universität wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Pair bonding in guinea pigs (*Cavia aperea f. porcellus*): How does Oxytocin influence the formation?

Verfasserin

Michaela Bönisch

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag.rer.nat.)

Wien, 2012

Studienkennzahl lt. Studienblatt:	A 439
Studienrichtung lt. Studienblatt:	Diplomstudium Zoologie
Betreuerin / Betreuer:	Ao. Univ.-Prof. Dr. Eva Millesi

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung

1.1. Paarbindungen im soziosexuellen Kontext 1

1.2. Physiologische Grundlagen der Paarbindung 2

1.3. Oxytocin 4

1.3.1. Oxytocin und Verhalten 5

1.3.2. HPA-Achse und Oxytocin 7

1.4. Meerschweinchen 9

1.5. EthoVision XT 7.0 11

1.6. Zielsetzung 11

1.7. Literaturangaben 13

2. Publications

2.1. Effects of Oxytocin on pairbond-formation in female guinea pigs (*Cavia aperea f. porcellus*) 19

3. Summary/ Zusammenfassung 45

4. Danksagung 49

5. Curriculum Vitae 51

1. EINLEITUNG

1.1. Paarbindungen im soziosexuellen Kontext

Soziale Systeme sind gekennzeichnet durch verschiedenste Arten von sozialen Bindungen, wie zum Beispiel Eltern-Kind- und zwischengeschlechtliche Beziehungen. Eine besondere Form sind die Paarbindungen, die als langandauernde Beziehungen zwischen einem Männchen und einem Weibchen, die über die Reproduktionsphase hinausgehen, definiert werden. Sie sind durch gegenseitige Präferenz, häufige soziale Interaktionen und geringe Konfliktraten gekennzeichnet (Carter et al., 1995).

Für die evolutionäre Entstehung von Paarbindungen gibt es verschiedene Erklärungen. Eine wichtige Hypothese ist, dass Paarbindung für beide Geschlechter die energetisch günstigste Variante darstellt. Das Männchen hat dabei immer sexuellen Zugang zu seinem Weibchen, wenn dieses im Östrus ist. Das Weibchen erhält Unterstützung bei der Jungenaufzucht, welche sowohl direkt, durch Fütterung der Jungen durch das Männchen, oder auch indirekt, durch Revierverteidigung gegenüber Artgenossen oder durch die höhere Wahrscheinlichkeit der Predatorerkennung, geschehen kann. In beiden Fällen wird die Überlebenschance der Jungen erhöht sein (Review: Kleiman, 1977). Ein weiterer positiver Effekt einer Paarbindung ist, dass sie mit sozialem Körperkontakt einhergeht, der über eine Reihe verschiedener neuronaler Regelkreise die physiologische Stressantwort dämpfen und langfristig den gesundheitlichen Status konstant halten oder sogar verbessern (Uvnäs-Moberg, 1998a, b; Ebner et al., 2005).

Paarbindungen trifft man hauptsächlich in monogamen Sozialsystemen an (Young & Wang, 2004), wobei auch hier Extrapair-Kopulationen auftreten können (Wolff et al., 2002). Eine extreme Form bei Säugetieren findet sich bei der Präriewühlmaus (*Microtus ochrogaster*), wo diese Bindung zu beträchtlichen

Verhaltens-, hormonellen und neuronalen Veränderungen führen kann (Getz & Carter, 1996; Pizzuto & Getz, 1998). Neben den monogamen Sozialsystemen findet man Paarbindungen auch bei polygam-lebenden Arten, wobei hier vielleicht der Begriff Partnerpräferenz besser angebracht scheint. In einer polygynen Gesellschaft, wie sie z.B. das Meerschweinchen (*Cavia aperea f. porcellus*) bildet, können Individuen soziale Bindungen zu mehreren Individuen des anderen Geschlechtes eingehen. Rhesusaffen (*Macaca mulatta*) leben in großen Gruppen aus vielen Männchen und Weibchen (multi-male, multi-female). Während des Östrus kann sich ein Weibchen mit dem von ihr präferierten Männchen von der Gruppe separieren und mit dem Männchen eine kurzfristige Paarbindung eingehen („consortship“) (Altmann 1962 zitiert in Rilling et al., 2004). Ein bei Menschen übliches Sozialsystem ist die sogenannte serielle Monogamie. Es werden zwar Paarbindungen ausgebildet, aber im Leben eines Individuums sind es meist mehrere, die aufeinander folgen (Jokela et al., 2010).

1.2. Physiologische Grundlagen der Paarbindung

Soziales Verhalten wird bei Säugetieren von einigen wenigen Gehirnregionen gesteuert. Am Beginn steht ein sensorischer Input über das olfaktorische System, welches mit dem Belohnungssystem und dem System für das soziale Gedächtnis gekoppelt ist. Das Belohnungssystem beinhaltet das ventrale Pallidum (vP), den Nucleus accumbens (NAcc) und das ventrale Tegmentum; während die mediale Amygdala und das laterale Septum für das soziale Gedächtnis zuständig sind (Liu et al., 2001; Young et al., 2001, 2005). Der Einfluss dieser Gehirnregionen lässt sich auch an der zwischen polygamen und monogamen Arten unterschiedlichen Rezeptorenverteilung verschiedener Hormone erkennen (Adkins-Regan, 2009). Die monogame Präriewühlmaus (*Microtus ochrogaster*) weist im NAcc eine höhere Dichte an Oxytocin(OT)-Rezeptoren und im vP eine höhere Vasopressin-Rezeptordichte auf,

im Gegensatz zur polygamen Bergwühlmaus (*Microtus montanus*). Letztere hat im NAcc auch eine geringe Dichte an Rezeptoren für das HPA-Achsen Regelhormon Corticotrophin-Releasing Fakor (CRF). Neben den unterschiedlichen Rezeptordichten findet man auch die jeweiligen Hormone vermehrt im NAcc und im vP (Review in Young et al., 2005). Bei roten Springaffen (*Callicebus cupreus*) konnten Veränderungen im Gehirn nach einer Paarbindung beobachtet werden. Hier war die Glucoseaufnahme im NAcc und im vP erhöht (Bales et al., 2007).

Bei Präriewühlmausmännchen führt die Behandlung mit Vasopressin zu einer beschleunigten Ausbildung einer Partnerpräferenz. Im Gegensatz dazu zeigt bei Weibchen OT diesen Effekt (Cho et al., 1999; Winslow et al., 1993). Beim Mensch werden beide Hormone während sexueller Erregung und während des Orgasmus ausgeschüttet. In diesem Zusammenhang ist von Interesse, dass sexuelle Intimität möglicherweise eine spätere emotionale Bindung erleichtert (Review: Young et al., 2005).

Bei weiblichen Präriewühlmäusen wird durch soziale Stimuli während der Paarbildungsphase die Aktivität der Nebennierenrinde (NNR) herabgesetzt, wodurch weniger Glucocorticoide ausgeschüttet werden und damit eine Paarbildung begünstigen (DeVries et al., 1995). Eine Behandlung von Männchen mit CRF bewirkt auch die Ausbildung einer Partnerpräferenz ohne vorangegangene Kopulationen (DeVries et al., 2002).

Ein weiteres Hormon, das mit Paarbindungen in Verbindung gebracht wurde, ist der Katecholamin-Neurotransmitter Dopamin. Dopamin wird in Ratten und Präriewühlmäusen während der Paarung ausgeschüttet. Mehrere Studien an Präriewühlmäusen zeigen, dass Dopamin die Ausbildung einer Paarbindung erleichtert, wobei die Männchen sensibler reagieren als die Weibchen (Review: Aragona & Wang, 2004).

Sexsteroide sind eine weitere Hormongruppe, die Einfluss auf die Paarbindung haben. Östrogen erleichtert die OT-Rezeptor-Bindung, wodurch auch die Effekte von OT auf das Verhalten begünstigt werden (Johnson, 1992). Beim Menschen wurde festgestellt, dass Single-Männer und Männer mit kurzen Affären eine höhere Testosteronkonzentration im Blut haben als Männer in langandauernden Beziehungen. Bei den Frauen zeigen nur die Singles höhere Werte (Anders & Goldey, 2010).

1.3. Oxytocin

Oxytocin (OT) ist ein Peptidhormon aus neun Aminosäuren, welches in den magnozellulären Neuronen im Nucleus paraventricularis (PVN) und Nucleus supraopticus (SON), zwei Kerne des Hypothalamus, produziert wird. Von den neurosekretorischen Zellen des Hypothalamus gelangt OT durch axonalen Transport in die Neurohypophyse, wo es gespeichert wird. Durch Nervenimpulse wird es in die Blutbahn abgegeben. In diesem Fall ist OT an ein Trägerprotein, das Neurophysin, gebunden. Beide werden gemeinsam aus demselben Prohormon gebildet. Durch die Bindung an Neurophysin wird die Halbwertszeit im Blut von 3 Minuten auf 30 Minuten erhöht, da OT nicht von Peptidase abgebaut werden kann (Nelson, 2005). Die OT-produzierenden magnozellulären Neuronen weisen eine besondere Eigenschaft auf. Bei intensiver Stimulation, zum Beispiel beim Saug-Reflex, ziehen sich die Gliazellen zwischen den OT-Neuronen zusammen, wodurch diese näher zueinander liegen und ihre Aktivität synchronisieren. Dies führt zu einer erhöhten Feuerrate der magnozellulären Neuronen und zu einem pulsartigen Ausstoß von OT in die Blutbahn (Richard 1991 zitiert in Uvnäs-Moberg, 1998a).

Die parvozellulären Neuronen des PVN projizieren vor allem ins Gehirn, wo OT als Neurohormon agiert (Nelson, 2005). Die oxytocinergischen Fasern innervieren das limbische System, die Mandelkerne, den Hippocampus, den Hirnstamm, die Eminentia

mediana und andere Teile des Hypothalamus (Hadley, 1996). Die Affinität zur Bindung an die Rezeptoren wird durch die Steroidhormone Östrogen und Progesteron erleichtert und die Expression von OT-Rezeptoren erhöht (Johnson, 1992; Pederson et al., 1992; Schumacher et al., 1992). Vor allem durch Östrogen-priming werden die Effekte von OT auf das Verhalten verstärkt (Insel, 1990).

Einer der ersten bei OT erforschten Aspekte ist der Einfluss dieses Hormons auf die Kontraktion der glatten Muskulatur des Uterus bei der Geburt und beim Milcheinschuss während des Säugen (Nelson, 2005). In letzter Zeit wurden aber auch immer mehr, teils widersprüchliche Effekte auf eine Reihe anderer physiologischer Prozesse, wie Nahrungsaufnahme, Metabolismus, Thermoregulation, Regulation von Blutdruck, Nierenfunktion und Bewegung entdeckt. Der Einfluss von OT hängt von vielen Faktoren ab: Tierart, Art und Häufigkeit der Verabreichung, Dosis, Länge der Beobachtung und andere experimentelle Effekte. Zum Beispiel wurde bei Ratten nachgewiesen, dass OT die Ausschüttung von Wachstumshormonen durch die Hypophyse begünstigt. Bei Primaten und beim Menschen zeigt es jedoch eine hemmende Wirkung (Review: Uvnäs-Moberg, 1998a). Neben physiologischen Prozessen beeinflusst OT auch das Verhalten auf unterschiedliche Weise.

1.3.1. Oxytocin und Verhalten

Oxytocin spielt eine große Rolle bei der Ausbildung von Beziehungen, sowohl bei Mutter-Kind-Beziehungen als auch Paarbindungen. Bei Ratten und bei Schafen bewirkt OT das Einsetzen von mütterlichem Verhalten, wodurch die Jungtiere mit geringerer Wahrscheinlichkeit vom Weibchen zurückgewiesen werden (Insel, 1990; Keverne & Kendrick, 1992; Pedersen, 1992). Des Weiteren fanden Kendrick & Keverne (1992) heraus, dass bei den Schafen bei der Geburt die vaginale Stimulation eine Ausschüttung von OT bewirkt, welche die Ausbildung der Mutter-Kind-Bindung

erleichtert (Insel & Young, 2001). OT in mütterlichen Ratten steigert deren Aggression gegenüber Eindringlingen, dabei scheint OT durch seinen Anstieg während der Nestverteidigung die Aggression zu unterstützen (Bosch et al., 2005).

Der Einfluss von OT auf die Entstehung einer Paarbindung wurde oftmals an der monogamen Präriewühlmaus (*Microtus ochrogaster*) untersucht, da die klassischen Labortiere wie Ratten und Mäuse keine längerfristigen sozialen Bindungen ausbilden (Wang & Aragona, 2004). Wenn eine Paarbindung zwischen zwei Präriewühlmäusen gebildet wird, wird diese durch Kopulationen zu Beginn der Kohabitation gekräftigt (Williams et al., 1992). Eine Behandlung mit OT weist den gleichen Effekt auf, und erleichtert die Ausbildung einer Partnerpräferenz (Cho et al., 1999; Williams et al., 1992, 1994). Dies trifft bei männlichen Präriewühlmäusen nicht zu (Cho et al., 1999; Winslow et al., 1993), jedoch erleichtert eine neonatale Behandlung bei den Männchen die Ausbildung einer Partnerpräferenz (Bales & Carter, 2003; DeVries et al., 1996). Auch in der verwandten Art *Microtus mandarinus* bewirkt OT eine Erleichterung der Paarbildung (Jia et al., 2008). Beim Schwarzbüschelaffen beschleunigt OT die Paarbildung, indem es das Sozialverhalten der Affen verändert. OT-behandelte Affen zeigen öfter sozialen Kontakt und Nähe zum anderen Individuum (Smith et al., 2010). Beim Menschen bewirkt OT während partnerschaftlichen Konflikten, dass mehr positives Verhalten auftritt (Ditzen et al., 2009). In Meerschweinchen korreliert die Ausschüttung von OT im Männchen mit jener des Weibchens, wenn sie eine Paarbindungen ausgebildet haben (Barth, 1997; Machatschke, 1998).

OT und Sexualverhalten zeigen wechselwirkende Effekte aufeinander. Die Plasmakonzentration von OT nimmt während sexueller Aktivität beim Mann und bei der Frau zu (Carmichael et al., 1987), und OT wird beim Mann während der Ejakulation ausgeschüttet (Murphy et al., 1987). Neben der genitalen Stimulation wird OT auch durch Berührungen ausgeschüttet und vermittelt in beiden Fällen soziopositive Gefühle

(Hiller, 2004; Uvnäs-Moberg, 1998b). In weiblichen Ratten bewirkt die Behandlung mit OT ein gesteigertes Lordosisverhalten, während in männlichen Ratten die Zeit zwischen erster Intromission und Ejakulation verkürzt wird (Arletti et al., 1992; Caldwell et al., 1986, 1989; Schumacher et al., 1992; Windle et al., 2004). Bei männlichen Ratten reduziert ein OT-Antagonist das sexuelle Interesse und die Leistungsfähigkeit; gleichzeitig kann die Verabreichung von OT eine Erektion hervorrufen (Argiolas et al., 1986; Argiolas, 1992). Withuhn et al. (2003) zeigte, dass weibliche Ratten durch die Behandlung von OT früher geschlechtsreif wurden.

Oxytocin scheint auch das soziale Gedächtnis zu beeinflussen, was einen weiteren wichtigen Faktor in der Paarbindung darstellen könnte (Carter et al., 1995). Bei Ratten erhöhen geringe Dosen von OT das Wiedererkennen anderer Individuen (Benelli et al., 1995; Popik et al., 1992). OT-knockout Mäuse haben Probleme, vertraute Artgenossen wiederzuerkennen, was darauf hinweist, dass OT bei Mäusen wichtig für das soziale Gedächtnis ist (Winslow & Insel, 2002). Der gleiche Effekt konnte auch beim Mensch gezeigt werden: soziales Wiedererkennen wurde durch OT erleichtert (Rimmele et al., 2009).

1.3.2. HPA-Achse und Oxytocin

HPA-Achse ist die Abkürzung für Hypothalamus-Pituitary-Adrenal axis (auf deutsch: Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse). Diese Achse umschreibt die Kaskade von Hormonausschüttungen bei einer Stressantwort. Durch einen Stressor wird im Hypothalamus CRF ausgeschüttet und die Hypophyse angeregt, woraufhin letztere das adrenocorticotrope Hormon (ACTH) ausschüttet. Die ACTH-Ausschüttung stimuliert die Nebennierenrinde dazu Glucocorticoide, wie z.B. Cortisol (CORT), auszuschütten. Diese Kaskade dauert wenige Minuten und wird daher auch als langsame Stressantwort bezeichnet. An der schnellen Stressantwort ist

das sympathische System beteiligt, wobei vom Nebennierenmark Epinephrin ausgeschüttet wird. Dies dauert nur wenige Sekunden (Nelson, 2005).

Eine Stressantwort kann dem Organismus helfen, Konfliktsituationen zu bewältigen, indem Energie bereitgestellt wird, Schmerzwahrnehmung reduziert, sensorische Funktionen gesteigert und energetisch teure Prozesse (z.B.: Reproduktion) gehemmt werden. Stressantworten, die über längere Zeiträume anhalten oder wiederkehren, können zu verschiedenen Erkrankungen und Schäden im Organismus führen (Nelson, 2005).

Neben anderen Hormonen wird auch Oxytocin während einer Stressantwort parallel zur Aktivierung der HPA-Achse ausgeschüttet (Gibbs, 1986; Lang et al., 1983), wodurch OT eine anxiolytische Funktion zugeschrieben wird. Bei laktierenden Ratten konnte gezeigt werden, dass ihre physiologische Stressantwort und ihr Angstverhalten reduziert waren; und gleichzeitig OT ausgeschüttet wird (Altemus, 1995). Im Vergleich dazu wird bei laktierenden Frauen die HPA-Achse nicht generell gehemmt. Eher wird weniger CORT nach Konfrontation mit einem psychosozialen Stressor ausgeschüttet, wenn vorher das Kind gestillt wurde (Heinrichs et al., 2001). Während der Stressantwort kann OT an verschiedenen Stellen der HPA-Achse hemmende Wirkungen zeigen. In Totenkopfäffchen bewirkt die wiederholte Behandlung mit OT eine Abschwächung von ACTH (Parker et al., 2005), während es in Ratten die Konzentration von CRF vermindert (Windle et al., 2004). In beiden Fällen bewirkt die Hemmung der beiden Hormone nur eine Abschwächung der neuroendokrinologischen Stressantwort, da die Nebennierenrinde CORT in geringeren Mengen ausschüttet. Beim Mensch bewirkt die Verabreichung von OT, dass nach einem Konflikt innerhalb eines Paares das CORT im Plasma einen geringeren Anstieg aufweist (Ditzen, 2009). Des Weiteren hat Heinrichs et al. (2003) herausgefunden, dass OT den Effekt auf die HPA-Achse von „social support“ verstärkt, wodurch Angst weiter gesenkt wird. Beim Meerschweinchen wurden ähnliche Erkenntnisse gefunden, indem die Tiere mit einem

Tonsignal gestresst wurden und die verpaarten Tiere kürzere Zeit im „freezing“ (Verhaltensstarre als Stressantwort) blieben als die unverpaarten Tiere. Außerdem zeigte das Paar synchronisierte Ausschüttung von OT (Machatschke, 1998).

1.4. Tiermodell Meerschweinchen

Für diese Arbeit wurde das Meerschweinchen als Modellorganismus verwendet. Das Hausmeerschweinchen (*Cavia aperea f. porcellus*) ist ein weitverbreitetes Labor- und Haustier, dessen Sexual- und Sozialverhalten sehr gut untersucht ist (Kunkel & Kunkel, 1964). Meerschweinchen weisen ein komplexes polygynes Sozialsystem auf, das durch langandauernde Partnerpräferenzen zwischen Männchen und Weibchen geprägt ist.

Bei einer Individuenzahl unter 20 Tieren findet man innerhalb der Männchen eine lineare Rangordnung. Das α-Männchen gewinnt die meisten Auseinandersetzungen mit den anderen Männchen und hat auch die meisten sexuellen Kontakte mit den Weibchen (Kunkel & Kunkel, 1964; Sachser, 1986). Ab einer Individuenzahl von ca. 20 Tieren verändert sich die soziale Struktur in der Gruppe. Es bilden sich langandauernde Beziehungen zwischen Männchen und Weibchen aus, wodurch kleinere Harems innerhalb der großen Kolonie entstehen. Das α-Männchen eines Harems wird als Owner bezeichnet (Sachser, 1983). Es zeigt sexuelles Interesse nur zu seinen Weibchen und respektiert den Weibchenbesitz der anderen Owner. Der Harem eines Männchens kann bis zu 7 Weibchen umfassen. Bei 2 bis 3 Harems innerhalb der Kolonie leben sie in nichtüberlappenden Territorien (Sachser, 1990). Wenn die Haremszahl steigt, dann kommen auch Harems vor, die keine fixen Territorien haben und deren Owner den Raum um sich verteidigen (Sachser, 1986).

Die restlichen Männchen in der Kolonie werden als Non-Owner bezeichnet. Diese Männchen können soziale Beziehungen zu bestimmten Weibchen aufbauen und

leben im Gebiet des jeweiligen Harems. Solange sie kein sexuelles Interesse an den Weibchen zeigen, werden sie vom Owner toleriert. Eine zweite Variante der Non-Owner sind die Omega-Männchen, welche weder räumliche noch soziale Präferenzen aufweisen. Sie sind die rangniedrigsten Männchen innerhalb der großen Kolonie (Sachser, 1983, 1986, 1990). Innerhalb der Weibchen eines Harems beschrieb Sachser (1984) auch die Ausbildung einer linearen Rangordnung (zitiert in Sachser, 1986).

Das Sozialsystem der Meerschweinchen ist von Paarbindungen zwischen Männchen und Weibchen stark geprägt. Diese Paarbindungen sind auch außerhalb der Reproduktionsperiode nachzuweisen. Die Zahl der Paarbindungen zu einem Weibchen bestimmt die Position des Männchens innerhalb der gesamten Kolonie. Bei Veränderungen der Dominanzhierarchie werden Non-Owner mit Bindungen zu mehreren Weibchen leichter zum nächsten Owner (Sachser, 1990). Der Ausgang agonistischer Interaktionen zwischen Männchen hängt vom Fortpflanzungszustand der jeweiligen Weibchen, dem Ort der Interaktion und von der Nähe der jeweiligen Weibchen ab. Owner im eigenen Territorium in der Nähe ihrer Weibchen sind hauptsächlich die Sieger solcher Auseinandersetzungen (Sachser, 1983).

Diese sozialen Strukturen wurden von Sachser (1990) als „Healthy social system“ bezeichnet. Er zeigte, dass die Männchen in großen Kolonien keine erhöhte Nebennierenrinden-Aktivität gegenüber Männchen, welche mit einem Weibchen gehalten wurden, aufweisen. Da die Owner den Weibchenbesitz anderer Owner respektieren und zugleich die sozialen Beziehungen der Non-Owner zu ihren Weibchen tolerieren, kommt es nur zu wenigen Auseinandersetzungen innerhalb der Kolonie (Sachser, 1990), was als Erklärung für die normale NNR-Aktivität herangezogen werden kann.

1.5. EthoVision XT 7.0

In dieser Arbeit wurde zum ersten Mal das Verhalten von Meerschweinchen mit Hilfe des Software-Programms EthoVision (Noldus, Waringen/Niederlande) ausgewertet. Im Vergleich zu Observer (Noldus, Waringen/Niederlande), welches bei vorangegangen Studien an Meerschweinchen verwendet wurde (Barth, 1997; Machatschke, 1998), ist EthoVision ein automatisches Video-Auswertungssystem. Das bedeutet, dass es nach manueller Identifizierung der Tiere selbstständig auswertet. Dazu errechnet sich das Programm von jedem Individuum bei jeder Messung die Koordinaten, anhand derer verschiedenste räumliche Parameter analysiert werden können (Noldus et al., 2002).

Aufgrund der automatischen Auswertung ermöglicht EthoVision neue Dimensionen von Verhaltensbeobachtungen. Mit Hilfe von EthoVision kann das Verhalten einer größeren Zahl an Individuen gleichzeitig über einen größeren Zeitraum ausgewertet werden. Des Weiteren ermöglicht es auch die zeitgleiche Auswertung mehrerer Versuchsarenen. Der Großteil der Studien, die EthoVision verwendeten, wurden an Labormäusen und -ratten durchgeführt, um beispielsweise das Verhalten während eines Schwimmtests oder Angstverhalten zu untersuchen (Hédou et al. 2001; Juszczak et al. 2008; Pham et al. 2009); aber auch das Verhalten einer Vielzahl anderer Tierarten wurde analysiert: Insekten, Schnecken, Fische, Primaten und Nutztiere (u.a. Ruzicka & Zemek 2008; Schüder et al. 2004; Sustr et al. 2001; Walton et al. 2006; Wong et al. 2010).

1.6. Zielsetzung

Bisher konnte mehrfach nachgewiesen werden, dass Meerschweinchen Paarbindungen eingehen, die auch außerhalb der Reproduktionsphase anhalten (Barth, 1997; Machatschke, 1998; Sachser, 1983, 1986, 1990). Des Weiteren gibt es

Hinweise auf „female choice“, da erst durch die Akzeptanz des Weibchens gegenüber dem Sexualverhalten des Männchens eine Paarbindung entsteht (Barth, 1997; Machatschke, 1998). Nun stellt sich die Frage, wodurch die Entstehung einer solchen Paarbindung beeinflusst werden kann. Da das Hormon Oxytocin in verpaarten Meerschweinchen synchron ausgeschüttet wird (Barth, 1997; Machatschke, 1998) und bei anderen Tierarten die Paarbildung erleichtert (Cho et al., 1999; Jia et al., 2008; Smith et al., 2010), ist es naheliegend, den Effekt von OT auf die Paarentstehung in Meerschweinchen genauer zu betrachten.

Die Arbeitshypothese besagt, dass OT die Diskriminierung der Männchen durch die Weibchen reduziert und dadurch eine Paarbindung beschleunigt. Um diese Arbeitshypothese zu untersuchen, wurden weibliche Meerschweinchen über die Länge eines Östruszyklus mit einem OT-Nasenspray behandelt. Diese Behandlung sollte dazu führen, dass die Weibchen eine konstant erhöhte OT-Konzentration aufweisen. Die nasale Gabe bewirkt, dass das Hormon direkt in das Gehirn gelangt (Hanson & Frey, 2008). Am Tag des zweiten Östrus wurden die Weibchen für eine Woche mit einem Männchen zusammengeführt, in der sie die Möglichkeit zur Paarbildung hatten. Um die OT-Konzentration beizubehalten, wurden die Weibchen weiterhin mit OT behandelt. Der Kontrollgruppe wurde isotonische Salzlösung über die Nase verabreicht.

Die entstandene Paarbindung wurde anhand des Paarungsverhaltens und den Distanzen zwischen den Tieren untersucht. Um etwaige Einflüsse auf die HPA-Achse zu erkennen, wurde von den Meerschweinchen Speichelproben genommen und die Cortisol-Konzentration bestimmt, wobei die OT-behandelten Tiere geringere Schwankungen in der Konzentration aufweisen sollten.

1.7. Literaturangaben

Adkins-Regan E (2009): Neuroendocrinology of social behavior. ILAR Journal, 50: 5-14.

Altemus M (1995): Neuropeptides in anxiety disorders: effects of lactation. In: Chrousos GP, McCarty R, Pacák K, Cizza G, Sternberg E, Gold PW, Kvetnansky R (Eds.), Stress: Basic Mechanisms and Clinical Implications. Annals of the NY Academy of Sciences, 771: 697-707.

Altmann SA (1962): A field study of the sociobiology of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). Annuals of the NY Sciences, 102: 338-435.

Anders SM, Goldey KL (2010): Testosterone and partnering are linked via relationship status for women and `relationship orientiation´ for men. Hormones and Behavior, 58: 820-826.

Aragona BJ, Wang Z (2004): The Prairie vole (*Microtus ochrogaster*): An Animal Model for Behavioral Neuroendocrine Research on Pair Bonding. ILAR Journal, 45: 35-45.

Argiolas A, Melis MR, Gessa GL (1986): Oxytocin: An extremely potent inducer of penile erection and yawning in male rats. European Journal of Pharmacology, 130: 265-272.

Argiolas A (1992): Oxytocin stimulation of penile erection: Pharmacology, site, and mechanism of action. In: Pedersen CA, Caldwell JD, Jirikowiski GF, Insel TR (Eds.), Oxytocin in Maternal, Sexual and Social Behaviors. Annals of the NY Academy of Sciences, 652: 194-203.

Arletti R, BenelliA, Bertolini A (1992): Oxytocin involvement in male and female sexual behavior. In: Pedersen CA, Caldwell JD, Jirikowiski GF, Insel TR (Eds.), Oxytocin in Maternal, Sexual and Social Behaviors. Annals of the NY Academy of Sciences, 652: 180-193.

Bales KL, Carter CS (2003): Developmental exposure to Oxytocin facilitates partner preferences in male prairie voles. *Behavioral Neuroscience,* 117: 854-859.

Bales KL, Mason WA, Catana C, Cherry SR, Mendoza SP (2007): Neural correlates of pair-bonding in a monogamous primate. Brain Research, 1184: 245-253.

Barth R (1997): Oxytocin und Paarbindungen beim Meerschweinchen. Diplomarbeit an der Formal- und Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Wien.

Benelli A, Bertolini A, Poggioli R, Menozzi B, Basaglia R, Arletti R (1995): Polymodal dose-response curve for oxytocin in the social recognition test. Neuropeptides, 28: 251-255.

Bosch OJ, Meddle SL, Beiderbeck DI, Douglas AJ, Neumann ID (2005): Brain oxytocin correlates with maternal aggression: link to anxiety. Journal of Neuroscience, 25: 6807-6815.

Caldwell JD, Prange AJ, Pedersen CA (1986): Oxytocin facilitates the sexual receptivity of estrogen-treated female rats. Neuropeptides 7: 175-189.

Caldwell JC, Jirikowski GF, Greer ER, Pedersen CA (1989): Medial preoptic area oxytocin and female sexual receptivity. Behavioral Neurosciences, 103: 655-662.

Carter EC, De Vries AC, Getz LL (1995): Physiological Substrates of Mammalian Monogamy: The Prairie Vole Model. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 19: 303-314.

Carmichael MS, Humbert R, Dixen J, Palmisano G, Greenleaf W, Davidson JM (1987): Plasma oxytocin increases in the human sexual response. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 64: 27-31.

Cho MM, De Vries AC, Williams JR, Carter CS (1999): The effects of oxytocin and vasopressin on partner preferences in male and female prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Behavioral Neuroscience*, 113: 1071-1079.

DeVries AC, DeVries MB, Taymans S, Carter CS (1995): Modulation of pair bonding in female prairie voles by corticosterone. Proceedings of the national academy of Sciences USA, 92: 7744-7748.

DeVries AC, DeVries MB, Taymans S, Carter CS (1996): The effects of stress on social preferences are sexually dimorphic in prairie voles. Proceedings of the national academy of Sciences USA, 93: 11980-11984.

De Vries AC (2002): Interaction among social environment, the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, and behavior. Hormones and Behavior, 41: 405-413.

Ditzen B, Schaer M, Gabriel B, Bodenmann G, Ehlert U, Heinrichs M (2009): Intranasal oxytocin increases positive communication and reduces cortisol levels during couple conflict. Biological Psychiatry, 65: 728-731.

Ebner K, Bosch OJ, Kromer SA, Singewald N, Neumann ID (2005): Release of oxytocin in the rat central amygdala modulates stress-coping behavior and the release of excitatory amino acids. *Neuropsychopharmacology*, 30: 223-230.

Getz LL, Carter CS (1996): Prairie-vole partnerships. American Scientist, 84: 56-62.

Gibbs DM (1986): Stress-specific modulation of ACTH secretion by oxytocin. Neuroendocrinology, 42: 456-458.

Hadley ME (1996): Endocrinology. Prentice Hall Int. Eds., 4th ed.: 127-153.

Hanson L, Frey W (2008): Intranasal delivery bypasses the blood-brain barrier to target therapeutic agents to the central nervous system and treat neurodegenerative disease. BMC Neuroscience, 9 (Suppl. 3): S5.

Hédou G, Pryce C, Di Iorio L, Heidbreder CA, Feldom J (2001): An automated analysis of rat behavior in the forced swim test. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 70: 65-76.

Heinrichs M, Baumgartner T, Kirschbaum C, Ehlert U (2003): Social support and oxytocin interact to suppress coritsol and subjective responses to psychosocial stress. Biological Psychiatry, 54: 1389-1398.

Heinrichs M, MeinIschmidt G, Neumann I, Wagner S, Kirschbaum C, Ehlert U, Hellhammer DH (2001): Effects of Suckling on Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Responses to Psychosocial Stress in Postpartum Lactating Women. Journal of clinical Endocrinology and Metabolism, 86: 4798-4804.

Hiller (2004): Speculations on the links between feelings, emotions and sexual behaviour: Are vasopression and oxytocin involved?. Sexual and Relationship Therapy, 19: 393-412.

Insel TR (1990): Oxytocin and Maternal behavior In: Krasnegor N, Bridges R (Eds.): Mammalian parenting: Biochemical, neurobiological and behavioral determinants. New York: Oxford University Press: 260-280.Kunkel P, Kunkel I (1964): Beiträge zur Ethologie des Hausmeerschweinchens. Zeitschrift für Tierpsychologie, 21: 602-641.

Insel TR, Young L (2001): The neurobiology of attachment. Nature Reviews Neuroscience, 2: 129-136.

Jia R, Tai F, An S, Broders H, Sun R (2008): Neonatal manipulation of oxytocin influences the partner preference in mandarin voles (*Microtus mandarinus*). *Neuropeptides*, 42: 525-533.

Johnson AE (1992): The regulation of Oxytocin receptor binding in the ventromedial hypothalamic nucleus by gonadal Steroids. In: Pedersen CA, Caldwell JD, Jirikowiski GF, Insel TR (Eds.), Oxytocin in Maternal, Sexual and Social Behaviors. Annals of the NY Academy of Sciences, 652: 357-373.

Jokela M, Rotkirch A, Rickard IJ, Pettay J, Lummaa V (2010): Serial monogamy increases reproductive success in men but not in women. Behavioral Ecology, 21: 906-912.

Juszczak GR, Lisowski P, Sliwa AT, Swiergiel AH (2008): Computer assisted video analysis of swimming performance in a forced swim test: Simultaneous assessment of duration of immobility and swimming style in mice selected for high and low swim-stress induced analgesia. Physiology and Behavior, 95: 400-407.

Kleiman DG (1977): Monogamy in Mammals. Quarterly Reviews of Biology, 52: 39-69.

Kendrick, KM, Keverne EB (1992): Control of synthesis and release of oxytocin in the sheep brain. In: Pedersen CA, Caldwell JD, Jirikowiski GF, Insel TR (Eds.), Oxytocin in Maternal, Sexual and Social Behaviors. Annals of the NY Academy of Sciences, 652: 83-101.

Keverne EB, Kendrick KM (1992): Oxytocin facilitation of maternal behavior in sheep. In: Pedersen CA, Caldwell JD, Jirikowiski GF, Insel TR (Eds.), Oxytocin in Maternal, Sexual and Social Behaviors. Annals of the NY Academy of Sciences, 652: 83-101.

Kunkel P, Kunkel I (1964): Beiträge zur Ethologie des Hausmeerschweinchens. Zeitschrift für Tierpsychologie, 21: 602-641.

Lang RE, Heil JWE, Ganten D, Hermann K, Unger T, Rascher W (1983): Oxytocin unlike vasopressin is a stress hormone in the rat. Neuroendocrinology, 37: 314-316.

Liu Y, Curtis JT, Wang ZX (2001): Vasopressin in the lateral septum regulates pair bond formation in male prairie voles (*Microtus ochrogaster*). Behavioral Neurosciences, 115: 910-919.

Machatschke I (1998): Paarbindung und Stressmanagement bei Meerschweinchen (Cavia aperea f. porcellus). Diplomarbeit an der Formal- und Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Wien.

Murphy MR, Seckl JR, Burton S, Checkley SA, Lightman SL (1987): Changes in oxytocin and vasopressin secretion during sexual activity in men. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 65: 738-741

Nelson RJ (2005): An Introduction to Behavioral Endocrinology. Sinauer Associates, Inc. Publishers, 3rd ed. Sunderland, Massachusetts, USA: 54, 77-81, 421, 743-744, 791.

Noldus LPJJ, Spink AJ, Tegelenbosch RAJ (2002): Computerised video tracking, movement analysis and behaviour recognition in insects. Computers and Electronics in Agriculture, 35: 201-227.

Parker KJ, Buckmaster CL, Schatzberg AF, Lyons DM (2005): Intranasal oxytocin administration attenuates the ACTH stress response in monkeys. Psychoneuroendocrinology 30, 924-929.

Pedersen CA, Caldwell JD, Peterson G, Walker CH, Mason GA (1992): Oxytocin activation of maternal behavior in the rat. In: Pedersen CA, Caldwell JD, Jirikowiski GF, Insel TR (Eds.), Oxytocin in Maternal, Sexual and Social Behaviors. Annals of the NY Academy of Sciences, 652: 58-69.

Pham J, Cabrera SM, Sanchis-Segura C, Wood MA (2009): Automated scoring of fear-related behavior using EthoVision software. Journal of Neuroscience Methods, 178: 323-326.

Pizzuto T, Getz LL (1998): Female prairie voles (*Microtus ochrogaster*) fail to form a new pair after loss of mate. Behavioral Processes, 43: 79-86.

Popik P, Vetulani J, van Ree JM (1992): Low doses of oxytocin facilitate social recognition in rats. Psychopharmacology, 106: 71-74.

Richard P, Moos F, Freund-Mercier MJ (1991): Central effects of oxytocin. Physiological Reviews, 71: 331-370.

Rilling JK, Winslow JT, Kilts CD (2004): The neural correlates of mate competition in dominant males Rhesus macaques. Biological Pscychiatry, 56: 364-375.

Rimmele U, Hediger K, Heinrichs M, Klaver P (2009): Oxytocin makes a face in memory familiar. Journal of Neuroscience, 29: 38-42.

Ruzicka Z, Zemek R (2008): Deterrent effects of larval tracks on conspecific larvae in *Cycloneda limbifer*. Biological Control, 53: 763-771.

Sachser N (1983): Soziale Beziehungen, räumliche Organisation und Verteilung agonistischer Interaktionen in einer Gruppe von Hausmeerschweinchen (*Cavia aperea f. porcellus*). Zeitschrift für Säugetierkunde, 48: 100-109.

Sachser N (1984): Auswirkungen unterschiedlicher sozialer Situationen auf Verhalten und Physiologie von Hausmeerschweinchen. Thesis, University of Bielefeld, West Germany.

Sachser N (1986): Different forms of social organization at high and low population densities in guinea pigs. Behaviour, 97: 253-272.

Sachser N (1990): Social Organisation, social Status; behavioural strategies and endocrine responses in male guinea pigs. In: Balthazart J (ed.), Hormones, Brain and Behaviour in Vertebrates; 2. Behavioural Activation in Males and Females – Social Interaction and Reproductive Endocrinology. Comparative Physiology, 9: 176-187. Basel, Karger.

Schüder I, Port G, Bennison J (2004): The dose-dependent responses of *Deroceras panormitanum* and *Oxyloma pfeifferi* to potential novel molluscicides. Crop Protection, 23: 945-953.

Schumacher M, Coirini H, Flanagan LM, Frankfurt M, Pfaff DW, McEwen BS (1992): Ovarian Steroid modulation of oxytocin receptor binding in the ventromedial hypothalamus. In: Pedersen CA, Caldwell JD, Jirikowiski GF, Insel TR (Eds.), Oxytocin in Maternal, Sexual and Social Behaviors. Annals of the NY Academy of Sciences, 652: 374-386.

Smith AS, Agmo A, Birnie AK, French JA (2010): Manipulation of the oxytocin system alters social behavior and attraction in pair-bonding primates, *Callithrix penicillata*. Hormones and Behavior, 57: 255-262.

Sustr P, Spinka M, Cloutier S, Newberry RC (2001): Computer-aided method for calculating animal configurations during social interactions from two-dimensional coordinates of color-marked body parts. Behavior Research Methods, Instruments, and Computers, 33: 364-370.

Uvnäs-Moberg K (1998a): Antistress pattern induces by oxytocin. News Physiological Science, 13: 22-25.

Uvnäs-Moberg K (1998b): Oxytocin may mediate the benefit of positive social interactions and emotions. Psychoneuroendocrinology, 819-835.

Walton A, Branham A, Gash DM, Grondin R (2006): Automated video analysis of age-related motor deficits in monkeys using EthoVision. Neurobiology of Aging, 27: 1477-1483.

Wang Z, Aragona BJ (2004): Neurochemical regulation of pair bonding in male prairie voles. Physiology and Behavior, 83: 319-328.

Williams JR, Carter CS, Insel TR (1992): Partner preference development in female prairie voles is facilitated by mating or the central infusion of oxytocin. In: Pederson CA, Caldwell JD, Jirikowski GF, Insel TR (Eds.), Oxytocin in Maternal, Sexual and Social Behaviors. Annals of the New York Academy of Sciences, 652: 487-489.

Williams JR, Insel TR, Harbaugh CR, Carter CS (1994): Oxytocin administered centrally facilitates formation of a partner preference in female prairie voles. Journal of Neuroendocrinology, 6: 247-250.

Windle RJ, Kershaw YM, Shanks N, Wood SA, Lightman SL, Ingram CD (2004): Oxytocin attenuates stress-induced c-fos mRNA expression in specific forebrain regions associated with modulation of hyothalamo-pituitary-adrenal activity. Journal of Neuroscience, 24: 2974-2982.

Winslow JT, Hastings N, Carter CS, Harbaugh CR, Insel TR (1993): A role for central vasopressin in pair bonding monogamous prairie voles. Nature, 365: 545-548.

Winslow JT, Insel TR (2002): The social deficits of the oxytocin knockout mice. Neuropeptides, 36: 221-229.

Withuhn T, Kramer KM, Cushing BS (2003): Early exposure to oxytocin affects the age of vaginal opening and first estrus in female rats. Physiology and Behavior, 80: 135-138.

Wolff JO, Mech SG, Dunlap AS, Hodges KE (2002): Multi-male mating by paired and unpaired female prairie voles (*Microtus ochrogaster*). Behavior, 139: 1147-1160.

Wong K, Stewart A, Gilder T, Wu N, Frank K, Gaikwad S, Suciu C, DiLeo J, Utterback E, Chang K, Grossman L, Cachat J, Kalueff AV (2010): Modeling seizure-related behavioral and endocrine phenotypes in adult zebrafish. Brain Research, 1348: 209-215.

Young LJ, Lim MM, Gingrich B, Insel TR (2001): Cellular mechanisms of social attachment. Hormones and Behavior, 40: 133-138.

Young LJ, Murphy-Young AZ, Hammock EAD (2005): Anatomy and Neurochemistry of the pair bond. The Journal of comparative neurology, 49: 51-57.

Young L, Wang Z (2004): The neurobiology of pair-bonding. Natural Neuroscience, 7: 1048-1054.

2.1. Effects of Oxytocin on pairbond-formation in female guinea pigs (*Cavia aperea f. porcellus*)

ABSTRACT

Pair bonds are long-lasting selective preferences between two individuals that have a profound impact on physiology and behaviour. The neuropeptide oxytocin (OT) plays an important role as it is involved in pair formation and may suppress maladaptive effects of the stress response. In the present study, female guinea pigs were pretreated intranasally either with OT (N = 10) or isotonic saline solution (N = 10) over one oestrus cycle. Thereafter, each female was kept together with a male for one week. During this period, OT- or control treatments were continued, mating and spatial behaviour was recorded for 10h per day and analysed with the software program EthoVision XT. Results revealed that the latency to copulation was shorter in OT-treated females compared to controls. During the cohabitation phase, OT-treated females spent time more in close distance to the male. In addition, synchronous feeding with the male was more frequently observed in OT-treated females. OT also seemed to affect on activity levels. OT-treated females covered shorter distances and spent less time mobile than controls. The results indicate that OT positively affects partner acceptance and pair formation in guinea pigs. Lower mobility levels may reflect calming effects of OT-treatment. Salivary cortisol concentrations did not differ between OT-treated and control females neither during isolation nor during cohabitation with the male.

INTRODUCTION

Pair bonds can be defined as long-lasting, selective preferences between two individuals throughout breeding and non-breeding seasons. They are characterized by close physical contact, frequent socio-positive interactions, and rare or no conflicts between the partners (Carter et al., 1995; Mason & Mendoza, 1998). The establishment of partner preferences and subsequent pair bonds enhance reproductive success via mating success, defence of resources and brood care. Secondly, they facilitate social support and may attenuate the stress response (Ebner et al., 2005; Uvnäs-Moberg, 1998a; 1998b).

The physiology of pair bonds has been well documented for the prairie vole, an extreme example of monogamy in mammals (Getz & Carter, 1996; Pizzuto & Getz, 1998), where social stimuli and copulations promote partner preferences. Similar effects were documented following hormonal treatment, e.g. vasopressin, dopamin and oxytocin (Aragona & Wang 2004; Cho et al. 1999; Winslow et al. 1993). However, these bonds are not necessarily restricted to monogamous species. Guinea pigs (*Cavia aperea f. porcellus*) have a polygynous mating system where females often establish social bonds not only with the harem holder or owner but also with other males, although they copulate almost exclusively with the owner (Sachser, 1986). In Rhesus monkeys (*Macaca mulatta*), a species distinguished by a multi-male, multi-female social system, a pair may establish a so-called “consortship” during ovulation. At this time, females exhibit temporary preferences for their favourite males (Altman, 1962). Finally in Western societies, humans often exhibit so-called serial monogamous bonds, i.e., one after another (Jokela et al., 2010).

In mammals the establishment of pair bonds is controlled by various brain regions, with the ventral pallidum, the nucleus accumbens, the ventral tegmental area,

the medial amygdala and the lateral septum having been identified. These regions mainly regulate the reward-system and have been connected with social memory (Liu et al., 2001; Young et al., 2001, 2005). Several hormones and neurotransmitters such as oxytocin (OT), vasopressin (AVP), corticotrophine-releasing factor (CRF) and dopamine have been shown to be involved in pair bonding. Studies on prairie voles revealed that OT and AVP facilitated the formation of pair bonds (Aragona & Wang, 2004; Cho et al., 1999; Winslow et al., 1993; Young et al., 2005). Likewise, in humans, OT and AVP are known to be released in response to sexual arousal. Sexual intimacy facilitates the formation of emotional bonds. These findings indicate that the reward system of the brain and the hormones OT and AVP are the neurological base of social bonding in humans (Aron et al., 2005; Bartels & Zeki, 2004; Young et al., 2005; Zeki, 2007). Furthermore, pair bonds cause a down-regulation of adrenal-activity, which is seen by a low concentration of glucocorticoids (CORT) (prairie-voles: DeVries et al., 1995; guinea pigs: Machatschke et al., 2004).

Oxytocin is a neuropeptide, that is synthesized in the cell bodies of the magnocellular neurons of the supraoptic and paraventricular nuclei of the hypothalamus. It is transported down the axons into the posterior pituitary. There, it is released and enters the bloodstream (Nelson, 2005). Axons from the cells of the paraventricular nuclei extend to the limbic system, the amygdala, the hippocampus, the brain stem, the eminentia mediana and other parts of the hypothalamus (Hadley, 1996). In these areas, OT can act as a neurotransmitter or a neurohormone (Nelson, 2005).

Well-known functions of oxytocin are the activation of uterine contraction during parturition and the suckling reflex (Nelson, 2005) which facilitates the onset of the mother-infant bonding (Insel, 1990; Keverne & Kendrick, 1992; Pederson et al., 1992). Oxytocin-release increases the sexual interest and mating efficiency in male rats and rabbits. It shortens the ejaculation latency in male rats (Argiolas, 1992;

Arletti et al., 1992), and enhances sexual receptivity in females (Arletti et al., 1992; Caldwell et al., 1989; Schumacher et al., 1992). In addition, OT at low dosage facilitates social recognition in rats (Benelli et al., 1995), which is essential for the development of pair bonds (Carter et al., 1995; Ferguson et al., 2002). Several studies on the monogamous prairie vole (*Microtus ochrogaster*) reported accelerated partner preferences after OT administration (Bales & Carter, 2003; Cho et al., 1999; Williams et al., 1994). A similar effect on pair-bonding was found in black-pencilled marmosets (*Callithrix penicillata*) (Smith et al., 2010).

Oxytocin also plays an important role in the stress response. In rats and in squirrel monkeys, OT attenuates the levels of CRF and ACTH, respectively (Parker et al., 2005; Windle et al., 2004). In humans, intranasal administration of OT increases sociopositive behaviour during a couple conflict and decreases CORT afterwards (Ditzen et al., 2009). The conclusion can be drawn that OT is released during social and sexual contact to fasten the formation of social bonds and to down-regulate the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in response to stressors (Ebner et al., 2005; Uvnäs-Moberg, 1998b).

In the present work, we used the guinea pig (*Cavia aperea f. porcellus*), a polygynous rodent species whose social organization is characterized by long-lasting male-female bonds, as model system. OT-reactive neurons and OT receptors have been identified in the same regions that regulate attachment and social behaviour in other rodents, humans and non-human primates (Bales et al., 2007; Liu et al., 2001; Young et al., 2005; Zeki, 2007).

The aim of our study was to investigate whether OT administration affects pair-bonding in females. In earlier studies, mate-choice in female guinea pigs has been documented (Wallner et al., 1996; 2006). Machatschke et al. (2004) compared plasma OT and CORT in pairs in which females had previously exhibited preferences for the

male and ones without established preferences. OT was elevated and CORT levels reduced in females housed with preferred partners. For this study, we hypothesized that long-term OT-treatment would facilitate the acceptance of a male partner in female guinea pigs. In the experiment, females were treated intranasally with OT for one oestrus cycle. Thereafter, they were kept together with a male for one week. Behaviour was registered and quantified with the EthoVision software suite, which enabled the analysis of individual movements and distances between the animals continuously, over extended periods of time. Salivary CORT was sampled throughout the study period to determine potential effects of OT on the HPA-axis. We expected increased spatial cohesion to the male as well as a shorter latency for mating in OT-treated females compared to controls. Furthermore, we expected lower CORT concentrations in OT-treated animals.

METHODS

Animal Maintenance

Domestic guinea pigs (females, N = 20; males, N = 10) from a heterogeneous, multi-coloured stock were used as subjects in the experiment. All animals were intact, socially skilled, and sexually experienced, but unfamiliar and unrelated with each other. Initially kept in isosexual groups in two environmentally enriched enclosures (4 × 4 m each, with shelters, viewing platforms, etc.), guinea pigs were transferred to acclimatization cages (90 × 48 × 40 cm) and housed as singles. Cage floors were covered with standard woodchip bedding material. Subjects were maintained on a light–dark cycle of 12L:12D (lights on at 0800h) and constant temperature conditions (23 ± 2°C). Food was provided ad libitum and consisted of a mixture of guinea pig pellets (Altromin 3022, Altromin, Lage, Germany) and cereals. Water was available ad libitum. Experiments were carried out in accordance with the European Communities

Council Directive 86/609/EEC and complied with the current laws of animal protection as decreed by the Austrian Federal Ministry of Education, Science and Culture.

Experimental design

The experiment consisted of an isolation phase and a subsequent cohabitation phase. On each day of the experiment, the subjects were weighted at 0800h to control their conditional state.

1. Isolation :

Animals were isolated to (i), check the oestrus state in females, and, (ii), avoid potential dominance effects. Isolation lasted approximately for three weeks for females. During this period, their reproductive state was controlled by checking the animals' vaginal closure membranes. Rupture of this membrane was a marker for vaginal and behavioural oestrus (Papanicolaou, 1915). When females entered oestrus, intranasal pre-treatment with oxytocin (Syntocinon spray, Novartis, Basel/Switzerland) started (n = 10). This method provides a direct passage from the nose to the brain, presumably via extraneural transport (Born et al., 2002). It has been validated by several studies on humans (Ditzen et al., 2009; Rimmele et al., 2009; Zak et al. 2007). Per infusion, a female received 4 IU (one puff). In control animals (n = 10), 9% saline solution was used and administered in the same way (Zak et al., 2007). Treatment was done twice a day, at 0845h and 1930h, respectively. Before the morning treatment, a saliva sample was taken. Total time for the handling procedure (weighing, saliva sampling, OT/saline administration) was about five minutes. Males were isolated for one week. Handling procedures were similar to females, but without any treatment.

2. Cohabitation:

The duration of cohabitation was set for one week. It started when the female entered oestrus for the second time. On this day, the female and a male were placed into the cohabitation arena (90 cm x 90 cm x 35 cm). It was equipped with two shelters in opposite corners, as well as two bowls for food and water, respectively (Fig. 1.). Handling procedures and treatments were identical to those of the isolation phase. In the morning of day 8, a final saliva sample was taken, and animals were returned to their original isosexual groups.

We analyzed the daily course of spatial behavior as well as individual means over the complete cohabitation phase between the OT- and control group. In addition, we compared behavioral parameters during the first (day 1-3) and second part (day 4-7) of the cohabitation phase.

Quantification of Behaviour

Behaviour was recorded during the lights phase, with a video camera fixed to the ceiling of the experimental room. For logistical reasons, recording time was from 0900h to 1900h. Behavioural analysis was done with EthoVision 7.0 XT software suite (Noldus, Wageningen/The Netherlands), which enabled detailed and long-term analyses of the individuals' spatial behavior by tracking their movements. To allow the tracking of the individuals by EthoVision, guinea pigs were marked on their back with a red or blue colour point (children carnival make-up, point diameter 5 cm). A sampling rate of 2.5 samples per second was chosen. The cohabitation arena was divided into four virtual acquisition zones (Fig. 1.). The definition of entry-zones in front of the two shelters enabled tracking of animals even when they were not visible to the camera (e.g., inside their shelter). When the animals were tracked in the entry-zones and then became invisible for the camera, they were defined as "inside the shelter" until they

could be detected again in the entry-zone. The parameters feeding and drinking were recorded, when the animals sat in the particular zones. Control observations confirmed that the animals used the respective zones for feeding and drinking.

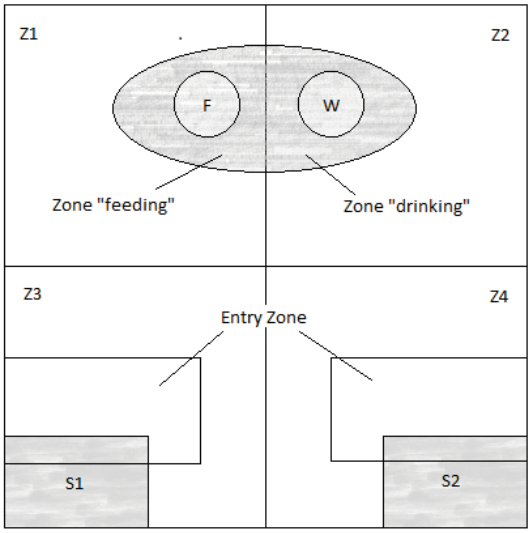


Fig. 1.: Cohabitation arena; size 90 cm x 90 cm. Z1-Z4 … Zone 1-4; F … food bowl; W … water bowl; S1, S2 … Shelter 1, 2.

Behavioural Parameters

We calculated duration and frequency for the following parameters (except "covered distance" and "velocity") and used individual mean values per day for all parameters.

Covered distance per day

This parameter specified the distance, which the female covered over one experimental day. Pre-condition for movement was a minimal velocity of 5 cm/s, thus the individual had to move at least for one body length.

Velocity per day

This parameter was registered when the velocity of the female surpassed 5 cm/s. Mean values per day were calculated.

Mobility/immobility

Mobility was calculated as the time span during which the female moved with a velocity > 5 cm/s. Immobility was defined as moving slower than 5 cm/s. Duration and frequency per day was measured for both behaviours.

Female chasing male/ male chasing female

The first parameter was registered when the female approached the male and the latter moved away. The pre-conditions were: (i) both individuals were inside a radius of 35 cm from each other; (ii) they were moving with a velocity of at least 5 cm/s. The second parameter described the contrary situation.

Copulation

Mating behaviour was not quantified via EthoVision. Only the first hour of cohabitation was used for analysis because, (i), the cohabitation phase started when the female was in oestrus; (ii), previous studies have shown that male sexual behaviour declined after the first hour of cohabitation (Wallner et al., 1996), (iii) no copulations were observed after day 1 in our experiment. Latency of the first copulation conformed to the time code of the video recording. Numbers of copulations were counted during the first hour.

Distance between the pair

The distance between the female and their male was registered when both individuals were outside the shelters.

Moving in distance

This parameter was registered when the female was outside a radius of 35 cm distance to the male. An earlier investigation had demonstrated this distance to be relevant for pair bonding in guinea pigs (Machatschke et al., 2004). The distance of > 35 cm was used because it exeeded one body length and previous observations

showed that beyond this distance the animals did not react to the other individual's movements.

Side-by-side

Side-by-side (Kunkel and Kunkel, 1964) was registered when both individuals were immobile and within a distance of < 20 cm (below one body length) from each other.

In shelter/ feeding/ drinking with or without the male

These parameters were registered when the female or female and male were in the defined zones (Fig. 1.). In shelter with the male was defined as the synchronous use of the same shelter by both individuals.

Saliva sampling and hormone analysis

Saliva samples were taken in the morning, both during isolation and cohabitation. The procedure followed the protocol of Fenske (1997), using Q-tips for sampling. Centrifugation (2500 rpm, 1.006g, 10 min, 4°C) was done to separate saliva from the Q-tip. Samples were then stored at -20°C until analysis.

Cortisol (CORT) was measured using an enzyme-linked immunoassay. The biochemical laboratory of the Veterinary University of Vienna provided the DADOO (diamino-dioxaoctane)-biotinylated cortisol-3CMO labels and bovine serum albumin-coupled antibodies against cortisol-3-CMO. The characteristics and the used cross-reactions have been described elsewhere (Palme & Möstl, 1997).

The inter-assay and intra-assay variation were < 12.17% and 12.02%, respectively.

Statistical analysis

Statistical analysis was done with SPSS 15.0 software suite (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Shapiro-Wilks tests examined the normal distribution of the data set. The differences between the treatment-groups were investigated with the Student's T-Test for normally distributed data sets. Otherwise, Mann-Whitney-U-tests were used. Friedman-ANOVAs with post hoc Wilcoxon tests were applied to investigate potential variation within the week. In case of normality, a repeated measures ANOVA model with post hoc LSD was calculated, using the treatment-control condition as a between-variable. Significance was set at a level of $p \leq 0.050$, two -tailed, with data represented as means ± SEM.

RESULTS

The mean velocity of both the control and oxytocin-treated females changed significantly over the cohabitation week; it was highest during day 1, declined sharply with day 2 and remained rather constant thereafter (Fig. 2.). Velocities did not differ between the treatment-groups throughout the course of the experiment.

Regarding daily covered distance, controls showed significant variation, with a peak on day 1 and subsequent decrease. Daily changes were similar in the OT-group but narrowly missed the significance criterion (ANOVA w. repeated measures: OT-group: $F = 5.437$; $df = 1.025$; $p = 0.057$; controls: $F = 8.334$; $df = 1.948$; $p = 0.006$; LSD: 2-1, 3-1, 4-1, 6-1, 7-1: $p < 0.010$; 5-1, 5-2: $p < 0.050$).

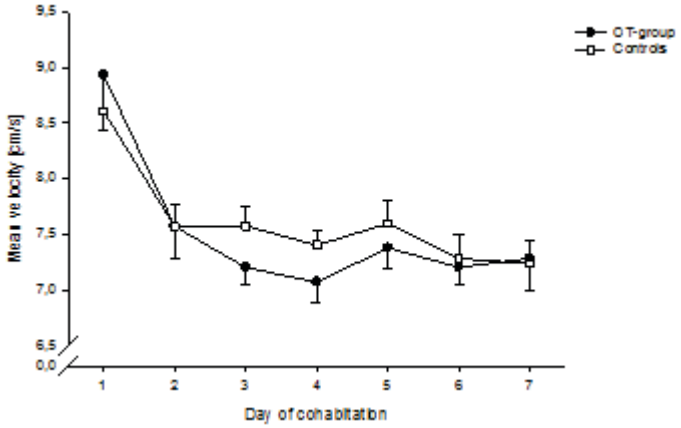


Fig. 2.: Time course of mean velocity per day during cohabitation in OT-treated and control females. OT-group: Friedman-ANOVA: $Chi^2 = 21.943$; df = 6; p = 0.001; Wilcoxon: 3-1, 4-1, 5-1, 6-1: $p < 0.005$; 2-1: $p < 0.020$; controls: ANOVA w. repeated measures: F = 6.702; df = 6; p = 0.000; LSD: 2 till 7 with day 1, 6-3: $p < 0.050$. Mean ± SEM.

Daily covered distanes did not differ between the experimental groups during the first three days after cohabitytion, however, during the second phase (day 4-7) OT-treated females moved significantly shorter distances per day than controls (Fig. 3.).

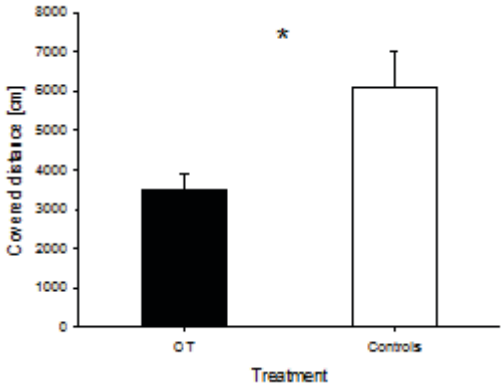


Fig. 3.: Mean covered distance per day during the second part of cohabitation in OT-treated and control females. T-Test: T = - 2.632; df = 18; p = 0.017. Mean + SEM.

The frequencies of mobility exhibited significant time courses for both treatment-groups, with a peak on day 1 and a following decrease (Fig. 4.). Frequency of mobility/day was significantly higher in controls during the second part of cohabitation

(Fig. 5.). Duration of mobility/day differed significantly between the groups, OT-treated females showed lower mobility levels than controls (Fig. 6.).

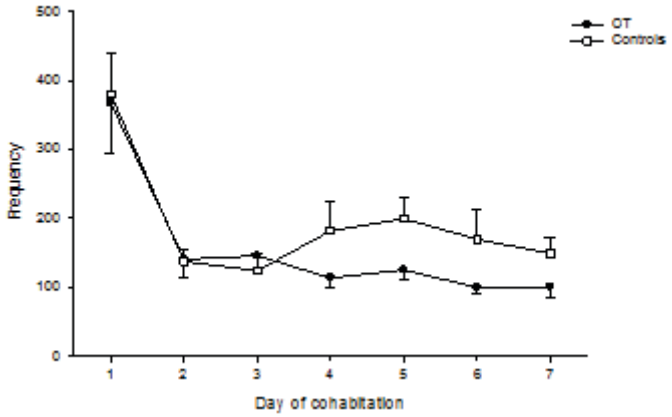


Fig. 4.: Time course of frequency „mobility“ during cohabitation in OT-treated and control females. OT-group: ANOVA w. repeated measures: F = 7.280; df = 1.288; p = 0.023; LSD: day 1 with 2 till 7: p < 0.050; controls: Friedman-ANOVA: Chi^2 = 18.583; df = 6; p =0.005; Wilcoxon: 2-1, 3-1, 6-1, 7-1, 5-2: p < 0.010; 4-1, 5-1: p < 0.020. Mean ± SEM.

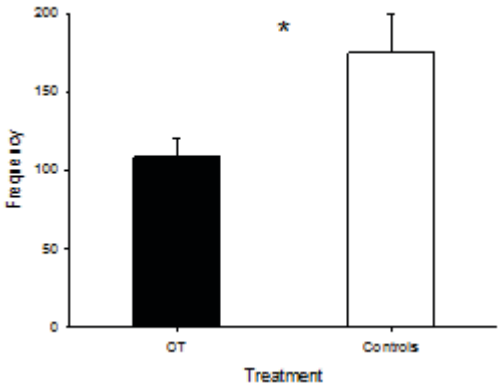


Fig. 5.: Mean frequency of mobility during the second part of cohabitation in OT-treated and control females. T-Test: T = -2.409; df = 18; p = 0.027. Mean + SEM.

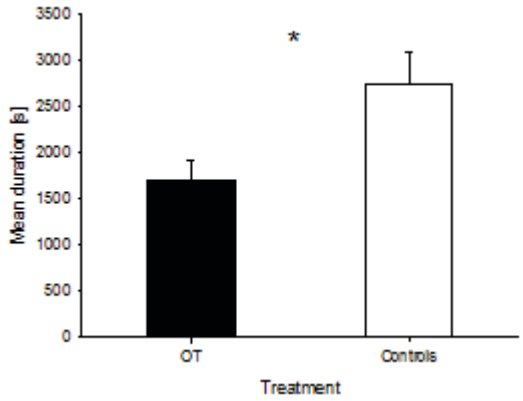


Fig. 6.: Mean duration of mobility per day in OT-treated and control females. T-Test: T = -2.330; df = 18; p = 0.032. Mean + SEM.

The duration of “male chasing female” peaked on day 1 for both groups and decreased significantly over the time course (Fig. 7.). With regard to frequency, a similar time course was found, with a peak on day 1 and subsequent decline. The behaviour “female chasing male” also decreased significantly in both groups (Fig. 8.).

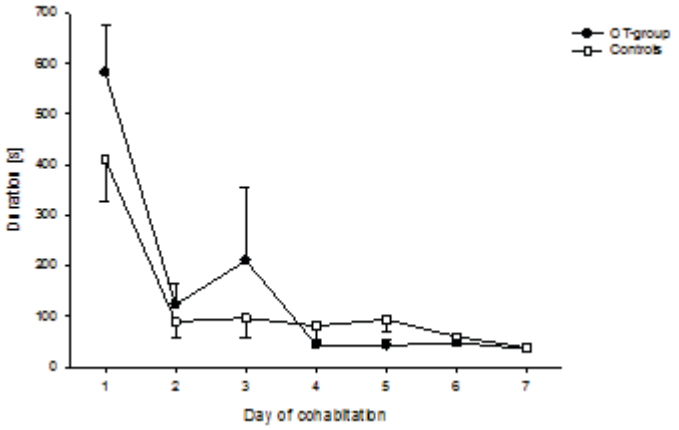


Fig. 7.: Time course of duration “male chasing female” during cohabitation in OT-treated and control females. OT-group: Friedman-ANOVA; Chi^2 = 24.714; df = 6; p = 0.000; Wilcoxon: 2-1, 4-1, 5-1, 6-1, 7-1, 5-3: p < 0.010; controls: ANOVA w. repeated measures; F = 10.349; df = 6; p = 0.000; LSD: 2 till 7 with day 1: p ≤ 0.022. Mean ± SEM.

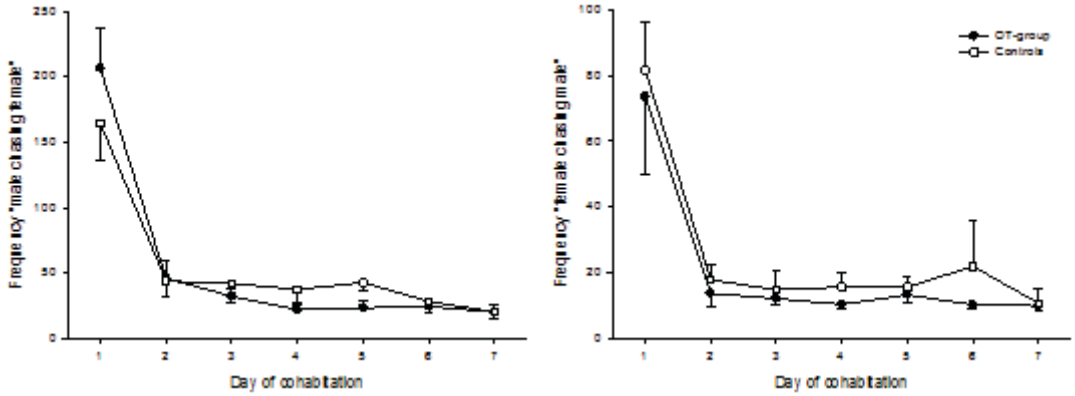


Fig. 8.: Time course of frequency „male chasing female“ (mcf) and “female chasing male” (fcm) during cohabitation in OT-treated and control females. Mcf: Friedman-ANOVAs; OT-group: Chi^2 = 21.054; df = 6; p = 0.002; Wilcoxon: 2 till 7 with day 1: p≤ 0.010; controls: Chi^2 = 22.874; df = 6; p = 0.001; Wilcoxon: 4-1, 5-1, 6-1, 7-1: p ≤ 0.010; 7-2, 7-4: p < 0.050. Fcm: OT-group: Friedman-ANOVA: Chi^2 = 13.337; df = 6; p = 0.038; Wilcoxon: 2-1, 3-1, 4-1, 6-1, 7-1: p < 0.010; 5-1: p = 0.047; controls: ANOVA w. repeated measures: F = 6.607; df = 1.596; p = 0.019; LSD: 2 till 7 with day 1: p < 0.020. Mean ± SEM.

The latency to the first copulation was significantly shorter in OT-treated females than in controls (Fig. 9.). The number of copulations did not differ between the groups (OT-group: 11.70 ± 4.75; controls: 8.10 ± 4.29).

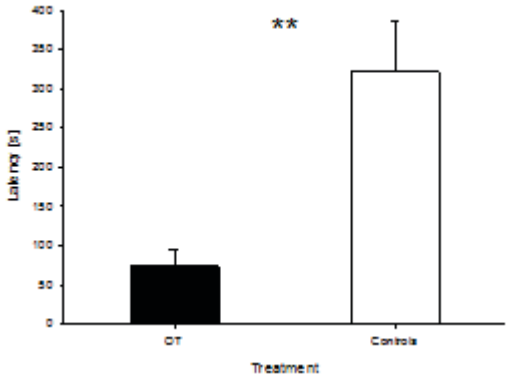


Fig. 9.: Latency of the first copulation within the first hour of cohabitation in OT-treated and control females. T-Test: T = -4.317; df = 8; p = 0.003. Mean + SEM.

The parameter mean distance between the pair did not exhibit any difference between both treatment-groups.

The parameter “moving in distance” showed a significant difference between the groups in the second part of cohabitation. OT-females moved more often within a distance of 35 cm to the male than controls (Fig. 10.).

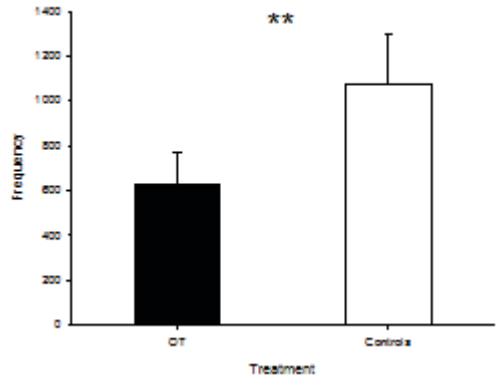


Fig. 10.: Mean frequency of “moving in distance” per day during the second part of cohabitation in OT-treated and control females. T-Test: T = -3.090; df = 18; p = 0.006. Mean + SEM.

Neither the frequency nor the duration of “side-by-side” differed significantly between the groups.

The duration of feeding with the male during the second part of cohabitation revealed a significantly higher frequency in OT-treated females compared to controls (Fig. 11.). No significant differences were found over the 7-day period.

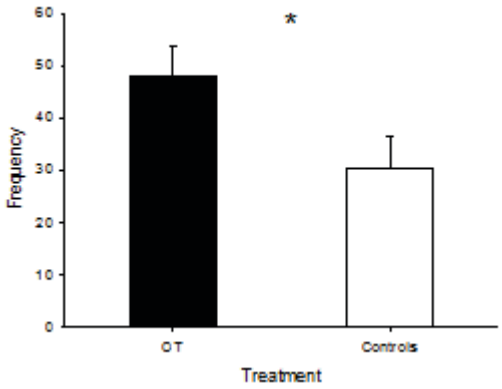


Fig. 11.: Mean frequency of “feeding with the male” per day during the second part of cohabitation in OT-treated and control females. T-Test: T = 2.135; df = 18; p = 0.047. Mean + SE.

The duration and frequency of drinking with the male did not differ between the OT-treated females and controls. Also, sharing the shelter with the male showed similar frequencies and durations for both treatment-groups.

Cortisol

Morning CORT values did not change significantly for either group during isolation and cohabitation and did not show significant differences between the groups (Fig. 12. & 13.). No significant difference was found between periods of isolation and cohabitation (Wilcoxon; OT-group: Z = -0.866; N = 10/10; p = 0.432; Controls: Z = 0.255; N = 10/10; p = 0.846).

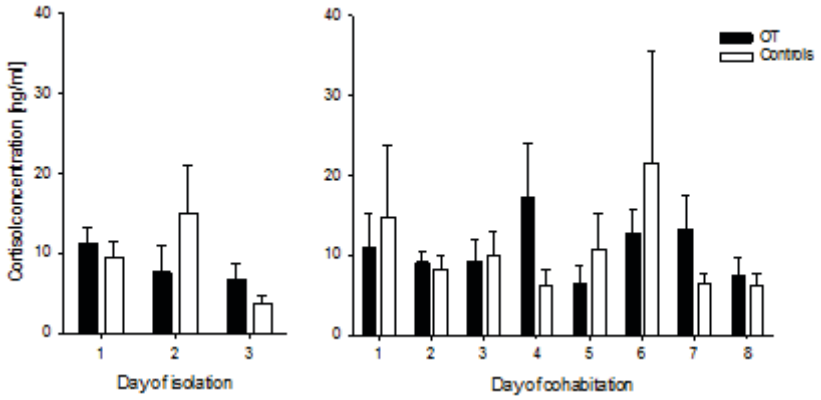


Fig. 12.: Cortisol-concentration in the morning for three days of isolation and one week of cohabitation in OT-treated and control females. Isolation: Friedman-ANOVAs; OT-group: Chi^2 = 4.000; df = 2; p = 0.149; controls: Chi^2 = 4.222; df = 2; p = 0.236. Cohabitation: Friedman-ANOVAs; OT-group: Chi^2 = 9.167; df = 7; p = 0.241; controls: Chi^2 = 7.857; df = 7; p = 0.345. Mean + SEM.

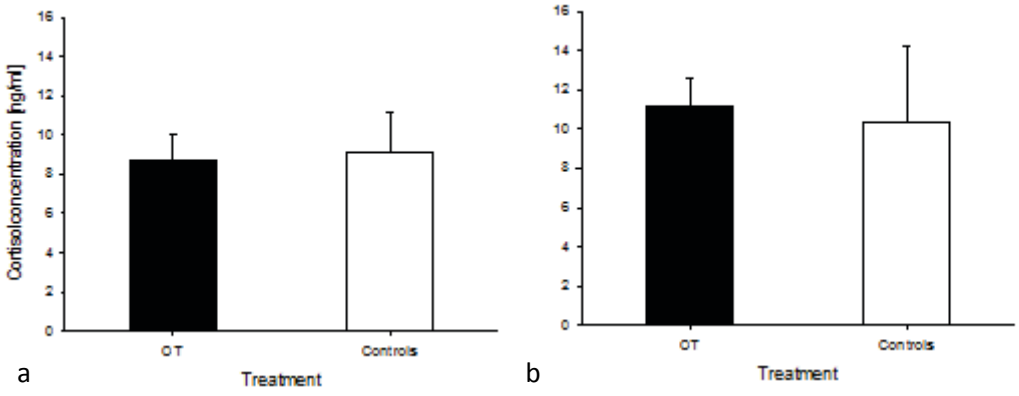


Fig. 13.: Mean concentration of Cortisol during isolation (a) and cohabitation (b) in OT-treated and control females. Wilcoxon; Isolation: Z = -0.151; N = 10/10; p = 0.880; Cohabitation: Z = 1.437; N = 10/10; p = 0.151. Mean + SEM.

DISCUSSION

The use of EthoVision Software enabled the analysis of detailed spatial behaviour synchronously for two individuals over extended time periods. The method turned out to be well applicable for the species.

During the week of cohabitation, behaviour clearly changed from day 1 to the remaining time period. Both covered distance and velocity peaked on day 1 in both groups. One explanation could be that the cohabitation arena was unfamiliar and thus

had to be investigated by the animals. On the first day, however, females were in oestrus and mating-behaviour was shown exclusively on this day. Thus, it is likely that the increased activity reflected in moving faster and longer distances was due to mating attempts by males. This is supported by the fact that males chased females most frequently during the first day of cohabitation. Wallner et al. (1996) showed that males exhibited sexual behaviour in response to a new female even if the latter was not in a receptive phase. In our study, the female represented a new stimulus for the male and, furthermore, was in oestrus. We documented mating behaviour in the initial cohabitation phase. Previous studies have shown that male sexual behaviour declined after the first hour of cohabitation (Wallner et al., 1996). No copulations were observed after day 1 in our experiment.

The latency to the first copulation was shorter in the OT-group than in controls. We assume thus that OT-treated females accepted the males within a very short period while controls were more selective in that mating occurred significantly later. Frequency of copulations did not differ significantly between the groups. This could indicate that OT-treated females were less choosy and thus responded to male' mating behaviour without delay.

The OT-treated females were mobile for shorter time spans per day than controls. This suggests that OT might have had calming effects on treated females. Similar results were found in male humans, where OT-treatment exhibited increased calmness and decreased anxiety during a social stress test (Heinrichs et al., 2003). Anxiolytic effects were also found in breastfeeding women, lactating and OT-treated rats (Altemus, 1995; Altemus et al., 1995; Windle et al. 1997); the latter spent more time in the open areas of an elevated plus-maze. OT is released during nursing, a phenomenon, which may keep the stress response and anxiety low to protect infants more efficiently against intruders (Altemus, 1995). In addition to higher mobility, control females covered longer distances in the second part of cohabitation than OT-females.

Another explanation could be that OT facilitated partner acceptance and thus the presence of the male as social partner had calming effects on the female, particularly in the later phase of the experiment.

In several species (e.g. prairie voles, black-pencilled marmosets, montane voles), OT administration initiated social interactions and facilitated the formation of partner preferences (Jia et al., 2008; Smith et al., 2010; Williams et al., 1994). In our experiment, we defined different distance parameters to compare spatial cohesion between the partners. Machatschke et al. (2004) showed that spatial cohesion is a reliable indicator for partner preferences in guinea pigs. For this reason, we chose moving within 35 cm (about one body length) as indicator. We expected the females to stay above this distance when avoiding interactions with the male. The OT-group was more frequently in close distance than controls, indicating that they accepted the male partner.

The parameters “side-by-side” and “mean distance between the pair” however, did not differ significantly between the groups. Wallner et al. (1996) did not find significant differences of “being within spatial distance” (< 25cm) between paired and non-paired guinea pigs. On the other hand, previous studies on guinea pigs documented increased body-contact within pairs (Machatschke et al., 2004; Wallner et al., 1996). For the present study, “body contact” was included in the “side-by-side” parameter but could not be analysed separately. Thus potential differences in body contact between the two animals remain unknown in this study.

OT-treated females fed more frequently together with the male than controls. This zone was a small area where the guinea pigs either had body contact or sat face-to-face with each other. Thus, we assume that OT-treated females showed higher acceptance of the male partner than controls.

Sharing the shelter with the male did not differ between OT-treated females and controls. The shelters were constructed so that two guinea pigs could share one. Generally, the females spent less time in the shelter. It could be, that they especially used the shelters for hiding according to flight. In this study, we recorded during the day, thus the data where they spent the night remain unknown.

The parameter “female chasing male” mainly occurred when female guinea pigs aggressively rejected males’ attempts to interact. No significant differences between both groups were found. Similarly, Machatschke et al. (2004) and Wallner et al. (1996) documented no differences of aggressive behaviour between paired and non-paired guinea pigs, but it decreased after one hour and was positively correlated with sexual behaviour. In the present study, “female chasing male” sharply decreased after the first day of cohabitation and no copulations were observed after day 1. Thus, it seemed that females’ aggressive and mating behaviour co-occurred .

Salivary CORT concentrations did not differ between the groups and over the time course of our experiment. This was a puzzling result. Studies on squirrel monkeys (Parker et al., 2005), prairie voles (Kramer et al., 2003) and humans (Ditzen et al., 2009) suggested that OT down-regulated the HPA-axis, thus CORT concentrations are attenuated. An explanation of our findings might be the time of salvia sampling. In our study, we did not test the guinea pigs’ stress response to stressors. Thus, we only gained basal CORT concentrations. Previous studies did not report significant differences of basal CORT concentrations between OT-treated animals and controls (Ditzen et al., 2009; Kramer et al., 2003; Parker et al., 2005). We collected saliva samples only in the morning to lessen handling effects that would potentially affect behaviour. Thus potential changes in CORT secretion during the day could not be detected.

In conclusion, the findings of this study indicate that OT-treated female guinea pigs discriminated to a lesser extent than controls, which resulted in earlier copulations. Furthermore, they were calmer, more frequently within a body-length distance to the male and feeding with the male during the second part of cohabitation. This could indicate that OT-treatment of females facilitated the formation of social bonds to male.

REFERENCES

Altemus M (1995): Neuropeptides in anxiety disorders: effects of lactation. In: Chrousos GP, McCarty R, Pacák K, Cizza G, Sternberg E, Gold PW, Kvetnansky R (Eds.), Stress: Basic Mechanisms and Clinical Implications. Annals of the NY Academy of Sciences, 771: 697-707.

Altemus M, Deuster PA, Calliven E, Carter CS, Gold PW (1995): Suppression of hypothalamic-pituitary-adrenal axis responses to stress in lactating women. Journal of Clinical Endorcrinology and Metabolism, 80 (10): 2954-2959.

Altmann SA (1962): A field study of the sociobiology of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). Annuals of the NY Sciences, 102: 338-435.

Aragona BJ, Wang Z (2004): The Prairie vole (*Microtus ochrogaster*): An Animal Model for Behavioral Neuroendocrine Research on Pair Bonding. ILAR Journal, 45: 35-45.

Argiolas A (1992): Oxytocin stimulation of penile erection: Pharmacology, site, and mechanism of action. In: Pedersen CA, Caldwell JD, Jirikowiski GF, Insel TR (Eds.), Oxytocin in Maternal, Sexual and Social Behaviors. Annals of the NY Academy of Sciences, 652: 194-203.

Arletti R, Benelli A, Bertolini A (1992): Oxytocin involvement in male and female sexual behavior. In: Pedersen CA, Caldwell JD, Jirikowiski GF, Insel TR (Eds.), Oxytocin in Maternal, Sexual and Social Behaviors. *Annals of the NY Academy of Sciences*, 652: 180-193.

Aron A, Fisher H, Mashek DJ, Strong G, Li H, Brown LL (2005): Reward, motivation, and emotion systems associated with early-stage intense romantic love. Journal of Neurophysiology, 94: 327-337.

Bales KL, Carter CS (2003): Developmental exposure to Oxytocin facilitates partner preferences in male prairie voles. *Behavioral Neuroscience,* 117: 854-859.

Bales KL, Mason WA, Catana C, Cherry SR, Mendoza SP (2007): Neural correlates of
pair-bonding in a monogamous primate. Brain Research, 1184: 245-253.

Bartels A, Zeki S (2004): The neural correlates of maternal and romantic love. Neuronal Images, 21: 1155-1166.

Benelli A, Bertolini A, Poggioli R, Menozzi B, Basaglia R, Arletti R (1995): Polymodal dose-response curve for oxytocin in the social recognition test. Neuropeptides, 28: 251-255.

Born J, Lange T, Kern W, McGregor GP, Bickel U, Fehm HL (2002): Sniffing neuropeptides: A transnasal approach to the human brain. Nature Neuroscience, 5: 514-516.

Caldwell JC, Jirikowski GF, Greer ER, Pedersen CA (1989): Medial preoptic area oxytocin and female sexual receptivity. Behavioral Neurosciences, 103: 655-662.

Carter EC, De Vries AC, Getz LL (1995): Physiological Substrates of Mammalian Monogamy: The Prairie Vole Model. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 19: 303-314.

Cho MM, De Vries AC, Williams JR, Carter CS (1999): The effects of oxytocin and vasopressin on partner preferences in male and female prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Behavioral Neuroscience*, 113: 1071-1079.

DeVries AC, DeVries MB, Taymans S, Carter CS (1995): Modulation of pair bonding in female prairie voles by corticosterone. Proceedings of the national academy of Sciences USA, 92: 7744-7748.

Ditzen B, Schaer M, Gabriel B, Bodenmann G, Ehlert U, Heinrichs M (2009): Intranasal oxytocin increases positive communication and reduces cortisol levels during couple conflict. Biological Psychiatry, 65: 728-731.

Ebner K, Bosch OJ, Kromer SA, Singewald N, Neumann ID (2005): Release of oxytocin in the rat central amygdala modulates stress-coping behavior and the release of excitatory amino acids. *Neuropsychopharmacology*, 30: 223-230.

Fenske M (1007): Role of cortisol in the ACTH-induced suppression of testicular steroidogenesis in guinea pigs. Journal of Endocrinology, 154: 407-414.

Ferguson JN, Young LG, Insel TR (2002): The neuroendocrine basis of social recognition. Frontiers in Neuroendocrinology, 23: 200-224.

Getz LL, Carter CS (1996): Prairie-vole partnerships. American Scientist, 84: 56-62.

Hadley ME (1996): Endocrinology. Prentice Hall Int. Eds., 4th ed.: 127-153.

Heinrichs M, Baumgartner T, Kirschbaum C, Ehlert U (2003): Social support and oxytocin interact to suppress coritsol and subjective responses to psychosocial stress. Biological Psychiatry, 54: 1389-1398.

Insel TR (1990): Oxytocin and Maternal behavior. In: Krasnegor N, Bridges R (Eds.): Mammalian parenting: Biochemical, neurobiological and behavioral determinants. New York: Oxford University Press: 260-280.

Jia R, Tai F, An S, Broders H, Sun R (2008): Neonatal manipulation of oxytocin influences the partner preference in mandarin voles (*Microtus mandarinus*). *Neuropeptides*, 42: 525-533.

Jokela M, Rotkirch A, Rickard IJ, Pettay J, Lummaa V (2010): Serial monogamy increases reproductive success in men but not in women. Behavioral Ecology, 21: 906-912.

Keverne EB, Kendrick KM (1992): Oxytocin facilitation of maternal behavior in sheep. In: Pedersen CA, Caldwell JD, Jirikowiski GF, Insel TR (Eds.), Oxytocin in Maternal, Sexual and Social Behaviors. Annals of the NY Academy of Sciences, 652: 83-101.

Kramer KM, Cushing BS, Carter CS (2003): Developmental effects of oxytocin on stress response: single versus repeated exposure. Physiology and Behavior, 79: 775-782.

Kunkel P, Kunkel I (1964): Beiträge zur Ethologie des Hausmeerschweinchens. Zeitschrift für Tierpsychologie, 21: 602-641.

Liu Y, Curtis JT, Wang ZX (2001): Vasopressin in the lateral septum regulates pair bond formation in male prairie voles (*Microtus ochrogaster*). Behavioral Neurosciences, 115: 910-919.

Machatschke I, Wallner B, Schams D, Dittami J (2004): Social Environment affects peripheral oxytocin and cortisol during stress responses in guinea pigs. Ethology, 110: 161-176.

Mason WA, Mendoza SP (1998): Generic aspects of primate attachments: parents, offspring and mates. Psychoneuroendocrinology, 23: 765-778.

Nelson RJ (2005): An Introduction to Behavioral Endocrinology. Sinauer Associates, Inc. Publishers, 3rd ed. Sunderland, Massachusetts, USA: 54, 77-81, 421, 743-744, 791.

Palme R, Möstl E (1997): Measurement of cortisol metabolites in faeces of sheep as a parameter of cortisol concentration in blood. Zeitschrift für Säugetierkunde, 62: 192-197.

Papanicolaou G (1915): Sex determination and sex control in guinea pigs. Science, 41: 401-404.

Parker KJ, Buckmaster CL, Schatzberg AF, Lyons DM (2005): Intranasal oxytocin administration attenuates the ACTH stress response in monkeys. Psychoneuroendocrinology 30, 924-929.

Pedersen CA, Caldwell JD, Peterson G, Walker CH, Mason GA (1992): Oxytocin activation of maternal behavior in the rat. In: Pedersen CA, Caldwell JD, Jirikowiski GF, Insel TR (Eds.), Oxytocin in Maternal, Sexual and Social Behaviors. Annals of the NY Academy of Sciences, 652: 58-69.

Pizzuto T, Getz LL (1998): Female prairie voles (*Microtus ochrogaster*) fail to form a new pair after loss of mate. Behavioral Processes, 43: 79-86.

Rimmele U, Hediger K, Heinrichs M, Klaver P (2009): Oxytocin makes a face in memory familiar. Journal of Neuroscience, 29: 38-42.

Sachser N (1986): Different forms of social organization at high and low population densities in guinea pigs. Behaviour, 97: 253-272.

Schumacher M, Coirini H, Flanagan LM, Frankfurt M, Pfaff DW, McEwen BS (1992): Ovarian Steroid modulation of oxytocin receptor binding in the ventromedial hypothalamus. In: Pedersen CA, Caldwell JD, Jirikowiski GF, Insel TR (Eds.), Oxytocin in Maternal, Sexual and Social Behaviors. Annals of the NY Academy of Sciences, 652: 374-386.

Smith AS, Agmo A, Birnie AK, French JA (2010): Manipulation of the oxytocin system alters social behavior and attraction in pair-bonding primates, *Callithrix penicillata*. Hormones and Behavior, 57: 255-262.

Uvnäs-Moberg K (1998a): Oxytocin may mediate the benefit of positive social interactions and emotions. Psychoneuroendocrinology, 819-835.

Uvnäs-Moberg K (1998b): Antistress Pattern induced by Oxytocin. News Physiological Science, 13: 22-25.

Wallner B, Barth R, Dittami J, Schams D (1996): Guinea pigs (*Cavia aperea f. porcellus*): Do they show pair-bonding behaviour in relationship to oxytocin? Advances in Experimental Medicine and Biology 395, 255-256.

Wallner B, Dittami J, Machatschke I (2006): Social stimuli cause changes of plasma oxytocin and behavior in guinea pigs Biological Research, 39: 251-258.

Williams JR, Insel TR, Harbaugh CR, Carter CS (1994): Oxytocin administered centrally facilitates formation of a partner preference in female prairie voles. Journal of Neuroendocrinology, 6: 247-250.

Windle RJ, Shanks N, Lightman SL, Ingram CD (1997): Central oxytocin administration reduces stress-induced corticosterone release and anxiety behavior in rats. Endocrinology, 138: 2829-2834.

Windle RJ, Kershaw YM, Shanks N, Wood SA, Lightman SL, Ingram CD (2004): Oxytocin attenuates stress-induced c-fos mRNA expression in specific forebrain regions associated with modulation of hypothalamo-pituitary-adrenal activity. Journal of Neuroscience, 24: 2974-2982.

Winslow JT, Hastings N, Carter CS, Harbaugh CR, Insel TR (1993): A role for central vasopressin in pair bonding monogamous prairie voles. Nature, 365: 545-548.

Young LJ, Lim MM, Gingrich B, Insel TR (2001): Cellular mechanisms of social attachment. Hormones and Behavior, 40: 133-138.

Young LJ, Murphy-Young AZ, Hammock EAD (2005): Anatomy and Neurochemistry of the pair bond. The Journal of comparative neurology, 49: 51-57.

Zak PJ, Stanton AA, Ahmadi S (2007): Oxytocin increases generosity in humans. PLoS ONE, 2: art. no. e1128.

Zeki S (2007): The neurobiology of love. FEBS Letters, 581: 2575-2579.

3. SUMMARY/ ZUSAMMENFASSUNG

Pair bonds are long-lasting selective preferences between two individuals that may have a profound impact on physiology and behaviour. Effects of stress can be attenuated. The neuropeptide oxytocin (OT) plays an important role as it is involved in pair formation and may suppress maladaptive effects of the stress response.

In the present work, influence of OT administration on pair formation in guinea pigs (*Cavia aperea f. porcellus*) was investigated by analysing their spatial behaviour applying the new software suite EthoVision. This method enabled detailed movement analyses of two individuals synchronously over a 10-h-period per day. The experiment included an isolation and a cohabitation period which started when the females had entered oestrus for the second time and was divided into first (day 1-3) and second part (day 4-7).

Females were pre-treated intranasally during one oestrus cycle with OT twice per day and compared to a control group treated with saline solution. Thereafter each female was kept together with a male for one week. During the experiment, saliva samples were taken to analyse cortisol concentrations.

On the first day of cohabitation, OT-treated females copulated earlier than controls, but the number of copulations did not differ significantly. The parameters chasing and escaping the male exhibited longer and more often on first day of cohabitation than on the remaining days. The animals covered longer distances and moved with a higher velocity on the first day. No significant difference between both groups was found. These findings could be explained with mating-behaviour occurring exclusively on the first day.

OT-treated females were less frequently and for shorter time spans mobile than controls indicating that OT affect activity levels.

Furthermore, OT-treated females moved more frequently within a distance of 35cm (about one body length) to the male during the second part of cohabitation. No siginificant differences between the groups were found for mean distance between the pair and “side-by-side”. OT-treated females fed more frequently together with the male during the second part of cohabitation than controls.

Cortisol concentrations were similar in both groups and did not differ between the isolation and cohabitation phase.

In conclusion, the results indicate that OT-treatment of females facilitated the acceptance of a male for mating and, perhaps via calming effects, may facilitate the formation of social bonds.

Paarbindungen sind langandauernde Partnerpräferenzen, welche positive Auswirkungen auf die Physiologie und das Verhalten der jeweiligen Individuen haben. Des Weiteren, hat man Effekte nachgewiesen, welche die Stressantwort dämpfen. Das Neuropeptid Oxytocin (OT) spielt bei der Entstehung von Paarbindungen und bei der Verarbeitung einer Reaktion auf einen Stressreiz eine große Rolle.

In dieser Arbeit wurde der Einfluss von Oxytocin auf die Ausbildung von Paarbindungen bei Meerschweinchen (*Cavia aperea f. porcellus*) untersucht. Dazu wurde das Softwareprogramm EthoVision XT 7.0 erstmals bei Meerschweinchen eingesetzt. Das Programm ermöglichte eine automatische Registrierung der Bewegungen zweier Individuen über eine Zeitspanne von 10 Stunden. Der experimentelle Teil der Arbeit setzte sich aus einer Isolationsphase und einer Kohabitationsphase zusammen. Die letztere begann, als das Weibchen zum zweiten Mal im Östrus war und wurde in eine Anfangs- (Tag 1-3) und Endphase (Tag 4-7) eingeteilt.

In der Isolationsphase wurde den Weibchen über die Länge eines Östruszyklus OT bzw. der Kontrollgruppe isotonische Kochsalzlösung über die Nase verabreicht. Danach wurden die Weibchen für einen Zeitraum von einer Woche mit einem Männchen in eine Arena zusammengesetzt. Während des gesamten Experiments wurden täglich Speichelproben für die spätere Cortisolbestimmung genommen.

Am ersten Tag der Kohabitation kopulierten die OT-behandelten Weibchen signifikant früher mit ihrem Männchen als die Kontrollweibchen, aber in der Zahl der Kopulationen innerhalb einer Stunde unterschieden sie sich nicht. Außerdem wurde gezeigt, dass die Weibchen zu Beginn der Kohabitation vermehrt die Parameter „Davonlaufen“ und „Verjagen“ gegenüber dem Männchen zeigten. Ein Unterschied zwischen den Gruppen konnte zwar nicht festgestellt werden, aber ein signifikanter Wochenverlauf, mit Spitzenwerten am ersten Tag sowohl bei der Dauer als auch bei

der Häufigkeit, mit der das Verhalten auftrat, der auf das vermehrte Paarungsverhalten zu Beginn der Kohabitation zurückzuführen ist.

Außerdem, legten die Weibchen am ersten Tag größere Strecken zurück und bewegten sich mit einer höheren Geschwindigkeit. In der Endphase der Kohabitation bewegten sich die OT-behandelten Weibchen über geringere Distanzen. Es zeigte sich, dass OT Einfluss auf die Aktivität der Tiere haben dürfte. Die OT-Weibchen waren im Vergleich zu den Kontrolltieren weniger oft und über kürzere Zeitspannen in Bewegung.

OT-Weibchen hielten sich häufiger in einer Distanz unter 35 cm (ca. eine Körperlänge) zum Männchen auf. Allerdings konnten zwischen den OT-behandelten und Kontrollweibchen keine Unterschiede bei der durchschnittlichen Distanz zum Partner und dem Parameter „Side-by-side“ nachgewiesen werden. In der Endphase der Kohabitation saßen die OT-Weibchen öfter zusammen mit dem Männchen an der Futterschüssel.

Die Cortisolkonzentrationen wiesen, sowohl zwischen den Gruppen als auch im Zeitverlauf, keine signifikanten Veränderungen auf.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die weibliche Meerschweinchen durch Behandlung mit OT die Männchen früher als Paarungspartner akzeptieren, möglicherweise also weniger wählerisch sind als die Kontrolltiere. Einiger der Distanzparameter weisen darauf hin, dass OT positive Effekte auf die Ausbildung einer Paarbindung haben könnte.

4. DANKSAGUNG

Als erstes möchte ich mich bei Ivo Machatschke bedanken. Er stand mir immer mit Rat und Tat zur Seite. Obwohl er meist unter Zeitdruck stand, konnte ich mit den kleinsten Anliegen zu ihm kommen. Weiters danke ich meiner Betreuerin Eva Millesi für die Unterstützung am Ende meiner Arbeit.

Weiteren Dank möchte ich Anna Schöbitz aussprechen, die mich bei der Hormonauswertung tatkräftig unterstütze und angenehme Stunden im Labor bereitete. Den Tierpflegern des Department ist auch ein Dank auszusprechen, da sie sehr kooperativ mit meinem Zeitplan umgingen und gute Ansprechpersonen für Angelegenheiten der Meerschweinchen waren. Dagmar Rotter ist natürlich nicht zu vergessen, da sie mit ihrem technischen Wissen und praktischen Denken immer wieder gute Ideen einbrachte.

Ich möchte auch die Gelegenheit nutzen weiteren Personen zu danken, die nur indirekt Einfluss auf diese Arbeit hatten: Meine Eltern haben mich bei meinen Entscheidungen bis hierher immer positiv unterstützt und sind mir immer aufmunternd zur Seite gestanden. Meinen beiden Geschwister habe ich, aufgrund ihrer „Geschwisterliebe“, ein gewisses Maß an Durchhaltevermögen und Kampfwillen zu verdanken.

Zu guter Letzt danke ich meinem Freund/Lebensgefährten dafür, dass er seinen Zeitplan nach meiner Diplomarbeit richtete; für seine Geduld und moralische Unterstützung.

5. CURRICULUM VITAE

Persönliche Daten:

Name	Michaela Bönisch
Geburtsdatum	18. Oktober 1984
Geburtsort	Wien
Staatsbürgerschaft	Österreich

Schulausbildung:

Juni 2003	Reifeprüfung
1995 bis 2003	Realgymnasium Maroltingergasse 1160 Wien
1991 bis 1995	Volksschule Josefinum 1140 Wien

Universitätsausbildung:

März 2012	Diplomprüfung Zoologie
seit WS 2004/ 05	Biologie/ Zoologie Diplom
Okt 2003 bis Jänner 2009	Mathematik Diplom