als Standardinseminationstechnik (Lopez-Gatius, 2000).

### **2.6.2 Intrauterine vs. intracornuale Insemination**

Im Vergleich der intrauterinen mit der einseitig intracornualen Insemination wurden die bei der Sektion 3-5 Tage nach Östrusbeginn aufgefundenen Eizellen auf erfolgte Befruchtung und auf akzessorische Spermien untersucht. Der Inseminationsort hatte bei einzelovulierenden Tieren keinen Einfluss auf das Befruchtungsergebnis oder die Zahl der

akzessorischen Spermien. Bei superovulierenden Kühen führte die intracornuale Insemination zur Befruchtung von 81 % der Eizellen auf der Seite der Besamung und von 68 % auf der kontralateralen Seite bei Erstbesamungen und von 54 % bzw. 32 % bei wiederholt besamten Tieren. Der Unterschied bei den Erstbesamungen war dabei signifikant (Hawk und Tanabe, 1986).

Ein geringerer Erfolg durch intrazervikale Besamung wurde von Williams et al. (1988) bestätigt. Die erwartete größere Effizienz intracornualer Besamung im Vergleich mit der Insemination in den Uteruskörper konnte jedoch weder von Williams et al. (1988), die intracornual nur 2,5 cm kranial des Ostium internum uteri besamten, noch von Momont et al. (1989) oder von Marshall (1989) nachgewiesen werden. Auch McKenna et al. (1990), die die 12 teilnehmenden Besamungstechniker zu Beginn der Studie an Organpräparaten und mittels Röntgenüberprüfung in der korrekten Inseminationstechnik schulten, konnten in einem Versuch an 4623 Kühen keine Abweichung in der NRR zwischen Uteruskörper- und beidseitiger Hornbesamung feststellen. Ein tendenzieller Nachteil durch intracornuale Insemination, wenngleich kein signifikanter Unterschied, wurde von Graves et al. (1991) beschrieben. Mit wenigen Ausnahmen machten diese Autoren keine Angaben über die Samendosis, die in den Experimenten eingesetzt wurde.

Dagegen führte die Evaluierung der Besamungspraxis von 9 Eigenbestandsbesamern mit durchschnittlich 4,6 Jahren Erfahrung zu anderslautenden Empfehlungen. Insgesamt 4.178 Besamungen wurden ausgewertet. Nach einer erneuten Unterweisung in der korrekten Platzierung der Besamungspipette im Uteruskörper besamten die Teilnehmer 6 Monate lang die brünstigen Tiere ihrer Herde mit dieser Technik. Daraufhin fand ein radiographisch unterstütztes Training in intracornualer Insemination statt, gefolgt von 6-monatiger Anwendung dieser Technik. Nach den Trainingseinheiten waren die Besamer in der Lage, bei 95 % (Corpus uteri) bzw. 96 % (Cornua) der Versuche die Pipette korrekt zu platzieren. Im Ergebnis führte die intracornuale Insemination von 4.178 Kühen zu einer um 19,9 Prozentpunkte höheren Trächtigkeitsrate (Senger et al., 1988). Auch die unilaterale Besamung in die kraniale Hälfte des Gebärmutterhornes war der Corpus-uteri-Besamung überlegen, wie Lopez-Gatius und Camon-Urgel (1988) in einem Versuch mit 334 laktierenden Kühen zeigten. In welchem Horn jeweils das Inseminat zu deponieren war, wurde durch vorhergehende rektale Palpation des sprungreifen Follikels bestimmt. Die statistische Analyse der Daten ergab eine signifikant höhere Konzeptionsrate nach intracornualer

Insemination. Als Hinweis auf einen Vorteil durch intracornuale Besamung mit gesextem Sperma kann auch das Resultat einer Studie von Brogliatti et al. (2009) gelten.

Der direkte Vergleich tief intracornualer Besamung mit der in den Uteruskörper gelang Dalton et al. (1999), die 95 Kühe zunächst mittels eines Embryotransferkatheters intracornual besamten (12,5 Mio. Spermien je Seite) und unmittelbar anschließend 25 Mio. Spermien eines anderen Bullen im Corpus uteri deponierten. Da die Spermien beider Bullen sich morphologisch, aber nicht in Bezug auf die Befruchtungsfähigkeit und den Spermientransport unterschieden, konnte bei der Untersuchung der 6 Tage alten Embryonen und Ova leicht festgestellt werden, wie viele akzessorische Spermien in der Zona pellucida aus der jeweiligen Besamungstechnik resultierten, was wiederum in positiver Korrelation zu Befruchtungserfolg und Embryoqualität steht (DeJarnette et al., 1992). Es zeigte sich, dass signifikant mehr akzessorische Spermien aus dem Inseminat des Gebärmutterhornes stammten. Dabei war es gleich, ob es sich dabei um die markierten oder die unmarkierten Spermatozoen handelte.

In mehreren Versuchen mit Samendosen von 2 und 40 Mio. Spermien, die im Körper, der Hornmitte oder der Hornspitze des Uterus deponiert wurden, konnte keine Lokalisation gefunden werden, an der die Insemination höhere Trächtigkeitsraten hervorgerufen hätte (Kurykin et al., 2003; Kurykin et al., 2006). Auch mit dem speziell entwickelten „Ghent device“, einer Besamungspipette mit einem flexiblen vorderen Ende, das sich dem gekrümmten Verlauf des Gebärmutterhornes anpassen und so die Besamung nahe der uterotubalen Verbindung ermöglichen soll, konnte keine Verbesserung des Besamungsergebnisses erreicht werden (Verberckmoes et al., 2004). Auch die Reduzierung des Samendosis von 10 – 15 Mio. auf 8, 4 oder 2 Mio. Spermatozoen in konventioneller Corpus-uteri-Besamung brachte keinen Vorteil für die tiefe Insemination mit dem Ghent device (Verberckmoes et al., 2005).

### **2.6.3 Intraperitoneale Insemination**

Die alternative Technik der intraperitonealen Besamung beim Rind wurde erstmals 1955 erwähnt. Der Vaginalfornix einer Färse mit normalem Sexualverhalten wurde mit einer Kanüle durchstoßen und Samen auf das rektal herangeführte Ovar deponiert. Das Tier konzipierte und befand sich zum Zeitpunkt der Publikation des Versuches im achten Monat der bis dahin unauffällig verlaufenen Trächtigkeit (Skjerven, 1955).

Aus 6 intraperitonealen Besamungen von 4 Färsen mit Sperma unterschiedlicher Qualität entstand nur eine Trächtigkeit. Die Besamungen in diesem Experiment fanden durch Injektion des Spermas durch die Bauchwand hindurch statt (Macdonald und Sampson, 1957).

Eine neuere Studie mit Kontrollgruppe erzielte mit transvaginaler intraperitonealer Insemination gleichwertige NRR wie mit konventioneller intrauteriner Besamung. Das Tiermaterial in diesem Versuch bestand aus Kühen die mindestens sechs erfolgreiche Inseminationen hinter sich hatten, normale Zykluslängen zeigten und bei der rektalen Untersuchung frei von pathologischen Befunden waren. Das verwendete TG-Sperma enthielt mindestens 45 Mio. Spermien. Die 62 intraperitoneal besamten Tiere wurden am Tag nach der Besamung und eine Woche später rektal auf Anzeichen einer Peritonitis untersucht und zeigten dabei ausnahmslos keine pathologischen Reaktionen. Auch in der Zeitspanne zwischen Besamung und erneuter Brunst bei erfolglos besamten Tieren unterschied sich diese Gruppe nicht von der 63 Kühe umfassenden Kontrollgruppe (Lopez-Gatius, 1995).

### **3 Die CASUS-Lernfälle**

Ziel dieser Arbeit ist es, interaktive Lernfälle mit der CASUS-Software zu entwickeln, die die Studentinnen und Studenten der Tiermedizin mit der Künstlichen Besamung des Rindes vertraut machen, soweit das ohne praktische Übungen möglich ist. Da das Programm für den Einsatz während der klinischen Semester vorgesehen ist, werden grundlegende Kenntnisse der Anatomie und Physiologie, speziell der Endokrinologie der Fortpflanzung, vorausgesetzt.

Den Benutzern dieses Lernprogrammes soll in den nachfolgend beschriebenen Bereichen aktuelles Wissen übersichtlich präsentiert werden, damit sie in der Lage sind, die erarbeiteten Kenntnisse in der Praxis korrekt anzuwenden.

Folgende Lernziele werden für dieses Programm definiert:

- Die verschiedenen Symptome der Brunst, die im Verhalten und der Physioanatomie erkennbar sind, sollen verstanden, erkannt und korrekt interpretiert werden als Grundlage einer erfolgreichen Brunsterkennung.

- Die Anwendung diverser technischer Hilfsmittel zur Brunsterkennung, die derzeit erhältlich sind, soll beherrscht werden. Dabei muss dem Anwender insbesondere klar sein, welche Nachteile und Schwächen das jeweilige System hat.
- Die zeitliche Abfolge der Bewegung der Oozyte durch den Eileiter nach dem Eisprung und ihre Lebensdauer einerseits sowie die zellphysiologischen Vorgänge der Spermien und die Zeit, während derer eine befruchtungsfähige Spermienpopulation im Salpinx etabliert ist, sind von enormer Bedeutung für die richtige Einschätzung des optimalen Besamungszeitpunktes.
- Die Besamungstauglichkeit einer Kuh hängt nicht nur vom Zyklusstand ab, sondern wird auch durch Erkrankungen der Gebärmutter, der Ovarien oder der Eileiter beeinflusst. Die Beurteilung der Besamungstauglichkeit soll in all diesen Aspekten beherrscht werden.
- Fehler beim Handling des Spermas insbesondere beim Auftauen von Tiefgefriersperma können Grund reduzierter Konzeptionsraten sein. Daher benötigt der erfolgreiche Besamer Kenntnisse der richtigen Technik beim Auftauen und Präparieren des Spermas und der möglichen Fehlerquellen.
- Eine Möglichkeit, Defizite der Brunsterkennung seitens des Betreuungspersonals auszugleichen, besteht in der Synchronisation von Zyklus oder Ovulation. Die Wirkungsweise der hierbei angewendeten Hormone und die sich daraus ergebenden Anwendungsmöglichkeiten soll dem Nutzer des Lernprogrammes dargelegt werden.

Realisiert wurde dies auf der Basis von CASUS (<http://www.casus.eu>), einem fallorientierten multimedialen Lern- und Autorensystem, das für die Aus- und Weiterbildung von Medizinern entwickelt wurde, mittlerweile aber auch in anderen Fachbereichen Anwendung findet.

CASUS bietet eine ausprogrammierte Plattform, die aus drei Elementen besteht. Ein Autorensystem ermöglicht das Anlegen neuer Fallsitzungen, ohne dass Programmierkenntnisse benötigt werden. Im Abspielmodus stehen die fertigen Fallsitzungen zur Aus- und Weiterbildung oder für Prüfungen bereit. Und schließlich bietet CASUS ein Kursverwaltungstool, mit dessen Hilfe mehrere Fälle zu Kursen zusammengefasst, verwaltet und evaluiert werden können.

Eine solche Fallsitzung besteht aus beliebig vielen Karteikarten. Jede Karte beginnt mit einem Infotext, der den Fall oder den nächsten Schritt einleitet und beschreibt. Danach besteht die

Möglichkeit, eine Aufgabe zu stellen, die aus einer Multiple-Choice-Frage, einer Verknüpfungsfrage, einem Lückentext oder ähnlichem bestehen kann. Begleitend kann ein multimedialer Inhalt integriert werden, beispielsweise ein Bild oder kurzes Video. Aufgabenspezifisch kann CASUS eine Auswertung der Antwort vornehmen, die der Nutzer eingibt. Hat der Nutzer seine Antwort gegeben, erscheint ein Kommentar dazu. Er bietet Gelegenheit, die gestellte Frage zu erläutern und mit weiteren Details darzustellen, warum die Antwort lauten muss wie sie lauten muss. Zusätzlich kann ein Expertenkommentar verfasst werden, der die Fragestellung der Karteikarte nochmals vertieft bearbeitet oder zusätzliche Informationen wiedergibt. Während der Bearbeitung kann der Nutzer sich jederzeit eine Übersicht über den Erfolg seiner Antworten anzeigen lassen. Dadurch lässt sich bei mehrmaliger Benutzung der Lernerfolg überprüfen. Im Prüfungsmodus stehen die Auswertungen auch dem Kursleiter zur Verfügung.

### **3.1 Fall 1: Besamung beim Rind**

Der erste Fall beschäftigt sich mit der Routine der Besamung, also mit der Erhebung des Vorberichts, der Untersuchung der Kuh, der Bullenauswahl und dem korrekten Spermahandling. Dieser Fall enthält 13 Karten, zur Bearbeitung werden etwa 20 bis 30 Minuten benötigt.

#### **3.1.1 Karte 1: Einleitung**

Sie arbeiten als Tierarzt in einer Rinderpraxis, die auch Künstliche Besamung anbietet. Als Sie am Morgen in die Praxis kommen, erfahren Sie von der Sprechstundenhilfe, dass Bauer Huber angerufen hat. Die Kuh Elsa rindert und soll besamt werden.

#### *Aufgabe*

Woran erkennt der Landwirt, dass seine Kuh brünstig ist?

*Multiple Choice-Antwort:*

- Die Kuh sondert sich von der Herde ab
- Die Kuh duldet das Aufspringen durch andere Kühe

- Laut Brunstkalender beginnt heute ein neuer Zyklus
- Die Kuh ist unruhig, läuft viel umher und brüllt
- Aus der Vulva fließt zäher, fadenziehender Schleim ab

#### *Antwortkommentar*

Die Brunst des Rindes zeichnet sich durch Veränderungen des Verhaltens und der Physiologie aus. Unruhe, vermehrte Lokomotion und Kontaktsuche zu anderen Tieren, reduzierte Futteraufnahme und Milchleistung sind Anzeichen der Brunst, die jedoch auch schon im Proöstrus auftreten können. Diese Anzeichen sind nicht sehr spezifisch und können teilweise (z.B. Milchleistung) auch Begleiterscheinungen vieler Krankheiten sind.

Aufreiten, der Abgang von klarem, fadenziehendem Brunstschleim und eine Schwellung und Rötung der Scham sind enger mit der Brunst korreliert. Das sicherste Merkmal des Östrus, das jedoch nicht immer gezeigt wird, ist die Duldung des Aufsprungs.

Da die Zykluslänge beim Rind zwischen 18 und 24 Tagen beträgt, kann ein Brunstkalender nur ungefähre Hinweise auf die nächste Brunst geben, aber trotzdem durchaus sinnvoll sein.

#### *Expertenkommentar*

Da die Duldung als kennzeichnendes Merkmal der Brunst nicht immer gesehen wird, entwickelten Van Eerdenburg et al. ein Punktesystem, das auch andere Verhaltensweisen berücksichtigt. Jedem Merkmal wurden je nach Bedeutung, Häufigkeit und Verteilung innerhalb des Zyklus Punkte zugeordnet:

Abgang von Brunstschleim	3
Flehmen	3
Ruhelosigkeit	4
Besprungenwerden ohne Duldung	10
Beriechen der Vagina anderer Kühe	10
Kinnauflegen	15
Aufreiten (oder Versuch)	35
Aufreiten von vorn	45

Duldung

100

Empfohlen wird, die Herde mindestens zweimal täglich für 20 bis 30 Minuten zu beobachten. Jedes Mal, wenn eines der Brunstmerkmale gesehen wird, wird die Punktzahl notiert. Erreicht eine Kuh innerhalb von 24 Stunden 50 oder mehr Punkte, gilt sie als brünstig.

Van Eerdenburg, F. J. C. M., Loeffler, H. S. H. und Van Vliet, J. H., 1996

Detection of oestrus in dairy cows: A new approach to an old problem

The Veterinary Quarterly 18: 52-54

### **3.1.2 Erläuterungen zu Karte 1**

Die erste Karte beschäftigt sich mit der Brunstbeobachtung. In Zeiten steigender Herdengröße wird eine zuverlässige Brunsterkennung angesichts mangelnder Arbeitszeit immer schwieriger. Reduzierte Brunstdauer und eine oftmals schwache Ausprägung von Brunstsymptomen tun ihr Übriges. Da die erfolgreiche Brunsterkennung eine wesentliche Voraussetzung für eine gute Herdenfruchtbarkeit ist, muss der Landwirt und noch mehr der beratende Tierarzt genau über die Anzeichen der Brunst, ihre Bedeutung und Interpretation informiert sein. Als zentrales Merkmal gilt die Duldung des Aufsprungs, denn der Beginn der Brunst ist als der Zeitpunkt der ersten Duldung definiert. Dieses Verhalten wird jedoch in den letzten Jahren vergleichsweise selten beobachtet. Aufreiten auf andere Kühe, aber auch weniger prägnantes Verhalten wie das Kinnauflegen müssen dann als Alternative dienen. Daher muss deren Bedeutung dem besamenden (und ggf. beratenden) Tierarzt bewusst sein. Das Abgehen von Brunstschleim spielt dagegen eine untergeordnete Rolle und darf nicht überbewertet werden. Diese Dinge sollen dem Lernenden nahegebracht werden, um ihn zu befähigen, die Brunstbeobachtung des Landwirtes und die geschilderten Symptome korrekt einzuordnen.

### **3.1.3 Karte 2: Wichtig!**

"Typisch Huber", denken Sie sich. "Was ganz wichtiges hat er mal wieder vergessen zu sagen!"



### *Aufgabe*

Welche Information benötigen Sie, um den Zeitpunkt ihres Besuchs bei Bauer Huber und damit den Zeitpunkt der Besamung planen zu können?

#### *Multiple Choice-Antwort:*

- Erst- oder Nachbesamung
- Beginn der Brunst
- Zeitpunkt der letzten Geburt
- Kuh oder Färse

#### *Antwortkommentar*

Der Zeitpunkt der Besamung in Bezug auf die Ovulation ist wichtig, weil Tiefgefriersperma nicht so lange befruchtungsfähig bleibt wie Frischsperma. Der optimale Besamungszeitpunkt liegt 6 - 12 Stunden vor der Ovulation. Da man den Zeitpunkt der Ovulation bei der Untersuchung auf Besamungstauglichkeit nicht bestimmen kann, muss man sich an den Merkmalen des Östrus orientieren, der beim Rind vor der Ovulation endet. Seit vielen Jahren hat sich in der Praxis die am/pm-Regel bewährt: Treten die ersten Brunstsymptome am Vormittag (ante meridiem) auf, erfolgt die Besamung am Nachmittag desselben Tages. Wird die Brunst dagegen am Nachmittag (post meridiem) festgestellt, wird das Tier am nächsten Vormittag besamt. Damit sollte man in der Regel die KB in der zweiten Hälfte der Brunst durchführen können.

Die Kenntnis um den vermutlichen Beginn der Brunst macht es leichter, eine Besamung sinnvoll in den Praxisalltag einzubauen. Gewissenhafte und erfahrene Landwirte geben diese Information deshalb schon bei der Anmeldung der Besamung weiter.

### **3.1.4 Karte 3: Funktionelle Lebensdauer**

Die Ovulation erfolgt im Mittel etwa 29 Stunden nach Brunstbeginn (19 bis 50 Stunden). Frischsperma ist in der Lage, die Eizelle bis zu 48 Stunden nach der Besamung noch zu befruchten. Die Zeit der Befruchtungsfähigkeit ist bei Tiefgefriersperma jedoch deutlich kürzer. Um die Konzeptionschancen nicht zu sehr einzuschränken, sollten die Besamung maximal 24 Stunden vor der Ovulation erfolgen.

Umgekehrt sollte die Besamung auch nicht zu spät erfolgen. Erste Spermien werden zwar schon wenige Minuten nach der Insemination am Ort der Befruchtung, in der Ampulle des Eileiters, gefunden. Diese sind jedoch nicht in der Lage, die Oozyte zu penetrieren. Gesunde Spermien brauchen etwa 6 Stunden, damit die sogenannte Kapazitation ablaufen kann, ein Prozess, der die Spermien überhaupt erst zur Befruchtung befähigt. Während dieser Zeit werden sie größtenteils durch peristaltische Kontraktionen des Myometriums zum Eileiter transportiert. Im Anfangsteil des Salpinx, dem Isthmus, binden die Spermien an das Epithel der Schleimhautdrüsen und werden gleichzeitig durch einen zähen Schleim fixiert. In diesem funktionellen Reservoir ist der zelluläre Stoffwechsel reduziert, wodurch die Spermien längere Zeit ihre Funktionalität erhalten. Erst kurz vor der Ovulation werden nach und nach einzelne Spermien frei und bewegen sich zur Ampulle, wo sie auf die Eizelle treffen.

Die Eizelle selber hat eine recht kurze Lebensdauer von nur 6 Stunden. Durch ihre Größe und Komplexität ist sie empfindlich für degenerative Prozesse. Deshalb ist es für die Qualität des Embryos von Vorteil, wenn die Spermien die Eizelle erwarten statt umgekehrt. Daher sollte die Besamung bis ca 6 Stunden vor dem Eisprung erfolgt sein, damit den Spermien noch genügend Zeit zur Kapazitation bleibt.

Aufgrund dieser Verhältnisse sollte die Besamung zwischen 5 und 15 Stunden nach Brunstbeginn erfolgen, um beste Konzeptionsergebnisse zu erreichen.

-

Da Sie sowieso wegen einer Puerperalkontrolle am Vormittag vorbeifahren, erkundigen Sie sich bei dieser Gelegenheit nach dem Beginn der Brunst. Der Bauer erzählt Ihnen, dass die Kuh gestern schon unruhig war. Heute Morgen hat er zum ersten Mal beobachtet, dass sie den Aufsprung duldet.

### **3.1.5 Erläuterungen zu den Karten 2 und 3**

Die Karten 2 und 3 thematisieren die zeitliche Abstimmung der Besamung auf die Ovulation. Tierärzte und Eigenbestandsbesamer verwenden üblicherweise Tiefgefriersperma. Dieses hat im Unterschied zu Frischsperma eine deutlich reduzierte Lebensdauer. Weil außerdem die Oozyte nach der Ovulation sehr schnell degeneriert, muss der Zeitpunkt der Besamung möglichst genau auf die Ovulation abgestimmt werden. Um dies zu erreichen, sind detaillierte Kenntnisse bezüglich der zeitlichen Abläufe beim Transport der Keimzellen im

weiblichen Genitale sowie bei der Kapazitation der Spermien als zwingende Voraussetzung für die Befruchtung vonnöten. Nach der Bearbeitung dieser beiden Karten sollte dem Leser klar sein, dass auf der einen Seite die Spermien eine gewisse Zeit nach der Besamung benötigen, um ihre volle Funktionalität zu erlangen. Auf der anderen Seite ist die fertile Periode durch rasch eintretende Degeneration der ovulierten Oozyte limitiert.

Die erste der beiden Karten führt mit einer kurzen Frage in die Problematik ein. Die Hintergrundinformationen, die zu der Entwicklung der am/pm-Regel führten, werden jedoch für zu wichtig erachtet, um sie im Expertenkommentar der zweiten Karte zu platzieren und dabei zu riskieren, dass der Benutzer diesen Bereich der Karte übersieht. Stattdessen wurde eine weitere Karte erstellt, die diese Informationen im Infotext enthält.

### 3.1.6 Karte 4: Vorbericht

Gegen 16 Uhr treffen Sie auf dem Hof des Bauern Huber ein.

Der erste Schritt bei der Besamung ist die Erhebung des Vorberichtes. Den Beginn der Brunst kennen Sie schon. Der Landwirt erzählt Ihnen, dass es sich um eine 5-jährige Kuh handelt, die vor 9 Wochen gekalbt hat.

#### *Aufgabe*

Welche Informationen wären außerdem noch hilfreich?

#### *Multiple Choice-Antwort:*

- bisheriger Zyklusverlauf
- Zeitpunkt der letzten Brunst
- Ausprägung der Brunstsymptome
- Anzahl schon erfolgter Besamungen
- Verlauf der letzten Geburt und des Puerperiums

#### *Antwortkommentar*

Damit Sie abschätzen können, inwieweit Sie sich auf die Brunsterkennung des Betriebsleiters verlassen können, sollten Sie die Regelmäßigkeit des Zyklus und die beobachteten

Brunstsymptome eruieren. Dies gibt außerdem Hinweise auf eine physiologische oder pathologische Ovarfunktion. Außerdem sollten Sie wissen, ob es sich um eine Erst- oder eine Nachbesamung handelt, da in diesem Fall theoretisch eine Gravidität mit scheinbaren Brunstsymptomen bestehen kann. Nach Möglichkeit erfolgt die Nachbesamung mit Sperma desselben Bullen, damit es in der Abstammung des Kalbes nicht zu Unklarheiten kommen kann. Störungen im Verlauf der letzten Geburt und/oder des Puerperiums erhöhen die Wahrscheinlichkeit von entzündlichen Veränderungen des Genitaltrakts. In so einem Fall könnte man eine vaginale Untersuchung von vornherein einplanen.

#### *Expertenkommentar*

Der Vorbericht muss im Besonderen abklären, ob ein Risiko für Geschlechtskrankheiten besteht. Nach Schweregeburten und Nachgeburtsverhaltungen findet man häufiger Endometritiden/Genitalkatarrhe. Unregelmäßige oder verkürzte Brunstzyklen (physiologisch: 18 bis 24 Tage) sowie verlängerte oder Dauerbrunsten sprechen für das Vorliegen von Ovarzysten.

Deshalb sollten Fragen nach dem Verlauf der Geburt und des Puerperiums ebenso wenig fehlen wie Fragen nach dem bisherigen Zyklusverlauf und dem beobachteten Brunstintervall.

### **3.1.7 Karte 5: Im Stall**

Sie erfahren, dass die Kuh vor 9 Wochen ihr drittes Kalb geboren hat und danach an einer Nachgeburtsverhaltung litt. Heute ist die erste Brunst, die post partum beobachtet wurde.

Sie gehen in den Stall und beginnen mit der Untersuchung der Kuh. Sofern ihr Besamungsgerät nicht automatisch in ihrem Praxisauto vorgewärmt wird, können Sie das Gerät schon jetzt unter Ihren Praxismantel stecken, damit es nach der Untersuchung die erforderliche Temperatur hat.

#### *Aufgabe*

Welche Untersuchungen sind in diesem Fall erforderlich, um sicherzustellen, dass diese Kuh besamungstauglich ist?

*Multiple Choice-Antwort:*

- manuelle rektale Untersuchung
- Allgemeinuntersuchung
- vaginoskopische Untersuchung
- rektale Ultraschalluntersuchung
- Beurteilung des äußeren Genitale
- Untersuchung des Brunstverhaltens

*Antwortkommentar*

Neben einem kurzen Blick auf die Kuh (z.B. Körperkondition, Klauen) sind im Normalfall die Beurteilung der Vulva und der Vestibulumschleimhaut sowie die manuelle rektale Untersuchung ausreichend zur Feststellung der Besamungstauglichkeit.

Litt die Kuh wie in diesem Fall an einer Erkrankung der Gebärmutter, so empfiehlt es sich unbedingt, einen genaueren Blick auf die Vaginalschleimhaut und die Zervix zu werfen, um einen Genitalkatarrh auszuschließen. Schon bei geringsten Zweifeln an der Geschlechtsgesundheit des Rindes sollte eine vaginoskopische Untersuchung durchgeführt werden.

Die Beurteilung des Brunstverhaltens ist angesichts der Kürze der Zeit und den Umständen der Untersuchung (fixierte Kuh) meist nicht möglich.

Da auch erfahrenen Untersuchern bei der Palpation der Ovarien mitunter Fehler unterlaufen, kann bei Unsicherheit die sonographische Untersuchung zusätzliche Sicherheit geben (Corpus luteum, Zyste). Die Ultraschalluntersuchung kann natürlich auch konkrete Hinweise auf Entzündungen im Uterus (Flüssigkeit) oder sogar Frühträchtigkeit (Tag 25 bis 28) geben. Im Rahmen einer Untersuchung auf Besamungstauglichkeit dürfte aber der Einsatz eines Ultraschallgerätes eher selten sein.

*Expertenkommentar*

Besamungstauglich ist ein Rind, wenn es sich im Östrus befindet und keine Hinweise auf Geschlechtskrankheiten zu erkennen sind. Bei letzteren ist vor allem auf Genitalkatarrhe/Endometritiden und Ovarialzysten zu achten. Unregelmäßigkeiten im

Zyklusverlauf (verkürzte Zyklen, verlängerte oder Dauerbrunst) können auf Ovarzysten hinweisen. Leicht getrübter Vaginalausfluss spricht nicht gegen eine Besamung, gelblicher Schleim oder Beimengung von Eiterflocken dagegen schon. Probleme im Verlauf des Puerperiums wie Retentio secundinarum oder auch Schweregeburten sind Risikofaktoren für das Auftreten von Genitalkatarrhen. Daher ergeben sich mitunter schon aus dem Vorbericht erste Anhaltspunkte für die Beurteilung der Besamungstauglichkeit einer zu belegenden Kuh.

### 3.1.8 Karte 6: Äußeres Genitale

Sie betrachten die Vulva und ziehen die Schamlippen auseinander, um die Vestibulumschleimhaut zu beurteilen. Die Vulva ist geschwollen, gerötet und ödematisiert.

#### *Aufgabe*

Welches Hormon ist für die typischen Anzeichen einer Brunst am äußeren Genitale verantwortlich?

#### *Multiple Choice-Antwort:*

- Progesteron
- Östrogen
- GnRH
- Oxytocin

#### *Antwortkommentar*

Der präovulatorische Follikel erzeugt nach dem Wegfall der hemmenden Wirkung von Progesteron hohe Konzentrationen von Östrogen im Blutkreislauf. Dieses Hormon löst die brunsttypischen Verhaltensweisen aus, löst die entscheidende LH-Ausschüttung aus und bewirkt Veränderungen des Genitales, die unter anderem auch auf die Belegung vorbereiten, z.B. die Schwellung der Scham und die Durchsaftung und Rötung der Schleimhaut.

*Expertenkommentar*

GnRH oder Gonadorelin wird im Hypothalamus gebildet. Die Ausschüttung erfolgt wellenförmig. In der Hypophyse steuert GnRH die Ausschüttung der gonadotropen Hormone FSH und LH. GnRH selbst sowie FSH und LH reduzieren über ein negatives Feedback die GnRH-Sekretion.

Östrogen wird unter FSH- und LH-Einfluss im dominanten Follikel gebildet. Es wird vermehrt im Proöstrus und Östrus sezerniert und ist verantwortlich für die Ödemisierung und Hyperämie des Genitales sowie für das typische Brunstverhalten. In der frühen Follikelphase hat Östrogen ein negatives Feedback auf die LH-Sekretion, beide Hormone bleiben daher auf einem niedrigen Niveau. Bei den hohen Östrogenkonzentrationen in der späten Follikelphase ist GnRH in der Lage, seine Zielzellen zu sensibilisieren. Dadurch wird bei jedem GnRH-Puls mehr und mehr LH freigesetzt, das letztendlich zur Ovulation führt. FSH steigt dabei nicht an, weil der Follikel Inhibin ausschüttet, das die Sekretion von FSH hemmt.

Progesteron wird vom Corpus luteum sezerniert, und zwar etwa vom 3./4. bis zum 17./18. Zyklustag. In der frühen Gelbkörperphase ist die Progesteronsynthese autonom, später hängt sie vom basalen LH-Spiegel ab (LH = luteotropes Hormon) Progesteron reduziert die Frequenz und Amplitude der GnRH-Sekretion, sodass zwar ein Follikelwachstum möglich ist, die Ovulation aber verhindert wird.

Oxytocin wird ebenfalls im Hypothalamus synthetisiert und durch nervale Stimuli beim Saugakt oder beim Melken freigesetzt. Es bewirkt das "Einschießen" der Milch in die Drüsen- und Zitzenzisterne des Euters. Daneben besitzt es eine geringe kontrahierende Wirkung am Myometrium.

**3.1.9 Karte 7: Rektale Untersuchung**

Nachdem Sie festgestellt haben, dass die Kuh äußerlich einen gesunden Eindruck macht, beginnen Sie mit der rektalen Untersuchung.

*Aufgabe*

Welche Befunde der rektalen Untersuchung charakterisieren eine Kuh als brünstig?

*Multiple Choice-Antwort:*

- Auf den Ovarien befindet sich ein kleiner weicher Gelbkörper
- Der Uterus ist tonisiert und zeigt eine ausgeprägte Kontraktilität
- Der größte Follikel ist höchstens 20 mm groß und weich-fluktuierend
- Die Gebärmutter ist schlaff und nicht kontraktionsbereit

*Antwortkommentar*

Zweckmäßigerweise beginnt man die rektale Untersuchung der Genitalia mit der Palpation des Uterus. Er ist während der Brunst tonisiert und kontraktionsbereit. Achten Sie bei unklarer Tonisierung auf eventuelle Flüssigkeitsansammlungen (Schlauchgefühl). Die Eierstöcke sollten bei der Untersuchung auf Besamungstauglichkeit vorsichtig untersucht werden, weil ansonsten die Gefahr besteht, die Ovulation einzuleiten (Ruptur des Follikels). Bei einer besamungstauglichen Kuh befinden sich ein (eventuell auch zwei) Follikel mit einem Durchmesser von 15 bis max. 25 mm auf den Ovarien. Das Corpus luteum des vergangenen Zyklus darf nur noch als kleiner derber Restgelbkörper zu ertasten sein.

Kontraindikationen für die Besamung sind Trächtigkeit, pathologische Zustände der Ovarien (Ovarzysten) und/oder der Gebärmutter (Endometritis) und selbstverständlich auch ein Zyklusstand der Kuh außerhalb der Brunst.

-

In diesem Fall führen Sie auch noch eine vaginale Untersuchung mit dem Spekulum durch. Dabei können Sie keine krankhaften Befunde erkennen.

**3.1.10 Erläuterungen zu den Karten 4 bis 7**

Thema der Karten 4 bis 7 ist die Feststellung der Besamungstauglichkeit. Die Belegung nicht besamungstauglicher Rinder verursacht unnötige Kosten, und dies nicht nur durch die vergebliche Besamung, sondern auch durch reduzierte Erträge, die sich aus einer



Verlängerung der Günstzeit ergeben, die unter anderem aus der verzögerten Behandlung erkrankter Tiere resultiert.

Um die Besamungstauglichkeit einer Kuh zu beurteilen, sind verschiedene Untersuchungen erforderlich. Der Vorbericht eruiert das Vorkommen von Ereignissen, die als Risikofaktoren für das Auftreten von Geschlechtskrankheiten zu sehen sind, oder die konkrete Hinweise auf das Vorliegen einer Erkrankung darstellen. Dem Lernenden muss klar sein, welche Bedeutung den erhobenen Fakten beizumessen ist, und dass eine guter Vorbericht eine wertvolle Entscheidungshilfe bietet. Die Erhebung des Vorberichtes wird in Karte 4 bearbeitet.

An die Erhebung des Vorberichtes schließen sich je nach Sachlage verschiedene klinische Untersuchungen an. Eine kurze Beurteilung des Allgemeinbefindens geht dabei der Adspektion der Vulva und des Vestibulums voraus. Hierbei muss auf Anzeichen der Brunst genauso geachtet werden wie auf Erscheinungen von Genitalerkrankungen, beispielsweise eitriger Ausfluss. Schließlich gehört auch die rektale Palpation unbedingt zu einer vollständigen Untersuchung der Besamungstauglichkeit. Karte 5 verdeutlicht, welche Untersuchungen erforderlich sind und auf welche verzichtet werden kann. Es wird herausgestellt, dass auch eine Vaginoskopie indiziert sein kann und dann auch durchgeführt werden sollte, obwohl sie einen größeren Aufwand bedeutet, denn die Vaginoskopie ist eine Methode, die sehr gut zur Diagnose eines Genitalkatarrhes geeignet ist. Nach der Bearbeitung der Karte 5 sollte der Student wissen, wie Besamungstauglichkeit definiert ist und welche Untersuchungen durchgeführt werden müssen, um zu einem verlässlichen Urteil zu gelangen.

Karte 6 stellt die äußeren Erscheinungen der Brunst im Kontext der endokrinen Situation dar und gibt im Expertenkommentar eine kurze Übersicht über die Wirkung einiger relevanter Hormone. Kenntnisse der Endokrinologie werden zwar für das Studium dieses Programmes vorausgesetzt, jedoch kann eine kurze Wiederholung der Thematik kaum von Nachteil sein.

Die rektale Palpation ist Gegenstand von Karte 7. Als wichtigste Untersuchung im Hinblick auf die bevorstehende Besamung wird ihr eine ganze Karte gewidmet. Es wird erklärt, wie man vorgehen sollte und welche Befunde bei der brünstigen Kuh zu erwarten sind. Genauso wichtig ist, Zustände zu erkennen, die gegen eine Besamung sprechen. Neben den bereits erwähnten Genitalerkrankungen muss natürlich auch auf schon bestehende Trächtigkeit geachtet werden, da man nicht in jedem Fall davon ausgehen kann, dass nur nichtträchtige

Tiere zur Besamung vorgestellt werden. Es wird noch einmal zusammengefasst, welche Voraussetzungen erfüllt sein müssen, damit eine Kuh als besamungstauglich beurteilt werden kann.

### 3.1.11 Karte 8: Bullenauswahl

Jetzt sind Sie sich sicher, dass Sie die Kuh besamen können. Sie gehen zum Auto, um die Besamung vorzubereiten.

#### *Aufgabe*

Welche Kriterien spielen bei der Auswahl des Bullen eine Rolle?

#### *Multiple Choice-Antwort:*

- Zuchtwerte des Bullen
- Färse oder Kuh
- Alter des Bullen
- Blutlinie des Bullen
- Milchleistung der Kuh
- Abstammung der Kuh
- Vorlieben des Landwirtes

#### *Antwortkommentar*

Viele Landwirte überlassen die Auswahl eines konkreten Zuchtstiers dem Besamenden, tatsächlich hat aber der Landwirt das Recht, den Bullen zu bestimmen. Dabei sollte man darauf achten, Inzucht zu vermeiden, d.h. keine Tiere zu verpaaren, die aus der gleichen Zuchtlinie stammen. Dann spielt die Laktationszahl des Tieres eine Rolle. Bei Färsen sollte man Stiere verwenden, die nicht zu hohe Geburtsgewichte vererben, damit Schweregeburten mit Verletzungen des weichen und knöchernen Geburtswegs und damit verbundene puerperale Erkrankungen (Asphyxie des Neugeborenen, Retentio secundinarum, puerperale Endometritis etc.) vermieden werden. Schließlich achtet man auf die Zucht- und Gesundheitswerte des Bullen, wobei nicht nur Milchleistung und Tageszunahmen eine Rolle

spielen sollten. Grundlage einer guten Leistung ist gute Gesundheit, und daher sollte man z.B. die Eutergesundheit fördern, indem man auf niedrige Zellzahl und eine gute Euteraufhängung, Strichstellung und -länge achtet.

Bei Nachbesamungen sollte man bevorzugt den Stier auswählen, dessen Samen auch bei der vorhergehenden Besamung verwendet wurde, damit die Abstammung des Kalbes einwandfrei feststeht.

### *Expertenkommentar*

Landwirt und Tierarzt haben mitunter verschiedene Zuchtziele vor Augen. Der Landwirt denkt in erster Linie betriebswirtschaftlich, d.h. höhere (Milch-)Leistung ist gleich höherer Profit. Da jedoch die Grundlage konstant hoher Leistungen eine gute Gesundheit ist, und Sie als Tierarzt zum Schutz derselben berufen sind, sollten die Verhütung von Krankheiten und die Sicherung der Leistungsfähigkeit der Tiere bei Ihren Entscheidungen im Vordergrund stehen. Ein Prinzip der Bullenauswahl ist die sogenannte Ausgleichsanpaarung. Hierbei werden Mängel der Kuh durch überdurchschnittliche Anlagen des Bullen ausgeglichen und umgekehrt. Die Zuchtwerte des Bullen sind bekannt. Die der Kuh sind eher selten verfügbar. Daher beschränkt sich die Einschätzung der Kuh auf die Beurteilung des äußeren Erscheinungsbildes (Exterieur).

Bei der Auswahl eines geeigneten Besamungsbullen spielt zunächst die Rasse eine Rolle. Handelt es sich um ein Zuchttier, sollten Stier und Kuh von derselben Rasse sein. In Milchviehbetrieben ohne züchterische Ambitionen kann die Einkreuzung einer Fleischrasse höherwertige (im Sinne besserer Mastleistung) Nachkommen bringen. Am Exterieur der Kuh interessiert unter gesundheitlichen Gesichtspunkten vor allem das Euter, speziell die Euterform und -aufhängung (die Zitzen sollten möglichst weit vom verschmutzten Stallboden entfernt sein) und die Strichlänge, -dicke und -stellung (die den Schluss des Strichkanals als wichtige Barriere gegen aufsteigende Keime beeinflussen). Ausgleichsanpaarung in diesem Bereich kommt dem Landwirt auch wirtschaftlich zugute, denn Mastitiden verursachen immer noch bedeutende Verluste in der Milchwirtschaft. Danach beurteilt man Rahmen (viel Raum für den Pansen ermöglicht hohe Futteraufnahme) und Fundament ("Die Klauen tragen die Milch") der Kuh. Auch hier sucht man die Mängel der Kuh durch die Vorzüge des Bullen auszugleichen. Die Milchleistung der Nachzucht sollte nicht zu stark forciert werden, wenn Sie den Betrieb nicht gut kennen (Betriebs- und Fütterungsmanagement sind nicht immer

geeignet, eine adäquate Ernährung hochleistender Tiere zu gewährleisten). Erst zum Schluss beachten Sie die Zuchtlinien von Kuh und Stier, um Inzucht zu vermeiden.

Diese Vorgehensweise stellt nur einen Vorschlag dar, der Ihnen die Entscheidungsfindung erleichtern soll.

### **3.1.12 Erläuterungen zu Karte 8**

Diese Karte behandelt das Thema der Stierauswahl. Obwohl der Landwirt als Eigentümer des weiblichen Tieres das Recht hat, zu bestimmen, welche Tiere miteinander verpaart werden sollen, sollte der Besamungstierarzt ebenfalls mit der Vorgehensweise bei der Zuchtauswahl vertraut sein, da viele Landwirte die Entscheidung dem Tierarzt überlassen. Dieses Thema bis ins Detail zu vermitteln würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen, aber es soll dennoch versucht werden, die wichtigsten Aspekte zu erarbeiten. Es wird erläutert, welche Kriterien bei der Anpaarung eine Rolle spielen. Insbesondere wird der Benutzer darauf hingewiesen, dass er als angehender Tierarzt, der der berufene Schützer der Tiere sein wird, als solcher auch auf die Gesundheit der Nachzucht zu achten hat. Dieser Grundsatz sollte bei der Entscheidung für den jeweiligen Bullen mit einbezogen werden. Schließlich kommt dies dem Landwirt durch die Vermeidung erhöhter Krankheitsinzidenzen auch wirtschaftlich zugute.

### **3.1.13 Karte 9: Spermaentnahme**

Sie entscheiden sich gemeinsam mit dem Landwirt für den Bullen Vanstein.

#### *Aufgabe*

Was müssen Sie bei der Entnahme des Spermas aus dem Stickstofftank beachten?

#### *Multiple Choice-Antwort:*

- den Paillettenträger ganz herausziehen, damit man die Beschriftung gut lesen kann
- Den Stickstoffdampf wegpusten, damit man die Pailletten gut erkennen kann
- den Paillettenträger nur soweit anheben, dass die Pailletten zu erreichen sind, und den Deckel schnell wieder verschließen
- Die Paillette möglichst tief mit einer Pinzette entnehmen

### *Antwortkommentar*

Im Samencontainer befindet sich über dem flüssigen Stickstoff ein starkes Temperaturgefälle. Im Hals des Containers herrschen nur noch  $-40^{\circ}\text{C}$ . Damit die übrigen Samenportionen nicht angetaut werden, sollte man den Paillettenträger nur so weit anheben, dass man erkennen kann, welche Pailletten sich in welchem Fach befinden, und die gewünschte Portion mit einer Pinzette zügig herausnehmen. Notfalls senkt man den Träger nochmals für etwa 10 Sekunden in den Stickstoff ab.

Da man die Beschriftung der einzelnen Pailletten nicht ablesen kann ohne das Sperma zu gefährden, ist eine deutliche Beschriftung der Träger und eine konsequente Ordnung im Container sehr wichtig!

### *Expertenkommentar*

Bei konstant niedriger Temperatur bleibt Sperma sehr lange befruchtungsfähig. Schätzungen sprechen von 3.000 bis 10.000 Jahren. Danach führt die Hintergrundstrahlung zu einer zunehmenden Schädigung der DNA. Eine raschere Beeinträchtigung der Spermien geschieht durch wiederholtes Antauen. Bereits ab  $-90^{\circ}\text{C}$  sind leichte Schäden zu befürchten. Bei dem enormen Temperaturunterschied zwischen dem Inhalt des Samencontainers und der Umgebung ist diese Grenze schnell erreicht.

### **3.1.14 Karte 10: Auftauen**

Sie haben den richtigen Paillettenträger rasch gefunden und wollen nun eine Samenportion auftauen.

### *Aufgabe*

Welche der folgenden Methoden sind zum Auftauen des Spermias NICHT geeignet?

### *Multiple Choice-Antwort:*

- Halten in der Hand
- kurzes Auftauen im Wasserbad bei  $75^{\circ}\text{C}$
- Auftauen im Wasserbad bei  $38^{\circ}\text{C}$

- ☑ Auftauen im Wasserbad bei 5°C
- ☑ Paillette ohne Auftauen in das Gerät einbringen und Auftauen in der Kuh

#### *Antwortkommentar*

Tiefgefriersperma wird am besten in 38°C warmem Wasser innerhalb von 25-30 Sekunden aufgetaut. Befolgen Sie am besten die Auftauempfehlung der Besamungsstation!

Optimal wäre das Auftauen bei 75°C über 5 bis 10 Sekunden. Dabei besteht aber die Gefahr, dass das Sperma zu warm wird (Hitzeschäden), wenn die Auftauzeit auch nur kurz überschritten wird. Deshalb wird dies unter Praxisverhältnissen nicht empfohlen.

Um den kritischen Gefrierpunkt möglichst schnell zu überwinden, sollte die Paillette ohne Verzögerung ins Wasserbad verbracht werden. Ansonsten besteht die Gefahr, dass Teile des verdünnten Samens wieder auskristallisieren und die Samenzellen dadurch stark geschädigt werden. Aus dem gleichen Grund ist das Auftauen mittels Körperwärme der Kuh ebenfalls nicht zu empfehlen.

Beim Auftauen verringert sich die extrazelluläre Salzkonzentration, daher sind die Spermien einem erheblichen osmotischen Stress ausgesetzt. Schnelleres Auftauen reduziert die Zeit, in der die Spermien gestresst werden und führt zu besseren Besamungsergebnissen.

Das Besamungsgerät sollte vor allem bei niedrigen Außentemperaturen vorgewärmt sein. Nach dem Zusammenbau sollte das Gerät möglichst schnell in die Vagina des Tieres eingebracht werden, um eine erneute Abkühlung zu vermeiden.

Das Auftauen des Spermas in der Hand ergibt Temperaturverläufe, die nicht kontrolliert sind, einzelne Bereiche der Paillette tauen schneller auf als andere, und an den angrenzenden Stellen kommt es zu Kristallbildungen.

#### **3.1.15 Karte 11: Die Paillette**

Während die Paillette im Auftaugerät steckt, fragt Bauer Huber: "Wie viele Spermien sind da eigentlich drin?"

### *Aufgabe*

Wie viele Spermien sind in einer Paillette?

*Multiple Choice-Antwort:*

- 100.000 Spermien
- 1 Mio Spermien
- 15 Mio. Spermien
- 5 Mrd. Spermien

### *Antwortkommentar*

Die Anzahl der Spermien in einer Samendosis hängt von der Fruchtbarkeit des Stieres ab. Entscheidend ist eigentlich die Gesamtzahl der motilen Spermien, die etwa 10 Millionen betragen sollte. Die KB-Station kennt die Auftauergebnisse der Besamungsbullen und gibt daher entsprechend mehr Spermien in eine Paillette. Durchschnittlich werden deshalb 15 Mio. (Bereich 10 - 20 Mio.) Spermien pro Paillette verwendet.

Bei der heute üblichen Technik der Samenkonservierung und der Insemination bringt eine Erhöhung der Dosis nur minimale Verbesserungen der Konzeptionsrate. Geringere Dosen waren in einigen Studien durchaus in der Lage, annehmbare Besamungsergebnisse zu erzielen. Dabei ist der Erfolg jedoch in zunehmendem Maß von der individuellen Fruchtbarkeit des Bullen sowie dem Besamungszeitpunkt und der Besamungstechnik abhängig.

Das Volumen der Paillette beträgt entweder 0,5 ml oder 0,25 ml. Die Spermienzahl pro Paillette ist davon unabhängig.

### **3.1.16 Erläuterungen zu den Karten 9 bis 11**

Häufige Fehlerquellen und Grund für reduzierte Konzeptionsraten nach einer Besamung sind Fehler beim Handling des Spermas. Die Karten 9 und 10 erläutern die korrekte Handhabung der tiefgefrorenen Samenportionen bei der Entnahme aus dem Container und beim Auftauen. Die korrekte Art des Auftauens von TG-Sperma wird dargestellt, um eine Grundlage für das Arbeiten mit den Pailletten bereitzustellen. Daneben werden aber auch

die häufigsten Fehler beschrieben, damit der Nutzer weiß, welche Vorgehensweisen zu vermeiden sind. Schließlich wird auch erklärt, weshalb der jeweilige Fehler zur Schädigung der Spermien führt, sodass der Lernende über die Vorgänge beim Handling des Spermas Bescheid weiß und einschätzen kann, welche Auswirkungen zu erwarten sind, wenn er auf andere als die dargestellte Weise vorgeht.

Des Weiteren führt natürlich auch eine zu geringe Zahl motiler Spermien in der aufgetauten Spermaportion zu einer reduzierten Fruchtbarkeit. Dies ist zwar durch den Besamenden nicht zu beeinflussen, aber Karte 11 gibt dennoch einen kurzen Einblick in die Größenordnungen, in denen sich der Spermiengehalt einer Samenportion bewegt.

### **3.1.17 Karte 12: Wieder an der Kuh**

Jetzt entnehmen Sie die Paillette aus dem Wasserbad. Sie kontrollieren, ob es sich um Sperma des gewünschten Bullen handelt, dann trocknen Sie die Portion ab ("Wasser tötet Spermien"). Die Spitze der Paillette wird mit einer scharfen Schere im rechten Winkel abgeschnitten und die Paillette in die vorgewärmte Besamungspistole eingeführt. Wenn Sie die Schutzhülle darüberziehen, achten Sie darauf, dass zwischen dieser und der Paillette keine Lücke bleibt, in die das Sperma beim Ausschieben rinnen könnte. Ist das Gerät bereit, muss es auf dem Weg zur Kuh vor Auskühlung geschützt werden, zum Beispiel indem Sie es unter der (sauberen!) Kleidung nah am Körper tragen. Sie haben dies alles berücksichtigt und wollen nun die Kuh besamen.

#### *Aufgabe*

An welchem Ort im inneren Genitale der Kuh wird das Sperma deponiert?

*Multiple Choice-Antwort:*

- in der kranialen Vagina
- im Uterushorn ipsilateral zum Brunstfollikel
- unmittelbar kranial der Zervix
- in der Uterushornspitze
- in der Mitte der Zervix



*Antwortkommentar*

Zunächst wird die Vulva und Umgebung gereinigt, damit keine Keime in das Genitale verschleppt werden. Sodann spreizt man die Schamlippen möglichst weit auseinander und führt mit der anderen Hand die Besamungspistole im 45°-Winkel schräg nach oben ein, bis sie am Scheidendach anstößt. So vermeidet man die Katheterisierung der Harnröhre. Erst dann wird sie waagrecht weitergeführt. Sie sollte sich mindestens zu einem Drittel in der Scheide befinden, bevor man die Schamlippen loslässt. Dann geht man mit der freien Hand in das Rektum ein und sucht die Zervix auf. Das kaudale Ende der Zervix wird erfasst und nach vorn geschoben. Dadurch zieht sich die Vaginalschleimhaut straff, sodass die Inseminette leicht bis zur Zervix vorgeschoben werden kann. Wenn das Instrument sich dennoch in einer Falte verfängt und nicht weiterzuführen ist, zieht man es zu zwei Dritteln aus der Scheide heraus und versucht es erneut. Die Besamungspistole nur wenige Zentimeter zurückziehen führt meist nur dazu, dass sie sich hernach in der gleichen Falte wiederfindet. Wenn man vor der Zervix angelangt ist, kann man mit dem Handballen oder dem kleinen Finger durch das Rektum die Spitze des Besamungskatheters erspüren. Nun muss die Hand, die die Zervix hält, diese vorsichtig auf den Katheter "auffädeln". Das Auffinden des äußeren Muttermundes erfordert einige Übung. Schwenkungen der Zervixlängsachse lassen die Pistole zwischen den Schleimhautfalten hindurchgleiten. Keinesfalls darf die Inseminette gegen einen Widerstand eingeführt werden! Haben Sie die Zervix passiert, deponieren Sie das Sperma nicht zu schnell, und vermeiden Sie, die Inseminettenspitze gegen die Uteruswand zu drücken, damit das Sperma nicht zwischen Inseminette und Schutzhülle gepresst wird.

Bevor man in der Praxis mit dem Besamen beginnt, sollte man sich eine Gelegenheit suchen, in der man ohne Zeit- und Erfolgsdruck die Technik üben kann. Besonders zu Anfang kann es leicht vorkommen, dass man trotz mehrerer Versuche nicht in der Lage ist, die Inseminette korrekt zu platzieren. Wenn man dann unter dem Druck steht, die Kuh unbedingt besamen zu müssen, wird das zur Unzufriedenheit aller Beteiligten führen. Begleiten Sie einen erfahrenen Tierarzt oder Besamungstechniker, oder bitten Sie einen Landwirt, Sie an seinen Kühen üben zu lassen. Gehen Sie konzentriert und schrittweise vor, dann werden Sie die Besamungstechnik in kurzer Zeit beherrschen.

*Expertenkommentar*

Gewöhnlich wird das Sperma im Uteruskörper deponiert. Eine Besamung über das Corpus uteri hinaus in das Uterushorn ipsilateral zum Brunstfollikel bringt mit den üblichen Besamungsgeräten keine Vorteile. Die Insemination in die Gebärmutterhornspitze, die in einigen Studien untersucht wurde, brachte keinen Vorteil, verlangt aber deutlich mehr Übung vom Besamenden und wird deshalb derzeit nicht praktiziert.

Manchmal kann nicht definitiv ausgeschlossen werden, dass die Kuh von einer vorherigen Besamung schon trächtig ist (Besamung vor 21 Tagen, unklare Brunstsymptome). Wenn der Landwirt trotzdem eine Besamung haben will, sollte man mit der Besamungspistole nicht den inneren Muttermund penetrieren, um evtl. vorhandene Eihäute nicht zu schädigen und die Trächtigkeit damit abubrechen.

**3.1.18 Karte 13: Letzte Aufgabe**

Die Kuh Elsa ist besamt, und Sie wollen ihre Praxistour fortsetzen.

*Aufgabe*

Was müssen Sie noch erledigen, damit die Besamung abgeschlossen werden kann?

*Unbewertete Freitextantwort:*

Sie müssen den Besamungsschein ausfüllen.

*Antwortkommentar*

Damit man später nachvollziehen kann, wann und mit welchem Bullen eine Kuh besamt worden ist, erhält der Landwirt einen Besamungsschein. Dieser muss mindestens Angaben zum Betrieb des Tierhalters, zur abgebenden Besamungsstation und zur Kennzeichnung des Samens enthalten. Handelt es sich bei der Kuh um ein Zuchttier, so müssen zusätzlich Angaben zum Verwendungsdatum und zur Kennzeichnung (Ohrmarkennummer) der Kuh angeführt werden. (Tierzuchtgesetz v. 21.12.2006, §14)

### 3.1.19 Erläuterungen zu den Karten 12 und 13

In der Karte 12 geht es um die eigentliche Besamung. Es wird versucht, dem Lernenden möglichst genau zu schildern, wie er vorgehen muss, um eine Künstliche Besamung erfolgreich durchzuführen. Aufbauend auf einer gewissen Erfahrung in der rektalen Manipulation der Geschlechtsorgane wird jeder Handgriff detailliert beschrieben. Dadurch soll die später benötigte praktische Übungszeit möglichst kurz gehalten werden.

Nach dem deutschen Tierzuchtgesetz ist ein Besamer verpflichtet, für jede Besamung einen Besamungsschein auszustellen. Welche Angaben dieser enthalten muss, wird in der letzten Karte ausgeführt.

## 3.2 Fall 2: Fruchtbarkeitsprogramme

In einer zweiten Sitzung wird die Brunstbeobachtung nochmals als Voraussetzung für ein erfolgreiches Fruchtbarkeitsmanagement thematisiert. Hauptthema sind aber technische Hilfsmittel zur Verbesserung einer mangelhaften Brunsterkennung sowie die programmierte Anwendung von Hormonen zur Steuerung und Synchronisation von Zyklus oder Ovulation. Damit soll die Brunstbeobachtung unterstützt oder sogar entlastet werden. Diese zweite Fallsitzung enthält 9 Karten und ist ebenfalls in 30 Minuten zu bearbeiten.

### 3.2.1 Karte 1: Brunstbeobachtung

Sie betreuen den Milchviehbetrieb (90 Tiere, Laufstall) des Bauern Anton Widegger. Da die Eltern des Landwirts aus Altersgründen nicht mehr so viel bei der Stallarbeit mithelfen können, suchen der Landwirt und seine Frau nach Möglichkeiten, die Brunstbeobachtung zu vereinfachen.

#### *Aufgabe*

Was ist die sicherste Methode der Brunstbeobachtung?

#### *Multiple Choice-Antwort:*

- die Kühe im Melkstand auf äußere Brunstanzeichen kontrollieren
- Dreimal täglich die Tiere für 20 min beobachten

- Pedometer einsetzen
- Einen Brunstkalender führen

### *Antwortkommentar*

Die Hoch- oder Hauptbrunst, die für die Bestimmung des optimalen Besamungszeitpunktes von besonderem Interesse ist, dauert im Schnitt zwischen 6 und 15 Stunden. Meist kann man die brunsttypischen Verhaltensweisen der erhöhten Aktivität, Durchbiegen der Lendenwirbelsäule, Flehmen, Aufreiten auf andere Kühe oder Duldung des Aufsprungs durch andere Tiere zu Zeiten beobachten, in denen keine Ablenkung der brünstigen Kuh durch Stallarbeiten wie Melken oder Fütterung besteht. Wenn die Mehrzahl der Kühe wiederkauend in den Liegeboxen liegt, fallen brünstige Kühe leichter ins Auge.

Wegen der mitunter recht kurzen Brunstdauer und der Häufung des Brunstverhaltens in den frühen Morgen- und späten Abendstunden (keinerlei Ablenkung im Stall) sollte man täglich zwei- bis dreimal jeweils 20 bis 30 Minuten nur für die Brunstbeobachtung aufwenden.

Eine elektronische Erfassung der Schrittaktivität kann nur kombiniert mit der Messung der Milchmenge und anderen Hilfsmitteln die Brunstbeobachtung ersetzen.

### *Expertenkommentar*

Van Eerdenburg et al. beschrieben 1996 ein System der Brunsterkennung, das nicht nur registriert, ob Brunstsymptome auftreten, sondern diese auch nach ihrer Bedeutung und Häufigkeit bewertet. Folgende Verhaltensweisen haben darin Eingang gefunden:

Abgang von Brunstschleim	3
Flehmen	3
Ruhelosigkeit	4
Besprungenwerden ohne Duldung	10
Beriechen der Vagina anderer Kühe	10
Kinnauflegen	15
Aufreiten (oder Versuch)	35
Aufreiten von vorn	45

Die erreichten Punkte werden für jede Kuh gesondert notiert. Führt man die Brunstbeobachtung zwei- oder dreimal täglich durch, so gilt jede Kuh, die innerhalb von 24 Stunden den Schwellenwert von 50 Punkten überschreitet, als brünstig.

Empfohlen wird, mindestens zweimal täglich 20, besser 30 Minuten dafür aufzuwenden. Die Verkürzung der Beobachtungszeit auf 20 Minuten führt zu einer um 22 % reduzierten Brunsterkennungsrate.

Es gibt eine Reihe weiterer Methoden, die Brunsterkennung zu optimieren. Dazu erfahren Sie später mehr.

### **3.2.2 Erläuterungen zu Karte 1**

Eine effektive Brunstbeobachtung ist eine wesentliche Voraussetzung für eine zufriedenstellende Fruchtbarkeit. Daher wird, wie schon im ersten Fall, noch einmal auf die Erfordernisse der Brunstbeobachtung eingegangen. Der Student soll lernen, wie viel Zeit aufgewendet werden sollte und unter welchen Umständen (Fütterung, Ausmisten) eine Brunstbeobachtung weniger sinnvoll ist. Es werden außerdem die Merkmale, die mit der Brunst in Verbindung stehen, geschildert und ihre Aussagekraft beurteilt (siehe auch Kap. 3.1.2).

### **3.2.3 Karte 2: Fruchtbarkeitskennzahlen**

Herr Widegger hat den Eindruck, dass in den letzten Monaten die Herdenfruchtbarkeit gesunken ist. Sie führen eine Analyse der Betriebsdaten durch und kommen zu dem Ergebnis, dass die Brunstbeobachtung nicht erfolgreich durchgeführt wird.

#### *Aufgabe*

Welche Fruchtbarkeitskennzahlen geben Auskunft über die Effektivität der Brunstbeobachtung?

*Multiple Choice-Antwort:*

- Brunstnutzungsrate
- Brunsterkennungsrate
- Besamungsindex
- Trächtigkeitsindex

*Antwortkommentar*

Eine mangelhafte Brunstbeobachtung hat zwar Auswirkungen auf die meisten Fruchtbarkeitsparameter, aber am deutlichsten und direkt zeigt sie sich bei der Brunsterkennungsrate (Prozentsatz nichtbesamter Tiere nach Ablauf der Freiwilligen Wartezeit, die innerhalb von 21 Tagen in Brunst gesehen wurden) und bei der Brunstnutzungsrate (Prozentsatz der Tiere nach Ablauf der FWZ, die innerhalb von 21 Tagen besamt wurden). Bei der Interpretation dieser Kennzahlen muss man beachten, dass neben mangelhafter Brunstbeobachtung als wesentliche Ursache für eine reduzierte Brunsterkennungsrate auch Haltungsmängel (Überbelegung, Anbindehaltung etc) oder gehäuftes Auftreten von Stillbrünstigkeit infrage kommen.

Als Besamungsindex wird die Anzahl der Besamungen geteilt durch Anzahl der trächtig gewordenen Tiere verstanden. Er gibt Auskunft über den Erfolg der einzelnen Besamungen. Hier sollte man allerdings den Trächtigkeitsindex bevorzugen (Anzahl der Besamungen bei trächtig gewordenen Tieren geteilt durch Anzahl der trächtig gewordenen Tiere). Er berücksichtigt jene Tiere nicht, die trotz Besamung nicht aufgenommen haben.

*Expertenkommentar*

Es gibt eine ganze Reihe von Fruchtbarkeitskennzahlen, die teils sehr unterschiedliche Aussagekraft haben. Um einen Überblick über die Fruchtbarkeit einer Herde zu bekommen, kann man sich beispielsweise folgender Parameter bedienen:

Erstbesamungserfolg = Anzahl tragender Tiere nach Erstbesamung geteilt durch Anzahl der Erstbesamungen; Ziel: >50%

Trächtigkeitsindex = Anzahl der Besamungen bei trächtigen Tieren geteilt durch Anzahl der trächtigen Tiere; Ziel: <1,7

Nichtträchtigkeitsindex = Anzahl der Besamungen bei nichtträchtigen Tieren geteilt durch Anzahl der nichtträchtigen Tiere; Ziel: <2

Güstzeit = Zwischentragezeit oder Zeit zwischen Geburt und Konzeption; Ziel: <105d

Abgänge wegen Unfruchtbarkeit (%) = Abgänge wg. Unfruchtbarkeit geteilt durch Anzahl Abkalbungen; Ziel: <7%

Dieser letzte Wert ist in seiner Aussagekraft sehr von der Sorgfalt des Landwirts bei der Angabe der Abgangsursache abhängig.

Zur weiteren Abklärung eines Problems der Herdenfruchtbarkeit stehen andere Kennzahlen zur Verfügung: mittlere Rastzeit, mittlere Verzögerungszeit, Brunsterkennungsrate, Brunstnutzungsrate, Inzidenz verschiedener Genitalerkrankungen etc.

Literaturhinweise:

Tierärztliche Bestandsbetreuung beim Milchrind (Hoedemaker, Mansfeld, de Kruif)

### **3.2.4 Erläuterungen zu Karte 2**

Zur Beurteilung der aktuellen Herdenfruchtbarkeit in einem Betrieb stehen viele Kennzahlen zur Verfügung. Karte 2 gibt einen kurzen Überblick über die wichtigsten Parameter. Diese Karte soll den Leser über die Möglichkeiten zur Nutzung der Fruchtbarkeitsdaten informieren. Der Tierarzt sollte in der Lage sein, das Problem „schlechte Herdenfruchtbarkeit“ durch Analyse der Kennzahlen einzugrenzen und dadurch die genaue Ursache und die entsprechende Lösung zu finden. Die Vielzahl der nutzbaren Kennzahlen zu beschreiben und genaue Anleitung zu ihrer Verwendung zu geben ist jedoch im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich. Es wird daher auf weiterführende Literatur zum Selbststudium verwiesen.

### **3.2.5 Karte 3: Hilfsmittel zur Brunsterkennung**

Sie stellen dem Landwirt verschiedene Möglichkeiten vor, um die Brunsterkennung zu verbessern.

### *Aufgabe*

Welche der folgenden Methoden stellen brauchbare Hilfsmittel zur Brunsterkennung dar?

#### *Multiple Choice-Antwort:*

- Aufsprungdetektoren
- Messung des elektrischen Widerstandes im Vaginalschleim
- Milchmengenmessungen
- Progesteronbestimmung in der Milch
- Brunstkalender
- Videoüberwachung
- Einsatz spezieller Suchhunde
- Schrittzähler
- Messung der Körpertemperatur

#### *Antwortkommentar*

Bei der Brunstbeobachtung kann man verschiedene Techniken einsetzen, die Hinweise auf eine stattfindende Brunst geben können. Aufsprungdetektoren werden auf dem Kreuzbein der Kuh angebracht und zeigen anhaltenden Druck, wie er bei der Duldung des Aufsprungs zustande kommt, durch eine Farbveränderung an. Andere Modelle registrieren den Aufsprung elektronisch und erlauben eine differenziertere Auswertung.

Neuere Systeme registrieren aufreitende Kühe mit Videokameras, wobei eine entsprechende Software kurze Sequenzen speichert, sodass man innerhalb von wenigen Minuten alle Aufsprünge der letzten Stunden aus- und bewerten kann.

Pedometer messen die Schrittfrequenz des Tieres, die in der Brunst erhöht ist. Diese Geräte werden im Melkstand ausgelesen oder funken die Daten permanent an einen zentralen Empfänger. Von Nachteil sind die hohen Anschaffungskosten, da jede Kuh zwischen dem Ablauf der freiwilligen Wartezeit und der Bestätigung der Trächtigkeit einen Sensor tragen muss.



Als Suchtiere können befruchtungs- oder deckunfähige Bullen oder hormonbehandelte Kühe mit einem männlichen Verhalten dienen. Diese reiten auf brünstige Kühe auf und können mit speziellen Halftern Farbmarkierungen auf dem Rücken der besprungenen Tier hinterlassen. Dadurch sind diese auch nach dem Sprung noch sicher zu identifizieren.

Trainierte Hunde sind zwar ebenfalls in der Lage, Brunstpheromone zu ermitteln. Die Ausbildung der Hunde und die tägliche Überprüfung der Kühe wäre allerdings zu aufwendig, um diese Methode in der Praxis einzusetzen.

Milchmengenmessungen sind nicht bei allen Kühen aussagekräftig. Wenn die Messung in einem automatischen Melksystem (AMS) vollständig automatisiert abläuft und durch eine geeignete Software ausgewertet wird, könnte sie aber für den kritischen Anwender als Entscheidungshilfe dienen.

Die Messung des elektrischen Widerstandes des Vaginalsehims soll ebenfalls Hinweise auf den Zyklusstand geben können, wird aber in der Praxis kaum angewandt, weil die Messung sehr fehleranfällig ist.

Die Korrelation der Körpertemperatur mit dem Östrus ist zu gering und es gibt zu viele andere Einflussfaktoren, als dass anhand der Temperatur eine Brunsterkennung möglich wäre.

#### *Expertenkommentar*

Beim Einsatz von Aufsprungdetektoren kann man grundsätzlich davon ausgehen, dass ein System umso bessere Ergebnisse liefert, je differenzierter die Auswertung des Aufreitens erfolgt. Umgekehrt sind diese Systeme natürlich auch kostspieliger als beispielsweise ein Detektor zum Aufkleben, der nur die Überschreitung eines gewissen Druckes auf den Schwanzansatz anzeigt. Solche Hilfsmittel sind auch immer nur so gut wie der Anwender, denn die Auswertung muss angesichts der kurzen Brunstdauer in kurzen Abständen erfolgen und stets die Eigenheiten und Fehlerquellen der jeweiligen Methode berücksichtigen. Es ist ein Fehler, sich auf eine Technik zu verlassen, ohne sie kritisch zu hinterfragen.

Diese Dinge sollte man sich vor Augen halten, wenn man die Anschaffung eines teuren Systems erwägt. Die Anschaffungskosten können je nach Herdengröße leicht bei 5.000 bis 10.000 € liegen, deshalb sollten die Erwartungen den späteren Erfolg nicht übertreffen.

Aktuelle Systeme, die in automatische Melksysteme (Melkroboter) integriert werden können, messen vollautomatisch und in Abhängigkeit von vorherigen Messergebnissen und Reproduktionsdaten verschiedene Parameter wie Milchprogesteron und -temperatur und errechnen daraus den Beginn der Brunst.

### 3.2.6 Erläuterungen zu Karte 3

Die Literatur beschreibt viele Methoden, um die Brunsterkennung durch technische Hilfsmittel zu verbessern. Die Aussagekraft der verschiedenen Strategien variiert jedoch sehr stark. Sie unterscheiden sich außerdem in dem benötigten Arbeitsaufwand, der erforderlichen Technik und im finanziellen Aufwand für Anschaffung und Unterhaltung. Dem Studenten werden die brauchbaren und die weniger effektiven Brunsterkennungshilfsmittel mit ihren Vor- und Nachteilen vorgestellt. Der Expertenkommentar enthält einige Überlegungen, die bei der Auswahl des geeigneten Systems helfen sollen.

### 3.2.7 Karte 4: Hormone

Bauer Widegger kann aus finanziellen Gründen zurzeit nicht in neue Techniken investieren. Sie schlagen ihm daher vor, den Besamungszeitpunkt hormonell zu steuern und so den erforderlichen Zeitaufwand für die Brunstbeobachtung zu reduzieren.

#### *Aufgabe*

Welche Hormone können zur Zyklus- oder Ovulationssynchronisation eingesetzt werden?

*Multiple Choice-Antwort:*

- Oxytocin
- GnRH
- FSH
- Progesteron
- Östrogen
- Prolactin
- Prostaglandin  $F_{2\alpha}$

- LH
- eCG
- hCG

#### *Antwortkommentar*

Mit Ausnahme von Prolactin haben alle diese Hormone eine Wirkung, die den normalen Zyklusablauf beeinflussen kann. Zur Steuerung des Brunst- und Ovulationszeitpunktes eignen sich aber nur Progesteron,  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , GnRH und hCG. Östrogen ist in Europa nicht zur Anwendung beim lebensmittelliefernden Tier zugelassen.

Beim Embryotransfer wird auch FSH (ersatzweise eCG) eingesetzt, das die Anbildung mehrerer ovulatorischer Follikel bewirkt (Superovulation). Im Rahmen von Programmen zur Steuerung von Brunst und Besamungszeitpunkt (timed insemination) werden Hormone mit follikelstimulierender Wirkung nicht eingesetzt.

#### *Expertenkommentar*

GnRH oder Gonadorelin wird im Hypothalamus gebildet. Die Ausschüttung erfolgt wellenförmig. In der Hypophyse steuert GnRH die Ausschüttung der gonadotropen Hormone FSH und LH. GnRH selbst sowie FSH und LH reduzieren über ein negatives Feedback die GnRH-Sekretion.

FSH bewirkt am Ovar das Wachstum der Follikel.

LH regt die Ovulation oder, im Diöstrus bei hohem Progesteronspiegel, die Atresie des dominanten Follikels an.

Beide gemeinsam sind notwendige Mediatoren bei der Östrogensynthese im Follikel.

Östrogen wird unter FSH- und LH-Einfluss im dominanten Follikel gebildet. Es wird vermehrt im Proöstrus und Östrus sezerniert und ist verantwortlich für die Ödemisierung und Hyperämie des Genitales sowie für das typische Brunstverhalten. In der frühen Follikelphase hat Östrogen ein negatives Feedback auf die LH-Sekretion, beide Hormone bleiben daher auf einem niedrigen Niveau. Bei den hohen Östrogenkonzentrationen in der späten Follikelphase ist GnRH in der Lage, seine Zielzellen zu sensibilisieren. Dadurch wird bei jedem

GnRH-Puls mehr und mehr LH freigesetzt, das letztendlich zur Ovulation führt. FSH steigt dabei nicht an, weil der Follikel Inhibin ausschüttet, das die Sekretion von FSH hemmt.

Progesteron wird vom Corpus luteum sezerniert, und zwar etwa vom 3./4. bis zum 17./18. Zyklustag. In der frühen Gelbkörperphase ist die Progesteronsynthese autonom, später hängt sie vom basalen LH-Spiegel ab (LH = luteotropes Hormon) Progesteron reduziert die Frequenz und Amplitude der GnRH-Sekretion, sodass zwar ein Follikelwachstum möglich ist, die Ovulation aber verhindert wird.

Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  wird bei ausbleibender oder steriler Paarung in den Endometriumzellen gebildet. Es stimuliert die Luteolyse, also die Rückbildung des Gelbkörpers, der Progesteronspiegel fällt und es kann zur Ovulation kommen.

Oxytocin wird ebenfalls im Hypothalamus synthetisiert und durch nervale Stimuli beim Saugakt oder beim Melken freigesetzt. Es bewirkt das "Einschießen" der Milch in die Drüsen- und Zitzenzisterne des Euters. Daneben besitzt es eine geringe kontrahierende Wirkung am Myometrium und ist am Auslösen der Luteolyse beteiligt.

Prolactin ist ein hypophysäres Hormon, welches die Mammo- und Laktogenese fördert. Beim Rind hat es keine Wirkung auf den Zyklus.

eCG (equines Choriongonadotropin) besitzt FSH-Wirkung und eine geringe LH-Wirkung. Es wird beim Embryotransfer zur Superovulation der Spendertiere eingesetzt.

hCG (humanes Choriongonadotropin) wird aus dem Harn schwangerer Frauen gewonnen und entfaltet hauptsächlich LH-Aktivität.

### **3.2.8 Erläuterungen zu Karte 4**

Von der Vielzahl der bekannten und als Arzneimittel erhältlichen Hormone eignen sich nur wenige zur Steuerung von Zyklus und Ovulation. Der Tierarzt muss nicht nur wissen, welche Hormone dazu nutzbar sind, sondern auch deren Wirkung und die Indikationen beherrschen. Obwohl die Endokrinologie bereits im vorklinischen Teil des Tiermedizinstudiums gelehrt wird und daher von den Nutzern dieses Programmes beherrscht werden sollte, wird noch einmal genau auf die Eigenschaften der erwähnten Hormone eingegangen, weil dies zum weiteren Verständnis essentiell ist.

### 3.2.9 Karte 5: Prostaglandinprogramm

Damit der Landwirt sich ein Bild machen kann, erläutern Sie ihm die Wirkungsweise und Effektivität der verschiedenen Synchronisationsprogramme.

#### *Aufgabe*

Ein recht einfaches Verfahren ist das Prostaglandinprogramm, das aus zwei Prostaglandin  $F_{2\alpha}$ -Injektionen im Abstand von 11 bis 14 Tagen besteht. Was bewirkt dieses Behandlungsschema?

#### *Multiple Choice-Antwort:*

- Brunstsynchronisation
- Ovulationssynchronisation
- positiver Einfluss auf geringgradige Genitalkatarrhen zum Zeitpunkt der Besamung
- stärkere Ausprägung der Brunstsymptome
- Luteolyse spätestens bei der zweiten Injektion

#### *Antwortkommentar*

Die zweimalige Anwendung von  $PGF_{2\alpha}$  im Abstand von 11 bis 14 Tagen bringt den Großteil der zyklischen Kühe innerhalb von drei Tagen nach der zweiten Anwendung in Brunst. Die Tiere, die sich bei der ersten Injektion vor dem 5. oder nach dem 16. Tag des Zyklus befinden, reagieren nicht auf das Prostaglandin, stehen aber zur zweiten Injektion zwischen dem 5. und 16. Tag des Zyklus. Kühe, die auf die erste Injektion mit Luteolyse reagieren, befinden sich bei der zweiten Injektion an Tag 8 bis 12 des Zyklus. Beide Gruppen reagieren somit spätestens bei der zweiten Anwendung von  $PGF_{2\alpha}$  mit einer Luteolyse und kommen in Brunst. Die Steuerung ist aber nicht so genau, dass man auf Brunstbeobachtung verzichten könnte (keine Ovulationssynchronisation).

Erfolgt die zweite Injektion an einem Montag, so erspart man sich in den meisten Fällen (teurere) Besamungen am Samstag oder Sonntag.

In sehr großen Beständen werden einfach nach Ablauf einer festgelegten freiwilligen Wartezeit Tiergruppen in das Programm eingeschleust, die sehr einfach organisiert werden können. Bei einer Bestandsgröße von 90 Tieren ist eine Gruppenbildung kaum möglich.

Da  $\text{PGF}_{2\alpha}$  gleichzeitig unterstützend zur Therapie bei Endometritis verwendet werden kann, führen die Injektionen möglicherweise dazu, dass Tiere mit einem (nicht erkannten) Genitalkatarrh bis zur KB geheilt werden.

Auf die Intensität des Brunstverhaltens hat  $\text{PGF}_{2\alpha}$  keinen Einfluss.

### 3.2.10 Karte 6: GnRH

Da das Prostaglandinprogramm nicht ohne Brunstbeobachtung auskommt, möchte Herr Wiedegger weitere Möglichkeiten kennenlernen. Sie stellen ihm das OvSynch-Verfahren vor, das eine terminierte Besamung ermöglicht.

#### *Aufgabe*

Welche Funktion hat das GnRH, das zu Beginn dieses Programmes eingesetzt wird?

#### *Multiple Choice-Antwort:*

- Es startet eine neue Follikelwelle
- Es kann zur Ovulation des dominanten Follikels führen
- Es unterdrückt die nächste Follikelwelle
- Es sensibilisiert den Gelbkörper für  $\text{PGF}_{2\alpha}$

#### *Antwortkommentar*

GnRH reguliert die Ausschüttung der Gonadotropine FSH und LH. Auch unter Progesteroneinfluss im Diöstrus löst GnRH die Ovulation und anschließende Luteinisierung des dominanten Follikels aus. Damit ist 7 Tage später mit großer Wahrscheinlichkeit Gelbkörpergewebe auf dem Ovar vorhanden: entweder der induzierte "neue" Gelbkörper oder ein bereits vorhandener zyklischer Gelbkörper. Zudem wird eine neue Follikelwelle induziert. Zum Zeitpunkt der PGF-Injektion 7 Tage nach GnRH sollten also alle Tiere eine

Follikelpopulation in vergleichbarem Entwicklungszustand aufweisen. Dies soll die Variabilität des Intervalls zwischen PGF und Ovulation verringern.

Auf den vorhandenen Gelbkörper hat GnRH allerdings keine Wirkung.

### 3.2.11 Erläuterungen zu den Karten 5 und 6

Karte 5 beschäftigt sich mit Einsatzmöglichkeiten von Prostaglandin  $F_{2\alpha}$ . Nach der Bearbeitung sollte der Student wissen, dass  $PGF_{2\alpha}$  nicht unabhängig vom Zyklusstand wirkt, dass aber durch eine mehrmalige Anwendung eine Brunstsynchronisation zu erreichen ist und dass  $PGF_{2\alpha}$  weiterhin als unterstützendes Therapeutikum bei Genitalkatarrhen eingesetzt werden kann.

Analog zu Karte 5 werden in Karte 6 die Einsatzmöglichkeiten und Wirkungen des Hormons GnRH besprochen. Hierbei kommt es vor allem auf die Koordination der Follikelpopulation und die Auslösung des Eisprungs an. Die kombinierte Wirkung von Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  und GnRH wird im OvSynch-Verfahren ausgenutzt, das in der folgenden Karte besprochen wird.

### 3.2.12 Karte 7: OvSynch

OvSynch besteht aus drei Injektionen. Zunächst wird GnRH verabreicht, sieben Tage später bekommen die Tiere  $PGF_{2\alpha}$ , und weitere zwei Tage später nochmals GnRH. Das Prostaglandin führt zur Luteolyse, und GnRH löst die Ovulation des dominanten Follikels aus.

#### *Aufgabe*

Was sind die Vorteile dieses Programmes?

#### *Multiple Choice-Antwort:*

- Es synchronisiert die Ovulation so exakt, dass die Besamung ohne Brunstbeobachtung durchgeführt werden kann
- Die Brunstbeobachtung muss nur noch einmal am Tag durchgeführt werden
- Die Inzidenz von Ovarzysten zum Zeitpunkt der Besamung ist reduziert
- Eine Endometritis wird gleichzeitig therapiert

*Antwortkommentar*

GnRH wird auch zur Behandlung von Tieren mit Azyklie oder mit Ovarzysten eingesetzt. Sofern die Zyste auf die erste GnRH-Injektion reagiert, funktioniert OvSynch daher auch bei Tieren, die an Eierstockszyklen leiden.

Die zweite Injektion von GnRH reduziert die bekannte Variabilität des Ovulationszeitpunkts nach PGF-Behandlung so weit, dass eine Brunstbeobachtung nicht nötig ist.

Eine wiederholte Anwendung von Prostaglandin unterstützt die Abheilung einer Endometritis durch die Östrusinduktion (Anregung der Selbstreinigungskräfte) und eine direkte Wirkung auf den Uterus (Tonisierung). Die einmalige Anwendung von Prostaglandin im OvSynch-Verfahren mit der Besamung im sofort anschließenden Östrus lässt keine derartige Wirkung erwarten.

*Expertenkommentar*

Verschiedene Varianten von OvSynch sind ebenfalls erfolgreich. Beispielsweise kann man die zweite GnRH-Injektion bereits 30 bis 36 Stunden nach PGF vornehmen, ohne Einbußen in der Fruchtbarkeit zu riskieren. Aus Gründen der Arbeitersparnis kann die Besamung gleichzeitig mit der letzten Injektion erfolgen (=CoSynch). Dabei ist die Konzeptionsrate allerdings leicht reduziert.

OvSynch funktioniert nicht unabhängig vom Zyklusstand. Es kann vorkommen, dass ein Tier auf die erste GnRH-Gabe reagiert, der nachfolgende dominante Follikel aber schon vor der zweiten GnRH-Injektion zu atresieren beginnt. Oder ein Tier reagiert nicht auf die erste Injektion und kommt schon während des Programms zur Ovulation. Der Anteil solcher Tiere ist in der ersten Zyklushälfte geringer. Den größten Erfolg erreicht man, wenn die erste Injektion von OvSynch zwischen den 5. und 9. Tag des Zyklus fällt.

**3.2.13 Karte 8: Besamungszeitpunkt**

"Und wann werden die Kühe denn nun besamt?" will der Landwirt wissen.

*Aufgabe*

Wann müssen Sie eine mit OvSynch synchronisierte Kuh besamen?



*Multiple Choice-Antwort:*

- sofort bei der zweiten GnRH-Injektion
- nach Brunstbeobachtung
- 8 Stunden nach der zweiten GnRH-Injektion
- 16 bis 20 Stunden nach der zweiten GnRH-Injektion

*Antwortkommentar*

Die Ovulation erfolgt im OvSynch-Programm etwa 24 bis 32 Stunden nach GnRH. Die Besamung sollte etwa 6 bis 24 Stunden vor der Ovulation erfolgen, damit einerseits die Spermien vor der Ovulation kapazitieren können und die Eizelle nicht auf die Spermien "warten" muss, und andererseits die Spermien nach der Besamung nicht länger als 24 Stunden fruchtbar bleiben. Studien haben ergeben dass man die höchste Konzeptionsrate erreicht, wenn man die Tiere 16 bis 20 Stunden nach der letzten Injektion (GnRH) besamt.

Aus praktischen Gründen sollte man deshalb die zweite GnRH-Injektion am späten Nachmittag verabreichen.

**3.2.14 Erläuterungen zu den Karten 7 und 8**

Thema dieser beiden Karten ist das OvSynch-Programm. Das Zusammenspiel von Luteolyse und Follikelsynchronisation bzw. Ovulationsinduktion wird beschrieben. Außerdem wird verdeutlicht, dass OvSynch ebenfalls nicht unabhängig vom Zyklusstand bei Behandlungsbeginn ist, sondern am besten in der ersten Hälfte des Zyklus funktioniert. Und schließlich wird der optimale Besamungszeitpunkt im Rahmen von OvSynch erläutert, denn neben den korrekten Abständen zwischen den einzelnen Injektionen ist die rechtzeitige Durchführung der Besamung unabdingbar für die Wirksamkeit des Verfahrens.

**3.2.15 Karte 9: PreSynch**

Beim OvSynch-Verfahren gibt es immer einige Tiere, die nicht auf PGF<sub>2α</sub> reagieren, denn zur Luteolyse kommt es nur, wenn PGF zwischen dem 5. und 16. Tag des Zyklus gegeben wird. Tiere, die sich bei Behandlungsbeginn zwischen dem 19. und 9. Tag des Zyklus befinden, ovulieren vorzeitig und befinden sich bei der zweiten GnRH-Injektion im Diöstrus. Eine Konzeption ist dann selbstverständlich ausgeschlossen.

*Aufgabe*

Welche Möglichkeiten fallen Ihnen ein, um den Anteil solcher Tiere möglichst zu verringern?

*Multiple Choice-Antwort:*

- Vorsynchronisation mit einem Prostaglandinprogramm
- Unterdrückung der Ovulation während OvSynch durch eine Progesteronspirale
- Vorsynchronisation durch 7tägige Behandlung mit Progesteron

*Antwortkommentar*

PreSynch wird ein Protokoll genannt, das zunächst mit zwei PGF-Injektionen im Abstand von 14 Tagen eine Vorsynchronisation herbeiführt. 12 bis 14 Tage später startet dann die eigentliche Synchronisation im Sinne von OvSynch. Durch diese Vorgehensweise wird erreicht, dass sich alle Tiere zu Beginn von OvSynch in der ersten Hälfte des Diöstrus befinden und optimal auf GnRH reagieren können.

Alternativ dazu und mit geringerem Zeitaufwand verbunden ist die Kombination von OvSynch mit einem Progesteronimplantat, welches gleichzeitig mit der ersten Injektion eingesetzt wird und bei der PGF-Injektion wieder entfernt wird. Das verhindert zwar nicht die vorzeitige Luteolyse, aber die Ovulation kann dennoch zum gewünschten Zeitpunkt stattfinden.

**3.2.16 Erläuterungen zu Karte 9**

Wegen der zyklusabhängigen Wirksamkeit von OvSynch wurden verschiedene Protokolle zur Vorsynchronisation entwickelt. Dabei soll meist die Platzierung der ersten OvSynch-Behandlung in der ersten Hälfte des Diöstrus erreicht werden. Der Nutzer soll nicht nur einige dieser Vorsynchronisationsverfahren kennenlernen, sondern auch dazu angeregt werden, sich Gedanken zu machen, wie Zyklusstand und OvSynchbeginn aufeinander abgestimmt werden können.

## 4 Diskussion

Um auf dem Gebiet der Künstlichen Besamung erfolgreich tätig zu sein, bedarf es umfassender Kenntnisse der Reproduktionsphysiologie. Die Anatomie des weiblichen Geschlechtsapparates ist im Hinblick auf die KB hinreichend bekannt und in zahlreichen Veröffentlichungen beschrieben worden. Auch die Physiologie, speziell die Endokrinologie der Fortpflanzung des Rindes, war und ist Gegenstand vieler Forschungsarbeiten. Nachdem die Bedeutung und Wirkung der wesentlichen an der Steuerung des Sexualzyklus beteiligten Hormone geklärt wurden, liegt der Schwerpunkt des Interesses nunmehr auf der Erforschung der Mechanismen, die zu den spezifischen Funktionen dieser Hormone führen. Dabei ist an die Selektion des dominanten Follikels zu denken oder an die Mediation der vielfältigen Wechselwirkungen bei der Luteolyse.

Für die praktische Anwendung der KB ist die Methodik bei der Erkennung des optimalen Besamungszeitpunktes, d. h. der Erkennung der Brunst, von großer Bedeutung. Traditionell baut die Brunsterkennung auf der regelmäßigen Beobachtung der Tiere auf. Dabei wird auf das Auftreten von bestimmten Verhaltensmerkmalen geachtet, die die Brunst ankündigen oder sogar spezifisch für die Brunst sind. Durch steigende Herdengrößen sinkt jedoch die Arbeitszeit, die für die Brunstbeobachtung aufgewendet werden kann. Zudem hat sich in den letzten Jahrzehnten die durchschnittliche Dauer des Östrus verkürzt (Hurnik et al., 1975; Lopez et al., 2004). Aus diesen Gründen wird es für die Landwirte immer schwieriger, die brünstigen Tiere zuverlässig zu erkennen. Bei der visuellen Brunstdetektion ist es daher erforderlich, dass neben dem Hauptmerkmal des Östrus, der Duldungsstarre, weitere brunstassoziierte Verhaltensmerkmale erkannt und korrekt eingestuft werden. Inzwischen stehen etliche Techniken zur Verfügung, die die Brunstbeobachtung unterstützen oder teilweise ersetzen können. Breite Anwendung finden Aufsprungdetektoren, die ein erfolgtes Aufreiten durch Farbveränderung anzeigen (KAMAR® Heat Mount Detector, Hotflash® oder Bovine Beacon®) oder elektronisch aufbereitet (Tattle Tale®, MountCount®, Heatwatch®) anzeigen. Bei letzteren ist mit einem weniger günstigeren Kosten-Nutzen-Verhältnis zu rechnen. Die Verwendung von Pedometern, also Schrittzählern, die auf ganz verschiedene Weise die erfasste Schrittzahl auswerten, kann sehr gute Hinweise auf eine Brunst geben. Die Erfassung muss allerdings in kurzen Zeitabständen und daher automatisiert erfolgen, damit kein zusätzlicher Arbeitsaufwand entsteht. Vielversprechend ist ein System, das seit einiger Zeit auf dem Markt ist und das vollautomatisch die Parameter Progesteron,

Laktatdehydrogenase,  $\beta$ -Hydroxy-Buttersäure und Harnstoff in der Milch bestimmt. Unter Berücksichtigung der Messwerte in der Vergangenheit berechnet das System unter anderem Wahrscheinlichkeit und Typ ovarieller Zysten, Brunstbeginn und Konzeptionschance bei erfolgreicher KB. In Bezug auf die Bestimmung des optimalen Besamungszeitpunktes ist dieses System wegen der dynamischen Interpretation der Messwerte unabhängig von der individuellen Schwankung des basalen Progesteronspiegels der Milch und erkennt z.B. auch eine Brunst, bei der der Progesterongehalt nicht unter einen für die ganze Herde definierten Grenzwert fällt. Andere Methoden der Brunsterkennung wie die Messung der Körpertemperatur oder des elektrischen Widerstandes im Vaginialschleim sind zwar intensiv erforscht worden, haben es aber nie zur Praxisreife gebracht, weil die Schwankungsbreite zu groß ist oder die Messungen nicht ausreichend genau reproduzierbar waren.

Traditionell wird als optimaler Besamungszeitpunkt die zweite Hälfte der Brunst angesehen, d. h. die Besamung sollte etwa 12 Stunden nach Brunstbeginn erfolgen (Trimberger, 1948). Neuere Empfehlungen tendieren allerdings zu einem kürzeren Intervall zwischen Brunstbeginn und Besamung (Dransfield et al., 1998). Gleichzeitig ist zu beobachten, dass immer weniger brünstige Tiere das Merkmal der Duldung zeigen. Außerdem ist die durchschnittliche Brunstdauer in den letzten Jahrzehnten rückläufig. Dies mag mit steigender Milchleistung zusammenhängen, wodurch die Leistungsfähigkeit des Stoffwechsels der Milchkuh zunehmend von der Milchproduktion ausgeschöpft wird. Daher liegt die Herausforderung der modernen Milchwirtschaft in der Optimierung der Rationsgestaltung, aber auch der Fütterungstechnik, um das genetische Potential unserer Tiere möglichst gut auszunutzen und dabei gesundheitliche Schäden derselben zu vermeiden.

Von besonderer Bedeutung zur Verbesserung der Herdenfruchtbarkeit sind Programme zur Zyklus- und Ovulationssynchronisation auf der Basis von Hormonanwendungen. Drei Wirkmechanismen stehen dabei im Vordergrund: die Zyklusverkürzung durch  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , die Zyklusverlängerung bzw. Verhinderung der Ovulation durch Gestagene und die Steuerung der Follikelentwicklung und Ovulationsauslösung durch GnRH. Ein Nachteil der Gestagene ist mit ihrer Applikationsart verbunden. Die Anwendung als Vaginalspirale oder -spange ist oft mit einer serös-eitrigen Vaginitis verbunden, wohingegen die orale Applikation täglich erfolgen muss und daher mit erhöhtem Arbeitsaufwand einhergeht. Das OvSynch-Verfahren dagegen ist eine reine Injektionsbehandlung. Der Nachteil von OvSynch, nämlich die

zyklusabhängige Wirksamkeit, lässt sich bei systematischer Anwendung durch eine Vorsynchronisation mit zwei PGF<sub>2α</sub>-Injektionen (PreSynch) ausgleichen. Weiterhin lässt sich das Programm durch eine ReSynch genannte weitere GnRH-Verabreichung drei bis 4 Wochen nach der Besamung erweitern. Sollte das Tier bei der Trächtigkeitsuntersuchung, die sieben Tage später durchgeführt wird, nicht tragen, so wird mit einer PGF-Injektion die begonnene Resynchronisation als OvSynch-Programm weitergeführt, wodurch 3 Tage später schon die nächste Besamung erfolgen kann. Dadurch können sämtliche Besamungen von vornherein geplant werden, wodurch die Gützeiten möglichst kurz gehalten werden. Bei entsprechender Organisation (alle Injektionen finden am gleichen Wochentag statt) ist diese Art des Fruchtbarkeitsmanagements mit geringem Zeitaufwand verbunden. Umso höher ist dagegen der finanzielle Aufwand, sodass unter Berücksichtigung der Ausgangssituation genau geprüft werden muss, ob sich die Investition in entsprechend große Mengen an Medikamenten lohnt oder ob das gleiche Ergebnis nicht mit der Optimierung der Brunsterkennung und der Fütterung nicht auch erreicht werden kann. Insbesondere die Verbesserung der Fütterung hat weitere positive Effekte, die sich nicht nur auf die Fruchtbarkeit, sondern z. B. auch auf die Eutergesundheit und die Stoffwechsellistung auswirken. In Zeiten, in denen an die Sicherheit von Lebensmitteln tierischer Herkunft stets wachsende Ansprüche gestellt werden, ist der routinemäßige Einsatz von Hormonen fragwürdig. Hier liegt vielmehr die Herausforderung beim bestandsbetreuenden Tierarzt, die Leistungsfähigkeit der Rinderherde auf andere Weise zu sichern.

Auf der Seite der Samenkonservierung sind seit einer Reihe von Jahren keine entscheidend neuen Techniken eingeführt worden. Das Konservieren von Sperma durch Tiefgefrieren ist ein etabliertes Verfahren. Obwohl die Fertilität tiefgefrorenen Samens etwas geringer ist als die von Frischsperma, überwiegen doch die Vorteile des TG-Spermas. Zeitliche und geografische Entfernungen zwischen Samengewinnung und Besamung spielen keine Rolle mehr. Üblicherweise geschieht das Tiefgefrieren durch relativ langsame Temperaturabsenkung. Dadurch soll die Bildung von intrazellulären Eiskristallen vermieden werden. Aus der Humanmedizin gibt es inzwischen Berichte über die erfolgreiche Vitrifikation von Spermien (Isachenko et al., 2004; Isachenko et al., 2005). Diese Methode hat allerdings bisher keine Verwendung bei der Kryokonservierung von Rindersperma gefunden.

Die derzeit üblichen Spermaportionen enthalten je nach Fertilität des Bullen zwischen 10 und 20 Mio. Spermien. Eine Steigerung der Dosis bringt kaum eine Verbesserung der Konzeptionsraten. Versuche, die Samendosis zu reduzieren, um mehr Nachkommen pro Vatertier zu erzeugen, waren zwar durchaus von Erfolg gekrönt, aber die Eignung verschiedener Stiere für die Reduktion auf wenige 100.000 Spermien pro Dosis variierte stark. Auch Bemühungen, die Samendosis näher am Ort der Befruchtung zu deponieren, brachten keine entscheidenden Verbesserungen. In Bezug auf die Samenkonservierung und Besamungstechnik sind daher in nächster Zeit keine größeren Fortschritte zu erwarten.

Eine Technologie, die sich in den letzten Jahren zunehmend etabliert hat, ist das sogenannte „Sperm Sexing“, bei dem Spermien entsprechend ihrer Heterosomen sortiert werden. Dabei werden Samenportionen gewonnen, die zu 90 % und mehr Kälber des gewünschten Geschlechts hervorbringen. Bei entsprechend sorgfältigem Einsatz (Auswahl geeigneter Muttertiere, Verzicht auf Besamung undeutlich rindernder Tiere etc.) ist eine Verbesserung des Zuchtfortschrittes durch ein geringeres Generationsintervall und mehr weibliche Nachzucht sowie ein wirtschaftlicher Gewinn sicherlich zu erwarten. Nachteilig ist der erhöhte Bedarf an Spermien durch Ausschuss und Schädigung der Spermien beim Sortiervorgang. Des Weiteren ist nicht das Sperma jedes Bullen für das Sexing geeignet. Von vielen Bullen der Rasse Holstein ist inzwischen gesextes Sperma im Handel.

Der Tierarzt kann bei korrekter Durchführung der KB zu einer guten Herdenfruchtbarkeit wesentlich beitragen. Deshalb wurden in dieser Arbeit zwei Fälle über die Praxis der KB beim Rind mit dem CASUS-Programm entwickelt, die einen zusätzlichen Anreiz für Studierende zur Beschäftigung mit dieser Thematik darstellen sollen. Entscheidend dabei ist, dass die KB nicht als Routinevorgang angesehen wird, sondern in jedem Einzelfall alle Informationen über das Tier ausgewertet werden (Vorbericht), Kontraindikationen sorgfältig ausgeschlossen werden und der Besamungszeitpunkt so genau wie möglich durch Anwendung klinischer Methoden ermittelt wird. Schließlich tragen auch das korrekte Handling der Samenproben und letztendlich die Technik der Sameneinführung zum Konzeptionserfolg bei. Alle diese Punkte werden im Fall 1 behandelt. Die 13 Karten sind so aufgebaut, dass sie schrittweise eine typische Besamung beschreiben, wie sie in der Praxis ablaufen kann. Dadurch werden die Lehrinhalte in der Reihenfolge vermittelt, in der sie später angewendet werden müssen. Gleichzeitig dient dies der besseren Orientierung des Nutzers. Die Fragen, die zu den einzelnen Aspekten gestellt werden, regen den Studenten

an, sich mit dem Problem zu beschäftigen, es wird also nicht nur passiv Wissen konsumiert. Auf diese Weise soll ein größerer Lerneffekt erzielt werden. Jede Karte wird durch die Aufteilung in Aufgabe, Antwortkommentar und Expertenkommentar weiter unterteilt. Dies bietet eine gute Gelegenheit, die Beantwortung der Frage in kurzer, übersichtlicher Form zu gestalten, damit der Nutzer einen Überblick erhält; daneben wird das Thema tiefergehend behandelt, und hier werden weitere Hintergrundinformationen gegeben, die zum besseren Verständnis dienen.

Der routinemäßige Einsatz von Hormonen ist eine Möglichkeit, unzureichende oder mangelhafte Brunstbeobachtung zu ersetzen, wenngleich die Interessen des Verbrauchers damit nicht erfüllt werden. Daher obliegt es dem Tierarzt, zu überprüfen, ob das Ziel einer verbesserten Herdenfruchtbarkeit nicht mit anderen Mitteln zu erreichen ist. In diesem Zusammenhang sind besonders diverse technische Hilfsmittel der Brunsterkennung zu erwähnen (Videoüberwachung, Pedometrie, Aufreitdetektoren). Fällt dennoch die Entscheidung für den Hormoneinsatz, so ist ein fundiertes Wissen über Wirkung und Indikationen der verwendeten Hormone vonnöten, da diese meist „blind“, also ohne Kenntnis des Zyklusstandes, angewendet werden. Der zweite Fall informiert über die Art und Weise, wie die Brunst oder die Ovulation gesteuert werden können. Nicht vergessen wird aber auch eine kurze Darstellung der alternativen Techniken der Brunsterkennung. Um eine fundierte Beratung bieten zu können ist der Umfang dieser Schilderung sicher zu gering, aber da der Fall 2 die Zyklus- und Ovulationssynchronisation näherbringen soll, wurde zugunsten der Überschaubarkeit und der angemessenen Bearbeitungszeit auf die intensivere Erläuterung der Brunsterkennungshilfsmittel verzichtet. Diese könnten in einem separaten Fall verarbeitet werden.

Die Unterrichtung in der KB gliedert sich üblicherweise in zwei Teile. Die theoretischen Grundlagen werden durch Vorlesungen unterrichtet, die praktischen Übungen dazu können aber in vielen Fällen nur punktuell angeboten werden und stehen oft nicht in direktem zeitlichen Zusammenhang mit der Wissensvermittlung. Diese Lernfälle können ein Bindeglied zwischen beiden Gebieten sein. Das theoretische Wissen wird in einen praxisnahen Ablauf einer Besamung integriert. Die Interaktivität des Programms soll den Studenten weg vom Konsumieren des Wissensstoffes und hin zum aktiven Lernen bringen. Die beiden CASUS-Fälle können in Kurse integriert werden oder zur unbeaufsichtigten

Bearbeitung bereitgestellt werden. Nichtsdestoweniger muss das erlernte Wissen durch zeitnahe praktische Übungen vertieft und vervollständigt werden.



## 5 Zusammenfassung

Die Arbeit des praktischen Tierarztes in der KB beim Rind hat durch die Tendenz zur Herdenbetreuung wieder an Attraktivität gewonnen. Die vorliegende Arbeit stellt die aktuelle Literatur zur Künstlichen Besamung des Rindes vor und präsentiert zwei Lernfälle die mit der CASUS-Software erstellt wurden.

Der Schwerpunkt der wissenschaftlichen Arbeiten der letzten Jahre lag auf den Gebieten Brunsterkennung sowie der Zyklus- und Ovulationssynchronisation. Zur Arbeitserleichterung sollen die vielfältigen neuen Methoden der Brunsterkennung dienen. Durch routinemäßigen Einsatz von Hormonen zur Zyklus- und Ovulationssteuerung kann die Brunsterkennung erleichtert und z.T. auch komplett ersetzt werden. Dabei spielen vor allem die Zyklussynchronisation durch mehrmalige Anwendung von  $\text{PGF}_{2\alpha}$  und ein als OvSynch bezeichnetes Verfahren (GnRH -  $\text{PGF}_{2\alpha}$  - GnRH), das zur präzisen Steuerung der Ovulation führt, eine wichtige Rolle. Ergänzend zu OvSynch wurden einige Protokolle zu Vor- und Nachsynchronisation entwickelt.

Der zweite Teil dieser Arbeit erstellt zwei multimediale Lernfälle, mit deren Hilfe der Unterricht auf dem Gebiet der KB unterstützt werden soll. In einzelnen Karten, die sich aus einem kurzen Einleitungstext, einer interaktiven Aufgabe mit Antwortkommentar sowie einem optionalen Expertenkommentar zusammensetzen, werden relevante Kenntnisse schrittweise vermittelt. Durch Beantwortung von Fragen soll der Nutzer zum Mitdenken angeregt werden, damit im Vergleich zur Vorlesung ein größerer Lerneffekt erzielt wird.

Einer der beiden Fälle beschäftigt sich mit der Routine der KB, während der zweite Fall die Zyklus- und Ovulationssynchronisation bearbeitet. Die Bearbeitung jedes Falls ist in etwa 30 Minuten zu bewältigen und sollte die Konzentration des Studenten nicht überfordern. Die Bearbeitung soll das theoretische Wissen der Studenten am Beispiel eines praktischen Falles soweit verbessern, dass die anschließend durchzuführenden praktischen Übungen optimal umgesetzt werden können. Solche Lernfälle können die Vermittlung des grundlegenden Wissens durch Vorlesungen und Selbststudium nicht ersetzen. Die praxisnahe Anwendung des Erlernten sollte aber eine gute zusätzliche Lernmotivation für den Studierenden sein.

## 6 Summary

### **Artificial Insemination in cattle – New developments and two CASUS-based case studies**

The practitioner's work in artificial insemination of cattle has gained attention by the trend towards implementing veterinary herd controlling systems. This work reviews the literature regarding artificial insemination in cattle; in addition, two e-learning cases compiled with the CASUS-software are included. CASUS is a software package for authoring and delivering case-based e-learning applications. In recent years, attention of scientists concentrated on estrus detection and on synchronization of the estrous cycle and ovulation. Various new methods of estrus detection significantly reduce the workload of farmers. The routine use of hormones for synchronization of the estrous cycle and ovulation can ease or even replace estrus detection. This is accomplished by repeated application of prostaglandin  $f_{2\alpha}$  for estrus synchronization and by the so-called ovsynch protocol (GnRH -  $PGF_{2\alpha}$  - GnRH) which is a tool that precisely controls ovulation. Supplemental protocols have been described for the pre- or resynchronization of cows.

In the second section, two e-learning cases intended to support the education in artificial insemination. Several cards, each containing a brief introduction, an interactive task with answer comment and an optional expert comment stepwise convey the relevant knowledge to the user. The tasks should encourage the students to reflect on the subject so that a greater learning effect can be achieved compared to lectures. One of the cases deals with the insemination routine, the other deals with synchronization of estrus and ovulation. Each case is to accomplish in about 30 minutes and should not overcome the students' concentration. These cases aim to improve theoretical knowledge by description of a standard insemination so that optimal use can be made of the practical exercises to be carried out afterwards. Learning cases of this kind cannot substitute for the mediation of basic facts by lectures and self-study. However, the application should be a good learning motivation for the student.

## 7 Literaturverzeichnis

**Aboul-Ela, M. B., Topps, J. H. und Macdonald, D. C., 1983**

Relationships between intravaginal electrical resistance, cervicovaginal mucus characteristics and blood progesterone and LH  
Animal Reproduction Science 5: 259-273

**Adams, G. P., Matteri, R. L., Kastelic, J. P., Ko, J. H. C. und Ginther, O. J., 1992**

Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers  
Journal of Reproduction and Fertility 94: 177-188

**Alliston, C. W., Patterson, T. B. und Ulberg, L. C., 1958**

Crystallization Patterns of Cervical Mucus as Related to Estrus in Beef Cattle  
Journal of Animal Science 17: 322-325

**Allrich, R. D., 1994**

Endocrine and Neural Control of Estrus in Dairy Cows  
Journal of Dairy Science 77: 2738-2744

**Amann, R. P., 1989**

Treatment of sperm to predetermine sex  
Theriogenology 31: 49-60

**Andersson, M., Taponen, J., Kommeri, M. und Dahlbom, M., 2006**

Pregnancy Rates in Lactating Holstein–Friesian Cows after Artificial Insemination with Sexed Sperm  
Reproduction in Domestic Animals 41: 95-97

**Andersson, M., Taponen, J., Koskinen, E. und Dahlbom, M., 2004**

Effect of insemination with doses of 2 or 15 million frozen-thawed spermatozoa and semen deposition site on pregnancy rate in dairy cows  
Theriogenology 61: 1583-1588

**Araujo, R. R., Ginther, O. J., Ferreira, J. C., Palhães, M. M. et al., 2009**

Role of Follicular Estradiol-17beta in Timing of Luteolysis in Heifers  
Biology of Reproduction 81: 426-437

**Armstrong, D. T. und Hansel, W., 1959**

Alteration of the Bovine Estrous Cycle with Oxytocin  
Journal of Dairy Science 42: 533-542

**Arney, D. R., Kitwood, S. E. und Phillips, C. J. C., 1994**

The increase in activity during oestrus in dairy cows  
Applied Animal Behaviour Science 40: 211-218

**Arnstadt, K. I. und Cleere, W. F., 1981**

Enzyme-immunoassay for determination of progesterone in milk from cows  
Journal of Reproduction and Fertility 62: 173-180

**At-Taras, E. E. und Spahr, S. L., 2001**

Detection and Characterization of Estrus in Dairy Cattle with an Electronic Heatmount Detector and an Electronic Activity Tag

Journal of Dairy Science 84: 792-798

**Augusto, L., Weitze, K. F., Otto, F., Maciel, S. und Tomo, P., 1997**

Onset and Duration of Oestrus Related to the Time of Ovulation and Fertility in a Herd of Nguni Cattle in South Mozambique

Reproduction in Domestic Animals 32: 303-307

**Beal, W. E., Perry, R. C. und Corah, L. R., 1992**

The use of ultrasound in monitoring reproductive physiology of beef cattle

Journal of Animal Science 70: 924-929

**Bicalho, R. C., Galvão, K. N., Guard, C. L. und Santos, J. E. P., 2008**

Optimizing the accuracy of detecting a functional corpus luteum in dairy cows

Theriogenology 70: 199-207

**Bleach, E. C. L., Glencross, R. G. und Knight, P. G., 2004**

Association between ovarian follicle development and pregnancy rates in dairy cows undergoing spontaneous oestrous cycles

Reproduction 127: 621-629

**Blecher, S. R., Howie, R., Li, S., Detmar, J. und Blahut, L. M., 1999**

A new approach to immunological sexing of sperm

Theriogenology 52: 1309-1321

**Bloch, A., Folman, Y., Kaim, M., Roth, Z. et al., 2006**

Endocrine Alterations Associated with Extended Time Interval Between Estrus and Ovulation in High-Yield Dairy Cows

Journal of Dairy Science 89: 4694-4702

**Blom, J. Y., 2009**

Persönliche Kommunikation

**Bodmer, M., Janett, F., Hassig, M., Daas, N. d. et al., 2005**

Fertility in heifers and cows after low dose insemination with sex-sorted and non-sorted sperm under field conditions

Theriogenology 64: 1647-1655

**Boland, M. P., Foulkes, J. A., MacDonnell, H. F. und Sauer, M. J., 1985**

Plasma progesterone concentrations in superovulated heifers determined by enzymeimmunoassay and radioimmunoassay

British Veterinary Journal 141: 409-415

**Bonafos, L. D., Kot, K. und Ginther, O. J., 1995**

Physical characteristics of the uterus during the bovine estrous cycle and early pregnancy

Theriogenology 43: 713-721

**Bond, J. und McDowell, R. E., 1972**

Reproductive Performance and Physiological Responses of Beef Females as Affected by a Prolonged High Environmental Temperature

Journal of Animal Science 35: 820-829

**Borchersen, S. und Peacock, M., 2009**

Danish A.I. field data with sexed semen

Theriogenology 71: 59-63

**Bridges, G. A., Mussard, M. L., Burke, C. R. und Day, M. L., 2010**

Influence of the length of proestrus on fertility and endocrine function in female cattle

Animal Reproduction Science 117: 208-215

**Britt, J. H., Scott, R. G., Armstrong, J. D. und Whitacre, M. D., 1986**

Determinants of Estrous Behavior in Lactating Holstein Cows

Journal of Dairy Science 69: 2195-2202

**Britt, J. S. und Gaska, J., 1998**

Comparison of two estrus synchronisation programs in a large, confinement-housed dairy herd

Journal of the American Veterinary Medical Association 212: 210-212

**Brogliatti, G. M., Dominguez, G., Lüssenhoff, M. G., Perkins, J. und Bó, G. A., 2009**

14 DEEP INTRAUTERINE FIXED-TIME ARTIFICIAL INSEMINATION USING SEXED SEMEN IN HOLSTEIN HEIFERS

Reproduction, Fertility and Development 22: 165-165

**Burke, C. R., Boland, M. P. und Macmillan, K. L., 1999**

Ovarian responses to progesterone and oestradiol benzoate administered intravaginally during dioestrus in cattle

Animal Reproduction Science 55: 23-33

**Burke, J. M., De La Sota, R. L., Risco, C. A., Staples, C. R. et al., 1996**

Evaluation of Timed Insemination Using a Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist in Lactating Dairy Cows

Journal of Dairy Science 79: 1385-1393

**Busch, D. C., Wilson, D. J., Schafer, D. J., Leitman, N. R. et al., 2007**

Comparison of progestin-based estrus synchronization protocols before fixed-time artificial insemination on pregnancy rate in beef heifers

Journal of Animal Science 85: 1933-1939

**Busch, W., 2007**

Insemination

In: W. Busch und D. Waberski (Hrsg.): Künstliche Besamung bei Haus- und Nutztieren, S. 168-188 Schattauer, Stuttgart/New York

**Busch, W. und Waberski, D., 2007**

Entwicklung der Künstlichen Besamung

In: W. Busch und D. Waberski (Hrsg.): Künstliche Besamung bei Haus- und Nutztieren, S. 1-3 Schattauer, Stuttgart/New York

**Caccia, M. und Bó, G. A., 1998**

Follicle wave emergence following treatment of CIDR-B implanted beef cows with estradiol benzoate and progesterone

Theriogenology 49: 341-341

**Cairolì, F., Mollo, A., Veronesi, M. C., Renaville, B. et al., 2006**

Comparison between cloprostenol-induced and spontaneous oestrus fertility in dairy cows

Reproduction in Domestic Animals 41: 175-179

**Cardenas, H., Padilla, A., Alvarado, E., Vivanco, W. und Berardinelli, J. G., 1991**

Natural and prostaglandin F (PG)-synchronized estrous cycle in Brown Swiss and Simmental heifers in the Highland of Peru

Animal Reproduction Science 26: 211-217

**Cartmill, J. A., El-Zarkouny, S. Z., Hensley, B. A., Lamb, G. C. und Stevenson, J. S., 2001**

Stage of Cycle, Incidence, and Timing of Ovulation, and Pregnancy Rates in Dairy Cattle after Three Timed Breeding Protocols

Journal of Dairy Science 84: 1051-1059

**Carwell, D. B., Pitchford, J. A., Gentry Jr, G. T., Blackburn, H. et al., 2009**

19 BEEF CATTLE PREGNANCY RATES FOLLOWING INSEMINATION WITH AGED FROZEN ANGUS SEMEN  
Reproduction, Fertility and Development 22: 167-168

**Cerri, R. L. A., Santos, J. E. P., Juchem, S. O., Galvao, K. N. und Chebel, R. C., 2004**

Timed Artificial Insemination with Estradiol Cypionate or Insemination at Estrus in High-Producing Dairy Cows

Journal of Dairy Science 87: 3704-3715

**Chang, C. F. und Estergreen, V. L., 1983**

Development of a direct enzyme immunoassay of milk progesterone and its application to pregnancy diagnosis in cows

Steroids 41: 173-195

**Chebel, R. C., Santos, J. E. P., Cerri, R. L. A., Galvao, K. N. et al., 2003**

Effect of resynchronization with GnRH on day 21 after artificial insemination on pregnancy rate and pregnancy loss in lactating dairy cows

Theriogenology 60: 1389-1399

**Chenault, J. R., Boucher, J. F., Dame, K. J., Meyer, J. A. und Wood-Follis, S. L., 2003**

Intravaginal Progesterone Insert to Synchronize Return to Estrus of Previously Inseminated Dairy Cows

Journal of Dairy Science 86: 2039-2049

**Claycomb, R. W. und Delwiche, M. J., 1998**

Biosensor for on-line measurement of bovine progesterone during milking

Biosensors and Bioelectronics 13: 1173-1180

**Claycomb, R. W., Delwiche, M. J., Munro, C. J. und BonDurant, R. H., 1998**

Rapid enzyme immunoassay for measurement of bovine progesterone

Biosensors and Bioelectronics 13: 1165-1171

**Colazo, M. G., Ambrose, D. J., Kastelic, J. P. und Small, J. A., 2008**

Comparison of 2 enzyme immunoassays and a radioimmunoassay for measurement of progesterone concentrations in bovine plasma, skim milk, and whole milk

Canadian Journal of Veterinary Research 72: 32-36

**Curry, E., Pratt, S. L., Lapin, D. R. und Gibbons, J. R., 2009**

Efficacy of a commercially available post-thaw bovine semen sexing kit in both single-ovulating and hyperstimulated cows

Animal Reproduction Science 116: 376-380

**Cutullic, E., Delaby, L., Causeur, D., Michel, G. und Disenhaus, C., 2009**

Hierarchy of factors affecting behavioural signs used for oestrus detection of Holstein and Normande dairy cows in a seasonal calving system  
 Animal Reproduction Science 113: 22-37

**Dalton, J. C., Nadir, S., Bame, J. H., Noftsinger, M. et al., 2001**

Effect of time of insemination on number of accessory sperm, fertilization rate, and embryo quality in nonlactating dairy cattle  
 Journal of Dairy Science 84: 2413-2418

**Dalton, J. C., Nadir, S., Bame, J. H. und Saacke, R. G., 1999**

Effect of a deep uterine insemination on spermatozoal accessibility to the ovum in cattle: a competitive insemination study  
 Theriogenology 51: 883-890

**Darwash, A. O., Lamming, G. E. und Woolliams, J. A., 1997**

Estimation of Genetic Variation in the Interval from Calving to Postpartum Ovulation of Dairy Cows  
 Journal of Dairy Science 80: 1227-1234

**de Mol, R. M., Kroeze, G. H., Achten, J. M. F. H., Maatje, K. und Rossing, W., 1997**

Results of a multivariate approach to automated oestrus and mastitis detection  
 Livestock Production Science 48: 219-227

**DeJarnette, J. M., Saacke, R. G., Bame, J. und Vogler, C. J., 1992**

Accessory sperm: Their importance to fertility and embryo quality, and attempts to alter their numbers in artificially inseminated cattle  
 Journal of Animal Science 70: 484-491

**Delwiche, M., Tang, X., BonDurant, R. und Munro, C., 2001**

Improved Biosensor for Measurement of Progesterone in Bovine Milk  
 Transactions of the ASAE 44: 1997-2002

**Demiral, O., Un, M., Abay, M. und Bekyurek, T., 2007**

The Effect of Artificial Insemination Timing on the Sex Ratio of Offspring and Fertility in Dairy Cows  
 Turkish Journal of Veterinary Animal Science 31: 21-24

**Den Daas, J. H. G., De Jong, G., Lansbergen, L. M. T. E. und Van Wagtendonk-De Leeuw, A. M., 1998**

The Relationship Between the Number of Spermatozoa Inseminated and the Reproductive Efficiency of Individual Dairy Bulls  
 Journal of Dairy Science 81: 1714-1723

**Dhindsa, D. S., Hoversland, A. S. und Smith, E. P., 1967**

Estrous Control and Calving Performance in Beef Cattle Fed 6-Methyl-17-Acetoxy-Progesterone Under Ranch Conditions  
 Journal of Animal Science 26: 167-170

**Dobbins, C. A., Eborn, D. R., Tenhouse, D. E., Breiner, R. M. et al., 2009**

Insemination timing affects pregnancy rates in beef cows treated with CO-Synch protocol including an intravaginal progesterone insert  
 Theriogenology 72: 1009-1016

**Dobson, H., 1978**

Plasma gonadotrophins and oestradiol during oestrus in the cow  
Journal of Reproduction and Fertility 52: 51-53

**Dransfield, M. B. G., Nebel, R. L., Pearson, R. E. und Warnick, L. D., 1998**

Timing of Insemination for Dairy Cows Identified in Estrus by a Radiotelemetric Estrus Detection System  
Journal of Dairy Science 81: 1874-1882

**El-Zarkouny, S. Z., Cartmill, J. A., Hensley, B. A. und Stevenson, J. S., 2004**

Pregnancy in Dairy Cows After Synchronized Ovulation Regimens With or Without Presynchronization and Progesterone  
Journal of Dairy Science 87: 1024-1037

**El-Zarkouny, S. Z. und Stevenson, J. S., 2004**

Resynchronizing Estrus with Progesterone or Progesterone Plus Estrogen in Cows of Unknown Pregnancy Status  
Journal of Dairy Science 87: 3306-3321

**Esslemont, R. J. und Bryant, M. J., 1976**

Oestrous behaviour in a herd of dairy cows  
The Veterinary Record 99: 472-475

**Esslemont, R. J., Glencross, R. G., Bryant, M. J. und Pope, G. S., 1980**

A quantitative study of pre-ovulatory behaviour in cattle (British Friesian heifers)  
Applied Animal Ethology 6: 1-17

**Fahey, J. und Macmillan, K. L., 2003**

Efficacy of oestrus synchronization regimens with PGF<sub>2</sub> $\alpha$  and progesterone in dairy heifers  
Reproduction, Fertility and Development 15: 19

**Firk, R., Stamer, E., Junge, W. und Krieter, J., 2002**

Automation of oestrus detection in dairy cows: a review  
Livestock Production Science 75: 219-232

**Firk, R., Stamer, E., Junge, W. und Krieter, J., 2003**

Improving oestrus detection by combination of activity measurements with information about previous oestrus cases  
Livestock Production Science 82: 97-103

**Fisher, A. D., Morton, R., Dempsey, J. M. A., Henshall, J. M. und Hill, J. R., 2008**

Evaluation of a new approach for the estimation of the time of the LH surge in dairy cows using vaginal temperature and electrodeless conductivity measurements  
Theriogenology 70: 1065-1074

**Floyd, L. N., Lents, C. A., White, F. J. und Wettemann, R. P., 2009**

Effect of number of cows in estrus and confinement area on estrous behavior of beef cows  
Journal of Animal Science 87: 1998-2004

**Fogwell, R. L., Kanyima, B. M., Villa-Godoy, A., Enright, W. J. und Ireland, J. J., 1986**

Enhanced Precision of Estrus and Luteinizing Hormone After Progesterone and Prostaglandin in Heifers  
Journal of Dairy Science 69: 2179-2185



**Folman, Y., Kaim, M., Herz, Z. und Rosenberg, M., 1984**

Reproductive Management of Dairy Cattle Based on Synchronization of Estrous Cycles

Journal of Dairy Science 67: 153-160

**Folman, Y., Kaim, M., Herz, Z. und Rosenberg, M., 1990**

Comparison of Methods for the Synchronization of Estrous Cycles in Dairy Cows. 2. Effects of Progesterone and Parity on Conception

Journal of Dairy Science 73: 2817-2825

**Fonseca, F. A., Britt, J. H., McDaniel, B. T., Wilk, J. C. und Rakes, A. H., 1983**

Reproductive Traits of Holsteins and Jerseys. Effects of Age, Milk Yield, and Clinical Abnormalities on Involution of Cervix and Uterus, Ovulation, Estrous Cycles, Detection of Estrus, Conception Rate, and Days Open

Journal of Dairy Science 66: 1128-1147

**Foote, R. H., 1975**

Estrus Detection and Estrus Detection Aids

Journal of Dairy Science 58: 248-256

**Foote, R. H., 1979**

Time of Artificial Insemination and Fertility in Dairy Cattle

Journal of Dairy Science 62: 355-358

**Foote, R. H. und Kaproth, M. T., 1997**

Sperm Numbers Inseminated in Dairy Cattle and Nonreturn Rates Revisited

Journal of Dairy Science 80: 3072-3076

**Ford, S. P. und Chenault, J. R., 1981**

Blood flow to the corpus luteum-bearing ovary and ipsilateral uterine horn of cows during the oestrous cycle and early pregnancy

Journal of Reproduction and Fertility 62: 555-562

**Foulkes, J. A., Cookson, A. D. und Sauer, M. J., 1982**

AI in cattle based on daily microtitre plate enzymeimmunoassay of progesterone in whole milk

British Veterinary Journal 138: 515-521

**Fricke, P. M., 2002**

Scanning the Future--Ultrasonography as a Reproductive Management Tool for Dairy Cattle

Journal of Dairy Science 85: 1918-1926

**Fricke, P. M., Caraviello, D. Z., Weigel, K. A. und Welle, M. L., 2003**

Fertility of Dairy Cows after Resynchronization of Ovulation at Three Intervals Following First Timed Insemination

Journal of Dairy Science 86: 3941-3950

**Fricke, P. M., Guenther, J. N. und Wiltbank, M. C., 1998**

Efficacy of decreasing the dose of GnRH used in a protocol for synchronization of ovulation and timed AI in lactating dairy cows

Theriogenology 50: 1275-1284

**Friggens, N. C., Bjerring, M., Ridder, C., Højsgaard, S. und Larsen, T., 2008**

Improved Detection of Reproductive Status in Dairy Cows Using Milk Progesterone Measurements

Reproduction in Domestic Animals 43: 113-121

**Friggens, N. C. und Chagunda, M. G. G., 2005**

Prediction of the reproductive status of cattle on the basis of milk progesterone measures: model description

Theriogenology 64: 155-190

**Friggens, N. C. und Rasmussen, M. D., 2001**

Milk quality assessment in automatic milking systems: accounting for the effects of variable intervals between milkings on milk composition

Livestock Production Science 73: 45-54

**Frijters, A. C. J., Mullaart, E., Roelofs, R. M. G., van Hoorne, R. P. et al., 2009**

What affects fertility of sexed bull semen more, low sperm dosage or the sorting process?

Theriogenology 71: 64-67

**Fulkerson, W. J., Sawyer, G. J. und Crothers, I., 1983**

The accuracy of several aids in detecting oestrus in dairy cattle

Applied Animal Ethology 10: 199-208

**Fulton, R., Ball, L. und Wiltbank, J. N., 1978**

Synchronization of estrus following 7 or 9 day treatment with chlormadinone acetate (CAP)

Theriogenology 10: 73-88

**Gangwar, P. C., Branton, C. und Evans, D. L., 1965**

Reproductive and Physiological Responses of Holstein Heifers to Controlled and Natural Climatic Conditions

Journal of Dairy Science 48: 222-227

**Gartland, P., Schiavo, J., Hall, C. E., Foote, R. H. und Scott, N. R., 1976**

Detection of Estrus in Dairy Cows by Electrical Measurements of Vaginal Mucus and by Milk Progesterone

Journal of Dairy Science 59: 982-985

**Gérard, O. und Humblot, P., 1991**

Influence of interactions between semen extender and number of spermatozoa on nonreturn rate estimates of fertility for individual Holstein bulls

Theriogenology 36: 727-736

**Gillis, E. H., Gosling, J. P., Sreenan, J. M. und Kane, M., 2002**

Development and validation of a biosensor-based immunoassay for progesterone in bovine milk

Journal of Immunological Methods 267: 131-138

**Gillis, E. H., Traynor, I., Gosling, J. P. und Kane, M., 2006**

Improvements to a Surface Plasmon Resonance-Based Immunoassay for the Steroid Hormone Progesterone

Journal of AOAC International 89: 838-842

**Ginther, O. J., 1974**

Internal Regulation of Physiological Processes through Local Venoarterial Pathways: A Review

Journal of Animal Science 39: 550-564

**Ginther, O. J., Nuti, L. C., Garcia, M. C., Wentworth, B. C. und Tyler, W. J., 1976**

Factors Affecting Progesterone Concentration in Cow's Milk and Dairy Products

Journal of Animal Science 42: 155-159

**Glencross, R. G., Esslemont, R. J., Bryant, M. J. und Pope, G. S., 1981**

Relationships between the incidence of pre-ovulatory behaviour and the concentrations of oestradiol-17[beta] and progesterone in bovine plasma  
Applied Animal Ethology 7: 141-148

**Gordon, I., 2003**

The Bovine Oestrous Cycle and Associated Events  
Laboratory Production of Cattle Embryos, S. 42-78 CABI Publishing, Oxon

**Graves, W. M., Dowlen, H. H., Kiess, G. A. und Riley, T. L., 1991**

Evaluation of uterine body and bilateral uterine horn insemination techniques  
Journal of Dairy Science 74: 3454-3456

**Grunert, E., 1975**

Fertility of estrus synchronized dairy heifers treated with CAP alone or in combination with estradiol benzoate, HCG or GnRH  
Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique 15: 273-280

**Grunert, E., 1999a**

Die Gynäkologische Untersuchung  
In: E. Grunert und A. De Kruif (Hrsg.): Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind, S. 29-62 Parey Buchverlag, Berlin/Wien

**Grunert, E., 1999b**

Sexualzyklus  
In: E. Grunert und A. De Kruif (Hrsg.): Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind, S. 3-12 Parey Buchverlag, Berlin/Wien

**Grygar, I., Vanatka, F., Vinkler, A. und Kudlac, E., 1992**

Comparison of the Accuracy of the Diagnostic of Physiological and Pathological Conditions in Bovine Ovaries by Means of Rectal Palpation and Ultrasonography  
Acta Veterinaria Brno 61: 219-230

**Guilbault, L. A., Lussier, J. G., Grasso, F. und Matton, P., 1990**

Influence of a GnRH analogue on follicular dynamics in cows pretreated or not with FSH-P  
Theriogenology 33: 240-240

**Gumen, A., Guenther, J. N. und Wiltbank, M. C., 2003**

Follicular Size and Response to Ovsynch Versus Detection of Estrus in Anovular and Ovular Lactating Dairy Cows  
Journal of Dairy Science 86: 3184-3194

**Gwazdauskas, F. C., Lineweaver, J. A. und McGilliard, M. L., 1983**

Environmental and Management Factors Affecting Estrous Activity in Dairy Cattle  
Journal of Dairy Science 66: 1510-1514

**Gwazdauskas, F. C., Nebel, R. L., Sprecher, D. J., Whittier, W. D. und McGilliard, M. L., 1990**

Effectiveness of Rump-Mounted Devices and Androgenized Females for Detection of Estrus in Dairy Cattle  
Journal of Dairy Science 73: 2965-2970

**Gwazdauskas, F. C., Whittier, W. D., Vinson, W. E. und Pearson, R. E., 1986**

Evaluation of reproductive efficiency of dairy cattle with emphasis on timing of breeding  
Journal of Dairy Science 69: 290-297

**Hackett, A. J., Batra, T. R. und McAllister, A. J., 1984**

Estrus Detection and Subsequent Reproduction in Dairy Cows Continuously Housed Indoors  
Journal of Dairy Science 67: 2446-2451

**Hackett, A. J., Schechter, R. J., Hobson, W. C., Hansel, W. und Ross, P. J., 1972**

Luteinizing hormone and estrogen during synchronisation  
Journal of Animal Science 35: 244

**Hafs, H. D., Manns, J. G. und Drew, B., 1975**

Onset of oestrus and fertility of dairy heifers and suckled beef cows treated with prostaglandin F2 alpha  
Animal Production 21: 13-20

**Hansel, W., Donaldson, L. E., Wagner, W. C. und Brunner, M. A., 1966**

A Comparison of Estrous Cycle Synchronization Methods in Beef Cattle under Feedlot Conditions  
Journal of Animal Science 25: 497-503

**Hansel, W., Malven, P. V. und Black, D. L., 1961**

Estrous Cycle Regulation in the Bovine  
Journal of Animal Science 20: 621-625

**Hansel, W. und Wagner, W. C., 1960**

Luteal Inhibition in the Bovine as a Result of Oxytocin Injections, Uterine Dilatation, and Intrauterine Infusions of Seminal and Preputial Fluids  
Journal of Dairy Science 43: 796-805

**Hanzen, C. H., Pieterse, M., Scenczi, O. und Drost, M., 2000**

Relative Accuracy of the Identification of Ovarian Structures in the Cow by Ultrasonography and Palpation Per Rectum  
The Veterinary Journal 159: 161-170

**Hawk, H. W. und Tanabe, T. Y., 1986**

Effect of unilateral cornual insemination upon fertilization rate in superovulating and single-ovulating cattle  
Journal of Animal Science 63: 551-560

**Heckman, G. S., Katz, L. S., Foote, R. H., Oltenacu, E. A. B. et al., 1979**

Estrous Cycle Patterns in Cattle Monitored by Electrical Resistance and Milk Progesterone  
Journal of Dairy Science 62: 64-68

**Helmer, S. D. und Britt, J. H., 1985**

Mounting Behavior as Affected by Stage of Estrous Cycle in Holstein Heifers  
Journal of Dairy Science 68: 1290-1296

**Hendriksen, P. J. M., 1999**

Do X and Y spermatozoa differ in proteins?  
Theriogenology 52: 1295-1307

**Heres, L., Dieleman, S. J. und Van Eerdenburg, F. J. C. M., 2000**

Validation of a new method of visual oestrus detection on the farm  
The Veterinary Quarterly 22: 50-55

**Hill, J. R., Dickey, J. F. und Henricks, D. M., 1973**

Estrus and ovulation in PGF<sub>2</sub> $\alpha$ /PMS treated heifers  
Journal of Animal Science 37: 315

**Hill, J. R. J., Lamond, D. R., Henricks, D. M., Dickey, J. F. und Niswender, G. D., 1971**

The Effect of Melengestrol Acetate (MGA1) On Ovarian Function and Fertilization in Beef Heifers  
Biol Reprod 4: 16-22

**Hoffmann, B. und Hamburger, R., 1973**

Progesteron in der Milch: Radioimmunologische Bestimmung, Beziehungen zur Gelbkörperfunktion und Milchfettkonzentration  
Reproduction in Domestic Animals 8: 154-162

**Holtz, W. und Meinhardt, H., 1993**

Die Brunst diagnose beim Rind  
Reproduction in Domestic Animals 28: 315-341

**Horrell, R. I., Kilgour, R., MacMillan, K. L. und Bremner, K., 1984**

Evaluation of fluctuations in milk yield and parlour behaviour as indicators of oestrus in dairy cows  
The Veterinary Record 114: 36-39

**Hunter, R. H. F., 1995a**

Ovarian endocrine control of sperm progression in the fallopian tubes  
Oxford Reviews of Reproductive Biology, Vol 17. Oxford Reviews of Reproductive Biology Band 17, S. 85-124 Oxford University Press, Oxford

**Hunter, R. H. F., 1995b**

Significance of the epithelial crypts at the bovine utero-tubal junction in the pre-ovulatory phase of sperm regulation  
Acta Veterinaria Scandinavica 36: 413-421

**Hunter, R. H. F. und Greve, T., 1997**

Could artificial insemination of cattle be more fruitful? Penalties associated with ageing eggs  
Reproduction in Domestic Animals 32: 137-141

**Hunter, R. H. F. und Wilmut, I., 1983**

The rate of functional sperm transport into the oviducts of mated cows  
Animal Reproduction Science 5: 167-173

**Hurnik, J. F. und King, G. J., 1987**

Estrous Behavior in Confined Beef Cows  
Journal of Animal Science 65: 431-438

**Hurnik, J. F., King, G. J. und Robertson, H. A., 1975**

Estrous and related behaviour in postpartum Holstein cows  
Applied Animal Ethology 2: 55-68

**Ireland, J. J. und Roche, J. F., 1983**

Growth and Differentiation of Large Antral Follicles after Spontaneous Luteolysis in Heifers: Changes in Concentration of Hormones in Follicular Fluid and Specific Binding of Gonadotropins to Follicles

Journal of Animal Science 57: 157-167

**Isachenko, E., Isachenko, V., Katkov, I. I., Rahimi, G. et al., 2004**

DNA integrity and motility of human spermatozoa after standard slow freezing versus cryoprotectant-free vitrification

Human Reproduction 19: 932-939

**Isachenko, V., Isachenko, E., Montag, M., Zaeva, V. et al., 2005**

Clean Technique for Cryoprotectant-free Vitrification of Human Spermatozoa

Reproductive BioMedicine Online 10: 350-354

**Jackson, P. S., Esslemont, R. J. und Bailie, J. H., 1983**

Subsequent fertility following cloprostenol induced luteolysis in the bovine

The Veterinary Record 112: 153-154

**Jackson, P. S., Johnson, C. T., Furr, B. J. und Beattie, J. F., 1979**

Influence of stage of oestrous cycle on time of oestrus

Theriogenology 12: 153-167

**Johnson, C. T., 1978**

Time to onset of oestrus after the injection of heifers with cloprostenol

The Veterinary Record 103: 204-206

**Johnson, L. A., 1992**

Gender Preselection in Domestic Animals Using Flow Cytometrically Sorted Sperm

Journal of Animal Science 70: 8-18

**Johnson, L. A., Flook, J. P. und Hawk, H. W., 1989**

Sex preselection in rabbits: live births from X and Y sperm separated by DNA and cell sorting

Biology of Reproduction 41: 199-203

**Johnson, L. A. und Welch, G. R., 1999**

Sex preselection: High-speed flow cytometric sorting of X and Y sperm for maximum efficiency

Theriogenology 52: 1323-1341

**Johnson, L. A., Welch, G. R. und Rens, W., 1999**

The Beltsville sperm sexing technology: high-speed sperm sorting gives improved sperm output for in vitro fertilization and AI

Journal of Animal Science 77: 213-220

**Kähn, W. und Leidl, W., 1986**

Die Anwendung der Echographie zur Diagnose der Ovarfunktion beim Rind

Tierärztliche Umschau 41: 3-12

**Kaim, M., Rosenberg, M. und Folman, Y., 1990**

Management of reproduction in dairy heifers based on the synchronization of estrous cycles

Theriogenology 34: 537-547

**Käppel, N. D., Pröll, F. und Gauglitz, G., 2007**

Development of a TIRF-based biosensor for sensitive detection of progesterone in bovine milk

Biosensors and Bioelectronics 22: 2295-2300

**Kastelic, J. P. und Ginther, O. J., 1991**

Factors affecting the origin of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolysis  
*Animal Reproduction Science* 26: 13-24

**Keister, Z. O., DeNise, S. K., Armstrong, D. V., Ax, R. L. und Brown, M. D., 1999**  
 Pregnancy outcomes in two commercial dairy herds following hormonal scheduling programs  
*Theriogenology* 51: 1587-1596

**Keith, B. R., Leslie, K. E., Johnson, W. H. und Walton, J. S., 2005**  
 Effect of presynchronization using prostaglandin F<sub>2</sub>[α] and a milk-ejection test on pregnancy rate after the timed artificial insemination protocol, Ovsynch  
*Theriogenology* 63: 722-738

**Kelton, D. F., Leslie, K. E., Etherington, W. G., Bonnett, B. N. und Walton, J. S., 1991**  
 Accuracy of rectal palpation and of a rapid milk progesterone enzyme-immunoassay for determining the presence of a functional corpus luteum in subestrus dairy cows  
*Canadian Veterinary Journal* 32: 286-291

**Kerbrat, S. und Disenhaus, C., 2004**  
 A proposition for an updated behavioural characterisation of the oestrus period in dairy cows  
*Applied Animal Behaviour Science* 87: 223-238

**Kerr, O. M. und McCaughey, W. J., 1984**  
 Tail painting technique as an aid to oestrus detection in cattle  
*The Veterinary Record* 114: 605-607

**Kiddy, C. A., 1977**  
 Variation in Physical Activity as an Indication of Estrus in Dairy Cows  
*Journal of Dairy Science* 60: 235-243

**Kiddy, C. A. und Mitchell, D. S., 1981**  
 Estrus-Related Odors in Cows: Time of Occurrence  
*Journal of Dairy Science* 64: 267-271

**Kiddy, C. A., Mitchell, D. S., Bolt, D. J. und Hawk, H. W., 1978**  
 Detection of Estrus-Related Odors in Cows by Trained Dogs  
*Biology of Reproduction* 19: 389-395

**Kiddy, C. A., Mitchell, D. S. und Hawk, H. W., 1984**  
 Estrus-Related Odors in Body Fluids of Dairy Cows  
*Journal of Dairy Science* 67: 388-391

**King, G. J., Hurnik, J. F. und Robertson, H. A., 1976**  
 Ovarian Function and Estrus in Dairy Cows during Early Lactation  
*Journal of Animal Science* 42: 688-692

**King, M. E., Kiracofe, G. H., Stevenson, J. S. und Schalles, R. R., 1982**  
 Effect of stage of the estrous cycle on interval to estrus after PGF<sub>2</sub>[α] in beef cattle  
*Theriogenology* 18: 191-200

**Kiser, T. E., Britt, J. H. und Ritchie, H. D., 1977**  
 Testosterone Treatment of Cows for Use in Detection of Estrus  
*Journal of Animal Science* 44: 1030-1035

**Kitwood, S. E., Phillips, C. J. C. und Weise, M., 1993**

Use of a vaginal mucus impedance meter to detect estrus in the cow  
Theriogenology 40: 559-569

**Knight, C. W., Patrick, T. E., Anderson, H. W. und Branton, C., 1951**

The relation of site of semen deposit to breeding efficiency of dairy cattle  
Journal of Dairy Science 34: 199-202

**Ko, J. H. C., Kastelic, J. P., Del Campo, M. R. und Ginther, O. J., 1991**

Effects of a dominant follicle on ovarian follicular dynamics during the oestrous cycle in heifers  
Journal of Reproduction and Fertility 91: 511-519

**König, H. E. und Liebich, H. G., 1999**

Weibliche Geschlechtsorgane

In: H. E. König und H. G. Liebich (Hrsg.): Anatomie der Haussäugetiere Band 2, S. 135-152 Schattauer, Stuttgart, New York

**Krieger, H. und Leidl, W., 1974**

Praxiserfahrungen mit der Messung des elektrischen Widerstandes von Vaginalsehlim beim Rind als Hilfsmittel bei der Östrusdiagnose  
Tierärztliche Umschau 29: 22-25

**Kurykin, J., Jaakma, U., Majas, L., Jalakas, M. et al., 2003**

Fixed time deep intracornual insemination of heifers at synchronized estrus  
Theriogenology 60: 1261-1268

**Kurykin, J., Jaakma, U., Waldmann, A., Jalakas, M. et al., 2006**

Low semen dose intracornual insemination of cows at fixed time after PGF<sub>2</sub>α treatment or at spontaneous estrus  
Animal Reproduction Science 95: 116-124

**Kyle, B. L., Kennedy, A. D. und Small, J. A., 1998**

Measurement of vaginal temperature by radiotelemetry for the prediction of estrus in beef cows  
Theriogenology 49: 1437-1449

**Lamb, G. C., Stevenson, J. S., Kesler, D. J., Garverick, H. A. et al., 2001**

Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F<sub>2</sub>α for ovulation control in postpartum suckled beef cows  
Journal of Animal Science 79: 2253-2259

**Lane, E. A., Austin, E. J., Roche, J. F. und Crowe, M. A., 2001**

The effect of estradiol benzoate on synchrony of estrus and fertility in cattle after removal of a progesterone-releasing intravaginal device  
Theriogenology 55: 1807-1818

**Lattec, 2007:** <http://www.herdnavigator.com/pages/id33.asp>

**Lauderdale, J. W., 1972**

Effects of PGF<sub>2</sub>α on pregnancy and estrous cycles of cattle  
Journal of Animal Science 35: 246

**Lauderdale, J. W., Seguin, B. E., Stellflug, J. N., Chenault, J. R. et al., 1974**

Fertility of Cattle Following PGF<sub>2</sub>α Injection



Journal of Animal Science 38: 964-967

**Lehrer, A. R., Lewis, G. S. und Aizinbud, E., 1992**

Oestrus detection in cattle: recent developments  
Animal Reproduction Science 28: 355-362

**Leiding, C., 2007**

Künstliche Besamung beim Rind

In: W. Busch und D. Waberski (Hrsg.): Künstliche Besamung bei Haus- und Nutztieren, S. 147-167  
Schattauer, Stuttgart/New York

**Leidl, W. und Stolla, R., 1976**

Measurement of electric resistance of the vaginal mucus as an aid for heat detection  
Theriogenology 6: 237-249

**Leitman, N. R., Busch, D. C., Mallory, D. A., Wilson, D. J. et al., 2009**

Comparison of long-term CIDR-based protocols to synchronize estrus in beef heifers  
Animal Reproduction Science 114: 345-355

**Lemon, M., 1975**

The effect of oestrogens alone or in association with progestagens on the formation and regression of the corpus luteum of the cyclic cow

Annales de biologie animale, biochimie, biophysique 15: 243-253

**Lewis, G. S. und Newman, S. K., 1984**

Changes Throughout Estrous Cycles of Variables That Might Indicate Estrus in Dairy Cows  
Journal of Dairy Science 67: 146-152

**Lima, J. R., Rivera, F. A., Narciso, C. D., Oliveira, R. et al., 2009**

Effect of increasing amounts of supplemental progesterone in a timed artificial insemination protocol on fertility of lactating dairy cows

Journal of Dairy Science 92: 5436-5446

**Liu, X. und Spahr, S. L., 1993**

Automated Electronic Activity Measurement for Detection of Estrus in Dairy Cattle

Journal of Dairy Science 76: 2906-2912

**Lopez-Gatius, F., 1995**

Intraperitoneal insemination in repeat-breeder cows: A preliminary report

Theriogenology 44: 153-158

**Lopez-Gatius, F., 2000**

Site of semen deposition in cattle: a review

Theriogenology 53: 1407-1414

**Lopez-Gatius, F. und Camon-Urgel, J., 1988**

Increase of pregnancy rate in dairy cattle after preovulatory follicle palpation and deep cornual insemination

Theriogenology 29: 1099-1103

**Lopez, H., Satter, L. D. und Wiltbank, M. C., 2004**

Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows

Animal Reproduction Science 81: 209-223

**Louis, T. M., Hafs, H. D. und Morrow, D. A., 1974**

Intrauterine Administration of Prostaglandin F<sub>2</sub>{alpha} in Cows: Progesterone, Estrogen, LH, Estrus and Ovulation

Journal of Animal Science 38: 347-353

**Louis, T. M., Hafs, H. D. und Seguin, B. E., 1973**

Progesterone, LH, estrus and ovulation after prostaglandin F<sub>2</sub> alpha in heifers

Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 143: 152-155

**Louis, T. M., Hafs, H. D. und Stellflug, J. N., 1975**

Control of Ovulation, Fertility and Endocrine Response after Prostaglandin F<sub>2</sub>{alpha} in Cattle

Annales de biologie animale, biochimie, biophysique 15: 407-417

**Lucy, M. C., 2007**

The bovine dominant ovarian follicle

Journal of Animal Science 85: E89-99

**Lucy, M. C., Stevenson, J. S. und Call, E. P., 1986**

Controlling First Service and Calving Interval by Prostaglandin F<sub>2</sub>{alpha}, Gonadotropin-Releasing Hormone, and Timed Insemination

Journal of Dairy Science 69: 2186-2194

**Lyimo, Z. C., Nielen, M., Ouweltjes, W., Kruip, T. A. M. und Eerdenburg, F. J. C. M. v., 2000**

Relationship among estradiol, cortisol and intensity of estrous behavior in dairy cattle

Theriogenology 53: 1783-1795

**Maatje, K., Loeffler, S. H. und Engel, B., 1997**

Predicting Optimal Time of Insemination in Cows that Show Visual Signs of Estrus by Estimating Onset of Estrus with Pedometers

Journal of Dairy Science 80: 1098-1105

**Macdonald, L. E. und Sampson, J., 1957**

Intraperitoneal insemination of the heifer

Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 95: 815-816

**Macmillan, K. L., 1983**

Prostaglandin responses in dairy herd breeding programmes

New Zealand Veterinary Journal 31: 110-113

**Macmillan, K. L., Curnow, R. J. und Morris, G. R., 1977**

Oestrus synchronisation with a prostaglandin analogue: 1. Systems in lactating dairy cattle

New Zealand Veterinary Journal 25: 366-372

**Macmillan, K. L. und Day, A. M., 1982**

Prostaglandin F<sub>2</sub>[alpha] -- A fertility drug in dairy cattle?

Theriogenology 18: 245-253

**Macmillan, K. L., Day, A. M. und Smith, J. F., 1980**

Onset of oestrus and fertility in lactating dairy cows injected with an analogue of prostaglandin F<sub>2</sub> alpha , cloprostenol

Animal Reproduction Science 3: 171-180

**Macmillan, K. L. und Henderson, H. V., 1984**

Analyses of the variation in the interval from an injection of prostaglandin F2[alpha] to oestrus as a method of studying patterns of follicle development during dioestrus in dairy cows  
Animal Reproduction Science 6: 245-254

**Macmillan, K. L., Taufa, V. K., Barnes, D. R., Day, A. M. und Henry, R., 1988**

Detecting estrus in synchronized heifers-using tailpaint and an aerosol raddle  
Theriogenology 30: 1099-1114

**Macmillan, K. L. und Thatcher, W. W., 1991**

Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle  
Biol Reprod 45: 883-889

**Macpherson, J. W., 1968**

Semen placement effects on fertility in bovines  
Journal of Animal Science 51: 807-808

**Marion, G. B. und Gier, H. T., 1968**

Factors Affecting Bovine Ovarian Activity after Parturition  
Journal of Animal Science 27: 1621-1626

**Marshall, C., Graves, WM, Meador, JL, Swain, JB, Anderson, JI, 1989**

A fertility comparison of uterine body and bicornual semen deposition procedures in dairy cattle  
Journal of Dairy Science 72: 455

**Martinez, F., Kaabi, M., Martinez-Pastor, F., Alvarez, M. et al., 2004**

Effect of the interval between estrus onset and artificial insemination on sex ratio and fertility in cattle: a field study  
Theriogenology 62: 1264-1270

**Mazur, P., 1980**

Fundamental aspects of the freezing of cells, with emphasis on mammalian ova and embryos  
9th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, 16th 20th June: 99-114

**McCracken, J. A., Custer, E. E. und Lamsa, J. C., 1999**

Luteolysis: A Neuroendocrine-Mediated Event  
Physiological Reviews 79: 263-323

**McGowan, J. E., Burke, C. R. und Jago, J. G., 2007**

Validation of a technology for objectively measuring behaviour in dairy cows and its application for oestrous detection  
Proceedings - New Zealand Society of Animal Production 67: 136-142

**McIntosh, D. A. D., Lewis, J. A. und Hammond, D., 1984**

Conception rates in dairy cattle treated with cloprostenol and inseminated at observed oestrus  
The Veterinary Record 115: 129-130

**McKenna, T., Lenz, R. W., Fenton, S. E. und Ax, R. L., 1990**

Nonreturn Rates of Dairy Cattle Following Uterine Body or Cornual Insemination  
Journal of Dairy Science 73: 1779-1783

**Meinecke, B., 2000**

Reproduktion beim weiblichen Tier

In: W. von Engelhardt und G. Breves (Hrsg.): Physiologie der Haustiere, S. 514-536 Enke, Stuttgart

**Meira, C., Pessoa, V. M., Ferreira, J. C. P., Araujo, G. H. M. et al., 2006**

Alternative low doses and routes of administering a prostaglandin F<sub>2</sub> alpha analogue to induce luteolysis in Nelore cows

Journal of Veterinary Science 7: 387-390

**Meisterling, E. M. und Dailey, R. A., 1987**

Use of Concentrations of Progesterone and Estradiol-17 $\beta$  in Milk in Monitoring Postpartum Ovarian Function in Dairy Cows

Journal of Dairy Science 70: 2154-2161

**Menge, A. C., Mares, S. E., Tyler, W. J. und Casida, L. E., 1962**

Variation and Association among Postpartum Reproduction and Production Characteristics in Holstein-Friesian Cattle

Journal of Dairy Science 45: 233-241

**Metz, J. H. M. und Mekking, P., 1984**

Crowding phenomena in dairy cows as related to available idling space in a cubicle housing system

Applied Animal Behaviour Science 12: 63-78

**Metzger, E., Freytag, R. und Leidl, W., 1972**

Gerät zur Messung der elektrischen Leitfähigkeit des Vaginalsehleimes für die Brunstfeststellung beim Rind

Reproduction in Domestic Animals 7: 56-61

**Mocé, E., Graham, J. K. und Schenk, J. L., 2006**

Effect of sex-sorting on the ability of fresh and cryopreserved bull sperm to undergo an acrosome reaction

Theriogenology 66: 929-936

**Moller, K., Macmillan, K. L. und Shannon, P., 1972**

Site of insemination and subsequent non-return rates in cows

New Zealand Journal of Agricultural Research 15: 252-254

**Momont, H. W., Seguin, B. E., Singh, G. und Stasiukynas, E., 1989**

Does intrauterine site of insemination in cattle really matter?

Theriogenology 32: 19-26

**Monk, E. L., Erb, R. E. und Mollett, T. A., 1975**

Relationships Between Immunoreactive Estrone and Estradiol in Milk, Blood, and Urine of Dairy Cows

Journal of Dairy Science 58: 34-40

**Morais, R., Valente, A., Almeida, J. C., Silva, A. M. et al., 2006**

Concept study of an implantable microsystem for electrical resistance and temperature measurements in dairy cows, suitable for estrus detection

Sensors and Actuators A: Physical 132: 354-361

**Morbeck, D. E., Tyler, H. D. und Britt, J. H., 1991**

Duration of Estrous Cycles Subsequent to Two Injections of Prostaglandin F<sub>2</sub>alpha Given at a 14-Day Interval in Nonlactating Holstein Cows

Journal of Dairy Science 74: 2342-2346

**Moreira, F., de la Sota, R. L., Diaz, T. und Thatcher, W. W., 2000a**

Effect of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers  
Journal of Animal Science 78: 1568-1576

**Moreira, F., Orlandi, C., Risco, C. A., Mattos, R. et al., 2001**

Effects of Presynchronization and Bovine Somatotropin on Pregnancy Rates to a Timed Artificial Insemination Protocol in Lactating Dairy Cows  
Journal of Dairy Science 84: 1646-1659

**Moreira, F., Risco, C. A., Pires, M. F. A., Ambrose, J. D. et al., 2000b**

Use of Bovine Somatotropin in Lactating Dairy Cows Receiving Timed Artificial Insemination  
Journal of Dairy Science 83: 1237-1247

**Morrell, J. M., Noakes, D. E., Zintzaras, E. und Dresser, D. W., 1991**

Apparent decline in fertility in heifers after repeated oestrus synchronisation with cloprostenol  
The Veterinary Record 128: 404-407

**Mortimer, R. G., Salman, M. D., Gutierrez, M. und Olson, J. D., 1990**

Effects of Androgenizing Dairy Heifers with Ear Implants Containing Testosterone and Estrogen on Detection of Estrus  
Journal of Dairy Science 73: 1773-1778

**Mottram, T., Velasco-Garcia, M., Berry, P., Richards, P. et al., 2002**

Automatic On-Line Analysis Of Milk Constituents (Urea, Ketones, Enzymes And Hormones) Using Biosensors  
Comparative Clinical Pathology 11: 50-58

**Nadir, S., Saacke, R. G., Bame, J., Mullins, J. und Degelos, S., 1993**

Effect of freezing semen and dosage of sperm on number of accessory sperm, fertility, and embryo quality in artificially inseminated cattle  
Journal of Animal Science 71: 199-204

**Nakahara, T., Domeki, I. und Yamauchi, M., 1971**

Synchronization of estrous cycle in cows by intrauterine injection with iodine solution  
National Institute of Animal Health Quarterly 11: 219-220

**Navanukraw, C., Redmer, D. A., Reynolds, L. P., Kirsch, J. D. et al., 2004**

A Modified Presynchronization Protocol Improves Fertility to Timed Artificial Insemination in Lactating Dairy Cows  
Journal of Dairy Science 87: 1551-1557

**Nebel, R. L., 1988**

On-Farm Milk Progesterone Tests  
Journal of Dairy Science 71: 1682-1690

**Nebel, R. L., Walker, W. L., McGilliard, M. L., Allen, C. H. und Heckman, G. S., 1994**

Timing of Artificial Insemination of Dairy Cows: Fixed Time Once Daily Versus Morning and Afternoon  
Journal of Dairy Science 77: 3185-3191

**Nebel, R. L., Whittier, W. D., Cassell, B. G. und Britt, J. H., 1987**

Comparison of On-Farm and Laboratory Milk Progesterone Assays for Identifying Errors in Detection of Estrus and Diagnosis of Pregnancy  
Journal of Dairy Science 70: 1471-1476

**Nielsen, N. I., Larsen, T., Bjerring, M. und Ingvarsten, K. L., 2005**

Quarter Health, Milking Interval, and Sampling Time During Milking Affect the Concentration of Milk Constituents  
Journal of Dairy Science 88: 3186-3200

**Noonan, J. J., Schultze, A. B. und Ellington, E. F., 1975**

Changes in Bovine Cervical and Vaginal Mucus during the Estrous Cycle and Early Pregnancy  
Journal of Animal Science 41: 1084-1089

**Olds, D., Seath, D. M., Carpenter, M. C. und Lucas, H. L., 1953**

Interrelationships between site of deposition, dosage, and number of spermatozoa in diluted semen and fertility of dairy cows inseminated artificially  
Journal of Dairy Science 36: 1031-1035

**Ollero, M., Perez-Pe, R., Gargallo, I., Morlanes, S. et al., 2000**

Separation of ram spermatozoa bearing X and Y chromosome by centrifugal countercurrent distribution in an aqueous two-phase system  
Journal of Andrology 21: 921-928

**Ontsouka, C. E., Bruckmaier, R. M. und Blum, J. W., 2003**

Fractionized Milk Composition During Removal of Colostrum and Mature Milk  
Journal of Dairy Science 86: 2005-2011

**Pancarci, S. M., Jordan, E. R., Risco, C. A., Schouten, M. J. et al., 2002**

Use of Estradiol Cypionate in a Presynchronized Timed Artificial Insemination Program for Lactating Dairy Cattle  
Journal of Dairy Science 85: 122-131

**Pemberton, R. M., Hart, J. P. und Foulkes, J. A., 1998**

Development of a sensitive, selective electrochemical immunoassay for progesterone in cow's milk based on a disposable screen-printed amperometric biosensor  
Electrochimica Acta 43: 3567-3574

**Pemberton, R. M., Hart, J. P. und Mottram, T. T., 2001**

An electrochemical immunosensor for milk progesterone using a continuous flow system  
Biosensors and Bioelectronics 16: 715-723

**Pemberton, R. M., Hart, J. P., Stoddard, P. und Foulkes, J. A., 1999**

A comparison of 1-naphthyl phosphate and 4 aminophenyl phosphate as enzyme substrates for use with a screen-printed amperometric immunosensor for progesterone in cows' milk  
Biosensors and Bioelectronics 14: 495-503

**Pennington, J. A., Albright, J. L. und Callahan, C. J., 1986**

Relationships of Sexual Activities in Estrous Cows to Different Frequencies of Observation and Pedometer Measurements  
Journal of Dairy Science 69: 2925-2934

**Pennington, J. A. und Callahan, C. J., 1986**

Use of Mount Detectors Plus Chalk as an Estrous Detection Aid for Dairy Cattle

Journal of Dairy Science 69: 248-252

**Peralta, O. A., Pearson, R. E. und Nebel, R. L., 2005**

Comparison of three estrus detection systems during summer in a large commercial dairy herd  
Animal Reproduction Science 87: 59-72

**Peter, A. T. und Bosu, W. T. K., 1986**

Postpartum ovarian activity in dairy cows: Correlation between behavioral estrus, pedometer measurements and ovulations  
Theriogenology 26: 111-115

**Peters, M. W. und Pursley, J. R., 2002**

Fertility of Lactating Dairy Cows Treated with Ovsynch after Presynchronization Injections of PGF<sub>2</sub>{alpha} and GnRH  
Journal of Dairy Science 85: 2403-2406

**Piccione, G., Caola, G. und Refinetti, R., 2003**

Daily and estrous rhythmicity of body temperature in domestic cattle  
BMC Physiology 3

**Pierson, R. A. und Ginther, O. J., 1984**

Ultrasonography of the bovine ovary  
Theriogenology 21: 495-504

**Pierson, R. A. und Ginther, O. J., 1987**

Reliability of diagnostic ultrasonography for identification and measurement of follicles and detecting the corpus luteum in heifers  
Theriogenology 28: 929-936

**Pieterse, M. C., Taverne, M. A., Kruij, T. A. und Willemsse, A. H., 1990**

Detection of corpora lutea and follicles in cows: a comparison of transvaginal ultrasonography and rectal palpation  
The Veterinary Record 126: 552-554

**Pursley, J. R., Kosorok, M. R. und Wiltbank, M. C., 1997a**

Reproductive Management of Lactating Dairy Cows Using Synchronization of Ovulation  
Journal of Dairy Science 80: 301-306

**Pursley, J. R., Mee, M. O. und Wiltbank, M. C., 1995**

Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF<sub>2</sub>[alpha] and GnRH  
Theriogenology 44: 915-923

**Pursley, J. R., Silcox, R. W. und Wiltbank, M. C., 1998**

Effect of Time of Artificial Insemination on Pregnancy Rates, Calving Rates, Pregnancy Loss, and Gender Ratio After Synchronization of Ovulation in Lactating Dairy Cows  
Journal of Dairy Science 81: 2139-2144

**Pursley, J. R., Wiltbank, M. C., Stevenson, J. S., Ottobre, J. S. et al., 1997b**

Pregnancy Rates Per Artificial Insemination for Cows and Heifers Inseminated at a Synchronized Ovulation or Synchronized Estrus  
Journal of Dairy Science 80: 295-300

**Rabiee, A. R., Lean, I. J. und Stevenson, M. A., 2005**

Efficacy of Ovsynch Program on Reproductive Performance in Dairy Cattle: A Meta-Analysis  
Journal of Dairy Science 88: 2754-2770

**Rajamahendran, R., Robinson, J., Desbottes, S. und Walton, J. S., 1989**

Temporal relationships among estrus, body temperature, milk yield, progesterone and luteinizing hormone levels, and ovulation in dairy cows  
Theriogenology 31: 1173-1182

**Rameshkumar, K., Achiraman, S., Karthikeyan, K. und Archunan, G., 2008**

Ability of mice to detect estrous odor in bovine urine: roles of hormones and behavior in odor discrimination  
Zoologic Science 25: 349-354

**Ranasinghe, R. M. S. B. K., Nakao, T. und Kobayashi, A., 2008**

Incidence of Error in Oestrus Detection Based on Secondary Oestrus Signs in a 24-h Tie-Stalled Dairy Herd with Low Fertility  
Reproduction in Domestic Animals 9999

**Rankin, T. A., Smith, W. R., Shanks, R. D. und Lodge, J. R., 1992**

Timing of Insemination in Dairy Heifers  
Journal of Dairy Science. 75: 2840-2845

**Redden, K. D., Kennedy, A. D., Ingalls, J. R. und Gilson, T. L., 1993**

Detection of Estrus by Radiotelemetric Monitoring of Vaginal and Ear Skin Temperature and Pedometer Measurements of Activity  
Journal of Dairy Science 76: 713-721

**Refsal, K. R. und Seguin, B. E., 1980**

Effect of stage of diestrus and number of cloprostenol (ICI 80, 996) injections on intervals to estrus, LH peak and ovulation in heifers  
Theriogenology 14: 37-48

**Reimers, T. J., Smith, R. D. und Inewman, S. K., 1985**

Management Factors Affecting Reproductive Performance of Dairy Cows in the Northeastern United States  
Journal of Dairy Science 68: 963-972

**Repasi, A., Beckers, J. F., Sulon, J., Perenyi, Z. et al., 2003**

Effect of different doses of prostaglandin on the area of corpus luteum, the largest follicle and progesterone concentration in the dairy cow  
Reproduction in Domestic Animals 38: 423-428

**Ribadu, A. Y., Ward, W. R. und Dobson, H., 1994**

Comparative evaluation of ovarian structures in cattle by palpation per rectum, ultrasonography and plasma progesterone concentration  
The Veterinary Record 135: 452-457

**Roberson, M. S., Wolfe, M. W., Stumpf, T. T., Kittok, R. J. und Kinder, J. E., 1989**

Luteinizing hormone secretion and corpus luteum function in cows receiving two levels of progesterone  
Biology of Reproduction 41: 997-1003

**Roche, J. F., 1974a**



Effect of Short-term Progesterone Treatment on Oestrous Response and Fertility in Heifers  
Journal of Reproduction and Fertility 40: 433-440

**Roche, J. F., 1974b**

Synchronization of oestrus and fertility following artificial insemination in heifers given prostaglandin F 2 alpha  
Journal of Reproduction and Fertility 37: 135-138

**Roche, J. F., 1975**

Synchronization of oestrus in cows using intravaginal silastic coils containing progesterone  
Annales de biologie animale, biochimie, biophysique 15: 301-302

**Roche, J. F., 1976**

Calving Rate of Cows following Insemination after a 12-Day Treatment with Silastic Coils Impregnated with Progesterone  
Journal of Animal Science 43: 164-169

**Roche, J. F., Prendiville, D. J. und Davis, W. D., 1977**

Calving rate following fixed time insemination after a 12-day progesterone treatment in dairy cows, beef cows and heifers  
The Veterinary Record 101: 417-419

**Rodetter, G. H., Hopwood, M. L. und Wiltbank, J. N., 1972**

LH and Estrogen following Estrous Control  
Journal of Animal Science 34: 901

**Roelofs, J. B., Bouwman, E. G., Dieleman, S. J., Van Eerdenburg, F. J. C. M. et al., 2004**

Influence of repeated rectal ultrasound examinations on hormone profiles and behaviour around oestrus and ovulation in dairy cattle  
Theriogenology 62: 1337-1352

**Roelofs, J. B., Graat, E. A. M., Mullaart, E., Soede, N. M. et al., 2006a**

Effects of insemination-ovulation interval on fertilization rates and embryo characteristics in dairy cattle  
Theriogenology 66: 2173-2181

**Roelofs, J. B., Van Eerdenburg, F. J. C. M., Hazeleger, W., Soede, N. M. und Kemp, B., 2006b**

Relationship between progesterone concentrations in milk and blood and time of ovulation in dairy cattle  
Animal Reproduction Science 91: 337-343

**Roelofs, J. B., van Eerdenburg, F. J. C. M., Soede, N. M. und Kemp, B., 2005a**

Pedometer readings for estrous detection and as predictor for time of ovulation in dairy cattle  
Theriogenology 64: 1690-1703

**Roelofs, J. B., van Eerdenburg, F. J. C. M., Soede, N. M. und Kemp, B., 2005b**

Various behavioral signs of estrous and their relationship with time of ovulation in dairy cattle  
Theriogenology 63: 1366-1377

**Rorie, R. W., Bilby, T. R. und Lester, T. D., 2002**

Application of electronic estrus detection technologies to reproductive management of cattle  
Theriogenology 57: 137-148

**Saacke, R. G., Dalton, J. C., Nadir, S., Nebel, R. L. und Bame, J. H., 2000**

Relationship of seminal traits and insemination time to fertilization rate and embryo quality  
Animal Reproduction Science 60-61: 663-677

**Salisbury, G. W. und Vandemark, N. L., 1951**

The effect of cervical, uterine and cornual insemination on fertility of the dairy cow  
Journal of Dairy Science 34: 68-74

**Sanchez, T., Wehrman, M. E., Bergfeld, E. G., Peters, K. E. et al., 1993**

Pregnancy rate is greater when the corpus luteum is present during the period of progestin treatment to synchronize time of estrus in cows and heifers  
Biology of Reproduction 49: 1102-1107

**Saragusty, J., Gacitua, H., Zeron, Y., Rozenboim, I. und Arav, A., 2009**

Double freezing of bovine semen  
Animal Reproduction Science 115: 10-17

**Sawyer, G. J. und Fulkerson, W. J., 1981**

The effectiveness of steers and heifers treated with oestrogen or testosterone to detect oestrus in cattle  
Animal Reproduction Science 3: 259-269

**Sawyer, G. J., Russell-Brown, I. D. und Silcock, J. K., 1986**

A comparison of three methods of oestrus detection in commercial dairy herds verified by serum progesterone analysis  
Animal Reproduction Science 10: 1-10

**Schenk, J. L., Suh, T. K., Cran, D. G. und Seidel, J. G. E., 1999**

Cryopreservation of flow-sorted bovine spermatozoa  
Theriogenology 52: 1375-1391

**Schilling, E. und Züst, J., 1968**

Diagnosis of Oestrus an Ovulation in Cows by pH-measurements intra vaginam and by Apparent Viscosity of Vaginal Mucus  
Journal of Reproduction and Fertility 15: 307-311

**Schofield, S. A., Phillips, C. J. C. und Owens, A. R., 1991**

Variation in the milk production, activity rate and electrical impedance of cervical mucus over the oestrous period of dairy cows  
Animal Reproduction Science 24: 231-248

**Schon, P. C., Hamel, K., Puppe, B., Tuchscherer, A. et al., 2007**

Altered Vocalization Rate During the Estrous Cycle in Dairy Cattle  
Journal of Dairy Science 90: 202-206

**Schummer, A. und Vollmerhaus, B., 1987**

Harn- und Geschlechtsapparat

In: K. H. Habermehl, B. Vollmerhaus und H. Wilkens (Hrsg.): Eingeweide. Lehrbuch der Anatomie der Haustiere Band 2, S. 300-420 Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg

**Seidel, G. E., Herickhoff, L. A., Schenk, J. L., Doyle, S. P. und Green, R. D., 1998**

Artificial insemination of heifers with cooled, unfrozen sexed semen  
Theriogenology 49: 365

**Seidel, G. E., Jr., 1981**

Superovulation and embryo transfer in cattle  
 Science 211: 351-358

**Seidel, G. E., Jr., Schenk, J. L., Herickhoff, L. A., Doyle, S. P. et al., 1999**

Insemination of heifers with sexed sperm  
 Theriogenology 52: 1407-1420

**Seidel, J. G. E., Allen, C. H., Johnson, L. A., Holland, M. D. et al., 1997**

Uterine horn insemination of heifers with very low numbers of nonfrozen and sexed spermatozoa  
 Theriogenology 48: 1255-1264

**Seidel Jr, G. E. und Garner, D. L., 2002**

Current status of sexing mammalian spermatozoa  
 Reproduction 124: 733-743

**Senger, P. L., 1994**

The estrus detection problem: new concepts, technologies, and possibilities  
 Journal of Dairy Science 77: 2745-2753

**Senger, P. L., Becker, W. C., Davidge, S. T., Hillers, J. K. und Reeves, J. J., 1988**

Influence of cornual insemination on conception in dairy cattle  
 Journal of Animal Science 66: 3010-3016

**Shannon, P. und Curson, B., 1984**

Effect of storage temperature on the viability and fertility of bovine sperm diluted and stored in Caprogen  
 New Zealand Journal of Agricultural Research 27: 173-177

**Silcox, R. W., Powell, K. L., Pursley, J. R. und Wiltbank, M. C., 1995**

Use of GnRH to synchronize ovulation in holstein cows and heifers treated with GnRH and prostaglandin  
 Theriogenology 43: 325

**Simersky, R., Swaczynova, J., Morris, D. A., Franek, M. und Strnad, M., 2007**

Development of an ELISA-based kit for the on-farm determination of progesterone in milk  
 Veterinarni Medicina 52: 19-28

**Sinowatz, F., 1991**

Befruchtung  
 In: I. Rüsse und F. Sinowatz (Hrsg.): Lehrbuch der Embryologie der Haustiere Band 1, S. 117-130  
 Verlag Paul Parey, Berlin/Hamburg

**Sirois, J. und Fortune, J. E., 1988**

Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography  
 Biology of Reproduction 39: 308-317

**Skjerven, O., 1955**

Conception in a heifer after deposition of semen in the abdominal cavity  
 Fertility and Sterility 6: 66-67

**Smith, J. W., Spahr, S. L. und Puckett, H. B., 1989**

Electrical Conductivity of Reproductive Tissue for Detection of Estrus in Dairy Cows  
Journal of Dairy Science 72: 693-701

**Smith, M. W. und Stevenson, J. S., 1995**

Fate of the dominant follicle, embryonal survival, and pregnancy rates in dairy cattle treated with prostaglandin F2 alpha and progestins in the absence or presence of a functional corpus luteum  
Journal of Animal Science 73: 3743-3751

**Smith, R. D., Pomerantz, A. J., Beal, W. E., McCann, J. P. et al., 1984**

Insemination of Holstein Heifers at a Preset Time after Estrous Cycle Synchronization Using Progesterone and Prostaglandin  
Journal of Animal Science 58: 792-800

**Spitzer, J. C., Miksch, D. und Wiltbank, J. N., 1976**

Synchronisation following norgestomet and 5 mg or 6 mg estradiol valerate  
Journal of Animal Science 43: 305-306

**Sprecher, D. J., Nebel, R. L. und Whittier, W. D., 1988**

Predictive value of palpation per rectum vs milk and serum progesterone levels for the diagnosis of bovine follicular and luteal cysts  
Theriogenology 30: 701-710

**Sprott, L. R., Wiltbank, J. N., Songster, W. N. und Webel, S., 1984**

Estrus and ovulation in beef cows following use of progesterone-releasing devices, progesterone and estradiol valerate  
Theriogenology 21: 349-356

**Sreenan, J. M., 1975**

Effect of long- and short-term intravaginal progestagen treatments on synchronization of oestrus and fertility in heifers  
Journal of Reproduction and Fertility 45: 479-485

**Sreenan, J. M. und Mulvehill, P., 1975**

The application of long- and short-term progestagen treatments for oestrous cycle control in heifers  
Journal of Reproduction and Fertility 45: 367-369

**Stellflug, J. N., 1973**

Luteolysis after 30 or 60 mg PGF2{alpha} in heifers  
Journal of Animal Science 37: 330

**Sterry, R. A., Jardon, P. W. und Fricke, P. M., 2007**

Effect of timing of Cosynch on fertility of lactating Holstein cows after first postpartum and Resynch timed-AI services  
Theriogenology 67: 1211-1216

**Sterry, R. A., Welle, M. L. und Fricke, P. M., 2006**

Effect of Interval from Timed Artificial Insemination to Initiation of Resynchronization of Ovulation on Fertility of Lactating Dairy Cows  
Journal of Dairy Science 89: 2099-2109

**Stevenson, J. S., 2001**

A review of oestrous behaviour and detection in dairy cows

BSAS Occasional Publication 26, Fertility in the High-Producing Dairy Cow 1: 43-62

**Stevenson, J. S., Cartmill, J. A., Hensley, B. A. und El-Zarkouny, S. Z., 2003a**

Conception rates of dairy cows following early not-pregnant diagnosis by ultrasonography and subsequent treatments with shortened Ovsynch protocol  
Theriogenology 60: 475-483

**Stevenson, J. S., Higgins, J. J. und Jung, Y., 2009**

Pregnancy outcome after insemination of frozen-thawed bovine semen packaged in two straw sizes: A meta-analysis  
Journal of Dairy Science 92: 4432-4438

**Stevenson, J. S., Kobayashi, Y., Shipka, M. P. und Rauchholz, K. C., 1996**

Altering Conception of Dairy Cattle by Gonadotropin-Releasing Hormone Preceding Luteolysis Induced by Prostaglandin F2alpha  
Journal of Dairy Science 79: 402-410

**Stevenson, J. S., Kobayashi, Y. und Thompson, K. E., 1999**

Reproductive Performance of Dairy Cows in Various Programmed Breeding Systems Including OvSynch and Combinations of Gonadotropin-Releasing Hormone and Prostaglandin F2alpha  
Journal of Dairy Science 82: 506-515

**Stevenson, J. S., Lamb, G. C., Johnson, S. K., Medina-Britos, M. A. et al., 2003b**

Supplemental norgestomet, progesterone, or melengestrol acetate increases pregnancy rates in suckled beef cows after timed inseminations  
Journal of Animal Science 81: 571-586

**Stevenson, J. S., Lamb, G. C., Kobayashi, Y. und Hoffman, D. P., 1998**

Luteolysis During Two Stages of the Estrous Cycle: Subsequent Endocrine Profiles Associated with Radiotelemetrically Detected Estrus in Heifers  
Journal of Dairy Science 81: 2897-2903

**Stevenson, J. S., Lucy, M. C. und Call, E. P., 1987**

Failure of timed inseminations and associated luteal function in dairy cattle after two injections of prostaglandin F2-alpha  
Theriogenology 28: 937-946

**Stevenson, J. S., Mee, M. O. und Stewart, R. E., 1989**

Conception Rates and Calving Intervals After Prostaglandin F2 {alpha} or Prebreeding Progesterone in Dairy Cows  
Journal of Dairy Science 72: 208-218

**Stevenson, J. S., Schmidt, M. K. und Call, E. P., 1983**

Estrous Intensity and Conception Rates in Holsteins  
Journal of Dairy Science 66: 275-280

**Stevenson, J. S., Schmidt, M. K. und Call, E. P., 1984**

Stage of Estrous Cycle, Time of Insemination, and Seasonal Effects on Estrus and Fertility of Holstein Heifers after Prostaglandin F2{alpha}  
Journal of Dairy Science 67: 1798-1805

**Stewart, D. L. und Melrose, D. R., 1952**

The comparative efficiency of the intra-cervical and intra-uterine methods of insemination in the dairy cow

The Veterinary Record 64: 605-607

**Stock, A. E. und Fortune, J. E., 1993**

Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters

Endocrinology 132: 1108-1114

**Tanabe, T. Y. und Hann, R. C., 1984**

Synchronized Estrus and Subsequent Conception in Dairy Heifers Treated with Prostaglandin F<sub>2</sub>{alpha}. I. Influence of Stage of Cycle at Treatment

Journal of Animal Science 58: 805-811

**Tenhagen, B.-A., Surholt, R., Wittke, M., Vogel, C. et al., 2004a**

Use of Ovsynch in dairy herds--differences between primiparous and multiparous cows

Animal Reproduction Science 81: 1-11

**Tenhagen, B. A., Drillich, M. und Heuwieser, W., 2000**

Synchronization of Lactating Dairy Cows with Prostaglandin F<sub>2</sub>: Insemination on Observed Oestrus versus Timed Artificial Insemination

Journal of Veterinary Medicine Series A 47: 577-584

**Tenhagen, B. A., Drillich, M. und Heuwieser, W., 2001**

Analysis of cow factors influencing conception rates after two timed breeding protocols

Theriogenology 56: 831-838

**Tenhagen, B. A., Drillich, M., Surholt, R. und Heuwieser, W., 2004b**

Comparison of Timed AI After Synchronized Ovulation to AI at Estrus: Reproductive and Economic Considerations

Journal of Dairy Science 87: 85-94

**Thatcher, W. W., Macmillan, K. L., Hansen, P. J. und Drost, M., 1989**

Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility

Theriogenology 31: 149-164

**Thompson, K. E., Stevenson, J. S., Lamb, G. C., Grieger, D. M. und Loest, C. A., 1999**

Follicular, hormonal, and pregnancy responses of early postpartum suckled beef cows to GnRH, norgestomet, and prostaglandin F<sub>2</sub>alpha

Journal of Animal Science 77: 1823-1832

**Trimberger, G. W., 1948**

Breeding efficiency in dairy cattle from artificial insemination at various intervals before and after ovulation

Nebraska Agricultural Experiment Station Research Bulletin 153: 1-26

**Trimberger, G. W. und Hansel, W., 1955**

Conception Rate and Ovarian Function Following Estrus Control by Progesterone Injections in Dairy Cattle

Journal of Animal Science 14: 224-232

**Tschmelak, J., Käppel, N. und Gauglitz, G., 2005**

TIRF-based biosensor for sensitive detection of progesterone in milk based on ultra-sensitive progesterone detection in water  
Analytical and Bioanalytical Chemistry 382: 1895-1903

**Tschmelak, J., Proll, G. und Gauglitz, G., 2004**

Verification of performance with the automated direct optical TIRF immunosensor (River Analyser) in single and multi-analyte assays with real water samples  
Biosensors and Bioelectronics 20: 743-752

**Tubman, L. M., Brink, Z., Suh, T. K. und Seidel, G. E., Jr., 2004**

Characteristics of calves produced with sperm sexed by flow cytometry/cell sorting  
Journal of Animal Science 82: 1029-1036

**Twagiramungu, H., Guilbault, L. A., Proulx, J. und Dufour, J. J., 1992a**

Synchronization of estrus and fertility in beef cattle with two injections of buserelin and prostaglandin  
Theriogenology 38: 1131-1144

**Twagiramungu, H., Guilbault, L. A., Proulx, J., Ramkumar, R. und Dufour, J. J., 1994a**

Histological populations and atresia of ovarian follicles in postpartum cattle treated with an agonist of gonadotropin-releasing hormone  
Journal of Animal Science 72: 192-200

**Twagiramungu, H., Guilbault, L. A., Proulx, J., Villeneuve, P. und Dufour, J. J., 1992b**

Influence of an agonist of gonadotropin-releasing hormone (buserelin) on estrus synchronization and fertility in beef cows  
Journal of Animal Science 70: 1904-1910

**Twagiramungu, H., Guilbault, L. A., Proulx, J. G. und Dufour, J. J., 1994b**

Influence of corpus luteum and induced ovulation on ovarian follicular dynamics in postpartum cyclic cows treated with buserelin and cloprostenol  
Journal of Animal Science 72: 1796-1805

**Twagiramungu, H., Roy, G. L., Laverdière, G. und Dufour, J. J., 1995**

Fixed-time insemination in cattle after synchronization of estrus and ovulation with GnRH and prostaglandin  
Theriogenology 43: 341-341

**Ulberg, L. C. und Lindley, C. E., 1960**

Use of Progesterone and Estrogen in the Control of Reproductive Activities in Beef Cattle  
Journal of Animal Science 19: 1132-1142

**Underwood, S. L., Bathgate, R., Ebsworth, M., Maxwell, W. M. C. und Evans, G., 2010**

Pregnancy loss in heifers after artificial insemination with frozen-thawed, sex-sorted, re-frozen-thawed dairy bull sperm  
Animal Reproduction Science 118: 7-12

**Underwood, S. L., Bathgate, R., Maxwell, W. M. C. und Evans, G., 2009**

In vitro characteristics of frozen-thawed, sex-sorted bull sperm after refreezing or incubation at 15 or 37 °C  
Theriogenology 72: 1001-1008

**Valdez, K. E., Cuneo, S. P. und Turzillo, A. M., 2005**

Regulation of apoptosis in the atresia of dominant bovine follicles of the first follicular wave following ovulation

Reproduction 130: 71-81

**Van Asseldonk, M. A. P. M., Huirne, R. B. M., Dijkhuizen, A. A., Tomaszewski, M. A. und Harbers, A. G. F., 1998**

Effects of Information Technology on Dairy Farms in The Netherlands: An Empirical Analysis of Milk Production Records

Journal of Dairy Science 81: 2752-2759

**van de Wiel, D. F. M. und Koops, W., 1986**

Development and validation of an enzyme immunoassay for progesterone in bovine milk or blood plasma

Animal Reproduction Science 10: 201-213

**Van Eerdenburg, F. J. C. M., Karthaus, D., Taverne, M. A. M., Mercis, I. und Szenci, O., 2002**

The Relationship between Estrous Behavioral Score and Time of Ovulation in Dairy Cattle

Journal of Dairy Science 85: 1150-1156

**Van Eerdenburg, F. J. C. M., Loeffler, H. S. H. und Van Vliet, J. H., 1996**

Detection of oestrus in dairy cows: A new approach to an old problem

The Veterinary Quarterly 18: 52-54

**van Munster, E. B., Stap, J., Hoebe, R. A., te Meerman, G. J. und Aten, J. A., 1999**

Difference in sperm head volume as a theoretical basis for sorting X- and Y-bearing spermatozoa: Potentials and limitations

Theriogenology 52: 1281-1293

**Van Vliet, J. H. und Van Eerdenburg, F. J. C. M., 1996**

Sexual activities and oestrus detection in lactating Holstein cows

Applied Animal Behaviour Science 50: 57-69

**VanBlake, H., Brunner, M. A. und Hansel, W., 1963**

Use of 6-Chloro- $\Delta^6$ -Dehydro-17-Acetoxyprogesterone (CAP) in Estrous Cycle Synchronization of Dairy Cattle

Journal of Dairy Science 46: 459-462

**VanEtten, T., Ireland, F., Vandever, D., Kesler, D. und Wheeler, M., 2006**

Evaluation of a novel electronic estrus detection device in recipients synchronized for embryo transfer

Reproduction, Fertility and Development 18: 204-205

**Vangroenweghe, F., Dosogne, H. und Burvenich, C., 2002**

Composition and Milk Cell Characteristics in Quarter Milk Fractions of Dairy Cows with Low Cell Count

The Veterinary Journal 164: 254-260

**Vasconcelos, J. L. M., Silcox, R. W., Rosa, G. J. M., Pursley, J. R. und Wiltbank, M. C., 1999**

Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows

Theriogenology 52: 1067-1078

**Verberckmoes, S., Van Soom, A., De Pauw, I., Dewulf, J. et al., 2004**



Assessment of a new utero-tubal junction insemination device in dairy cattle  
 Theriogenology 61: 103-115

**Verberckmoes, S., Van Soom, A., Dewulf, J., Thys, M. und de Kruif, A., 2005**

Low dose insemination in cattle with the Ghent device  
 Theriogenology 64: 1716-1728

**Vishwanath, R., 2003**

Artificial insemination: the state of the art  
 Theriogenology 59: 571-584

**Vishwanath, R. und Shannon, P., 1997**

Do sperm cells age? A review of the physiological changes in sperm during storage at ambient temperature  
 Reproduction, Fertility and Development 9: 321-331

**Vishwanath, R. und Shannon, P., 2000**

Storage of bovine semen in liquid and frozen state  
 Animal Reproduction Science 62: 23-53

**Wagner, J. F., Veenhuizen, E. L., Gregory, R. P. und Tonkinson, L. V., 1968**

Fertility in the Beef Heifer following Treatment with 6-Chloro  $\Delta^6$ -17 Acetoxyprogesterone  
 Journal of Animal Science 27: 1627-1630

**Waldmann, A., Ropstad, E., Landsverk, K., Sørensen, K. et al., 1999**

Level and distribution of progesterone in bovine milk in relation to storage in the mammary gland  
 Animal Reproduction Science 56: 79-91

**Walker, S., Smith, R., Jones, D., Routly, J. et al., 2010**

The Effect of a Chronic Stressor, Lameness, on Detailed Sexual Behaviour and Hormonal Profiles in Milk and Plasma of Dairy Cattle  
 Reproduction in Domestic Animals 45: 109-117

**Walker, S. L., Smith, R. F., Jones, D. N., Routly, J. E. und Dobson, H., 2008**

Chronic stress, hormone profiles and estrus intensity in dairy cattle  
 Hormones and Behavior 53: 493-501

**Walker, W. L., Nebel, R. L. und McGilliard, M. L., 1996**

Time of Ovulation Relative to Mounting Activity in Dairy Cattle  
 Journal of Dairy Science 79: 1555-1561

**Walton, J. S. und King, G. J., 1986**

Indicators of Estrus in Holstein Cows Housed in Tie Stalls  
 Journal of Dairy Science 69: 2966-2973

**Weeth, H. J. und Herman, H. A., 1951**

Comparative efficiency of intracervical and intrauterine methods of insemination in dairy cattle  
 Journal of Dairy Science 34: 195-198

**Wehrman, M. E., Roberson, M. S., Cupp, A. S., Kojima, F. N. et al., 1993**

Increasing exogenous progesterone during synchronization of estrus decreases endogenous 17 beta-estradiol and increases conception in cows  
 Biology of Reproduction 49: 214-220

**Weitze, K. F. und Petrunkina, A. M., 2007**

Samenkonservierung, biochemische Grundlagen und Prinzipien der Einfrier- und Auftautechniken  
In: W. Busch und D. Waberski (Hrsg.): Künstliche Besamung bei Haus- und Nutztieren, S. 119-131  
Schattauer, Stuttgart, New York

**White, F. J., Wettemann, R. P., Looper, M. L., Prado, T. M. und Morgan, G. L., 2002**

Seasonal effects on estrous behavior and time of ovulation in nonlactating beef cows  
Journal of Animal Science 80: 3053-3059

**Williams, B. L., Gwazdauskas, F. C., Whittier, W. D., Pearson, R. E. und Nebel, R. L., 1988**

Impact of site of inseminate deposition and environmental factors that influence reproduction of dairy cattle  
Journal of Dairy Science 71: 2278-2283

**Williams, W. F., Yver, D. R. und Gross, T. S., 1981**

Comparison of Estrus Detection Techniques in Dairy Heifers  
Journal of Dairy Science 64: 1738-1741

**Williamson, N. B., Morris, R. S., Blood, D. C., Cannon, C. M. und Wright, P. J., 1972**

A Study of Oestrous Behaviour and Oestrus Detection Methods in a Large Commercial Dairy Herd  
The Veterinary Record 91: 58-62

**Wiltbank, J. N. und Gonzalez-Padilla, E., 1975**

Synchronization and induction of estrus in heifers with a progestagen and estrogen  
Annales de biologie animale, biochimie, biophysique 15: 255-262

**Wiltbank, J. N., Ingalls, J. E. und Rowden, W. W., 1961**

Effects of various forms and levels of estrogens alone or in combinations with gonadotrophins on the estrous cycle of beef heifers  
Journal of Animal Science 20: 341-346

**Wiltbank, J. N. und Kasson, C. W., 1968**

Synchronization of Estrus in Cattle with an Oral Progestational Agent and an Injection of an Estrogen  
Journal of Animal Science 27: 113-116

**Wiltbank, J. N., Sturges, J. C., Wideman, D., LeFever, D. G. und Faulkner, L. C., 1971**

Control of Estrus and Ovulation using Subcutaneous Implants and Estrogens in Beef Cattle  
Journal of Animal Science 33: 600-606

**Wiltbank, J. N., Zimmerman, D. R., Ingalls, J. E. und Rowden, W. W., 1965**

Use of Progestational Compounds Alone or in Combination with Estrogen for Synchronization of Estrus  
Journal of Animal Science 24: 990-994

**Wise, T. H., Caton, D., Thatcher, W. W., Barron, D. H. und Fields, M. J., 1982**

Ovarian Function During the Estrous Cycle of the Cow: Ovarian Blood Flow and Progesterone Release Rate  
Journal of Animal Science 55: 627-637

**Wolfenson, D., Thatcher, W. W., Savio, J. D., Badinga, L. und 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: 633-644

**Xu, Z. Z., Burton, L. J. und Macmillan, K. L., 1997**

Reproductive performance of lactating dairy cows following estrus synchronization regimens with PGF<sub>2</sub>[alpha] and progesterone

Theriogenology 47: 687-701

**Xu, Z. Z., McKnight, D. J., Vishwanath, R., Pitt, C. J. und Burton, L. J., 1998**

Estrus Detection Using Radiotelemetry or Visual Observation and Tail Painting for Dairy Cows on Pasture

Journal of Dairy Science 81: 2890-2896

**Zimbelman, R. G., Lauderdale, J. W., Sokolowski, J. H. und Schalk, T. G., 1970**

Safety and pharmacologic evaluations of melengestrol acetate in cattle and other animals: A review

Journal of the American Veterinary Medical Association 157: 1528-1536