

531. Beretning fra Statens Husdyrbrugs forsøg

C. C. Krohn og S. P. Konggaard

Undersøgelser over foderoptagelse og social adfærd hos gruppefødrede køer i løsdrift

Investigations concerning feed intake and
social behaviour among group fed cows under
loose housing conditions

V. Blodets cortisol-niveau som
stressindikator hos malkekøer

V. Cortisol level in blood as
stress indicator in dairy cows



I kommission hos Landhusholdningsselskabets forlag,
Rolighedsvej 26, 1958 København V.

Trykt i Frederiksberg Bogtrykkeri 1982

FORORD

Med støtte fra Statens jordbrugs- og veterinærvidenskabelige Forskningsråd (J. nr. 523/9/1) er der i perioden 1975 - 80 blevet gennemført en forsøgsrække med fællestitlen "Undersøgelser over foderoptagelse og social adfærd hos gruppefodrede køer i løsdrift". Sideløbende med disse produktionsorienterede forsøg er der foretaget en række målinger af blodets indhold af cortisol i relation til forskellige forsøgsbehandlinger. Formålet med målingerne var at undersøge, om det - under forskellige produktionssystemer - ville være muligt at registrere ændringer i kærnes cortisol-niveau, hvorved det ville være muligt at anvende cortisol-niveauet i blodet som en stressindikator.

Ud over beretningens forfattere har forsøgsassistenterne Fl. Andersen, Willy Magnussen, Villy Osmundsen og Steen Henriksen udført et stort og omhyggeligt arbejde i forbindelse med de enkelte forsøgs gennemførelse. Cortisol-analyserne blev udført af H. Worsaae, Den kgl. Veterinær- og Landbohøjskole. En hjertelig tak bringes dr.med.vet. H.B. Simonsen for grundig gennemlæsning og bearbejdning af manuskriptet og det samme til fru Birgitte Hansen for renskrivningen.

Juni 1982.

A. Neimann-Sørensen

INDHOLDSFORTEGNELSE

I.	INDLEDNING	5
II.	MATERIALER OG METODER	7
	Forsøg 1	7
	Serie a	8
	Serie b	9
	Forsøg 2	9
	Forsøg 3	10
	Bestemmelse af cortisol	10
III.	RESULTATER	10
	Forsøg 1	10
	Serie a	10
	Serie b	11
	Forsøg 2	12
	Forsøg 3	13
IV.	SAMMENDRAG OG KONKLUSION	15
V.	SUMMARY	16
VI.	LITTERATUR	19

I. INDLEDNING

Vore husdyr er i besiddelse af en vis tilpasningsevne over for ændringer i omgivelserne. Udsættes husdyr for en belastende påvirkning, fremkaldes både specifikke og uspecifikke reaktioner med det formål at tilpasse dyret den nye situation. Som eksempler på et individs specifikke tilpasningsreaktion kan nævnes regulering af legemstemperatur, blodsukkerkoncentration og blodtryk, lokale hudfortykkelser som følge af et vedvarende tryk eller antistofdannelse mod fremmede proteiner.

De uspecifikke eller generelle tilpasningsreaktioner er ens uanset arten af den belastende påvirkning. Stress er den tilstand, der opstår, når evnen til generelle tilpasningsreaktioner belastes. Dyret er i en tilstand, hvor det har vanskeligt ved at opretholde sin normale fysiologiske ligevægt.

Når dyr af den ene eller anden grund ikke formår at tilpasse sig omgivelserne, kan der opstå unormal adfærd. Deter i dag en almindelig antagelse, at ændringer i adfærden er en af de væsentligste indikatorer på stress hos husdyr (*Fraser 1974*).

Fysiologisk reaktion på stress er en øget udskillelse af binyrebark-hormonet cortisol. Fra hypofyseforlappen (adenohypofysen) udskilles bl.a. det adreno-cortico-trope hormon (ACTH), hvis produktion er overordentlig påvirkelig af uspecifikke ydre stimuli. ACTH stimulerer sekretionen af en stor del af binyrebarkens steroider (bl.a. cortisol). ACTH produktionen følger normalt en karakteristisk døgnrytme med en kraftig forøgelse tidligt om morgenen, hvorefter produktionen falder i løbet af dagen og det meste af natten.

Døgnrytmen i cortisol-koncentrationen er undersøgt hos køer i flere forsøg. *MacAdam & Eberhart (1972)* fandt en døgnvariation med højeste koncentration tidligt om morgenen, medens *Wagner (1970)* og *Wagner & Oxenreider (1972)* fandt en variation med laveste udskillelse mellem kl. 18⁰⁰ og 2⁰⁰, men ingen forhøjet udskillelse tidligt om morgenen. *Hudson et al. (1975)* fandt ingen systematik i døgnrytmen men kun tilfældige udsving på ± 3 ng/ml hos fire ikke-lakterende køer. I disse

forsøg varierede døgnudskillelsen mellem 3 og 13 ng/ml. Resultaterne synes således at være noget divergerende, men det må antages, at der hos kreaturer findes en døgnrytme i cortisol-udskillelsen med et maksimum tidligt og et minimum sent på dagen.

Døgnets gennemsnitlige cortisol-koncentration blev i en række forsøg fundet til følgende værdier:

7,9 ng/ml	<i>Hudson et al. (1975)</i>
6,4 ng/ml	<i>MacAdam & Eberhart (1972)</i>
9,7 ng/ml	<i>Paape et al. (1972)</i>
6,7 ng/ml	<i>Wagner & Oxenreider (1972)</i>

Foruden nævnte undersøgelser over døgnvariationen foreligger der i litteraturen enkelte forsøg vedrørende forskellige stressbelastningers indflydelse på cortisol-niveaueet hos kvæg og får.

Kilgour & deLanger (1970) fandt ved transportbelastning hos får en stigning i cortisol-koncentrationen fra 3,6 ng/ml til 12-16 ng/ml ca. 30 min. efter, at fårene var gjort immobile (sammenbundne ben).

Ray et al. (1972) påviste ændringer i blodets glucocorticoid-koncentration hos stude ved at lede dem gennem fangefold og læsserampe. Lignende ændringer blev fundet af *Willlett & Erb (1972)* hos malkekøer, der udsattes for en simuleret fodring eller ved at fjerne dyrenes staldfæller. *Abilay et al. (1975)* fandt en signifikant stigning i cortisol-koncentrationen fra 8,4 ng/ml til 17,0 ng/ml hos 6 stude ved at øge staldtemperaturen fra 19° til 42° C. *Arave et al. (1977)* undersøgte effekten af at manipulere med rangordenen hos malkekøer. Fra to grupper på ialt 19 køer blev de 5 højstrangerende køer fra hver gruppe sat sammen i en ny gruppe og på tilsvarende måde de lavestrangerende. Der var ingen sammenhæng mellem social rang, legemsvægt, alder og totalindholdet af corticoider i plasma, hverken før eller efter gruppeskiftet. Forfatterne konkluderer, at plasma corticoider ikke er nogen brugbar metode til bestemmelse af social stress. *Adeyemo & Heath (1982)* registrerede blodets cortisol-koncentration hos 12 kvier, når de dagligt passerede gennem en vejeboks mellem to folde. I forsøgstiden blev der manipuleret med den rækkefølge, i hvilket kvierne passerede vejeboksen. Kvierne blev ledt igennem efter faldende rang. Den-

ne ændring i rækkefølgen medførte en signifikant nedgang i blodets cortisol-niveau. Derimod blev der ikke fundet nogen sammenhæng mellem blodets cortisol-koncentration og rangorden, legemsvægt eller lederskab.

Effekten af stalddypen er undersøgt af *Gabr (1973)*, der fandt, at køer i løsdriftstalde havde markant højere cortisol-indhold i blodplasma end køer i bindestalde. Der fandtes ingen sikker sammenhæng mellem cortisol-niveauet og de enkelte køers rangposition i gruppen.

Formålet med de forsøg, der er omtalt i denne beretning, har været flere. For det første at fastlægge eventuelle stigninger i blodets cortisol-koncentration som følge af forskellige eksperimentelt fremkaldte stressbelastninger. For det andet at undersøge sammenhængen mellem forskellige produktionsmæssige stresssituationer og blodets cortisol-niveau med det formål at bestemme graden af stresspåvirkningen. For det tredje generelt at vurdere, om cortisol-målinger i blodet hos kvæg kan anvendes til afsløring af en permanent mild stressbelastning.

II. MATERIALER OG METODER

I nærværende forsøgsserie er der dels gennemført et modelforsøg (serie a og b), dels to forsøg (forsøg 1 og 2) under mere praktiske forhold.

FORSØG 1

Formålet med dette forsøg var at undersøge, om en eksperimentelt fremkaldt belastning ville kunne øge dyrets stressniveau. Belastningen blev fremkaldt ved at reducere den normale liggetid til 25% (serie a) og den normale foderoptagelse til 25% (serie b). I begge serier indgik 3 malkekøer af racen SDM. Stressniveauet blev angivet som ændringer i blodets cortisol-koncentration. Alle blodprøver blev udtaget via et kateter i halsvenen. En tidsplan over belastning og registrering i de 2 forsøgsserier er vist i tabel 1.

Gennem de første 2 kontroldøgn (3. - 5. dagen) blev køernes normale døgnaktivitet registreret (ligge- og ædeadfærd). På grundlag af disse resultater blev belastningsniveauet beregnet.

Tabel 1. Tidsplan for behandling og registrering i forsøg 1.

Table 1. Schedule for treatment and registration in experiment 1.

Dag Day	Behandling Procedure	Døgnaktivitet Day and night activity	Blodprøver Blood samples	Ydelse ¹⁾ Yield
1. 1st	Kontrol Control		Isætning af kateter Insertion of catheter	
2. 2nd	Kontrol Control		kl. 18 ⁰⁰ , 19 ⁰⁰ , 20 ⁰⁰ , 21 ⁰⁰	x
3. 3rd	Kontrol Control	kl. 15 ⁰⁰ -24 ⁰⁰	kl. 18 ⁰⁰ , 19 ⁰⁰ , 20 ⁰⁰ , 21 ⁰⁰	x
4. 4th	Kontrol Control	kl. 24 ⁰⁰ -24 ⁰⁰	kl. 18 ⁰⁰ , 19 ⁰⁰ , 20 ⁰⁰ , 21 ⁰⁰	x
5. 5th	Kontrol Control	kl. 24 ⁰⁰ -15 ⁰⁰		
8. 8th	Belastning fra kl. 15 ⁰⁰ Under strain from 3 p.m.	kl. 15 ⁰⁰ -24 ⁰⁰		
9. 9th	Belastning Under strain	kl. 24 ⁰⁰ -24 ⁰⁰	kl. 18 ⁰⁰ , 19 ⁰⁰ , 20 ⁰⁰ , 21 ⁰⁰	x
10. 10th	Belastning Under strain	kl. 24 ⁰⁰ -21 ⁰⁰	kl. 18 ⁰⁰ , 19 ⁰⁰ , 20 ⁰⁰ , 21 ⁰⁰	x
11. 11th	Kontrol Control		kl. 18 ⁰⁰ , 19 ⁰⁰ , 20 ⁰⁰ , 21 ⁰⁰	x
12. 12th	Kontrol Control		kl. 18 ⁰⁰ , 19 ⁰⁰ , 20 ⁰⁰ , 21 ⁰⁰	x
16. 16th	Kontrol Control		kl. 18 ⁰⁰ , 19 ⁰⁰ , 20 ⁰⁰ , 21 ⁰⁰	x
17. 17th	Kontrol Control		kl. 18 ⁰⁰ , 19 ⁰⁰ , 20 ⁰⁰ , 21 ⁰⁰	x

1) Mælkemængde, fedtprct. og celledetal
Milk yield, fat percentage, and somatci cell counts

Serie a. De tre køers normale liggetid udgjorde i gennemsnit 667 minutter pr. døgn fordelt på 3-4 perioder. Liggetiden kunne på dette grundlag grupperes i 4 perioder med følgende gennemsnitlige fordeling af liggetiden (tabel 2).

De enkelte køer fik lov til i de respektive perioder at ligge ned det anførte antal minutter (tabel 2). Såsnart en ko havde opbrugt sin liggetid, blev hun roligt jaget op ved at klappe hende på krydset med flad hånd, indtil hun rejste sig. Hver gang hun derefter lagde sig, blev hun igen jaget op på tilsvarende måde.

Label 2. Normal og reduceret liggetid.

Table 2. Normal and reduced lying time (experiment 1)

	Normal liggetid <i>Normal lying time</i>		Reduceret liggetid <i>Reduced lying time</i>
	Min.	%	Min.
Periode 1 (kl. 14 - 21) <i>Period 1 (14 p.m.-21 p.m.)</i>	80	12	20
Periode 2 (kl. 21 - 03) <i>Period 2 (21 p.m.-3 a.m.)</i>	267	40	67
Periode 3 (kl. 03 - 08) <i>Period 3 (3 a.m. -8 a.m.)</i>	187	28	47
Periode 4 (kl. 08 - 14) <i>Period 4 (8 a.m. -14 p.m.)</i>	133	20	22
Ialt pr. døgn <i>In total day and night</i>	667	100	167

Serie b. På grundlag af kærnes foderoptagelse i de første 2 kontrol-døgn blev fodertildelingen i belastningsdøgnene beregnet således, at de udgjorde 25% af den registrerede optagelse. Den reducerede foder-mængde blev tildelt på 2 fodringer. Kærne optog ca. 40 kg fuldfoder i kontroldøgnene, hvilket således blev reduceret til 10 kg fordelt med 5 kg foder henholdsvis morgen (kl. 8⁰⁰) og aften (kl. 14³⁰). Resten af foderrationen blev placeret foran koen - uden for hendes rækkevidde - og med jævne mellemrum blev der rodet op i denne bunke.

FORSØG 2

I forsøget indgik følgende 2 hold første kalvs køer:

Hold N: 1. kalvs køer i gruppe med ældre køer

Hold F: 1. kalvs køer i en selvstændig gruppe

Kvierne blev indsat i de respektive hold ca. 1 måned før forventet kælvning. Med det formål at fastlægge en eventuel forskel i kærnes cortisol-niveau på de 2 hold blev der udtaget en række blodprøver. Prøverne blev udtaget på følgende tidspunkter: 11, 4 og 1 dag før kvierne blev indsat (kontrolprøver) og på 3., 7. og 22. dagen efter kælvningen. Blodprøverne blev udtaget direkte fra halsvenen om morgenen i tidsrummet fra kl. 8⁰⁰ til 8³⁰.

Forsøget og dets produktionsresultater er nærmere beskrevet af *Konggaard og Krohn (1978)*.

FORSØG 3

Forsøgets formål var at undersøge, hvilken indflydelse gruppeskift d.v.s. det at flytte køer fra en gruppe til en anden ville have på deres stressniveau. Ved forsøgets start blev besætningen inddelt i to ensartede grupper, der blev placeret i hver sit staldafsnit. Hvert gruppeskift bestod af en gensidig flytning af 2 x 3 køer mellem staldafsnittene. Ingen af de flyttede køer havde gået sammen med køer i tilflyttergruppen i mindst 4 måneder før flytningen. I hvert staldafsnit gik ca. 12 køer. Undersøgelsen blev gennemført med henholdsvis 1.kalvs køer og ældre køer. Blodprøverne blev udtaget som i forsøg 2 og på følgende tidspunkter: 2 og 1 dag før gruppeskift (kontrolprøver) og på 1., 2., 6. og 7. dagen efter gruppeskiftet.

Forsøget og dets produktionsresultater er nærmere beskrevet af *Krohn og Konggaard (1980)*.

BESTEMMELSE AF CORTISOL

Blodets indhold af cortisol blev bestemt ved hjælp af radioimmunoassay (RIA). Metoden er nærmere beskrevet af *Worsaae (1977)*.

III. RESULTATER

FORSØG 1

Resultaterne fra forsøg 1 viste, at der var tale om en betydelig variation i blodets cortisol-koncentration fra dyr til dyr, og at niveauet under normale forhold hos ældre dyr lå på 2-4 ng/ml blod. Samtidig kunne der konstateres en ikke ubetydelig variation mellem forskellige prøver fra samme dyr taget inden for et givet tidsrum. Envariationsbredde i disse enkeltprøver på 1-6 ng var ikke ualmindelig.

Serie a. Blodets cortisol-indhold i relation til køernes liggetid er vist i tabel 3. Hos alle tre køer var der en signifikant stigning i

cortisol-udskillelsen på henholdsvis 220, 254 og 233%, når kørerne blev belastet gennem en begrænsning af deres normale liggetid. Allerede døgnet efter, at belastningen ophørte, var cortisol-udskillelsen igen normal. I belastningsperioden blev køernes mælkemængde nedsat. Den lavere mælkeydelse blev dog fuldt ud kompensere af en højere fedtprocent, således at produktionen af 4% mælk var upåvirket af belastningen. Køernes ydelsesniveau var 20 - 22 kg mælk. Belastningen havde ingen indflydelse på celletallet i mælken. Belastningen medførte, at foderoptagelsen faldt med 10 - 20%, hvilket helt eller delvis kan være årsagen til den reducerede mælkemængde. I de 2 døgn belastningen varede, måtte de tre kør gennemsnitligt jages op 31 gange (16 - 45) pr. døgn.

Table 3. Cortisol-koncentration (ng/ml) i blodet hos kør med normal og begrænset liggetid (serie a).

Table 3. Cortisol level (ng/ml) in plasma from cows with normal and reduced lying time (experiment 1 a).

	Ko nr. Cow No.			Gns. Ave.
	<u>281</u>	<u>339</u>	<u>341</u>	
Kontrol dogn (gns. af 3 døgn) Control day (ave. of 3 days)	3,62	2,73	2,27	2,87
SD	±1,46	±2,66	±1,35	
Belastningsdogn (gns. af 2 døgn) Day under strain (ave. of 2 days)	7,96 ^{a)}	6,95 ^{b)}	5,29 ^{b)}	6,73
SD	±3,12	±5,26	±3,48	
Kontrol dogn (gns. af 4 døgn) Control day (ave. of 4 days)	2,58	4,20	2,59	3,12
SD	±1,49	±2,84	±2,19	

a) $P < 0,001$

b) $P < 0,05$

Serie b. Den reducerede fodertildeling havde ingen sikker indflydelse på blodets cortisol-koncentration hos de tre forsøgskør (tabel 4).

Mælkeydelsen var upåvirket af belastningen i det første døgn, hvorefter den var stærkt faldende i andet og tredje døgn. Årsagen hertil må helt klart tilskrives den reducerede foderoptagelse.

Tabel 4. Cortisol-koncentration (ng/ml) i blodet hos køer med ad libitum og begrænset foderoptagelse (serie b).

Table 4. Cortisol level (ng/ml) in plasma from cows fed ad libitum and with reduced feed intake (experiment 1 b)

	Ko nr. Cow No.			Gns. Ave.
	<u>242</u>	<u>333</u>	<u>262</u>	
Kontrolldøgn (gns. af 3 døgn) Control day (ave. of 3 days)	2,65	4,94	3,13	3,57
SD	1,40	3,27	2,39	
Belastningsdøgn (gns. af 2 døgn) Day under strain (ave. of 2 days)	3,94	2,64	3,84	3,47
SD	3,89	1,84	2,99	
Kontrolldøgn (gns. af 4 døgn) Control day (ave. of 4 days)	1,95	2,90	3,20	2,68
SD	1,05	1,26	2,99	

FORSØG 2

Resultaterne fra forsøg 2 med gruppeinddeling af 1. kalvs køer er anført i tabel 5. Variationen i blodets cortisol-indhold fra dag til dag var relativ stor, ligesom der også fandtes en betydelig variation dyrene imellem.

Selv om forskellen mellem holdene ikke var statistisk sikker ($P > 0,05$), var der en tendens til højere cortisol-koncentration i blodet efter indsættelsen hos de 1. kalvs køer, der gik i gruppe med ældre køer (hold N), hvilket kunne indikere en svag stresspåvirkning. Produktionsresultaterne viste samstemmende, at kørerne på dette hold havde såvel lavere foderoptagelse som liggetid og mælkeproduktion end kørerne på hold F - altså et indirekte bevis på, at disse 1. kalvs køer har haft det vanskeligt i konkurrencen med de ældre køer. Der kunne ikke konstateres nogen signifikant sammenhæng mellem de enkelte køers cortisol-niveau og deres rangorden, foderoptagelse, liggetid eller produktion.

Tabel 5. Cortisol-koncentration (ng/ml) i blodet hos 1. kalvs kør i gruppe med ældre kør (hold N) og i selvstændig gruppe (hold F).

Table 5. Cortisol level (ng/ml) in plasma from cows in 1st lactation grouped with older cows (group N) or in group isolated from older cows (group F) (experiment 2).

		Hold Group			
		N		F	
Antal kør No. of cows		16		17	
Før indsættelse, Before group transfer,	11. dag 11th day	5,32	2,91	5,00	4,19
	4. dag 4th day	4,97	3,15	3,39	1,89
	1. dag 1st day	3,59	2,66	5,43	3,25
	gns. ave.	4,63		4,61	

Efter indsættelse, After group transfer,	2. dag 2nd day	5,00	3,06	3,34	2,05
	3. dag 3rd day	4,11	2,85	4,16	2,52
	7. dag 7th day	5,88	3,81	3,70	1,79
	gns. ave.	5,00		3,73	

Efter kælvning, After calving,	3. dag 3rd day	3,52	1,96	4,09	3,20
	7. dag 7th day	4,72	2,97	2,72	0,99
	22. dag 22nd day	2,74	1,78	1,79	0,35
	gns. ave.	3,66		2,87	

FORSØG 3

Resultaterne over blodets indhold af cortisol fra forsøget med gruppeskift er anført i tabel 6.

Tabel 6. Cortisol-koncentration (ng/ml) i blodet hos køer henholdsvis før og efter gruppeskift.

Table 6. Cortisol level (ng/ml) in plasma from cows before and after group transfer, respectively (experiment 3).

		<u>1. kalvs køer</u> <u>Cows in 1st lact.</u>	<u>Ældre køer</u> <u>Older cows</u>
Antal køer No. of cows		10	22
Før gruppeskift, Before group transfer,	2. dag 2nd day	0,92 ± 0,59	1,78 ± 1,14
	1. dag 1st day	1,21 ± 1,15	2,54 ± 2,70
	gns. ave.	1,07	2,16

Efter gruppeskift, After group transfer,	1. dag 1st day	1,22 ± 1,06	1,80 ± 1,22
	2. dag 2nd day	0,70 ± 0,24	2,44 ± 2,48
	gns. ave.	0,96	2,12

	6. dag 6th day	0,93 ± 0,53	2,39 ± 2,31
	7. dag 7th day	0,83 ± 0,30	2,40 ± 2,15
	gns. ave.		

Hovedresultaterne fra forsøget viste, at køernes døgnrytme, foderoptagelse og mælkeproduktion blev påvirket i en periode af 2 - 3 døgn efter gruppeskiftet. Denne effekt har ikke kunnet genfindes i blodets cortisol-niveau. Det generelt lavere cortisol-niveau i dette forsøg er ikke umiddelbart forklarligt. Der var heller ikke i dette forsøg nogen signifikant sammenhæng mellem de enkelte dyrs cortisol-niveau og deres adfærds- og produktionsdata.

IV, SAMMENDRAG OG KONKLUSION

Kvæg i intensive produktionssystemer udsættes dagligt for en række forskellige stresspåvirkninger, som kan have indflydelse på dyrenes adfærd og produktion. I nærværende forsøgsrække blev det undersøgt, om følgende fire behandlinger var stressbelastende for malkekøer vurderet ud fra blodets cortisol-koncentration.

1. Reduceret liggetid (forsøg 1, a)
2. Reduceret foderoptagelse (forsøg 1, b)
3. Første kalvs køer i gruppe for sig eller i gruppe med ældre køer (forsøg 2)
4. Indflydelse af gruppeskift hos malkekøer (forsøg 3)

Formålet med forsøg 1 var at undersøge, om en eksperimentelt fremkaldt belastning kunne øge dyrets stressniveau. Belastningen blev fremkaldt ved at reducere den normale liggetid til 25% (serie a) eller den normale foderoptagelse til 25% (serie b). Reduktionen i koens normale liggetid medførte en signifikant stigning i cortisol-udskillelsen på gennemsnitligt 235%. Et døgn efter belastningens ophør var cortisol-niveauet igen normalt. Den reducerede fodertildeling havde ingen sikker indflydelse på blodets cortisol-koncentration.

Resultaterne fra forsøg 2 med gruppeinddeling af første kalvs køer viste en tendens til højere cortisol-koncentration i blodet efter indsættelsen hos de 1. kalvs køer, der gik i gruppe med ældre køer, hvilket kunne indikere et højere stressniveau. Forskellen var dog ikke signifikant. Produktionsresultaterne viste samstemmende, at køerne på dette hold havde lavere foderoptagelse, liggetid og mælkeproduktion end køerne, der gik i gruppe for sig, altså et indirekte bevis på, at disse 1. kalvs køer har haft det vanskeligt i konkurrencen med de ældre køer.

Hovedresultaterne fra forsøg 3 med gruppeskift viste, at liggetiden blev reduceret med 8-10%, foderoptagelsen med 14% og mælkeydelsen med 3-6% i de første to døgn efter gruppeskiftet. Udslagene var størst hos de ældre køer. Denne effekt har ikke kunnet genfindes i blodets cortisol-niveau.

Nærværende forsøgsrække viste således, at det kun med en relativ stærk påvirkning (begrænset liggetid) var muligt med sikkerhed at øge blodets koncentration af cortisol. Målinger af dyrenes adfærd og produktion i form af døgnrytme, foderoptagelse og mælkeproduktion har tilsyneladende været mere følsomme parametre end cortisol-bestemmelserne til vurdering af stresstilstande hos malkekøer.

V. SUMMARY

Experiments were carried out on the Danish National Research Farm Trollesminde to determine cortisol concentration in the blood of cows in different situations of stress, and to evaluate this method as a stress indicator. Cortisol concentration in plasma was determined by radioimmunoassay (RIA) as described by Worsaae (1979).

EXPERIMENT 1

The purpose of experiment 1 was to investigate if experimentally provoked strain would increase a cow's stress level.

Strain was provoked by reducing resting time (series a) respectively feed intake (series b) by 75%. Both series were carried out using 3 dairy cows of SDM breed. Blood samples were collected via catheter from the animals' jugular vein. The cortisol concentration in the blood was taken to be an indicator of stress level.

During the first control period (3rd - 5th day) the cow's normal activity was recorded (resting and feeding behaviour). On the basis on these data the level of strain was calculated.

Series a: The normal resting time for the 3 cows was 667 minutes per day on the average, taken in 3 - 4 resting periods. The number and length of the resting periods allotted each cow is shown in Table 2. In the respective periods each cow was allowed to rest during an allotted number of minutes and was thereafter firmly but without undue commotion compelled to rise and to remain standing until the start of the next scheduled resting period.

Series b: The cows' feed intake in the control period was approx. 40

kg of a complete ration. Thereafter they were fed 25% of this, i. e. 10 kg, divided over two feeding periods (8 a.m. and 2.30 p.m.). The rest of the ration was placed in front of the cows, but out of their reach, and it was stirred regularly.

Experiment 1 showed that there were considerably individual variations in the cortisol level in the blood between cows, but under normal circumstances the level would be about 2-4 ng/ml blood on the average. At the same time it was noted that there were considerable differences in the individual samples taken from the same animal over a period of time. A range of 1-5 ng/ml was not uncommon. The cortisol level in relation to resting time is shown in Table 3.

For the 3 cows there was a significant rise in cortisol level, 220%, 254%, and 233%, respectively, when treatment consisted of a diminished resting time. Already the day after they were allowed their normal resting time the cortisol level returned to normal. Milk yield was lower during the period when strain was applied though this decrease was offset by an increase in fat content so that FCM yield was unaffected. The average yield ranged from 20 - 22 kg milk during the test period. The treatment had no influence on the cell count of the milk.

In series a the treatment (i. e. shortened resting time) caused a 10 - 20% drop in feed intake, which would partly explain the lower milk yield. During the period the resting time was reduced it was necessary to interfere with the cows 31 times (16 - 45) per day. Reducing the ration has no significant influence on the cortisol concentration of the blood, see Table 4. Milk yield was unaffected on the first day, but dropped considerably on the second and third day. The reason for this is undoubtedly the lower feed intake.

EXPERIMENT 2

In this experiment 2 groups of cows in first lactation were used.

Group N: 1st lactation cows in a group with older cows

Group F: 1st lactation cows in a separate group

Heifers were introduced in the respective groups approx. one month before the expected calving date. A series of blood samples were col-

lected 11, 4, and 1 day before the heifers were introduced to their respective groups (control samples) in order to determine a possible difference between the cortisol concentration of the two groups. Another series were taken on the 3rd, 7th, and 22nd day after calving. All samples were taken from the animals' jugular vein. Sampling took place from 8 till 8.30 a.m. on the respective days. The experiment is described in details by *Konggaard and Krohn (1978)*.

The results of the experiment are summarized in Table 2. Note that the day to day variation in cortisol levels as well as the variations from cow to cow were relatively high. There was a tendency to a higher cortisol concentration for the first lactation cows grouped with older cows, which could suggest a higher level of stress. An analysis of production results points in the same direction. Cows in group N had a lower feed intake, shorter resting time as well as lower milk yield than the cows in group F suggesting indirectly that the cows in group N had difficulties in competing with the older cows. There was no indication of a significant correlation between the individual cows cortisol concentration and the rank in the herd, the feed intake, resting time or milk yield.

EXPERIMENT 3

The purpose of this experiment was to investigate the influence of moving cows between groups on their stress level. At the start of the experiment the herd was divided into 2 uniform groups of 12 cows each housed in different parts of the barn. Regrouping was carried out by moving 2 x 3 cows mutually between the groups. At that time none of the cows that were moved had been in contact with any of the cows in the group they were moved into in at least 4 months before regrouping occurred. The experiment was carried out using first lactation cows and older cows, respectively.

Blood samples were collected on the two days preceding regrouping (control samples) and on the 1st, 2nd, 6th, and 7th day following regrouping. All samples were collected from the jugular vein in the period from 8 till 8.30 a.m. The experiment is described in details by *Krohn and Konggaard (1980)*.

The results of the experiment are summarized in Table 6. It is

shown that the cows' diurnal rhythm, feed intake and milk yield was affected for 2-3 days after regrouping. This was not reflected in the cortisol concentration in the blood. No direct explanation was found for the generally lower cortisol concentration for the cows used in this experiment. Again, as in experiment 2, there was no significant correlation between cortisol concentration and the individual behaviour or production level.

Studying the cows' behaviour and productivity by measuring diurnal rhythm, feed intake, and milk yield have apparently been more sensitive parameters than cortisol concentration in the blood as indicators of stress in dairy cows.

VI. LITTERATUR

- Abilay, T.A., R. Mitra and H.D. Johnson, 1975. Plasma cortisol and total progesterin levels in Holstein steers during acute exposure to high environmental temperature (42°C) conditions. *J.Anim.Sci.* 41, 113-117.
- Adeyemo, O. and E. Heath, 1982. Social behaviour and adrenal cortisol activity in heifers. *Appl.Anim.Ethol.* 8, 99-108.
- Arave, C.W., C.H. Michelsen, R.C. Lamb, A.J. Svejda and R.V. Canfield, 1977. Effects of dominance rank changes, age, and body weight on plasma corticoids of mature dairy cattle. *J.Dairy Sci.* 60, 244-248.
- Fraser, A.F., 1974. Stress in farm animals. *Brit.Vet.J.* 130(1), 85.
- Gabr, H., 1973. Die Rangposition von Kühen in Laufstallgruppen und ihre Auswirkungen auf Verhaltens- und Leistungsmerkmale. *Schriftenreihe des Max-Planck-Instituts für Tierzucht und Tierernährung*, Heft 70.
- Hudson, S., M. Mullord, W.G. Whittlestone and E. Payne, 1975. Diurnal variations in blood cortisol in the dairy cow. *J.Dairy Sci.* 58, 30-37.
- Kilgour, R. and H. de Langer, 1970. Stress in sheep resulting from management practices. *Proc. NZ. Soc. Anim. Prod.* 30, 65-76.
- Konggaard, S.P. og C.C. Krohn, 1978. Undersøgelser over foderoptagelse og social adfærd hos gruppefødrede køer i løsdrift. III. Første kalvs køer i gruppe for sig eller i gruppe med ældre køer. 469. beretn. fra Statens Husdyrbrugsforsøg, 30 pp.

- Krohn, C.C. og S.P. Konggaard, 1980. Undersøgelser over foderoptagelse og social adfærd hos gruppefodrede køer i løsdrift. IV. Effekt af gruppeskift hos malkekøer. 490. beretn. fra Statens Husdyrbrugsforsøg, 30 pp.
- MacAdam, W.R. and R.J. Eberhart, 1972. Diurnal variation in plasma cortico-steroid concentration in dairy cattle. *J.Dairy Sci.* 55, 1792.
- Paape, M.J., C.D. Desjardins, W.D. Schultze and J.W. Smith, 1972. Corticosteroid concentrations in jugular and mammary vein blood plasma of cows after overmilking. *Amer.J.Vet.Res.* 33.
- Ray, D.E., W.J. Hansen, C.B. Theurer and G.H. Stott, 1972. Physical stress and corticoid levels of steers. *J.Anim.Sci.* 34, 900.
- Wagner, W.C., 1970. Plasma corticoids in the cow. *J.Anim.Sci.* 33, 233.
- Wagner, W.C. and S.L. Oxenreider, 1972. Adrenal function in the cow diurnal changes and the effects of lactation and neurohypophysical hormones. *J.Anim.Sci.* 34, 630.
- Willett, L.B. and R.E. Erb, 1972. Short term changes in plasma corticoids in dairy cattle. *J.Anim.Sci.* 34, 103.
- Worsaae, H., 1977. Corticosteronanalyse. I beretningen "Fodringsanlæg til restriktiv fodring ved opdrætning af høneker til rugeægproduktion" af Jørgensen et al. 457. beretn. fra Statens Husdyrbrugsforsøg, 107-114.