

Aus dem Department für Nutztiere und öffentliches Gesundheitswesen in der
Veterinärmedizin

der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Klinik für Wiederkäuer

Klinische Abteilung für Bestandsbetreuung bei Wiederkäuern

(Leiter: Univ.-Prof. Dr.med.vet. Marc Drillich, Diplomate ECBHM, Diplomate ECAR)

**Effekte der Supplementierung von Pansen-geschütztem Methionin
auf die Trächtigkeitsdauer von Milchkühen und das Geburtsgewicht
der Kälber**

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von
Ernst Bachinger

Wien, im September 2022

Betreuer: Univ.-Prof. Dr.med.vet. Marc Drillich

Gutachter: Priv.-Doz. Dr.med.vet. Johannes Khol

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Trächtigkeitsdauer	3
1.2. Geburtsgewicht	4
2. Material und Methoden	5
2.1. Versuchsaufbau	5
2.2. Auswahl der Studientiere	6
2.3. Statistische Methoden	7
3. Ergebnisse	8
3.1. Erfassung der Kälber der Studientiere	8
3.2. Test auf Normalverteilung	9
3.3. Deskriptive Statistik	10
3.4. Gegenüberstellung der Gruppen CON und MET	11
3.5. Bivariate Korrelation	14
4. Diskussion	16
5. Schlussfolgerung	20
6. Zusammenfassung	21
7. Summary	22
8. Literaturverzeichnis	23
9. Abbildungsverzeichnis	27
10. Danksagung	28

1. Einleitung

Das Ziel bei der Zucht von Milchkühen ist einerseits, eine hohe Milchleistung und andererseits eine gute Fruchtbarkeit und Gesundheit zu erreichen beziehungsweise zu erhalten. Seit einigen Jahren wird kontrovers diskutiert, ob eine intensive genetische Selektion auf hohe Milchleistung die Fruchtbarkeit von Milchkühen negativ beeinflusst hat (Lucy 2001, Leblanc 2010, Rearte et al. 2018). Eine verminderte Fruchtbarkeitsleistung wäre demnach bedingt durch eine schlechtere Ausprägung des Östrus, defekte Eizellen und Embryonen sowie vermehrte Infektionen und Entzündungen des Uterus bei Tieren mit hoher Milchleistung (Dobson et al. 2007). Manche Studien haben versucht zu belegen, dass eine Supplementierung von essentiellen Aminosäuren, insbesondere Methionin, Einfluss auf die Reproduktionsleistung von Milchkühen hat (Hugentobler et al. 2007, Groebner et al. 2011). Methionin, die in der Rinderfütterung am stärksten limitierenden Aminosäure (National Research Council (U.S.) und Subcommittee on Dairy Cattle Nutrition 2001), wurden in mehreren Meta-Analysen positive Effekte auf die Milchproduktion zugeschrieben (Patton 2010, Zanton et al. 2014). Peñagaricano et al. (2013) zeigten, dass die Supplementierung von Pansen-geschütztem Methionin (rumen-protected methionine, RPM) in der perikonzeptionellen Periode die Expression der meisten untersuchten embryonalen Gene reduzierte. Somit konnte ein direkter Effekt einer RPM-Gabe an das Muttertier auf die Entwicklung des Embryos gezeigt werden. Dies ging einher mit einer verringerten Transkription von Genen mit erhöhter Methylierung spezifischer Gene (Peñagaricano et al. 2013).

Diese veränderte Genexpression könnte der Grund für den von Acosta et al. (2016) festgestellten Effekt sein, dass die Supplementierung von RPM zwischen Tag 21 präpartum und Tag 30 postpartum die Fettakkumulation des Embryos vor der Einnistung erhöhte und damit die Wahrscheinlichkeit zu überleben steigerte (Acosta et al. 2016). Außerdem wurde festgestellt, dass die zusätzliche Fütterung von RPM und Pansen-geschütztem Cholin im selben Zeitraum die Konzentration von Methionin in der folliculären Flüssigkeit des dominanten Follikels ansteigen ließ. Diese erhöhte Methionin-Konzentration könnte auch Auswirkungen auf die Qualität der Eizellen und den entstehenden Embryo haben (Acosta et al. 2017).

Weiters gibt es Hinweise, dass die Supplementierung von RPM von Tag 21 präpartum bis Tag 73 postpartum die Immunkompetenz des Uterus durch eine vermehrte Infiltration mit neutrophilen Granulozyten anhebt (Stella et al. 2018).

In den genannten Studien wurden Einzeltiere untersucht. Der Einfluss der Supplementierung von RPM auf Herdenniveau wurde allerdings nur selten analysiert. Toledo et al. (2017) konnten zeigen, dass die tägliche Zufütterung von 21,2 g RPM von Tag 30 bis Tag 126 post partum die Entwicklung des Embryos begünstigen kann und mehr Trächtigkeiten erhalten bleiben. Es konnte jedoch keine Verbesserung des Besamungserfolges beziehungsweise keine Verringerung des Besamungsindex festgestellt werden (Toledo et al. 2017).

In einer weiteren Studie auf Herdenniveau wurde gezeigt, dass der Erstbesamungserfolg in keinem Zusammenhang mit der Supplementierung von RPM stand und auch weitere Fruchtbarkeitskennzahlen durch die Gabe von RPM nicht beeinflusst wurde (Süss et al. 2019). Die Autoren der letztgenannten Studie hoben hervor, dass die gezeigten Ergebnisse als spezifisch für den Studienbetrieb angesehen werden sollten. Dennoch ergibt sich aus den zitierten Studien in der Zusammenschau die Frage, wie groß ein praxisrelevanter Effekt durch die positive Beeinflussung der embryonalen Überlebensfähigkeit (Acosta et al. 2016, 2017, Stella et al. 2018) sein kann, auch wenn RPM keine unmittelbare Auswirkung auf den Besamungserfolg hat (Süss et al. 2019). Neben einer erhöhten Überlebenswahrscheinlichkeit des Embryos wären auch mögliche Effekte auf die Entwicklung des Fetus und das Geburtsgewicht der Kälber Hinweise auf einen effektiven Einsatz der RPM Supplementierung, wie in einer aktuellen Arbeit von Silva et al (2021) gezeigt.

Aus Embryonen, denen während der *in-vitro*-Fertilisation zusätzliche Cholin zugesetzt wurde, entwickelten sich bei verlängerter Trächtigkeitsdauer Kälber mit höherem Geburtsgewicht. Diese Kälber hatten zudem bessere Tageszunahmen und waren bis zum Absetzen den Vergleichskälbern aus unbehandelten Embryonen im Gewicht voraus (Estrada-Cortés et al. 2021). Cholin kann bei ausreichender Menge von Methionin durch Übertragung einer Methylgruppe von Methionin auf Ethanolamin synthetisiert werden. Damit stehen der Cholin- und Methionin-Haushalt, die beide als Methylgruppen-Donoren agieren können, in einem engem Zusammenhang (Königshoff und

Brandenburger 2012). Die Zufütterung von Methionin hatte im Vergleich zur Zufütterung von Cholin einen günstigeren Effekt auf die Leberfunktion sowie den Entzündungs- und Immunstatus von peripartalen Milchkühen (Zhou et al. 2016).

Bei Schweinen ist eine stärkere Gewichtszunahme während der Trächtigkeit durch die Supplementierung von Methylgruppen-Donoren wie Methionin von 10 Tagen vor der künstlichen Besamung bis zur Schlachtung bzw. Probengewinnung (35, 63 und 91 Tage nach Besamung) belegt (Oster et al. 2016). Auch dies kann als Hinweis darauf gewertet werden, dass eine Gabe von Methionin einen Effekt auf den wachsenden Embryo und nachfolgend das Jungtier haben kann.

Aus den genannten Arbeiten leitet sich die Hypothese für die vorliegende Studie ab, dass die Supplementierung von RPM in der postpartalen und perikonzeptionellen Periode einen Effekt auf die Trächtigkeitsdauer von multiparen Milchkühen sowie das Geburtsgewicht der Kälber hat.

1.1. Trächtigkeitsdauer

Die physiologische Trächtigkeitsdauer von Rindern beträgt 270 bis 295 Tage und ist abhängig von dem Alter und der Rasse des Muttertieres, dem Geschlecht des Nachwuchses und dem Auftreten von Einlings- oder Mehrlingsgeburten (Busch 1993, Dhakal et al. 2013) Bei Primipara verkürzt sich die Trächtigkeitsdauer um ca. 1 bis 2 Tage gegenüber multiparen Tieren. Stierkälber werden durchschnittlich einen Tag länger getragen als Kuhkälber (Richter et al. 1993, Echternkamp und Gregory 1999, Bleul 2008). Echternkamp und Gregory (1999) gaben eine um 5,7 Tage kürzere Graviditätsdauer für Zwillinge im Vergleich zu Einlingen an. Auch die Milchleistung und die Laktationslänge hatten in einer Auswertung von über 11 Millionen Abkalbungen in den USA einen Einfluss auf die Dauer der Trächtigkeit. Kühe mit einer sehr hohen Milchleistung (≥ 14000 kg) hatten im Vergleich zu Kühen mit einer niedrigeren Milchleistung (≤ 8000 kg) eine um ca. 0,6 Tage verkürzte Trächtigkeitsdauer. Unter 250 Tagen Laktationslänge war die Trächtigkeitsdauer im Vergleich zu Laktationslängen über 500 Tagen um ca. 0,8 Tage länger (Norman et al. 2009).

1.2. Geburtsgewicht

Das Geburtsgewicht ist ein entscheidender Faktor für den Verlauf der Geburt bei Kühen. Bei der Abkalbung beträgt das physiologische Gewicht, abhängig von der Rasse, zwischen 35 und 45 kg (Ahlers 1996). Sowohl sehr leichte als auch vergleichsweise schwere Kälber sind einem signifikant erhöhten Schwer- bzw. Totgeburtenrisiko ausgesetzt (Johanson und Berger 2003). Aufgrund des offenbar entscheidenden Einflusses des Kälbergeburtsgewichts auf das Risiko einer Totgeburt stellt sich die Frage, wovon das Kälbergeburtsgewicht signifikant beeinflusst wird. Bereits 1919 wurde eine Studie zum Geburtsgewicht bei Holstein-Kühen durchgeführt. In dieser Untersuchung wurde festgehalten, dass die Rasse die größte Auswirkung auf das Geburtsgewicht hatte und männliche Kälber bei der Geburt ca. 5 bis 8 % schwerer als weibliche Kälber waren. Weiters waren Kälber von zwei- bis vierjährigen Kühen bei der Geburt leichter als von älteren Kühen. Der Trächtigkeitsdauer konnte kein Einfluss auf das Geburtsgewicht zugeschrieben werden (Eckles 1919). Auch in neueren Untersuchungen konnte bestätigt werden, dass neben der Rasse auch das Geschlecht der Kälber und die Parität der Mutter einen Einfluss auf das Geburtsgewicht der Kälber hatten. In der Studie von Dhakal et al. (2013) betrug das Geburtsgewicht weiblicher Kälber durchschnittlich 2 kg weniger als das Gewicht männlicher Kälber. Erstkalbinnen brachten um 1,8 kg leichtere Kälber zur Welt als ältere Kühe (Dhakal et al. 2013). In der zitierten Studie wiesen weibliche Kälber von Kühen in zweiter oder größerer Laktationszahl ein geringeres Risiko für Totgeburten auf als männliche Kälber. Ob das Risiko für Schwer- oder Totgeburten durch das höhere Gewicht männlicher Kälber oder durch das Geschlecht per se beeinflusst wird, konnte in der Studie nicht geklärt werden.

2. Material und Methoden

Die Untersuchung stellt eine Analyse aus Daten der Studie von Süß et al. (2019) dar, die von März 2016 bis November 2017 auf einem slowakischen Milchviehbetrieb mit ca. 2400 Holsteinkühen durchgeführt wurde. Die Studie wurde von der slowakischen regionalen Veterinär- und Lebensmittelverwaltung sowie von der Ethik- und Tierversuchskommission der Veterinärmedizinischen Universität Wien, Österreich (ETK-02.09.2016) genehmigt. Die im Rahmen der Studie erhobenen Daten bilden die Grundlage für diese Arbeit.

2.1. Versuchsaufbau

In die Studie wurden nur multipare Kühe aufgenommen, da die erstlaktierenden Tiere in einem anderen Betriebsteil untergebracht waren und erst zu einem späteren Produktionszeitpunkt in die Gruppen integriert wurden. Die Studientiere wurde in Stallabteilungen mit je ca. 250 Kühen untergebracht. Für eine randomisierte Zuteilung der Tiere zu einer der beiden Studiengruppen wurden vor der Geburt Paare von Kühen mit ähnlichen Kenndaten gebildet. Hierzu wurden die Milchleistung in der vorangegangenen Laktation, das erwartete Abkalbedatum und die Parität herangezogen. Diese möglichst gut übereinstimmenden Paare wurden dann mittels der „rand function“ in Excel, Version 14 (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) zufällig auf die Kontrollgruppe CON oder die Versuchsgruppe MET, der Methionin zugefüttert wurde, aufgeteilt (Süß et al. 2019).

Das Ziel der Methionin-Zugabe war, ein Lysin:Methionin-Verhältnis von ca. 2,8:1 zu erreichen (Zhou et al. 2016, Batistel et al. 2017). Die Totale Mischration (TMR) im Betrieb wies zu Beginn der Studie ein Lysin:Methionin-Verhältnis von ca. 3,4:1 auf. Damit wurde eine notwendige Supplementierung von 25,0 bis 27,2 g RPM pro Kuh errechnet. Das RPM wurde in einer Vormischung mit Mineralstoffen homogen vermischt und in einem Futtermischwagen zur TMR hinzugefügt. Die TMR wurde zweimal täglich gefüttert. Die Zusammensetzung und Menge der TMR wurde täglich nachjustiert, damit von den Kühen immer ca. 5-10 % als Restfutter

übriggelassen wurden. Die tägliche Trockenmasseaufnahme wurde jeden Tag errechnet und aufgezeichnet und betrug über die Dauer der ganzen Studie für die CON-Gruppe $21,6 \pm 1,5$ kg und für die MET-Gruppe $21,7 \pm 1,5$ kg (Süss et al. 2019).

2.2. Auswahl der Studientiere

Auf dem slowakischen Betrieb wurde mit der Herdenmanagement-Software DairyComp 305 (Valley Agricultural Software, Tulare, USA) gearbeitet, die es ermöglichte, die Kälber der Studienkühe nachzuverfolgen und deren Daten zur Analyse zu gewinnen. Die Kälber teilten die Gruppen CON und MET mit ihren Müttern. Im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit wurden nur Kälber für die Auswertung herangezogen, deren Mütter nicht im Studienverlauf exkludiert worden sind. Kälber, deren Datensatz nicht vollständig war, weil zum Beispiel kein Geburtsgewicht festgehalten worden ist, wurden ausgeschlossen.

Die Trächtigkeitsdauer der Kühe wurde aus der Differenz zwischen dem Termin der erfolgreichen Besamung und dem Abkalbedatum errechnet. Mehrlingsträchtigkeiten wurden nicht in die Analyse einbezogen, da die Trächtigkeitsdauer in diesem Fall grundsätzlich kürzer ist und auch die Geburtsgewichte nicht mit Einzelträchtigkeiten verglichen werden können (Echternkamp und Gregory 1999).

Durch den Ablauf der Studie von Süss et al. (2019) bedingt, musste für die Auswertung im Rahmen dieser Diplomarbeit außerdem jeweils überprüft werden, ob bei der erfolgreichen und damit zur Trächtigkeit führenden Besamung die jeweilige Kuh noch Teil des Fütterungsversuchs war. Durch betriebsinterne Abläufe bis zum Zeitpunkt der erfolgreichen Besamung waren nicht mehr alle Tiere in den entsprechenden Fütterungsgruppen. Hier wurde ein Rahmen von 10 Tagen vor und nach der Besamung gewählt, in dem die Kuh am Fütterungsversuch teilgenommen haben musste, damit die Trächtigkeit und das resultierende Kalb in die Untersuchung inkludiert wurden.

2.3. Statistische Methoden

Für die Gruppen CON und MET wurde jeweils eine deskriptive Statistik der Trächtigkeitsdauer und des Geburtsgewichtes erstellt. Die beiden Parameter wurden jeweils für die Gruppen separat auf Normalverteilung durch den Kolmogorow-Smirnov-Test und den Shapiro-Wilk-Test überprüft. Die Mittelwerte der einzelnen Parameter wurden jeweils mit dem Mann-Whitney-U-Test auf Gleichheit überprüft. Eine bivariate Korrelationsanalyse nach Spearman wurden für die Prüfung eines etwaigen Zusammenhanges zwischen Trächtigkeitsdauer und Geburtsgewicht durchgeführt.

Für die Verarbeitung und Analyse der Daten wurde Excel 2016 (Microsoft Corp.) und SPSS Ver. 26 (IBM) verwendet. Das Signifikanzniveau wurde für alle statistischen Analysen mit $\alpha = 0,05$ festgesetzt.

3. Ergebnisse

3.1. Erfassung der Kälber der Studientiere

Im Analysezeitraum der Abkalbungen vom 1.3.2017 bis zum 31.12.2018 wurden im Studienbetrieb insgesamt 4979 Kälber geboren. Dieser Zeitraum wurde zur Betrachtung herangezogen, da die erste im Rahmen der Studie trächtig gewordene Kuh ein errechnetes Abkalbedatum am 29.4.2017 hatte und die letzte im Rahmen der Studie trächtig gewordene Kuh ein errechnetes Abkalbedatum am 16.10.2018 hatte. Das errechnete Abkalbedatum ergab sich aus dem Datum der letzten künstlichen Besamung, bevor eine Kuh als trächtig diagnostiziert wurde, zu dem 285 Tage als geschätzte Trächtigkeitsdauer addiert wurden. Von diesen 4979 Kälbern konnten 1705 Kälber den 1131 Kühen, die im Rahmen der Studie von Süß et al. (2019) trächtig wurden, durch Abgleich der Lebensnummer zugeordnet werden. Aufgrund der Anzahl der Kälber im Vergleich zu den Kühen und der Länge des ausgewählten Zeitraums war davon auszugehen, dass manche Kühe innerhalb dieses Zeitraumes mehrere Trächtigkeiten durchliefen. Ein Vergleich aller errechneten Abkalbedaten mit den Geburtsdaten der 1705 Kälber ergab für 1074 Tiere eine Differenz von weniger als 50 Tagen zum errechneten Abkalbedatum. Somit konnten die Kälber, die lediglich im Studienzeitraum geboren worden waren, aber keiner Studiengruppe zugeordnet waren, von den relevanten Kälbern getrennt werden. Gründe für die Differenz von 1131 positiven Trächtigkeitsuntersuchungen zu 1074 Kälbern, waren retrospektiv nicht mehr zu ermitteln. Mögliche Ursachen des Fehlens der Kälber können vielfältig sein, beispielsweise Umrindern mit folgender Nachbesamung, Abort oder Schlachtung der Kühe.

Abzüglich der Zwillingssäuger und der Kälber mit fehlenden Daten blieben 976 Kälber zur Auswertung übrig, von denen 599 das Kriterium erfüllen, dass ihre Mütter von mindestens 10 Tagen vor bis mindestens 10 Tagen nach der erfolgreichen Besamung am Fütterungsversuch in Gruppe MET oder CON teilgenommen hatten.

Diese 599 Kälber wurden zur statistischen Analyse herangezogen. Davon waren 314 Kälber Nachkommen der CON-Mütter und somit selbst auch der Gruppe CON zugehörig und 285 Kälber Nachkommen der MET-Mütter und somit selbst auch der Gruppe MET zugehörig.

3.2. Test auf Normalverteilung

Um zu entscheiden, welche statistischen Untersuchungen an den Daten der Kälber durchgeführt werden konnten, wurde zunächst auf Normalität getestet (Hedderich und Sachs 2020). Dies wurde unter Zuhilfenahme des Kolmogorow-Smirnov-Tests und des Shapiro-Wilk-Tests gemacht. Die Nullhypothese besagt für beide Tests jeweils, dass eine Normalverteilung vorliegt, die Alternativhypothese das Gegenteil, dass keine Normalverteilung vorliegt.

Tests auf Normalverteilung: MET-Gruppe						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistik	df	Signifikanz	Statistik	df	Signifikanz
Tragedauer	,077	285	,000	,926	285	,000
Geburtsgewicht	,053	285	,053	,989	285	,034

a. Signifikanzkorrektur nach Lilliefors

Tests auf Normalverteilung: CON-Gruppe						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistik	df	Signifikanz	Statistik	df	Signifikanz
Tragedauer	,078	314	,000	,983	314	,001
Geburtsgewicht	,083	314	,000	,983	314	,001

a. Signifikanzkorrektur nach Lilliefors

Abbildung 1: Überprüfung der Studiendaten auf Normalverteilung

Sowohl für die MET-Gruppe als auch für die CON-Gruppe musste die Nullhypothese insgesamt verworfen werden (Abbildung 1). Einzig bei der Verteilung des Geburtsgewichtes der MET-Kälber besagte der Kolmogorow-Smirnov-Test, dass diese Daten normalverteilt waren ($p > 0,05$). Dem entgegen stand das Ergebnis des Shapiro-Wilk-Tests ($p < 0,05$) bei denselben Kälbern.

Da die Nullhypothese verworfen wurde und damit dem in dieser Analyse benutzten Datensatz keine Normalverteilung zugrunde lag, beschränkte sich die statistische Analyse auf nichtparametrische Tests.

3.3. Deskriptive Statistik

Ziel der deskriptiven Statistik war es, einen Überblick über den Datensatz und dessen Eigenschaften zu gewinnen. Abbildung 2 zeigt die Ergebnisse zur Trächtigkeitsdauer und zum Geburtsgewicht der Kälber in den beiden Gruppen MET und CON.

In der MET-Gruppe ($n = 285$) ergab sich ein durchschnittliches Geburtsgewicht von 45,0 kg. Das leichteste Kalb wog 28 kg, das schwerste wog 64 kg. In der MET-Gruppe betrug die durchschnittliche Trächtigkeitsdauer 279 Tage; die kürzeste Trächtigkeit betrug 251 Tage, die längste Trächtigkeit 316 Tage.

In der etwas größeren CON-Gruppe, welche die Ergebnisse von 314 Beobachtungen erfasste, kam ein Kalb durchschnittlich mit einem Gewicht von 44,9 kg auf die Welt. In dieser Gruppe war das niedrigste gemessene Gewicht 29 kg, das höchste gemessene Gewicht lag bei 66 kg. Die durchschnittliche Trächtigkeitsdauer betrug analog zur MET-Gruppe 279 Tage.

Deskriptive Statistik: MET-Gruppe					
	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Std.-Abweichung
Geburtsgewicht (kg)	285	28	64	44,99	5,348
Trächtigkeitsdauer (Tage)	285	251	316	279,17	5,908

Deskriptive Statistik: CON-Gruppe					
	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Std.-Abweichung
Geburtsgewicht (kg)	314	29	66	44,92	5,506
Trächtigkeitsdauer (Tage)	314	261	295	279,04	4,910

Abbildung 2: Deskriptive Statistik

3.4. Gegenüberstellung der Gruppen CON und MET

Die Mediane und Verteilung der Geburtsgewichte sind in Abbildung 3 dargestellt. Wie die Box-Plot-Grafik zeigt, wiesen die berechneten Kenngrößen der verschiedenen Gruppen keinen deutlichen Unterschied auf. Das erste Quartil (q_1) betrug für die CON-Gruppe 41 kg, für die MET-Gruppe 42 kg. Das dritte Quartil q_3 lag für die CON-Gruppe bei 48 kg und für die MET-Gruppe bei 49 kg. In beiden Gruppen fiel der Median auf 45 kg. Der Interquartilsabstand betrug für beide Gruppen 7 kg. Werte, die von q_1 bzw. q_3 weiter als den eineinhalbfachen Interquartilsabstand entfernt lagen, wurden in allen Box-Plot Grafiken durch Ringe als Ausreißer markiert.

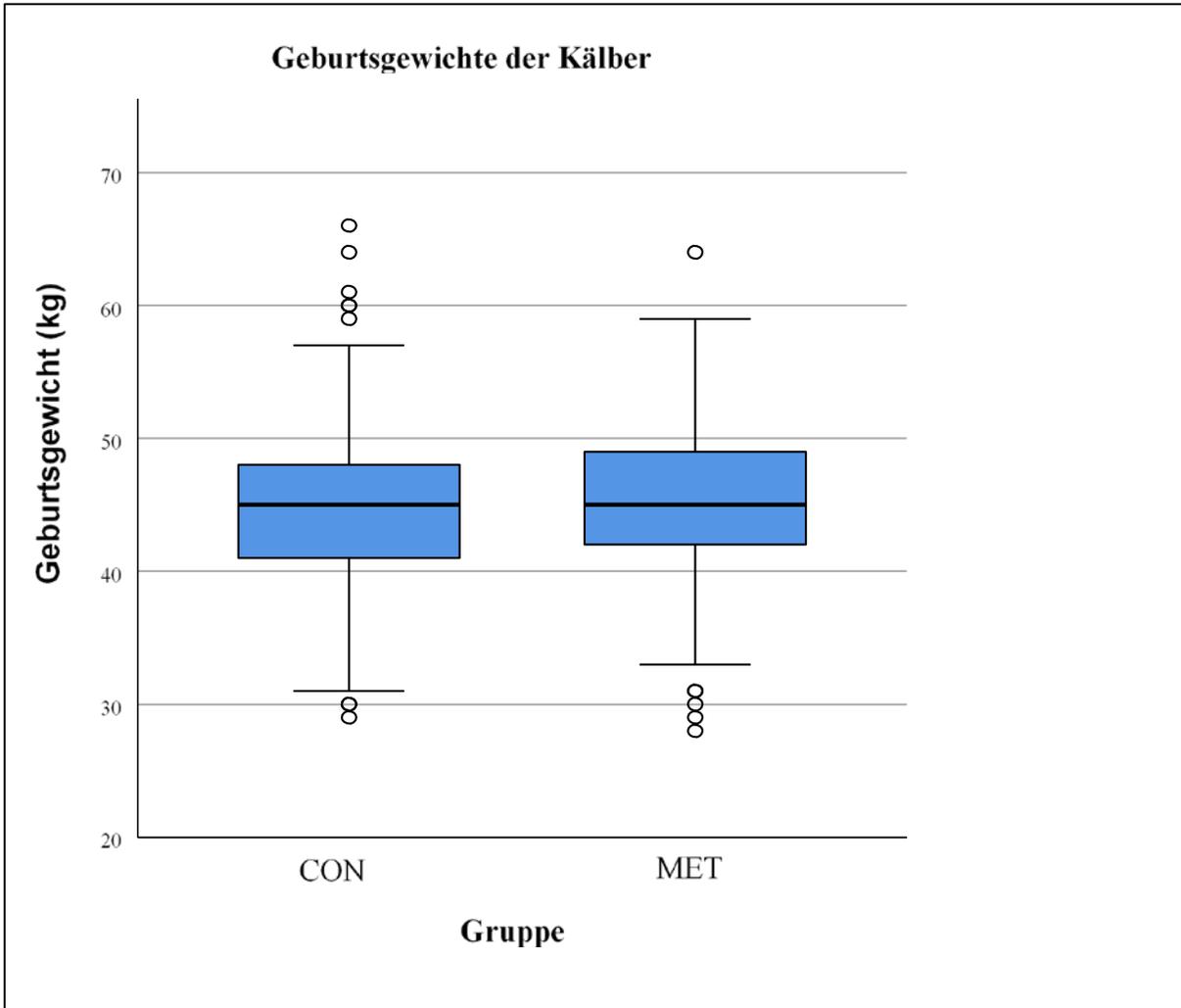


Abbildung 1: Box-Plot Grafik der Geburtsgewichte

In Abbildung 4, welche die Trächtigkeitsdauern vergleicht, markieren Kreuze Werte, die von q_1 bzw. q_3 mehr als den zweieinhalbfachen Interquartilsabstand entfernt sind. Diese extremen Ausreißer sind vermutlich falsch eingetragene oder falsch erfasste Werte. Da sich diese Annahme jedoch retrospektiv nicht verifizieren ließ, wurde die Werte nicht aus der Auswertung entfernt. Eine sehr kurze Trächtigkeitsdauer könnte eventuell dadurch zustande kommen, dass eine Kuh, obwohl sie schon trächtig war, noch einmal besamt wurde und erst von diesem späteren Datum aus

gerechnet wurde. Eine übermäßig lange Trächtigkeitsdauer könnte ihren Ursprung darin haben, dass eine spätere als die zur Berechnung herangezogene Besamung nicht erfasst wurde.

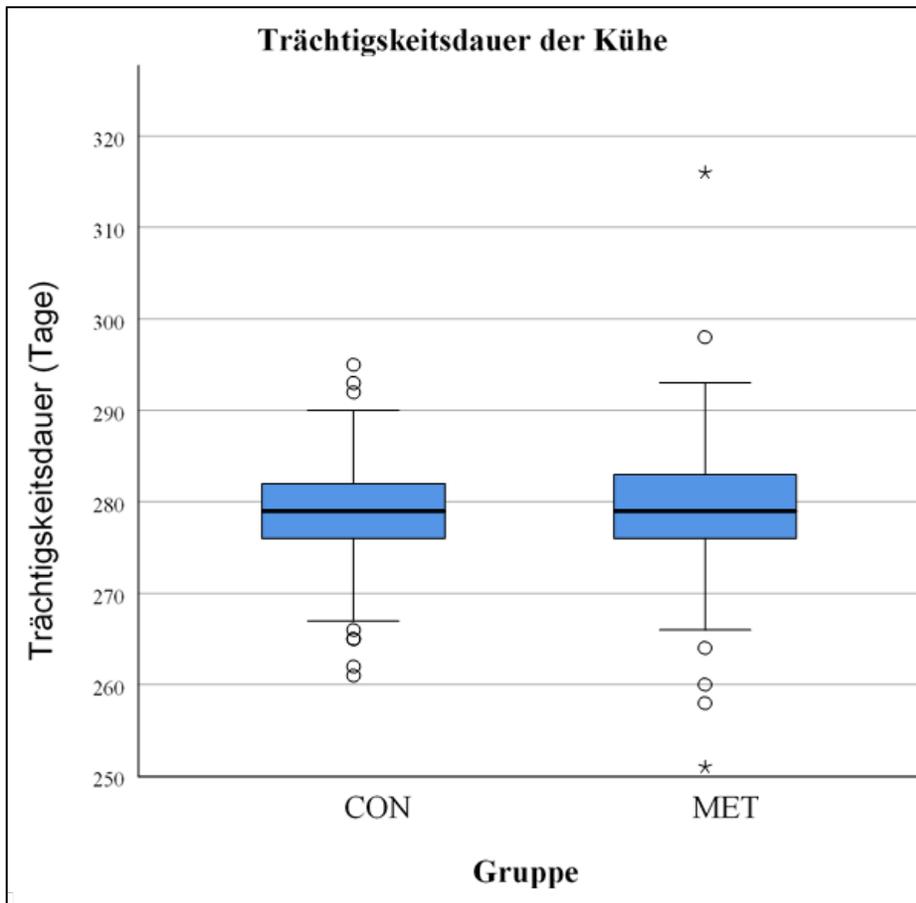


Abbildung 2: Box-Plot Grafik der Trächtigkeitsdauern

Ebenso wie bei dem Geburtsgewicht lässt sich aus Abbildung 4 auch für die Trächtigkeitsdauer kein großer Unterschied zwischen den Gruppen ableiten. Bei 50 % der Trächtigkeiten in der CON-Gruppe lagen die Werte zwischen 276 und 282 Tagen. In der MET-Gruppe lag die Hälfte der

Trächtigkeiten in einem Zeitfenster von 276 bis 283 Tagen. Die mediane Trächtigkeitsdauer belief sich in beiden Gruppen auf 279 Tagen.

Die Mittelwerte des Geburtsgewichtes und der Trächtigkeitsdauer von Gruppe CON und MET wurden mit Hilfe des Mann-Whitney-U Testes verglichen. Die Nullhypothese für den Mann-Whitney-U-Test besagt, dass beide Verteilungen gleich sind. Die Nullhypothese ist abzulehnen, wenn der Signifikanz-Wert $p < 0,05$ ist. Für das Geburtsgewicht betrug der p-Wert 0,646 und für die Trächtigkeitsdauer 0,806. Somit kann die Nullhypothese nicht verworfen werden und man muss sowohl für Geburtsgewicht als auch Trächtigkeitsdauer annehmen, dass die Gruppen keinen signifikanten Unterschied aufwiesen.

Somit ist die am Beginn der Arbeit formulierte Hypothese, die Supplementierung von Pansen-geschütztem-Methionin habe eine Auswirkung auf die Trächtigkeitsdauer der Kühe und das Geburtsgewicht der Kälber, durch diese statistische Auswertung nicht belegbar.

3.5. Bivariate Korrelation

Mit einer bivariaten Korrelationsanalyse wird der Zusammenhang, d.h die Korrelation, zwischen zwei Variablen bestimmt. Im Falle der hier vorliegenden ordinalen Daten wurde dementsprechend der Spearman-Rangkorrelationskoeffizient herangezogen. Bei der Berechnung des Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten erhält man immer einen Wert aus dem Intervall $[-1;1]$. Wobei -1 für einen idealen (linearen) negativen Zusammenhang steht und +1 für den idealen (linearen) positiven Zusammenhang. Ein Rangkorrelationskoeffizient von 0 würde bedeuten, dass die zwei untersuchten Variablen keinerlei Zusammenhang aufweisen.

Das Geburtsgewicht war sowohl in der MET-Gruppe als auch in der CON-Gruppe schwach positiv mit der Trächtigkeitsdauer korreliert (jeweils $r = 0,47$; $p < 0,05$). Somit lässt sich ableiten, dass Kälber die länger ausgetragen wurden, auch mit größerem Gewicht geboren wurden (Abbildung 5).

Diese Korrelation bedeutet aber nicht zwingend eine Kausalität. Ein möglicher kausaler Zusammenhang zwischen Geburtsgewicht und Trächtigkeitsdauer müsste separat geprüft werden.

Korrelation von Geburtsgewicht und Trächtigkeitsdauer					
Gruppe			Geburtsgewicht	Tragedauer	
Spearman-Rho	CON	Geburtsgewicht	Korrelationskoeffizient	1,000	,469**
			Sig. (2-seitig)	.	,000
			N	314	314
		Tragedauer	Korrelationskoeffizient	,469**	1,000
			Sig. (2-seitig)	,000	.
			N	314	314
	MET	Geburtsgewicht	Korrelationskoeffizient	1,000	,467**
			Sig. (2-seitig)	.	,000
			N	285	285
		Tragedauer	Korrelationskoeffizient	,467**	1,000
			Sig. (2-seitig)	,000	.
			N	285	285

** . Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig)

Abbildung 3: Korrelationsanalyse von Geburtsgewicht und Trächtigkeitsdauer nach Spearman

4. Diskussion

Ziel der Studie war es, mögliche Auswirkungen durch die RPM-Supplementierung in frühen Stadien der embryonalen Entwicklung (Acosta et al. 2016, 2017) auf den gesamten Trächtigkeitsverlauf bzw. auf das Geburtsgewicht der Kälber zu prüfen. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung ließ sich kein Unterschied zwischen der Gruppe CON und der Gruppe MET im Bezug auf die Trächtigkeitsdauer und das Geburtsgewicht feststellen. Der Supplementierung von RPM in der Fütterung von Milchkühen konnte somit kein Effekt auf die Trächtigkeitsdauer und das Geburtsgewicht der Kälber zugeschrieben werden.

Die mittleren Geburtsgewichte beider Gruppen CON und MET deckten sich annähernd mit den Ergebnissen von Atashi et al. (2012), die ein mittleres Geburtsgewicht für Holstein-Kühe von 42,1 kg ermittelten, wobei Primi- und Multipara untersucht wurden (Atashi et al. 2012). Multipara gebären aber durchschnittlich 2,1 bis 3 kg schwerere Kälber als Primipara (Stamer et al. 2004). Damit wird die Diskrepanz zwischen den mittleren Geburtsgewichten, 42,1 kg in der zitierten Studie gegenüber 45,0 kg in der vorliegenden Untersuchung, noch geringer, da im Rahmen dieser Analyse nur Multipara untersucht wurden.

Bereits 1919 wurde festgestellt, dass die Geburtsgewichte der Kälber mit fortschreitender Parität zunehmen, mit der Einschränkung, dass sehr alte Kühe wieder etwas leichtere Kälber bekommen (Eckles 1919; Abbildung 6). Auffallend ist, dass ein Holsteinkalb einer multiparen Kuh auch schon damals ein durchschnittliches Geburtsgewicht von ca. 43 kg aufwies. Diese ca. 100 Jahre alte Feststellung deckt sich beinahe mit der vorliegenden Untersuchung und anderen aktuellen Arbeiten (Kovacs et al. 2022). Eine neuere Arbeit wies jedoch mit 33,8 kg auch deutlich geringere Geburtsgewichte bei Holstein-Kälbern aus (Dhakali et al. 2013). Letzteres könnte in den untersuchten Betrieben auch mit einer gezielten Anpaarung mit dem Ziel leichterer Geburtsgewichte zusammenhängen.

TABLE 3.—INFLUENCE OF AGE OF DAM UPON WEIGHT OF CALF AT BIRTH

Number of Calf	Jerseys		Holsteins	
	Number of calves included	Average weight	Number of calves included	Average weight
		<i>Pounds</i>		<i>Pounds</i>
First	44	51	45	85
Second	35	55	31	88
Third	35	58	26	95
Fourth	18	62	19	93
Fifth	13	58	10	101
Sixth	16	52	5	90
Seventh	14	56	7	103
Eighth	8	56	5	98
Ninth	4	53	5	85
Tenth	3	64	2	89
Eleventh	3	51	---	---
Twelfth	2	50	---	---

Abbildung 4: Einfluss des Alters der Kuh auf das Geburtsgewicht des Kalbes (Eckles 1919).

1 Pound entspricht etwa 0,45 kg.

Sowohl in der Versuchsgruppe als auch in der Studiengruppe betrug die Trächtigkeitsdauer in der vorliegenden Untersuchung durchschnittlich 279 Tage. Damit deckte sich die in dieser Studie festgestellte mittlere Trächtigkeitsdauer mit den Angaben anderer Autoren (Echternkamp und Gregory 1999, Dhakal et al. 2013, Maschurek 2016). Im Gegensatz zu Eckles (1919) konnte zwischen Geburtsgewicht und Trächtigkeitsdauer eine positive Korrelation ($p < 0,01$) belegt werden (Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman: $r = 0,47$). Diese Korrelation wurde durch die RPM-Supplementierung nicht beeinflusst. In beiden Gruppen ließ sich dieser Zusammenhang gleichermaßen feststellen. Eine Korrelation bedeutet aber nicht zwingend eine Kausalität. Ein möglicher kausaler Zusammenhang zwischen Geburtsgewicht und Trächtigkeitsdauer müsste

separat geprüft werden. Es kann jedoch vermutet werden, dass mit längerer Trächtigkeitsdauer das intrauterine Wachstum und damit die Gewichtszunahme des Kalbes steigt.

Ein Nachteil von retrospektiven Arbeiten ist, dass die genaue Studienumgebung nicht kontrolliert werden kann und die Daten, unabhängig von den der Arbeit zugrundeliegenden Überlegungen, aufgezeichnet werden. Somit kann kein Einfluss darauf genommen werden, welche Daten und Parameter aufgezeichnet werden. Im Falle dieser retrospektiven Studie wurden nur Daten aus der betriebseigenen Herden-Management-Software verwendet. Natürlich liegt es im Interesse eines jeden Betriebes, gute und genaue Aufzeichnungen zu führen. Aber Schlüsse, die man aus Daten ziehen kann, die unmittelbar für eine wissenschaftliche Untersuchung erhoben wurden, sind meist belastbarer als Schlüsse, die aus laufenden Betriebsaufzeichnungen stammen.

Dem Nachteil von möglichen Schwierigkeiten bei der Datenerfassung und Extraktion aus der Herdenmanagement-Software steht als Vorteil die große Anzahl an Abkalbungen und Kälbern, die in einer absolut kontrollierten Umgebung schwieriger zu erreichen wäre. Dies kann sich auf die Aussagekraft der statistischen Auswertung auswirken. Bei einer Stichprobengröße von ca. jeweils 300 Tieren wären beispielsweise auch numerisch kleinere Unterschiede auf einem Signifikanzniveau von $p = 0,05$ bereits signifikant.

Die Ergebnisse der Studie haben gezeigt, dass eine Supplementierung vom RPM in der perikonzeptionellen Periode auf diesem ausgewählten Milchviehbetrieb keinen unmittelbaren Effekt auf die Trächtigkeitsdauern der Kühe und die Geburtsgewichte der Kälber hatte. Es ist zu betonen, dass diese Aussage nur für den Studienbetrieb und die gegebenen Studienbedingungen (Menge, Zeitpunkt und Dauer der RPM-Supplementierung, Ausgangslage der Methionin-Versorgung beider Gruppen durch die Ration) gültig ist. Nichtsdestotrotz gibt es Belege dafür, dass die Supplementierung von RPM in der Trockenstehzeit und frühen Laktation positive Effekte auf den Immunstatus des Uterus (Stella et al. 2018) hat und möglicherweise weniger Trächtigkeiten resorbiert werden (Toledo et al. 2017). Daher wäre es interessant, ähnliche Datensätze verschiedener Betriebe mit unterschiedlichen Futterrationen zu analysieren. Ein Split-herd-Design, wie in vorliegender Studie, wäre jedoch bei der Durchführung in vielen Betrieben sehr aufwändig.

Eine weitere Auswertungsmöglichkeit des vorhandenen Datensatzes wäre, die Langzeiteffekte einer Methionin-Gabe während der Trächtigkeit auf die Entwicklung der Kälber von der Geburt an beispielsweise hinsichtlich einer Krankheitsanfälligkeit und Gewichtsentwicklung zu verfolgen. Dies war jedoch nicht das Ziel der vorliegenden Studie. Eine jüngere Studie an Fleischrindern konnte zeigen, dass die RPM-Supplementierung in der perikonzeptionellen Phase die Entwicklung der resultierenden Kälber positiv beeinflussen kann (Silva et al. 2021). Die Autoren vermuteten, dass die Methionin-Gabe einen Einfluss auf die metabolische Programmierung der Kälber haben könnte. Diese Hypothese muss jedoch in weitere Studien beantwortet werden.

5. Schlussfolgerung

Die Hypothese, dass die Supplementierung von RPM in der perikonzeptionellen Periode einen Effekt auf die Trächtigkeitsdauer und das Geburtsgewicht der nächsten Generation Kälber von multiparen Milchkühen hat, konnte nicht belegt werden. Soweit bekannt ist, ist das die erste Studie die den Einfluss der RPM Supplementierung in der perikonzeptionellen Periode auf die Trächtigkeitsdauer und das Geburtsgewicht der Kälber mit einer großen Stichprobe (n=599) untersucht hat. Weitere Untersuchungen sollten prospektiv stattfinden und die einzelnen Trächtigkeiten genauer überwachen, um eventuelle Effekte, die sich nur während der Trächtigkeit präsentieren, zu finden. Man sollte außerdem in Betracht ziehen, RPM über die ganze Dauer der Trächtigkeit hinweg oder beispielsweise nur in definierten Gestationstrimestern zu supplementieren, um mögliche Auswirkungen in bestimmten Trächtigkeitsstadien zu untersuchen und eine Gabe ökonomisch zu optimieren. Interessant wäre es, einen Fütterungsversuch dieser Art auch in anderen Betriebsformen der Milchviehwirtschaft oder in kleinstrukturierten Betrieben auf geringerem Milchleistungsniveau durchzuführen. Dort würde der Zusatz von RPM zur Fütterung möglicherweise eher einen Effekt haben, als in einem Betrieb, dessen Fütterung bereits vor dem Fütterungsversuch sehr stark optimiert war.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden, retrospektiven Arbeit wurden mögliche Auswirkungen durch die Supplementierung von Pansen-geschütztem Methionin (RPM) in frühen Stadien der embryonalen Entwicklung auf den gesamten Trächtigkeitsverlauf bzw. auf das Geburtsgewicht der Kälber von Holstein-Kühen geprüft. Dazu wurden die Trächtigkeiten und Kälber von 599 Kühen, die im Rahmen einer vorangegangenen Untersuchung während der perikonzeptionellen Periode an einem Fütterungsversuch, in dem von 25,0 bis 27,2 g RPM pro Kuh supplementiert wurde, teilnahmen, analysiert.

Die Versuchsgruppe MET (n=285) und die Kontrollgruppe CON (n=314) wurden hinsichtlich der Trächtigkeitsdauer und des Kälbergeburtsgewichtes untersucht und verglichen. Es ließ sich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der mittleren Trächtigkeitsdauer zwischen beiden Gruppen nachweisen (MET: 279,17 Tage; CON: 279,04 Tage). Auch das mittlere Geburtsgewicht wies keine Unterschiede zwischen den Gruppen auf (MET: 44,99 kg; CON: 44,92 kg). Eine positive Korrelation ($r = 0,47$) konnte zwischen dem Geburtsgewicht und der Trächtigkeitsdauer festgestellt werden. Diese war für beide Gruppen unabhängig und ident.

Der bereits durch andere Studien belegte Vorteil in der Embryonalentwicklung durch RPM-Supplementierung schlug sich in der vorliegenden Untersuchung nicht in Unterschieden im Kälbergeburtsgewicht und der Trächtigkeitsdauer nieder. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um mögliche permanent Auswirkungen von RPM-Supplementierung in der perikonzeptionellen Periode zu verfolgen.

7. Summary

In this retrospective study, possible effects of rumen-protected methionine (RPM) supplementation to Holstein cows on the duration of pregnancy and birth weight of calves were analyzed. The analyses included pregnancies and newborn calves of 599 cows. The cows received between 25.0 and 27.2 g RPM with a total mixed ratio during the periconceptual period and compared with untreated control cows.

The test group MET (n=285) and the control group CON (n=314) were examined and compared with regard to gestation length and calves' birth weight. There was no significant difference in mean birth weight (MET: 44.99 kg; CON: 44.92 kg). The mean gestation length for both groups was approximately 279 days (MET: 279.17 days; CON: 279.04 days). A weak positive correlation ($r = 0.47$) was found between birth weight and gestation length in course of this study. The correlation was identical for both groups.

The advantage of RPM supplementation in embryonic development, which has already been proven by other studies, was not reflected in calf birth weight and gestation length. Further research is needed to follow possible permanent effects of RPM supplementation in the periconceptual period.

8. Literaturverzeichnis

- Acosta DAV, Denicol AC, Tribulo P, Rivelli MI, Skenandore C, Zhou Z, Luchini D, Corrêa MN, Hansen PJ, Cardoso FC. 2016. Effects of rumen-protected methionine and choline supplementation on the preimplantation embryo in Holstein cows. *Theriogenology*, 85(9):1669–1679.
- Acosta DAV, Rivelli MI, Skenandore C, Zhou Z, Keisler DH, Luchini D, Corrêa MN, Cardoso FC. 2017. Effects of rumen-protected methionine and choline supplementation on steroidogenic potential of the first postpartum dominant follicle and expression of immune mediators in Holstein cows. *Theriogenology*, 96:1–9.
- Ahlers D, Hrsg. 1996. Buiatrik. 1: [Euterkrankheiten, Geburtshilfe und Gynäkologie, Andrologie und Besamung] / Mit Beitr. von D. Ahlers. 5., überarb. u. erw. Aufl 5., überarb. u. erw. Aufl. Hannover: Schaper.
- Atashi H, Abdolmohammadi A, Dadpasand M, Asaadi A. 2012. Prevalence, risk factors and consequent effect of dystocia in Holstein dairy cows in Iran. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25(4):447–451.
- Batistel F, Arroyo JM, Bellingeri A, Wang L, Saremi B, Parys C, Trevisi E, Cardoso FC, Loor JJ. 2017. Ethyl-cellulose rumen-protected methionine enhances performance during the periparturient period and early lactation in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(9):7455–7467.
- Bleul U. 2008. Einfluss der Rasse auf die Gestation und Geburt beim Rind.
- Busch W, Hrsg. 1993. Geburtshilfe bei Haustieren. Jena: G. Fischer.
- Dhakal K, Maltecca C, Cassady JP, Baloch G, Williams CM, Washburn SP. 2013. Calf birth weight, gestation length, calving ease, and neonatal calf mortality in Holstein, Jersey, and crossbred cows in a pasture system. *Journal of Dairy Science*, 96(1):690–698.
- Dobson H, Smith R, Royal M, Knight C, Sheldon I. 2007. The high-producing dairy cow and its reproductive performance. *Reproduction in Domestic Animals*, 42(s2):17–23.
- Echternkamp SE, Gregory KE. 1999. Effects of twinning on gestation length, retained placenta, and dystocia. *Journal of Animal Science*, 77(1):39–47.
- Eckles CH. 1919. A study of the birth weight of calves. University of Missouri, College of Agriculture, Agricultural Experiment Station.

- Estrada-Cortés E, Ortiz W, Rabaglino MB, Block J, Rae O, Jannaman EA, Xiao Y, Hansen PJ. 2021. Choline acts during preimplantation development of the bovine embryo to program postnatal growth and alter muscle DNA methylation. *The FASEB Journal*, 35(10).
- Groebner AE, Rubio-Aliaga I, Schulke K, Reichenbach HD, Daniel H, Wolf E, Meyer HHD, Ulbrich SE. 2011. Increase of essential amino acids in the bovine uterine lumen during preimplantation development. *Reproduction*, 141(5):685–695.
- Hedderich J, Sachs L. 2020. *Angewandte Statistik: Methodensammlung mit R. 17., überarbeitete und ergänzte Auflage 17., überarbeitete und ergänzte Auflage*. Berlin [Heidelberg]: Springer Spektrum.
- Hugentobler SA, Diskin MG, Leese HJ, Humpherson PG, Watson T, Sreenan JM, Morris DG. 2007. Amino acids in oviduct and uterine fluid and blood plasma during the estrous cycle in the bovine. *Molecular Reproduction and Development*, 74(4):445–454.
- Johanson JM, Berger PJ. 2003. Birth weight as a predictor of calving ease and perinatal mortality in Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*, 86(11):3745–3755.
- Königshoff M, Brandenburger T, Hrsg. 2012. *Kurzlehrbuch Biochemie. dritter 3*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Kovács L, Kézér FL, Ruff F, Samardzija M, Szenci O. Kovacs. 2022. Single-dose meloxicam treatment improves standing ability of low-vitality dairy calves. *Journal of Dairy Science*. 105(2):1618-1624.
- Leblanc S. 2010. Assessing the association of the level of milk production with reproductive performance in dairy cattle. *Journal of Reproduction and Development*, 56(S):S1–S7.
- Lucy MC. 2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end? *Journal of Dairy Science*, 84(6):1277–1293.
- Maschurek N. 2016. *Untersuchung von Einflussfaktoren auf den Geburtsverlauf bei Kühen und auf das Kälbergeburtsgewicht*. Berlin: Freie Universität Berlin.
- National Research Council (U.S.), Subcommittee on Dairy Cattle Nutrition. 2001. *Nutrient requirements of dairy cattle*. Washington, D.C.: National Academy Press.
- Norman HD, Wright JR, Kuhn MT, Hubbard SM, Cole JB, VanRaden PM. 2009. Genetic and environmental factors that affect gestation length in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 92(5):2259–2269.
- Oster M, Nuchchanart W, Trakooljul N, Muráni E, Zeyner A, Wirthgen E, Hoeflich A, Ponsuksili S, Wimmers K. 2016. Methylating micronutrient supplementation during pregnancy

- influences foetal hepatic gene expression and IGF signalling and increases foetal weight. *European Journal of Nutrition*, 55(4):1717–1727.
- Patton RA. 2010. Effect of rumen-protected methionine on feed intake, milk production, true milk protein concentration, and true milk protein yield, and the factors that influence these effects: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 93(5):2105–2118.
- Peñagaricano F, Souza AH, Carvalho PD, Driver AM, Gambra R, Kropp J, Hackbart KS, Luchini D, Shaver RD, Wiltbank MC, et al. 2013. Effect of maternal methionine supplementation on the transcriptome of bovine preimplantation embryos. *PLoS ONE*, 8(8):e72302.
- Rearte R, LeBlanc SJ, Corva SG, de la Sota RL, Lacau-Mengido IM, Giuliadori MJ. 2018. Effect of milk production on reproductive performance in dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 101(8):7575–7584.
- Richter J, Grunert E, Ahlers D, Hrsg. 1993. Tiergeburtshilfe. 4., völlig Neubearb. Aufl 4., völlig Neubearb. Aufl. Berlin: Parey.
- Silva GM, Chalk CD, Ranches J, Schulmeister TM, Henry DD, DiLorenzo N, Arthington JD, Moriel P, Lancaster PA. 2021. Effect of rumen-protected methionine supplementation to beef cows during the periconception period on performance of cows, calves, and subsequent offspring. *Animal*. 15(1):100055.
- Stamer E, Hafez S, Junge W, Kalm E. 2004. Genetic parameters of birth weight and weaning weight for Holstein female calves. *Züchtungskunde*, 76:188–195.
- Stella SL, Velasco-Acosta DA, Skenandore C, Zhou Z, Steelman A, Luchini D, Cardoso FC. 2018. Improved uterine immune mediators in Holstein cows supplemented with rumen-protected methionine and discovery of neutrophil extracellular traps (NET). *Theriogenology*, 114:116–125.
- Süss D, Iwersen M, Schweinzer V, Gusterer E, Kanz P, Krieger S, Pothmann H, Wagener K, Hoelker M, Tesfaye D, et al. 2019. Supplementing rumen-protected methionine to lactating multiparous dairy cows did not improve reproductive performance. *Reproduction in Domestic Animals*, 54(9):1265–1273.
- Toledo MZ, Baez GM, Garcia-Guerra A, Lobos NE, Guenther JN, Trevisol E, Luchini D, Shaver RD, Wiltbank MC. 2017. Effect of feeding rumen-protected methionine on productive and reproductive performance of dairy cows. *PLOS ONE*, 12(12):e0189117.
- Zanton GI, Bowman GR, Vázquez-Añón M, Rode LM. 2014. Meta-analysis of lactation performance in dairy cows receiving supplemental dietary methionine sources or post-ruminal infusion of methionine. *Journal of Dairy Science*, 97(11):7085–7101.

Zhou Z, Bulgari O, Vailati-Riboni M, Trevisi E, Ballou MA, Cardoso FC, Luchini DN, Looor JJ. 2016. Rumen-protected methionine compared with rumen-protected choline improves immunometabolic status in dairy cows during the peripartal period. *Journal of Dairy Science*, 99(11):8956–8969.

9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Ergebnisse der Tests auf Normalverteilung	Fehler! Textmarke nicht definiert.
Abbildung 2: Deskriptive Statistik	Fehler! Textmarke nicht definiert.
Abbildung 3: Box-Plot Grafik der Geburtsgewichte	12
Abbildung 4: Box-Plot Grafik der Trächtigkeitsdauern	13
Abbildung 5: Korrelationsanalyse von Geburtsgewicht und Trächtigkeitsdauer nach Spearman	15
Abbildung 6: Einfluss des Alters der Kuh auf das Geburtsgewicht des Kalbes.....	17

10. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer Herrn Univ. Prof. Dr.med.vet. Marc Drillich (Dipl.ECBHM Dipl.ECAR), der mir dieses Thema zur Verfügung gestellt hat und mir immer geduldiger Berater und konstruktiver Unterstützer war.

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. vet. Michael Iwersen möchte ich meinen herzlichen Dank aussprechen, dass er mir bei der Gewinnung der Daten jederzeit hilfreich zur Seite stand.

Mein größter Dank gilt meiner Mutter, deren Liebe und Fürsorge mir die Verwirklichung meiner Berufung ermöglicht hat.

In liebevoller Erinnerung an meine Großeltern!