

**Auswirkungen einer verlängerten Säugezeit
auf das Stressgeschehen bei Absatzferkeln
in ökologischer Haltung**

Yvonne Sünkel

Aus dem
Veterinärwissenschaftlichen Department,
Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung
der Tierärztlichen Fakultät München
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand : Prof. Dr. M. H. Erhard

Angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. M. H. Erhard

Auswirkungen einer verlängerten Säugezeit auf das Stressgeschehen bei Absatzferkeln in ökologischer Haltung

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

von
Yvonne Sünkel
aus Kronach

München 2010

gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Erhard

Korreferent/en: Univ.-Prof. Dr. Stangassinger

Tag der Promotion: 24. Juli 2010

Meiner Oma

"Es gibt Wunder, die müssen im Dunkeln geschehen" –

Prof. Dr. Abdul Nachtigaller, in Rumo & die Wunder im Dunkeln

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Literaturübersicht	3
2.1 Grundsätzliches zum Thema Stress.....	3
2.1.1 Definition des Begriffs	3
2.1.2 Ablauf der Stressreaktion	4
2.2 Glucocorticoide	7
2.2.1 Synthese der Glucocorticoide	7
2.2.2 Stoffwechsel und Funktion.....	7
2.2.3 Beeinflussung des Cortisolwerts	8
2.2.4 Physiologische Werte	9
2.3 Histamin.....	10
2.3.1 Synthese und Aufbau	10
2.3.2 Stoffwechsel und Produktion	10
2.3.3 Beeinflussung des Histaminspiegels.....	11
2.3.4 Physiologische Werte	12
2.4 Haptoglobin	12
2.4.1 Synthese und Aufbau	12
2.4.2 Stoffwechsel und Funktion.....	12
2.4.3 Beeinflussung des Haptoglobinwertes.....	13
2.4.4 Physiologische Werte	14
2.4.5 Haptoglobin als Stressparameter	14
2.5 Ethogramm des Ferkels	15
2.5.1 Abstammung und Grundlage des Verhaltens des domestizierten Hausschweines.....	15
2.5.2 Sozialverhalten	16
2.5.3 Saug- und Fressverhalten	16
2.5.4 Ruheverhalten	17
2.5.5 Erkundungsverhalten	17
2.5.6 Agonistik und Spiel	18
2.5.7 Komfortverhalten	19
2.6 Schlussfolgerungen für eigene Untersuchungen	19
3. Tiere, Material und Methode	21
3.1 Versuchsaufbau	21

3.2 Tiere.....	22
3.3 Aufstallung.....	22
3.4 Fütterung.....	23
3.5 Sonstige Behandlungen.....	24
3.6 Technische Hilfsmittel.....	24
3.6.1 Physiologischer Teil.....	24
3.6.2 Ethologischer Teil.....	25
3.7 Videobeobachtung.....	26
3.8 Direktbeobachtung.....	29
3.9 Analytik der Blutproben.....	31
3.9.1 Bestimmung von Cortisol und Corticosteron.....	31
3.9.2 HPLC-Methodik Histamin.....	32
3.9.3 Haptoglobin-Bestimmung.....	32
3.10 Statistische Auswertung und Darstellung der Ergebnisse.....	33
4. Ergebnisse.....	35
4.1 Einfluss der Zeit der Blutentnahme auf die Höhe der untersuchten Stressparameter.....	35
4.2 Ergebnisse der Cortisolbestimmung aus dem Blutplasma der Ferkel.....	39
4.3 Ergebnisse der Corticosteronbestimmung aus dem Blutplasma der Ferkel.....	44
4.4 Ergebnisse der Histaminbestimmung aus dem Blutplasma der Ferkel.....	45
4.5 Ergebnisse der Haptoglobinbestimmung aus dem Blutplasma der Ferkel.....	48
4.6 Videobeobachtung der Ferkel um den Absetzzeitpunkt im Gruppensäugestall.....	53
4.7 Direktbeobachtung der Ferkel nach dem Absetzen und der folgenden Umstallung in den Aufzuchtstall.....	56
5. Diskussion.....	58
5.1 Blutparameter.....	58
5.1.1 Einfluss der Blutentnahmedauer auf die Konzentrationen der Stressparameter im Blutplasma der Ferkel.....	58
5.1.2 Einfluss des Absetzens und der Immunisierung auf die Cortisolkonzentration im Plasma der Ferkel.....	59
5.1.3 Einfluss des Absetzens und der Immunisierung auf die Corticosteronkonzentration im Plasma der Ferkel.....	61
5.1.4 Einfluss des Absetzens und der Immunisierung auf die Histaminkonzentration im Plasma der Ferkel.....	62
5.1.5 Einfluss des Absetzens und der Immunisierung auf die Haptoglobinkonzentration im Plasma der Ferkel.....	63
5.2. Verhaltensbeobachtungen.....	64

5.2.1 Videobeobachtung	64
5.2.2 Direktbeobachtung.....	66
5.3 Schlussfolgerungen.....	68
6. Zusammenfassung	70
7. Summary	72
8. Literaturverzeichnis	74
9. Anhang	86
Danksagung	89
Curriculum vitae	91

Abkürzungsverzeichnis:

ACTH = adrenocorticotropes-Hormon

APP = Akute Phase Proteine

AVP = Arginin-Vasopressin = Antidiuretisches Hormon

BAT = Beratung Artgerechte Tierhaltung e.V.

CRH = Corticotropin-Releasing Hormon / Corticoliberin

E.coli = Escherichia coli

GC = Glucocorticoide

GREs = Glucocorticoidreaktive Elemente

H₁R – H₄R = Histaminrezeptor 1 - 4

Hp = Haptoglobin

HPA-Achse =Hypothalamic-Pituitary-Axis / Hypothalamus-Nebennierenrinden-Achse

Hsp = Hitzeschockprotein

IgX = Immunglobulin der Klasse X

IL = Interleukin

nmol = nanomol

OvA = Ovalbumin A

p.n. = post natum

Parvo/SMEDI = Parvovirose / stillbirth, mummification, embryonic death, infertility

POMC = Proopiomelanocortin

PVN = paraventriculärer Nucleus

S. typhimurium = Salmonella typhimurium

TierSchNutzVO = Tierschutznutztierhaltungsverordnung

1. Einleitung

In der Grundlage für die konventionelle Ferkelaufzucht, der Tierschutznutztierhaltungsverordnung (TierSchNutzVO), ist eine Mindestsäugezeit von vier Wochen verankert. Die EU-Ökoverordnung-Durchführungsverordnung (Nr. 889/2008 vom 5. September 2008) hingegen schreibt für Ferkel eine Säugezeit von mindestens 40 Tagen vor. Diese längere Zeitspanne ist angelehnt an das Verhalten von Schweinen in freier Wildbahn, wo die Ferkel bis zu drei Monaten mit der Sau laufen (van Putten 1978; Boe 1991), und soll den Ferkeln ein möglichst natürliches Heranwachsen gewährleisten. In der Praxis treten aber trotz dieser verlängerten Säugeperiode nach dem Absetzen häufig Durchfälle und Ferkelverluste auf. Neben hygienischen und pathologischen Faktoren ist auch der Stress, dem die Tiere beim Absetzen ausgesetzt sind, eine mögliche Ursache für dieses Phänomen.

Beim Absetzen müssen sich die Ferkel mit massiven Veränderungen ihrer gewohnten Umgebung und ihres Tagesablaufs auseinandersetzen. Die Trennung vom Muttertier, die Ernährungsumstellung von Milch auf Festfutter und die Umstallung in ein fremdes Gebäude mit anderer Keimflora sind starke Stressoren für die Ferkel (Fraser et al. 1998). Ist ein Tier zu lange oder einem zu starken Stressor ausgesetzt, wirkt sich das sowohl auf sein Wohlbefinden, als auch auf die Immunabwehr und letztendlich auf den Gesundheitszustand des Tieres aus. In der ökologischen Aufzucht sind die Ferkel per se einem höheren Keimdruck ausgesetzt als in der konventionellen Haltung. Wegen der bestehenden Einschränkungen bezüglich des Einsatzes von Antibiotika und anderen allopathischen Behandlungsmethoden ist ein intaktes Immunsystem für diese Ferkel besonders wichtig. Eine Vermeidung von Stress während der Ferkelaufzucht ist also nicht nur im Sinne des Tierschutzes, sondern auch im Hinblick auf die Wirtschaftlichkeit eines Betriebes erstrebenswert.

Die vorliegende Arbeit ist Teil eines Kooperationsprojekts des Johann Heinrich von Thünen-Instituts, Bundesforschungsinstitut Ländliche Räume, Wald und Fischerei (vTI), ehemals Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft und der Ludwig-Maximilians-Universität München. In einem Projekt mit 44 Jungsaugen wurden deren Ferkel aus zwei Durchgängen in eine Versuchsgruppe mit einer verlängerten Säugezeit von 63 Tagen und eine Kontrollgruppe mit einer Säugezeit von 42 Tagen eingeteilt und Daten zum Stressgeschehen während des Absetzens erhoben.

Stress ist eine multifaktorielle Reaktion des Organismus, in die eine Vielzahl von körpereigenen Mechanismen eingebunden ist. Ein einzelner endokriner oder physiologischer Parameter kann keine objektive Darstellung des Stresszustandes eines Tieres geben (Bohus et al. 1987).

Das Ziel dieser Arbeit ist es daher, mittels einer Kombination von ethologischen (Video- und Direktbeobachtung) und physiologischen Parametern (Histamin-, Cortisol-, Corticosteron- und Haptoglobinkonzentrationen im Blut), eventuelle Unterschiede in der Stresssymptomatik der beiden Gruppen herauszuarbeiten und somit zu prüfen, ob eine Verlängerung der Säugeperiode bei Mastferkeln in ökologischer Haltung über die gesetzlich vorgeschriebenen 40 Tage hinaus sinnvoll wäre.

Die Förderung des Vorhabens erfolgt aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE).

2. Literaturübersicht

2.1 Grundsätzliches zum Thema Stress

2.1.1 Definition des Begriffs

Der Begriff Stress stammt ursprünglich aus der Physik, wo er sowohl den auf ein Objekt angewandten physischen Druck als auch den dadurch hervorgerufenen Effekt am Objekt bezeichnet (Cauchy 1827). Im Laufe der Zeit fand er unter modifizierter Bedeutung Einzug in viele andere naturwissenschaftliche Disziplinen, wie Physiologie (Cannon 1935), Ethologie (McBride 1980), Psychologie (Lee 1966) und Ökologie (Underwood 1989).

Der ungarische Arzt Hans Selye legte den Grundstein für das, was wir heute unter Stress verstehen. 1936 machte er einen Versuch mit Ratten, die er verschiedenen, akuten, unspezifischen Noxen aussetzte (z.B. Kälte, operativen Eingriffen oder der Verabreichung subletaler Dosen von verschiedenen Pharmazeutika). Darauf reagierten die Tiere mit einem typischen Syndrom, dessen Symptome unabhängig von der Art der Noxe immer gleich waren, und somit eine Reaktion des Körpers auf die Schädigung an sich repräsentierten (Selye 1936). Er definierte daraufhin Stress als die „Antwort des Organismus auf jede Beanspruchung“ und die den Stress auslösende Kraft als Stressor.

Selyes *“doctrine of nonspecificity”* blieb nicht unangefochten. In einer Studie an Ratten verursachte die Injektion einer 4%igen Formaldehydlösung bei den Versuchstieren einen doppelt so hohen Anstieg des ACTH-Wertes wie die einer 1%igen Lösung (Pacak et al. 1998). Auch andere Autoren belegten, dass die Antwortschemata des Organismus sowohl von der Dauer, als auch von der Intensität des Stressors abhängen (Morita 1985; Schadt und Ludbrook 1991). Hinzu kommen sowohl individuelle (Graessler et al. 1989), als auch speziesspezifische Unterschiede in der Stressreaktion. Bestimmte Reize, die in einer Spezies unbestritten eine adrenerge Reaktion hervorrufen, verursachen nur eine geringe oder gar keine Antwort in einer anderen (Freeman 1987). Ein anderer Kritikpunkt an Selyes Thesen war, dass die Glucocorticoidausschüttung nicht auf widrige Bedingungen beschränkt ist, sondern auch in Situationen wie Balz, Kopulation und Jagen stattfindet (Broom 1988). Broom, der sich viel mit dem Wohlbefinden von Nutztieren beschäftigte, definierte Stress als jede Stimulation, die außerhalb der Kapazität für vollständige Adaption liegt (Broom und Johnson 1993).

In aktuellen Arbeiten aus der Humanmedizin wird Stress definiert als ein Zustand des bedrohten oder des als bedroht wahrgenommenen Gleichgewichts der Körperfunktionen (Homöostase) (Elenkov und Chrousos 2006). Homöostase bezeichnet die Regelung der Körperfunktionen auf einen Punkt. Diese Ansicht ist mittlerweile überholt. In bestimmten Grenzen kann der Körper Störungen dieses Gleichgewichts durch neurale, neuroendokrine und neuroendokrin-immunologische Mechanismen bewältigen, man nennt dies Allostase (Sterling und Eyer 1988). Werden die Systeme überstimuliert oder arbeiten nicht regulär, werden die Grenzen ausgeschöpft, es kommt es zur „allostatischen Last“ die, wenn sie über einen längeren Zeitraum hinweg besteht, krank machen kann (McEwen 1998).

Die Fülle an verschiedenen Ansätzen und Versuchen dem Begriff Stress eine allgemeingültige Bedeutung zu geben, verdeutlicht die Komplexität und den Stellenwert, den dieses Thema in der heutigen Zeit erworben hat. So komplex wie die Einflüsse der Umwelt, der Haltung und des Individuums auf die Stressreaktion sind auch die dadurch ausgelösten Vorgänge im Organismus.

2.1.2 Ablauf der Stressreaktion

Am Anfang einer Stressreaktion steht die Einwirkung eines Stressors. Ein Stressor kann interner oder externer Herkunft sein. Die genetische Variabilität sowohl zwischen verschiedenen Spezies, als auch innerhalb einer solchen, beeinflusst die Reaktion auf einen Stressor. Zusätzlich ist auch die momentane Situation des Tieres ein wichtiger Faktor. So kann derselbe Stimulus in einer bestimmten Situation ein Stressor sein, in einer anderen aber nicht (Griffin 1989). Typische Stressoren für das Schwein sind zum Beispiel Absetzen, Überbelegung der Buchten, Geräusche, Schadstoffe in der Luft, Infektionen oder extreme Temperaturverhältnisse.

An der Stressreaktion sind hauptsächlich zwei Systeme beteiligt, die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HPA-Achse) und das Sympathikus-Nebennierenmark-System. Diese interagieren an vielen Punkten miteinander, so dass sie nicht als völlig voneinander getrennte Systeme betrachtet werden können (Oliviero 1987).

Wirkt ein Stressor auf ein Tier ein, werden in dessen Gehirn viele neuronale Schaltkreise aktiviert, um sich den neuen Anforderungen anzupassen. Zwei Neuropeptide, Corticotropin-Releasing Hormon (CRH) und Vasopressin (AVP), sind essentiell für die Koordination von verhaltenstechnischen und metabolischen Reaktionen auf Stress. Beide werden in parvozellulären Neuronen des paraventriculären Nucleus (PVN) im Hypothalamus gebildet und in die Hypophyse sezerniert (de Kloet et al. 2005).

CRH, ein 41-Aminosäurepeptid, ist der Hauptregulator der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (Elenkov und Chrousos 2006), und spielt sowohl zentral als auch peripher eine Schlüsselrolle in der Stressregulation des Organismus (Udelsman et al. 1986). CRH bewirkt hauptsächlich die Ausschüttung von adrenocorticotropem Hormon (ACTH) aus dem Hypophysenvorderlappen, AVP hingegen, wenn auch ein stark synergistischer Faktor für CRH, hat selbst nur wenig sekretorische Wirkung auf ACTH (Chrousos 1998). Über das Hirnfortadersystem gelangt ACTH in den Blutkreislauf und damit in die Nebennierenrinde, die daraufhin in der Zona fasciculata die Glucocorticoide Cortisol und Corticosteron produziert und freisetzt. Andere Hormone, Cytokine und das autonome Nervensystem der Nebennierenrinde können an der Regulation der Cortisolsekretion teilhaben (Charmandari et al. 2005). CRH stimuliert außerdem über die Adenylatcyclase im Nebennierenmark die Sekretion von Met-Enkephalinen und Katecholaminen. Die Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin aktivieren als Neurotransmitter an den postganglionären Neuronen den Sympathikus (Diener 2005), sie sind daher Bestandteil des Sympathikus-Nebennierenmark-Systems.

Die Katecholamine und die Glucocorticoide werden als klassische Stresshormone bezeichnet, sind aber nicht die einzige Antwort des Organismus auf Stress. So kommt es durch die Einwirkung eines Stressors zum Beispiel auch zur Akuten Phase Reaktion. Diese ist charakterisiert durch Makrophagen- und Mastzellaktivierung, der Produktion von Cytokinen, anderen Entzündungsmediatoren, sowie Akute Phase Proteinen (APPs) (Black und Garbutt 2002).

In ihrer Gesamtheit resultieren diese Mechanismen zunächst in der so genannten unspezifischen Stressreaktion des Organismus, charakterisiert durch die in Tabelle 1 aufgeführten physiologischen und verhaltenstechnischen Veränderungen.

Der ganze Organismus wird in Alarmbereitschaft versetzt, was kurzfristig zur Stressbewältigung sinnvoll ist (Charmandari et al. 2005). In diesem Stadium ist das Tier noch in der Lage seine Situation durch sein Verhalten zu ändern. Verliert es diese Kontrolle wird die verhaltenstechnische Aktivität unterdrückt. Bleibt die HPA-Achse über längere Zeit aktiviert, kommt es zu biologischen Veränderungen, aus denen sich ein präpathologisches Stadium entwickeln kann, in dem das Tier krankheitsanfällig wird (Griffin 1989). Hält dieser Zustand an, kommt es zwangsläufig zu pathologischen Veränderungen (Kagan und Levi 1974).

**Tabelle 1: Verhaltenstechnische und physiologische Adaption in akuten Stressphasen
Basierend auf Chrousos (1998)**

Verhaltenstechnisch	physiologisch
<ul style="list-style-type: none">- Erhöhte Erregung und Alarmbereitschaft- Erhöhte Wahrnehmung, Wachsamkeit und fokussierte Aufmerksamkeit- Euphorie oder Dysphorie- Unterdrückung von Appetit und Fressverhalten- Suppression des Sexualverhaltens- Eindämmung der Stressreaktion	<ul style="list-style-type: none">- Sauerstoff- und Nährstofftransport ins ZNS- Änderung des Herzkreislauf-tonus, erhöhter Blutdruck und Puls- Beschleunigte Atmung- Vermehrte Gluconeogenese und Lipolyse- Elimination endogener oder exogener toxischer Produkte- Hemmung der Verdauungsprozesse- Hemmung des Wachstums und der Sexualfunktion- Eindämmung der Immun- bzw. Entzündungsreaktion

2.2 Glucocorticoide

2.2.1 Synthese der Glucocorticoide

Cortisol und Corticosteron gehören zur Gruppe der Glucocorticoide (GC). Alle Glucocorticoide werden aus dem Vorläufermolekül Cholesterin hauptsächlich in der Zona fasciculata der Nebennierenrinde synthetisiert (Kirschbaum und Hellhammer 1989).

Durch die 20,20-Desmolase [P450 scc] wird Cholesterin in drei Schritten zu Pregnenolon umgewandelt. Pregnenolon wird dehydriert zu Progesteron, und dann über 11-Desoxycorticosteron zu Corticosteron, bzw. über 17 α -OH-Progesteron und 11-Desoxycortisol zu Cortisol hydroxyliert.

2.2.2 Stoffwechsel und Funktion

Den Nebennieren kommt in der hormonellen Stressregulation eine Schlüsselrolle zu, da sie sowohl Teil der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse als auch des Sympathikus-Nebennierenmark-Systems sind (Moberg 2000; Moberg 2000). Wirkt ein Stressor auf das Tier ein, kommt es zu einer vermehrten Sekretion von adrenocorticotropem Hormon aus dem Hypophysenvorderlappen, dem Hauptregulator der Synthese und Freisetzung von Glucocorticoiden (Minton 1994). ACTH entsteht durch Spaltung von Proopiomelanocortin (POMC) in seine Proteinkomponenten Corticotropin (ACTH) und β -Endorphin (Smith et al. 1998).

Die ACTH-Synthese und Ausschüttung wird reguliert durch Corticoliberin (CRH) und Vasopressin aus dem Hypothalamus, sowie durch einen negativen Feedbackmechanismus der Nebennierenrindenhormone. CRH und Vasopressin werden beim Schwein hoch übereinstimmend, circadian und pulsatil sezerniert, was in einer ebenfalls diurnalen und pulsatilen Ausschüttung von ACTH und Cortisol resultiert (Elenkov und Chrousos 2006). Ein erhöhter ACTH-Spiegel im Blut stimuliert die Nebennierenrinde zur vermehrten Synthese von Glucocorticoiden mit ihren Hauptvertretern Cortisol und Corticosteron. Glucocorticoide werden in einem tierartlich unterschiedlichen Verhältnis in das Blut sezerniert. Vögel, Mäuse, Kaninchen und Ratten bilden überwiegend Corticosteron, während bei Primaten, Hunden, Katzen, Pferden und Schweinen die Cortisolkonzentration im Blutplasma dominiert (Möstl 2005; Palme et al. 2005).

Die Hormone der Nebennierenrinde sind pleiotrop und bewirken ihre Effekte durch Bindung an ubiquitär vorkommenden, intrazellulären Rezeptoren (Elenkov und Chrousos 2006). Der

nichtaktivierte Glucocorticoid-Rezeptor befindet sich primär im Zytoplasma der Zelle, er ist Teil eines großen Multiproteinkomplexes bestehend aus dem Rezeptorpolypeptid, 2 Molekülen des Hitzeschockproteins hsp90 und einigen anderen Proteinen. Wird ein Hormon gebunden, dissoziiert der Rezeptor von hsp90 und den anderen Proteinen und wird in den Zellkern verlagert, wo er als Homodimer an GC-reaktiven Elementen (GREs) bindet. Diese GREs liegen in der Promoterregion der Zielgene und regulieren die Expression von GC-reaktiven Genen (Elenkov und Chrousos 2006). Die durch die Glucocorticoide hervorgerufenen Effekte sind katabolischer, antireproduktiver und immunsuppressiver Natur (Chrousos 1998). Chronische Glucocorticoidausschüttung unter Stress führt zu Proteinabbau, Hyperglykämie, Immunsuppression und erhöhter Infektionsanfälligkeit (Matteri et al. 2000; Matteri 2000).

2.2.3 Beeinflussung des Cortisolwerts

Die Cortisolkonzentration im Blut von Schweinen unterliegt einem durch die Photoperiode beeinflusstem circadianen Rhythmus mit den höchsten Konzentrationen am Morgen und einem Minimum am Nachmittag (Griffith und Minton 1991). Für Corticosteron konnte kein circadianer Rhythmus nachgewiesen werden, die maximalen bzw. minimalen Konzentrationen wurden im Gegensatz zum Cortisol gegen 18.00 Uhr bzw. 6.00 Uhr erreicht (Bottoms et al. 1972).

Der diurnale Cortisolrhythmus entwickelt sich mit zunehmendem Alter der Tiere. So konnten Gallagher et al. (2002) bereits an Tag 6 post natum (p.n.) bei weiblichen und Tag 10 p.n. bei männlichen Ferkeln einen circadianen Verlauf nachweisen, der sich allerdings während der weiteren Aufzucht noch weiter entwickelte. Evans et al. (1988) zeigten, dass der diurnale Cortisolrhythmus erst mit Eintreten des Tieres in die Geschlechtsreife vollständig ausgebildet ist. In dieser Studie konnten bei vier Wochen alten Tieren noch keine Schwankungen gemessen werden, während im Alter von acht und zwölf Wochen ein Minimum der Cortisolkonzentration am Nachmittag feststellbar war. Dagegen zeigte sich im Alter von 16 Wochen ein Maximum des Blutcortisolwerts in den Nachmittagsstunden. Mit 20 und 24 Wochen war ein morgendliches Maximum messbar und erst mit 28 Wochen zeigte sich ein deutlicher circadianer Rhythmus mit einem Hauptmaximum am Morgen, einem weniger deutlichen Anstieg am Nachmittag und minimalen Werten am Abend (Evans et al. 1988).

In einer Untersuchung des Plasmacortisolspiegels von Schweinen während und nach Stress durch einen Transport stiegen die Cortisol-Konzentrationen im Serum der Schweine innerhalb von 10 Minuten nach Transportbeginn von einem Ausgangswert von 40 nmol/l auf

70,2 nmol/l und nach 30 Minuten auf 87 nmol/l an. Vier Stunden nach dem Transportende wurde der Ausgangswert erreicht (Dalin et al. 1993).

Eine interessante Beobachtung machten de Jong et al. (2000) bei einem in angereicherter Haltungsumwelt („*environmental Enrichment*“) durchgeführten Versuch. Eine Versuchsgruppe von jungen Schweinen erhielt im Gegensatz zur Kontrollgruppe Stroheinstreu. Im Alter von 22 Wochen kam es bei den Tieren der Kontrollgruppe zu einer Abflachung des circadianen Rhythmus während dies bei der Versuchsgruppe nicht zu beobachten war (de Jong et al. 2000). Weitere Versuche von de Jong und de Groot zum *environmental Enrichment* bestätigten dieses Ergebnis (de Groot et al. 2000). Die Autoren folgern daraus, dass höhere Cortisolwerte nicht automatisch als ein Zeichen mangelnden Wohlbefindens gedeutet werden können (de Jong et al. 2000).

2.2.4 Physiologische Werte

Die hier folgende Angabe der physiologischen Werte für Corticosteroide geben eine grobe Richtlinie, da sie sowohl vom circadianen Rhythmus der Sekretion, als auch von vielen anderen Faktoren, wie z.B. auch individuellen Unterschieden beeinflusst werden.

In einer Untersuchung zum chronischen Stress bei Sauen in Anbindehaltung betrug der Plasmacortisolwert $49,4 \pm 8$ nmol/l um 10.00 Uhr und $19,9 \pm 4$ nmol/l um 18.00 Uhr für die Sauen der Kontrollgruppe (Janssens et al. 1995). Die Plasmacortisolwerte bei zwei bis vier Wochen alten Ferkeln liegen im Bereich zwischen 124 nmol/l und 177 nmol/l (Schoenreiter 1996). Der circadiane Rhythmus des Plasmacortisolspiegels wurde in einer Studie mit 5 Ferkeln in Einzelhaltung dokumentiert. Die Messungen ergaben ein Konzentrationsmaximum zwischen 3 Uhr (170 ± 45 nmol/l) und 6 Uhr (183 ± 37 nmol/l) und ein Minimum zwischen 18 Uhr (103 ± 29 nmol/l) und 21 Uhr (53 ± 22 nmol/l) (Marx und Haecker 1981).

Die Cortisolkonzentration im Speichel beträgt etwa 10% der Konzentration im Plasma (Parrott et al. 1989). De Jong et al. (2000) ermittelten bei 9 Wochen alten Ferkeln in einer angereicherten Haltungsumwelt einen integrierten 24h-Wert für Cortisol im Speichel von $6,19 \pm 0,44$ nmol/l. In Speichelproben von 27 kg schweren Ferkeln lagen die Maximalwerte bei 6,1 nmol/l um 08.00 Uhr und die Minimalwerte bei 3,3 nmol/l um 20.00-21.00 Uhr (Ekkel et al. 1995).

Den mittleren Tageswert für die Corticosteronkonzentration im Plasma von Schweinen (mit einem Gewicht von 68 kg) gibt Bottoms (1972) mit $2,4 \pm 0,8 \mu\text{g/l}$ an. In einer anderen Studie an sehr jungen Ferkeln (2-5 kg) lagen einmalig gemessene Werte bei $7,4 \mu\text{g/l}$ (Stith und Bottoms 1972).

2.3 Histamin

2.3.1 Synthese und Aufbau

Histamin (2-[Imidazol-4-yl]ethylamin) ist ein biogenes Amin, welches durch die Decarboxylierung der aromatischen Aminosäure Histidin (α -Amino- β -Imidazolpropionsäure) entsteht (Dale und Laidlaw 1910).

2.3.2 Stoffwechsel und Produktion

Histamin wird in mehreren Zelltypen des Körpers synthetisiert und vesikulär gespeichert. Die Hauptspeicher für Histamin sind Mastzellen, basophile Granulozyten und enterochromaffine Zellen in der Peripherie (Laszlo et al. 2001), sowie histaminerge Neuronen (Watanabe et al. 1984). Im Blut liegt Histamin überwiegend in basophilen Granulozyten und Thrombozyten gespeichert vor. Die Menge an freiem Histamin im Plasma ist unter physiologischen Bedingungen sehr gering (Maslinski 1975). Auch die Halbwertszeit von pharmakologisch aktivem Histamin ist gering. Sie beträgt bei Ratten weniger als 10 s und bei Hunden nur 20-30 s (Parsons und Ganellin 2006).

Die Degranulation von Mastzellen kann auf zweierlei Wegen ausgelöst werden. Bindet ein Antigen mittels Immunglobulin E (IgE) an der Oberfläche dieser Zellen kommt es zur Ausschüttung von Histamin, und damit verbunden, zu allergischen bis anaphylaktischen Reaktionen des Organismus wie Vasodilatation, erhöhter Gefäßpermeabilität und Kontraktion der glatten Muskulatur (Pearce 1989). Die Wirkung von Histamin an den Zellen der Zielorgane beruht auf einer Bindung an membranständigen Rezeptoren, von denen mittlerweile vier Klassen bekannt sind (H_1R - H_4R) (Lovenberg et al. 1999). Nach einer Mastzellaktivierung bewirkt das freigesetzte Histamin vor allem über H_1 Rezeptoren eine Vasodilatation, sowie einen Anstieg der Gefäßpermeabilität (Gottwald et al. 1998). Über die Aktivierung von H_2 Rezeptoren wird in erster Linie die Magensäureproduktion aus den Parietalzellen der Magenschleimhaut gesteigert. H_2 Rezeptoren steuern aber auch die erhöhte Mukussekretion und die Relaxation der glatten Muskulatur in den Atemwegen

(Bachert 2002). Außerdem hemmt Histamin über die Aktivierung von H₃ Rezeptoren die Acetylcholin-Freisetzung aus intestinalen cholinergen Nerven (Poli et al. 1991). Über H₄ Rezeptoren wird u.a. die Chemotaxis von Mastzellen zu Histamin vermittelt (Hofstra et al. 2003).

Die Degranulation von Mastzellen ist aber kein rein immunologisches Phänomen, sondern kann auch durch Neuropeptide (Church et al. 1987; Joos et al. 1994) oder CRH (Theoharides et al. 1998) sowie physikalische Faktoren, wie Kälte, Hitze und Trauma ausgelöst werden. Diese Aktivierung ist IgE-unabhängig. Besonders bedeutsam beim IgE-unabhängigen Weg scheint die neural bedingte Stimulation von Mastzellen zu sein. Die Mastzellen liegen bevorzugt in der Nähe von Blutgefäßen und freien Nervenenden, durch die sie „innerviert“ werden (Metcalf et al. 1997). Als Transmitter dienen Neurotensin, Somatostatin, Substanz P und Acetylcholin, für die die Mastzellen mit Rezeptoren ausgestattet sind (Bauer und Razin 2000).

2.3.3 Beeinflussung des Histaminspiegels

Im Tierversuch konnte nachgewiesen werden, dass stressbedingte Magengeschwüre oft einhergehen mit einer erhöhter Säuresekretion und Gefäßobstruktion. Diese Effekte werden wahrscheinlich durch Histamin hervorgerufen (Cho et al. 1992). Huang et al. (1998) konnten in einer Studie an mastzelldefizienten Ratten nachweisen, dass ein Eintauchen der Ratte in ein Kaltwasserbad zu einem 4-fachen Anstieg der Histaminkonzentration im Plasma führt. In einer weiteren Arbeit fanden sie heraus, dass auch die Intensität des Stressors einen Einfluss auf die Höhe des Histaminanstiegs hat. So verursacht sanftes Handling einen 1,9-fachen Histaminanstieg, die Immobilisation der Ratte für eine Minute einen 2,6-fachen Anstieg (Huang et al. 1999). Beim Ferkel verursacht eine zweiwöchige Fütterung mit 30 mg Lipopolysaccharid aus *Salmonella typhimurium* einen höheren Gehalt an freiem Histamin im Plasma (Aschenbach et al. 2003). Ebenso verursacht ein Transport über 8 km einen Anstieg der Plasmahistaminkonzentration (Aschenbach et al. 2006). In derselben Studie konnte durch eine subklinische Infektion mit *S.typhimurium* allerdings kein Anstieg der Histaminkonzentration festgestellt werden. Nach einem 8-stündigem Transport der Tiere sank der Plasmahistaminspiegel sogar (Aschenbach et al. 2006). Da freies Histamin im Plasma sehr schnell abgebaut wird, könnte eine Auslastung der neuronal freisetzbaren Histaminpools die Ursache dieses Phänomens sein (Lorenz et al. 1973).

2.3.4 Physiologische Werte

Der Plasmahistaminlevel beim Schwein ist im Gegensatz zu den meisten anderen Spezies relativ hoch. In der Literatur schwanken die angegebenen Mittelwerte der Histaminkonzentration im Plasma größtenteils zwischen 35 nM (Aschenbach et al. 2003) und 400 nM (Lorenz et al. 1973).

2.4 Haptoglobin

2.4.1 Synthese und Aufbau

Haptoglobin ist ein α -Globulin und gehört zur Gruppe der so genannten Akute Phase Proteine (APP). Seine Molekularstruktur ist ein Monomer von ca. 85 kDalton, bestehend aus zwei α -Ketten und zwei β -Ketten, die durch Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Es ähnelt somit sehr der Struktur von Hämoglobin und kann dieses auch irreversibel binden (Van Lente 1991).

2.4.2 Stoffwechsel und Funktion

Die Akute Phase Proteine sind eine Gruppe von Blutproteinen deren Konzentrationen von externen oder internen Stimuli wie Infektionen, Entzündungen, chirurgischen Traumata oder Stress abhängen (Baumann und Gaudi 1994; Murata et al. 2003). Die Einteilung der APP erfolgt in so genannte positive und negative Proteine. Sie beruht auf einer Steigerung bzw. einem Abfall der intrahepatischen Syntheserate als Reaktion auf einen externen oder internen Auslöser. Zu den negativen APP gehören Albumin, Transferrin und Transcortin, welches unter physiologischen Bedingungen rund 90% der zirkulierenden Glucocorticoide bindet (Westphal 1971).

Haptoglobin (Hp) gehört neben C-reaktivem Protein, Serum Amyloid A, Caeruloplasmin, Fibrinogen und α 1-Säure Glycoprotein zu den positiven APP. Es wird hauptsächlich in den Hepatozyten synthetisiert. Durch Entzündung, Infektion oder Gewebeschädigung werden aus den Makrophagen proinflammatorische Cytokine wie zum Beispiel Interleukin-6 (IL-6) freigesetzt. Diese sind die Hauptmediatoren der intrahepatischen APP-Synthese (Alsemgeest et al. 1994; Nakagawa-Tosa et al. 1995; Alsemgeest et al. 1996; Yoshioka et al. 2002), sie induzieren die Expression des Hp-Gens. In dessen Promoterregion befinden sich

3 IL-6-reagierende Regionen, A (-157), B (-111) und C (-61), die zusammen den Rezeptor für während der Akuten Phase Reaktion freigesetzte Hormone bilden. Die Bindung der Hormone und Cytokine an die regulatorischen Regionen begünstigt die Transkription des Hp-Gens und steigert die Synthese des Proteins (Quaye 2008).

Die Mediatoren der APP-Synthese, die Interleukine 1-6, setzen im Organismus eine systemische Reaktion in Gang, charakterisiert durch Fieber, Leukozytose, Erhöhung der Erythrozytensedimentationsrate und der Sekretion von ACTH und Glucocorticoiden, Abfall der Blutspiegel von Eisen und Zink sowie einer negativen Stickstoffbilanz (Heinrich et al. 1990).

Haptoglobin selbst bindet freies Hämoglobin und entzieht mit dem darin enthaltenem Eisen eingedrungenen Bakterien einen wichtigen Wachstumsfaktor (Van Lente 1991). Die Akute Phase Reaktion verhindert in ihrer Gesamtheit die ungehemmte Replikation eines eingedrungenen Pathogens, und fördert die schnelle Genesung des Organismus nach einem schädigendem Einfluss (Deak et al. 1997).

2.4.3 Beeinflussung des Haptoglobinwertes

Eine subkutane Injektion von Terpentin verursacht eine lokale aseptische Infektion und somit eine erhöhte APP-Serumkonzentration (Richter 1975; Lampreave et al. 1994). Ebenso führen Infektionen mit *Actinobacillus pleuropneumoniae* (Hall et al. 1992; Agerso et al. 1998; Heegaard et al. 1998; Amory et al. 2007) mit *Toxoplasma gondii* (Jungersen et al. 1999), *Mycoplasma hyopneumoniae* (Franek und Bilkei 2004; Amory et al. 2007) und mit dem Virus des Porcinen Reproduktiven Respiratorischen Syndrom (PRRS) (Asai et al. 1999) zu erhöhten Haptoglobinwerten. In die Studie von Amory et al. (2007) wurden neben den klinischen Anzeichen für Enzootische Pneumonie (EP) auch Stallbauparameter mit einbezogen. Die Verwendung von massiven Trennwänden zwischen den einzelnen Buchten senkte den Haptoglobinmittelwert um 0,44 mg/ml, eine Erhöhung der Buchtenfläche um 10 m² um 0,08 mg/ml. Dies hängt wahrscheinlich mit einem verminderten Kontakt der Ferkel untereinander und damit einer geringeren Infektionsgefahr zusammen. Aber auch ein geringeres Stresspotential ist denkbar, da bei einer erhöhten Grundfläche den Ferkeln während Auseinandersetzungen mehr Platz zum Ausweichen zur Verfügung steht, und es bei fehlender Kontaktmöglichkeiten zu Buchtnachbarn, also fremden Ferkeln, erst gar nicht zu Kämpfen kommen kann.

Den Einfluss der ökologischen Ferkelhaltung auf den Haptoglobinserumspiegel untersuchten Millet et al. (2005) in einem Versuch mit belgischen Mastferkeln. Es wurden jeweils 32 Ferkel im Alter von fünf Wochen in einen konventionellen bzw. ökologischen Aufzuchtstall

verbracht, von denen jeweils die Hälfte konventionelles bzw. ökologisches Futter erhielt. Zum Zeitpunkt der Schlachtung wurde der Haptoglobinwert im Serum ermittelt. Es gab keinen Unterschied aufgrund der verschiedenen Diäten, die Ferkel der ökologischen Buchten hatten aber niedrigere Haptoglobinwerte als die der konventionellen Buchten. Der Autor führt dies auf eine höhere Stressresistenz der ökologisch aufgezogenen Ferkel zurück, schließt jedoch einen Einfluss des Handlings vor dem Schlachten nicht aus.

2.4.4 Physiologische Werte

Bei neugeborenen Ferkeln ist die Konzentration von Haptoglobin sehr niedrig. Sie erreicht im Alter von zwei bis drei Wochen die Werte von adulten Schweinen (Richter 1974).

Petersen et al. (2002) fanden heraus, dass die APP-Blutkonzentration bei spezifisch pathogen frei (SPF) aufgezogenen Schweinen im Alter von zehn bis 25 Wochen keine signifikanten Unterschiede aufweist. Im Gegensatz zur Versuchsgruppe waren die APP-Spiegel der konventionell (also nicht SPF-freien) aufgezogenen Ferkel über die gesamte Versuchsdauer erhöht.

Parra et al. (2006) ermittelten bei 17 gesunden 10 Wochen alten SPF-Ferkeln einen Mittelwert für Haptoglobin von 0,21 mg/ml. In einer spanischen Studie wurde in neun verschiedenen Betrieben insgesamt 90 gesunden Ferkeln (45 männlich, 45 weiblich) zu verschiedenen Zeitpunkten Blut genommen und die Haptoglobinkonzentration mittels Radioimmundiffusion gemessen. Im Alter von vier Wochen lag der Mittelwert an Haptoglobin im Plasma bei 0,58 mg/ml und stieg bis zum Alter von 20 Wochen auf 0,89 ml/ml mit einem Maximum von 1,42 mg/ml im Alter von 12 Wochen (Pineiro et al. 2007).

2.4.5 Haptoglobin als Stressparameter

Ob und wie sich Stress auf den Haptoglobinspiegel auswirkt ist Gegenstand gegenwärtiger Forschung, die Studienergebnisse sind nicht eindeutig.

Francisco et al. (1996) fanden heraus, dass nach zwei Wochen abgesetzte Ferkel signifikant niedrigere Haptoglobinspiegel aufwiesen als nach drei Wochen abgesetzte, was mit einer geringeren Aggressivität der jüngeren Ferkel gegeneinander zusammen hängen könnte. Auch konnten erhöhte Haptoglobinwerte direkt nach dem Absetzen nachgewiesen werden (Eurell et al. 1992). Dagegen konnten keine erhöhten Werte bei durch Hitze, Kälte oder vierstündigem Transport gestressten Ferkel nachgewiesen werden (Hicks et al. 1998).

Ebenso wenig verursachte ein dreistündiger Transport eine Veränderung der Haptoglobinkonzentration (Gymnich et al. 2001). In einer anderen Studie dagegen führte ein längerer Transport über den Zeitraum von 24 Stunden zu einer signifikanten Erhöhung der Serumhaptoglobinkonzentration (Pineiro et al. 2001). Bei Ratten führt kurzfristiger Stress in Form eines Stromschlags zu einer signifikanten Erhöhung des Haptoglobinspiegels nach 24 Stunden (Deak et al. 1997).

Der genaue Mechanismus der Hp-Ausschüttung bei Stress ist noch unbekannt, es wird vermutet, dass ein Zusammenhang mit der Aktivierung der Hypothalamus-Nebennierenrinden-Achse besteht (Lomborg et al. 2008). Die Freisetzung sowohl der APP als auch die des ACTH in der Hypophyse wird über gemeinsame Mediatoren, nämlich die Cytokine IL1, IL6 und TNF- α reguliert (Heinrich et al. 1990). Desweiteren führt die Verabreichung des Hypophysenhormons ACTH selbst zu einem Anstieg der Akute Phase Proteine (Richter 1975). Die von der Nebenniere produzierten Glucocorticoide induzieren sowohl *in vitro* die intrahepatische Synthese von APP (Alsemgeest et al. 1995) als auch in *in vivo* Versuchen (Francisco et al. 1996).

2.5 Ethogramm des Ferkels

2.5.1 Abstammung und Grundlage des Verhaltens des domestizierten Hausschweines

Die heutigen Hausschweine sind domestizierte Wildschweine (*Sus scrofa*). Durch gezielte Auslese und Einkreuzen von asiatischen Unterarten wurden seit dem 19. Jahrhundert die typischen Merkmale herausgezüchtet: kurzer Schädel mit großen Ohren, geringe Behaarung, langgezogener Körper mit starker Betonung der Hinterhand (Wechsler 1997). Ethologische Studien in naturnahen Gehegen zeigen immer wieder, dass das arttypische Verhalten unserer Nutztiere sich durch Domestikation kaum verändert hat (Stolba und Woodgush 1984; Jensen und Recen 1989). Das arttypische Verhalten des Schweines wird jedoch in hohem Maße durch das Haltungssystem eingeschränkt und gesteuert (van Putten 1978).

2.5.2 Sozialverhalten

Schweine haben ein ausgeprägtes Bedürfnis nach sozialem Kontakt. Besonders in schwierigen Situationen versuchen sie immer wieder, mit der eigenen oder mit anderen Gruppen Kontakt aufzunehmen. Dies kann durch Lautäußerungen, visuell, mit Vorliebe aber durch direkten Körperkontakt geschehen (van Putten 1978). Grundeinheit der sozialen Organisation beim Europäischen Wildschwein ist die Mutterfamilie mit der Bache und ihren Frischlingen, wobei mehrere Mutterfamilien sich zu größeren Familienverbänden vereinigen (Gundlach 1968). Wie bei anderen sozial lebenden Spezies auch hat sich in Wildschweinrotten eine soziale Rangordnung (Hierarchie) evolutiv herausgebildet, die allerdings spezifisch durch Faktoren wie Territorialität (Revierbesitz), Erfahrung (Alter) und Körpermasse bestimmt wird (Meynhardt 1978).

2.5.3 Saug- und Fressverhalten

Wild- und Hausschweine sind iteropare und polytoke Säugetiere, d.h. Mütter gebären mehrmals im Laufe ihres Lebens Würfe, die wiederum aus mehreren, ungewöhnlich weit entwickelten Jungen bestehen, die unmittelbar nach der Geburt um den Zugang zur Ressource Milch konkurrieren (Puppe et al. 2008). Die Ferkel entwickeln in den ersten Lebenstagen eine stark lokal ausgeprägte Saugordnung und ordnen sich bei den Saugakten in einer charakteristischen Zitzenordnung an (McBride 1963). Sauen initiieren und begleiten den Saugakt mit einer stereotypen Folge von Grunzlauten (Whittemore und Fraser 1974; Ellendorf et al. 1982). Das Zusammenspiel zwischen Säugegrunzen und Milchejektion ist ein bei Säugetieren in dieser Komplexität einzigartiges System, das Verhalten der Ferkel und die Verteilung von Milch bioakustisch auf adaptive Weise zu synchronisieren (Fraser 1980). Die Rate des elterlichen Investments (z.B. Anzahl erfolgreicher Saugakte) verändert sich mit zunehmendem Alter der Nachkommen (*weaning conflict*). Nach einem Maximum elterlichen Investments beginnt der allmähliche Absetzprozess, der wiederum mit einem entsprechenden Investmentminimum und dem tatsächlichen Absetzen endet (Martin 1984). Der Zeitraum in dem sich diese Veränderungen abspielen ist in dieser Arbeit nicht näher definiert.

Schon im Alter von 4 Tagen beginnen Frischlinge mit dem Kauen von Gras und Laub, sie schlucken es aber nicht hinunter sondern lassen das Zerkaute wieder fallen. Erst wenn sie etwa 14 Tage alt sind, fangen sie an ganz kleine Mengen festes Futter zu fressen (Gundlach 1968). Die natürlichen Futteraufnahmezeiten liegen beim wildlebenden Schwein in den Hauptaktivitätsphasen. Schweine haben ein Bestreben zur gleichen Zeit zu Fressen (von Borell et al. 2002).

2.5.4 Ruheverhalten

Hausschweine sind tagaktiv (Wechsler 1997). Die zwei Hauptaktivitätsphasen beim Schwein liegen in der Morgen- bzw. Abenddämmerung. Das Ruheverhalten des Schweines wird immer eingeleitet von Verhaltensweisen aus dem Bereich des Komfortverhaltens, die Aktivität nimmt ab, gelegentlich scharren die Tiere oder wühlen im Stroh, um ihre Liegestelle vorzubereiten. Die Tiere stehen eine kurze Zeit an der Wühlstelle, bevor sie sich hinlegen, dies kann allerdings auch an einem ganz anderen Ort geschehen. Schweine liegen in Bauchlage, in Bauchseitenlage oder in völliger Seitenlage. Das Aufstehen beim erwachsenen Schwein erfolgt in umgekehrter Reihenfolge, nach der Bauchlage erfolgt eine Sitzphase. Ferkel springen meistens direkt aus der Bauchlage auf und entfernen sich. Dies hat den Vorteil, dass die Erdrückungsgefahr beim Hinlegen der Sau minimiert wird. Außerdem neigen Ferkel dazu, dicht beieinander zu liegen, wenn es kalt ist sogar übereinander. Dies schränkt ihren Wärmeverlust erheblich ein. Die Temperatur im Ferkelnest darf wegen der fehlenden Fähigkeit zur Wärmeregulation in den ersten 10 Lebenstagen 30° Celsius nicht unterschreiten (von Borell et al. 2002). Die Totalruhezeit beträgt je Schwein bei rationierter Fütterung fast 19 Stunden am Tag und 17,5 Stunden bei ad libitum gefütterten Mastschweinen. Das macht 79% bzw. 73% des Tages aus.

2.5.5 Erkundungsverhalten

Schweine sind ausgesprochen neugierig und lernfähig (Wechsler 1997). Das Erkundungsverhalten beim Wildschwein läuft zum Teil mit dem Fressen kombiniert ab, da sich das Wildschwein sein Futter erst suchen muss. Beim Hausschwein ist die Fütterung aber in der Regel rationiert, zur Hungerstillung genügen 2x10 Minuten, während der Erkundungsdrang mehr als 2 Stunden pro Tag in Anspruch nehmen kann (van Putten 1978). So kann bei Mastschweinen nach der Fütterung ein vermehrtes Wühlverhalten beobachtet werden. Erkundungsverhalten wird aber nicht nur durch den inneren Drang des Tieres sondern auch durch Reize aus der Umwelt induziert. Dabei spielen sowohl Neuheit als auch Komplexität eines Objektes eine Rolle (Berlyne 1960). Die Gestaltung einer möglichst artgerechten Umwelt ist insbesondere deshalb so wichtig, weil in einer reizlosen Umgebung der Erkundungsdrang an Buchtgenossen ausgeführt wird. Bei Sauen führt ein Defizit an Beschäftigungsmöglichkeiten zu Manipulationen von Haltungseinrichtungen oder stereotypen Verhaltensweisen wie Stangenbeißen und Leerkauen (von Borell et al. 2002). Bei Ferkeln kann Ohr- und Schwanzbeißen die Folge sein, das nicht etwa aus Aggression entsteht, sondern aus mangelnder Möglichkeit ein natürliches Erkundungsverhalten auszuleben (van Putten 1978).

2.5.6 Agonistik und Spiel

Die Definition von agonistischem Verhalten die Scott und Fredericson (1951) lieferten, ist bis heute akzeptierbar. Sie definierten agonistisches Verhalten als eine Gruppe von Verhaltensweisen die mit Kampf assoziiert werden, wie Angriff, Flucht, Drohung, Verteidigung und Beschwichtigung. Die einfachste Erklärung für Agonistik ist die ununterbrochene Zugehörigkeit aller Verhaltensweisen von der Drohung zur Aggression bis zur Unterwerfung (McGlone 1986). In der praktischen Schweinehaltung gibt es eine Reihe von Abschnitten (z.B. Absetzen, Umstallen), die mit einem Wechsel der Haltungsumgebung und dem Neugruppieren bzw. Integrieren neuer Gruppenmitglieder verbunden sind. Folge ist eine erhöhte Anzahl agonistischer Auseinandersetzungen sowie das Neuetaablieren der sozialen Rangordnung (Puppe 1996).

Zum Ethogramm des agonistischen Verhaltens bei neugruppierten Hausschweinen gehört eine Reihe offener aggressiver und submissiver Verhaltenssequenzen, bei denen Bisse und Stöße mit 81% quantitativ am häufigsten vorkommen (McGlone 1985).

Bei etablierten Sauengruppen hingegen enthält das Ethogramm neben als klar aggressiv zu wertenden Verhaltensweisen (z.B. Kopf-Kopf-Stöße, Kopf-Körper-Stöße) auch eine Reihe schwierig zu interpretierender (z.B. Drohen) bzw. neutral (nasale Körperkontakte) bis mild aggressiv (z.B. naso-nasal-Kontakte) zu wertender Verhaltensweisen, die an der Regulation der Sozialordnung beteiligt sind (Jensen 1980; Jensen 1982). Gerade beim Ferkel ist es oft nicht leicht erkennbar, ob eine bestimmte Verhaltensweise ernst oder spielerisch gemeint ist. Dies gilt umso mehr, als die Motivationen sich während des Spiels ändern können (van Putten 1978).

Über das Spielverhalten beim Ferkel gibt es relativ wenig Literatur (van Putten 1978). Es enthält eine Reihe von an sich üblichen Verhaltensweisen aus anderen Funktionskreisen (z.B. Erkundungsverhalten, Agonistik, Bewegung) die in einer nicht vorhersagbaren Sequenz beobachtet werden, und die in ihrer eigenen Organisation auch wieder unüblich ablaufen. Spiel ist vielleicht am besten dadurch gekennzeichnet, dass ihm der Ernstbezug fehlt (Marler und Hamilton 1966). Wenn sich die Umwelt dazu eignet, kann man bei Ferkeln sehr viel Spielverhalten beobachten.

2.5.7 Komfortverhalten

Zum Komfortverhalten werden jene Verhaltensweisen gerechnet, die als Haut- bzw. Körperpflege sowie als Lust- und Behaglichkeitsäußerungen bezeichnet werden können. Dazu gehören Wälzen, Suhlen, Baden, sich selbst scheuern oder kratzen, sowie die soziale Hauptpflege. Zu den Lust- und Behaglichkeitsbewegungen gehören Gähnen, Strecken, Schütteln, soziales Liegen, sich Einbetten, der Mammalreflex und Behaglichkeitslaute. Komfortverhalten ist allgemein ein Zeichen von Entspannung, reduzierter Aggression, Kontaktbereitschaft und Verträglichkeit. Allerdings wird gerade dieses in intensiven Haltungssystemen oft als Konfliktverhalten ausgeführt, und ist unter diesen Umständen ein Zeichen von Anspannung und Unbehagen (van Putten 1978).

2.6 Schlussfolgerungen für eigene Untersuchungen

Die Literatur zum Stressgeschehen beim Absetzen von Ferkeln in konventioneller Haltung ist umfangreich, auch vergleichende Studien von konventioneller und verlängerter Säugezeit liegen vor. Zum Thema ökologische Ferkelhaltung ist jedoch wenig zu finden. Deshalb wurde in dieser Arbeit anhand von verschiedenen Parametern versucht, einen umfassenden Einblick in das Stressgeschehen beim Ökoferkel zu zwei unterschiedlichen Absetzzeitpunkten zu gewährleisten. Die Arbeit besteht aus zwei großen Komplexen, einem physiologischen Teil mit der Bestimmung der Parameter Cortisol, Corticosteron, Histamin und Haptoglobin aus dem Blut der Ferkel und einem ethologischen Teil, der durch die Video- und Direktbeobachtung der Ferkel um den Absetzzeitpunkt repräsentiert wird.

Cortisol ist ein klassischer Stressparameter beim Schwein und wurde bestimmt um als Richtlinie für die anderen erhobenen Parameter zu dienen. Corticosteron ist das vorherrschende Glucocorticoid beim Vogel und Kleinsäuger, spielt beim Schwein aber eine untergeordnete Rolle und wurde bisher in nur sehr wenigen Studien untersucht. In unsere Untersuchungen wurde der Parameter mit einbezogen, um anhand der gleichzeitig erhobenen und gemessenen Cortisolwerte, eventuelle Parallelen aufzeigen und das Potential von Corticosteron als Stressparameter beim Schwein beurteilen zu können. Histamin und Haptoglobin sind nachweislich in Stressantworten des Organismus involviert. Da beide Parameter aber auch bei Entzündungen eine große Rolle spielen, ist durch deren Erhebung eventuell eine Abgrenzung von Stress durch das Absetzen und Stress durch Infektionen möglich.

Da Stress beim Tier sich auch in Verhaltensänderungen äußert, wurden parallel zur Untersuchung der eben genannten Blutparameter Videobeobachtungen und Direktbeobachtungen um den Absetzzeitpunkt durchgeführt. Beide Untersuchungsmethoden eignen sich sehr gut, um vor allem Gruppen-assoziierte Verhaltensänderungen zu erfassen und zu evaluieren.

3. Tiere, Material und Methode

3.1 Versuchsaufbau

Die Untersuchungen wurden im Versuchsbetrieb Wulmenau des Instituts für Ökologischen Landbau des Johann Heinrich von Thünen-Instituts (vTI) durchgeführt. Die erhobenen Daten stammen aus zwei von insgesamt drei Durchgängen, im ersten Durchgang wurden keine Daten zum Stressgeschehen erhoben. Der zweite Durchgang begann im Mai 2006 der dritte im Oktober 2006. Für jeden Versuchsdurchgang wurden aus den 44 zur Verfügung stehenden, besamten Sauen 36 ausgewählt. Einschränkende Auswahlkriterien waren der Gesundheitsstatus und die Gruppenintegrität der Sau sowie der Abferkelzeitpunkt.

Die Ferkel der am Versuch teilnehmenden Sauen wurden hinsichtlich des Absetzzeitpunktes in zwei Gruppen eingeteilt; früh abgesetzte Ferkel (Absetzen an Tag 42) und spät abgesetzte Ferkel (Absetzen an Tag 63). Innerhalb dieser Absetzgruppen (früh an Tag 42 und spät an Tag 63) wurden sie aufgrund der parallel laufenden Untersuchungen zum Immunstatus der Ferkel (Ergebnisse siehe Pollmüller, 2009), je nach Zeitpunkt der Immunisierung nochmals in zwei Untergruppen aufgeteilt, so dass insgesamt vier Untergruppen entstanden (siehe Abbildung 1). Die Immunisierungen mit den beiden Antigenen IgY und OvA wurden entweder an Tag 42 oder an Tag 63 p.n. durchgeführt und jeweils 21 Tage später mit dem gleichen Impfstoff wiederholt (Boosterung).

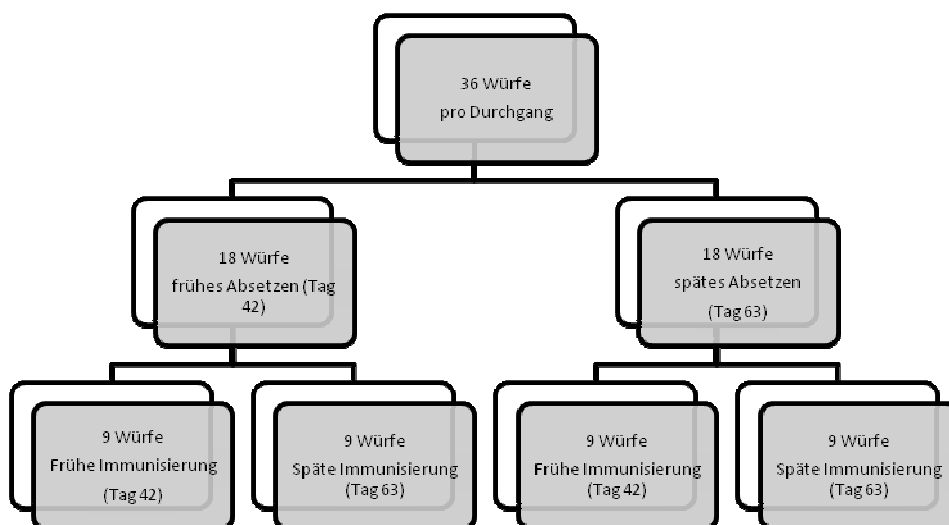


Abbildung 1: Gruppenverteilung der Ferkel nach dem Zeitpunkt des Absetzens, sowie innerhalb der Absetzgruppen nach dem Zeitpunkt der Immunisierung

Folgende Untersuchungsmethoden kamen zum Einsatz: Bestimmung von Cortisol, Corticosteron, Histamin und Haptoglobin im Blut der Ferkel, sowie Videobeobachtung und Direktbeobachtung der Ferkel im Absetzzeitraum. Der Versuch wurde gemäß dem Tierschutzgesetz bei der Landesregierung Schleswig Holstein angezeigt (Aktenzeichen V 362-72241.123-7).

3.2 Tiere

Die 44 Jungsauen der Herkunft Hülsenberger Euroc wurden am 15.04.2005 am Institut eingestallt. Hierbei handelte es sich größtenteils um Wurfgeschwister, die in einem Abteil des Aufzuchtbetriebes aufgezogen wurden. Die Sauen waren zum Zeitpunkt der Einstallung 180 Tage alt.

Die Belegung der Sauen erfolgte ausschließlich durch künstliche Besamung mit dem Sperma zweier Brüdereber der Herkunft Duhadu (75% Duroc, 25% Hampshire).

3.3 Aufstallung

Tragende und wartende Sauen wurden im Freiland auf dem Fruchtfolgeglied Klee gras gehalten. Ein Eber der Herkunft Duhadu wurde zur Brunstkontrolle und Stimulation zusammen mit den tragenden und nicht tragenden Sauen im Freiland, in einem abgegrenzten Paddock, gehalten.

Fünf bis sieben Tage vor ihrem errechneten Abferkeltermin wurden die Sauen in den Abferkelstall umgestallt. Dort erfolgte die Haltung der Sauen in handelsüblichen Heku-Buchten mit Ferkelnest, Sauenbereich, Kotgang und ständig verfügbarem Auslauf. Jede der 22 Buchten verfügte über eine Grundfläche von 7,82 m² (2,30 m breit und 3,40 m lang). Das Ferkelnest war über Eck gebaut, wurde mit einer Infrarotlampe beheizt und war vom Bediengang einsehbar. Um eine vernünftige Wärmeisolierung zu gewährleisten, war es mit Gummimatten ausgelegt, zusätzlich mit Stroh eingestreut und besaß eine Abdeckung.

14 Tage post partum folgte die Umstallung in BAT-Gruppensäugebuchten (von der Beratung Artgerechte Tierhaltung BAT e.V. entworfen), wo die Tiere in Kleingruppen von 2-3 Sauen mit ihren jeweiligen Ferkeln gehalten wurden. Auch hier war der Auslauf ständig zugänglich, den Ferkeln stand ein eigener Bereich mit Mikroklima zur Verfügung.

Nach der Säugezeit von 42 bzw. 63 Tagen wurden die Sauen zurück ins Freiland verbracht, die Ferkel kamen zwei Tage später in ihren bestehenden Gruppen in den Aufzuchtstall. Hierbei handelte es sich um einen Außenklimastall mit ständig erreichbarbarem Auslauf. In den Liegekisten herrschte Mikroklima. Jeder der drei Stationen befand sich in einem eigenen abgeschlossenen Gebäude. Die umwelttechnischen und managementbezogenen Einflüsse waren gleichgeschaltet. Alle Buchten mit zugehörigen Ausläufen wurden einmal die Woche gemistet und mit frischem Stroh eingestreut.

Alle Bereiche waren zu 100% richtlinienkonform mit der EU-Öko-Verordnung.

3.4 Fütterung

Die Fütterung erfolgte zu 100% mit Biofutter. Die genaue Auflistung der enthaltenen Komponenten zeigen Anhang 1-3.

Im Freiland wurden die Sauen zweimal täglich mit Großpellets (Biolandmühle Meyerhof zu Bakum, Melle) per Streufütterung aus dem Traktor gefüttert. Die Ration betrug 2 kg Futter/Sau und Silo ad libitum. Im Abferkelstall wurde die Ration nach der Geburt innerhalb von sieben Tagen von 3 kg Futter/Sau bis auf 8 kg Futter/Sau erhöht und bis zum Ende der Säugezeit so beibehalten, die Fütterung erfolgte vom Boden.

Die Ferkel wurden ab dem 7. Lebenstag zweimal täglich mit Bio-Prestarter-Pellets (Durchmesser 3 mm) per Futterschale angefütert. Unterversorgte Ferkel erhielten zusätzlich ab dem 1. Lebenstag Biolandmilchaustauscher, Biojoghurt und Biotraubenzucker mit Salzgabe als Elektrolytlösung.

Im Gruppensägestall erhielten die Sauen Pellets aus dem Trog, die Ferkel zuerst Prestarter per Bodenfütterung, dann Prestarter gemischt mit Aufzuchtfutter aus dem Futtertrog. Auch im Aufzuchtstall erfolgte die Fütterung der Ferkel mittels Pellets aus dem Automaten. Hygienisch einwandfreies Wasser stand in allen Bereichen zur freien Verfügung.

3.5 Sonstige Behandlungen

Dreimal jährlich wurden alle Sauen gegen Rotlauf und Parvo/SMEDI geimpft. Sechs bis zwei Wochen vor der Geburt erfolgten Einzeltierimmunisierungen gegen Clostridien und E. coli mit einem handelsüblichen Impfstoff (Clostricol, IDT).

Den Ferkeln wurde ab dem 1. Lebenstag Eisen (Bioweyxin® FeVit+B12, Veyx-Pharma GmbH, Schwarzenborn) oral verabreicht.

Die männlichen Tiere wurden zwischen Tag 3 und Tag 5 p.n. kastriert, am 7. Lebenstag wurden alle Ferkel gegen Mykoplasmen (Stellamune® Mycoplasma, Pfizer, Karlsruhe) immunisiert. Vor der Umstallung wurden allen Ferkeln Ohrmarken eingezogen und Eisen injiziert (Tag 14 p.n.). Die Farbe der Ohrmarken war für jeden Wurf einer Säugegruppe unterschiedlich.

Alle notwendigen Therapien wurden allopathisch, homöopathisch und phytotherapeutisch durchgeführt.

3.6 Technische Hilfsmittel

3.6.1 Physiologischer Teil

Für die Blutentnahme wurden aus jedem Wurf, soweit möglich, acht Ferkel im mittleren Gewichtsbereich nach Gesundheitsstatus ausgewählt. Den Ferkeln wurde an den Tagen 42, 49, 63, 70, 84 und 91 p.n. immer zwischen 12.00 Uhr und 14.00 Uhr Blut abgenommen.

Die Fixierung der Ferkel während der Blutentnahme erfolgte bis zu einem Gewicht von ca. 25 kg im Sitzen, d.h. das Hinterteil des Ferkels wurde zwischen den Knien der Hilfsperson eingeklemmt, der Rücken des Ferkels zeigte zum Bauch der Hilfsperson. Mit einer Hand wurde der Kopf fixiert, mit der anderen die beiden Vorderfüße. Schwerere oder sehr aktive Ferkel wurden mittels Oberkieferschlinge fixiert.

Um eine eventuelle Beeinflussung der Stressparameter durch die Blutentnahme selbst ausschließen zu können, wurde mittels Stoppuhr die Dauer des Vorgangs pro Ferkel vom Moment der Fixierung bis zum Entfernen der Kanüle, sowie die benötigte Zeit der Blutentnahme für den gesamten Wurf notiert. Die Blutentnahme erfolgte bei Einsatz der Oberkieferschlinge an der Vena jugularis der rechten Halsseite, bei Fixierung im Sitzen an der Vena cava cranialis der rechten Halsseite.

Für die Blutentnahmen wurden mit Heparin beschichtete Monovetten der Firma Sarstedt (S-Monovette 92 x 16,5mm) und Kanülen der Marke BD Microlance 3 (20G 1,5" –Nr.1, 0,9 x 40mm) verwendet. Die Proben wurden sofort nach Entnahme in einer mit Eiswürfeln und Wasser gefüllten Kühltasche gelagert und zum Labor transportiert. Im Labor wurden die Blutproben in einer auf 4° Celsius vorgekühlten Zentrifuge 10 Minuten lang bei 3500 g zentrifugiert. Danach wurden je nach Parameter verschiedene Mengen an Plasma in Eppendorf Cups überführt und bis zu ihrer Auswertung in einer Tiefkühltruhe bei -20° Celsius gelagert.

3.6.2 Ethologischer Teil

Für die Videoaufzeichnungen wurden an jeder Bucht im Gruppensügestall drei Kameras angebracht, um den größtmöglichen Einsichtsbereich zu gewährleisten (siehe Abbildung 2). Eine Außenkamera wurde entweder an der rechten oder linken Begrenzung des Auslaufs direkt am Stallgebäude in ca. 3 m Höhe angebracht. Die Kameras für den Sauen- und Ferkelbereich wurden in der Mitte der Bucht an der Stalldecke befestigt und zeigten die Ferkel aus der Vogelperspektive auf. Die separaten Kameras für das Ferkelnest wurden neben der Ferkeltränke auf Höhe der Buchtenbegrenzung mit einem Schutzkasten angebracht. Der Auslauf war komplett einsehbar, in der Bucht kam es bedingt durch die niedrige Decke zu toten Winkeln. Im Ferkelnest herrschten durch Sonnenlicht und Infrarotlampe unterschiedliche Lichtverhältnisse, wodurch teilweise einzelne Ferkel nicht erkennbar waren. Gefilmt wurde mit Kameras der Firma Etec (B/W 1/3" CCD Camera) in schwarz-weiß.

Für die Aufzeichnung wurden Panasonic Time-lapse Videorecorder (AG 6124) verwendet. Aufgezeichnet wurde von 6.00 Uhr bis 17.00 Uhr im 12 h-Modus, das heißt 12 Stunden wurden auf 3 Stunden komprimiert. Das Datum und die genaue Uhrzeit wurden miterfasst und waren beim Abspielen der Videokassetten im Bild sichtbar.

Die Auswertung erfolgte nach Digitalisierung der Videokassetten mit Broadway 5.0 in Dateien des mpeg-Formats mittels der Software Observer 4.1. Es wurde ausschließlich das Beobachtungsmodul des Observers verwendet, die erhaltenen Werte wurden manuell in Excel-Tabellen eingetragen.

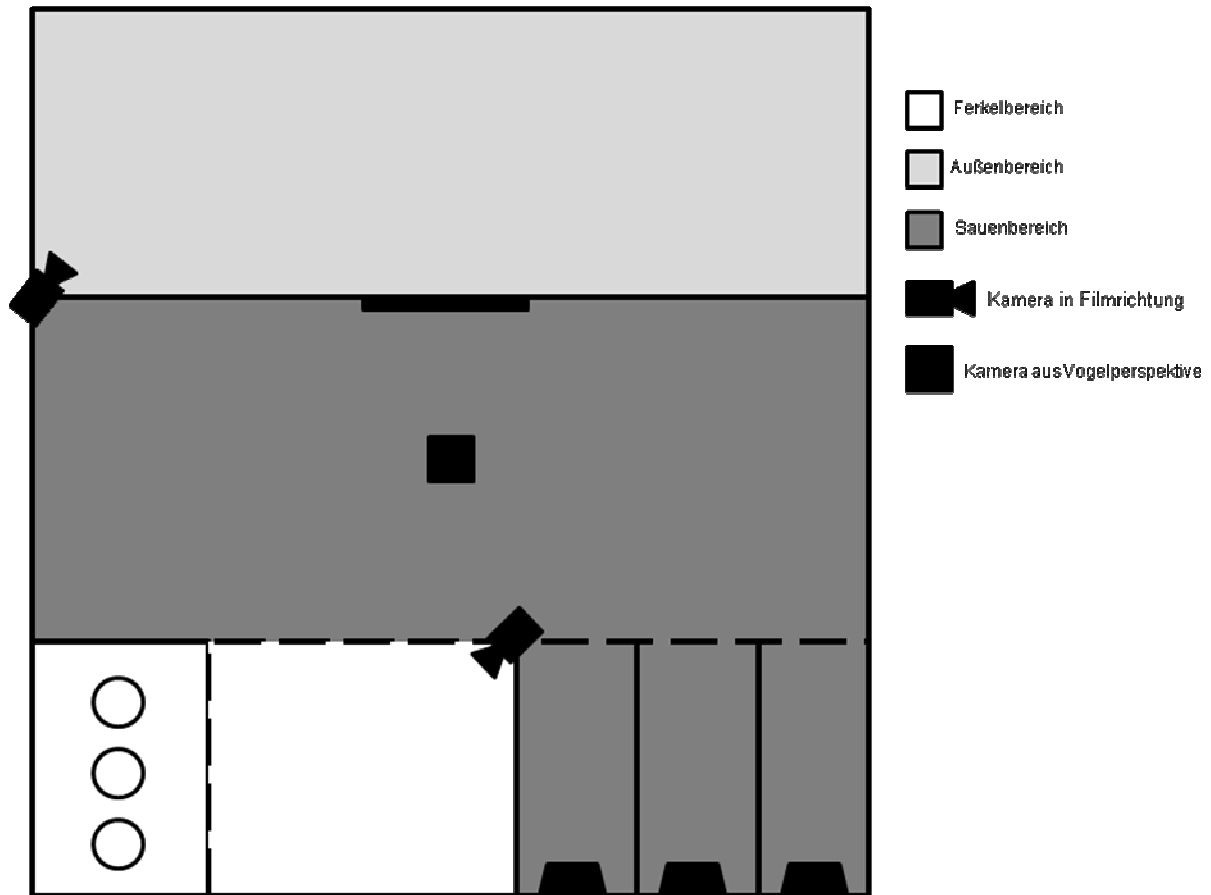


Abbildung 2: Schematische Darstellung einer Gruppensäugebucht mit Kamerapositionen aus der Vogelperspektive

3.7 Videobeobachtung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Beobachtungsmethode „*instantaneous sampling*“ angewendet (Martin und Bateson 1993). Mit dieser Methode wird das Verhalten aller Tiere der gesamten Ferkelgruppe protokolliert. Damit wird der Tatsache Rechnung getragen, dass das Verhalten der Mitglieder einer sozialen Gruppe als Ganzes zu bewerten ist, weil die Verhaltensweisen der einzelnen Tiere durch gegenseitige Beeinflussung keine voneinander unabhängigen Daten liefern (van Putten 1978).

Beim „*instantaneous sampling*“ registriert der Beobachter das Verhalten eines Individuums oder einer Gruppe nur an festgelegten Beobachtungszeitpunkten („*sample points*“). Das Verhalten, welches innerhalb der Intervalle zwischen den Beobachtungszeitpunkten („*sample interval*“) gezeigt wird, bleibt unberücksichtigt. Die Beobachtungszeitpunkte in der

vorliegenden Arbeit wurden in 10-Minuten-Intervallen festgelegt. Beim Durchsehen der Videoaufnahmen wurden die Daten direkt in den Computer eingegeben.

Es wurde die Uhrzeit der Beobachtungszeitpunkte festgehalten und die Anzahl der Ferkel (N) registriert, die ein bestimmtes Verhalten zeigten. Aufgezeichnet wurden alle am Versuch teilnehmenden Würfe des 2. Durchgangs.

Gefilmt wurde im Gruppensügestall an drei bzw. bei den spät abgesetzten Ferkeln an vier Tagen. Als Kontrolle zwischen den beiden Gruppen diente die Aufzeichnung sowohl der früh als auch der spät abgesetzten Gruppen an Tag 40 p.n., sowie bei den spät abgesetzten zusätzlich die Aufzeichnung an Tag 61. Eine Änderung des Verhaltens aufgrund des Absetzens tritt typischerweise 1-2 Tage nach dem Absetzen auf (Weary et al. 2008). Deshalb wurden die Videoaufzeichnungen am ersten und zweiten Tag nach dem Absetzen durchgeführt. Dieses Schema erlaubt eine Kontrolle der beiden Gruppen unter Berücksichtigung eines eventuell veränderten Verhaltensrepertoires aufgrund des unterschiedlichen Alters der Ferkel beim Absetzen.

Die Grundlage für die ausgewählten Verhaltensparameter bildete Sambraus (1978) Einteilung des Verhaltensrepertoires eines Individuums in Funktionskreise. Tabelle 2 zeigt den jeweiligen Funktionskreis mit dem ihm zugehörigen Verhalten in Anlehnung an Sambraus (1978).

Tabelle 2: Einteilung des Verhaltensspektrums der Ferkel in Funktionskreise, angelehnt an H.-H. Sambras (1978)

Funktionskreis	zugeordnetes Verhalten
<u>Ruheverhalten</u>	Liegen ohne Körperkontakt, Liegen mit Körperkontakt
<u>Erkundungsverhalten</u>	Wühlen, Hochwerfen, Umhertragen von Stroh, sagittal (= parallel zur Mittelachse) ausgeführte Hobelbewegungen mit der Rüsselscheibe auf dem Boden, beschnuppern, abtasten, beißen, benagen, ins Maul nehmen (laufend, stehend, sitzend) von Stroh, Wänden oder Stalleinrichtungen, Objektspiel
<u>Komfortverhalten</u>	Sich strecken, sich schütteln, sich scheuern, Hinterfußkratzen, im Wasser oder Schlamm liegen und sich wälzen
<u>Sozialverhalten</u>	Kontakt zu Artgenossen (Nasonasalkontakt oder Anogenitalkontrolle) Spiel (Verfolgungsspiel, Kampfspiel, Aufreiten) Agonistik (Drohen, Kampf) Lateralkampf (die beteiligten Ferkel drehen sich eng aneinander gepresst im Kreis); Frontalkampf (die beteiligten Ferkel stoßen oder beißen sich an Kopf, Hals und Ohren)
<u>Nahrungsaufnahmeverhalten</u>	-Fressverhalten: Fressen oder Rüsseln im Fressbereich -Saugverhalten: Ferkel umschließt Zitze mit Maul oder massiert das Gesäuge der Sau -Trinken: Ferkel mit Kopf in der Tränke
<u>Lokomotion</u>	Schritt, Trab, Galopp

Um genauer auf die Fragestellung der vorliegenden Arbeit einzugehen, wurde diese Einteilung wie folgt modifiziert:

Das Liegeverhalten von Saug- und Aufzuchtferkeln ist ein wertvoller Parameter für das Wohlbefinden der Ferkel, daher wurde der Funktionskreis „Ruheverhalten“ weiter in seine

beiden Bestandteile „Liegen mit Körperkontakt“ und „Liegen ohne Körperkontakt“ aufgeteilt und einzeln erfasst.

Auch der Funktionskreis „Sozialverhalten“ wurde differenzierter betrachtet, indem „Kontakt Artgenosse“, „Spiel“ sowie „Kampf“ als einzelne Beobachtungsparameter gewertet wurden.

Die Ferkel die sich zum Zeitpunkt der Beobachtung nicht im Einsichtsbereich der Kamera befanden oder durch die Sau, andere Ferkel oder Einrichtungsgegenstände verdeckt wurden, gingen unter dem Punkt „Außer Sicht“ in die Beobachtung ein. Daraus ergaben sich insgesamt 12 zu beobachtende Verhaltensweisen, die im Folgenden aufgeführt werden:

- Liegen ohne Körperkontakt
- Liegen mit Körperkontakt
- Erkunden
- Komfortverhalten
- Kontakt Artgenosse
- Spiel
- Kampf
- Saugen
- Fressen
- Trinken
- Bewegung
- Außer Sicht

3.8 Direktbeobachtung

Die Direktbeobachtung wurde zwei Tage nach der Umstallung der Ferkel in den Aufzuchtstall durchgeführt. Zu diesem Zeitpunkt waren die Ferkel bereits eine Woche von den Muttertieren getrennt und sind in ihrem ursprünglichen Gruppenverband in den neuen Stall verbracht worden. Das Beobachtungsintervall betrug zwei Stunden in einem Aktivitätszeitraum der Ferkel, der nach Jahreszeit und Witterungsverhältnissen bestimmt wurde. Beobachtet wurden Spiel- und Kampfhandlungen wie Aufreiten, Lateralschiebekampf, Ohr- und Schwanzbeißen.

Vor der Direktbeobachtung wurde der Gesundheitszustand anhand des Integuments der Ferkel mittels eines Scores bestimmt. Die genauen Werte sind in Tabelle 3 aufgetragen.

Tabelle 3: Skala von 1-5 zur Einteilung der Ferkelgesundheit anhand des Zustands des Integuments

Nominalwert	Beschreibung
0	Keine Verletzung
1	Oberflächliche Hautwunden (1-10)
2	Oberflächliche Hautwunden (>10)
3	Tiefe Hautwunden (1-10)
4	Tiefe Hautwunden (>10)
5	Bissverletzungen an Ohr und Schwanz

Traten bei einem Ferkel Merkmale aus zwei Kategorien gleichzeitig auf, wie z.B. oberflächliche Hautwunden aus Kategorie 1 und Bissverletzungen am Ohr aus Kategorie 5, so wurde stets der höhere Parameter erfasst.

Innerhalb der zwei Stunden Beobachtungszeit wurden die agonistischen Handlungen gezählt und kategorisiert. Als agonistische Verhaltensweisen wurden Aufreiten, Lateralkampf (Schiebekampf) und Wangenkampf gewertet.

Um Spiel und Aggressivität besser voneinander abgrenzen zu können, wurde anhand der Dauer einer einzelnen agonistischen Handlung eine Einteilung in weniger und mehr als fünf Sekunden vorgenommen.

Anhand der unterschiedlichen Farbe der Ohrmarken der Ferkel konnte zusätzlich festgestellt werden, ob sich die Aggression gegen Wurfgeschwister oder gegen Buchtgenossen richtete.

3.9 Analytik der Blutproben

3.9.1 Bestimmung von Cortisol und Corticosteron

Zur Bestimmung der Cortisol- und Corticosteronkonzentrationen im Blut wurde das Hochleistungsflüssigkeitschromatographieverfahren (HPLC) eingesetzt.

Die verwendete HPLC-Anlage (Firma Beckman Coulter) bestand aus 2 Pumpen (Modell System Gold 126), einem Autosampler (Modell System Gold 508), einem Säulenofen (Modell Jetstream Plus) und einem Fluoreszenzdetektor (Firma Shimadzu Modell RF-10AXL). Die Aufzeichnung der Chromatogramme sowie die Steuerung der Anlage erfolgte durch die Software 32 Karat Version 5.0.

Schritt 1, Extraktion:

500 µl der kurz vor der Messung aufgetauten Plasmaproben wurden mit 50 µl einer Standardlösung versetzt und 30 Sekunden gevortext. Dazu wurden 5ml Ethylacetat gegeben, erneut 30 Sekunden geschüttelt und dann 10 Minuten lang bei 1800 g zentrifugiert. Aus der organischen Phase wurden dann 4,9 ml entnommen, mit 1 ml NaOH versetzt und 30 Sekunden gevortext. Nach einer fünfminütigen Zentrifugation der Probe bei 1800 g wurden 4,5 ml aus der organischen Phase entnommen und mit 1 ml destilliertem Wasser versetzt. Nach der Zentrifugation unter oben genannten Bedingungen wurden 4 ml der organischen Phase in ein PP-Röhrchen gegeben.

Schritt 2, Verdampfung:

Die Röhrchen wurden dann für 20 Minuten bis zu einem Volumen von ca. 1 ml in einen Evaporator gegeben, und anschließend erneut 30 Sekunden lang gevortext. Durch diese Vorgehensweise sollte verhindert werden, dass durch das Verdampfen in den oberen Bereichen des Röhrchens festgeklebte Partikel nicht in die Berechnung mit einbezogen werden. Nach der vollständigen Verdampfung wurde der feste Anteil der Probe mit 260 µl Laufmittel A (siehe Anhang 4) gelöst und 30 Sekunden lang gevortext. 250 µl dieser Probe wurden in ein Vial umgefüllt und per HPLC analysiert. Die chromatographischen Bedingungen sind in Anhang 4 zusammengefasst.

3.9.2 HPLC-Methodik Histamin

Für die Untersuchung des Blutes auf nicht metabolisiertes Histamin wurden Plasmaproben, die bis zu ihrer Analyse bei -20° Celsius tiefgefroren waren, aufgetaut und mittels HPLC untersucht.

Die Extraktion des nicht metabolisierten Histamins erfolgte in zwei Schritten. Im ersten Schritt wurde eine Probenmenge von 1 ml zu 1 ml Phosphatpuffer (5 mM KH_2PO_4 /20 mM K_2HPO_4) und 6 ml Extraktionsmittel (50 mM Bis- (2-ethylhexyl)hydrogenphosphat in n-Heptan) in ein Bluecap gegeben, fünf Minuten lang gevortext und anschließend in der Zentrifuge bei 3500 g 20 Minuten zentrifugiert. Im zweiten Schritt wurden der organischen Phase der Proben 4 ml entnommen, mit 500 μl 0,1 N HCl- Lösung versetzt, 2 Minuten gevortext und weitere fünf Minuten unter obigen Bedingungen zentrifugiert. Danach wurden der wässrigen Phase der Probe mit einer fixierten Pipette 200 μl entnommen und für die folgende Derivatisierung in Eppendorfcups gefüllt.

Die Derivatisierung erfolgte nach einem festgelegten Zeitschema mit laufender Stoppuhr, bei dem jeweils 4 Proben gleichzeitig derivatisiert werden konnten. Zuerst wurden alle vier Proben mit 40 μl 1N NaOH alkalisiert und 30 Sekunden lang gevortext. Nach 40 Sekunden wurde Probe 1 fünf Sekunden lang einzeln gevortext und weitere 15 Sekunden später mit 20 μl in Methanol gelöstem ortho-Pthaldialdehyd (OPA) versetzt, anschließend wieder 30 Sekunden gevortext. Nach einer Inkubationszeit von exakt 4 Minuten wurde die Reaktion mit 40 μl 3N HCl gestoppt, die Probe in ein Vial umgefüllt und gemessen. Der Autosampler wurde auf 9°C gekühlt, der Säulenofen auf 30°C geheizt. Die maximale Zeit zwischen Derivatisierung und Messung der Proben betrug 8 Stunden. Alle verwendeten Chemikalien sowie das Wasser entsprachen mindestens der Qualitätsstufe HPLC-grade. Die chromatographischen Bedingungen sind in Anhang 5 zusammengefasst.

3.9.3 Haptoglobin-Bestimmung

Für die Untersuchung des Blutes auf Haptoglobin wurden die bei -20°C tiefgefrorenen Plasmaproben aufgetaut und mittels einem kommerziellem Testkit von Bio-Répair GmbH analysiert.

Das Testprinzip basiert auf der Erhaltung der Pseudo-Peroxidase Aktivität des Hämoglobins in Gegenwart von Hp. Hämoglobin besitzt eine eigene Peroxidase Aktivität welche durch einen niedrigen ph-Wert gehemmt werden kann.

In Anwesenheit von Haptoglobin entsteht ein Komplex zwischen Hämoglobin und Hp, welcher die Hemmung der Pseudo-Peroxidase überwinden kann. Je höher also der Hp-Wert einer Probe ist, desto mehr Komplexe werden gebildet wodurch die Peroxidase Aktivität korrelierend ansteigt.

Auf eine 384-Loch Platte wurden pro Messdurchgang zwei Reihen mit 20 µl Reagenz 1 (Hämoglobin und Hämoglobin-Verdünner zu gleichen Teilen) pro Delle beschickt. Danach erfolgte der Probenauftrag. Von jeder Probe wurden 1,5 µl im Überhub aufgenommen und direkt in die Reagenz 1 abgegeben. Zur besseren Vermischung von Probe und Reagenz 1 wurde die Platte anschließend auf dem Minishaker bei 900/min 30 Sekunden lang geschüttelt. Pro Messung wurden zur Qualitätskontrolle und Überprüfung der Richtigkeit jeweils ein Pool und ein Leerwert (20 µl Reagenz 1 + 1,5 µl Probenverdünner) mit aufgetragen. Zu den Proben wurde nach dem Schütteln mit einer elektronischen Multikanalpipette pro Delle 28 µl Reagenz 2 (Chromogen:Substrat im Verhältnis 9:5) gegeben und fünf Minuten inkubiert. Die Inkubationszeit begann mit der ersten Abgabe von Reagenz 2 und endete mit der Messung durch einen an den PC angeschlossenen Mikrotiterplattenreader (GENios, Tecan, Crailsheim). Die verwendete Software war MikroWin 2000, Mikrotek Laborsysteme GmbH, Overath. Die Messwerte wurden mittels eines externen Standards, der um den Leerwert der jeweiligen Messung korrigiert wurde, berechnet.

3.10 Statistische Auswertung und Darstellung der Ergebnisse

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte deskriptiv mittels der Computer-Software Microsoft Excel® 2003 (Fa. Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) und abschließend mittels SigmaPlot® 11.1 (Systat Software GmbH, Erkrath, Deutschland). Die abschließende Statistik der Ergebnisse begann mit Tests auf Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov's Test mit Korrektur nach Lilliefors) und auf Gleichverteilung (Levene's Median Test), welche automatisch durch das Programm SigmaPlot® 11.1 durchgeführt wurden. Erfüllten die Daten beide Kriterien, so wurden parametrische Tests angewendet. Fiel der Test auf Normalverteilung oder Gleichverteilung negativ aus, so wurden nicht-parametrische Tests benutzt. Unterschiede zwischen den beiden Absetzgruppen zu einem Untersuchungszeitpunkt wurden durch den Mann-Whitney Rangsummentest erfasst. Unterschiede im zeitlichen Verlauf eines jeden Parameters wurden durch den Friedman Repeated-Measures ANOVA on Ranks mit anschließendem Student-Newman-Keuls-Test untersucht. In den Abbildungen werden die Werte, wenn nicht anders angegeben, als Box Plots (Mediane mit „Box and Whisker“, Darstellung der 25/75% Quartile und 10/90% Perzentile) dargestellt. Um den Zusammenhang zwischen der Zeitdauer der Blutentnahmen

und den Konzentrationen der Blutparameter zu bestimmen, wurde der Rang-Korrelationskoeffizient nach Spearman (r_s) berechnet. Häufigkeitsunterschiede in der Anzahl von verletzten Ferkeln nach dem Absetzen und in den Verhaltensweisen zwischen den beiden Absetzgruppen wurden durch den Chi-Quadrat Test ermittelt.

Die Ergebnisabbildungen wurden mit der Computer-Software SigmaPlot® 11.1 (Systat Software GmbH, Erkrath, Deutschland) erstellt. Wahrscheinlichkeitswerte (p) kleiner als 0,05 wurden als statistisch signifikant angesehen und sind entsprechend gekennzeichnet. Die Stichprobenanzahl, d.h. die Anzahl von untersuchten Tieren bei den Blutparametern bzw. die Anzahl von untersuchten Ferkelgruppen, wird als „n“ angegeben.

4. Ergebnisse

4.1 Einfluss der Zeit der Blutentnahme auf die Höhe der untersuchten Stressparameter

Die Blutentnahme ist für die Ferkel durch das Treiben in einen Sammelbereich, die Fixierung und den Einstich der Kanüle mit akutem Stress verbunden. Dieser Stress schlägt sich möglicherweise in einer Erhöhung der tatsächlichen Blutspiegel der gemessenen Stressparameter nieder und könnte dadurch die Ergebnisse der Messungen verfälschen. Um solche Effekte ausschließen bzw. berechnen zu können, wurde die benötigte Zeit der Blutentnahme für jedes einzelne Ferkel (T_f) sowie für den gesamten Wurf (T_w) bestimmt. Abbildung 3 zeigt die Dauer der Blutentnahme für die einzelnen Ferkel. Da die Immunisierung als Einflussfaktor ausgeschlossen werden kann, wurden die Ferkel beider Durchgänge nur nach frühem und spätem Absetzen unterteilt.

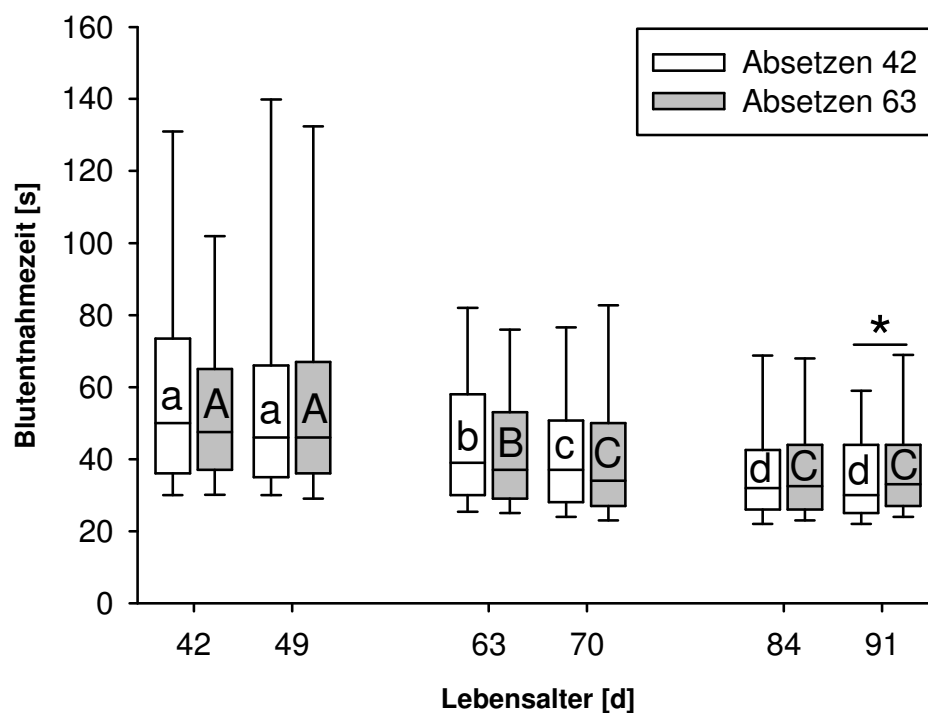


Abbildung 3: Einzelzeiten der Blutentnahme bei früh und spät abgesetzten Ferkeln. Die Zeit wurde bestimmt vom Beginn des Fangens des Ferkels bis zur Entfernung der Kanüle (Dargestellt sind die Medianwerte, sowie die 10-, 25-, 75- und 90-Perzentile; $n=250-280$; a-d, A-C: unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede von $p<0,05$, Repeated-Measures ANOVA on Ranks; *: $p<0,05$; Mann-Whitney Rangsummentest).

An den Tagen 42, 49, 63, 70 und 84 gab es zwischen den beiden Absetzgruppen keine signifikanten Unterschiede. Nur an Tag 91 lagen die Werte der spät abgesetzten Ferkel höher als die der früh abgesetzten, innerhalb der Gruppe jedoch auf dem gleichen Niveau wie an Tag 84. Im zeitlichen Verlauf sanken die Werte beider Gruppen konstant zum Versuchsende hin.

Um einen eventuellen Bezug der Blutentnahmezeiten zur Höhe der Stressparameter nachzuweisen, wurde die lineare Regression bzw. die Spearman Rangkorrelation berechnet.

Die Abbildungen 4 und 5 zeigen beispielhaft eine vorhandene bzw. nicht vorhandene Korrelation zwischen der Blutentnahmezeit und der Cortisolkonzentration im Plasma der Ferkel.

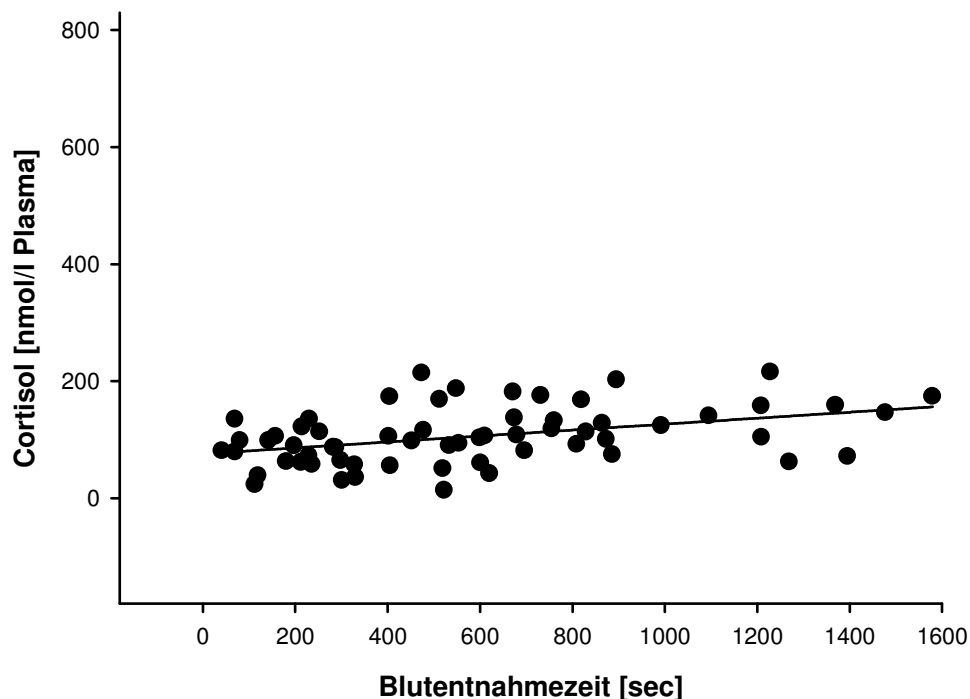


Abbildung 4: Beispiel für eine vorhandene Korrelation zwischen der Blutentnahmezeit bezogen auf den gesamten Wurf (T_w) und der Cortisolkonzentration im Plasma der Ferkel (3. Durchgang, spät abgesetzte Ferkel, frühe Immunisierung, Blutentnahme an Tag 63; $n=62$; $r=0,41$; $p=0,0009$)

Trotz vorhandener positiver Korrelation und Normalverteilung in Abbildung 4 ist erkennbar, dass die Einzelwerte weit gestreut sind.

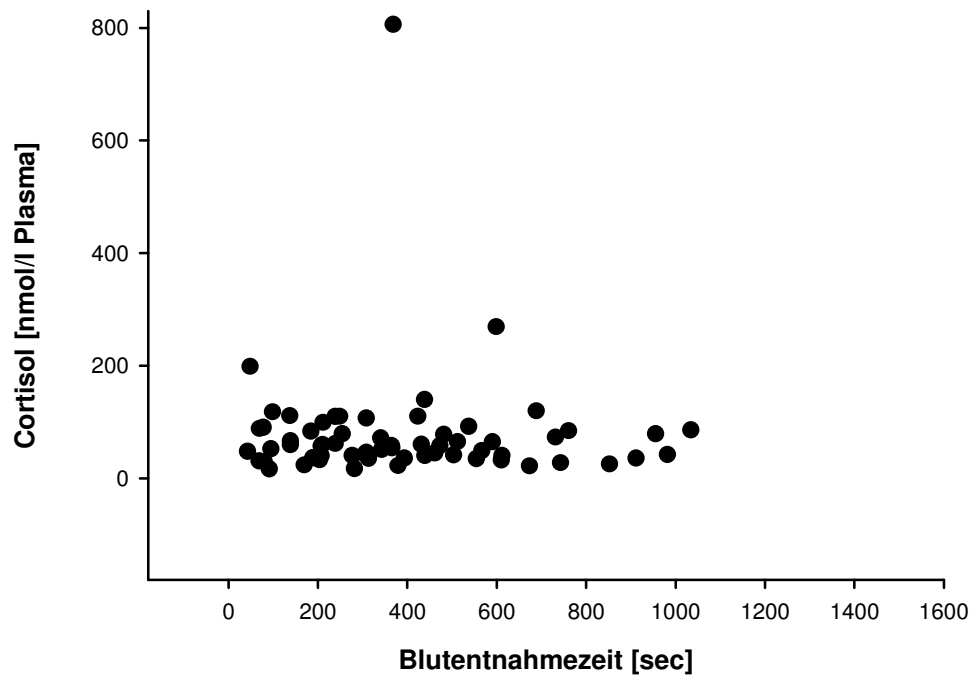


Abbildung 5: Beispiel für eine nicht vorhandene Korrelation zwischen der Blutentnahmezeit bezogen auf den gesamten Wurf (T_w) und der Cortisolkonzentration im Plasma der Ferkel (3. Durchgang; früh abgesetzte Ferkel; späte Immunisierung, $n=63$; $r=0,03$ $p=0,84$)

Folgende Tabelle zeigt eine Übersicht der vorhandenen Korrelationen mit der Dauer der Blutentnahme aller aus dem Blutplasma erhobenen Stressparameter.

Tabelle 4: Korrelationen zwischen der Blutentnahmezeit für den gesamten Wurf (*Tw*), bzw. für das einzelne Ferkel (*Tf*) und der Konzentration der erhobenen Parameter im Plasma der Ferkel

Parameter	Zeit-Daten-Sets insgesamt*	Tf positive Korrelation	Tf negative Korrelation	Tw positive Korrelation	Tw negative Korrelation
Cortisol	96	3	1	5	0
Corticosteron	96	8	2	3	1
Histamin	48	2	0	0	0
Haptoglobin	96	10	0	5	0

*: Die Gesamtanzahl der erhobenen Zeit-Daten-Sets errechnet sich wie folgt: An jedem der sechs Blutentnahmetermine wurden für jede der vier Gruppen sowohl die *Tw* als auch die *Tf* bestimmt. Je nach Parameter wurde dies für beide Durchgänge (Cortisol, Corticosteron, Haptoglobin) bzw. für einen Durchgang (Histamin) bestimmt.

4.2 Ergebnisse der Cortisolbestimmung aus dem Blutplasma der Ferkel

2. Durchgang

In Abbildung 6 sind die Daten aller früh immunisierten Ferkel aus Durchgang 2 zusammengefasst. Beim Vergleich der beiden Gruppen miteinander, lagen die Werte der früh abgesetzten Ferkel an den Tagen 42, 49 und 84 signifikant höher als die der spät abgesetzten.

Im Verlauf der Untersuchung lagen die Plasmacortisolkonzentrationen der früh abgesetzten Ferkel an den Tagen 42 und 49 signifikant höher als an den übrigen Blutentnahmezeitpunkten ($p < 0,05$). Bei den spät abgesetzten Ferkeln gab es zwischen den einzelnen Blutentnahmezeitpunkten keine signifikanten Unterschiede.

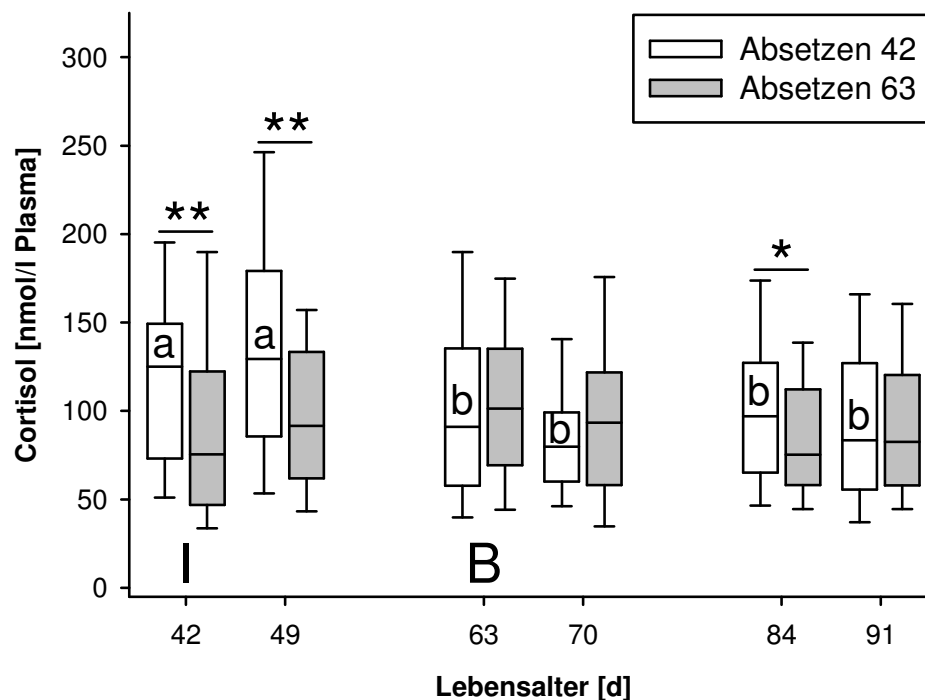


Abbildung 6: Cortisolkonzentrationen im Plasma von früh immunisierten Ferkel des 2. Durchgangs. Den Ferkeln wurde zu den angegebenen Tagen Blut entnommen und das erhaltene Plasma mittels HPLC auf Cortisol analysiert (Dargestellt sind die Medianwerte sowie 10-,25-,75- und 90-Perzentile; I= Immunisierung, B= Boosterung; $n=62-72$; a-b: unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede von $p < 0,05$, Repeated-Measures ANOVA on Ranks; */**: $p < 0,05/0,01$; Mann-Whitney Rangsummentest).

Abbildung 7 zeigt die Plasmacortisolkonzentrationen der spät immunisierten Ferkel aus Durchgang 2. Die Werte der früh abgesetzten Ferkel lagen an Tag 42 signifikant höher als die der spät abgesetzten ($p < 0,01$), an Tag 84 signifikant niedriger ($p < 0,05$).

Im Verlauf lagen die Werte beider Absetzgruppen an Tag 49 signifikant höher als an den Tagen 42 und 63, an Tag 91 stiegen die Konzentrationen in beiden Gruppen noch einmal signifikant an. Bei den früh abgesetzten Ferkeln sanken die Werte von Tag 49 bis Tag 84 zu jedem Blutentnahmezeitpunkt signifikant ab. Die Werte der spät abgesetzten Ferkel zeigten zwischen Tag 70 und 84 keine signifikanten Unterschiede.

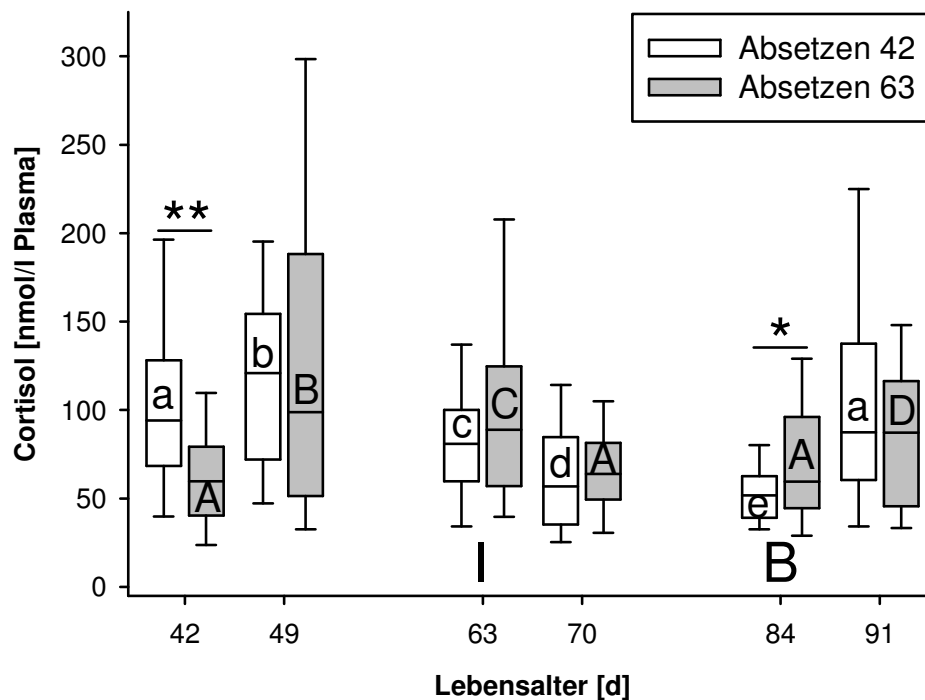


Abbildung 7: Cortisolkonzentrationen im Plasma von spät immunisierten Ferkeln des 2. Durchgangs. Den Ferkeln wurde zu den angegebenen Tagen Blut entnommen und das erhaltene Plasma mittels HPLC auf Cortisol analysiert (Dargestellt sind die Medianwerte sowie 10-,25-,75- und 90-Perzentile; I= Immunisierung, B= Boosterung; $n=59-72$; a-e, A-D: unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede von $p < 0,05$, Repeated-Measures ANOVA on Ranks $^{*/**}$: $p < 0,05/0,01$; Mann-Whitney Rangsummentest).

3. Durchgang

Abbildung 8 zeigt die Werte der früh immunisierten Ferkel aus dem 3. Durchgang. Im Vergleich der beiden Absetzgruppen lagen die Cortisolkonzentrationen der spät abgesetzten Ferkel an Tag 63 signifikant höher als die der früh abgesetzten.

Innerhalb der Gruppen fielen bei den früh abgesetzten Ferkeln die Cortisolwerte von Tag 42 zu Tag 49, und noch einmal zu Tag 63 ab, und waren dann an den übrigen Blutentnahmezeitpunkten konstant. Die Konzentrationen der spät abgesetzten Ferkel unterschieden sich bis Tag 70 nicht und sanken dann zu den letzten beiden Blutentnahmezeitpunkten ab.

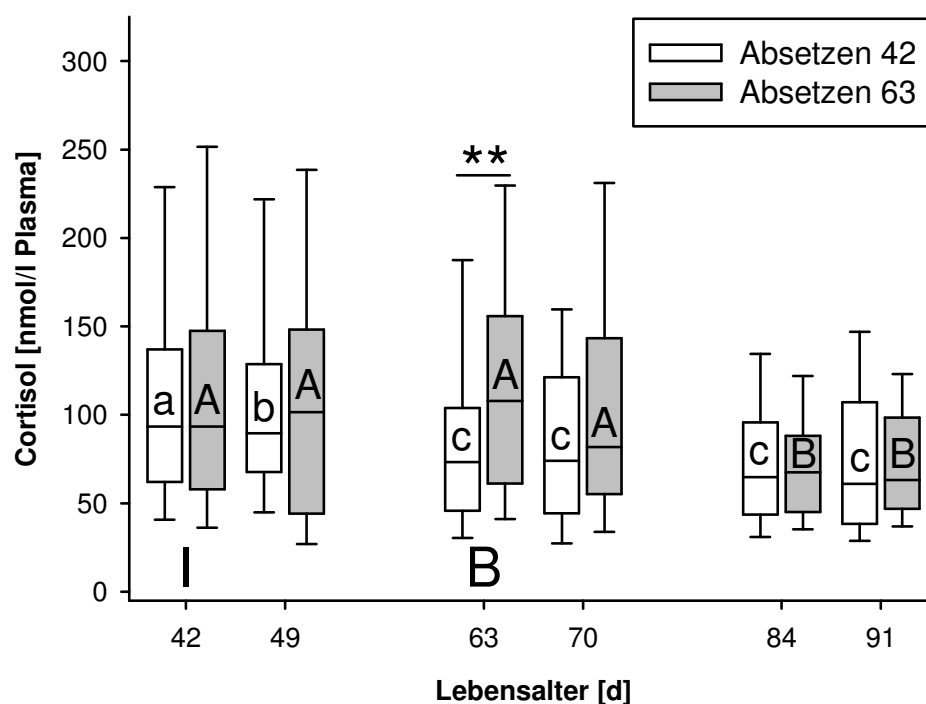


Abbildung 8: Cortisolkonzentrationen im Plasma von früh immunisierten Ferkeln des 3. Durchgangs. Den Ferkeln wurde zu den angegebenen Tagen Blut entnommen und das erhaltene Plasma mittels HPLC auf Cortisol analysiert (Dargestellt sind die Medianwerte sowie 10-,25-,75- und 90-Perzentile; I= Immunisierung, B= Boosterung; n=60-70; a-c, A-B: unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede von $p < 0,05$, Repeated-Measures ANOVA on Ranks **: $p < 0,01$; Mann-Whitney Rangsummentest).

In Abbildung 9 werden die Plasmacortisolkonzentrationen der spät immunisierten Ferkel des 3. Durchgangs dargestellt. Im Vergleich der beiden Gruppen miteinander waren die Werte der spät abgesetzten Ferkel an den Tagen 63 und 70 signifikant höher als die der früh abgesetzten.

Die Konzentrationen der früh abgesetzten Ferkel stiegen von Tag 42 zu Tag 49 an, sanken zu Tag 63 ab, blieben konstant bis Tag 84 und fielen zu Tag 91 noch einmal signifikant ab. Bei den spät abgesetzten Ferkeln zeigte sich ein Anstieg der Konzentrationen von Tag 42 zu den Tagen 49 und 63. Zu Tag 70 sanken die Werte ein erstes Mal, ein zweites Mal zu den Tagen 84 und 91.

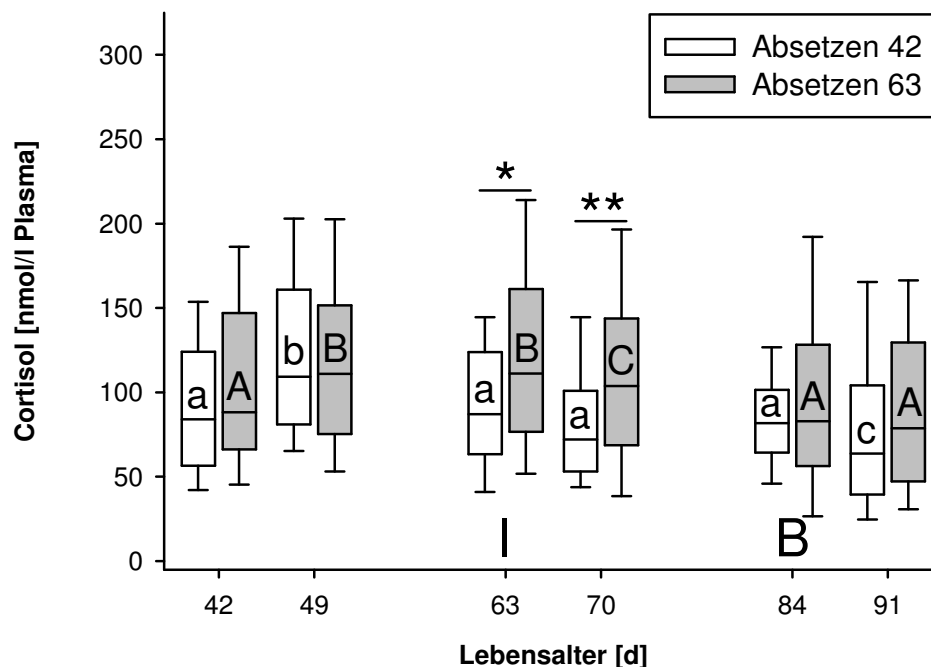


Abbildung 9: Cortisolkonzentrationen im Plasma von spät immunisierten Ferkeln des 3. Durchgangs. Den Ferkeln wurde zu den angegebenen Tagen Blut entnommen und das erhaltene Plasma mittels HPLC auf Cortisol analysiert (Dargestellt sind die Medianwerte sowie 10-,25-,75- und 90-Perzentile; I= Immunisierung, B= Boosterung; n=53-72; a-c, A-C: unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede von $p < 0,05$, Repeated-Measures ANOVA on Ranks; */ : $p < 0,05/0,01$; Mann-Whitney Rangsummentest).**

Beide Durchgänge

Da in beiden Immunisierungsgruppen des 2. Durchgangs signifikante Unterschiede zwischen früh und spät abgesetzten Ferkeln schon an Tag 42 (an dem alle Ferkel noch gleich behandelt waren) erkennbar waren, und die Immunisierung scheinbar keinen Einfluss auf die Höhe der Plasmacortisolkonzentration hat, wurden beide Durchgänge zusammengefasst betrachtet (Abb. 10). Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Absetzgruppen gab es an den Tagen 42, 63 und 70, wobei die Werte der früh abgesetzten Ferkel an Tag 42 niedriger als die der spät abgesetzten waren. An den Tagen 63 und 70 war es umgekehrt.

Innerhalb der Gruppen stiegen die Plasmacortisolkonzentrationen bei den früh abgesetzten Ferkeln von Tag 42 zu Tag 49 an und sanken zu den Tagen 63 und 70. Bei den spät abgesetzten Ferkeln stiegen die Werte sowohl zu Tag 49 als zu Tag 63 signifikant an, um an den Tagen 70 und 84 wieder abzusinken. Ein Anstieg der Cortisolkonzentrationen an Tag 91 war in beiden Gruppen zu verzeichnen.

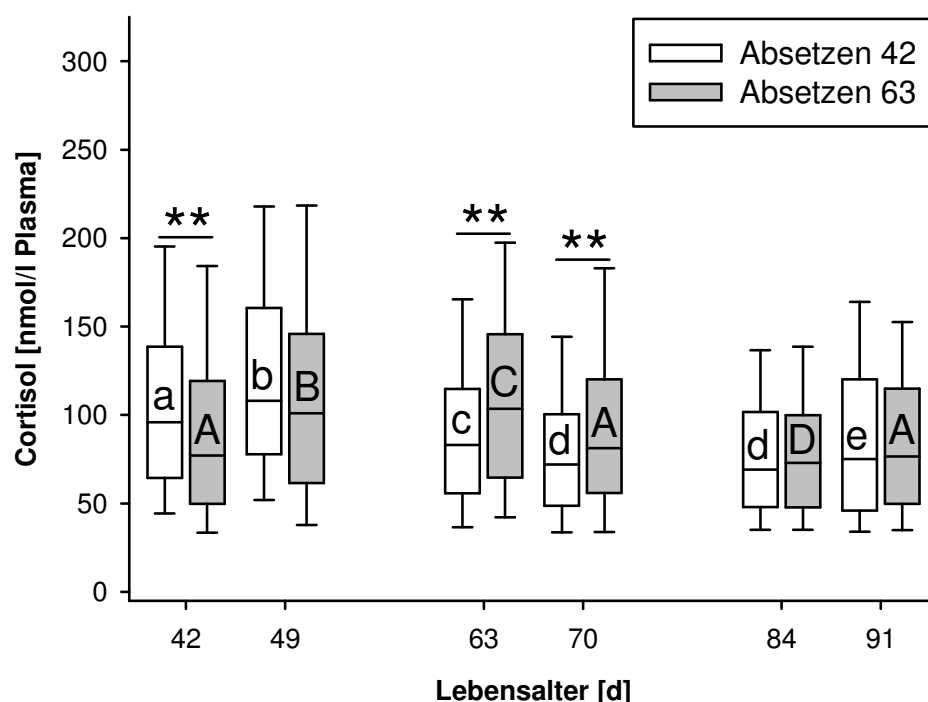


Abbildung 10: Cortisolkonzentrationen im Plasma von allen Ferkeln aus beiden Durchgängen. Den Ferkeln wurde zu den angegebenen Tagen Blut entnommen und das erhaltene Plasma mittels HPLC auf Cortisol analysiert (Dargestellt sind die Medianwerte sowie 10-,25-,75- und 90-Perzentile; n=247-280; a-e, A-D: unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede von $p < 0,05$, Repeated-Measures ANOVA on Ranks; **: $p < 0,01$; Mann-Whitney Rangsummentest).

4.3 Ergebnisse der Corticosteronbestimmung aus dem Blutplasma der Ferkel

Die Corticosteronkonzentrationen wurden aus denselben Plasmaproben wie Cortisol bestimmt. Beide Werte wurden gleichzeitig im HPLC-Verfahren gemessen. Bei vielen Ferkeln lag der Corticosteronwert unterhalb der Nachweisgrenze (1 nmol/l Plasma) des eingesetzten Testverfahrens.

Aufgrund der geringen Anzahl gemessener Werte in den einzelnen Gruppen wurde auf Einzelabbildungen der beiden Durchgänge und Immunisierungsgruppen verzichtet und diese in Abbildung 11 zusammengefasst dargestellt.

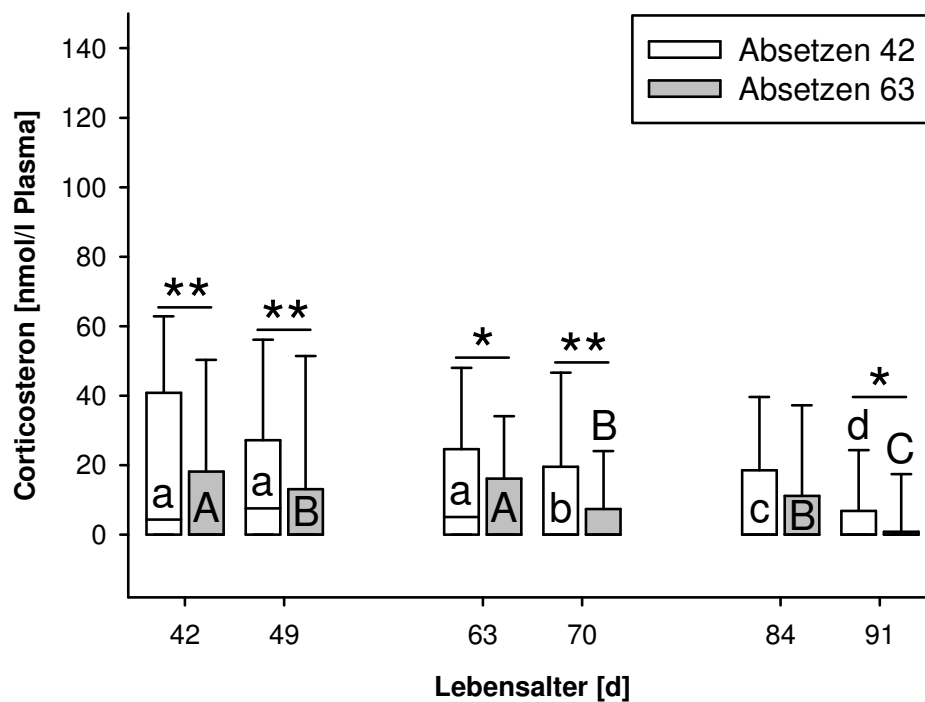


Abbildung 11: Corticosteronkonzentrationen im Plasma von allen Ferkeln aus beiden Durchgängen. Den Ferkeln wurde zu den angegebenen Tagen Blut entnommen und das erhaltene Plasma mittels HPLC auf Corticosteron analysiert (Dargestellt sind die Medianwerte sowie 10-,25-,75- und 90-Perzentile; I= Immunisierung, B= Boosterung; n=248-280; a-d, A-C: unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede von $p < 0,05$, Repeated-Measures ANOVA on Ranks; */: $p < 0,05/0,01$; Mann-Whitney Rangsummentest).**

Die Plasmacorticosteronkonzentrationen der früh abgesetzten Ferkel lagen an Tag 42 signifikant über denen der spät abgesetzten, was sich bis Tag 70 fortsetzte. An Tag 84 bestand kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen, während an Tag 91 die früh abgesetzten Ferkel erneut signifikant höhere Corticosteronwerte aufwiesen.

Innerhalb der Gruppen gab es bei den früh abgesetzten Ferkeln bis Tag 63 keine signifikanten Unterschiede, danach fielen die Werte zu jeder weiteren Blutentnahme signifikant ab. Bei den spät abgesetzten Ferkeln wechselten sich höhere und niedrigere Konzentrationen bis Tag 70 ab, veränderten sich nicht zu Tag 84 und sanken zu Tag 91 noch einmal.

4.4 Ergebnisse der Histaminbestimmung aus dem Blutplasma der Ferkel

Die Histaminwerte wurden für den 3. Durchgang bestimmt. Abbildung 12 zeigt die Plasmahistaminkonzentrationen der früh immunisierten Ferkel.

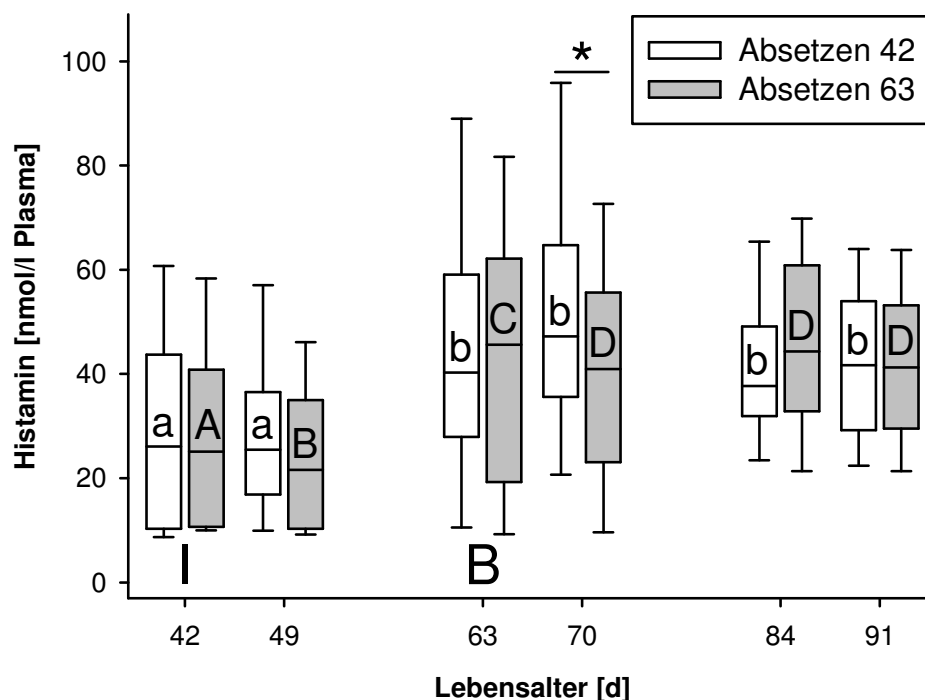


Abbildung 12: Histaminkonzentrationen im Plasma aller früh immunisierten Ferkel aus dem 3. Durchgang. Den Ferkeln wurde zu den angegebenen Tagen Blut entnommen und das erhaltene Plasma mittels HPLC auf Histamin analysiert (Dargestellt sind die Medianwerte sowie 10-,25-, 75- und 90-Perzentile; I= Immunisierung, B= Boosterung; n=53-64; a-b, A-D: unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede von $p < 0,05$, Repeated-Measures ANOVA on Ranks; *: $p < 0,05$; Mann-Whitney Rangsummentest).

Beim Vergleich der Absatzgruppen miteinander lagen die Werte der früh abgesetzten Ferkel an Tag 70 signifikant höher als die der spät abgesetzten. An den anderen Tagen gab es keine signifikanten Unterschiede.

Die Histaminkonzentrationen der früh abgesetzten Ferkel zeigten einen Anstieg von Tag 49 zu Tag 63 und blieben dann an den übrigen Blutentnahmezeitpunkten konstant. Bei den spät abgesetzten Ferkeln stiegen die Histaminplasmakonzentrationen ebenfalls von Tag 49 zu Tag 63 signifikant an, und fielen dann zu Tag 70 wieder ab.

In der spät immunisierten Gruppe waren die Plasmahistaminkonzentrationen der spät abgesetzten Ferkel an den Tagen 42, 49, 84 und 91 signifikant höher als die der früh abgesetzten Ferkel.

Innerhalb der Absatzgruppen zeigten die Werte der früh abgesetzten Tiere einen Abfall von Tag 42 zu Tag 49, von Tag 49 zu Tag 63 einen signifikanten Anstieg. An den darauffolgenden Blutentnahmezeitpunkten gab es keine Veränderungen mehr. Bei den spät abgesetzten Ferkeln stieg der Histaminwert von Tag 42 zu Tag 49 signifikant an und sank zu Tag 70 ab. Zu den Tagen 84 und 91 stiegen die Konzentrationen wieder an. Die beschriebenen Veränderungen sind in Abbildung 13 dargestellt.

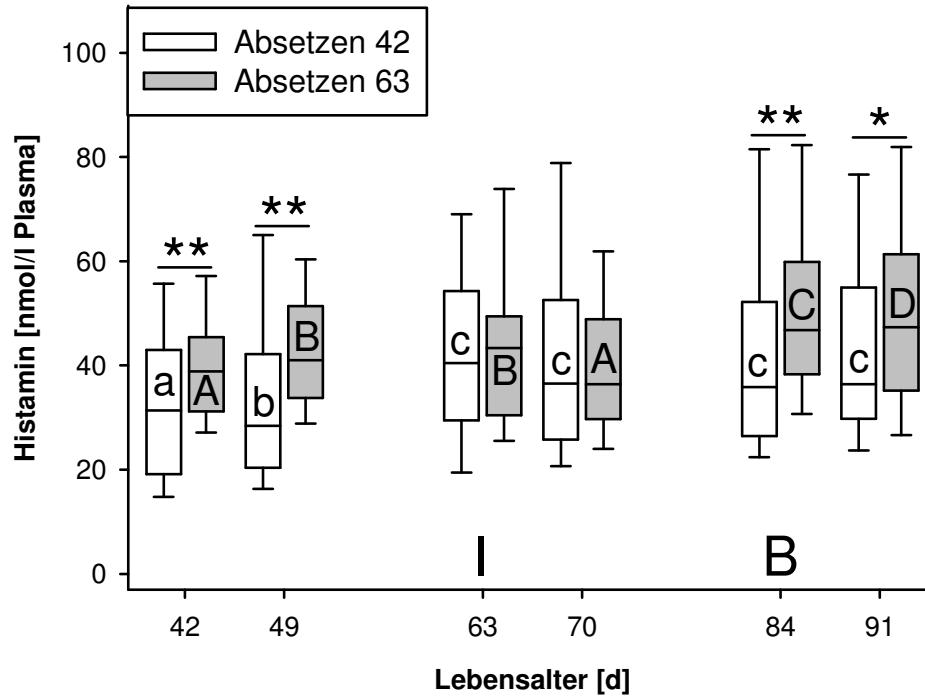


Abbildung 13: Histaminkonzentrationen im Plasma aller spät immunisierten Ferkel aus dem 3. Durchgang. Den Ferkeln wurde zu den angegebenen Tagen Blut entnommen und das erhaltene Plasma mittels HPLC auf Histamin analysiert (Dargestellt sind die Medianwerte sowie 10-,25-,75- und 90-Perzentile; I= Immunisierung, B= Boosterung; n=60-72; a-c, A-D: unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede von $p < 0,05$, Repeated-Measures ANOVA on Ranks; */: $p < 0,05/0,01$; Mann-Whitney Rangsummentest).**

4.5 Ergebnisse der Haptoglobinbestimmung aus dem Blutplasma der Ferkel

2. Durchgang

Die Haptoglobinwerte wurden in beiden Durchgängen gemessen. Abbildung 14 zeigt die Werte der früh immunisierten Ferkel aus dem 2. Durchgang. Im Vergleich der beiden Absetzgruppen miteinander waren die Haptoglobinkonzentrationen der früh abgesetzten Ferkel an den Tagen 42, 49 und 91 signifikant niedriger als die der spät abgesetzten.

Die Werte der früh abgesetzten Gruppe waren im zeitlichen Verlauf an den Tagen 42 und 49 signifikant höher als an allen anderen Blutentnahmezeitpunkten. Bei den spät abgesetzten Ferkeln sanken die Haptoglobinplasmakonzentrationen zu den Tagen 63 und 70. Zu den Blutentnahmen an Tag 84 und 91 stiegen sie wieder an.

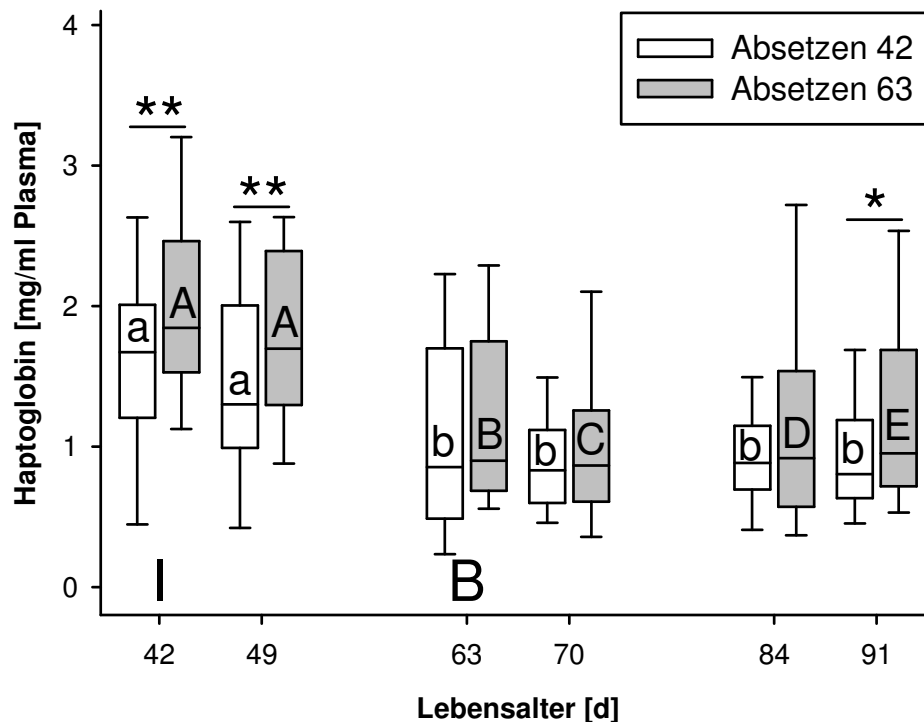


Abbildung 14: Haptoglobinkonzentrationen im Plasma von früh immunisierten Ferkeln des 2. Durchgangs. Den Ferkeln wurde zu den angegebenen Tagen Blut entnommen und das erhaltene Plasma mittels eines kommerziellen Testkits (Biorepair) auf Haptoglobin analysiert. (Dargestellt sind die Medianwerte sowie 10-,25-,75- und 90-Perzentile; I= Immunisierung, B= Boosterung; n=62-72; a-b, A-E: unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede von $p < 0,05$, Repeated-Measures ANOVA on Ranks; */**: $p < 0,05/0,01$; Mann-Whitney Rangsummentest).

Bei den in Abbildung 15 dargestellten Haptoglobinwerten der spät immunisierten Ferkel aus dem 2. Durchgang gab es zwischen den beiden Absetzgruppen signifikante Unterschiede an den Tagen 49, 63 und 70. An den Tagen 49 und 63 waren die Werte der früh abgesetzten Ferkel signifikant höher, an Tag 70 signifikant niedriger als die der spät abgesetzten.

Innerhalb der Gruppen gab es bei den früh abgesetzten Tieren keine signifikanten Veränderungen der Plasmahaptoglobinkonzentration. Die Werte der spät abgesetzten Ferkel waren an den Tagen 49 und 63 signifikant niedriger als an den übrigen Blutentnahmezeitpunkten.

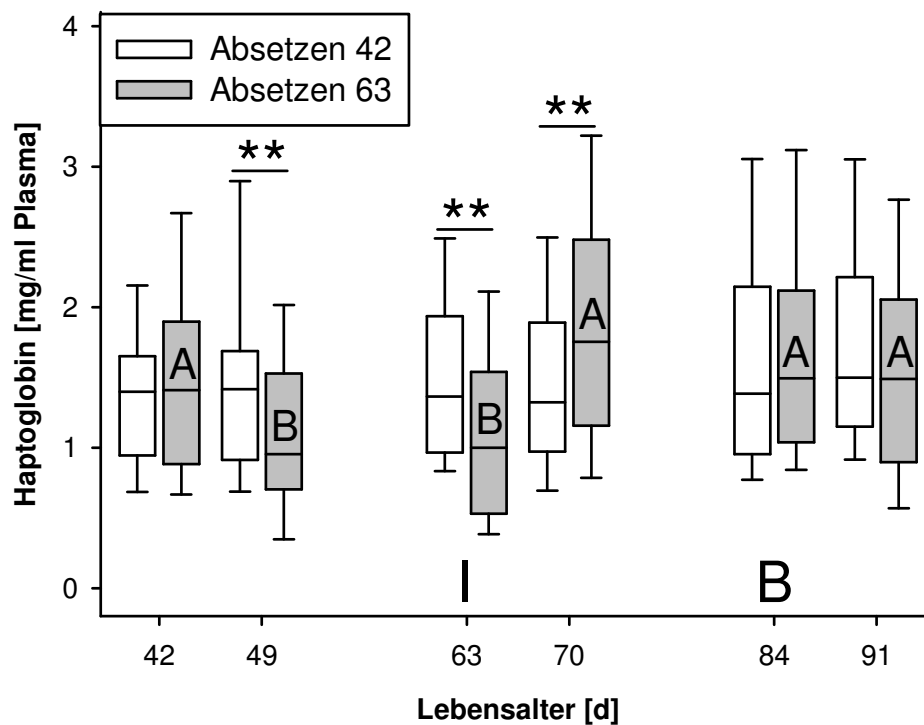


Abbildung 15: Haptoglobinkonzentrationen im Plasma von spät immunisierten Ferkeln des 2. Durchgangs. Den Ferkeln wurde zu den angegebenen Tagen Blut entnommen und das erhaltene Plasma mittels eines kommerziellen Testkits (Biorepair) auf Haptoglobin analysiert. (Dargestellt sind die Medianwerte sowie 10-,25-,75- und 90-Perzentile; I= Immunsierung, B= Boosterung; n=62-72; A-B: unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede von $p < 0,05$, Repeated-Measures ANOVA on Ranks; **: $p < 0,01$; Mann-Whitney Rangsummentest).

3. Durchgang

Die Haptoglobinkonzentrationen der früh immunisierten Gruppe aus dem 3. Durchgang sind in Abbildung 16 dargestellt. Im Vergleich der beiden Absetzgruppen untereinander gab es signifikante Unterschiede an allen Tagen außer an Tag 70. Die Werte der früh abgesetzten Ferkel waren an den Tagen 42, 49, 63 und 84 signifikant höher als die der Spätabsetzer. An Tag 91 war es umgekehrt.

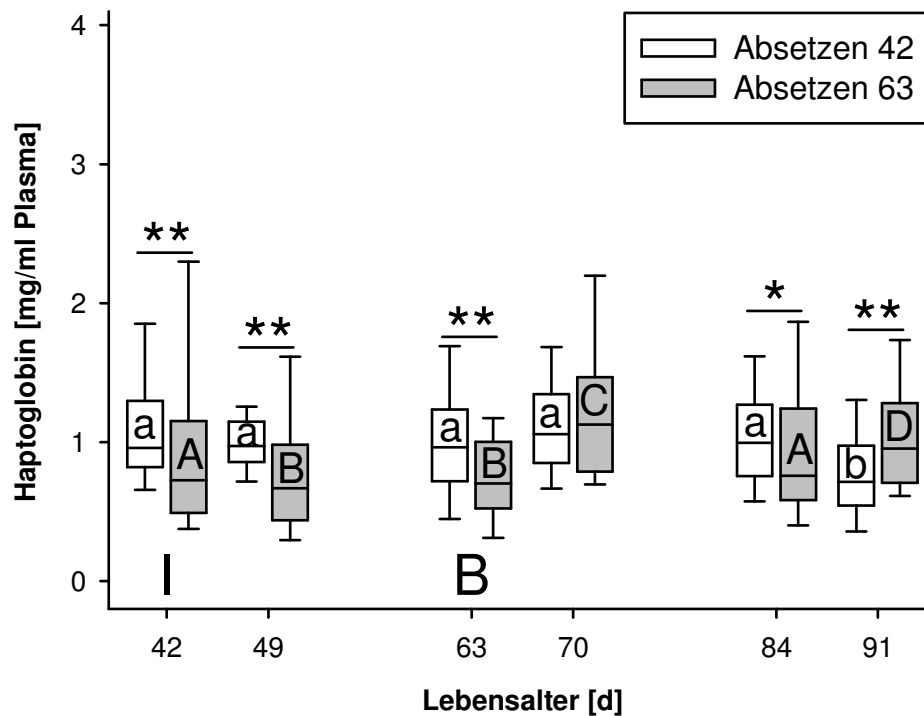


Abbildung 16: Haptoglobinkonzentrationen im Plasma von früh immunisierten Ferkeln des 3. Durchgangs. Den Ferkeln wurde zu den angegebenen Tagen Blut entnommen und das erhaltene Plasma mittels eines kommerziellen Testkits (Biorepair) auf Haptoglobin analysiert. (Dargestellt sind die Medianwerte sowie 10-,25-,75- und 90-Perzentile; I= Immunisierung, B= Boosterung; n=60-70; a-b, A-D: unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede von $p < 0,05$, Repeated-Measures ANOVA on Ranks; **/*: $p < 0,05/0,01$; Mann-Whitney Rangsummentest).

Die Werte der früh abgesetzten Ferkel zeigten an den Tagen 42, 49, 63, 70 und 84 keine signifikanten Veränderungen nur zu Tag 91 waren die Haptoglobinkonzentrationen niedriger. Die Werte der spät abgesetzten Tiere fielen zu Tag 49 ab. Ab Tag 63 alternierten Anstieg und Abfall der Konzentrationen.

Abbildung 17 zeigt die Werte der spät immunisierten Ferkel des 3. Durchgangs. Im Vergleich der beiden Absetzgruppen miteinander gab es signifikante Unterschiede an den Tagen 49, 84 und 91.

Die Plasmahaptoglobinkonzentrationen innerhalb der früh abgesetzten Ferkel stiegen zu Tag 49, lagen an den Tagen 63 und 70 signifikant niedriger, an den Tagen 84 und 91 war der erneute Abfall ebenfalls signifikant. Die Werte der spät abgesetzten Tiere lagen an Tag 49 signifikant niedriger als an den übrigen Blutentnahmezeitpunkten, zu Tag 70 und Tag 84 gab es einen Anstieg, zu Tag 91 sanken die Konzentrationen wieder ab.

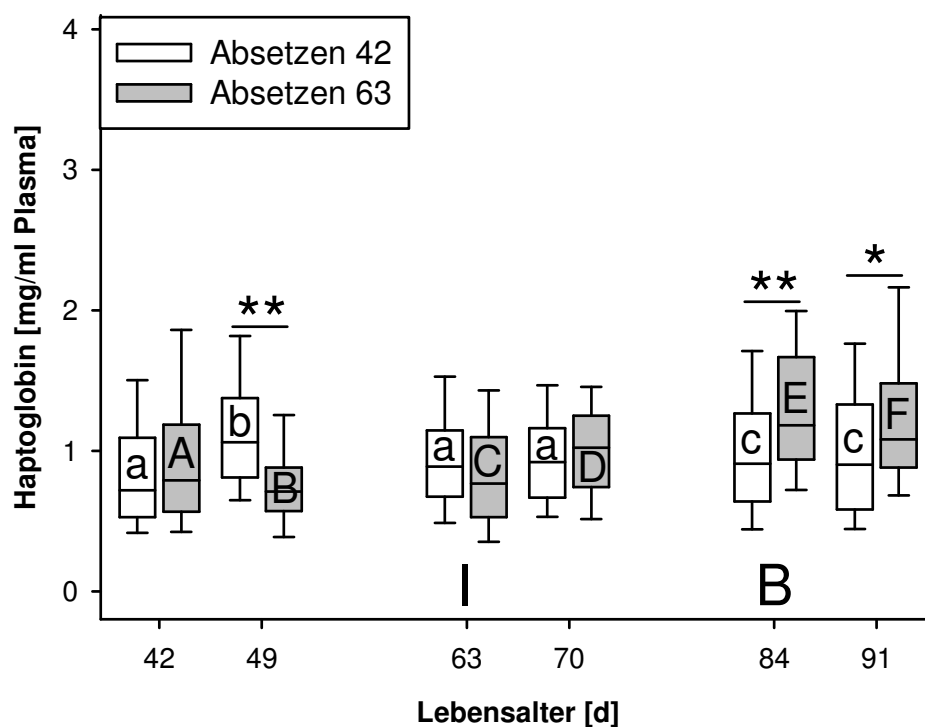


Abbildung 17: Haptoglobinkonzentrationen im Plasma von spät immunisierten Ferkeln des 3. Durchgangs. Den Ferkeln wurde zu den angegebenen Tagen Blut entnommen und das erhaltene Plasma mittels eines kommerziellen Testkits (Biorepair) auf Haptoglobin analysiert. (Dargestellt sind die Medianwerte sowie 10-,25-,75- und 90-Perzentile; I= Immunisierung, B= Boosterung; n=53-72; a-c, A-F: unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede von $p < 0,05$, Repeated-Measures ANOVA on Ranks; **/: $p < 0,05/0,001$; Mann-Whitney Rangsummentest).

Beide Durchgänge

Fasst man alle Daten unabhängig von Durchgang und Immunisierungszeitpunkt zusammen, ergibt sich das in Abbildung 18 dargestellte Bild. Im Vergleich der beiden Absetzgruppen miteinander unterschieden sich die Plasmakonzentrationen von Haptoglobin zu allen Blutentnahmezeitpunkten außer am Tag 42. An den Tagen 49 und 63 lagen die Werte der früh abgesetzten Ferkel signifikant höher als die der spät abgesetzten, an den Tagen 70, 84 und 91 kehrte sich das Bild um, die Konzentrationen der früh abgesetzten Tiere waren signifikant niedriger als die der spät abgesetzten Gruppe.

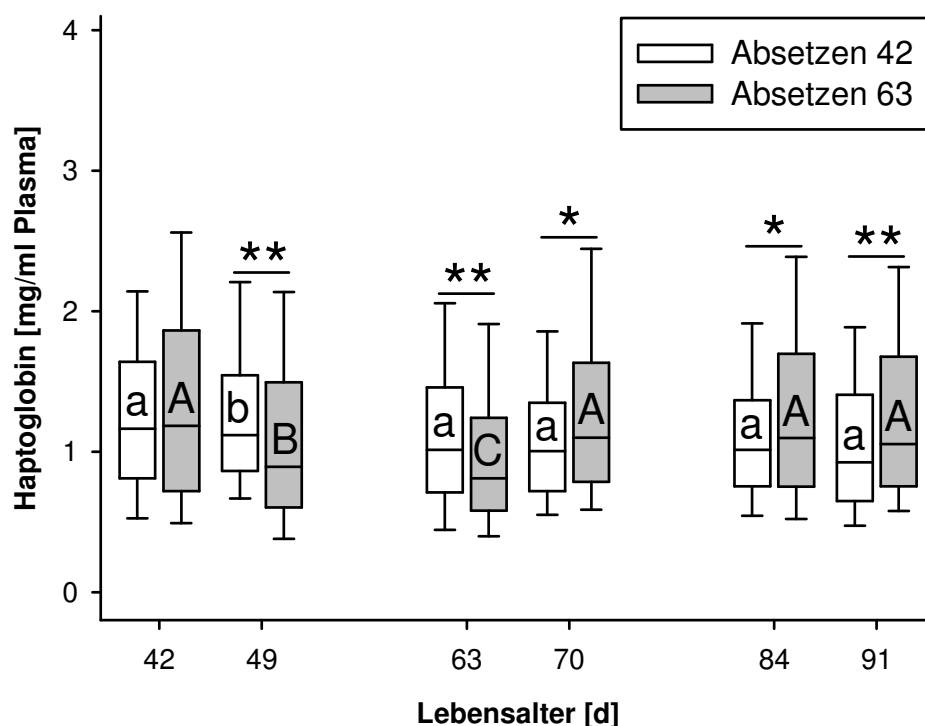


Abbildung 18: Haptoglobinkonzentrationen im Plasma aller Ferkel aus beiden Durchgängen. Den Ferkeln wurde zu den angegebenen Tagen Blut entnommen und das erhaltene Plasma mittels eines kommerziellen Testkits (Biorepair) auf Haptoglobin analysiert. (Dargestellt sind die Medianwerte sowie 10-,25-,75- und 90-Perzentile; n=251-281; a-b, A-C: unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede von $p < 0,05$, Repeated-Measures ANOVA on Ranks; */: $p < 0,05/0,001$; Mann-Whitney Rangsummentest).**

Innerhalb der Absetzgruppen stiegen die Werte der früh abgesetzten Ferkel zum Tag 49 an und fielen an Tag 63 wieder signifikant ab. An allen übrigen Blutentnahmezeitpunkten unterschieden sie sich nicht. Die Konzentrationen der spät abgesetzten Ferkel sanken im Vergleich zu Tag 42 sowohl an Tag 49 als auch an Tag 63 signifikant ab, stiegen zu Tag 70

wieder signifikant an und veränderten sich an den letzten beiden Blutentnahmezeitpunkten nicht mehr.

4.6 Videobeobachtung der Ferkel um den Absetzzeitpunkt im Gruppensügestall

In Abbildung 19 ist der Vergleich beider Absetzgruppen an Tag 40 dargestellt. Bei keiner der gezeigten Verhaltensweisen konnte ein signifikanter Unterschied zwischen früh und spät abgesetzten Ferkeln beobachtet werden.

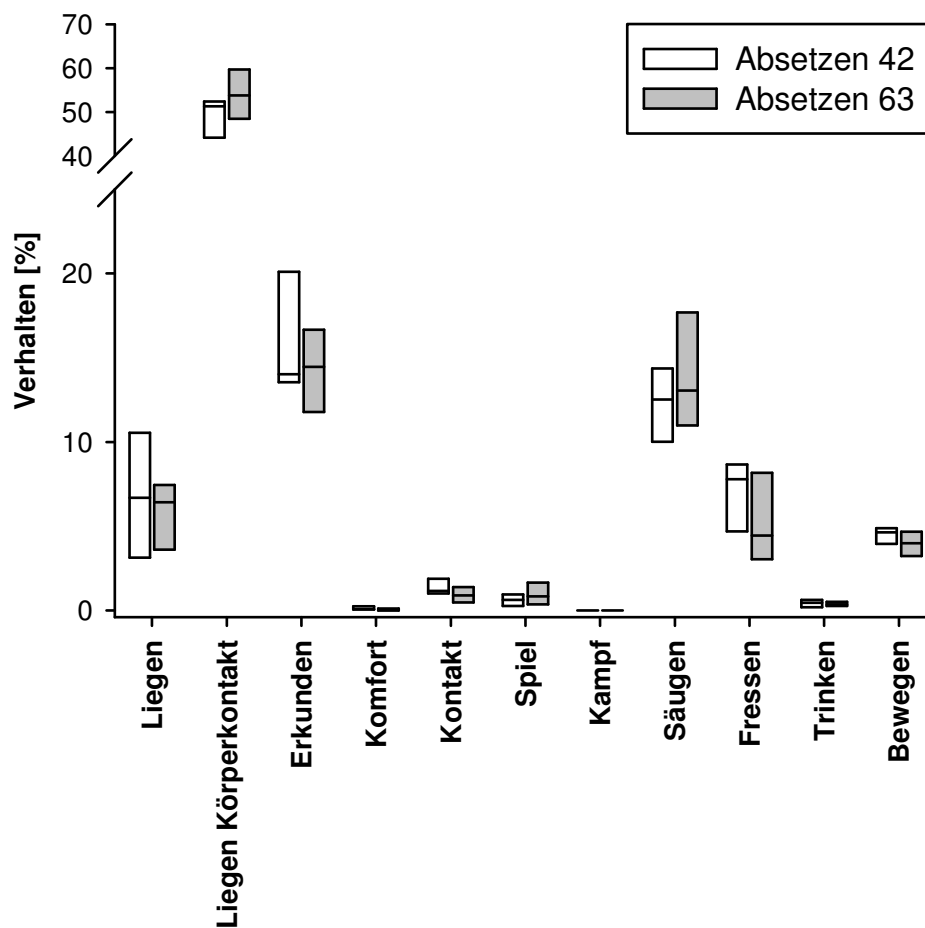


Abbildung 19: Vergleich aller beobachteten Verhaltensweisen der früh und spät abgesetzten Ferkel an Tag 40 p.n. (Dargestellt sind die Medianwerte sowie 25- und 75- Perzentile).

Am 1. Tag nach dem Absetzen (entspricht bei den früh abgesetzten Ferkeln dem Tag 43 p.n., bei den spät abgesetzten dem Tag 64 p.n.) lagen beim Merkmal „Kontaktliegen“ die Werte der spät abgesetzten Tiere signifikant niedriger als die der früh abgesetzten ($p=0,035$). Alle anderen Verhaltensweisen unterschieden sich nicht signifikant. Es konnten jedoch bei den Merkmalen „Fressen“ und „Trinken“ tendenziell höhere Werte ($p<0,1$) der spät abgesetzten Gruppe festgestellt werden. Der Vergleich früh und spät abgesetzter Ferkel am 1. Tag nach dem Absetzen ist in Abbildung 20 dargestellt.

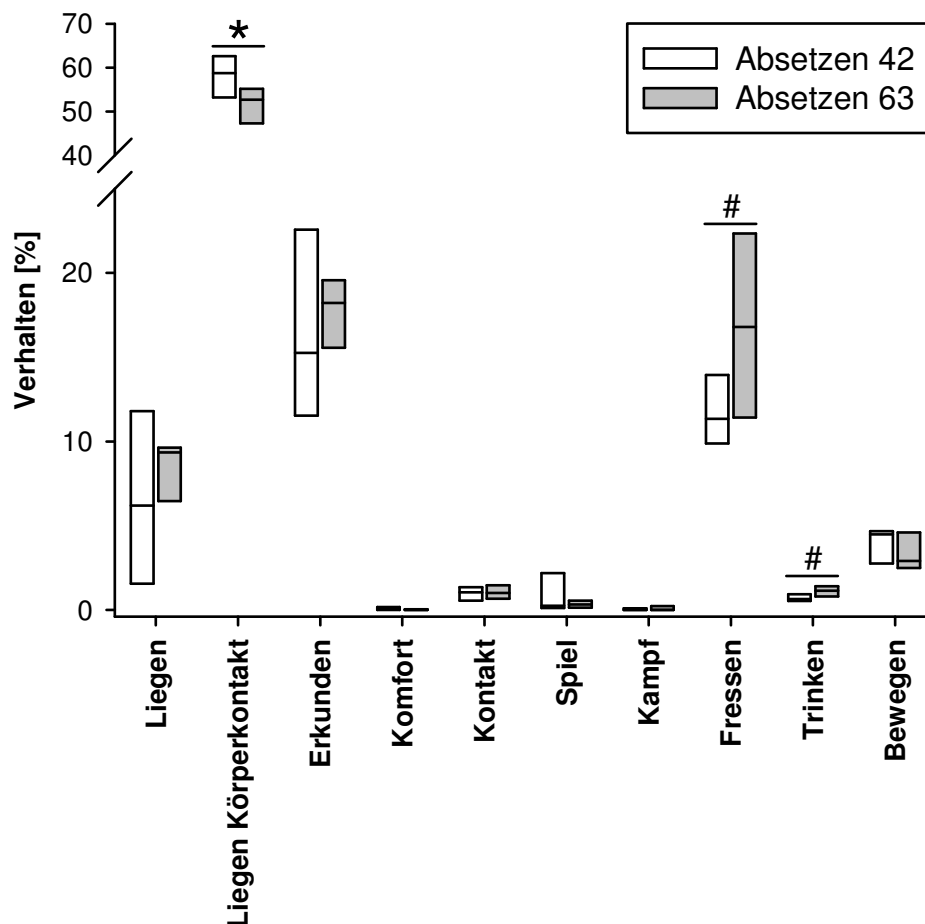


Abbildung 20: Vergleich aller beobachteten Verhaltensweisen der früh und spät abgesetzten Ferkel einen Tag nach Absetzen (Tag 43 bzw 64 p.n.). (Dargestellt sind die Medianwerte sowie 25- und 75- Perzentile; * = $p<0,05$, # = $p<0,1$; Mann-Whitney Rangsummentest).

Beim Vergleich der beiden Gruppen am 2. Tag nach dem Absetzen (entspricht bei den früh abgesetzten Ferkeln dem Tag 44 p.n., bei den spät abgesetzten dem Tag 65 p.n.) konnten bei keiner der beobachteten Verhaltensweisen signifikanten Unterschiede festgestellt werden (siehe Tabelle 5).

Verhaltensänderungen zwischen Tag 40 und Tag 61:

Um die Verhaltensunterschiede zwischen früh und spät abgesetzten Ferkeln besser beurteilen zu können, wurde das Verhalten der spät abgesetzten Ferkel an den Tagen 40 und 61 miteinander verglichen. Dabei stieg das Verhalten „Fressen“ signifikant an (Medianwerte Tag 40: 4,4% bzw. Tag 61: 12,5%; $p=0,031$), während bei den Saugakten (Medianwerte Tag 40: 13,1% bzw. Tag 61: 10,1%; $p=0,063$) und beim „Liegen mit Körperkontakt“ (Medianwerte Tag 40: 53,8% bzw. Tag 61: 41,8%; $p=0,063$) eine Tendenz zur Abnahme dieser Verhaltensweisen erkennbar war. Die anderen Verhaltensweisen (Liegen, Erkunden, Komfort, Kontakt, Spiel, Kampf, Trinken, Bewegen) unterschieden sich nicht.

Verhaltensänderungen durch den Absetzvorgang:

Bei den früh abgesetzten Ferkeln kam es im Verlauf des Absetzens (zwischen Tag 40 und Tag 44) zu signifikanten Veränderungen beim „Liegen mit Körperkontakt“ (Tabelle 5). Die Verhaltensweisen „Erkunden“, „Fressen“ und „Trinken“ wiesen eine Tendenz ($p<0,1$) zur Veränderung auf. Die Verhaltensweisen „Liegen“, „Komfort“, „Kontakt“, „Spiel“, „Kampf“ und „Bewegen“ unterschieden sich nicht (Tabelle 5).

Bei den spät abgesetzten Ferkeln kam es im Verlauf des Absetzens (zwischen Tag 61 und Tag 65) zu signifikanten Veränderungen beim „Erkunden“ und bei der „Bewegung“ (Tabelle 5). Die Verhaltensweisen „Liegen“, „Liegen mit Körperkontakt“, „Komfort“, „Kontakt“, „Spiel“, „Kampf“, „Fressen“ und „Trinken“ unterschieden sich nicht (Tabelle 5).

Tabelle 5. Verhaltensweisen im Verlauf des Absetzvorganges

Verhalten [%]	Frühes Absetzen [Tag]			Spätes Absetzen [Tag]		
	40	43	44	61	64	65
Liegen	6,7	6,2	4,1	9,5	9,4	9,0
Liegen mit Körperkontakt	51,3 ^a	58,8 ^b	54,3 ^c	41,8	52,7	49,4
Erkunden	14,0	15,3	21,4	14,2 ^a	18,2 ^a	24,8 ^b
Komfort	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Kontakt	1,2	1,0	1,1	1,6	1,0	2,5
Spiel	0,6	0,2	0,7	0,7	0,3	1,7
Kampf	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Fressen	7,8	11,3	11,0	12,5	16,8	10,7
Trinken	0,5	0,7	0,8	0,4	1,1	1,1
Bewegen	4,7	4,5	5,4	6,0 ^a	2,9 ^b	2,8 ^b
Ferkel außer Sicht	6,9 ^a	11,3 ^b	8,3 ^a	20,7 ^a	17,6 ^{ab}	14,1 ^b

a,b,c: unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede von $p<0,05$, Friedmann Repeated-Measures ANOVA

Bei der statistischen Auswertung der Ferkel „außer Sicht“ (Anzahl der Ferkel, deren Verhalten nicht erfasst werden konnte, und die somit nicht in die Berechnung der Verhaltensmerkmale einbezogen wurden), ergaben sich an Tag 40 signifikant niedrigere Werte als an Tag 61 ($p=0,005$; Tabelle 5). Bei den Vergleichen zwischen den Tagen 43 mit 64 ($p=0,065$) bzw. 44 mit 65 ($p=0,080$) ergaben sich dagegen nur tendenzielle Unterschiede (Tabelle 5).

4.7 Direktbeobachtung der Ferkel nach dem Absetzen und der folgenden Umstallung in den Aufzuchtstall

Um die Auswirkungen von Absetzen und der nachfolgenden Umstallung auf das Verhalten der Ferkel zu erfassen, wurden alle Ferkel in ihren neuen Buchten direkt beobachtet. Die Beobachtung erfolgte zwei Tage nach der Umstallung in den Aufzuchtstall, bzw. fünf Tage nach der Trennung von den Muttertieren in einem zweistündigen Aktivitätszeitraum der Ferkel. Beobachtet wurde die Anzahl der agonistischen Kontakte gegen Wurfgeschwister sowie gegen Ferkel der anderen Würfe in derselben Bucht (im Folgenden als Buchtgenossen bezeichnet). Außerdem wurde vor der Direktbeobachtung der Zustand des Integuments beurteilt, um so auch einen Parameter für die Aggressivität außerhalb des Beobachtungszeitraums zu erheben.

Beim Vergleich des Zustands des Integuments der Ferkel vor der Direktbeobachtung ergab sich ein signifikanter Unterschied ($p<0,01$) zwischen früh und spät abgesetzten Tieren. Von den 392 untersuchten Ferkeln wiesen nur 48 (=12,24%) Verletzungen auf, von denen aus allen Gruppen nur vier Ferkel (=1,02%) einen Score > 1 zeigten. Aus diesem Grund wurden die Scores 1-5 als „Ferkel mit Verletzungen“ zusammengefasst. Insgesamt wurden bei den früh abgesetzten Ferkeln 189 ohne Verletzungen und 13 mit Verletzungen (entspricht 6,4%) gezählt, bei den spät abgesetzten Gruppen waren 155 Ferkel ohne Verletzungen und 35 mit (entspricht 18,4%) zu verzeichnen.

Bei der Anzahl der Angriffe waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Absetzgruppen zu beobachten. Insgesamt waren jeweils 7 Buchten mit früh bzw. spät abgesetzten Gruppen belegt. Die früh abgesetzten Gruppen zeigten $22,1 \pm 4,8$ (MW \pm SEM) Angriffe pro Beobachtungszeitraum, die spät abgesetzten $39,3 \pm 7,3$ (MW \pm SEM). Dieser Unterschied war nicht signifikant.

In allen früh abgesetzten Gruppen wurden insgesamt 125 Angriffe unter 5 Sekunden und 31 Angriffe über 5 Sekunden gezählt. Bei den spät abgesetzten Ferkeln waren es 225 Angriffe unter 5 Sekunden und 50 über 5 Sekunden (siehe Tabelle 6). Die Verteilungshäufigkeit von Angriffen unter und über 5 Sekunden unterschied sich dabei nicht zwischen den Gruppen ($p=0,789$).

Bezüglich der Häufigkeit der Aggressivität gegen Ferkel des eigenen bzw. der anderen Würfe konnten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Bei den früh abgesetzten Ferkeln waren 52 Angriffe gegen Wurfgeschwister gerichtet und 104 gegen Buchtgenossen (siehe Tabelle 6). Bei den spät abgesetzten waren es 85 gegen Wurfgeschwister und 190 gegen Buchtgenossen ($p = 0,680$).

Tabelle 6: Absolute Angriffszahlen der früh und spät abgesetzten Ferkel gegen Wurfgeschwister und Buchtgenossen in den einzelnen Gruppen.

	Angriffe frühabgesetzter Ferkel				Angriffe spät abgesetzter Ferkel			
	Gegen Wurfgeschwister		Gegen Buchtgenossen		Gegen Wurfgeschwister		Gegen Buchtgenossen	
Dauer	< 5 sec	> 5 sec	< 5 sec	> 5 sec	< 5 sec	> 5 sec	< 5 sec	> 5 sec
Gruppe 1*	-	-	2	1	16	-	23	-
Gruppe 2	16	-	8	-	6	2	15	-
Gruppe 3	3	1	19	2	5	1	27	1
Gruppe 4	-	-	7	-	6	-	33	4
Gruppe 5	7	-	18	5	15	5	23	11
Gruppe 6	7	6	14	12	10	14	34	12
Gruppe 7	9	3	15	1	5	-	7	-

*Gruppe 1 bezeichnet jeweils den im Jahresverlauf am frühesten abgesetzten Wurf, Gruppe 7 den zuletzt abgesetzten Wurf.

5. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob es Unterschiede im Stressgeschehen zwischen an Tag 42 früh abgesetzten und an Tag 63 spät abgesetzten Ferkeln im ökologischen Landbau gibt.

5.1 Blutparameter

Als Indikatoren zur Erkennung von Stress beim Absatzferkel wurden die Glucocorticoide Cortisol und Corticosteron, sowie Histamin und das Akute-Phase-Protein Haptoglobin gewählt.

5.1.1 Einfluss der Blutentnahmedauer auf die Konzentrationen der Stressparameter im Blutplasma der Ferkel

Die benötigte Zeit für die Blutentnahme unterschied sich zwischen den beiden Absatzgruppen nur an Tag 91. Für die spät abgesetzte Gruppe wurde signifikant länger gebraucht, dies korrelierte jedoch nicht mit den Unterschieden in der Höhe der Plasmakonzentrationen der erhobenen Parameter. Im Versuchsverlauf sanken die Zeiten sowohl bei den früh abgesetzten als auch bei den spät abgesetzten Ferkeln konstant ab, was auf einen routinierteren Ablauf des Blutentnahmeprozesses zurückzuführen ist.

Die Corticosteroide reagieren nach den Catecholaminen am schnellsten auf einen akuten Stressor. Bei Ratten ist die ACTH-Konzentration im Plasma abhängig von der Dauer und der Intensität des Stressors. Nach „psychologischem“ Stress (30 sekundiger Aufenthalt in einem Glasgefäß) stieg die ACTH-Konzentration innerhalb von 2,5 Minuten von 23 ± 4 auf 71 ± 12 pg/ml (Cook et al. 1973). ACTH bewirkt an der Nebennierenrinde eine de-novo Synthese von Corticoiden (Elenkov und Chrousos 2006). Es erfolgt keine Speicherung der Corticoide im Organismus. Die Dauer der Blutentnahme überschritt bei den meisten Ferkeln die Dauer von 40 Sekunden nicht. Unter Berücksichtigung des Synthesewegs der Corticoide war innerhalb dieser kurzen Zeitspanne eine Beeinflussung der Konzentrationen im Blutplasma durch die Blutentnahme selbst nicht zu erwarten. Von den 96 gesammelten Cortison-Zeit-Daten-Sets gab es nur bei 9 eine Korrelation. Bei Corticosteron waren 11 der insgesamt 96 Corticosteron-Zeit-Daten-Sets positiv korreliert (siehe Tabelle 4). Diese Ergebnisse lassen uns vermuten, dass die Blutentnahme keinen Einfluss auf die Plasmakonzentrationen der Corticoide hatte.

Histamin wird hauptsächlich in Mastzellen, basophilen Granulozyten und enterochromaffinen Zellen in der Peripherie gespeichert (Laszlo et al. 2001). Huang et. al (1998) konnten in einer Studie an Mäusen nachweisen, dass das bei Stress freigesetzte Histamin vorwiegend aus Mastzellen stammt. Sofort nach der Aktivierung der Mastzellen wird aus den enthaltenen Granula Histamin ausgeschüttet (Metcalf et al. 1997). Bei Ratten wurde ein biphasischer Anstieg des Histaminblutspiegels gemessen, 15 Minuten nach Beginn des Stressors war der Histaminwert viermal so hoch wie davor (Huang et al. 1998). Aufgrund dieser schnellen Freisetzung könnte der Parameter Histamin von der Blutentnahme beeinflusst werden. Von den 48 gesammelten Histamin-Zeit-Daten-Sets zeigten aber nur zwei eine Korrelation. Dies könnte bedeuten, dass der Stressor Blutentnahme nicht zu einer Mastzelldegeneration geführt hat. Eine andere Möglichkeit wäre, dass die Degeneration stattgefunden hat, aber das freigesetzte Histamin, bevor es in den Kreislauf gelangen konnte, durch die Diaminoxidase (Barth und Lorenz 1978) oder die Histamin-N-Methyltransferase (Eustis 1915) sofort lokal verstoffwechselt wurde.

Haptoglobin ist ein Protein und wird in der Leber nach Bedarf gebildet. Interleukin 6 bindet während der Akuten Phase Reaktion an die Promoterregion des Hp Gens und löst die Transkription der DNA in m-RNA und deren Translation in das Protein aus (Quaye 2008). Dieser Syntheseweg benötigt mehr Zeit als die Dauer der Blutentnahme, somit war eine Beeinflussung der Haptoglobinwerte nicht zu erwarten. Die wenigen gefundenen Korrelationen zwischen der Blutentnahmezeit und den Haptoglobinwerten bestätigen diese Vermutung (Tabelle 4). Auch in einer andere Studie verursachten akute Stressoren wie Hitze, Kälte oder ein vierstündiger Transport keine Veränderungen des Haptoglobinspiegels (Hicks et al. 1998), wohingegen ein 24-stündiger Transport eine Erhöhung der Serumhaptoglobinkonzentration nach sich zog (Pineiro et al. 2001).

5.1.2 Einfluss des Absetzens und der Immunisierung auf die Cortisolkonzentration im Plasma der Ferkel

Bei den Cortisolwerten gab es an Tag 42 signifikante Unterschiede zwischen früh und spät abgesetzten Ferkeln. Diese Unterschiede traten bei beiden Immunisierungsgruppen des 2. Durchgangs auf (siehe Abbildung 6 und 7) und schlugen sich auch in der Zusammenfassung der beiden Durchgänge nieder (siehe Abbildung 10). Die Ursachen dafür sind unklar, da das Handling der Ferkel zu diesem Zeitpunkt noch gleich war. Denkbare Einflussfaktoren wären jahres- oder tageszeitliche bedingte Schwankungen des Cortisolspiegels, die aber aufgrund der langen Versuchsdauer, sowie der festgelegten Blutentnahmezeit (immer zwischen 12.00 und 14.00 Uhr) eigentlich keinen solchen Einfluss zeigen dürften. Diese, für uns nicht zu erklärenden, Unterschiede in der Ausgangssituation der beiden Absetzgruppen müssen bei

der Diskussion der Cortisolwerte Berücksichtigung finden und erschweren die Interpretation der Ergebnisse.

Effekte des Absetzens:

Das Absetzen wird in der Literatur als starker Stressor für das Ferkel beschrieben (Fraser et al. 1998). Betrachtet man bei den früh abgesetzten Ferkeln den Tag 49 und bei den spät abgesetzten den Tag 70, ist der Vorgang des Absetzens, inklusive der Umstallung in den Aufzuchtstall, abgeschlossen, eventuelle Folgen müssten sich an diesen Tagen manifestiert haben.

Die Werte der früh abgesetzten Ferkel stiegen von Tag 42 zu Tag 49 in allen Gruppen außer bei den früh immunisierten des 3. Durchgangs (siehe Abb. 8) signifikant an. Diesen Anstieg zeigen auch die spät abgesetzten Ferkel in der Zusammenfassung der beiden Durchgänge (siehe Abb. 10), er kann deshalb nicht eindeutig auf den Absetzstress zurückgeführt werden. Bei den spät abgesetzten Ferkeln gab es in keiner der Gruppen einen Anstieg der Cortisolwerte von Tag 63 zu Tag 70. Im Gegenteil bei den spät immunisierten Tieren beider Durchgänge sanken die Konzentrationen sogar ab (siehe Abb. 7 und 9), dieser Abfall ist auch in der Zusammenfassung beider Durchgänge ersichtlich (Abb. 14). Colson et al. (2006) konnten in ihrer Studie mit nach 21 bzw. 28 Tagen abgesetzten Ferkeln keinen direkten Einfluss des Absetzens auf die Cortisolkonzentration feststellen. In dieser Studie wurde der Cortisol / Kreatinin-Quotient bis 5 Tage nach Absetzen aus dem Urin der Ferkel bestimmt.

Im Verlauf fiel bei unseren Ergebnissen in der Zusammenfassung beider Durchgänge (Abb. 10) allerdings ein zeitlich verzögertes Absinken der Werte nach dem Anstieg an Tag 49 in beiden Gruppen auf. Während die Konzentrationen der früh abgesetzten Gruppen bereits zu Tag 63 wieder deutlich sanken, gab es bei den spät abgesetzten Tieren an Tag 63 erst noch einen signifikanten Anstieg der Werte, erst zu Tag 70 fielen sie dann wieder ab. Dies spricht wiederum für einen Einfluss des Absetzens auf die Cortisolblutspiegel. Zu berücksichtigen ist dabei der circadiane Rhythmus der Cortisolkonzentration. Er entwickelt sich mit zunehmendem Alter des Ferkels (Gallagher et al. 2002) und ist in angereicherter Haltungsumwelt deutlicher ausgeprägt als bei konventionell aufgezogenen Ferkeln (de Jong et al. 2000). Bis zum Eintritt der Geschlechtsreife verschieben sich die Maxima und Minima der Cortisolsekretion noch. So konnten Evans et al. (1988) bei weiblichen Ferkeln im Alter von 4 Wochen noch gar keine signifikanten circadianen Schwankungen messen, während im Alter von 8 und 12 Wochen die tiefsten Werte am Nachmittag zu verzeichnen waren. Mit 16 Wochen zeigten die Cortisolkonzentrationen dann einen Höhepunkt am Nachmittag. Erst mit Eintritt der Geschlechtsreife war der diurnale Rhythmus vollständig ausgeprägt (Evans et al. 1988). Unseren Ferkeln wurde an allen Tagen zwischen 12.00 und 14.00 Uhr Blut

entnommen. Die angesprochenen Verschiebungen im diurnalen Rhythmus könnten einen Einfluss auf das Absinken der Werte im zeitlichen Verlauf haben. Möglicherweise wurde dadurch auch eine Reaktion der Cortisolblutspiegel auf den Stressor Absetzen überlagert, bzw. ein Zusammenspiel beider Einflüsse (diurnaler Rhythmus und Absetzstress) könnte zu dem nicht eindeutigen Ergebnis geführt haben.

Effekte der Immunisierung:

Die Immunisierung erfolgte kurz nach der Blutentnahme mittels einer handelsüblichen Impfspritze. Wie in Kapitel 5.1.1 herausgestellt, war die Dauer der Blutentnahme zu kurz, um einen direkten Einfluss auf die Höhe des Cortisolwertes zu nehmen. Gleiches gilt auch für das Prozedere der Immunisierung. Denkbar wäre allerdings eine Beeinflussung der Werte durch die in Gang gesetzte Immunreaktion. Zur Beurteilung eignen sich daher am besten die Tage 84 und 91 der spät immunisierten Ferkel. An diesen Tagen war in beiden Gruppen das Absetzen bereits abgeschlossen, und außer der Blutentnahme und der Boosterung an Tag 84 erfolgte keine weitere Manipulation.

Zwar stiegen im 2. Durchgang die Werte beider Absetzgruppen von Tag 84 zu Tag 91 an (Abb. 7), im 3. Durchgang sanken die Werte der früh abgesetzten Ferkel zu Tag 91 jedoch ab, bei den spät abgesetzten blieben sie unverändert (Abb. 9). Die frühe Boosterung an Tag 63 bei den früh abgesetzten Ferkeln hatte in beiden Durchgängen keinen Effekt auf Tag 70 (Abb. 6 und 8). Unsere Ergebnisse lassen darauf schließen, dass weder die Immunisierung selbst, noch die ihr folgende Immunreaktion einen Einfluss auf die Plasmakonzentration von Cortisol hat.

5.1.3 Einfluss des Absetzens und der Immunisierung auf die Corticosteronkonzentration im Plasma der Ferkel

Ebenso wie beim Cortisol lagen auch beim Corticosteron die Werte der früh abgesetzten Gruppe an Tag 42 signifikant höher als die der spät abgesetzten (Abb. 11). Dafür kommen prinzipiell dieselben Gründe wie schon im Kapitel 5.1.2 diskutiert in Betracht. Bei der Interpretation der Corticosteronkonzentrationen muss beachtet werden, dass die Werte für viele Ferkel unterhalb der Nachweisgrenze des HPLC-Verfahrens (1 nmol/l Plasma) lagen und somit mit dem Wert „0“ in die statistischen Berechnungen eingingen.

Im zeitlichen Verlauf sanken die Corticosteronwerte ebenso wie die Cortisolwerte ab. Dies könnte mit einer, bereits im vorhergehenden Kapitel diskutierten, Verschiebung der diurnalen Ausschüttung von ACTH und somit den Glucocorticoiden zusammenhängen (Evans et al. 1988). Ergebnisse anderer Studien zeigen allerdings, dass der Rhythmus der

Corticosteronsekretion bei Ratten auch unter Abwesenheit von zirkulierendem ACTH erhalten bleibt (Meier 1976). Bei hypophysenektomierten Tieren geht der Corticosteronsekretionsrhythmus erst dann verloren, wenn die Nebenniere denerviert wird, was auf eine Beteiligung von sympathischen und parasympathischen Kontrollmechanismen hindeutet (Ottenweller und Meier 1982). Zu bedenken ist dabei, dass Corticosteron im Gegensatz zum Schwein bei der Ratte das Hauptglucocorticoid ist (Möstl 2005; Palme et al. 2005), und aufgrund dessen möglicherweise nicht denselben Sekretionsmechanismen unterliegt.

Ein Einfluss der Immunisierung bzw. Boosterung sowie des Absetzens auf den Corticosteronwert konnte in diesem Versuch nicht herausgestellt werden. An keinem der Blutentnahmetage nach dem Einsatz eines Stressors konnte ein Anstieg der Werte verzeichnet werden. Bei beiden Absetzgruppen sanken die Werte zu Tag 70 sogar signifikant ab (Abb. 11). Wie lange eine durch akuten Stress hervorgerufene Erhöhung der Corticosteronblutspiegel beim Schwein anhält ist nicht bekannt. Unsere Ergebnisse zeigen, dass sofern eine Reaktion stattgefunden hat, sie eine Woche nach Einwirken des Stressors nicht mehr messbar ist.

5.1.4 Einfluss des Absetzens und der Immunisierung auf die Histaminkonzentration im Plasma der Ferkel

In Studien an Ratten konnte ein stressbedingter Histaminspiegelanstieg beobachtet werden. Huang et al. (1999) zeigten, dass der Plasmahistaminspiegel bereits 30 Minuten nach 1minütigem Stress durch „gentle handling“ bereits wieder auf das Basalniveau gesunken war. In einer anderen Studie, ebenfalls an Ratten, konnten sie jedoch einen biphasischen Verlauf des Plasmahistaminanstiegs während der Einwirkung eines Stressors nachweisen. Neben einem schnellen Anstieg ca. 15 Minuten nach Beginn des Versuchs, gab es einen zweiten verzögerten Anstieg, die Werte erreichten während des gesamten Versuchs (120 Minuten) nicht wieder ihren Basalspiegel (Huang et al. 1998).

Der Plasmahistaminwert unserer Ferkel stieg in den Gruppen, die zumindest einem Stressor (Absetzen oder Immunisierung) ausgesetzt waren, nach Tag 49 signifikant an (siehe Abb. 12 und 13). Als Ursache hierfür sind Veränderungen der Freisetzung bzw. des Katabolismus von Histamin aufgrund der Stimulation des Immunsystems durch die Immunisierung denkbar. Zwischen früh und spät abgesetzten Ferkeln gab es Unterschiede im Plasmahistaminspiegel am Tag der Boosterung (Abb. 12) und/oder eine Woche später (Abb. 12 und 13). Dies lässt darauf schließen, dass beide Stressoren sowohl alleine, vor allem aber zusammen einen Einfluss auf die Plasmahistaminkonzentration ausüben. Auch

altersbedingte Veränderungen des Histaminspiegels sind denkbar. Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen konnten in Humanstudien weder nach Applikation einer Tetanusimpfung (Nielsen et al. 2001), noch während des ersten Lebensstages (Cooper et al. 1969) Veränderungen des Plasmahistaminspiegels nachgewiesen werden.

5.1.5 Einfluss des Absetzens und der Immunisierung auf die Haptoglobinkonzentration im Plasma der Ferkel

Haptoglobin (Hp) ist ein Protein der Akuten Phase Reaktion. Akute Phase Proteine (APP) spielen eine wichtige Rolle in der Reaktion des Organismus auf Infektionen bzw. auf eine durch Entzündung hervorgerufene Gewebeschädigung oder Traumata (Eckersall 2000). Bei der Infektion mit verschiedenen bakteriellen Erregern wie *Bordetella bronchiseptica* und *Pasteurella multocida* (Francisco et al. 1996) oder *Actinobacillus pleuropneumoniae* Serotyp 1 und 5 (Hall et al. 1992) konnte festgestellt werden, dass Haptoglobin zwar unspezifisch, jedoch signifikant die Infektion vor dem Auftreten klinischer Symptome anzeigt. Des Weiteren wird eine Beteiligung am Stressgeschehen in vielen Studien diskutiert (Eurell et al. 1992; Francisco et al. 1996; Deak et al. 1997; Hicks et al. 1998; Gymnich et al. 2001).

Einfluss des Absetzens:

Die Ergebnisse zeigten in der Zusammenfassung beider Durchgänge Unterschiede zwischen früh und spät abgesetzten Ferkeln an allen Tagen außer an Tag 42 (siehe Abbildung 18). Die Werte beider Gruppen stiegen eine Woche nach dem jeweiligen Absetztermin signifikant an und fielen danach wieder ab oder blieben auf diesem Niveau. Besonders deutlich wurde dies bei den spät abgesetzten Ferkeln, die diesen Anstieg auch in beiden Immunisierungsgruppen des 3. Durchgangs (siehe Abb. 16 und 17), sowie bei der spät immunisierten Gruppe des 2. Durchgangs (siehe Abb. 15) zeigten. Dies lässt darauf schließen, dass die Haptoglobinplasmakonzentrationen beim Ferkel durch das Absetzen beeinflusst werden. Auch Eurell (1992) konnte einen Anstieg der Haptoglobinwerte nach dem Absetzen von drei Wochen alten Ferkeln feststellen. Ein anderer beeinflussender Faktor könnte das Alter der Ferkel sein. In einer Studie von Richter (1973), verdoppelte sich der Hp-Gehalt im Plasma 2-3 Tage p.n. und noch einmal bis zum Alter von 2-3 Wochen. Danach konnten aber keine Unterschiede der Haptoglobinkonzentrationen zwischen Absetzferkeln und Mast- bzw. Zuchttieren mehr festgestellt werden. Da unsere Untersuchungen an Ferkeln im Alter von 6-13 Wochen stattfanden, können altersbedingte Schwankungen wahrscheinlich ausgeschlossen werden. Der Anstieg der Haptoglobinwerte nach dem Absetzen spricht somit eher für eine direkte Reaktion der Werte auf den damit verbundenen Stress.

Einfluss der Immunisierung:

Konzentriert man sich auf die Immunisierung bzw. die Boosterung der Ferkel bietet sich ein anderes Bild. Bei den Blutentnahmen, die einer Immunisierung bzw. Boosterung ohne gleichzeitiges Absetzen folgten, konnte kein Anstieg des Hp-Wertes beobachtet werden (siehe Abb. 14-17). Im Gegenteil, bei den spät abgesetzten Tieren des 3. Durchgangs sanken die Haptoglobinkonzentrationen an zweien dieser Tage sogar (siehe Abb. 16 und 17). Die Immunisierung bedeutet für das Ferkel einen akuten Stressor, zum einen durch das Fangen und Fixieren des Tieres, zum anderen durch Gewebstrauma, Injektion von Adjuvans und Antigen durch die Impfung selbst, auf das natürlicherweise eine Akute Phase Reaktion folgt. Viele andere Autoren belegten die Reaktion der APP auf Stress in ihren Studien (Richter 1975; Lampreave et al. 1994; Deak et al. 1997). Es ist also wahrscheinlich, dass eine Reaktion stattgefunden hat, die aber aufgrund des langen Zeitraums (sieben Tage) bis zur nächsten Blutentnahme nicht erfasst werden konnte. Die Halbwertszeit für Haptoglobin beim Schwein wird bei Hall et al. (1992) mit 2 bis 4 Tage angegeben.

5.2. Verhaltensbeobachtungen

5.2.1 Videobeobachtung

Die Videoaufzeichnungen beider Gruppen fanden am Tag 2 vor dem Absetzen, sowie an den Tagen 1 und 2 nach dem Absetzen statt. Bei den spät abgesetzten Gruppen wurde zusätzlich an Tag 40 p.n. gefilmt, was dem Tag 2 vor Absetzen bei den früh abgesetzten entspricht. Zu diesem Zeitpunkt gab es noch keine Versuchsunterschiede. Die Videobeobachtung an diesem Kontrolltag ergab keine signifikanten Unterschiede in den beobachteten Verhaltensmerkmalen, so dass man von einer Vergleichbarkeit der später gewonnenen Daten ausgehen kann (Abb. 19). Die signifikant niedrigeren Zahlen des errechneten Verhaltensmerkmals „außer Sicht“ an Tag 40 p.n. im Vergleich zu Tag 61 p.n. sind durch die schlechtere Identifizierbarkeit der 3 Wochen älteren, und damit größeren Ferkel beim Kontaktliegen im Ferkelnest zu erklären.

Die signifikant höheren Werte für das Merkmal „Fressen“ an Tag 61 p.n. der spät abgesetzten Ferkel im Vergleich zu denen an Tag 40 p.n. sind sicherlich größtenteils durch die natürliche Entwicklung der Ferkel und den damit verbundenen Anstieg der Festfutteraufnahme zu erklären. Die Menge des durchschnittlich aufgenommenen Futters bei

Saugferkeln ist bis zum Alter von ca. 5 Wochen gering und steigt dann graduell an (Boe 1991).

Auch das Lichtregime kann Einfluss auf die Futteraufnahme nehmen. Eine verlängerte Photoperiode (23 Stunden Licht) erhöhte die durchschnittliche tägliche Futteraufnahme bei Ferkeln im Gegensatz zur Kontrollgruppe mit 8 Stunden Licht signifikant (Bruininx et al. 2002). Für diese Arbeit wurde kein Lichtregime verwendet. Der maximale Unterschied der Tageslichtlänge innerhalb von 21 Tagen beträgt 1,5 Stunden. Der maximale Unterschied zwischen Sommer und Winter 9,41 Stunden. Diese natürlichen Schwankungen sind deutlich geringer als die in den künstlich erzeugten Lichtverhältnissen der oben genannten Arbeit. Ein Einfluss der Tageslichtlänge auf die Futteraufnahme kann daher in unserem Versuch ausgeschlossen werden. Die parallel zum Anstieg der Festfutteraufnahme sinkende Anzahl an Saugakten, wenn auch nicht signifikant, deckt sich mit den Untersuchungen von Boe (1991), und ist durch den Umstrukturierungsprozess der Nahrungsaufnahme während des Heranwachsens der Ferkel zu erwarten.

Der Tag 1 nach dem Absetzen unterschied sich am deutlichsten von den andern Tagen (siehe Abb. 20). In beiden Gruppen konnten weniger Spielaktionen als an allen anderen Tagen, beobachtet werden. Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant. Ein Mangel an Spieltrieb ist ein Indikator für Stress (Dybkaer et al. 1998).

Die Werte für „Kontaktliegen“ stiegen bei den früh abgesetzten Ferkeln signifikant an. Diese Ergebnisse gehen konform mit denen einer anderen Studie zum Absetzverhalten von Ferkeln, in der die Tiere im Alter von 28 Tagen sowohl am Tag des Absetzens sowie einen Tag danach mehr in direktem Körperkontakt lagen als die nicht abgesetzte Kontrollgruppe (Colson et al. 2006). Das Kontaktliegen bietet für die Ferkel zum einen eine Möglichkeit der sozialen Interaktion, andererseits ist es eine effektive Maßnahme zur Wärmezeugung und deren Speicherung (van Putten 1978). Beim Saugen liegen die Ferkel zwangsläufig sehr eng aneinander. Durch das Entfernen der Sau fehlt ihnen neben der Milchaufnahme auch diese Zeit des „gezwungenen“ Kontaktliegens. Möglicherweise dient die Erhöhung des „freiwilligen“ Kontaktliegens nach dem Absetzen der Kompensation.

Die geringere Steigerung (nicht signifikant) des Kontaktliegens nach dem Absetzen bei den spät abgesetzten Gruppen könnte auf eine, dem höheren Alter entsprechende, bessere Thermoregulation zurückzuführen sein (van Putten 1978). Dagegen spricht, dass die Werte in beiden Gruppen bereits an Tag 2 nach dem Absetzen wieder sinken. Eine andere Möglichkeit wäre, dass die spät abgesetzten Ferkel, dem höheren Alter entsprechend, eine bereits stärker ausgeprägte Unabhängigkeit von der Sau zeigen. So verbrachten Ferkel unterschiedlicher Sauen, denen ein gemeinsamer Bereich zur Verfügung stand, mit zunehmendem Alter mehr Zeit in diesem, den Sauen nicht zugänglichen,

Gemeinschaftsbereich. Gleichzeitig wurden sie signifikant weniger gesäugt, vor allem in späteren Laktationsstadien (Weary et al. 1999).

Das signifikant gesteigerte Erkundungsverhalten der spät abgesetzten Ferkel nach dem Absetzen geht einher mit einer signifikant geringeren Lokomotionsrate. Grund dafür könnte eine eingehendere Beschäftigung mit einzelnen Objekten, sowie eine stärkere Individualisierung der älteren Ferkel sein, da Bewegungsaktionen meistens gruppenspezifisch stattfanden. Verminderte Aktivitätsbereitschaft kann jedoch auch ein Zeichen von chronischem Stress sein (Pistovcakova et al. 2005). Dagegen spricht, dass die früh abgesetzten Tiere beim Merkmal „Erkunden“ nur tendenziell höhere Werte zeigten, bei der Lokomotion gab es gar keine Unterschiede.

Bemerkenswert ist, dass es bei keiner der beiden Gruppen zu einer erhöhten Kampfbereitschaft nach dem Absetzen kam. Dies könnte durch das Versuchsdesign erklärbar sein, da die Ferkel nach dem Absetzen sowohl in ihrer Säugebucht als auch in ihrem Gruppenverband belassen wurden. Andere Arbeiten stützen diese Vermutung. So konnte Weary (1999) nachweisen, dass Ferkel die sich schon vor dem Absetzen kannten, beim Absetzen signifikant weniger aggressives Verhalten zeigten, als neu zusammengeführte Tiere. Bei Ferkeln die nach dem Absetzen in ihrer Säugebucht belassen wurden, konnten weniger durch andere Ferkel verursachte Verletzungen an Bauch und Schwanz festgestellt werden, als bei denen die nach dem Absetzen in ein Flatdeck verbracht wurden (Boe 1993).

5.2.2 Direktbeobachtung

Die Direktbeobachtung im Aufzuchtstall war ausgelegt auf die Erfassung aggressiven Verhaltens der Ferkel untereinander. Mögliche Folgen des aggressiven Verhaltens in Form von Verletzungen der Ferkel wurden per Beurteilung des Integuments erfasst. Es wurden folgende Verhaltensweisen beobachtet und kategorisiert: Wangenkampf, Aufreiten und Ohr- und Schwanzbeißen.

Oft ist es nicht leicht erkennbar, ob eine dieser Verhaltensweisen ernst oder nur spielerisch gemeint ist, zumal sich die Motivationen während des Spielens ändern können (van Putten 1978). Deshalb wurde eine zeitliche Unterteilung in Kontakte unter 5 Sekunden und über 5 Sekunden vorgenommen. Die Überlegung war, dass kurze Kontakte als Spiel, lange Kontakte als Aggression gewertet werden können. Die Ergebnisse zeigen, dass die kurzen Kontakte mit 125 bei den früh abgesetzten Ferkeln und 225 bei den spät abgesetzten gegenüber den langen Kontakten mit 31 bei den früh abgesetzten bzw. 50 bei den spät abgesetzten Gruppen deutlich in der Überzahl sind. Eine Differenzierung gestaltet sich allein

durch die Zeiteinteilung recht schwierig, eine Hilfe gibt daher die Beurteilung des Integuments der Ferkel, an dem man die durch Aggression entstandenen Schäden besser beurteilen kann.

Insgesamt fiel die sehr geringe Anzahl an Verletzungen bei den Ferkeln positiv auf. Die vorhandenen Verletzungen waren vorwiegend Schrammen, die gleichmäßig über den gesamten Körper verteilt waren. So kommen als Ursache nicht nur der direkte Kampf, bzw. Spiel mit anderen Ferkeln in Frage, sondern auch Aktionen ohne die direkte Beteiligung von anderen Ferkeln (z.B. Technopathien durch Stalleinrichtungsgegenstände, Hinfallen während der Bewegung oder Ähnliches). Dennoch wiesen die spät abgesetzten Ferkel (35 verletzte Ferkel von insgesamt 202) eine signifikant höhere Verletzungsquote als die früh abgesetzten (13 verletzte Ferkel von insgesamt 190) auf. Die Anzahl der Angriffe unterschied sich zwischen den beiden Absetzgruppen jedoch nicht. Eine mögliche Ursache für diese Diskrepanz könnte eine größere Ernsthaftigkeit der Einzelangriffe bei den spät abgesetzten Ferkeln sein. Die Ergebnisse einer Studie von Colson (2006), in der an Tag 28 abgesetzte Ferkel nach dem Absetzen eine höhere Aggressivität zeigten als an Tag 21 abgesetzte Tiere, legen eine solche Vermutung nahe. Ein anderer denkbarer Grund ist, dass die Ferkel bereits drei Wochen älter waren als die der früh abgesetzten Gruppen, und sowohl ältere, noch nicht verheilte Verletzungen, als auch neu dazu gekommene aufwiesen. Eine Einteilung der Wunden diesbezüglich wurde nicht vorgenommen.

Die höhere Anzahl an Angriffen gegen Buchtgenossen in beiden Absetzgruppen erklärt sich daraus, dass in den meisten Fällen 3 Würfe eine Säugegruppe bildeten und somit ca. doppelt so viele Buchtgenossen wie Wurfgeschwister vorhanden waren. Setzt man die ermittelten Werte ins Verhältnis gab es keine Unterschiede in der Anzahl der Angriffe gegen Wurfgeschwister beziehungsweise gegen Buchtgenossen. Dies geht konform mit den Ergebnissen einer Studie von Puppe (1998). Im Gegensatz zu Berichten bei anderen Spezies, z.B. Mäusen (Kareem und Barnard 1982), scheint es bei Schweinen keine a priori Verwandtenerkennung zu geben; die agonistischen Beziehungen zu anderen Individuen scheinen eher auf erlernter Bekanntschaft zu beruhen.

Die geringe Verletzungsquote der Ferkel und die insgesamt geringe Bereitschaft zur Aggression in beiden Gruppen decken sich mit den Ergebnissen anderer Arbeiten. Aggression kann immer dann auftreten, wenn bestehende Sozialverbände aufgelöst und neu gemischt werden. Ferkel, die nach dem Absetzen sowohl in ihrem Sozialverband als auch in ihrer Bucht belassen werden, zeigen wenig aggressives Verhalten (Ekkel et al. 1995; Puppe et al. 1997). Ferkel, die während der Säugeperiode Zugang zu anderen Buchten hatten, sind weniger aggressiv als konventionell aufgezogene Ferkel (Petersen et al. 1989). Jüngere Ferkel bilden soziale Hierarchien schneller und insgesamt friedlicher aus. Das beste Alter um fremde Ferkel zusammen zu führen scheint bei 5-12 Tagen zu liegen (D'Eath 2005).

5.3 Schlussfolgerungen

Die Interpretation der Cortisolwerte bleibt aufgrund eventueller Verschiebungen des Sekretionsrhythmus, sowie der signifikanten Unterschiede der beiden Absetzgruppen an Tag 42 schwierig. Eine Reaktion der Werte auf den Stressor „Absetzen“ war nicht deutlich ersichtlich.

Auch beim Corticosteron gab es diese Unterschiede in der Ausgangssituation der beiden Gruppen. Ein Absinken der Corticosteronwerte im zeitlichen Verlauf war ähnlich wie beim Cortisol zu beobachten. Viele der Corticosteronwerte lagen außerdem unter der Nachweisgrenze von 1 nmol/l Plasma. Einen Einfluss des Absetzens auf die Corticosteronkonzentrationen scheint es in dem von uns gewählten Zeitrahmen nicht zu geben. Nachfolgende Arbeiten sollten die Probenintervalle eventuell kürzer wählen, um eine Reaktion zu erfassen.

Der Anstieg der Histaminwerte an den Blutentnahmen nach den Stressoren (Absetzen und/oder Immunisierung) deutet auf einen Einfluss dieser auf die Plasmakonzentrationen hin. Bei der isolierten Betrachtung eines einzelnen Stressors konnte jedoch kein eindeutiger Einfluss herausgestellt werden. Somit scheint der Histaminwert vor allem auf die Kombination von verschiedenen Stressoren zu reagieren, wahrscheinlich ist der Anstieg größtenteils auf die durch die Immunisierung in Gang gesetzte Immunreaktion zurückzuführen. Wie bei Aschenbach et al. (2003; 2006) sowie bei Lorenz (1973) beschrieben, ist die Ausschüttung von Histamin durch viele nicht stressbedingte und auch nicht unbedingt sichtbare Faktoren (Antigene, Neuropeptide, physikalische Faktoren) beeinflussbar.

Von den Blutparametern scheint Haptoglobin am ehesten geeignet einen möglichen Absetzstress zu beurteilen. Bei diesem Parameter kam es am Blutentnahmetag nach dem Absetzen in beiden Absetzgruppen zu einer signifikanten Erhöhung der Konzentrationen im Plasma. Ein altersbedingter Anstieg ist unwahrscheinlich, andere Autoren konnten bei ab 2-3 Wochen bzw. 10 Wochen alten Tieren keine Unterschiede finden (Richter 1975; Diepers 1998).

Die Ergebnisse der Videobeobachtung zeigen ein verändertes Verhalten der Ferkel vor allem am ersten Tag nach dem Absetzen. Die Tiere spielten und bewegten sich weniger, dafür nahm sowohl das Erkundungsverhalten, als auch das Kontaktliegen zu. Dies deutet daraufhin, dass eine gewisse Zeit der Umorientierung auf die veränderten Lebensbedingungen stattfindet, bzw. das Entfernen des Muttertiers vom Ferkel als Stress empfunden wird. Die signifikant höheren Werte für Kontaktliegen der früh abgesetzten Tiere

nach Absetzen könnten Ausdruck einer stärkeren Reaktion der jüngeren Ferkel auf diesen Stressor sein.

Die Unterschiede sind aber in beiden Gruppen bereits am Tag 2 nach dem Absetzen weniger gravierend, was darauf hindeutet, dass die Ferkel schnell in der Lage sind sich an die veränderten Haltungsbedingungen anzupassen und den eventuell auftretenden Stress gut kompensieren können. Für eine schnelle Kompensation sprechen auch die Ergebnisse der erhobenen Blutwerte, bei denen eine Woche nach Absetzen, bei den Parametern Cortisol, Corticosteron und Histamin kein eindeutiger Einfluss des Absetzens mehr erkennbar war.

Die geringe Anzahl an Angriffen und die sehr geringe Verletzungsquote bei der Direktbeobachtung lassen vermuten, dass die vom Absetzen entkoppelte Umstellung der Ferkel entweder keinen Stress bei den Tieren auslöst, oder dass die Eingewöhnung zum Zeitpunkt der Beobachtung bereits abgeschlossen war.

Zwischen den beiden Gruppen (frühes Absetzen an Tag 42 und spätes Absetzen an Tag 63) konnten bei keinem der untersuchten Parameter Unterschiede gefunden werden, die auf ein erhöhtes Stressgeschehen bei den spät abgesetzten Ferkeln schließen lassen.

6. Zusammenfassung

Im ökologischen Landbau treten trotz verlängerter Säugezeit häufig Ferkelverluste und Durchfälle nach dem Absetzen auf. Die möglichen Ursachen dafür sind vielfältig und bisher wenig untersucht. Neben pathologischen und hygienischen Faktoren, kommt auch der Stress beim Absetzen als Auslöser in Frage. Das Ziel dieser Arbeit war es daher, mögliche Unterschiede im Stressgeschehen zwischen an Tag 42 bzw. an Tag 63 p.n. abgesetzten Ferkeln in ökologischer Haltung herauszustellen und zu prüfen ob eine Verlängerung der gesetzlich vorgeschriebenen Mindestsäugezeit von 40 Tagen sinnvoll wäre.

In einem Projekt mit 44 Jungsauen wurden deren Ferkel aus zwei Durchgängen in eine Versuchsgruppe mit einer verlängerten Säugezeit von 63 Tagen und eine Kontrollgruppe mit einer Säugezeit von 42 Tagen eingeteilt.

Für die Erhebung der Daten zum Stressgeschehen während des Absetzens wurde eine Kombination aus physiologischen und ethologischen Parameter gewählt. Der physiologische Teil bestand aus der Untersuchung der Blutplasmaparameter Cortisol, Corticosteron, Histamin und Haptoglobin. Blutproben wurden an den Tagen 42, 49, 63, 70, 84 und 91 p.n. genommen und mittels HPLC (Cortisol, Corticosteron und Histamin) bzw. einem kommerziellen Testkit (Haptoglobin), analysiert. Weiterhin erfolgte eine Videobeobachtung der Ferkel zwei Tage vor, sowie ein und zwei Tage nach dem Absetzen in den Gruppensäugebuchten. Die von der Trennung des Muttertiers gesondert erfolgte Umstallung in den Aufzuchtstall wurde durch die Direktbeobachtung erfasst. Nach einer zweitägigen Eingewöhnungszeit im neuen Stall wurden die Ferkel zwei Stunden lang in einem Aktivitätszeitraum hinsichtlich ihrer Aggressivität gegenüber anderen Ferkeln beobachtet. Die erhobenen Daten sollten einen umfassenden Einblick in das Stressgeschehen der Ferkel nach dem Absetzen gewährleisten.

Die Auswertung der Blutparameter erbrachte kein einheitliches Bild. Zusammenfassend konnte herausgestellt werden, dass beide Absetzgruppen Anzeichen von Stress beim Absetzen zeigten, besonders deutlich wurde dies beim Parameter Haptoglobin, welches an den Blutentnahmen nach dem Absetzen in beiden Gruppen signifikant erhöht war. Bei Cortisol und Histamin konnte kein eindeutiger Einfluss des Absetzens herausgestellt werden. Corticosteron scheint als Stressparameter beim Schwein unter unseren Versuchsbedingungen eher nicht geeignet, da viele Werte unterhalb der Nachweisgrenze lagen.

Die Ergebnisse der Videobeobachtung zeigten vor allem am ersten Tag nach dem Absetzen milde Anzeichen von Stress bei den Ferkeln. Sie spielten und bewegten sich weniger und lagen dafür mehr in Haufenbildung. Zu Tag 2 normalisierte sich das Verhalten aber schon wieder. Während der Direktbeobachtung konnten keine Anzeichen von Stress festgestellt werden, die Aggressivität war insgesamt sehr gering, genauso wie die Verletzungsquote.

Weder bei den physiologischen noch bei den ethologischen Parametern konnte ein signifikanter Unterschied im Stressgeschehen zwischen der Kontrollgruppe und der Gruppe mit verlängerter Säugezeit festgestellt werden. Anhand unserer Ergebnisse scheint es keinen Grund zu geben die Säugezeit ökologisch aufgezogener Ferkel über die gesetzliche Vorgabe hinaus zu verlängern.

7. Summary

Organic piglet farming is facing problems like increased piglet losses and diarrhoea after weaning. In addition to hygienic and pathological factors weaning stress is a possible cause for these problems. The aim of this study was to assess possible differences in stress reactions between piglets weaned early on day 42 p.n. and late on day 63 p.n. in organic farming and to investigate if an elongation of the statutory minimal suckling period of 40 days would be reasonable.

The project used 44 gilts, whose piglets of two consecutive litters were allotted to an experimental group with a prolonged suckling period of 63 days and a control group with a suckling period of 42 days.

A combination of physiological and ethological parameters was used to determine the stress level of the piglets during weaning. The plasma parameters Cortisol, Corticosterone, Histamine and Haptoglobin were examined. Blood samples were collected on days 42, 49, 63, 70, 84 and 91 p.n. and analyzed via the HPLC method (Cortisol, Corticosterone and histamine) and by using a commercial test kit (Haptoglobin). Furthermore the piglets were videotaped two days prior to as well as one and two days after weaning. Relocation to breeding pens was done subsequently from separation from the dam and accompanied by direct observation. After a two-day acclimatization period the piglets were observed over a period of 2 hours during an activity period with regards to aggressive behaviour. The collected data should provide comprehensive insights into the stress levels of piglets after weaning.

The analyzed blood data were ambiguous. Altogether we found that both weaning groups did show signs of stress during weaning. Most obvious were the changes in Haptoglobin concentration, which increased significantly after weaning in both groups. A definite influence of weaning on Cortisol and Histamine concentrations was not found. Under our experimental conditions Corticosterone seems to be unsuitable for diagnosing stress in pigs, because a large amount of evaluated data was below detection limit.

The video observation results showed light levels of stress especially on the first day after weaning. The piglets played and moved around less and spent more time lying in cohesion instead. On the second day behaviour slowly returned to normal. During the direct observation no stress symptoms could be observed, the aggression level as well as the injury rate was very low.

Neither the physiological nor the ethological parameters gave evidence of differences between stress reactions in both the control group and the experimental group. In conclusion, our results suggest that there is no reason for an elongation of the suckling period beyond the statutory minimum of 40 days.

8. Literaturverzeichnis

Agerso H, Friis C, Nielsen JP (1998). Penetration of amoxicillin to the respiratory tract tissues and secretions in *Actinobacillus pleuropneumoniae* infected pigs. *Research in Veterinary Science* 64: 251-257.

Alsemgeest SP, Kalsbeek HC, Wensing T, Koeman JP, Van Ederen AM, Gruys E (1994). Concentration of serum amyloid-A (SAA) and haptoglobin (HP) as parameters of inflammatory disease in cattle. *Veterinary Quarterly* 16: 21-23.

Alsemgeest SP, Van't Klooster GA, Van Miert AS, Hulskamp-Koch CK, Gruys E (1996). Primary bovine hepatocytes in the study of cytokine induced acute-phase protein secretion in vitro. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 53: 179-184.

Alsemgeest SPM, Lambooy IE, Wierenga HK, Dieleman SJ, Meerkerk B, Vanederen AM, Niewold TA (1995). Influence of physical stress on the plasma concentration of serum amyloid-A (SAA) and Haptoglobin (HP) in calves. *Veterinary Quarterly* 17(1): 9-12.

Amory JR, Mackenzie AM, Eckersall PD, Stear MJ, Pearce GP (2007). Influence of rearing conditions and respiratory disease on haptoglobin levels in the pig at slaughter. *Veterinary Science* 83: 428-435.

Asai T, Mori M, Okada M, Uruno K, Yazawa S, Shibata I (1999). Elevated serum-haptoglobin in pigs infected with porcine reproductive-and-respiratory-syndrome virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 70: 143-148.

Aschenbach JR, Seidler T, Ahrens F, Schrodler W, Buchholz I, Garz B, Kruger M, Gabel G (2003). Luminal salmonella endotoxin affects epithelial and mast cell function in the proximal colon of pigs. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 38(7): 719-726.

Aschenbach JR, Roesler U, Gottschalk J, Ahrens F, Hensel A, Gaebel G (2006). Influence of transportation, subclinical Salmonella infection and slaughter on plasma histamine level of pigs. *Journal of Food Agriculture & Environment* 4(3-4): 84-89.

Bachert C (2002). The role of histamine in allergic disease: re-appraisal of its inflammatory potential. *Allergy* 57(4): 287-296.

Barth H, Lorenz W (1978). Structural requirements of imidazol compounds to be inhibitors or activators of Histamine-methyltransferase – Investigation of Histamine analogs and H2-receptor antagonists. *Agents and Actions* 8(4): 359-365.

Bauer O, Razin E (2000). Mast cell - nerve interactions. *News in Physiological Science* 15: 213-218.

Baumann H, Gaudi J (1994). The acute phase response. *Immunology Today* 15: 74-80.

Berlyne DE (1960). Conflict, arousal and curiosity. McGraw Hill Book Company, New York. ISBN: 0070048754

Black PH, Garbutt LD (2002). Stress, inflammation and cardiovascular disease. *Journal of Psychosomatic Research* 52(1): 1-23.

Boe K (1991). The process of weaning in pigs: when the sow decides. *Applied Animal Behaviour Science* 30: 47-59.

Boe K (1993). The effect of age at weaning and post-weaning environment on the behavior of pigs. *Acta Agriculturae Scandinavica Section a-Animal Science* 43(3): 173-180.

Bohus B, Koolhaas JM, Nyakas C, Steffens AB, Fokkema DS, Scheurink AJW (1987). Physiology of Stress: A Behavioural View. CEC programme of coordination research on animal welfare. P. R. Wiepkema and P. W. M. van Adrichem. Oosterbeek, The Netherlands, Martinus Nijhoff Publishers: 55-70.

Bottoms GD, Akins EL, Rausch FD, Roesel OF (1972). Circadian variation in plasma Cortisol and Corticosterone in pigs and mares. *American Journal of Veterinary Research* 33(4): 785-786.

Broom DM (1988). The scientific assessment of animal welfare. *Applied Animal Behaviour Science* 20: 5-19.

Broom DM, Johnson KG (1993). Stress and Animal Welfare. Chapman & Hall Animal Behaviour Series. Springer, Netherlands. ISBN: 0412395800

Bruininx E, Heetkamp MJW, van den Bogaart A, van der Peet-Schwering CMC, Beynen AC, Everts H, den Hartog LA, Schrama JW (2002). A prolonged photoperiod improves feed intake and energy metabolism of weanling pigs. *Journal of Animal Science* 80(7): 1736-1745.

Cannon WB (1935). Stresses and strains of homeostasis. *American Journal of the Medical Sciences* 189: 1-14.

Cauchy A-L (1827). De la pression ou tension dans un corp solide. *Exercices de Mathématiques* 2: 42.

Charmandari E, Tsigos C, Chrousos G (2005). Endocrinology of the stress response. *Annual Review of Physiology* 67: 259-284.

- Cho CH, Koo MWL, Garg GP, Ogle CW (1992).** Stress-induced gastric ulceration: its aetiology and clinical implications. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 27: 257-262.
- Chrousos GP (1998).** Stressors, stress, and neuroendocrine integration of the adaptive response - The 1997 Hans Selye Memorial Lecture. *Stress of Life* 851: 311-335.
- Church MK, Lowman MA, Rees PH, Benyon RC (1987).** Neuropeptides and the pathogenesis of allergy. *The Japanese Journal of Pharmacology* 42: 1-11.
- Colson V, Orgeur P, Foury A, Mormede P (2006).** Consequences of weaning piglets at 21 and 28 days on growth, behaviour and hormonal responses. *Applied Animal Behaviour Science* 98(1-2): 70-88.
- Cook DM, Kendall JW, Greer MA, Kramer RM (1973).** EFFECT OF ACUTE OR CHRONIC ETHER STRESS ON PLASMA ACTH CONCENTRATION IN RAT. *Endocrinology* 93(5): 1019-1024.
- Cooper LV, Harvey DR, Davis JA (1969).** Plasma histamine levels during the first week of life." *Archive of Disease in Childhood* 44: 487-489.
- D'Eath RB (2005).** Socialising piglets before weaning improves social hierarchy formation when pigs are mixed post-weaning. *Applied Animal Behaviour Science* 93: 199-211.
- Dale HH, Laidlaw PP (1910).** The physiological action of beta-aminazolyethylamine. *Journal of Physiology-London* 41(5): 318-344.
- Dalin AM, Magnusson U, Haggendal J, Nyberg L (1993).** The effect of transport stress on plasma levels of catecholamines, cortisol, corticoid binding globulin, blood cell count and lymphocyte proliferation in pigs. *Acta Veterinaria Scandinavica* 34: 59-68.
- de Groot J, de Jong IC, Prella IT, Koolhaas JM (2000).** Immunity in barren and enriched housed pigs differing in baseline cortisol concentration. *Physiology & Behavior* 71(3-4): 217-223.
- de Jong I, Prella I, van de Burgwal J, Lambooji E, Korte S, Blokhuis H, Koolhaas JM (2000).** Effects of environmental enrichment on behavioral responses to novelty, learning, and memory, and the circadian rhythm in cortisol in growing pigs. *Physiology & Behavior* 68(February): 571-578.
- de Kloet ER, Joels M, Holsboer F (2005).** Stress and the brain: From adaptation to disease. *Nature Reviews Neuroscience* 6(6): 463-475.
- Deak T, Meriwether JL, Fleshner M, Spencer RL, Abouhamze A, Moldawer LL, Grahn RE, Watkins LR, Maier SF (1997).** Evidence that brief stress may induce the acute phase response in rats. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 273: 1998-2004.

Diener M (2005). Vegetatives Nervensystem. In: von Engelhardt W und Breves G (Hrsg.). Physiologie der Haustiere, 2. Aufl. Enke Verlag, Stuttgart: 102-111. ISBN: 3830410395.

Diepers N (1998). Einflussfaktoren auf die Konzentration von Entzündungsmarkern beim wachsenden Schwein. Dissertation. Giessen, Justus-Liebig-Universität.

Dybkjaer L, Paisley LG, Vraa-Andersen L, Christensen G (1998). Associations between behavioural indicators of 'stress' in weaner pigs and respiratory lesions at slaughter. Preventive Veterinary Medicine 34(2-3): 175-190.

Eckersall PD (2000). Acute phase proteins as markers of infection and inflammation: monitoring animal health, animal welfare and food safety. Irish Veterinary Journal 53: 307–311.

Eckel ED, van Doorn CE, Hessing MJ, Tielen MJ (1995). The specific-stress-free housing system has positive effects on productivity, health and welfare of pigs. Journal of Animal Science 73: 1544-1551.

Elenkov IJ, Chrousos GP (2006). Stress system - Organization, physiology and immunoregulation. Neuroimmunomodulation 13(5-6): 257-267.

Ellendorf F, Forsling ML, Poulain DA (1982). The milk ejection reflex in the pig. Journal of Physiology 333: 577-594.

Eurell TE, Bane DP, Hall WF, Schaeffer DJ (1992). Serum haptoglobin concentration as an indicator of weight gain in pigs. Canadian Journal of Veterinary Research 56: 6-9.

Eustis AC (1915). The detoxicating effect of the liver of *Carthartes aura* upon solutions of β -imidazoleethylamin. Biochemical Bulletin, New York. 4: 97-99.

Evans FD, Christopherson RJ, Aherne FX (1988). Development of the circadian rhythm of Cortisol in the gilt from weaning until puberty. Canadian Journal of Animal Science 68(4): 1105-1111.

Francisco CJ, Bane DP, Weigel RM, Unverzagt L (1996). The influence of pen density, weaning age and feeder space on serum-haptoglobin concentration in young growing swine. Swine Health Production 4: 67-71.

Franek SP, Bilkei G (2004). Influence of non-confinement rearing under high infectious pressure for *Mycoplasma hyopneumoniae*: pig performance, acute phase proteins and cortisol assessment. Acta Veterinaria Brunensis 73: 335-340.

Fraser D (1980). A review of the behavioural mechanism of milk ejection of the domestic pig. Applied Animal Ethology 6: 247-255.

Fraser D, Milligan BN, Pajor EA, Phillips PA, Taylor AA, Weary DM (1998). Behavioural perspectives on weaning in domestic pigs. In: Wiseman J, Varley MA and Chadwick JP. Progress in Pig Science. Nottingham University Press, Nottingham: 121–140. ISBN: 9781897676264.

Freeman BM (1987). The stress syndrome. World's Poultry Science 43: 15-19.

Gallagher NL, Giles LR, Wynn PC (2002). The development of a circadian pattern of salivary cortisol secretion in the neonatal piglet. Biology of the Neonate 81(2): 113-118.

Gottwald T, Coerper S, Schaeffer M, Koeveker G, Stead RH (1998). The mast cell-nerve axis in wound healing: A hypothesis. Wound Repair and Regeneration 6(1): 8-20.

Graessler J, Kvetnansky R, Jezova D, Dobrakovova M, Vanloon GR (1989). Prior immobilization stress alters adrenal-hormone responses to hemorrhage in rats. American Journal of Physiology 257(3): R661-R667.

Griffin JFT (1989). Stress and immunity – a unifying concept. Veterinary Immunology and Immunopathology 20(3): 263-312.

Griffith MK, Minton JE (1991). Free-running rhythms of adrenocorticotrophic hormone (ACTH), Cortisol and Melatonin in pigs. Domestic Animal Endocrinology 8(2): 201-208.

Gundlach H (1968). Brutfürsorge, Brutpflege, Verhaltensontogenese und Tagesperiodik beim europäischen Wildschwein. Zeitschrift für Tierpsychologie 25: 955-995.

Gymnich S, Lipperheide C, Wimmers K, Bidlingmaier M, Schellander K, Petersen B (2001). Effect of transport stress on plasma haptoglobin concentration in pigs. Second European Colloquium on Acute Phase Proteins, Bonn, 11th-13th May 2001.

Hall WF, Eurell TE, Hansen TE, Herr WF (1992). Serum haptoglobin concentration in swine naturally or experimental infected with Actinobacillus pleuropneumoniae. Journal of the American Veterinary Medical Association 201: 1730-1733.

Heegaard PMH, Klausen J, Nielsen JP, González-Ramón N, Pineiro A, Lampreave F, Alava MA (1998). The porcine acute phase response to infection with Actinobacillus pleuropneumoniae, Haptoglobin, C-reactive protein, major acute phase protein and serum amyloid A protein are sensitive indicators of infection. Comparative Biochemistry and Physiology 119B: 365-373.

Heinrich PC, Castell JV, Andus T (1990). Interleukin-6 and the acute phase response."Biochemical Journal 265: 621-636.

Hicks TA, McGlone JJ, Whisnant CS, Kattesh HG, Norman RL (1998). Behavioural, endocrine, immune and performance measures for pigs exposed to acute stress. *Journal of Animal Science* 76: 474-483.

Hofstra CL, Desai PJ, Thurmond RL, Fung-Leung WP (2003). Histamine H-4 receptor mediates chemotaxis and calcium mobilization of mast cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 305(3): 1212-1221.

Huang Z, Mochizuki T, Watanabe H, Kagoshima M, Maeyama K (1998). Biphasic elevation of plasma histamine induced by water immersion stress, and their sources in rats. *European Journal of Pharmacology* 360: 139–146.

Huang Z, Mochizuki T, Watanabe H, Maeyama K (1999). Histamine release induced by immobilization, gentle handling and decapitation from mast cells and its inhibition by nedocromil in rats. *Japanese Journal of Pharmacology* 80: 255-262.

Janssens C, Helmond FA, Wiegant VM (1995). The effect of chronic stress on plasma-cortisol concentrations in cyclic female pigs depends on the time of day. *Domestic Animal Endocrinology* 12(2): 167-177.

Jensen P (1980). An ethogram of social interaction patterns in group-housed dry sows. *Applied Animal Ethology* 6: 341-350.

Jensen P (1982). An analysis of agonistic interaction patterns in group housed dry sows – aggression regulation through an „avoidance order“. *Applied Animal Ethology* 9: 47-61.

Jensen P, Recen B (1989). When to wean – observations from free-ranging domestic pigs. *Applied Animal Behaviour Science* 23(1-2): 49-60.

Joos GF, Kips JC, Pauwels RA (1994). In vivo characterization of the tachykinin receptors involved in the direct and indirect bronchoconstrictor effect of tachykinins in two inbred rat strains. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 149: 1160-1166.

Jungersen G, Jensen L, Riber U, Heegaard PMH, Petersen E, Poulsen JSD, Bille-Hansen V, Lind P (1999). Pathogenicity of selected *Toxoplasma gondii* isolates in young pigs. *International Journal for Parasitology* 29: 1307-1319.

Kagan AR, Levi L (1974). Health and environment – psychosocial stimuli . review. *Social Science & Medicine* 8(5): 225-241.

Kareem AM, Barnard CJ (1982). The importance of kinship and familiarity in social interactions between mice. *Animal Behaviour* 30: 594–601.

Kirschbaum C, Hellhammer DH (1989). Salivary cortisol in psychobiological research: an overview. *Neuropsychobiology* 22: 150-169.

Lampreave F, González-Ramón N, Martínez-Ayensa S, Hernández MA, Lorenzo H-K, García-Gil A, Pineiro A (1994). Characterisation of the acute phase protein response in pigs. *Electrophoresis* May (5): 672-676.

Laszlo V, Rothe G, Hegyesi H, Szeberenyi JB, Orso E, Schmitz G, Falus A (2001). Increased histidine decarboxylase expression during in vitro monocyte maturation; a possible role of endogenously synthesised histamine in monocyte/macrophage differentiation. *Inflammation Research* 50: 428-434.

Lee DHK (1966). The role of attitude in response to environmental stress. *Journal of Social Issues* 22: 83-91.

Lomborg SR, Nielsen LR, Heegaard PMH, Jacobsen S (2008). Acute phase proteins in cattle after exposure to complex stress. *Veterinary Research Communications* 32(7): 575-582.

Lorenz W, Hell E, Boeckl O, Reimann HJ, Zimmerma.G, Seidel W, Laszcz M, Uhlig R (1973). Histamine-release during orthotopic homologous liver transplantation in pigs. *European Surgical Research* 5(1): 11-20.

Lovenberg TW, Roland BL, Wilson SJ, Jiang XX, Pyati J, Huvar A, Jackson MR, Erlander MG (1999). Cloning and functional expression of the human histamine H-3 receptor. *Molecular Pharmacology* 55(6): 1101-1107.

Marler P, Hamilton WJ (1966). *Mechanisms of animal behavior.* John Wiley & Sons Inc., New York.

Martin P (1984). The meaning of weaning. *Animal Behaviour* 32: 1257-1258.

Martin P, Bateson P (1993). *Measuring behaviour. An introductory guide.* Cambridge University Press, Melbourne. ISBN 0-521-44614-7

Marx D, Haecker B (1981). Vergleichende Kortisol- und Triglyzeridbestimmungen im Blut frühabgesetzter und konventionell gehaltener Ferkel als Beitrag zum fraglichen Stress während moderner Ferkelaufzuchtverfahren. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* (94): 8-13.

Maslinski C (1975). Histamine and its metabolism in mammals. Part I: Chemistry and formation of histamine. *Agents Actions* 2: 89-107.

Matteri RL, Carroll JA, Dyer CJ (2000). Neuroendocrine Responses to Stress. In: Moberg GP, Mench JA (eds.). *The biology of animal stress.* CABI Publishing Series, Wallingford, 43-76. ISBN: 0851993591.

McBride G (1963). The “teat order” and communication in young pigs. *Animal Behaviour* 59: 96-115.

McBride G (1980). Adaption and welfare at the man-animal interface. In: Wodzicka-Tomaszewska M, Eday TN and Lynch JJ (eds.). *Behaviour in Relation to Reproduction, Management and Welfare of Farm Animals*. M. University of New England, New South Wales: 195-199. ISBN: 0858342626.

McEwen BS (1998). Stress, adaptation, and disease - Allostasis and allostatic load. *Neuroimmunomodulation* 840: 33-44.

McGlone JJ (1985). A quantitative ethogram of aggressive and submissive behaviors in recently regrouped pigs. *Journal of Animal Science* 61: 559-565.

McGlone JJ (1986). Agonistic behavior in food animals: Review of research and techniques. *Journal of Animal Science* 62: 1130-1139.

Meier AH (1976). Daily variation in concentration of plasma corticosteroid in hypophysectomized rats. *Endocrinology* 98: 1475–1479.

Metcalfe DD, Baram D, Mekori YA (1997). Mast cells. *Physiological Reviews* 77(4): 1033-1079.

Meynhardt H (1978). *Schwarzwild Report*. Leipzig-Radebeul, Neumann Verlag.

Minton JE (1994). Function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the sympathetic nervous system in models of acute stress in domestic farm animals. *Journal of Animal Science* 72: 1891-1898.

Moberg GP, Mench A (2000). The biology of animal stress. *Biological response to stress: implications for animal welfare*. CABI Publishing Series, Wallingford, 123-146. ISBN 0851993591.

Morita H. VSF (1985). Effects of volume expansion on renal nerve activity, renal blood flow and sodium and water excretion in conscious dogs. *Circulation Research* 57: 788-793.

Möstl E (2005). Spezielle Endokrinologie. In: von Engelhardt W, Breves G (Hrsg.). *Physiologie der Haustiere*, 2.Auflage. Enke Verlag, Stuttgart: 477-494. ISBN: 3830410395.

Murata H, Shimada N, M. Y (2003). Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *The Veterinary Journal* 168: 28-40.

Nakagawa-Tosa N, Morimatsu M, Kawasaki M, Nakatsuji H, Syuto B, Saito M (1995). Stimulation of haptoglobin synthesis by interleukin-6 and tumor necrosis factor, but not by interleukin-1, in bovine primary cultured hepatocytes. *Journal of Veterinary Medical Science* 57: 219-223.

Nielsen HJ, Mortensen T, Holten-Andersen M, Brünner N, Sørensen S, Rask-Madsen J (2001). Increased levels of specific leukocyte and platelet-derived substances during normal anti-tetanus antibody synthesis in patients with inactive Crohn disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 36: 265-269.

Oliviero A (1987). Endocrine Aspects of Stress: Central and peripheral mechanism. In: Wiepkema PR and van Adrichem PWM(eds.). *Biology of stress in farm animals: an integrative approach*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrech, 3-12

Ottenweller JE, Meier AH (1982). Adrenal innervation may be an extrapituitary mechanism able to regulate adrenocortical rhythmicity in rats. *Endocrinology* 111: 1334–1338.

Pacak K, Palkovits M, Yadid G, R. K, Kopin IJ, Goldstein DS (1998). Heterogeneous neurochemical responses to different stressors: a test of Selye's doctrine of nonspecificity. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 275: 1247-1255.

Palme R, Rettenbacher S, Touma C, El-Bahr SM, Möstl E (2005). Stress Hormones in Mammals and Birds: Comparative Aspects Regarding Metabolism, Excretion, and Noninvasive Measurement in Fecal Samples. *Annals New York Academy of Sciences* 1040: 162–171.

Parrott RF, Misson BH, Baldwin BA (1989). Salivary Cortisol in pigs following adrenocorticotrophic hormone stimulation – comparison with plasma levels. *British Veterinary Journal* 145(4): 362-366.

Parsons ME, Ganellin CR (2006). Histamine and its receptors. *British Journal of Pharmacology* 147: S127-S135.

Pearce FL (1989). Mast cells: function, differentiation and activation. *Current Opinion in Immunology* 1: 630–636.

Petersen HV, Vestergaard K, Jensen P (1989). Integration of piglets into social groups of free-ranging domestic pigs. *Applied Animal Behaviour Science* 23(223-236).

Pineiro C, Pineiro M, Morales J, Andrés M, Lorenzo E, del Pozo M, Alava MA, Lampreave F (2007). Pig-MAP and haptoglobin concentration reference values in swine from commercial farms. *The Veterinary Journal* 179 (1):78-84.

Pineiro M, Alava MA, Lorenzo E, Pineiro C, Pineiro A, Lampreave F (2001). Characterisation of the acute phase protein response in pigs affected by transport related stress. *Second Colloquium on Acute Phase Proteins, Bonn, 11th-13th May 2001.*

Pistovcakova J, Makatsori A, Sulcova A, Jezova D (2005). Felbamate reduces hormone release and locomotor hypoactivity induced by repeated stress of social defeat in mice. *European Neuropsychopharmacology* 15(2): 153-158.

Poli E, Coruzzi G, Bertaccini G (1991). Histamine H3 receptors regulate acetylcholine-release from the guinea-pig ileum myenteric plexus. *Life Sciences* 48(13): PL63-PL68.

Pollmüller T, (2009). Auswirkungen einer verlängerten Säugezeit auf die humorale Immunantwort von Ferkeln im ökologischen Landbau. Dissertation. Ludwig-Maximilians-Universität München.

Puppe B (1996). Soziale Dominanz- und Rangbeziehungen beim Hausschwein: eine kritische Übersicht. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 109: 457-464.

Puppe B, Meunier-Salaün MC, Otten W, Orgeur P (2008). The welfare of piglets. In: Faucitano L and Schaefer A (eds.). *The welfare of pigs-from birth to slaughter*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen : 97-131. ISBN: 9086860664.

Puppe B, Tuchscherer M, Tuchscherer A (1997). The effect of housing conditions and social environment immediately after weaning on the agonistic behaviour, neutrophil/lymphocyte ratio and plasma glucose level in pigs. *Livestock Production Science* 48: 157-164.

Quaye IK (2008). Haptoglobin, inflammation and disease. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 102(8): 735-742.

Richter H (1974). Haptoglobin bei Haussäugetieren. III. Mitteilung: Der Haptoglobingehalt im Blutplasma und Serum von Wiederkäuern und Schweinen unter verschiedenen physiologischen Bedingungen. *Archives of Experimental Veterinary Medicine* 28: 217-230.

Richter H (1975). Haptoglobin bei Haussäugetieren. IV.Mitteilung: Experimentelle Beeinflussung des Haptoglobinspiegels. *Archives of Experimental Veterinary Medicine*. 28: 505-519.

Schadt JC, Ludbrook J (1991). Hemodynamic and neurohormonal responses to acute hypovolemia in conscious mammals. *American Journal of Physiology* 260: H305-H318.

Schoenreiter S (1996). Bestimmung der Kortisolkonzentration im Speichel als tierschutzrelevante Alternative zur Messung des Kortisolspiegels aus dem Blut von Saugferkeln. Dissertation. Ludwig-Maximilians-Universität, München.

Selye H (1936). A Syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature* 138(July 04): 32.

Smith GW, Aubry JM, Dellu F, Contarino A, Bilezikjian LM, Gold LH, Chen RP, Marchuk Y, Hauser C, Bentley CA, Sawchenko PE, Koob GF, Vale W, Lee KF (1998). Corticotropin releasing factor receptor 1 - deficient mice display decreased anxiety, impaired stress response, and aberrant neuroendocrine development. *Neuron* 20(6): 1093-1102.

Sterling P, Eyer J (1988). Allostasis: A new paradigm to explain arousal pathology. In: Fisher S and Reason J (eds.). *Handbook of Life Stress, Cognition and Health*, John Wiley & Sons: 629-648. ISBN: 0471912697.

Stith RD, Bottoms GD (1972). Effects of Metapyrone on concentrations of Cortisol and Corticosterone in plasma of pigs. *American Journal of Veterinary Research* 33(5): 963-966.

Stolba A, Woodgush DGM (1984). The identification of behavioral key features and their incorporation into a housing design for pigs. *Annales De Recherches Veterinaires* 15(2): 287-298.

Theoharides TC, Singh LK, Boucher W, Pang X, Letourneau R, Webster E, Chrousos G (1998). Corticotropin-releasing hormone induces skin mast cell degranulation and increased vascular permeability, a possible explanation for its proinflammatory effects. *Endocrinology* 139: 403-413.

Udelsman R, Harwood JP, Millan MA, Chrousos GP, Goldstein DS, Zimlichan R, Catt KJ, Aguilera G (1986). Functional corticotropin releasing factor receptors in the primate peripheral sympathetic nervous system. *Nature* 319: 147-150.

Underwood AJ (1989). The analysis of stress in natural populations. *Biological Journal of the Linnean Society* 37: 51-78.

Van Lente F (1991). The Diagnostic Utility of Haptoglobin. *Clinical Immunology* 11(9): 135-138

van Putten G (1978). Schwein. In: Sambraus HH (Hrsg.). *Nutztierethologie. Das Verhalten landwirtschaftlicher Nutztiere – Eine angewandte Verhaltenskunde für die Praxis*. Verlag Paul Parey, München: 168-212. ISBN: 3489602366.

von Borell E, von Lengerken G, Rudovsky A (2002). Tiergerechte Haltung von Schweinen. In: Methling W und Unshelm J (Hrsg.). *Umwelt- und tiergerechte Haltung von Nutz-, Heim-, und Begleittieren*. Berlin, Paul Parey: 333-368. ISBN: 3830440006.

Watanabe T, Taguchi Y, Shiosaka S, Tanaka J, Kubota H, Terano Y, Tohyama M, Wada H (1984). Distribution of the histaminergic neuron system in the central nervous system of rats – a fluorescent immunohistochemical analysis with histidine-decarboxylase as a marker. *Brain Research* 295(1): 13-25.

Weary DM, Jasper J, Hötzel MJ (2008). Understanding weaning distress. *Applied Animal Behaviour Science* 110: 24-41.

Weary DM, Pajor EA, Bonenfant M, Ross SK, Fraser D, Kramer DL (1999). Alternative housing for sows and litters: 2. Effects of a communal piglet area on pre- and post-weaning behaviour and performance. *Applied Animal Behaviour Science* 65(2): 123-135.

Wechsler B (1997). Schwein. In: Sambraus HH und Steiger A (Hrsg.). *Das Buch vom Tierschutz*. Enke Verlag, Stuttgart: 173-181. ISBN: 343229431X.

Westphal U (1971). *Steroid-Protein Interactions*. Springer Verlag, New York. ISBN: 3540153217.

Whittemore CT, Fraser D (1974). The nursing and suckling behaviour of pigs. 2. Vocalization of the sow in relation to suckling behaviour and milk ejection. *British Veterinary Journal* 130: 346-356.

Yoshioka M, Watanabe A, Shimada N, Murata H, Yokomizo Y, Nakajima Y (2002). Regulation of haptoglobin secretion by recombinant bovine cytokines in primary cultured bovine hepatocytes. *Domestic Animal Endocrinology* 23: 425-433.

9. Anhang

Anhang 1: Futtermittelzusammensetzung der tragenden Sauen

Komponente	Anteil in %
Ackerbohnen	20,0
Gerste	16,0
Erbsen	5,0
Weizenkleie	12,0
Bio-Rapskuchen	6,0
Triticale	37,5
Kalk	1,0
Mineralzusatz	2,5

Anhang 2: Futtermittelzusammensetzung der laktierenden Sauen

Komponente	Anteil in %
Bio-Rapskuchen	5,0
Bio-Sojakuchen	6,0
Bio-Sonnenblumenöl	0,5
Erbsen	20,0
Kalk	1,0
Ackerbohnen	10,0
Gerste	25,5
Triticale	30,0
Mineralzusatz	2,0

Anhang 3: Futtermittelzusammensetzung der Aufzuchtferkel

Komponente	Anteil in %
Erbsen	20,0
Lupinen, blau	10,0
Triticale	28,0
Gerste	20,0
Bio-Sojakuchen	20,0
Mineralzusatz	2,0

Anhang 4: Chromatographische Bedingungen der HPLC zur Auswertung von Cortisol und Corticosteron

Stationäre Phase:	Vorsäule: Security Guard Gemini C 18 4mm x 3mm Säule: Gemini 5µm C18 10 cm
Mobile Phase	A: 220 ml Acetonitril, 780 ml HPLC-Wasser, 1 ml Essigsäure, 300 µl Triethylamine B: 400 ml Acetonitril, 600 ml HPLC-Wasser, 1 ml Essigsäure, 300 µl Triethylamine
Gradient:	0-4 min: 90 % A 10 % B 4-12 min: 10 % - 90% B 90% - 10% A 12-27min: 10% A 90% B
Fluss:	1,5 ml/min
Temperatur:	9°C Autosampler, 30°C Säulenofen
Injektionsvolumen:	100µl
Detektion:	254 nm Wellenlänge

Anhang 5: Chromatographische Bedingungen der HPLC zur Auswertung von Histamin

Stationäre Phase:	Vorsäule: KS 30/4 Nucleosil 120-7 C6H5 (Macherey-Nagel) Säule: ET 250/4 Nucleosil 100-7 C6H5 (Macherey-Nagel)
Mobile Phase:	A: 25mM NaH ₂ PO ₄ in Acetonitril/Wasser (5:95; v/v) B: 25mM NaH ₂ PO ₄ in Acetonitril/Wasser (50:50; v/v)
Gradient:	0-2 min: 100 % A 2-7 min: Wechsel auf 100% B 7-12 min: 100% B 12-16 min: 100% A
Fluss:	1,2 ml/min
Temperatur:	9°C Autosampler, 30°C Säulenofen
Injektionsvolumen:	200µl
Detektion:	Exzitation: 350nm; Emission: 450 nm

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben.

Herrn Professor Dr. M. H. Erhard gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas, sowie die fortwährende und verbindliche Unterstützung bei der Durchführung und Fertigstellung der Arbeit.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Dr. F. Ahrens für die freundliche und immer hilfsbereite Betreuung bei der Anfertigung dieser Arbeit bedanken.

Vielen Dank an das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) und an die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) für die Finanzierung dieser Studie.

Ganz herzlich danke ich den Mitarbeitern des Instituts für ökologischen Landbau in Trenthorst, Herrn Prof. Dr. Gerold Rahmann und Herrn Dr. Friedrich Weißmann und Ralf Bussemas für die wissenschaftliche Unterstützung sowie allen Praktikanten, Auszubildenden und Mitarbeitern, die uns während des gesamten praktischen Teils der Doktorarbeit bei der Arbeit mit den Schweinen unterstützt haben.

Das Dankeschön meiner „Dissertationspartnerin“ Tanja Pollmüller gebe ich gerne zurück. Danke auch Dir für eine aufregende, erlebnisreiche und einmalige Zeit, für Deine Unterstützung und für Deine Freundschaft.

Besonders danken möchte ich dem Laborpersonal insbesondere Katrin Schuster für die fundierte Einweisung in die Labormethoden, Herrmann Kuchler und Christian Strobl für ihre tatkräftige und humorvolle Unterstützung bei der Auswertung der Plasmaproben und allen dreien für ihre endlose Geduld und Optimismus. Gedankt sei auch allen anderen Mitarbeitern des Lehrstuhls, die nicht nur im Rahmen dieser Arbeit immer halfen, wo sie konnten.

Ein herzliches Dankeschön geht an Herrn Chris van der Meijden für die Installation der VPN-Tunnel und Zugänge, die mein Computer partout nicht unterstützen wollte.

Besonders danken möchte ich außerdem meinem früheren Arbeitgeber Herrn Dr. König (Merial), sowie meinem jetzigen, Herrn Dr. Beck, für ihr Verständnis und jederzeitige Freistellung von der Arbeit zugunsten der Dissertation.

Meiner Familie danke ich, für ihre Unterstützung in jeder erdenklichen Hinsicht, insbesondere meiner Mutter, für ihre Zuversichtlichkeit, ihr Vertrauen und ihren unerschütterlichen Glauben an mich.

Nicht zuletzt danke ich meinen Freunden und Kollegen fürs Korrekturlesen, sowie für geistige, moralische und jegliche sonstige Hilfe.