

Gemeinsame Melktechniktagung - Agroscope und AGRIDEA 2020

Untersuchungen zur Rhythmizität und zur Melatoninkonzentration von Milchkühen auf Betrieben mit Automatischem Melksystem

Patricia Fuchs¹, Felix Adrion¹, Abu Zar Md. Shafiullah¹, Rupert Bruckmaier², Christina Umstätter¹

¹Agroscope, Forschungsgruppe Automatisierung und Arbeitsgestaltung, Tänikon 1, 8356 Ettenhausen. Kontakt: christina.umstaetter@agroscope.admin.ch

²Universität Bern, Abt. Veterinär-Physiologie, Vetsuisse Faculté, Bremgartenstr. 109a, CH-3001 Bern

Zusammenfassung / Résumé / Abstract

Jeder tierische Organismus verfügt über eine innere Uhr, die durch den Wechsel von Photo- und Skotoperiode im Tag-Nachtrhythmus der Erde ständig justiert wird. Auch der Schlaf-Wach-Rhythmus wird in Abhängigkeit der Photoperiode in einem tagesperiodischen Verlauf durch das Hormon Melatonin gesteuert. Für eine Synchronisation mit der Umwelt als Taktgeber streben Tiere möglichst konstante ultra- und circadiane Aktivitätsrhythmen an. Studien zeigen, dass Tiere in extensiver Haltung zumeist eine hohe Rhythmizität ausbilden und dass äußere Störungen und Krankheitsereignisse die Rhythmizität der Tiere vermindern können. Ziele dieser Pilotstudie waren deshalb, 1.) zu untersuchen, ob Milchkühe in einem Haltungssystem mit Automatischem Melksystem ultra- und circadiane Rhythmen ausbilden können, 2.) mögliche Einflussfaktoren auf die Rhythmizität zu finden und 3.) einen Zusammenhang zwischen der Rhythmizität und dem Melatoninhaushalt der Kühe zu untersuchen. Auf vier Schweizer Praxisbetrieben wurde über 28 Tage die Aktivität von je 10 Kühen aufgezeichnet und über 24 Stunden in 3-stündigen Intervallen Speichelproben zur Bestimmung der circadianen Melatoninprofile genommen. Die Konstanz der ultra- und circadianen Rhythmen wurde mit dem leistungsbezogenen Kopplungsgrad (DFC) aus den Aktivitätsdaten in gleitenden 7-Tages-Perioden ermittelt. Die Hälfte aller DFC-Werte lag über einem Wert von 0.7 (Wertebereich zwischen 0 und 1). Dies zeigte, dass die Kühe prinzipiell Aktivitätsrhythmen ausbilden konnten. Allerdings wies der DFC bei der Mehrzahl der Tiere eine hohe Varianz auf. Die Höhe des DFC hing signifikant mit der Verteilung der Aktivität zwischen Tag und Nacht, dem Aktivitätsniveau, der Variabilität der Aktivität und des Melkintervalls sowie der Länge des Melkintervalls zusammen. Ein Zusammenhang zwischen der Höhe des DFC und der Tag-Nacht-Differenz der Melatoninkonzentration im Speichel konnte nicht gefunden werden. Diese Pilotstudie zeigt gleichermassen Bedarf und Potential für Forschung zur Rhythmizität als möglichen Indikator für das Wohlbefinden und die Wirkung einzelner Einflussfaktoren.

Chaque organisme animal dispose d'une horloge interne qui est constamment ajustée aux changements de photopériode et de scotopériode dans le rythme jour-nuit de la Terre. L'alternance sommeil-veille est aussi pilotée par la mélatonine dans un rythme journalier en fonction de la photopériode. Pour se synchroniser avec l'environnement, qui joue un rôle de métronome, les animaux tendent vers des rythmes d'activité ultradiens et circadiens les plus constants possibles. Des études montrent que les animaux d'élevage extensif adoptent généralement une rythmicité élevée et que des perturbations externes ou des épisodes de maladies peuvent diminuer celle-ci. Les objectifs de cette étude pilote étaient donc : 1.) d'évaluer si les vaches laitières détenues dans un système comportant une installation

de traite automatique parviennent à adopter des rythmes ultradiens et circadiens ; 2.) d'identifier d'éventuels facteurs influençant cette rythmicité ; et 3.) d'examiner la relation entre la rythmicité et le métabolisme de la mélatonine. L'activité de 10 vaches à chaque fois a été observée sur quatre exploitations suisses durant 28 jours et des échantillons de salive ont été prélevés dans des intervalles de 3 heures durant 24 heures pour déterminer les profils circadiens de la mélatonine. La constance des rythmes ultradiens et circadiens a été déterminée au moyen du degré de couplage fonctionnel (DFC) issu des données d'activité sur des périodes glissantes de 7 jours. La moitié des valeurs DFC étaient supérieures à 0,7 (fourchette comprise entre 0 et 1), ce qui indique que les vaches ont en principe pu adopter des rythmes d'activité. Toutefois, le DFC présentait une variance élevée chez la plupart des animaux. Le niveau de la valeur DFC était significativement corrélé avec la répartition des activités entre le jour et la nuit, le niveau d'activité, la variabilité de l'activité et l'intervalle de traite ainsi que la longueur de l'intervalle de traite. Aucune corrélation entre le niveau de la valeur DFC et la différence de concentration en mélatonine dans la salive entre le jour et la nuit n'a été constatée. Cette étude pilote montre autant un besoin qu'un potentiel pour des recherches sur la rythmicité en tant qu'indicateur possible du bien-être et l'impact de différents facteurs d'influence.

Every animal organism has an inner clock which is constantly adjusted via changes in the photoperiod and scotoperiod in the earth's day and night cycles. Even the sleep-wake rhythm is guided in function of the photoperiod in a circadian process through the hormone melatonin. To achieve synchronisation with this time clock, animals try to observe highly constant ultradian and circadian activity rhythms. Studies show that animals in extensive farming generally develop high rhythmicity and that external disturbances and illness can reduce animals' rhythmicity. Every animal organism has an inner clock which is constantly adjusted via changes in the photoperiod and scotoperiod in the earth's day and night cycles. Even the sleep-wake rhythm is guided in function of the photoperiod in a circadian process through the hormone melatonin. To achieve synchronisation with this time clock, animals try to observe highly constant ultradian and circadian activity rhythms. Studies show that animals in extensive farming generally develop high rhythmicity and that external disturbances and illness can reduce animals' rhythmicity. Consequently, the pilot study aimed to (1) determine whether dairy cows in a husbandry system with automatic milking systems could develop ultradian and circadian rhythms; (2) identify factors that could affect rhythmicity; and (3) investigate the relationship between the cow's rhythmicity and its melatonin balance. The activity of ten cows each on four Swiss dairy farms was recorded for 28 days, and saliva samples were taken at 3-hourly intervals over 24 hours to determine the circadian melatonin profile. The constancy of ultradian and circadian activity rhythms was determined using the performance-related degree of coupling (DFC) with the activity data in sliding 7-day periods. Half of all DFC values were above 0.7 (value range between 0 and 1), which showed that the cows were in principle capable of developing activity rhythms. However, the DFC displayed a high level of variation with most cows. DFC levels were highly correlated with the distribution of activity between day and night, activity level, variability of activity, milking intervals and the length of milking intervals. It was not possible to find a link between DFC levels and the day-night difference in melatonin concentration in saliva. This pilot study shows both the need and potential for research on rhythmicity as a possible indicator for animal well-being, and the effect of individual factors.

Einleitung und Zielsetzung

Biologische Rhythmen, wie das Ruhe- und Aktivitätsverhalten, die Futteraufnahme oder die Regulierung des Hormons Melatonin, werden endogen in Abhängigkeit des Tag-Nacht-Zyklus und der veränderlichen Photoperiode der Umwelt durch den suprachiasmatischen Nucleus (SCN) im Hypothalamus

gesteuert (Dickmeis 2009; Piccione and Caola 2002; Plaut and Casey 2012; Vir Singh and Kumar 2018). Melatonin, das den Schlaf-Wach-Rhythmus eines Organismus reguliert, wird unter Einfluss von Licht gehemmt und folgt daher einem tagesperiodischen Verlauf mit niedrigen Konzentrationen während des Tages und hohen Konzentrationen während der Nacht (Amaral and Cipolla-Neto 2018; Dahl, Buchanan, and Tucker 2000; Werner et al. 2018). Der in der Natur vorherrschende Rhythmus ist der zirkadiane Rhythmus mit einer ungefähr 24-stündigen Periodizität. Rhythmen mit einer Periodendauer von weniger als 24 Stunden werden als ultradiane Rhythmen bezeichnet (Piccione and Caola 2002). Die Aktivitätsrhythmen von Tieren in extensiven Haltungssystemen und Wildtierhabitaten wurden bereits in vergangenen Studien untersucht. Es hat sich gezeigt, dass Tiere in extensiver Haltung einen kontinuierlichen Aktivitätsrhythmus ausbilden können (Jacobs and Siegford 2012; Nunes Marsiglio Sarout et al. 2018). Insbesondere Wiederkäuer halten einen konstanten Futteraufnahme- und Wiederkäu-Rhythmus ein, um einen stetigen Strom an Nährstoffen für den Verdauungstrakt bereitzustellen (Scheibe et al. 1999). Einerseits ist die Stabilität dieser Tagesrhythmen entscheidend für die Aufrechterhaltung der körperlichen Funktionen und schließlich für die Gesunderhaltung des Organismus (Steinhardt 2001). Andererseits können Krankheit, Stress oder auch äussere Störungen negativ auf die Rhythmik der Tiere wirken (Berger 2011; Berger et al. 2003; Nunes Marsiglio Sarout et al. 2018; Scheibe et al. 1999). Während Tiere in extensiven Haltungssystemen einem deutlichen Aktivitätsrhythmus folgen (Jacobs and Siegford 2012; Nunes Marsiglio Sarout et al. 2018), ist über den Rhythmus intensiv gehaltener Tiere unter dem Einfluss des Menschen, z.B. von Nutz- und Zootieren, wenig bekannt (Berger 2011).

Es wurde bisher kaum untersucht, wie sich Haltungssysteme mit automatischem Melksystem (AMS) auf die ultra- und zirkadianen Aktivitätsrhythmen von Milchkühen auswirken. Sowohl positive Einflüsse, beispielsweise durch die freie Einteilung des Tages durch die Tiere als auch negative Einflüsse durch externe Störungen, wie beispielsweise nächtliches Licht im Wartebereich des AMS, sind denkbar. Erste Hinweise ergaben sich aus einer Studie von Wechsler et al. (2012), die einen negativen Zusammenhang zwischen der Melatoninkonzentration von Kühen in Haltungssystemen mit AMS und dem Auftreten von Nachtmelkungen feststellten. Im Rahmen dieser Arbeit wurde daher eine Pilotstudie zu ultra- und zirkadianen Aktivitätsrhythmen von Kühen auf Betrieben mit automatischem Melksystem und freiem Kuhverkehr durchgeführt. Um die Konstanz dieser Rhythmen zu bestimmen, wurde der leistungsbezogene Kopplungsgrad (DFC = Degree of Functional Coupling) nach Scheibe et al. (1999) berechnet. Es wurde untersucht, ob die ausgewählten Kühe einen ultra- und zirkadianen Aktivitätsrhythmus entwickeln konnten und ob die Ausprägung der Rhythmen mit bestimmten tierbezogenen Parametern (z.B. Laktationstag, Anzahl der Laktationen, Bewegungsaktivität, Milchleistung, Melkintervall) beeinflusst wird. Weiterhin wurde untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen der Melatoninkonzentration und den ultra- und zirkadianen Rhythmen der Kühe besteht.

Material und Methoden

Die Studie wurde auf vier Schweizer Milchviehbetrieben mit AMS (je zwei Betriebe mit AMS der Firmen Lely und DeLaval) und freiem Kuhverkehr durchgeführt. Während der Versuchsperioden wurden alle Tiere im Laufstall ohne Zugang zu Weide gehalten. Bis auf einen Betrieb hatten alle Betriebe einen zusätzlichen Laufhof für die Kühe. Insgesamt wurden Daten an 40 Holstein Friesian und Brown Swiss Kühen zwischen der 1. und 7. Laktation und zwischen dem 38. und 246. Laktationstag gesammelt. Pro Betrieb wurden jeweils zehn Kühe ausgewählt. Fünf davon mit einer niedrigen Melkhäufigkeit zwischen 2,1-2,9 Melkungen pro Tag und fünf Kühe mit einer hohen Melkhäufigkeit zwischen 2,9-3,7 Melkungen pro Tag.

Der Versuch war unterteilt in zwei ca. vierwöchige Versuchsperioden. In jeder dieser Versuchsperioden wurden die Messdaten auf jeweils zwei Praxisbetrieben parallel erhoben. Zur Aktivitätsüberwachung wurden den Tieren Pedometer (IceTag3D, IceRobotics Ltd, Edinburgh, Grossbritannien) über eine Dauer von 28 Tagen angelegt. Während dieses Zeitraums zeichneten die Pedometer einen Bewegungsindex auf, anhand dessen der harmonische Part der Aktivität (HP) sowie der DFC berechnet wurden. Diese Berechnungen wurden für jedes Tier über 21 gleitende 7-Tages-Perioden durchgeführt. Der HP ist hierbei die Summe aller signifikanten, harmonischen Aktivitätsperioden. Als harmonisch definiert sind diejenigen Perioden, die sich aus der Division von 24 Stunden mit einer Ganzzahl ergeben (24h, 12h, 8h usw.). Der DFC stellt wiederum den Anteil des HP an der signifikanten Gesamtaktivität in einem Wertebereich zwischen 0 und 1 dar. Je stärker die Aktivität des Tieres auf den 24-stündigen Rhythmus der Umwelt abgestimmt ist, desto höher ist der HP und desto höher ist auch der DFC. Ein maximaler DFC von 1 zeigt eine 100%ige Synchronisierung des Aktivitätsrhythmus mit der Umwelt.

Darüber hinaus wurden tierspezifische Daten der AMS ausgelesen, um weitere Informationen über die Kühe und ihr Melkverhalten zu erhalten. Auf der Grundlage dieser Daten konnte für jede Kuh ein Profil erstellt werden, das Melkzeiten, Melkhäufigkeit, Milchleistung, Anzahl und Tag der Laktation sowie den Reproduktionsstatus enthielt. Dieser Datensatz wurde mit den Aktivitätsdaten der Pedometermessungen zusammengeführt.

Zur Messung der Melatoninkonzentration fanden am jeweils letzten Tag der beiden Versuchsperioden alle drei Stunden Speichelprobenahmen statt. Während des Zeitpunkts der Probenahme wurden die Kühe manuell am Halfter fixiert. Für die nächtlichen Probenahmen wurden ausschließlich Stirnlampen mit rotem Licht verwendet, um einen Einfluss auf die Melatoninkonzentration auszuschließen. Die Speichelproben wurden mit Hilfe von Salivetten® entnommen (Sarstedt AG & Co KG, Nümbrecht, Deutschland) und mittels eines indirekten Immunoassays mit einem ELISA-Kit (Salivary Melatonin Assay Kit, Salimetrics LLC., State College, USA) zur Bestimmung der Melatoninkonzentration untersucht. Um den Einfluss von Licht auf die Melatoninkonzentration abschätzen zu können, wurden die Beleuchtungsstärken im AMS, am Futtertisch und im Stall jeweils im Anschluss an die Speichelprobenahmen mit einem Luxmeter (MavoSpec Base Spektrometer, Gossen Foto- und Lichtmesstechnik GmbH, Nürnberg, Deutschland) gemessen.

Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse der Melatoninanalyse und die gemessenen Beleuchtungsstärken auf den vier Betrieben stimmen mit den in der Literatur angegebenen Ergebnissen eines typischen Melatoninverlaufs von Rindern mit niedrigen Konzentrationen während der Photoperiode und hohen Konzentrationen während der Nacht überein (Auld et al. 2007; Burchard, Nguyen, and Block 1998; Castro et al. 2011). Darüber hinaus deckt sich die Annahme einer negativen Beziehung zwischen der Beleuchtungsstärke und Melatonin mit den Ergebnissen des vorliegenden Experiments. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Melatoninkonzentration und dem DFC konnte jedoch nicht festgestellt werden.

Die Resultate der Aktivitätsmessung lassen darauf schließen, dass es den untersuchten Kühen prinzipiell möglich war, einen Aktivitätsrhythmus auszubilden. Die Versuchstiere zeigten signifikante Aktivitätsrhythmen mit einer Periodizität von 24, 12, 8, und 6 Stunden. Über alle Betriebe entsprachen 50.4% der berechneten DFC-Perioden einem Wert $> 0,7$ und 40.0% einem Wert $< 0,7$. Der Anteil der DFC-Perioden, in denen kein Aktivitätsrhythmus der Kühe berechnet werden konnte, betrug 9,6%. Der tierspezifische DFC war jedoch bei einem Großteil der Tiere durch eine starke Instabilität und plötzliche

Wechsel von Perioden mit niedrigem DFC zu Perioden mit hohem DFC oder umgekehrt gekennzeichnet. Jedoch waren auf allen vier Betrieben auch Kühe mit überwiegend niedrigem als auch mit überwiegend hohem DFC vorhanden. Auffallend war, dass Tiere mit überwiegend hohem DFC einen deutlichen Unterschied im Aktivitätsniveau zwischen Ruhe- (22-6 Uhr) und Aktivitätsphase (6-22 Uhr) zeigten, wohingegen Kühe mit überwiegend niedrigem DFC keinen deutlichen Unterschied zwischen Ruhe- und Aktivitätsperiode aufwiesen (siehe Abb. 1 und Abb. 2).

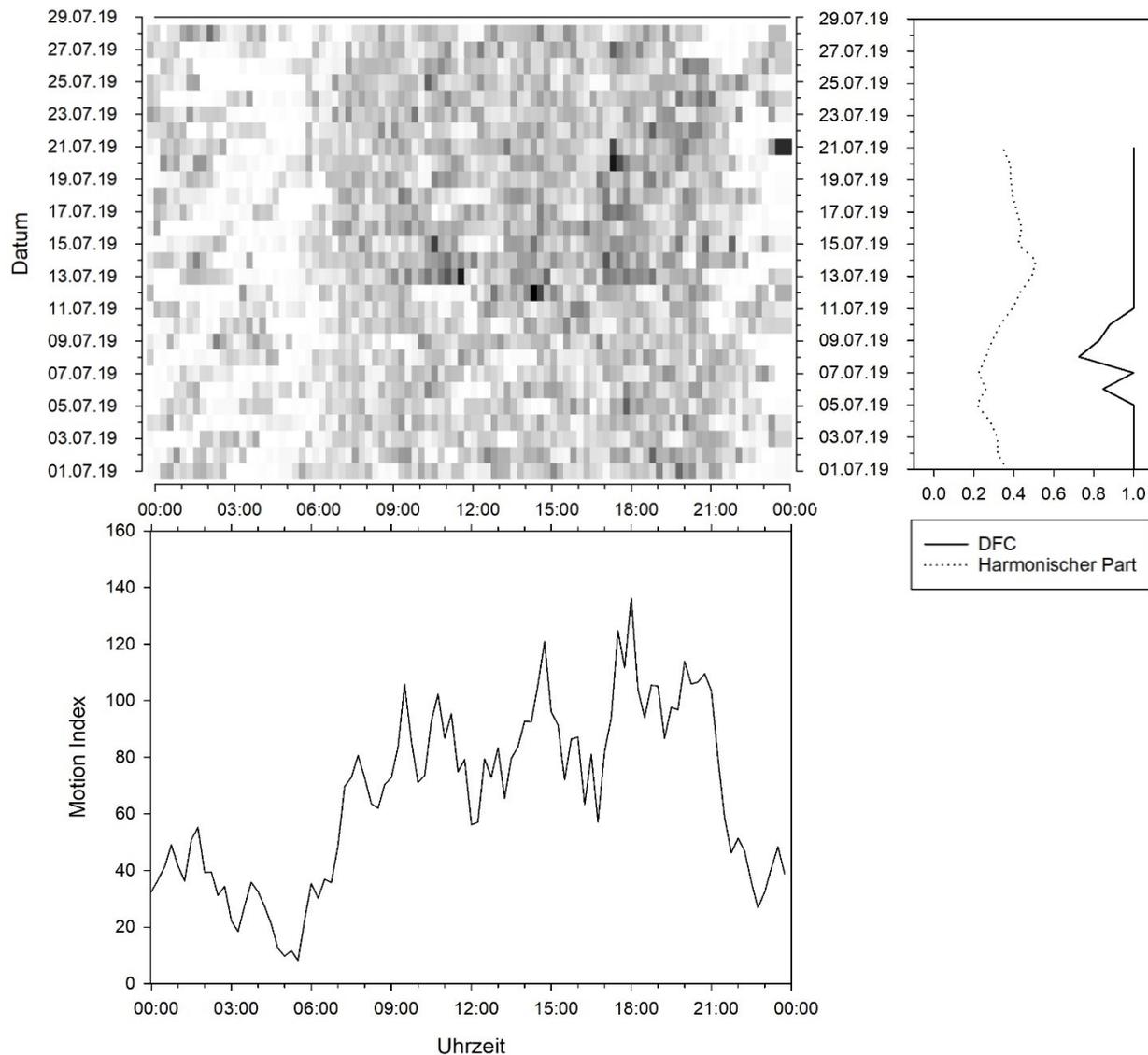


Abb. 1: DFC, Actogramm und Diagramm des gemittelten Aktivitätsverhaltens einer Kuh mit hoher Rhythmizität. Das Actogramm gibt die Intensität der Aktivität (Motion-Index) proportional zu einer Farbcodierung von Weiss nach Schwarz (hell: niedrige Aktivität; dunkel: hohe Aktivität) wider. Das Diagramm des Aktivitätsmusters zeigt über den gesamten Versuchszeitraum die durchschnittliche Aktivität während 24 Stunden eines Tages.

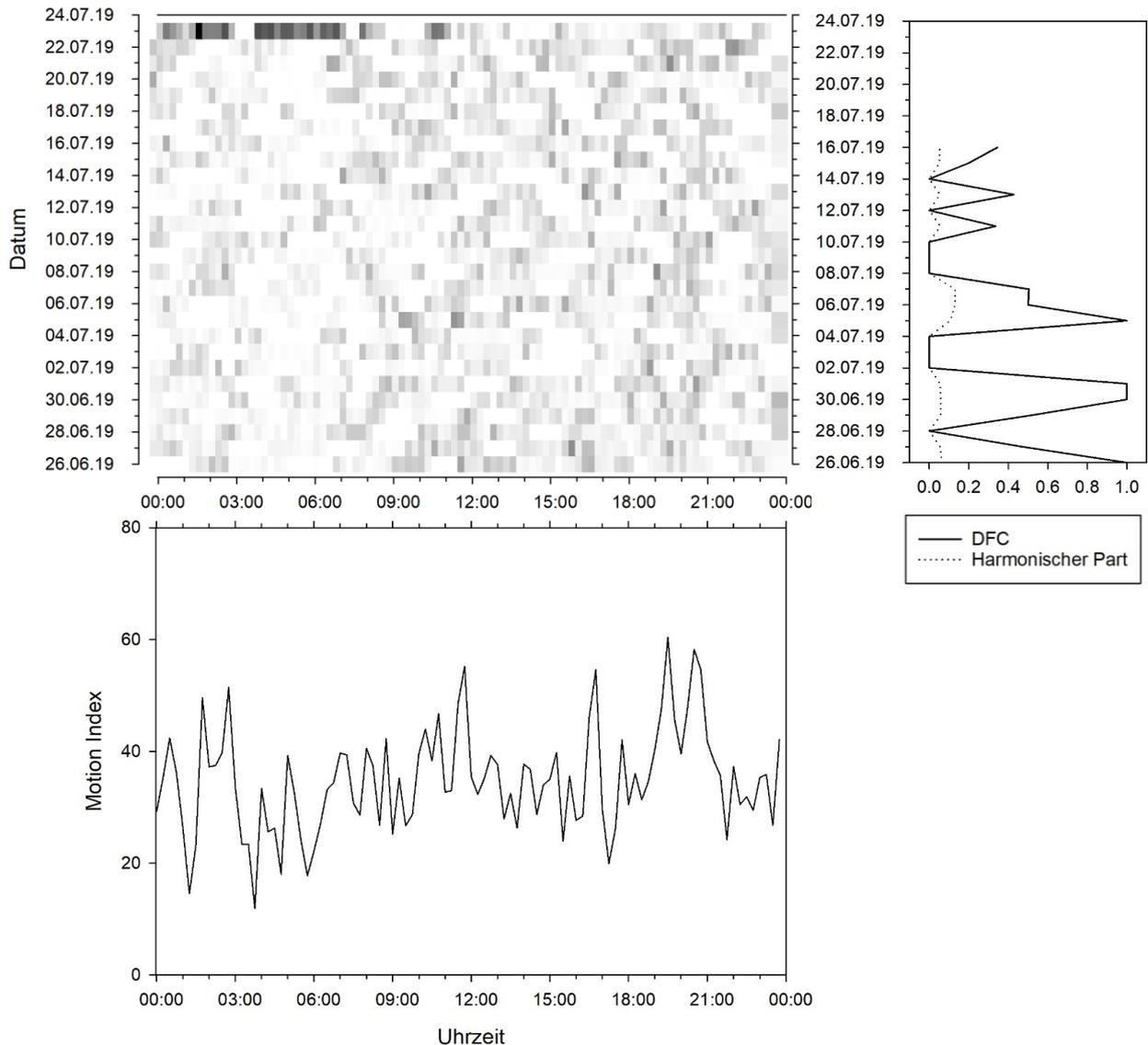


Abb. 2: DFC, Actogramm und Diagramm des gemittelten Aktivitätsverhaltens einer Kuh mit niedriger bzw. stark schwankender Rhythmizität. Das Actogramm gibt die Intensität der Aktivität (Motion-Index) proportional zu einer Farbcodierung von Weiss nach Schwarz (hell: niedrige Aktivität; dunkel: hohe Aktivität) wider. Das Diagramm des Aktivitätsmusters zeigt über den gesamten Versuchszeitraum die durchschnittliche Aktivität während 24 Stunden eines Tages.

Die Aufstellung eines linearen Regressionsmodells hat ergeben, dass zwischen DFC und dem Aktivitätsniveau der Tiere, der Tages- und Nachtaktivität, dem Melkintervall sowie den Standardabweichungen von Aktivität und Melkintervall ein signifikanter Zusammenhang bestand. Während 7-Tages-Perioden mit einem DFC-Wert < 0.7 zeigten die Kühe im Mittel eine niedrigere Gesamtaktivität, einen höheren Anteil der Aktivität während der Nacht (22-6 Uhr) als am Tag sowie ein kürzeres Melkintervall (resp. höhere Melkfrequenz). Darüber hinaus zeigten diese Tiere eine durchschnittlich höhere Standardabweichung der Aktivität und des Melkintervalls. Keinen Einfluss auf den DFC hatten die Lakta-

tionsnummer- und der Laktationstag der Kühe. Ebenso konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem DFC und der Milchleistung sowie der Anzahl an Tages- und Nachtmelkungen festgestellt werden.

Die Ergebnisse dieser Pilotstudie zeigen den Zusammenhang des DFC mit verschiedenen tierbezogenen Parametern. Es ist gut erklärbar, dass eine stärkere Variabilität der Aktivität die Rhythmizität der Tiere negativ beeinflusst. Ein Tier, das sein Aktivitätsniveau häufig ändert, konnte in dieser Studie offensichtlich weniger gut ultra- und circadiane Rhythmen ausbilden, als ein Tier mit gleichmässigem Aktivitätsniveau. Allerdings bedeutet dies nicht, dass eine Kuh mit geringer Variabilität der Aktivität zwangsläufig einen höheren DFC haben muss. Auch ein gleichmässiges Aktivitätsniveau kann in Perioden mit niedriger Gesamtaktivität auftreten oder auch auf unharmonischen Aktivitätsintervalle bei der Berechnung des DFC verteilt sein.

Bisher nicht geklärt ist der positive Zusammenhang zwischen der Höhe der Aktivität und der Höhe des DFC. Jedoch scheint das Melkmanagement eines Betriebes durch das voreingestellte Melkanrecht pro Kuh und Tag bei der Ausübung eines kontinuierlichen Aktivitätsrhythmus der Kühe eine Rolle zu spielen. Hierbei ist denkbar, dass es insbesondere Kühen mit hoher Melkfrequenz schwerer fällt, ihren Tagesablauf anhand der vorgegebenen Melkberechtigungen zu strukturieren. Weitere Faktoren, wie die Rangordnung einer Kuh in der Herde oder hormonelle Veränderungen (z.B. Brunst), sowie Beeinträchtigungen der Gesundheit eines Tieres könnten ausserdem auf die Aktivitätsrhythmen von Kühen wirken (Berger 2011; Berger et al. 2003; Nunes Marsiglio Sarout et al. 2018; Scheibe et al. 1999). In der vorliegenden Untersuchung konnte der Einfluss dieser Faktoren, sowie weiterer Einflüsse innerhalb des Stallumfeldes oder Betriebsmanagements auf die Aktivitätsrhythmen der Kühe jedoch aufgrund der begrenzten Anzahl an Tieren und Betrieben nicht bestimmt werden.

Schlussfolgerung

In der vorliegenden Pilotstudie konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Aktivitätsrhythmik von Milchkühen an automatischen Melksystemen und der Melatoninkonzentration im Speichel der Kühe festgestellt werden. Jedoch ließen sich Zusammenhänge zwischen der Ausbildung von Aktivitätsrhythmen der Tiere und verschiedenen Aktivitäts- und Melkvariablen zeigen. Im Rahmen dieses Versuches konnten keine Ursachen für die interindividuellen Unterschiede bezüglich der Aktivitäts- und Melkvariablen untersucht werden. Sollte dies in zukünftigen Studien gelingen, ist angesichts der Relevanz biologischer Rhythmen für physiologische Vorgänge und die Aufrechterhaltung der Tiergesundheit die Entwicklung eines Indikators für Tierwohl und Tiergesundheit unter Berücksichtigung zirkadianer Rhythmen von Rindern denkbar.

Literatur

- Amaral, F. G. D., and J. Cipolla-Neto. 2018. 'A brief review about melatonin, a pineal hormone', *The Archives of Endocrinology and Metabolism*, 62: 472–79.
- Auldish, M. J., S. A. Turner, C. D. McMahon, and C. G. Prosser. 2007. 'Effects of melatonin on the yield and composition of milk from grazing dairy cows in New Zealand', *Journal of Dairy Research*, 74: 52–7.
- Berger, A. 2011. 'Activity patterns, chronobiology and the assessment of stress and welfare in zoo and wild animals', *International Zoo Yearbook*, 45: 80–90.
- Berger, A., K. M. Scheibe, S. Michaelis, and W. J. Streich. 2003. 'Evaluation of living conditions of free-ranging animals by automated chronobiological analysis of behavior', *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers*, 35: 458–66.
- Burchard, J. F., D. H. Nguyen, and E. Block. 1998. 'Effects of Electric and Magnetic Fields on Nocturnal Melatonin Concentrations in Dairy Cows', *Journal of Dairy Science*, 81: 722–27.

Gemeinsame Melktechniktagung - Agroscope und AGRIDEA 2020

- Castro, N., M. Spengler, V. Lollivier, O. Wellnitz, H. H. D. Meyer, and R. M. Bruckmaier. 2011. 'Diurnal pattern of melatonin in blood and milk of dairy cows', *Milchwissenschaft*, 66: 352–53.
- Dahl, G. E., B. A. Buchanan, and H. A. Tucker. 2000. 'Photoperiodic Effects on Dairy Cattle: A Review', *Journal of Dairy Science*, 83: 885-93.
- Dickmeis, T. 2009. 'Glucocorticoids and the circadian clock', *Journal of Endocrinology*, 200: 3–22.
- Jacobs, J. A., and J. M. Siegford. 2012. 'Invited review: The impact of automatic milking systems on dairy cow management, behavior, health, and welfare', *Journal of Dairy Science*, 95: 2227–47.
- Nunes Marsiglio Sarout, Bruna, Anthony Waterhouse, Carol-Anne Duthie, Cesar Henrique Espirito Candal Poli, Marie J. Haskell, Anne Berger, and Christina Umstätter. 2018. 'Assessment of circadian rhythm of activity combined with random regression model as a novel approach to monitoring sheep in an extensive system', *Applied Animal Behaviour Science*, 207: 26–38.
- Piccione, Giuseppe, and Giovanni Caola. 2002. 'Biological Rhythm in Livestock', *Journal of veterinary science*, 3: 145–57.
- Plaut, K., and T. Casey. 2012. 'Does the circadian system regulate lactation?', *Animal*, 6: 394–402.
- Scheibe, K. M., A. Berger, J. Langbein, W. J. Streich, and K. Eichhorn. 1999. 'Comparative Analysis of Ultradian and Circadian Behavioural Rhythms for Diagnosis of Biorhythmic State of Animals', *Biological Rhythm Research*, 30: 216–33.
- Steinhardt, Martin. 2001. 'Aktivitätsperioden und Rhythmizität physiologischer Variablen von Saugkälbern der Mutterkuhhaltung: Herzfrequenz, Aktivitäts- und Ruheperioden während der Anpassung der Tiere an die Weidehaltung', *Landbauforschung Völkenrode*, 51: 109–19.
- Vir Singh, Sohan, and Sunil Kumar. 2018. 'Circadian rhythm and their significance in relation to physiological functions of animals: A review', *Journal of Entomology and Zoology Studies (JEZS)*, 6: 1861–66.
- Wechsler, Beat, Isabelle Neuffer, Simone Helmreich, Lorenz Gygax, and Rudolf Hauser. 2012. 'Automatische Melksysteme, Aspekte der Tiergerechtheit', *ART-Bericht*, 752.
- Werner, Daniel, Michael Schneider, Eva Schwenzfeier-Hellkamp, Maike Müller, Klaus Reiter, Andreas Pelzer, and DLG-Ausschuss. 2018. 'Beleuchtung und Beleuchtungstechnik im Rinderstall', *DLG-Merkblatt*, 2. Auflage.